帰国後 2 週間以内に提出してください　(厳守)　A4 用紙 4 枚以内

（海外・国内）インターンシップ報告書　　　　　　　　　2018 年 10 月 23 日提出

氏名	江口　遼太
所属	薬理学教室
学年	博士課程 4 年
活動先名	東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター 神経科学研究部
期間 ① （出発日―帰札日） ② (インターンシップ実施開始日―終了日)	①　2018 年 9 月 29 日-10 月 13 日 ②　2018 年 10 月 1 日-10 月 12 日

・活動目的及びインターンシップ先を選択した理由

中枢神経系の神経細胞やグリア細胞を対象とし、脳や脊髄の生理的、もしくは病態下での機能を明らかにしようとする研究は現在世界中で盛んに行われている。私も現在の研究室でグリア細胞を対象とした研究を行っているが、培養細胞を用いた実験を行うに止まっている。これを発展させ、生理的条件もしくは病態下での役割を解明するためには、神経回路などの構造が保存された脳のスライスを用いた実験や、個体を用いた in vivo の実験が必要となる。そのため、本インターンシップを通して、このような今後の研究活動につながる新たな実験技術や知識を学び、身につけることを目的の 1 つとした。

また、私は今後のキャリアパスとして、大学などの研究機関に所属し、基礎研究を通して獣医学や One Health の発展に貢献することを志望している。国際的にもトップクラスの研究室で研究活動を経験することで、知識や技術だけでなく、最新の研究を裏打ちする考え方や研究姿勢を吸収するとともに、自身の現状を把握し、今後の研究活動に向けた具体的な問題点や改善点を認識することも目的とした。

今回活動先として選択した東京慈恵会医科大学総合医科学研究センターの神経科学研究部は、in vitro の最先端の手法や、in vivo の行動解析実験などの多面的なアプローチによって、中枢神経系のシナプス伝達とその制御に関与する分子機構を明らかにし、国際的な成果を挙げている。また、受入先の指導教員である加藤総夫教授は当該分野を代表する研究者であり、国内外の様々な研究室と研究協力を行っている。以上のことから、新たな実験技術や知識を学び、国際的な研究活動を経験するのに最適であると考え、活動先として選択した。

・活動内容・成果

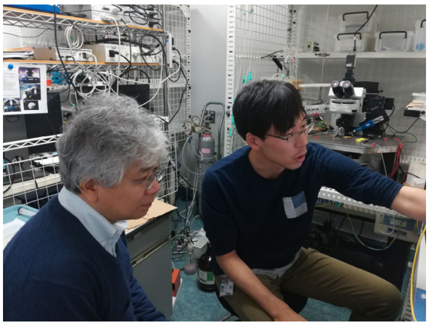
本インターンシップでは、初日と 2 日目に動物実験講習等の実験を行うのに必要な

講習を受講するとともに、実験手技の見学や練習を行った。3 日目以降は実際に自身で実験を行うとともに、研究室で行われるセミナー等に参加した。その詳細を以下にまとめる。

【脳スライスを用いたパッチクランプ実験】

東京慈恵会医科大学神経科学研究部では、主に脳の扁桃体を対象に、痛み等の感覚伝達に関する研究を行っている。その際に、扁桃体の神経細胞における電気的活動を測定する方法が、脳スライスを用いたパッチクランプ法である。今回はこの実験技術や知識を身につけるため、受入教員の指導のもと自身で実験を行った。

脳スライスにおけるパッチクランプ実験でまず重要なのは、良いスライス標本を作製することである。神経細胞は脳の摘出やスライスの作製段階でダメージを受け死んでしまうため、いかに生きのよい細胞が多いスライスを作るかが実験を決定づける。そのため、脳の摘出やスライスは常に冷やしながらできるだけ短時間で行うことが重要である。また、この実験では酸素需要や活動性が低い幼弱動物の脳が用いられることが多く、成熟動物では難しいと言われている。しかし、後述するように、アデノ随伴ウイルス（AAV）投与により目的タンパクを発現させて実験を行う場合などには、成熟動物を使わざるを得ない。その際に使用する溶液や手法、注意点なども学ぶことができ、実際に自身でスライスを作製することができるようになった。



（写真 1. パッチクランプ実験操作中、写真 2. データの討論中）

パッチクランプ法（ホールセル記録）とは、細胞膜表面に存在するチャネルを通る電流、すなわち細胞の電気的活動を測定できる方法である。先端の細い（数 μm 程度）ガラス電極を細胞に密着させたのちに穴をあけ、細胞とガラス電極を電気的に接続する。実際にパッチクランプを行う際には、出来るだけ生きのよい細胞を選択し、スムーズに細胞に電極をアプローチし、適切な強さで細胞に電極を押し当てるなど様々な注意点がある。しかし、やはり経験を積むことが最も重要であるとのことから、コツをつかめるように出来るだけ回数を重ねた。最初のうちは失敗ばかりだったが、後半には成功率も上がり、実験記録を取ることが出来るようになったことは今回の収穫である。パッチクランプ法では、記録部位に入力している神経細胞を電気刺激することで起こる神経活動を記録するのが一般的である。今回はそれに加え、光刺激により神経を活性化する手法も用いた。これは光応答性のチャネル

