

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：13201

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21664

研究課題名(和文) 順行性経シナプスベクターを用いた遺伝子治療のための遺伝子デリバリーシステムの開発

研究課題名(英文) Development of gene delivery system for gene therapy using transsynaptic anterograde viral vectors

研究代表者

伊藤 哲史 (Ito, Tetsufumi)

富山大学・学術研究部医学系・教授

研究者番号：90334812

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：感覚器に障害が起こり活動性が低下すると、低下した活動性を補償するため感覚系神経路全体に可塑的变化が起こり、興奮性が異常に高まって様々な症状が生じる。耳鳴はその例であり、症状は難治性である。もし経路全体に渡って遺伝子導入を行い、経路全体の活動性を下げることができれば、これらの症状を緩和することが可能であろう。本研究では、組み換えトリアデノ随伴ウイルス(A3V)がこのような経シナプス順行性ベクターとしての性質を有するか調べた。標識細胞の分布様式より、A3Vの輸送は主に順行性であり、後シナプス細胞に感染が広がることが強く示唆される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

感覚器に障害が起こり活動性が低下すると、低下した活動性を補償するため感覚系神経路全体に可塑的变化が起こり、興奮性が異常に高まって様々な症状が生じる。耳鳴、慢性疼痛、視力障害による幻視などがその例であり、症状は難治性である。もし経路全体に渡って遺伝子導入を行い、経路全体の活動性を下げることができれば、これらの症状を緩和することが可能であろう。本研究で調べたA3Vは外来遺伝子を特定の感覚経路に導入することができ、また毒性も低いいため、遺伝子治療ツールとしての潜在性は高い。

研究成果の概要(英文)：Damage on sensory organs results reduction of neuronal activity, and compensatory plasticity occurs to enhance neuronal activity in the sensory pathway. This is the cause of tinnitus, which is difficult to cure. If we introduce extrinsic gene in the whole sensory pathway, we may reduce the activity in the whole pathway. In this study, we examined the properties of avian adeno-associated virus (A3V) to test whether A3V is suitable to deliver genes in the whole sensory pathway or not. Based on the distribution of labeled cells, the transport direction of A3V is mostly anterograde, and infection spread anterogradely and transsynaptically to several synapses.

研究分野：神経科学

キーワード：ウイルスベクター 経シナプス感染 順行性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

感覚器に障害が起こり活動性が低下すると、低下した活動性を補償するため感覚系神経路全体に可塑的变化が起こり、興奮性が異常に高まって様々な症状が生じる。耳鳴、めまい、慢性疼痛、視力障害による幻視などがその例であり、症状は難治性である。

近年、神経難病に対する遺伝子治療が有力な治療の選択肢として上がりつつある。例えば、大脳基底核神経回路の異常による運動障害を主症状とする AADC 欠損症に対して、Adeno-associated virus (AAV)ベクターを線条体に注入した試験では、線条体でのドーパミン濃度が正常化することによって全例に症状改善が見られた(自治医科大学 山形ら)。このような1箇所の脳領域の異常を遺伝子導入によって治療する点で従来の AAV ベクターは優れている。一方、耳鳴、慢性疼痛、視力障害による幻視などでは神経路全体に異常な変化が起きており、シナプスを超えて運ばれない従来型ベクター・AAV による遺伝子導入は難しいと考えられる。シナプスを介して神経路全体に遺伝子導入を行うことができれば、経路全体の活動性を下げ、これらの症状を緩和することが可能であろう。

シナプスを超えて感染が広がる性質を持ったウイルスがいくつか知られている。Rabies virus は代表的な 逆行性経シナプスベクターとして動物実験では多用されている。しかし、上述したような感覚神経路の病変に遺伝子導入を行うとすると、上位中枢、つまり脳内にウイルスを注入しなければならず、侵襲性が高い。また、グリコプロテインを削除してシナプス超え能力を制限した rabies virus でも、細胞毒性は強く、この点でも治療目的の遺伝子導入には向かないといえる。

