

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07231

研究課題名(和文) 高速三次元免疫組織化学法による大脳皮質抑制性介在ニューロンの網羅的形態解析

研究課題名(英文) Comprehensive morphological analysis of cortical interneurons with three dimensional immunohistochemistry

研究代表者

山内 健太 (Yamauchi, Kenta)

順天堂大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：00513079

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、パルブアルブミン陽性大脳皮質介在ニューロン(PVニューロン)の大脳皮質の領野普遍的・特異的な形態特徴を明らかにし、疾患と関連したPVニューロン細胞形態異常を探索することを目的とした。PVニューロンは大脳皮質介在ニューロンの約40%を占め、各種精神疾患への関与が示唆されている。補助事業期間中において、高速三次元免疫組織化学法を確立し、透明化処理標本での電子顕微鏡観察技術の開発に成功を収め、PVニューロンの細胞形態の完全可視化とその形態的特徴の解析を達成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的意義は大脳皮質内の重要な神経細胞であるPVニューロンの形態特徴の解析を可能にする種々の実験手法の開発に成功したことである。PVニューロンの形態特徴の詳細な解明は大脳皮質の機能や神経回路の解析に大きく貢献する。また、PVニューロンの形態異常は精神疾患への関与が示唆されている。補助事業期間中に開発した実験手法により、PVニューロンの形態的特徴と疾患との関連について新たな知見が得られ、将来的には疾患の予防や治療法の開発につながる事が期待できる。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to elucidate the universal and specific morphological features of parvalbumin-positive interneurons (PV-neurons) in the cerebral cortex and explore cellular morphological abnormalities associated with diseases. PV-neurons constitute approximately 40% of cortical interneurons and have been implicated in various psychiatric disorders. During the research grant period, the following achievements were accomplished: 1) establishment of a high-speed three-dimensional immunohistochemical method, 2) development of electron microscopic observation techniques in optically cleared brain tissues, 3) complete visualization of PV-neuron cellular morphologies and analysis of their morphological features. These achievements have the potential to contribute to the understanding of psychiatric disorders and the development of treatment methods in the future.

研究分野：神経解剖学

キーワード：大脳皮質介在ニューロン 三次元免疫組織化学 神経細胞形態 PVニューロン 組織透明化 AAVベクタ

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

脳の高次機能は大腦皮質により担われている。大腦皮質は様々な領野に区分され、各領野はそれぞれ異なる機能を分担している。大腦皮質には興奮性の投射神経細胞(皮質投射ニューロン)と抑制性の介在ニューロン(皮質介在ニューロン)とが存在する。大腦皮質内の神経演算は、これら興奮性投射ニューロンと抑制性介在ニューロンの間に形成される神経回路網により担われている。皮質介在ニューロンは多種多様な複雑な細胞形態を示す(文献1)。神経細胞の情報処理並びに情報伝達はその細胞形態により規定される。故に、大腦皮質の神経演算の原理を理解するには、皮質介在ニューロンの完全再構築を進め、その形態多様性の全貌を明らかにする必要がある。20世紀初頭のCajalによる"short axon neuron"の記述以来、その形態特徴に基づいて数十種類以上の皮質介在ニューロンが報告されてきた(文献2)。しかしながら、未だ皮質介在ニューロンの持つ形態多様性の全貌は明らかになっていない。例えば、これまでに報告されている以外の形態学的特徴を持つ皮質介在ニューロンは存在するのか?皮質領野間で形態多様度に違いはあるのか?形態特徴と分子発現にはどのような対応関係があるのか?などといった問いはようやく解明の端緒についたところである。事実ごく近年になっても、全く新しい形態特徴を示す皮質介在ニューロンの存在が報告され続けている(文献3)。

一方、各種精神疾患において皮質介在ニューロンの機能障害が指摘されており(文献4)、神経軸索や樹状突起の形成不全などといった細胞形態異常が機能障害を引き起こしている可能性がある。事実、自閉症患者において皮質介在ニューロンのサブタイプの一つであるパルプアルブミン陽性皮質介在ニューロンの樹状突起の形態異常を報告する論文もある(文献5)。

皮質介在ニューロンの形態多様性の全貌を解明することができれば、大腦皮質の神経回路や機能の解析に大きく貢献し、皮質介在ニューロンの形態的特徴と疾患との関連について新たな知見を提供することが可能となる。皮質介在ニューロンの形態多様性の全貌の解明は、将来的には精神疾患の予防や治療法の開発につながる事が期待される。

