

令和 2 年 6 月 27 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K08458

研究課題名(和文) ゴルジ装置の多様性と成熟過程：3D-SEM法による下垂体前葉形態ライブラリの構築

研究課題名(英文) Diversity of the Golgi apparatus and maturation process: creation of the Golgi library

研究代表者

甲賀 大輔 (Koga, Daisuke)

旭川医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30467071

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では連続切片SEM・3D再構築法を用いて、下垂体前葉内分泌細胞のゴルジ装置の3D全体像を可視化することで、各細胞における形態的多様性を明らかにした。下垂体前葉は多種類の内分泌細胞が混在するため、形態観察だけでは各細胞を同定することは困難である。そこで、連続切片SEM法に免疫細胞化学法を組み合わせた新たな3Dイメージング技法を独自に開発した。この手法を用いることで、下垂体前葉のような複雑な組織において、目的の細胞を正確に同定した上で、ゴルジ装置の形態解析を遂行することが可能となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題を通して、これまで単純な模式図で表現されてきたゴルジ装置が、実は空間的に複雑な形状を呈していることを示すことができた。また、哺乳動物の生体内では、ゴルジ装置は巨大なオルガネラであり、連続した一連の構造体であることも実証することができた。さらに、本研究で開発に成功した新たな連続切片SEM・3D再構築法(免疫細胞化学法を組み合わせた手法)は、下垂体前葉組織だけに留まらず、同様に多種類の内分泌細胞が混在する膵島や消化管の散在性内分泌細胞の解析(ゴルジ関連分子の局在解析など)にも適応可能であり、複雑な生体組織内で特定の細胞を解析対象とする研究の発展への波及効果は大きい。

研究成果の概要(英文)：In this study, we have visualized the entire three-dimensional (3D) shape of the Golgi apparatus in anterior pituitary endocrine cells and revealed the morphological diversity of this organelle in individual endocrine cells by using a serial-section scanning electron microscopy (SEM) and 3D reconstruction method. Because the anterior pituitary comprises several different hormone-producing cells, it is difficult to identify each endocrine cell type in this tissue by only morphological analysis. Thus, we developed a novel 3D imaging technique that combines serial-section SEM and immunocytochemistry. Using this novel method, we were able to analyze the 3D structure of the Golgi apparatus in targeted anterior pituitary cells that were identified accurately by the immunocytochemical approach.

研究分野：解剖学

キーワード：ゴルジ装置 連続切片SEM法 3D再構築 下垂体前葉

1. 研究開始当初の背景

ゴルジ装置は、細胞内の蛋白輸送経路の中間地点で分泌蛋白の修飾・活性化や適切な行き先への仕分けを行う重要な小器官である。生体で様々な役割を担い分化・成熟した細胞では、ゴルジ装置は多様で複雑な構築を呈するが、その機能と構造の関係性については未だに不明な点が多い。そこで私たちは、細胞内の 3D 微細構造を再構築することなく走査電子顕微鏡(SEM)で観察可能なオスミウム浸軟法を改良し、様々な細胞のゴルジ装置の 3D 微細構造を解析してきた。この方法を用いて、私たちはこれまでに、ゴルジ装置のシス槽の表面が細胞種によらず共通で、直径約 50nm の小孔に富む板状構造であることを示すと共に、トランス槽の形状が細胞ごとに多様であることを明らかにした(引用文献)。しかし、オスミウム浸軟法は、組織の切断・切断面からの観察であるため、表面から死角になる標本深部の全容を描出することは困難である。そこでこの問題を解決するために、汎用型 SEM とウルトラマイクロームのみで遂行可能で、高価な機器に依存しない、新たな連続断層像観察・3D 再構築法(連続切片 SEM 法)を独自に確立し、これまで解析が困難であった空間的に複雑な形状のゴルジ装置の全体像を描出することに成功した(引用文献)。この新たな SEM 観察法を使って、下垂体前葉の様々な内分泌細胞におけるゴルジ装置全体の 3D 構築を比較してみたところ、細胞種ごとに固有の特徴が認められることに気付いた。成体の下垂体前葉は少なくとも 5 種類の内分泌細胞(成長ホルモン[GH]産生細胞、乳腺刺激ホルモン[PRL]産生細胞、性腺刺激ホルモン[LH/FSH]産生細胞、甲状腺刺激ホルモン[TSH]産生細胞、副腎皮質刺激ホルモン[ACTH]産生細胞)から成る。しかしながら、下垂体前葉の各内分泌細胞のゴルジ装置の全体構築や 3D 微細構造を細胞横断的に比較・検討して、その多様性や細胞間の差異の詳細を明らかにした研究は、これまでにみられなかった。