順行性経シナプスベクターなら、障害の起きた末梢感覚器に遺伝子治療ベクターを注入することで経路全体に遺伝子導入を行うことができ、脳内注入に比べて侵襲性が低いといえる。しかしながら、順行性経シナプスベクターはほとんど知られていない。僅かな例外として、Herpes Simplex virus H129 株が知られているが(Lo and Anderson, 2011)、細胞や個体への毒性が強く、しばしば感染動物が死亡するほどであり、シナプス超えの速度も不安定で、遺伝子治療用ベクターとして用いるには不適切であった。毒性の低い順行性経シナプスベクターの開発が求められてきた。

2. 研究の目的

特定の感覚系神経路全体に遺伝子導入する方法があれば、感覚系神経路全体に生じる異常な可塑性が引き起こす難治性神経疾患の症状緩和が可能となる。感染ニューロンの軸索の末端からシナプスを超えて感染が広がって行く(順行性経シナプス)ベクターは特定神経路全体への遺伝子導入に適している。しかしながら、Rabies virus などの既知の経シナプスベクターは毒性が強かったり、順行性感染能を持たないなどの問題があり、経シナプスベクターが遺伝子治療目的で利用されたことはない。申請者は、過去に胎生期のニューロンの標識のために開発された組み換え Avian Adeno-Associated Virus (A3V) (Matsui et al., 2012) が出生後動物においてもニューロンに遺伝子導入するのに有用であることを予備的データから確認している。申請者は本研究計画の立案段階で、A3V は感覚器に投与することで感覚伝導路を構成するニューロン群に遺伝子を導入することが可能であるという予備的証拠を掴んだ。本研究計画の目的は、このウイルスがシナプスを介して感染が広がる経シナプス順行性トレーサーであり、それがどの程度の速度で感染が広がっていくか、毒性はどの程度であるか判定し、経シナプスベクターとしての評価を行うことにある。

3. 研究の方法

生後 4-5 日のニワトリヒヨコ 18 羽を用い、A3V-RSV-mCherry の性質について検討を行った。ニワトリは三種混合麻酔によって麻酔したのち、注入手術を行った。うち 3 羽は蝸牛管に、2 羽は眼球に、残り 13 羽は中脳聴覚核 nucleus mesencephalicus lateralis pars dorsalis (MLd) に A3V-RSV-mCherry を 0.5-2 μ l 注入した。MLd 注入例では、注入液にコレラトキシン B サブユニット (CTB) を 0.5% の最終濃度となるように添加した。注入後、動物をケージに戻し、生存期間を 1 日、2 日、4 日、7 日、14 日おき、再度ペントバルビタールナトリウムで深麻酔を施した上で緩衝 4% パラホルムアルデヒド灌流固定を行い、脳や注入部位 (眼球、内耳) を摘出した。摘出した組織はリン酸緩衝 30% スクロースにて氷晶防止措置を行った上で凍結マイクロトームによって 40 μ m 厚の連続切片を作成し、組織染色を施した。

切片はウサギ抗 mRFP 抗体、ヤギ抗 CTB 抗体 (List Labs)、マウス抗 NeuN 抗体 (MAB377, Millipore) およびビオチン化 Ricinus communis agglutinin-1 (RCA-1) (Vector Laboratories) にて標識し、Ni-DAB 色素染色法または蛍光抗体法によって染色を行った。

Ni-DAB による色素染色標本は明視野顕微鏡 (AX-80, Olympus) によって観察を行い、デジタルカメラ (DMC-GH-3, Panasonic) で写真撮影し、さらなる解析を行った。蛍光抗体法による蛍光染色標本は、LED 照明構造化照明蛍光顕微鏡 (Apotome.2; Axiolmage.M2; Colibri 5, Carl Zeiss) によって光学切片像を取得した。