2. 研究の目的

本研究課題では、(1)「皮質介在ニューロンの領野普遍的、領野特異的な形態特徴を抽出する」、(2)「精神疾患に関連した皮質介在ニューロンの形態異常を明らかにする」の2つを研究目的とした。目的(1)では、マウス大腦皮質各領野における皮質介在ニューロンの完全再構築を行い、各領野の持つ形態多様度を抽出することを目指した。具体的には領野固有の形態特徴や、ある形態を示す介在ニューロンの各領野における確率を明らかにし、皮質介在ニューロンの形態多様度という特徴から、大腦皮質領野の普遍性と固有性について考察することを目的とした。目的(2)においては、精神疾患モデルマウスの皮質介在ニューロンを対象に細胞形態を再構築することにより、疾患と関連した細胞形態異常を探る、『形態スクリーニング』を実施し、疾患と関連する皮質介在ニューロンの形態異常を明らかにすることを目指した。

3. 研究の方法

皮質介在ニューロンはその電気生理学的特徴、細胞形態、分子発現から数十種類に分類される。本研究課題において採択者は、皮質介在ニューロンの約40%を占め、各種精神疾患への関与が示唆されているパルプアルブミン陽性皮質介在ニューロン(PV細胞)(文献6)に焦点を絞り研究を行った。具体的な研究方法の詳細を以下に記す。

(1) 高速三次元免疫組織化学法の開発

各領野における皮質介在ニューロンの形態再構築を行うには、ハイスループットで高コントラストかつ高解像度のイメージングを行う必要がある。この技術的要請に応えるため採択者は、迅速な細胞形態再構築と形態解析を可能にする三次元免疫組織化学法である『POD-nAb FT-GO/3D-IHC法』の開発に取り組んだ。

(2) PV細胞の細胞形態の完全標識法の開発

本研究では、皮質全体を通してPV細胞の細胞形態を隅々まで可視化する実験系の構築が必要不可欠となる。PV細胞の標識は、PV細胞特異的にCreリコンビナーゼを発現するマウス(PV-Creマウス)に対して、Cre存在下でのみレポータータンパクを発現するAAV(adeno-associated virus)ベクターを注入することにより行うこととした。なお、AAVベクターは発現効率が高く、細胞毒性も低いことが知られている。効率良くPV細胞の細胞形態を隅々まで可視化できるように、AAVベクターセロタイプ、レポータータンパク、POD-nAb FT-GO/3D-IHC法の染色条件の検討を行った。

(3) *post-hoc* IHC法の開発

皮質介在ニューロンの約40%を占めるPV細胞には十種類を超えるサブタイプが存在する。これらサブタイプ間では電気生理学的特徴、細胞形態、分子発現が異なる。透明化標本において細胞

形態を再構築した PV 細胞のサブタイプを同定することを目的に、観察した透明化標本から凍結切片を作成し、切り出した切片上で免疫組織化学を行う *post-hoc* IHC 法を開発した。

(4) *post-hoc* EM イメージングの開発

シナプス前部・後部の形態は神経細胞機能に大きな影響を及ぼす。超解像顕微鏡の開発が進む現在においても、シナプスを間違いなく同定するには電子顕微鏡 (EM) による観察が必要となる。よって、透明化標本において形態再構築を行った神経細胞のシナプスを観察する技術を開発することができれば、神経回路の演算原理の解明に大きく貢献するはずである。そこで透明化溶液、反応時間、反応ステップ、対象とする神経細胞の標識法、標識された細胞の染色法の開発、改良を繰り返すことにより、透明化処理を行った標本において電子顕微鏡観察を行うことのできる技術 (*post-hoc* EM イメージング法) を開発した。

(5) 大脳皮質各領野における PV 細胞の形態多様度の解明

上記(1)~(4)の実験技術を用いて大脳皮質各領野の PV 細胞の完全再構築に取り組んだ。再構築された PV 細胞の細胞形態を領野間で比較解析することにより、PV 細胞の領野普遍的な形態特徴並びに領野固有の形態特徴の抽出を目指した。

(6) 疾患モデルにおける PV 細胞形態スクリーニングの実施

疾患モデルマウスにおいて PV 細胞の完全再構築を行い、疾患と関連した PV 細胞の形態異常の探索を実施した。疾患モデルマウスと PV-Cre マウスの交配により、疾患モデルマウスの PV 細胞を特異的に標識していくには多くのマウスの交配が必要になる。そこで、新規に AAV ベクターの設計を行うことにより、PV 細胞を特異的に標識できる実験系の構築に取り組んだ。具体的には PV 細胞エンハンサー (文献 7) の制御下で膜移行シグナルを付加した蛍光タンパク質を発現する AAV ベクターを設計、作成し、その評価を行なった。また、PV 細胞エンハンサーの制御下において Cre リコンビナーゼを発現する AAV ベクターの設計、作成、評価も行なった。