そこで、このように空間的に複雑で多様な細胞から構成される下垂体前葉組織の中で、個々の内分泌細胞の 3D 微細構造の多様性や成熟の過程での変化を明らかにするためには、私たちが開発してきた連続切片 SEM・3D 再構築法が最適の手段となるのではないかと考え、本研究課題を立案するに至った。

2. 研究の目的

分泌蛋白輸送経路中で重要な役割を果たすゴルジ装置は、多様で複雑な構築を呈するが、その機能と構造の関係性については未だに不明な点が多い。少なくとも 5 種類の内分泌細胞が混在する下垂体前葉では、ゴルジ装置の形態に明瞭な多様性が認められるが、その差異を比較した研究はない。本研究により開発する新たな 3D-SEM 観察法(連続切片 SEM 法と免疫細胞化学染色法を組み合わせた手法)は、複雑な細胞構成の組織中で特定の細胞を同定し、その 3D 微細構造を明らかにできる。この技法により下垂体前葉におけるゴルジ装置の形態的多様性、および成熟過程に伴う内分泌細胞のゴルジ装置の形態変化を細胞の機能と関連させて明らかにする。さらに、これらのデータを体系化することで 3D 形態ライブラリを構築する。

3. 研究の方法

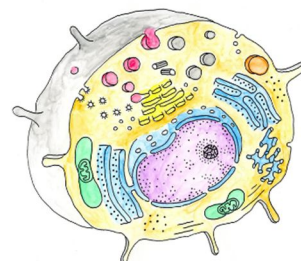
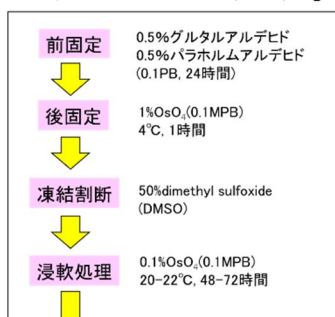
(1) オスミウム浸軟法によるゴルジ装置の 3D 構造解析

オスミウム浸軟法は、ゴルジ装置や小胞体、ミトコンドリアなどの膜性小器官の 3D 微細構造を再構築することなく SEM で直接観察することができる唯一の手法である(引用文献)。

本研究ではオスミウム浸軟法により、下垂体前葉各内分泌細胞(GH, PRL, LH/FSH, TSH, ACTH 細胞)のゴルジ装置の 3D 微細構築解析を行い、構造的な多様性を明らかにした(シス槽、トランス槽、中間槽、トラン

走査電子顕微鏡による細胞内微細構造の解析

オスミウム浸軟法
(Tnaka and Mitsushima, 1984; Koga and Ushiki, 2006)



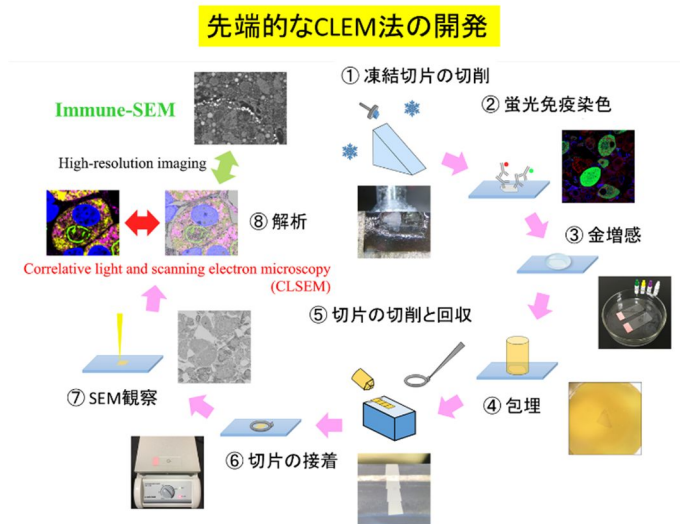
導電染色 → 脱水 → 乾燥 → 金属コーティング → 検鏡

スゴルジネットワーク[TGN]、ゴルジ-ER 中間区画[ERGIC]の詳細な観察)。さらに、ゴルジ装置と機能的に関連が深い小胞体にも注目し、詳細な形態観察を行った。