4. 研究成果

4.1 末梢感覚器への注入による伝導路選択的標識

眼球への注入 7 日後、網膜の神経節細胞が疎に mCherry で標識された (図 1A)。標識細胞は樹状突起や軸索も標識され、網膜全載標本では標識軸索が視神経乳頭に侵入するところまで観察できた。次に脳の連続切片標本を観察した。トリでは視神経の主な投射先は視蓋であり、視蓋の表層に標識軸索が観察された。驚くべきことに、この表層に樹状突起を伸ばしたより深い層のニューロンにも mCherry 陽性のものがみられた (図 1B)。このような標識細胞は標識軸索と接触する像が観察され、シナプス経路での感染が示唆された。

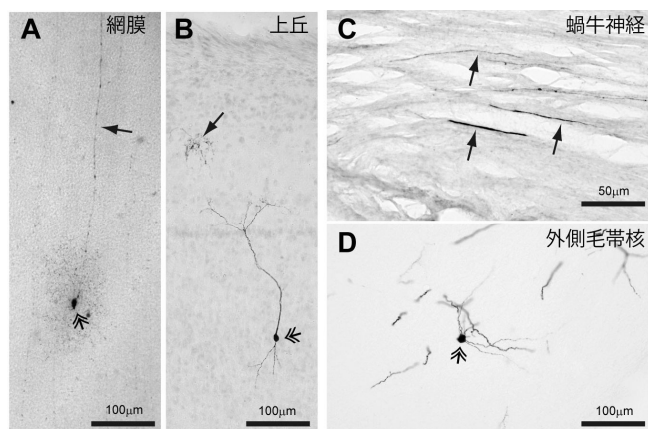


図 1: A3V による順行性経シナプス遺伝子導入。A3V には GFP 遺伝子が搭載されており、GFP 抗体で導入遺伝子を可視化した。(A-B) 眼球内微量注入後 7 日で網膜神経節細胞 (A) と上丘 (B) に標識細胞が出現。(C-D) 蝸牛内微量注入後 7 日で蝸牛神経 (C)、蝸牛神経核、外側毛帯核 (D) で標識細胞が出現。矢印: 標識軸索、2 重矢印: 標識細胞。

なお、網膜に対して下行性投射を行う isthmo-optic nucleus には標識細胞は観察されなかった。蝸牛管への注入 7 日後、感覚上皮や蝸牛神経節に標識細胞が観察された。また、内耳神経束中に標識軸索が観察された (図 1C)。対応するように、脳の連続切片では、蝸牛神経の入力を受ける nucleus angularis に豊富に標識線維が観察されたほか、mCherry 陽性の細胞体も疎に観察された (図 1D)。

これらの結果から、A3V が経シナプスベクターであることが強く示唆される。

4.2 順行性経シナプス輸送の時間経過

中脳の聴覚領域の MLd は哺乳類の下丘と相同の領域であり、脳幹の殆どの聴覚神経核から入力を受け、視床の聴覚領域である nucleus ovoidalis (Ov) に両側性に投射する。Ov は終脳の Field L (FL) に投射する。このような神経回路上の位置づけから、MLd にウイルスベクターを注入することでベクターのシナプス超え特性を調べることができると考え、A3V-RSV-mCherry を MLd に注入した (図 2A)。

注入後 14 日で、標識細胞は両側 Ov (図 2B) と FL に観察された。注入後 7 日も同様であったが、FL での軸索標識は弱かった。これは蛍光タンパクの軸索への輸送が間に合っていないことを示唆している。注入後 4 日では、Ov に標識が見られた一方、FL には標識が見られなかった。注入後 2 日も同様であり、Ov の染色も極めて薄いものであった。注入後 1 日では Ov にも標識は現れなかった。