4. 研究成果

補助事業期間中において、高速三次元免疫組織化学法を確立させ、PV 細胞の細胞形態の完全標識法の開発に成功した (文献 8)。加えて、*post-hoc* IHC 法による染色技術を確立させ、十種類を超える抗体に対して同手法を適用した。更には *post-hoc* EM イメージングにより、標識 PV 細胞へのシナプス入力を解析できる実験系の開発に成功し、論文報告を行なった (文献 9)。「大脳皮質各領野における PV 細胞の形態多様度の解明」と「疾患モデルにおける PV 細胞形態スクリーニングの実施」の二項目に関しては、補助事業期間終了後も継続して研究を遂行している。以下、補助事業期間中に得ることのできた研究成果の詳細を記す。

(1) 高速三次元免疫組織化学法の確立

3 日以内に 1 mm 厚のスライス標本中の神経細胞の subcellular structure までを標識できる三次元免疫組織化学法の技術『POD-nAb FT-GO/3D-IHC 法』を確立させ、学会報告を行なった (Yamauchi et al., 第 127 回 日本解剖学会総会・全国学術集会、第 45 回日本神経科学大会)。染色法の開発に用いた 1 mm 厚の脳スライスは PV 細胞の細胞形態再構築に十分な厚さである (文献 10)。採択者の開発した高速三次元免疫組織化学法は、透明化技術 Sca/eS 法に基づく三次元免疫組織化学法 (文献 11)、ペルオキシダーゼ融合ナノボディ (POD-nAb) (文献 12) 並びに採択者が独自に開発したチラミドシグナル増幅法 (TSA 法) である FT-GO 法 (文献 13) の組み合わせからなる。本手法は既存の三次元免疫組織化学法と比較して、高速、高感度の免疫染色を可能にした。前障の PV 陽性介在ニューロンに POD-nAb FT-GO/3D-IHC 法を適用することにより、同ニューロンの形態再構築に成功し、論文報告を行なった (文献 8)。

(2) PV 細胞の細胞形態の完全標識法の確立

PV 細胞の細胞形態再構築のため、遺伝子組換え動物の使用、PV 細胞エンハンサーの導入、全脳に幅広く感染する PHP.eB セロタイプの使用、レポータータンパクの検討、レポータータンパクに付加する膜移行シグナル検討を行なった。最終的には、PV-Cre マウスに対して、テトラサイクリン制御性トランス活性化因子 (tTA) を発現する AAV ベクター、Cre コンビナーゼ並びに tTA 存在下で膜移行型 EGFP を発現する AAV ベクターを定位脳手術により注入する方法が、特異的かつ高輝度で PV 細胞を標識できることを見出した (文献 8)。なお、細胞の標識密度は AAV ベクターの力価調整により最適化した。この標識法と前掲の POD-nAb FT-GO/3D-IHC 法を組み合わせ、さらに染色した脳スライスを Sca/eS 法を用いて透明化することにより PV 細胞の細胞形態再構築を実現した。神経突起が長距離伸長している場合は、複数のスライス中の形態情報を統合することにより、細胞形態の完全可視化を行なった (文献 8)。この手法を前障へと応用することにより、前障 PV 細胞の細胞形態の解析に取り組み、論文報告を行なった (文献 8)。加えて同論文において、当項目で開発した手法が前障ソマトスタチン陽性介在ニューロンの解析にも適用可能であることも示した (文献 8)。

(3) *post-hoc* IHC 法の確立

画像取得を行なった透明化標本から凍結切片を作成し (re-sectioning) 作成した切片上で免疫組織化学を行う *post-hoc* IHC 法の技術を確立させた。本手法により、透明化標本内で形態を再構築した PV 細胞のサブタイプを同定することを狙った。透明化は採択者らが開発した Sca/eSF 法を用いた (文献 9)。Sca/eSF 法は微細構造、組織内発現分子の保持に優れており、電子顕微鏡観察が可能な水準で微細構造を保持することができる透明化技術である。本手法の技術の確立のため、凍結切片の作成法、一次抗体、二次抗体の反応時間、抗体反応溶液の検討を行い、神経化学マーカー、シナプス関連分子を中心に十種類以上の抗体で染色可能な条件を見出した。

