

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：20K07743

研究課題名(和文) 光顕・電顕相関観察法の確立に基づく脳内 -シヌクレイン凝集体伝播機構の解明

研究課題名(英文) Correlative light and electron microscopy (CLEM) to identify propagating synuclein aggregates in the brain

研究代表者

小池 正人 (Koike, Masato)

順天堂大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：80347210

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：野性型マウスにおいて -シヌクレインフィブリルを線条体に注入し、リン酸化 -シヌクレインの局在を経時的に観察したところ、注入4週後では線条体で多くの点状・線維状の凝集体が見られるようになり、新皮質や黒質でも円形の凝集体が観察された。光顕免疫組織科学、免疫電顕により、新皮質の円形の凝集体の多くは神経細胞体に蓄積している構造物であることが示唆された。p62-GFP ノックインマウスにおいても野性型マウスと同様の注入を行い刑事敵に検討した。注入後4ヶ月でGFP陽性のシグナルがリン酸化 -シヌクレインの局在と一致することが免疫組織化学で確認されたが、GFPの蛍光そのものの観察は困難であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

-シヌクレインのオリゴマーを動物脳局所へ注入後、リン酸化 -シヌクレイン陽性の凝集体の陽性領域を経時的に評価する in vivo の伝播モデルは、パーキンソン病における病理学的進展機構を明らかにする上で有用である。本研究課題においては、in vivo の実験系の入口にあたるオリゴマー注入と出口の伝播後の凝集体検出の間を繋ぐ凝集体伝播の途中の過程に関する経時変化について光学顕微鏡レベルのみならず、電子顕微鏡レベルで詳細に検討を行うことに成功した。以上の成果はパーキンソン病における新たなバイオマーカーを見出すことに繋がる所見である。以上が研究成果の学術的、社会的意義である。

研究成果の概要(英文)：To investigate the time-course of phosphorylated alpha synuclein localization, wild-type mice were sacrificed at 1, 4, 8, and 16 weeks after injection of mouse alpha-synuclein fibril. Many dotted or fibril phosphorylated alpha synuclein-positive structures were observed in the ipsilateral striatum at 4 weeks after injection. At this stage, round-shaped alpha synuclein-positive aggregates were observed in the cortex and substantia nigra. These round-shaped aggregates were mainly localized in the neuronal perikarya, which was confirmed by pre-embedding immunoelectron microscopy. We also investigated the time-course of phosphorylated alpha synuclein localization in p62-GFP knock-in mice. We confirmed colocalization of GFP signals with phosphorylated alpha synuclein by immunohistochemistry. However, GFP fluorescence were too weak to observe directly under the confocal laser microscope.

研究分野：神経解剖学

キーワード：パーキンソン病 -シヌクレイン 凝集体 伝播モデル p62

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

α -シヌクレイン (α -SYN) オリゴマーのマウス脳局所への注入による凝集体伝播モデルはパーキンソン病の病態進展を反映するモデルとして広く利用されている。しかし、神経回路を伝播中の凝集体の動態については不明な点が残されており、細胞間の伝播機構は諸説あるのが現状である。その理由の一つに、in vivo の実験系の入口にあたるオリゴマー注入と出口の伝播後の凝集体検出の間を繋ぐ凝集体伝播の途中の過程を直接的に捉える方法が十分に確立されていないことが挙げられる。

2. 研究の目的

細胞内タンパク質凝集体のマーカーである p62/SQSTM1 の動態に着目し、凝集体の蛍光による可視化が可能な p62-GFP ノックイン (p62-GFP KI) マウス (Eino et al., *J Cell Sci* 2015) を用いて α -シヌクレイン伝播モデルを作成する。凝集に見られる GFP の蛍光を指標として、経時的な観察により同一部位の光顕・電顕相関観察により、凝集体を超微形態レベルで明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) α -SYN の原線維化

2 mg/ml となるように PBS で溶解させたマウスの α -SYN (ANASPEC) を 5 日間、37°C、1200 rpm で振盪することにより、原線維化させた (α -SYN PFFs)。その後 3 μ l ずつ分注し、使用するまで -80°C で保存した。

(2) 原線維化 α -SYN PFFs の断片化

-80°C で保存していた α -SYN PFFs を室温で融解させ、ソニケーター (BRANSON Sonifier 250 Advanced) を用いて断片化した。断片化の条件は以下の通りである：output, 30; duty cycle, constant; 30 秒の ON period と 30 秒の OFF period を 3 回繰り返す。