これらの結果から 1 回目のシナプス超え感染は注入後 2 日におこり、2 回目のシナプス超え感染は注入後 7 日後に起こると見積もられる。

4.3 神経選択的感染の証明

これまでに観察された標識細胞はどれも典型的なニューロンの形態を示した。実際に感染がニューロン選択的であるか調べるため、注入後 14 日の脳切片標本を mRFP と NeuN で 2 重蛍光標識した。mRFP は mCherry の標識に、NeuN はニューロンの標識に用いた。注入部位である MLd と、2 次ニューロン領域である Ov で、ほぼすべての mRFP 陽性細胞が NeuN を発現していた。このことは A3V が神経特異的に感染することを示している。神経細胞はグリア細胞に取り囲まれ、シナプス部位でのみ他の神経細胞と直接接触していることから、この神経選択的感染が経シナプス感染の基盤となっていると考えられる。

4.4 毒性の評価

ウイルス粒子に対する免疫反応が強く引き起こされると神経組織に対して毒性を引き起こし、動物に症状が生じる。そこで、注入後 14 日の脳切片標本について、免疫反応が引き起こされ、神経細胞の脱落が起こっているか検討した。切片を mRFP、NeuN、そしてミクログリアのマーカーである RCA-1 で 3 重染色し、対側 MLd の mRFP 陽性細胞や軸索が存在しない領域およびウイルス注入を受けていない動物の MLd との間で比較を行った。注入部位では対側と比較して、RCA-1 陽性ミクログリアの密度に有意ではないものの増加傾向が見られた ($P=0.095$, paired t-test)。これは炎症反応が起こっている可能性を示唆する。しかしながらその程度は軽微であり、左右の MLd の神経細胞数を NeuN 免疫染色によって調べたところ、陽性細胞の数には対側と違いは見られなかった ($P=0.238$, paired t-test)。このことから、感染後 14 日が経過しても注入部位に深刻な損傷は生じていないことを示唆する。

4.5 輸送の方向性の検討

次に、A3V-RSV-mCherry と双方向性トレーサーの CTB を混合して注入することで、シナプス越えの感染が順行性と逆行性のどちらに起こるのかについて検討した。注入後 14 日で mCherry 標識細胞は両側の MLd、Ov、FL に出現した。順行性に標識された CTB 陽性の軸索は対側 MLd と両側の Ov に出現した。逆行性に標識された CTB 陽性の神経細胞体は対側の MLd と脳幹の聴覚神経核群に出現した。このことは、mCherry 標識細胞体は注入部位の出力先およびそのさらに先の神経核

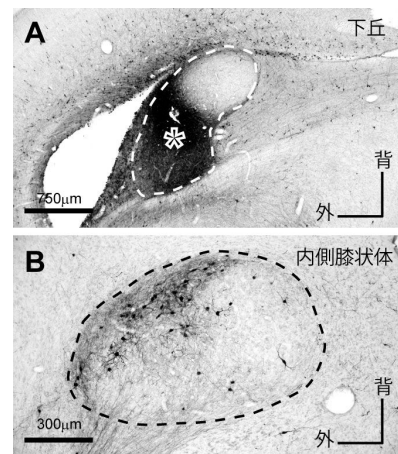


図 2: 下丘の高周波数の音に対応する領域 (A*印) に A3V を注入すると、内側膝状体背外側部 (B) に標識細胞が出現。

にのみ存在し、注入部位に入力する神経核には出現しない、すなわちシナプス越え感染がほぼ順行性に限られることを示す。

注入部位の mCherry 陽性細胞体の数と、2 次ニューロン (両側 Ov および対側 MLd) の標識細胞体の数の比はシナプス越え感染の効率を反映すると考えられる。これを算出したところ、1 程度の値となった。これは、1 個の感染細胞が後シナプス細胞 1 個を感染させることを意味しており、通常 1 個の神経細胞は多数の神経細胞に出力することを考えると、シナプス越え感染の効率はそれほど高くないことを示している。

4.6 議論

本研究は A3V が順行性経シナプスベクターとしての性質を有していることを示した。A3V は毒性が少なく、十分に生存期間を置くことで数段階分のシナプスに相当する神経経路を標識することが可能である。