(2) 新たな光・電子相関顕微鏡観察法(CLEM法)の開発と応用

本研究では、研究連携者の久住聡博士(鹿児島大学)と共同で、ゴルジ装置の機能・形態学的解析に有効な先端的CLEM法の開発を行った(引用文献,)。この手法は、凍結超薄法(徳安法)と切片SEM法(SEMで切片を観察する手法)を効果的に組み合わせた独自性の高いイメージング技法である。

私たちが開発したこの新たなCLEM法を用いることで、蛍光で標識したゴルジ関連分子の局在を電子顕微鏡レベルの分解能で解析することが可能となった。また、蛍光・ナノゴールド標識抗体を用いることで、目的分子の局在をさらに詳細に可視化することにも成功している。



(3) 金コロイド法(免疫電顕法)と連続切片SEM法の開発と応用

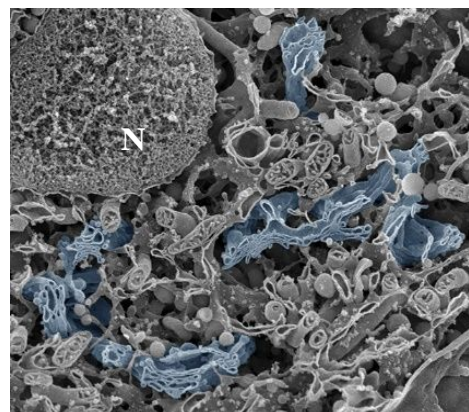
これまで私たちは、連続切片SEM法(樹脂に包埋した組織ブロックの超薄連続切片をガラススライドなどの基板に載せ、その連続断層像をSEMで観察する手法)を独自に開発し、生体内の様々な細胞のゴルジ装置の3D形状を明らかにしてきた(引用文献)。しかし、下垂体前葉のような多種類の細胞が混在する複雑な組織では、形態学的な解析だけでは個々の内分泌細胞の同定が困難であり、各細胞の機能を正確に把握した上でゴルジ装置の解析ができない。そこで、連続切片SEM法に金コロイド標識法を応用した斬新な3Dイメージング技法の開発を行った(論文投稿中)。この手法を用いることで、下垂体前葉各内分泌細胞を正確に標識した状態で、ゴルジ装置の3D形態解析を行うことが可能となった。

4. 研究成果

(1) オスミウム浸軟法によるゴルジ装置(下垂体前葉内分泌細胞)の3D形態解析

ゴルジ装置の全体形状の解析

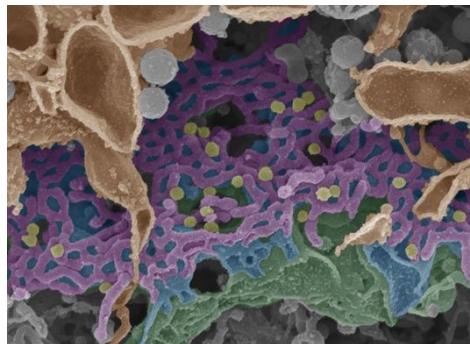
オスミウム浸軟法による下垂体前葉内分泌細胞(GH, PRL, LH/FSH, TSH, ACTH細胞)の3D形態解析を行った。これまでの私たちの研究結果が示すように、LH/FSH細胞のゴルジ装置は発達がよく、「球体」という特徴的な構築を呈していた。一方、TSH細胞も細胞内の広領域を占める巨大なゴルジ装置を有し、その形状はおおよそ「球状」を示すことがわかった。さらにGH細胞やPRL細胞、ACTH細胞(図)では、ゴルジ装置の形態は球状もしくは、楕円体であることがわかった(ゴルジ槽やゴルジ層板の3D微細形状は、各前葉細胞に依存して多様であった)。LH/FSH細胞やTSH細胞のゴルジ装置は、長径5-6 μ mの巨大なゴルジ装置であるのに対し、GH細胞やPRL細胞では、その半分ほどのサイズであった。オスミウム浸軟法による解析では、3D再構築することなく膜性小器官を解析することができるので、ゴルジ装置の3D微細構造解析に留まらず、その他の小器官との空間的配置関係をダイレクトに解析することができた。図の解説: ACTH細胞のゴルジ装置(青)を観察した例。Nは核を示す。