(3) 断片化 α -SYN PFFs のマウス線条体注入

8 週齢以降の p62-GFP KI マウスないし、野生型マウス (C57BL/6) に 4% イソフルランで吸入麻酔を施し、マウスを脳定位固定装置に保定した。その後頭部の皮膚を切開し、目的の脳部位 (bregma より前方に 0.5 mm、側方に 2.0 mm、腹側に 2.5 mm) 上の頭蓋骨をドリルで除去した。上記の脳部位に 2.5 μ l の断片化 α -SYN PFFs を圧注入した。

(4) 断片化 α -SYN PFFs 注入マウス脳の固定と薄切

所定の生存期間の後 (2 週~16 週)、マウスにペントバルビタール 0.6 ml を腹腔注射した。その後 20 ml の PBS、20 ml の 4% パラホルムアルデヒド液で灌流固定を施した。取り出した脳はさらに 4% パラホルムアルデヒド液で一晩後固定した。後固定した脳はマイクローム (Leica VT1200) を用いて 50 μ m の厚みで薄切した。

(5) 抗体を用いたリン酸化 α -SYN の可視化と観察

線条体、新皮質、黒質を含む 50 μ m の切片をウサギ抗リン酸化 α -SYN 抗体 (1/200 希釈、abcam) 溶液に 1 晩振盪し、その後 AlexaFluor488 付加ロバ抗ウサギ IgG (1/200 希釈、Invitrogen) 溶液に 2 時間振盪したのち、スライドガラスに包埋した。

また、切片によってはリン酸化 α -SYN に加えて下記の抗体を用いて多重染色を行った。それぞれの使用濃度は以下の通りである：マウス抗 NeuN 抗体 (1/200 希釈、Sigma-Aldrich)、マウス抗 TH 抗体 (1/100 希釈、Sigma-Aldrich)、マウス抗 DARPP32 抗体 (1/50、Santa Cruz)、モルモット抗 VGLUT1 抗体 (1/200 希釈、フロンティア)、ヤギ抗 Iba1 抗体 (1/400 希釈、富士フイルム)、モルモット抗 GFAP 抗体 (1/200 希釈、フロンティア)、ニワトリ抗 GFP 抗体 (1/50 希釈、Aves Labs)。

包埋した切片は蛍光顕微鏡 (BX51, Olympus) や共焦点レーザー顕微鏡 (SP5, Leica) で観察・解析した。

(6) 透過型電子顕微鏡観察によるリン酸化 α -SYN の細胞内局在解析

新皮質を含む 50 μ m の切片をウサギ抗リン酸化 α -SYN 抗体 (1/200 希釈) 溶液に 1 晩振盪し、その後ビオチン付加ロバ抗ウサギ IgG (1/100 希釈、Jackson ImmunoResearch) 溶液に 1 晩振盪した。続けてその切片を 1% グルタルアルデヒド溶液で 10 分間固定したのち、切片内のビオチンにペルオキシダーゼを付加し (ABC-Elite, Vector Laboratories)、そこに DAB を沈着させた。その後、オスミウム固定、ウラン染色ののち切片を脱水し、最終的にエポキシ樹脂に包埋した。樹脂包埋した標本から 70 nm の超薄切片を作製し、透過型電子顕微鏡 (HT7700, HITACHI) で観察した。

4. 研究成果

(1) 野性型マウスにおける断片化 α -SYN PFFs 注入後のリン酸化 α -SYN の局在の経時的変化
断片化 α -SYN PFFs を線条体に注入して所定の生存期間を経過したマウス脳内のリン酸化 α -SYN の局在を観察したところ、注入 2 週間ですでに線条体で点状や線維状のリン酸化 α -SYN 凝集体が見られることが分かった。加えて、新皮質や黒質では線維状の凝集体が丸まったような円形の構造体も観察された。注入 4 週間では線条体で多くの点状・線維状の凝集体が見られるようになり、新皮質や黒質でも円形の凝集体が頻繁に観察されるようになった。注入 8 週間では線条体で観察される凝集体の数は減少したが、新皮質や黒質ではさらに円形の凝集体の数は増加した。注入 16 週間では円形の凝集体が線条体でも観察されるようになった (図 1)。