他の順行性経シナプスウイルスベクターの多くは毒性がきわめて強いいため、生存期間を長く置くことができず、あまり普及していない。現状最もよく使われている順行性経シナプスベクターは AAV1 および AAV9 であり、これは毒性が低い。しかしながら、これらの AAV はシナプス越え感染の効率がきわめて低く、AAV に蛍光タンパク質を搭載しても 2 次ニューロンで検出することは不可能であり、2 次ニューロンの可視化には感度の高い Cre-loxp 組み換えシステムを利用する必要がある (Zingg et al., 2017)。具体的には AAV に Cre リコンビナーゼを搭載したベクターを、Cre 依存的 mCherry 発現レポーターマウス Ai14 に注入することで、感染ニューロンにおける組換えとそれに伴う蛍光タンパク質の発現によって 1 次と 2 次ニューロンの蛍光タンパク質による標識を行う方法がとられる。このような複雑な手順を踏む必要があることから応用面が限局されるのが欠点であった。A3V は AAV1 や 9 と比べて効率が高く、Cre-loxp システムの必要なく搭載遺伝子を発現させることができるため、より広い応用が考えられる。例えば、耳鳴りのような、聴覚伝導路全体の活動性が異常に高まった状態を治療するため、A3V に神経活動を抑制する遺伝子を搭載し、これを蝸牛に注入することで聴覚伝導路全体を抑制し、耳鳴りを治療することや、前庭への注入によって前庭神経路全体を抑制し、めまいの治療を行う、といった遺伝子治療が考えられ、検討を進めているところである。

さらなる応用のためには、A3V や AAV1、9 で見られるシナプス越え伝播の分子メカニズムを解明することが必要である。本研究で用いた組み換え A3V は増殖能を持たないため、キャプシドに包まれた状態の A3V がそのままシナプスを越えて輸送されていると考えられる。その一方、A3V に搭載された遺伝子が発現するためにはキャプシドから A3V ゲノムが脱殻する必要がある。シナプス越えした後で脱殻を制御する分子機序が分かればシナプス越え感染効率を操作できるかもしれない。

