

Title	電子顕微鏡によって中枢神経系の「神経活動」をイメージングする
Sub Title	Visualizing the active neural circuit with electron microscopy
Author	芝田, 晋介 (Shibata, Shinsuke)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2019
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2018.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>これまでの電子顕微鏡による解析は、生体から組織を取り出し固定された時点での形態観察を目的として行われてきた。しかし機能的な側面にフォーカスした電子顕微鏡による解析は十分に行われていたとは言えない。脳内には活動性の高い神経細胞と、活動性の低い神経細胞が混在するが、重要な神経回路は活発な神経細胞同士が連結されて神経回路が形成されている。神経活動が活発な神経はエネルギーを多量に消費するため、それに見合うエネルギーを細胞内で産生する必要がある。かつて構造のみを観察する装置であった磁気共鳴装置MRIを使って、小川らは1992年に血流の変化と神経活動の相関に着目し、活発に神経活動している領域を血流の変化をヒントに可視化することに成功し磁気共鳴機能画像法 (fMRI ; functional MRI) と名付けられて世の中で広く一般的に用いられるようになった。この発想を生かし、エネルギー産生および神経情報伝達に関わる細胞内小器官の個数を並行して電子顕微鏡にてイメージングする新技術の開発に取り組んだ。</p> <p>今年度は、電子顕微鏡にて観察可能な、形態的にも機能面と深く関わりのある細胞内小器官の個数や活性化状態に注目し、活動中の神経回路可視化のために、蛍光による活性化状態の標識方法の確立に取り組んだ。神経活動に応じて増加する蛋白への抗体染色と、活性化神経を標識する新規手法の並行実施を行い、比較解析を行い、比較的良好な相関関係を現在までのところ定性的に得ることが出来た。今後は、電子顕微鏡にて観察可能な形態的な変化との相関を確認し、活発にエネルギーを消費し活動する神経細胞を含む回路構造を特異的にラベルする方法を定量的に解析したいと考えている。</p> <p>The purpose of electron microscope analysis is to carry out for observing the morphology at the time when the tissue was fixed just after removed from the animal. It is true that the functional analysis by the electron microscope was not addressed sufficiently. Brain is composed from mixture of activated and inactivated neurons, but activated important neuronal circuits are formed between activated neurons. Since neurons with higher nerve activity require a lot of energy, it is necessary to produce larger amount of energy corresponding to that energy consumption. Ogawa and colleagues reported in 1992 that the correlation between blood flow change and nerve activity using the magnetic resonance imaging (MRI), which was previously used only for the structural observation. As a result, the functional magnetic resonance imaging (fMRI) has been widely and commonly used in the world for visualization of the functional neural circuit. Adopting these concepts, we recently tried to develop a new technology imaging the number and condition of intracellular organelles those are deeply involved in energy production in the brain by electron microscope. In this fiscal year for this project, we tried to establish a labeling procedure in the state of neuron by using fluorescence staining and also by using electron microscope. We focused on the number and activation state of intracellular organelles those were closely related each other, observed with a fluorescence microscopy and also with an electron microscopy. It was possible to obtain a certain correlation between the antibody staining result and new labeling procedure to visualize the state of neural circuit. We would like to confirm the relationship between the morphological changes that can be observed with an electron microscope and the specifically labeled structure by fluorescence microscope to identify the active neural circuit in near future.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2018000005-20180325

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部附属電子顕微鏡研究室	職名	専任講師	補助額	500（特B）千円
	氏名	芝田 晋介	氏名（英語）	Shinsuke Shibata		
研究課題（日本語）						
電子顕微鏡によって中枢神経系の「神経活動」をイメージする						
研究課題（英訳）						
Visualizing the active neural circuit with electron microscopy						