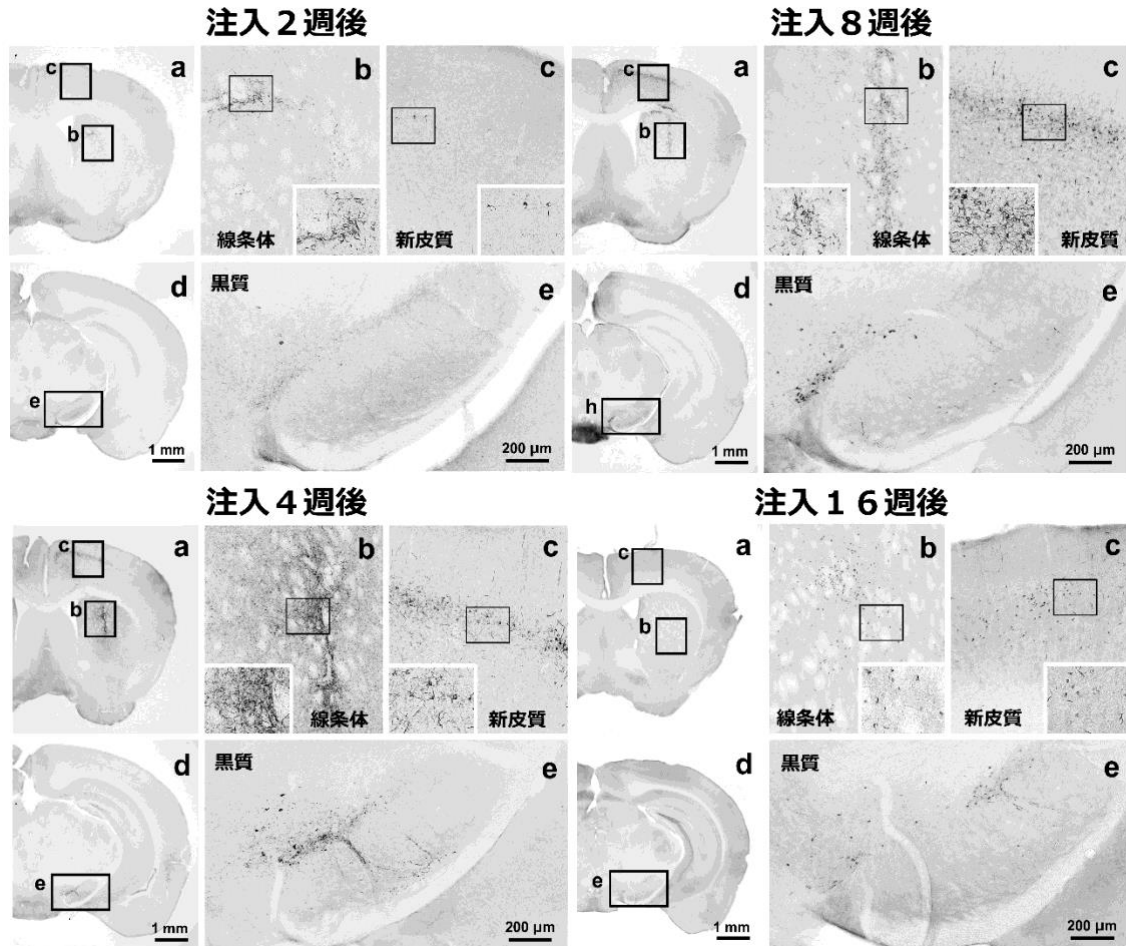
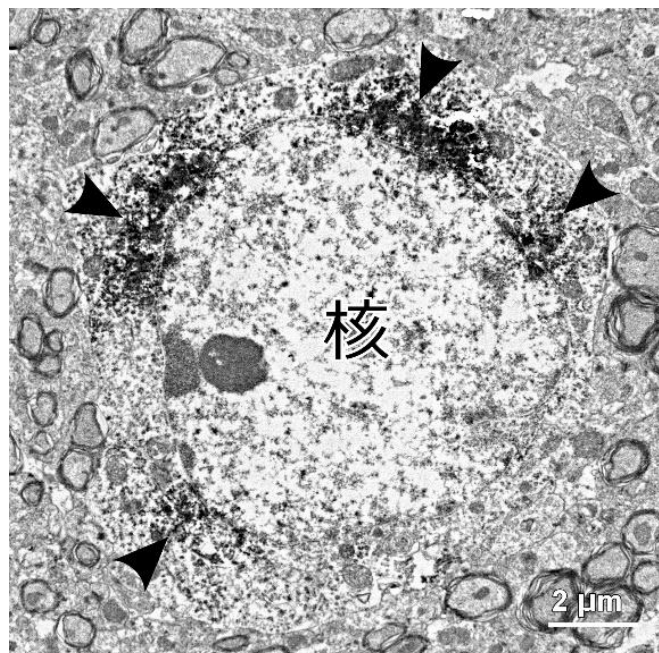