A3V のどの構造がシナプス越えを可能にするか解明することも重要である。過去の研究では、A3V のキャプシドタンパクのアミノ酸配列を AAV2 と比較しており、ウイルス表面に露出していると推測される領域のアミノ酸配列に大きな違いがみられることが判明しており (Bossis and Chiorini, 2003)、この分子メカニズムを調べるのが重要であり、解析を進めているところである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 18件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Fujimoto Hisataka, Notsu Eiji, Yamamoto Ryo, Ono Munenori, Hioki Hiroyuki, Takahashi Megumu, Ito Tetsufumi	4. 巻 15
2. 論文標題 Kv4.2-Positive Domains on Dendrites in the Mouse Medial Geniculate Body Receive Ascending Excitatory and Inhibitory Inputs Preferentially From the Inferior Colliculus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2021.740378	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ito Tetsufumi, Ono Munenori, Matsui Ryosuke, Watanabe Dai, Ohmori Harunori	4. 巻 359
2. 論文標題 Avian adeno-associated virus as an anterograde transsynaptic vector	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neuroscience Methods	6. 最初と最後の頁 109221 ~ 109221
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jneumeth.2021.109221	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yuta Yoshioka, Yoshihisa Tachibana, Toshihiro Uesaka, Hiroyuki Hioki, Yuya Sato, Takumi Fukumoto, Hideki Enomoto.	4. 巻 608
2. 論文標題 Uts2b is a microbiota-regulated gene expressed in vagal afferent neurons connected to enteroendocrine cells producing cholecystokinin.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 66-72
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.03.117	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kuramoto Eriko, Tanaka Yasuhiro R., Hioki Hiroyuki, Goto Tetsuya, Kaneko Takeshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Local Connections of Pyramidal Neurons to Parvalbumin-Producing Interneurons in Motor-Associated Cortical Areas of Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 eneuro	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/ENEURO.0567-20.2021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Furuta Takahiro, Yamauchi Kenta, Okamoto Shinichiro, Takahashi Megumu, Kakuta Soichiro, Ishida Yoko, Takenaka Aya, Yoshida Atsushi, Uchiyama Yasuo, Koike Masato, Isa Kaoru, Isa Tadashi, Hioki Hiroyuki	4. 巻 25
2. 論文標題 Multi-scale light microscopy/electron microscopy neuronal imaging from brain to synapse with a tissue clearing method, ScaleSF	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 103601 ~ 103601
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2021.103601	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kitamura Eri, Koike Masato, Hirayama Takashi, Sunabori Takehiko, Kameda Hiroshi, Hioki Hiroyuki, Takeda Satoru, Itakura Atsuo	4. 巻 16
2. 論文標題 Susceptibility of subregions of prefrontal cortex and corpus callosum to damage by high-dose oxytocin-induced labor in male neonatal mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0256693
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0256693	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Takahashi Hiroo, Asahina Ryo, Fujioka Masayuki, Matsui Takeshi K., Kato Shigeki, Mori Eiichiro, Hioki Hiroyuki, Yamamoto Tohru, Kobayashi Kazuto, Tsuboi Akio	4. 巻 118
2. 論文標題 Ras-like Gem GTPase induced by Npas4 promotes activity-dependent neuronal tolerance for ischemic stroke	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2018850118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2018850118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fukunaga Y, Kawamoto M, Nishimura K, Hakuba N	4. 巻 21
2. 論文標題 Proliferating trichimemmal tumor-like neoplasm in the external auditory canal: A case report.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Otolaryngology Case Reports.	6. 最初と最後の頁 100354
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xocr.2021.100354	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 北真一郎、山本典生、岡野高之、西村幸司、大森孝一	4. 巻 114
2. 論文標題 聴力に異常のないアブミ骨筋腱欠損例	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 耳鼻咽喉科臨床	6. 最初と最後の頁 189-193
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Xu Feng, Ono Munenori, Ito Tetsufumi, Uchiyama Osamu, Wang Furong, Zhang Yu, Sun Peng, Zhang Qing, Yamaki Sachiko, Yamamoto Ryo, Kato Nobuo	4. 巻 529