ゴルジ槽の3D微細構造解析

オスミウム浸軟法は3D再構築法と異なり、膜性オルガネラ表面微細テクスチャーの3D解析に優れている。本研究ではその特徴を活かし、下垂体前葉各内分泌細胞のERGIC、シス槽、

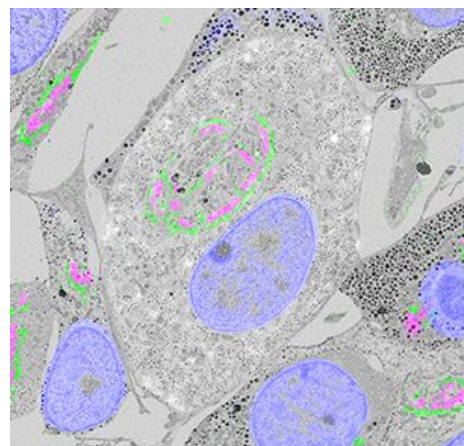
中間槽、トランス槽、TGN の 3D 微細構造解析を行った。シス槽は各前葉細胞に共通して、槽の表面に小孔があいた板状構造を呈しているのに対し、TGN の形状は細胞種によって多様であることがわかった。さらに、オスミウム浸軟法による観察により、これまで詳細が不明なままであった ERGIC の 3D 微細構像をダイレクトに捉えることに成功した(図：引用文献)。



下垂体前葉各ホルモン産生細胞は、内分泌という共通した機能を有しているにも関わらず、ゴルジ装置や小胞体の 3D 微細構築に特徴的な相違がみられることもわかった。オスミウム浸軟像は、連続切片 SEM 法による 3D 再構築モデルを作製する際に、予め目的細胞のオルガネラの空間的配置関係を把握しておくという意味でも重要であることにも気づいた。今後は、免疫組織化学的手法を応用した斬新な手法の開発も行っていく予定である。図の解説：LH/FSH 細胞のシス側の微細構造：茶：小胞体、紫：ERGIC、黄：小胞、青：シス最表層、緑：中間槽。

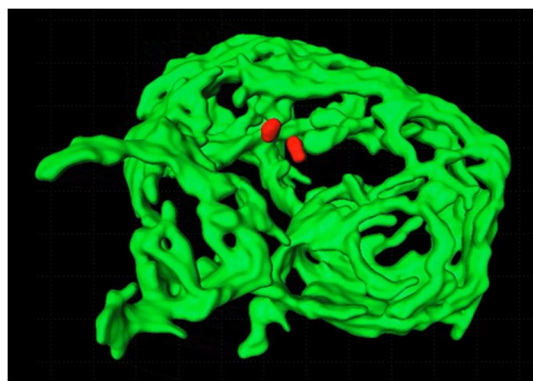
(2) 新たな CLEM 法による下垂体前葉ゴルジ装置の機能・形態学的解析

本研究課題において、凍結薄切法と切片 SEM 法を組み合わせた新たな CLEM 法の開発を行った。この独自の CLEM 法を用いることで、下垂体前葉各内分泌細胞を正確に同定するだけでなく、蛍光で標識した様々なオルガネラ関連分子(ゴルジ装置など)の局在を電子顕微鏡レベルの分解能で解析することが可能となった。このイメージング技法は、下垂体前葉組織に留まらず、様々な生体組織、培養細胞などへの応用が期待される斬新なイメージング法である。しかし現状では、樹脂包埋した準超薄凍結切片(500nm-1 μ m 厚)から超薄切片(100nm 厚)を切削することにより相関観察を可能としているため、技術難易度が高く汎用的でない。今後は、簡易的な手法にするための改変が必要であると感じている。図の解説：蛍光像(青は DAPI、白は LH[LH/FSH 細胞]、緑は GM130[シス]、マゼンタは TGN38[トランス])の局在を示す)とその電子顕微鏡像の重ね合わせ像。