図 1. 断片化 α -SYN PFFs 注入後のリン酸化 α -SYN の脳内局在 (野性型マウス)

(2) 上記の経時的変化解析により、様々な形状の凝集体が観察されることが分かった。そこで私たちはまず、円形の凝集体がどこに局在しているのかを、各種抗体を用いて注入 16 週後のマウス脳で調べた。その結果新皮質の円形の凝集体の多くは NeuN と、黒質、線条体のものは、それぞれ TH、DARPP32 と共存することが分かった。さらに私たちはリン酸化 α -SYN の局在を電子顕微鏡で調べ、新皮質の細胞の核周囲細胞質でそのシグナルが検出されるのを確認した (図 2)。これらのことから、円形の凝集体は細胞体内に蓄積している構造物であることが分かった。

図 2. 注入 16 週後のマウス新皮質の細胞の細胞体で観察されるリン酸化 α -SYN のシグナル (矢頭)



(3) 続けて私たちは、線条体で多く見られる点状・線維状の凝集体がどこに蓄積しているのかを調べるために、各種マーカータンパク質との多重染色を行った。初めに興奮性細胞軸索終末マーカーである VGLUT1 との多重染色を行い線条体を観察したところ、点状の凝集体の一部が共局在することが分かった。さらに TH との多重染色を行ったところ、線維状の凝集体の一部が共局在することも分かった。これらの結果は、リン酸化 α -SYN 凝集体は神経細胞を逆行性に伝播していくことを支持している。私たちはさらにマイクログリアマーカー (Iba1) やアストロサイトマーカー (GFAP) との多重染色を行い線条体を観察したが、それらと凝集体との共存は確認されなかった (図 3)。

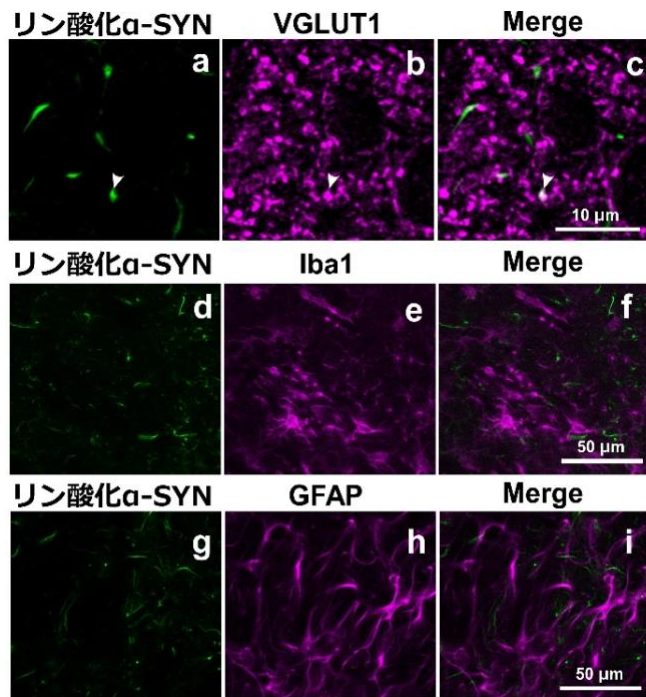


図 3. 各凝集体のニューロン、各種グリアにおける局在 (野性型マウス)

(4) p62-GFP KI マウスへの断片化 α -SYN PFFs 注入後モデルの利用

(1)、(2)の結果に基づき、p62-GFP KI マウスに断片化 α -SYN PFFs を線条体に注入し、マウス脳内のリン酸化 α -SYN の局在を経時的に観察した。しかし、リン酸化 α -SYN 陽性の凝集体は免疫染色により GFP 陽性であることは確認されたものの、GFP そのものの蛍光を直接観察することは困難であった。