1. 研究成果実績の概要						
<p>これまでの電子顕微鏡による解析は、生体から組織を取り出し固定された時点での形態観察を目的として行われてきた。しかし機能的な側面にフォーカスした電子顕微鏡による解析は十分に行われていたとは言えない。脳内には活動性の高い神経細胞と、活動性の低い神経細胞が混在するが、重要な神経回路は活発な神経細胞同士が連結されて神経回路が形成されている。神経活動が活発な神経はエネルギーを多量に消費するため、それに見合うエネルギーを細胞内で産生する必要がある。かつて構造のみを観察する装置であった磁気共鳴装置 MRI を使って、小川らは1992年に血流の変化と神経活動の相関に着目し、活発に神経活動している領域を血流の変化をヒントに可視化することに成功し磁気共鳴機能画像法 (fMRI; functional MRI) と名付けられて世の中で広く一般的に用いられるようになった。この発想を生かし、エネルギー産生および神経情報伝達に関わる細胞内小器官の個数を並行して電子顕微鏡にてイメージする新技術の開発に取り組んだ。</p> <p>今年度は、電子顕微鏡にて観察可能な、形態的にも機能面と深く関わりのある細胞内小器官の個数や活性化状態に注目し、活動中の神経回路可視化のために、蛍光による活性化状態の標識方法の確立に取り組んだ。神経活動に応じて増加する蛋白への抗体染色と、活性化神経を標識する新規手法の並行実施を行い、比較解析を行い、比較的良好な相関関係を現在までのところ定性的に得ることが出来た。今後は、電子顕微鏡にて観察可能な形態的な変化との相関を確認し、活発にエネルギーを消費し活動する神経細胞を含む回路構造を特異的にラベルする方法を定量的に解析したいと考えている。</p>						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
<p>The purpose of electron microscope analysis is to carry out for observing the morphology at the time when the tissue was fixed just after removed from the animal. It is true that the functional analysis by the electron microscope was not addressed sufficiently. Brain is composed from mixture of activated and inactivated neurons, but activated important neuronal circuits are formed between activated neurons. Since neurons with higher nerve activity require a lot of energy, it is necessary to produce larger amount of energy corresponding to that energy consumption. Ogawa and colleagues reported in 1992 that the correlation between blood flow change and nerve activity using the magnetic resonance imaging (MRI), which was previously used only for the structural observation. As a result, the functional magnetic resonance imaging (fMRI) has been widely and commonly used in the world for visualization of the functional neural circuit. Adopting these concepts, we recently tried to develop a new technology imaging the number and condition of intracellular organelles those are deeply involved in energy production in the brain by electron microscope. In this fiscal year for this project, we tried to establish a labeling procedure in the state of neuron by using fluorescence staining and also by using electron microscope. We focused on the number and activation state of intracellular organelles those were closely related each other, observed with a fluorescence microscopy and also with an electron microscopy. It was possible to obtain a certain correlation between the antibody staining result and new labeling procedure to visualize the state of neural circuit. We would like to confirm the relationship between the morphological changes that can be observed with an electron microscope and the specifically labeled structure by fluorescence microscope to identify the active neural circuit in near future.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
Ouchi T, Morikawa S, Shibata S, Takahashi M, Yoshikawa M, Soma T, Miyashita H, Muraoka W, Kameyama K, Kawana H, Arima Y, Saya H, Okano H, Nakagawa T, Asoda S.	Recurrent Spindle Cell Carcinoma Shows Features of Mesenchymal Stem Cells.	J Dent Res. 2018 Jul;97(7):779-786. doi: 10.1177/0022034518759278. PMID: 29494307	2018年7月			