(3) 免疫電顕法を加味した連続切片 SEM 法によるゴルジ装置の 3D 構造解析

連続切片 SEM 法は、ゴルジ装置の 3D 全体像を解析するための最適なイメージング技法である。私たちはこれまでに、この新たな 3D 技法を駆使し、生体内の様々な細胞のゴルジ装置の形態解析を行い、この小器官の形態的多様性を示してきた。しかし、下垂体前葉のような複雑な組織を対象とする場合、各細胞の同定に免疫細胞化学的手法の応用が必要となる。そこで本研究では、組織包埋剤(樹脂)や固定処理など樹脂包埋前の様々な処理を工夫することで、連続切片像にホルモンや(一部の)ゴルジ関連分子の局在を金コロイドで標識することを可能とした。本研究では、各ホルモン産生細胞を正確に同定した上で、下垂体組織におけるゴルジ装置の詳細な 3D 再構築像を創造することができた(論文作成中)。



さらに近年、超高分解能 SEM を用いることで、ゴルジ装置だけに留まらず、小胞体、ミトコンドリア、中心小体などオルガネラも同時に再構築することに成功している。特に下垂体前葉内分泌細胞のような極性の乏しい細胞において、中心小体は微小管形成中心(MTOC)として働くため、ゴルジ装置との空間的配置関係の理解は、機能的解析の側面からも非常に重要である。また、3D 形態解析過程において、下垂体前葉内分泌細胞に中心小体より伸びる一次線毛の存在も確認することもでき、新たな研究テーマへの発展にも繋がった。最近では、生後成熟過程における下垂体前葉内分泌細胞(主に LH/FSH 細胞)ゴルジ装置の形態学的解析も進めており、この小器官の経時的形態変化が解明されている。図の解説：TSH 細胞の 3D 再構築像。緑はゴルジ装置、赤は中心小体を示す。

(4) ゴルジ形態ライブラリ

私たちはこれまで、生体内の様々な細胞におけるゴルジ装置の3D構造解析を行ってきた(精巢上体管上皮主細胞、膵臓外分泌細胞、胃底腺主細胞、下垂体前葉各内分泌細胞、小脳プルキンエ細胞など)。今後は、オスミウム浸軟3D像や連続切片SEM・3D再構築法により作製したゴルジ形態モデルをライブラリ化し、公開できるようにする予定である。

<引用文献>

Koga D, Ushiki T.(2006) Three-dimensional Ultrastructure of the Golgi Apparatus in Different Cells: High-Resolution Scanning Electron Microscopy of Osmium-Macerated Tissues. *Arch Histol Cytol.* 69,357-374.

Koga D, Kusumi S, Ushiki T.(2016) Three-dimensional shape of the Golgi apparatus in different cell types: serial section scanning electron microscopy of the osmium-impregnated Golgi apparatus. *Microscopy* 65,145-57.

Tanaka K, Naguro T.(1981) High resolution scanning electron microscopy of cell organelles by a new specimen preparation method. *Biomed Res.*2(Suppl),63-70.

Kusumi S, Koga D, Watanabe T, Shibata M.(2018) Combination of a cryosectioning method and section scanning electron microscopy for immuno-scanning electron microscopy. *Biomed Res.* 39,21-25.

Koga D, Kusumi S, Watanabe T.(2018) Backscattered electron imaging of resin-embedded sections. *Microscopy* 67,196-206.