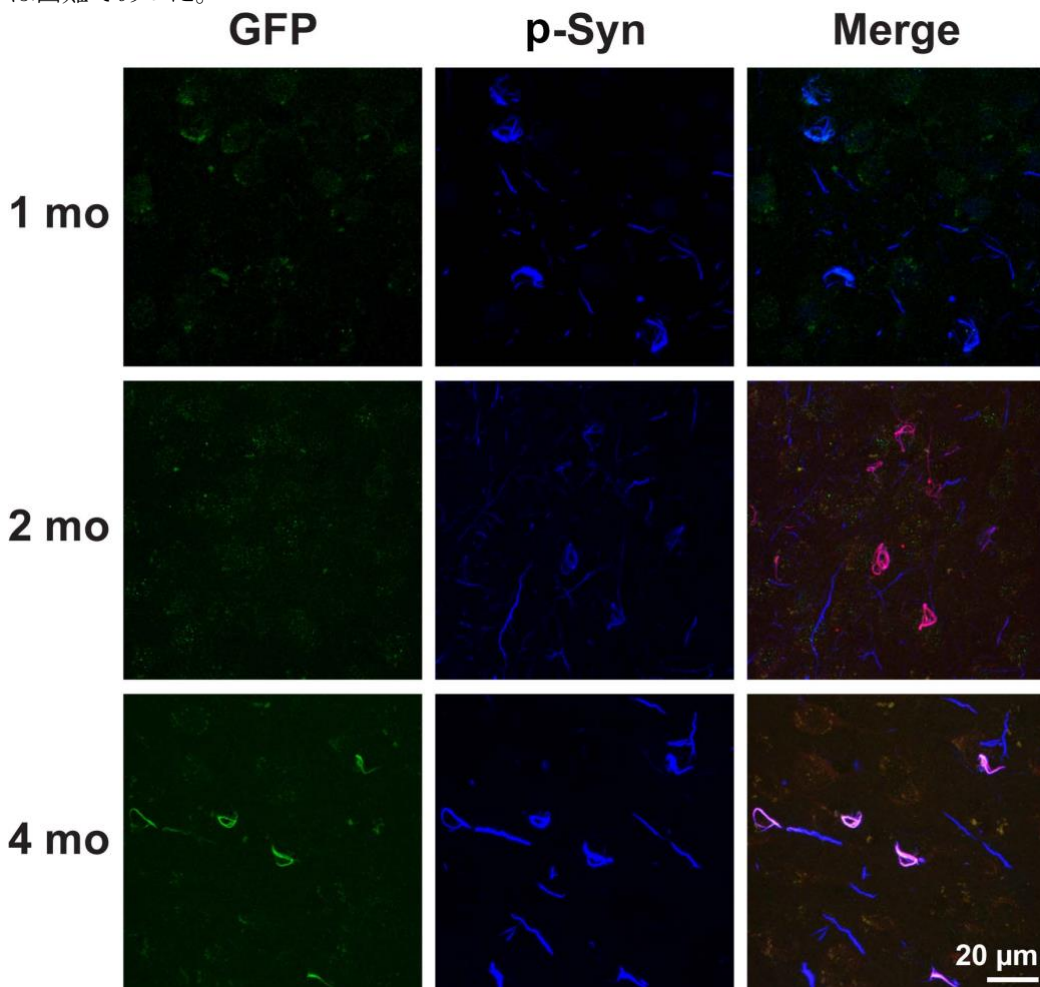


図 4. p62-GFP KI マウスに断片化 α -SYN PFFs を線条体に注入後の、p62-GFP とリン酸化 α -SYN の共局在

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計23件（うち査読付論文 22件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Parajuli Laxmi Kumar, Koike Masato	4. 巻 15
2. 論文標題 Three-Dimensional Structure of Dendritic Spines Revealed by Volume Electron Microscopy Techniques	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroanatomy	6. 最初と最後の頁 627368
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnana.2021.627368	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 Ikeda Yuri, Wada Akino, Hasegawa Toshio, Yokota Mutsumi, Koike Masato, Ikeda Shigaku	4. 巻 16
2. 論文標題 Melanocyte progenitor cells reside in human subcutaneous adipose tissue	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0256622
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0256622	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 Faruk Mohammad Omar, Ichimura Yoshinobu, Kageyama Shun, Komatsu-Hirota Satoko, El-Gowily Afnan H., Sou Yu-shin, Koike Masato, Noda Nobuo N., Komatsu Masaaki	4. 巻 297
2. 論文標題 Phase-separated protein droplets of amyotrophic lateral sclerosis-associated p62/SQSTM1 mutants show reduced inner fluidity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 101405 ~ 101405
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2021.101405	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 小池 正人	4. 巻 56
2. 論文標題 徳安法の基礎と応用	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 顕微鏡	6. 最初と最後の頁 131 ~ 138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11410/kenbikyo.56.3_131	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 Sakano Daisuke, Inoue Airi, Enomoto Takayuki, Imasaka Mai, Okada Seiji, Yokota Mutsumi, Koike Masato, Araki Kimi, Kume Shoen	4. 巻 10