(4) *post-hoc* EM イメージング技術の確立

透明化標本中で形態再構築した細胞を電子顕微鏡観察できる *post-hoc* EM イメージングの開発に成功した (文献 9)。電子顕微鏡観察には標本中の超微細構造の保持が必要不可欠である。そのため、宮脇らにより開発された Sca/eS 法 (文献 11) の各過程を一つ一つ見直すことにより新規透明化技術である Sca/eSF 法を開発した。Sca/eSF 法は既存の透明化技術と比較して、超微細構造、組織内発現分子の保持に優れており、12~15 時間で透明化反応の全過程が終了する。Sca/eSF 法は、グルタルアルデヒドを含む固定液により固定した標本も透明化した。グルタルアルデヒド固定は超微細構造の保持に優れた固定法である。透明化標本観察では蛍光シグナルを検出することにより、電子顕微鏡観察は電子密度の差異を検出することにより行う。よって、透明化標本中で形態再構築した細胞を電子顕微鏡観察するには、これら二つのモダリティの検出に対応したプローブが必要不可欠となる。そこで採択者は、AAV ベクターによる高発現遺伝子発現システムに緑色蛍光タンパク (GFP) とアスコルビン酸ペルオキシダーゼ (APEX2) の融合タンパク (EGFP-APEX2) を搭載することにより、光学顕微鏡と電子顕微鏡との両方で効率良く目的構造物を標識できるシステムを構築した。これら技術を組み合わせることにより、反体側の脳から PV 細胞へと入力するシナプス構造を、ズームインしながらシームレスに観察することに成功した (文献 9)。現在、開発した技術を透明化標本中で形態再構築した細胞に対して適用を進めているところである。また、多くの研究者が *post-hoc* EM イメージングを容易に使用できるように、方法の詳細と実際を記した論文を二報報告した (文献 14、15)。

<引用文献>

1. Jiang et al., *Science*, 350:aac9462, 2015
2. Huang and Paul, *Nat Rev Neurosci*, 20:563-572, 2019
3. Boldog et al., *Nat Neurosci*, 21:1185-1195, 2018
4. Marin, *Nat Rev Neurosci*, 13:107-20, 2012
5. Chung et al., *Nature*, 497:332-337, 2013.
6. Tremblay et al., *Neuron*, 91:260-292, 2016
7. Vormstein-Schneider et al., *Nat Neurosci*, 23:1629-1636, 2020
8. Takahashi et al., *Neurosci Res*, 190:92-106, 2023
9. Furuta et al., *iScience*, 25:103601, 2022
10. Stepanyants et al., *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106:3555-60, 2009
11. Hama et al., *Nat Neurosci*, 18:1518-1529, 2015
12. Yamagata and Sanes, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 115:2126-2131, 2018
13. Yamauchi et al., *Sci Rep*, 12:14807, 2022
14. Yamauchi et al., *J Vis Exp*, 183:e63941, 2022
15. Yamauchi et al., *STAR Protoc*, 3:101508, 2022

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Yamauchi Kenta, Okamoto Shinichiro, Ishida Yoko, Konno Kohtarou, Hoshino Kisara, Furuta Takahiro, Takahashi Megumu, Koike Masato, Isa Kaoru, Watanabe Masahiko, Isa Tadashi, Hioki Hiroyuki	4. 巻 12
2. 論文標題 Fluorochromized tyramide-glucose oxidase as a multiplex fluorescent tyramide signal amplification system for histochemical analysis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 14807 ~ 14807
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-19085-9	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 Yamauchi Kenta, Furuta Takahiro, Okamoto Shinichiro, Takahashi Megumu, Koike Masato, Hioki Hiroyuki	4. 巻 3
2. 論文標題 Protocol for multi-scale light microscopy/electron microscopy neuronal imaging in mouse brain tissue	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 STAR Protocols	6. 最初と最後の頁 101508 ~ 101508
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xpro.2022.101508	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 Yamauchi Kenta, Okamoto Shinichiro, Takahashi Megumu, Koike Masato, Furuta Takahiro, Hioki Hiroyuki	4. 巻 183
2. 論文標題 A Tissue Clearing Method for Neuronal Imaging from Mesoscopic to Microscopic Scales	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Visualized Experiments	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) 10.3791/63941	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 Kazuki, Kamikubo Yuji, Yamauchi Kenta, Okamoto Shinichiro, Takahashi Megumu, Ishida Yoko, Koike Masato, Ikegaya Yuji, Sakurai Takashi, Hioki Hiroyuki	4. 巻 13
2. 論文標題 Specific AAV2/PHP.eB-mediated gene transduction of CA2 pyramidal cells via injection into the lateral ventricle	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 323 ~ 323
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-27372-8	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 Megumu, Kobayashi Tomoyo, Mizuma Haruhi, Yamauchi Kenta, Okamoto Shinichiro, Okamoto Kazuki, Ishida Yoko, Koike Masato, Watanabe Masahiko, Isa Tadashi, Hioki Hiroyuki	4. 巻 190
2. 論文標題 Preferential arborization of dendrites and axons of parvalbumin- and somatostatin-positive GABAergic neurons within subregions of the mouse claustrum	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 92 ~ 106
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2022.11.008	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 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 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 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 日置寛之、山内健太、古田貴寛	4. 巻 486
2. 論文標題 組織透明化技術を介したマクロスケールからナノスケールへのズームイン	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 OplusE	6. 最初と最後の頁 371～374
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 無
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14件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