2. 論文標題 Remodeling of projections from ventral hippocampus to prefrontal cortex in Alzheimer's mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Comparative Neurology	6. 最初と最後の頁 1486 ~ 1498
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cne.25032	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Tanaka Takashi, Nakada Takayuki, Ito Tetsufumi, Kominami Rieko, Sonomura Takahiro, Kagaya Miyuki, Kawai Katsushi, Honma Satoru	4. 巻 96
2. 論文標題 Topographical relationship between the accessory hepatic duct and the hepatic artery system	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anatomical Science International	6. 最初と最後の頁 112 ~ 118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12565-020-00568-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka Takashi, Ito Tetsufumi, Sumizono Megumi, Ono Munenori, Kato Nobuo, Honma Satoru, Ueno Masaki	4. 巻 34
2. 論文標題 Combinational Approach of Genetic SHP-1 Suppression and Voluntary Exercise Promotes Corticospinal Tract Sprouting and Motor Recovery Following Brain Injury	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neurorehabilitation and Neural Repair	6. 最初と最後の頁 558 ~ 570
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1545968320921827	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okamoto Shinichiro, Yamauchi Kenta, Sohn Jaerin, Takahashi Megumu, Ishida Yoko, Furuta Takahiro, Koike Masato, Fujiyama Fumino, Hioki Hiroyuki	4. 巻 2
2. 論文標題 Exclusive labeling of direct and indirect pathway neurons in the mouse neostriatum by an adeno-associated virus vector with Cre/lox system	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 STAR Protocols	6. 最初と最後の頁 100230 ~ 100230
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xpro.2020.100230	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Okamoto Kazuki, Ebina Teppei, Fujii Naoki, Konishi Kuniaki, Sato Yu, Kashima Tetsuhiko, Nakano Risako, Hioki Hiroyuki, Takeuchi Haruki, Yumoto Junji, Matsuzaki Masanori, Ikegaya Yuji	4. 巻 7
2. 論文標題 Tb3+-doped fluorescent glass for biology	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabd2529
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abd2529	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Horie Sawa, Kiyokage Emi, Hayashi Shuichi, Inoue Kanako, Sohn Jaerin, Hioki Hiroyuki, Furuta Takahiro, Toida Kazunori	4. 巻 in press
2. 論文標題 Structural basis for noradrenergic regulation of neural circuits in the mouse olfactory bulb	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Comparative Neurology	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cne.25085	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Chen Shuo, He Linmeng, Huang Arthur J. Y., Boehringer Roman, Robert Vincent, Wintzer Marie E., Polygalov Denis, Weitemier Adam Z., Tao Yanqiu, Gu Mingxiao, Middleton Steven J., Namiki Kana, Hama Hiroshi, Therreau Ludivine, Chevaleyre Vivien, Hioki Hiroyuki, Miyawaki Atsushi, Piskorowski Rebecca A., McHugh Thomas J.	4. 巻 586
2. 論文標題 A hypothalamic novelty signal modulates hippocampal memory	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 270 ~ 274
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-020-2771-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Okamoto Shinichiro, Sohn Jaerin, Tanaka Takuma, Takahashi Megumu, Ishida Yoko, Yamauchi Kenta, Koike Masato, Fujiyama Fumino, Hioki Hiroyuki	4. 巻 23
2. 論文標題 Overlapping Projections of Neighboring Direct and Indirect Pathway Neostriatal Neurons to Globus Pallidus External Segment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101409 ~ 101409
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2020.101409	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Katayama Hiroyuki, Hama Hiroshi, Nagasawa Koji, Kurokawa Hiroshi, Sugiyama Mayu, Ando Ryoko, Funata Masaaki, Yoshida Nobuyo, Homma Misaki, Nishimura Takanori, Takahashi Megumu, Ishida Yoko, Hioki Hiroyuki, Tsujihata Yoshiyuki, Miyawaki Atsushi	4. 巻 181
2. 論文標題 Visualizing and Modulating Mitophagy for Therapeutic Studies of Neurodegeneration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell	6. 最初と最後の頁 1176 ~ 1187.e16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cell.2020.04.025	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計24件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 日置寛之、山内健太、古田貴寛