2. 論文標題 Insulin2Q104del (Kuma) mutant mice develop diabetes with dominant inheritance	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12187
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-68987-z	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 Parajuli Laxmi Kumar, Wako Ken, Maruo Suiki, Kakuta Soichiro, Koike Masato	4. 巻 530
2. 論文標題 Unique synaptic topography of crest-type synapses in the interpeduncular nucleus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 130 ~ 135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.06.046	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 Parajuli Laxmi Kumar, Wako Ken, Maruo Suiki, Kakuta Soichiro, Taguchi Tomoyuki, Ikuno Masashi, Yamakado Hodaka, Takahashi Ryosuke, Koike Masato	4. 巻 7
2. 論文標題 Developmental Changes in Dendritic Spine Morphology in the Striatum and Their Alteration in an A53T -Synuclein Transgenic Mouse Model of Parkinson's Disease	5. 発行年 2020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.0072-20.2020	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 Parajuli Laxmi Kumar, Urakubo Hidetoshi, Takahashi-Nakazato Ai, Ogelman Roberto, Iwasaki Hirohide, Koike Masato, Kwon Hyung-Bae, Ishii Shin, Oh Won Chan, Fukazawa Yugo, Okabe Shigeo	4. 巻 7
2. 論文標題 Geometry and the Organizational Principle of Spine Synapses along a Dendrite	5. 発行年 2020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.0248-20.2020	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 該当する