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 ナノボディをチラミドシグナル増感法により検出する三次元免疫組織化学法の開発
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋 慧、小林 朋世、岡本 慎一郎、山内 健太、岡本 和樹、小池 正人、伊佐 正、日置 寛之、
2. 発表標題 マウス前障におけるGABA作動性神経細胞の形態学的解析
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋 慧、小林 朋世、水間 温日、岡本 慎一郎、山内 健太、岡本 和樹、小池 正人、渡辺 雅彦、伊佐 正、日置 寛之
2. 発表標題 Preferential arborization of dendrites and axons of parvalbumin- and somatostatin-positive GABAergic neurons within subregions of the mouse claustrum
3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 有馬 洋道、岡本 和樹、高橋 慧、山内 健太、田中 良弥、小池 正人、日置 寛之
2. 発表標題 前脳基底部のコリン作動性およびGABA作動性ニューロン軸索の投射先解析
3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高橋 慧、小林 朋世、水間 温日、岡本 慎一郎、山内 健太、岡本 和樹、小池 正人、渡辺 雅彦、伊佐 正、日置 寛之
2. 発表標題 マウス前障におけるGABA作動性神経細胞の形態学的解析
3. 学会等名 日本解剖学会第110回関東支部学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kenta Yamauchi, Shinichiro Okamoto, Takahiro Furuta, Masato Koike, Hiroyuki Hioki
2. 発表標題 FT-GO: a multiplex fluorescent tyramide signal amplification system for histochemical analysis.
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会 / CJK第1回国際会議 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kenta Yamauchi, Shinichiro Okamoto, Takahiro Furuta, Masato Koike, Hiroyuki Hioki
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 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 Hiroyuki Hioki, Kenta Yamauchi, Takahiro Furuta
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 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
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kazuki Okamoto, Yuji Kamikubo, Kenta Yamauchi, Shinichiro Okamoto, Megumu Takahashi, Yoko Ishida, Takashi Sakurai, Masato Koike, Yuji Ikegaya, Hiroyuki Hioki
2. 発表標題 Hippocampal CA2 labeling with an AAV2/PHP.eB vector
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会 / CJK第1回国際会議（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Megumu Takahashi, Shinichiro Okamoto, Kenta Yamauchi, Tomoyo Kobayahi, Masato Koik, Tadashi Isa, Hiroyuki Hioki
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 Kenta Yamauchi, Shinichiro Okamoto, Takahiro Furuta, Hiroyuki Hioki
2. 発表標題 FT-G0: a Fluorescent Tyramide Signal Amplification System for Cytochemical and Histochemical Analysis.
3. 学会等名 第126回 日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 Kenta Yamauchi, Megumu Takahashi, Hiroyuki Hioki	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 10
3. 書名 Application of a tissue clearing method for the analysis of dopaminergic axonal projections. In: Experimental Models of Parkinson's Disease: Methods in Molecular Biology (Ed: Y. Imai)	

1. 著者名 日置寛之、高橋慧、山内健太	4. 発行年 2021年
2. 出版社 学際企画	5. 総ページ数 18
3. 書名 組織透明化技術の基礎と実践. 組織細胞化学 2021	

1. 著者名 日置寛之、高橋慧、山内健太	4. 発行年 2020年
2. 出版社 学際企画	5. 総ページ数 12
3. 書名 組織透明化技術の基本から応用まで：組織細胞化学 2020	

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------