（チャネルロドプシン）を AAV 投与により目的の細胞に発現させ、光を当てることでチャネルを開口し、神経活動を引き起こす手法である。チャネルロドプシンを目的部位に発現させたマウスを事前に作製していただき、その脳スライスを用いることで光刺激による神経活動を記録することができた。この手法は、目的細胞のみを特異的に活性化できるなどの利点があり、in vivo の実験でも用いられるなど様々な応用が可能である。今後の自身の研究でも取り入れていきたいと考えているため、今回その一部でも体験できたことは非常に良い経験となった。

さらに、実験で得たデータの解析方法の基礎も指導していただいた。今回は Igor Pro というソフトウェアを用いた。このソフトは一次的生データの観察から、画像解析、統計解析、図の作成までほぼ全てを行えるものであり、今回はそのほんの一端ではあるが、解析の基礎を学ぶことができた。特に、数値データを取るだけでなく、生データをしっかりと観察し、何が起こっているのか本質をつかみ取ることが重要であるということを強く感じた。また、そのためには実験手法の原理をしっかりと把握し、自分が何を観察しているのかを理解していることが必要であると改めて感じた。そのような理論的な部分の基礎も教えていただいたので、今後は論文を読むなどして自身でさらに知識を深めていきたい。

【セミナー等への参加】

実験以外にも、研究室で行われる progress や論文セミナーなどにも参加した。現在進行中の研究内容を聞き、ディスカッションに参加することで、研究に対する考え方を感じ取ることができた。自身の研究も紹介し、様々な意見をいただけたことは今後の研究活動の良い参考となった。さらに、研究分野の近い複数の研究室合同のセミナーも行っており、様々な視点から活発な議論が行われていた。このような研究室の垣根を越えた活動も、幅広い研究を行う環境を作っているのではないかと感じた。また、期間中にアメリカ Trinity College の Susan Masino 先生がいらしており、その講義を聞き、食事に行って研究の話を聞くことができた。研究分野の近い、国際的な先生とお話しできる貴重な機会となった。その他にも、教員と学生が頻繁に実験経過のディスカッションを行っているのが印象的で、普段から議論を行う習慣をつけることも重要であると感じた。

（写真 3. 論文セミナーの様子、写真 4. Susan Masino 先生との食事会）

・今後のキャリアパスを考える上でどのようにプラスになったか。

今回のインターンシップで学んだ新たな実験技術や知識は今後の研究につながるものであるが、それ以外にも研究に対する姿勢など、学ぶべき点が多くあった。特に、新たな実験技術や手法を常に取り入れようとする姿勢は重要であると感じた。今後、自身の研究を進めていくうえで、必要であれば新しい方法を用いることで、そこから新たな発展が生まれる可能性がある。そのために、常にアンテナを張り新しいものを学ぼうとうする姿勢を持ち続けたい。

また、今後大学で研究を続けていく場合、将来的には教員として学生を指導する立場になることが考えられる。教育の面についても、常に学生自身に考えさせ、それをもとに積極的に議論し、時にはともに考えるという姿勢を感じ取ることができた。学生を指導するという点も、大学で研究を続けていくことの魅力の１つであると感じたので、将来的には私も学生を指導しながら、ともに研究を進めていけるような研究者・教員になりたいと考えるようになった。

・後輩へのアドバイス

今回のインターンシップは、実験技術を学ぶことが１つの目的となっていたが、同様に自分自身で実験などを行いたいと考えている方は、出来るだけ長期間活動することを勧めたい。今回の２週間という期間は、１つの実験を行うにはやはり短かったため、出来るだけ早く準備を行い、１か月など長い期間活動できるようにするべきだったと感じている。準備という点では、受入先が国内であったため、比較的スムーズに進めることができた。また、期間中も腰を落ち着けて集中して取り組むことができた。このように、国内でインターンシップを行うことのメリットもあるので、自身の目的に合わせて活動先を選択することが重要である。さらに、インターンシップで何を学びたいか、そのためにどんな活動をするかを具体的に考えておくことが非常に重要であると感じた。それが申請書を書く際だけでなく、実際の活動中にも、より積極的に行動し、より多くのことを学ぶ原動力になるのではないだろうか。

指導教員確認欄	指導教員所属・職・氏名 薬理学教室・教授・乙黒　兼一

※１　電子媒体を国際連携推進室・リーディング大学院担当に提出して下さい。
※２　インターンシップ先の担当者が活動内容を証明した文書（署名入り）を提出して下さい。
※３　本報告書はリーディングプログラムキャリアパス支援委員会で内容を確認します。その後、教務委員会で単位認定を受けることになります。

提出先：VETLOG
内線：9545　e-mail: leading@vetmed.hokudai.ac.jp