2. 発表標題 組織透明化技術を介したマクロレベルからナノレベルへのズームイン法
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋慧、岡本慎一郎、山内健太、小林朋世、小池正人、伊佐正、日置寛之
2. 発表標題 The distribution of GABAergic neuron subtypes in the mouse claustrum.
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡本和樹、上窪裕二、山内健太、岡本慎一郎、高橋慧、石田葉子、小池正人、池谷裕二、櫻井隆、日置寛之
2. 発表標題 AAV-PHP.eBベクターによる海馬CA2野特異的遺伝子導入
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山内健太、星野希沙良、石田葉子、小池正人、日置寛之
2. 発表標題 Nanobody-based Three-dimensional Immunohistochemical Detection with a Tyramide Signal Amplification Method, FT-GO.
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 日置寛之
2. 発表標題 Neuronal network structure composed of neocortical inhibitory interneurons
3. 学会等名 第10回遺伝研研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 日置寛之、山内健太、古田貴寛
2. 発表標題 Multi-Scale LM/EM Neuronal Imaging from Brain to Synapse with a Tissue Clearing Method
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山内健太、岡本慎一郎、古田貴寛、小池正人、日置寛之
2. 発表標題 蛍光チラミド増感法の開発とその応用
3. 学会等名 日本解剖学会第109回関東支部学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡本和樹、上窪裕二、山内健太、岡本慎一郎、高橋慧、石田葉子、櫻井隆、小池正人、池谷裕二、日置寛之
2. 発表標題 AAV2/PHP.eBベクターを用いた海馬CA2野選択的標識
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山内健太、岡本慎一郎、古田貴寛、小池正人、日置寛之
2. 発表標題 蛍光チラミド増感法の開発とその応用
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 日置寛之
2. 発表標題 中枢神経系のネットワーク構造解析
3. 学会等名 第8回蛍光イメージング・ミニシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西村幸司
2. 発表標題 耳科学の進歩 蝸牛神経の基礎研究 隠れ難聴の病態解明と再生研究
3. 学会等名 第122回日本耳鼻咽喉科学会・学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西村幸司、鈴木大士、長原佳菜、白馬伸洋
2. 発表標題 両側側頭骨線維性骨異形成症例
3. 学会等名 第31回日本耳科学会総会・学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小野宗範, 伊藤哲史, 堀佳江, 山木幸子, 許峰, 馬蘭蘭, 加藤伸郎
2. 発表標題 3xTgアルツハイマーモデル動物脳内のアミロイド 蓄積パターンの免疫組織学的解析
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小野宗範, 伊藤 哲史, 馬 蘭蘭, 古山 貴文, 加藤 伸郎
2. 発表標題 内耳損傷の引き起こす下丘におけるニューロンの活動性変化
3. 学会等名 日本音響学会聴覚研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小野宗範, 伊藤哲史, 馬 蘭蘭, 古山貴文, 加藤伸郎
2. 発表標題 音響外傷により惹起されるマウス下丘興奮性-抑制性ニューロン活動バランスの改変
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤 哲史, 小野 宗範, 松井 亮介, 渡邊 大, 大森 治紀
2. 発表標題 新発見の順行性経シナプスウイルスベクターを用いたニワトリ聴覚上行伝導路の解析
3. 学会等名 日本音響学会聴覚研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山内健太, 岡本慎一郎, 古田貴寛, 小池正人, 日置寛之
2. 発表標題 蛍光チラミド増感法の開発とその応用
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会・第98回日本生理学会大会(合同大会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 日置寛之, 山内健太, 古田貴寛
2. 発表標題 Multi-Scale LM/EM Neuronal Imaging from Brain to Synapse with a Tissue Clearing Method
3. 学会等名 第10回日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 日置寛之
2. 発表標題 大脳新皮質のグランドデザイン解釈を目指して
3. 学会等名 第464回医学研究の基礎を語り合う会（東京慈恵会医科大学）（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 窪田芳之、孫在隣、倉本恵梨子、ヨーゼフモハメド、日置寛之、川口泰雄
2. 発表標題 大容量電顕データセットを使った視床-大脳皮質神経終末のシナプスターゲット解析
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会（Neuroscience2020）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 日置寛之、高橋慧、山内健太
2. 発表標題 透明化技術が切り拓くバイオイメージングの新たな展開
3. 学会等名 第45回組織細胞化学講習会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊藤哲史，劉麗，古山貴文，小野宗範
2. 発表標題 機能的に同定したマウス聴覚野サブ領野への聴覚視床を経由した2シナプス経路の可視化
3. 学会等名 2020年6月度 聴覚研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西村幸司、康本明吉、大森孝一
2. 発表標題 マウス後半規管經由ウアパイン局所投与による前庭神経節への影響
3. 学会等名 第79回日本めまい平衡医学会総会・学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西村幸司
2. 発表標題 Cochlear Implants Meet Regeneration of Primary Auditory Neurons
3. 学会等名 第30回日本耳科学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 平井 宏和、日置 寛之、小林 和人	4. 発行年 2020年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 285
3. 書名 決定版 ウイルスベクターによる遺伝子導入実験ガイド	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	日置 寛之 (Hioki Hiroyuki) (00402850)	順天堂大学・医学部・教授 (32620)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	西村 幸司 (Nishimura Koji) (20405765)	帝京大学・医学部・講師 (32643)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協 力 者	小野 宗範 (Ono Munenori) (30422942)	金沢医科大学・医学部・准教授 (33303)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関