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 Choong Chi-Jing, Okuno Tatsusada, Ikenaka Kensuke, Baba Kousuke, Hayakawa Hideki, Koike Masato, Yokota Mutsumi, Doi Junko, Kakuda Keita, Takeuchi Toshihide, Kuma Akiko, Nakamura Shuhei, Nagai Yoshitaka, Nagano Seiichi, Yoshimori Tamotsu, Mochizuki Hideki	4. 巻 -
2. 論文標題 Alternative mitochondrial quality control mediated by extracellular release	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Autophagy	6. 最初と最後の頁 1~13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15548627.2020.1848130	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 Naoya Yuizumi, Yujin Harada, Takaaki Kuniya, Takehiko Sunabori, Masato Koike, Masaki Wakabayashi, Yasushi Ishihama, Yutaka Suzuki, Daichi Kawaguchi, Yukiko Gotoh	4. 巻 -
2. 論文標題 Maintenance of neural stem progenitor cells by the lysosomal biosynthesis regulators TFEB and TFE3 in the embryonic mouse telencephalon	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Stem Cells	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) 10.1002/stem.3359	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 Yokota Mutsumi, Kakuta Soichiro, Shiga Takahiro, Ishikawa Kei-ichi, Okano Hideyuki, Hattori Nobutaka, Akamatsu Wado, Koike Masato	4. 巻 14
2. 論文標題 Establishment of an in vitro model for analyzing mitochondrial ultrastructure in PRKN-mutated patient iPSC-derived dopaminergic neurons	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Brain	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) 10.1186/s13041-021-00771-0	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 Maruyama Kazuichi, Yoneda Kazuhito, Sugita Sunao, Yamamoto Yoshimi, Koike Masato, Peters Christoph, Uchiyama Yasuo, Nishida Kohji	4. 巻 10
2. 論文標題 CTLA-2 Alpha Is a Potent Inhibitor of Angiogenesis in Murine Ocular Tissue	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Antioxidants	6. 最初と最後の頁 456~456
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/antiox10030456	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 Watanabe Kengo, Morishita Kazuhiro, Zhou Xiangyu, Shiizaki Shigeru, Uchiyama Yasuo, Koike Masato, Naguro Isao, Ichijo Hidenori	4. 巻 12
2. 論文標題 Cells recognize osmotic stress through liquid-liquid phase separation lubricated with poly(ADP-ribose)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	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) 10.1038/s41467-021-21614-5	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 De Maziere Ann, van der Beek Jan, van Dijk Suzanne, de Heus Cecilia, Reggiori Fulvio, Koike Masato, Klumperman Judith	4. 巻 18
2. 論文標題 An optimized protocol for immuno-electron microscopy of endogenous LC3	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Autophagy	6. 最初と最後の頁 3004 ~ 3022
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15548627.2022.2056864	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 Yamauchi Kenta, Okamoto Shinichiro, Takahashi Megumu, Koike Masato, Furuta Takahiro, Hioki Hiroyuki	4. 巻 -
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 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 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 -
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 Sou Yu shin, Yamaguchi Junji, Kameda Hiroshi, Masuda Keisuke, Maeda Yusuke, Uchiyama Yasuo, Koike Masato	4. 巻 596
2. 論文標題 GPHR mediated acidification of the Golgi lumen is essential for cholesterol biosynthesis in the brain	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 FEBS Letters	6. 最初と最後の頁 2873 ~ 2888
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.14491	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 小池正人	4. 巻 73
2. 論文標題 パーキンソン病とリソソーム	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 生体の科学	6. 最初と最後の頁 256 ~ 260
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37件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 横田睦美、角田宗一郎、吉野佑太郎、志賀孝宏、石川景一、岡野栄之、服部信孝、赤松和土、小池正人
2. 発表標題 Ultrastructural analysis of GFP-labeled dopaminergic neurons derived from control and PRKN-mutated patient TH-GFP iPSC lines
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会 CJK第1回国際会議
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 Hippocampal CA2 labeling with an AAV2/PHP.eB vector. (AAV2/PHP
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会 CJK第1回国際会議
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 FT-G0: 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
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小池正人
2. 発表標題 各種免疫電子顕微鏡法の実践
3. 学会等名 第46回組織細胞化学講習会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横田睦美、角田宗一郎、吉野佑太郎、志賀孝宏、石川景一、岡野栄之、服部信孝、赤松和土、小池正人