Kimura H, Ouchi T, Shibata S, Amemiya T, Nagoshi N, Nakagawa T, Matsumoto M, Okano H, Nakamura M, Sato K.	Stem cells purified from human induced pluripotent stem cell-derived neural crest-like cells promote peripheral nerve regeneration.	Scientific Reports. 2018 Jul 3;8(1):10071. doi: 10.1038/s41598-018-27952-7. PMID: 29968745	2018年7月			
Nagoshi N, Khazaei M, Ahlfors JE, Ahuja CS, Nori S, Wang J, Shibata S, Fehlings MG.	Human spinal oligodendrogenic neural progenitor cells promote functional recovery after spinal cord injury by axonal remyelination and tissue sparing	Stem Cells Transl Med. 2018 Nov; 7(11):806-818. doi: 10.1002/sctm.17-0269. PMID: 30085415	2018年11月			
Matsuo K, Ji S, Miya A, Yoda M, Hamada Y, Tanaka T, Takao-Kawabata R, Kawai K, Kuroda Y, Shibata S	Innervation of the tibial epiphysis through the intercondylar foramen.	Bone. 2018 Nov 13;120:297-304. doi: 10.1016/j.bone.2018.11.007. PMID: 30439572	2018年11月			

Nori S, Khazaei M, Ahuja CS, Yokota K, Ahlfors JE, Liu Y, Wang J, Shibata S, Chio J, Hettiaratchi MH, Führmann T, Shoichet MS, Fehlings MG	Human Oligodendrogenic Neural Progenitor Cells Delivered with Chondroitinase ABC Facilitate Functional Repair of Chronic Spinal Cord Injury.	Stem Cell Reports. 2018 Dec 11;11(6):1433-1448. doi: 10.1016/j.stemcr.2018.10.017. PMID: 30472009	2018年12月
Okubo T, Nagoshi N, Kohyama J, Tsuji O, Shinozaki M, Shibata S, Kase Y, Matsumoto M, Nakamura M, Okano H.	Treatment with a Gamma-Secretase Inhibitor Promotes Functional Recovery in Human iPSC-Derived Transplants for Chronic Spinal Cord Injury.	Stem Cell Reports. 2018 Dec 11;11(6):1416-1432. doi: 10.1016/j.stemcr.2018.10.022. PMID: 30503258	2018年12月
Abe Y, Komaki Y, Seki F, Shibata S, Okano H, Tanaka KF.	Correlative study using structural MRI and super-resolution microscopy to detect structural alterations induced by long-term optogenetic stimulation of striatal medium spiny neurons.	Neurochem Int. 2019 Feb 27. pii: S0197-0186(18)30450-9. doi: 10.1016/j.neuint.2019.02.017. PMID: 30825601	2019年2月
Suzuki N, Yamaguchi T, Shibata S, Nagai T, Noma H, Tsubota K, Shimazaki J.	Cytokine levels in the aqueous humor are associated with corneal thickness in eyes with bullous keratopathy.	Am J Ophthalmol. 2019 Feb; 198:174-180. doi: 10.1016/j.ajo.2018.10.008. PMID: 30316668	2019年2月
Yamazaki Y, Abe Y, Shibata S, Shindo T, Fujii S, Ikenaka K, Tanaka KF.	Region- and cell type-specific facilitation of synaptic function at destination synapses induced by oligodendrocyte depolarization.	J Neurosci. 2019 Mar 12. pii: 1619-18. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1619-18.2019. PMID: 30862665	2019年3月
Kirihara T, Luo Z, Chow SY, Misawa R, Kawada J, Shibata S, Khoystatee F, Vollette CA, Levi T, Fujii T, Ikeuchi Y	A human induced pluripotent stem cell-derived tissue model of a white matter tract connecting two cerebral regions	iScience	in press
信藤 知子, 井原 諒, 盛一 伸子, 永井 俊弘, 岡野 栄之, 芝田 晋介	シナプスレベルの脳回路研究の最先端	月刊「細胞」50(14), pp 679-682 (2018)	2018年12月
一瀬 綾花, 岡野 栄之, 芝田 晋介, 岡澤 均, 藤田 慶大	Localization of Alzheimer's disease early phase marker, phospho-MARCKS (Ser46) at electron microscopic level	第41回日本神経科学大会 神戸国際会議場(兵庫県神戸市)	2018年7月26-29日(発表日7/26ポスター発表)
伊勢田 太郎, 芝田 晋介, 三橋 隆行, 大坪 進矢, 信藤 知子, 高橋 孝雄, 岡野 栄之	LA-CLEM: novel procedure for Large area Correlative Light and Electron Microscopy analysis with multi-beam scanning electron microscopy	第40回日本生物学的精神医学会, 第61回日本神経化学会大会 合同年会, 神戸国際会議場(兵庫県神戸市)	2018年9月6-8日(発表日9/8ポスター発表)