Koga D, Bochimoto H, Kusumi S, Ushiki T, Watanabe T. (2017) Changes in the three-dimensional ultrastructure of membranous organelles in mal rat pituitary gonadotropes after castration. *Biomed. Res.* 38, 1-18.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15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 Maeda Y, Kudo S, Tsushima K, Sato E, Kubota C, Kayamori A, Bochimoto H, Koga D, Torii S, Gomi H, Watanabe T, Hosaka M.	4. 巻 159
2. 論文標題 Impaired Processing of Prohormones in Secretogranin III-Null Mice Causes Maladaptation to an Inadequate Diet and Stress.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Endocrinology	6. 最初と最後の頁 1213-1227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/en.2017-00636.	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 Kusumi S, Koga D, Watanabe T, Shibata M	4. 巻 39
2. 論文標題 Combination of a cryosectioning method and section scanning electron microscopy for immunoscanning electron microscopy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biomed. Res.	6. 最初と最後の頁 21-25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.39.21.	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 Hori J, Koga D, Kakizaki H, Watanabe T	4. 巻 39
2. 論文標題 Differential effects of depot formulations of GnRH agonist leuprorelin and antagonist degarelix on the seminiferous epithelium of the rat testis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biomed. Res.	6. 最初と最後の頁 197-214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.2220/biomedres.39.197.	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 Koga D, Kusumi S, Watanabe T	4. 巻 67
2. 論文標題 Backscattered electron imaging of resin-embedded sections	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Microscopy	6. 最初と最後の頁 196-206
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jmicro/dfy028.	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 Sakai R, Fukuda R, Unida S, Aki M, Ono Y, Endo A, Kusumi S, Koga D, Fukushima T, Komada M, Okiyoneda T	4. 巻 132
2. 論文標題 The integral function of the endocytic recycling compartment is regulated by RFFL-mediated ubiquitylation of Rab11 effectors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Cell Sci.	6. 最初と最後の頁 jcs228007.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/jcs.228007.	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 Sato E, Maeda Y, Sato Y, Hinata A, Gomi H, Koga D, Torii S, Watanabe T, Hosaka M	4. 巻 476
2. 論文標題 Culture in 10% O2 enhances the production of active hormones in neuro-endocrine cells by up-regulating the expression of processing enzymes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochem. J.	6. 最初と最後の頁 827-842
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/BCJ20180832.	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 Seino Y, Nakatomi M, Ida-Yonemochi H, Koga D, Ushiki T, Ohshima H	4. 巻 61
2. 論文標題 Three-dimensional configuration of apical epithelial compartments including stem cell niches in guinea pig cheek teeth	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Oral Biosci.	6. 最初と最後の頁 55-63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.job.2019.01.002.	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 Koga D, Kusumi S, Ushiki T and Watanabe T	4. 巻 38
2. 論文標題 Integrative method for three-dimensional imaging of the entire Golgi apparatus by combining thiamine pyrophosphatase cytochemistry and array tomography using backscattered electron-mode scanning electron microscopy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biomed Res	6. 最初と最後の頁 285-296
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.38.285.	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 Shodo R, Hayatsu M, Koga D, Horii A, Ushiki T	4. 巻 38
2. 論文標題 Three-dimensional reconstruction of root cells and interdental cells in the rat inner ear by serial section scanning electron microscopy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biomed Res	6. 最初と最後の頁 239-248
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.38.239.	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 Bochimoto H, Matsuno N, Ishihara Y, Shonaka T, Koga D, Hira Y, Nishikawa Y, Furukawa H, Watanabe T	4. 巻 12
2. 論文標題 The ultrastructural characteristics of porcine hepatocytes donated after cardiac death and preserved with warm machine perfusion preservation	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLos One	6. 最初と最後の頁 e0186352
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0186352. eCollection 2017.	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 Maeda Y, Kudo S, Tsushima K, Sato E, Kubota C, Kayamori A, Bochimoto H, Koga D, Torii S, Gomi H, Watanabe T, Hosaka M	4. 巻 159
2. 論文標題 Impaired Processing of Prohormones in Secretogranin III-Null Mice Causes Maladaptation to an Inadequate Diet and Stress	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Endocrinology	6. 最初と最後の頁 1213-1227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/en.2017-00636.	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 Koga D, Bochimoto H, Kusumi S, Ushiki T, Watanabe T	4. 巻 38
2. 論文標題 Changes in the three-dimensional ultrastructure of membranous organelles in male rat pituitary gonadotropes after castration	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biomed Res.	6. 最初と最後の頁 1-18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.38.1.	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 Koga D, Ushiki T and Watanabe T	4. 巻 92
2. 論文標題 Novel scanning electron microscopy methods for analyzing the 3D structure of the Golgi apparatus	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Anat Sci Int.	6. 最初と最後の頁 37-49
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 Nakao M, Waki T, Sasaki M, Anders JL, Koga D, Asakawa M	4. 巻 66
2. 論文標題 Brachylaima ezohelicis sp. nov. (Trematoda: Brachylaimidae) found from the land snail Ezohelix gainesi, with a note of an unidentified Brachylaima species in Hokkaido, Japan	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Parasitol Int.	6. 最初と最後の頁 240-249
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2017.01.015.	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 Kariya T, Ueta H, Xu XD, Koga D, Ezaki T, Yu E, Kusumi S, Kitazawa Y, Sawanobori Y, Ushiki T, Issekutz T, Matsuno K	4. 巻 51
2. 論文標題 Direct evidence for activated CD8+ T cell transmigration across portal vein endothelial cells in liver graft rejection	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J Gastroenterol.	6. 最初と最後の頁 985-998
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-016-1169-1.	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 -