2. 発表標題 PRKN変異患者ドパミン神経細胞におけるミトコンドリアスフェロイド化応答の電子顕微鏡解析
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 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 吉野佑太郎、横田睦美、角田宗一郎、志賀孝宏、石川景一、岡野栄之、服部信孝、赤松和土、小池正人
2. 発表標題 PRKN変異患者ドパミン神経細胞におけるミトコンドリア小胞体間接触の解析
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 曾友深、前田祐輔、木下タロウ、小池正人
2. 発表標題 ゴルジ体酸性環境が担う適切な糖鎖修飾の変化がリソソームに与える影響
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 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 小池正人、北村絵里、平山貴士、砂堀毅彦、亀田浩司、日置寛之、竹田省、板倉敦夫
2. 発表標題 Susceptibility of subregions of prefrontal cortex and corpus callosum to damage by oxytocin-induced labor in male neonatal mice
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 横田睦美、角田宗一郎、吉野佑太郎、志賀孝宏、石川景一、岡野栄之、服部信孝、赤松和土、小池正人
2. 発表標題 TH-GFP iPS 細胞を用いたGFP陽性ドパミン神経細胞のRNAseq解析
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、Kisara Hoshino、Yoko Ishida、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 田口智之、生野真嗣、本堂茉莉、Laxmi Kumar Parajuli、田口勝敏、上田潤、澤村正典、奥田真也、中西悦郎、原淳子、上村紀仁、畑中悠佑、綾木孝、松澤秀一、田中雅樹、小池正人、柳沢正史、上村麻衣子、山門穂高、高橋良輔
2. 発表標題 前駆期パーキンソン病モデルマウスの作成
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 横田睦美、角田宗一郎、志賀孝宏、石川景一、服部信孝、赤松和土、小池正人
2. 発表標題 iPS 細胞由来GFP標識ドーパミン神経細胞の光顕-電顕相関観察
3. 学会等名 第108回日本解剖学会・関東支部学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 曾高友深、小池正人
2. 発表標題 小脳神経系におけるゴルジ体酸性環境の重要性
3. 学会等名 第108回日本解剖学会・関東支部学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Parajuli LK、Wako K、Maruo S、Kakuta S、Koike M
2. 発表標題 Unique synaptic topography of crest-type synapses in the interpeduncular nucleus
3. 学会等名 第108回日本解剖学会・関東支部学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Parajuli LK, Wako K, Maruo S, Takahashi R, Koike M
2. 発表標題 Developmental changes in dendritic spine morphology in the striatum and their alteration in an A53T alpha-synuclein transgenic mouse model of Parkinson's disease
3. 学会等名 第108回日本解剖学会・関東支部学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 日置寛之、岡本慎一郎、孫在隣、田中琢真、高橋慧、石田葉子、山内健太、古田貴寛、小池正人、藤山文乃
2. 発表標題 Overlapping Projections of Neighboring Direct and Indirect Pathway Neostriatal Neurons to Globus Pallidus External Segment
3. 学会等名 第108回日本解剖学会・関東支部学術集会
4. 発表年 2020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・全国学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横田睦美、角田宗一郎、吉野佑太郎、志賀孝宏、石川景一、岡野 栄之、服部信孝、赤松和土、小池正人
2. 発表標題 PARK2 iPS細胞由来ドーパミン神経細胞における酸化ストレス下ミトコンドリア形態変化の電子顕微鏡観察
3. 学会等名 第126回日本解剖学会・全国学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 曾高友深、前田裕輔、木下タロウ、小池正人
2. 発表標題 ゴルジ体酸性環境による糖鎖修飾の制御メカニズム
3. 学会等名 第126回日本解剖学会・全国学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小池正人
2. 発表標題 PRKN変異患者iPS細胞由来GFP標識ドパミン神経細胞の超微形態学的解析
3. 学会等名 日本顕微鏡学会第78回学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 有馬洋道、岡本和樹、高橋慧、小池正人、日置寛之
2. 発表標題 マイネルト基底核コリン作動性ニューロン軸索の単一細胞レベル解析
3. 学会等名 第45回日本神経科学学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 亀田浩司、岡本慎一郎、小池正人
2. 発表標題 Temporal changes of subcellular locations of alpha-synuclein aggregates in mice
3. 学会等名 第45回日本神経科学学会
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回日本神経科学学会
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 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回日本神経科学学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡本和樹、小池正人、日置寛之
2. 発表標題 海馬において興奮は長軸に、抑制は短軸に伝わる
3. 学会等名 第45回日本神経科学学会
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 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110回日本解剖学会関東支部学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 曾友深、前田裕輔、小池正人
2. 発表標題 脳神経系におけるコレステロール生合成とゴルジ体酸性pH
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 横田睦美、吉野佑太郎、小池正人
2. 発表標題 TH-GFP iPS細胞由来ドパミン神経細胞のミトコンドリアカルシウムイメージング
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 増田啓祐、曾友深、小池正人
2. 発表標題 レチノイン酸誘導神経細胞分化におけるゴルジ体酸性pHの役割
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 亀田浩司、岡本慎一郎、小池正人
2. 発表標題 アルファシヌクレイン凝集体伝播の神経細胞種特異性における解析
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 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 小林朋世、高橋慧、小池正人、日置寛之
2. 発表標題 背側縫線核外側部に存在するセロトニン神経細胞およびGABA作動性神経細胞の投射様式
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 水間温日、高橋慧、小池正人、日置寛之
2. 発表標題 運動性視床ニューロンに対する興奮性および抑制性シナプス入力様式の解析
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 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

〔図書〕 計1件

1. 著者名 小池正人	4. 発行年 2021年
2. 出版社 学際企画	5. 総ページ数 254
3. 書名 「各種免疫電子顕微鏡法の実践」組織細胞化学2021	

〔産業財産権〕

〔その他〕

順天堂大学大学院医学系研究科神経機能構造学 https://juntendo-cellbio.jp/
--

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	波田野 琢 (Hatano Taku) (60338390)	順天堂大学・大学院医学研究科・准教授 (32620)	

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