〔学会発表〕 計20件 (うち招待講演 11件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 甲賀大輔
2. 発表標題 SEM試料作製法
3. 学会等名 第74回日本顕微鏡学会学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Koga D, Kusumi S and Watanabe T
2. 発表標題 Correlative light and scanning electron microscopy (CLSEM) by combining Tokuyasu cryosectioning technique with osmium maceration method
3. 学会等名 第74回日本顕微鏡学会学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Koga D, Kusumi S, Ushiki T
2. 発表標題 Three-dimensional shape of the Golgi apparatus in different cell types: serial section scanning electron microscopy of the osmium-impregnated Golgi apparatus.
3. 学会等名 第74回日本顕微鏡学会学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 甲賀大輔, 久住聡, 渡部剛
2. 発表標題 新たな形態学アプローチによる下垂体前葉細胞の3D構造解析
3. 学会等名 第33回日本下垂体研究会学術集会 (シンポジウム)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 甲賀大輔
2. 発表標題 連続切片SEM・3D再構築法
3. 学会等名 SCANTECH2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 甲賀大輔, 渡部剛, 中澤英子, 内山安男
2. 発表標題 超高分解能SEMによる細胞内膜系の3Dイメージング
3. 学会等名 第41回分子生物学会年会 (ワークショップ)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 甲賀大輔
2. 発表標題 医学生物学領域における SEM のこれまでとこれから
3. 学会等名 第43回日本顕微鏡学会関東支部講演会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 甲賀大輔, 渡部剛, 中澤英子, 内山安男
2. 発表標題 超高分解能SEMによる膜性小器官の観察
3. 学会等名 第124回日本解剖学会・全国学術集会 (シンポジウム)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 甲賀大輔
2. 発表標題 SEMによるゴルジ装置の3D微細構造解析
3. 学会等名 平成30年度 日本顕微鏡学会北海道支部学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 甲賀大輔、渡部剛、中澤英子、内山安男
2. 発表標題 細胞内膜系のダイナミクス
3. 学会等名 第123回解剖学会総会・全国学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 甲賀大輔
2. 発表標題 走査電子顕微鏡(S E M)の医学・生物学応用
3. 学会等名 生理研所長招聘セミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 甲賀大輔、久住聡、渡部剛
2. 発表標題 徳安法(凍結超薄切片法)の基礎と応用
3. 学会等名 日本顕微鏡学会第73回学術講演（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 甲賀大輔
2. 発表標題 SEMの試料作製法の基礎
3. 学会等名 日本顕微鏡学会第73回学術講演（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 甲賀大輔
2. 発表標題 SEM試料作製法の基礎
3. 学会等名 第73回日本顕微鏡学会学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 甲賀大輔、久住聡、牛木辰男、渡部剛
2. 発表標題 免疫組織化学染色切片とオスミウム浸軟組織の相関顕微鏡法
3. 学会等名 第73回日本顕微鏡学会学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 甲賀大輔、久住聡、柴田昌宏、渡部剛
2. 発表標題 連続切片SEM法による内分泌細胞ゴルジ装置の3D構造解析
3. 学会等名 第122回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 甲賀大輔、渡部剛
2. 発表標題 ゴルジ装置の3D構造解析
3. 学会等名 平成28年度日本顕微鏡学会北海道支部講演会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 甲賀大輔、久住聡、暮地本宙己、牛木辰男、渡部剛
2. 発表標題 SEM による準超薄切片の超薄像観察
3. 学会等名 日本解剖学会 第 62 回東北・北海道連合支部学術集会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 甲賀大輔、久住聡、暮地本宙己、渡部剛、牛木辰男
2. 発表標題 SEMによる準薄切片の超薄像観察
3. 学会等名 第72回日本顕微鏡学会学術講演会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 甲賀大輔
2. 発表標題 走査電子顕微鏡試料作製法
3. 学会等名 第72回日本顕微鏡学会学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔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
連携研究者	久住 聡 (Kusumi Satoshi) (00758039)	鹿児島大学・医学部・助教 (17701)	