



法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

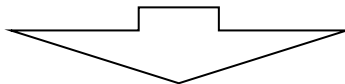
西 昭徳	薬理学講座 教授	海馬神経可塑性のコネクトーム解析	中枢神経形態解析の基盤研究と FIB/SEMによる解析ノウハウの蓄積
外角 直樹	薬理学講座 講師	ドーパミン神経可塑性のコネクトーム解析	中枢神経形態解析の基盤研究と FIB/SEMによる解析ノウハウの蓄積
内藤 嘉紀	病理学講座 助教	肺癌における三次元超微形態解析	腫瘍の増殖様式の多様性に着目した 形態解析と基礎データの蓄積
井上 雅広	感染学講座(真核微生物学部門)教授	遺伝子ノックダウントリパノソーマ原虫の形態の3次元構築による可視化	原虫の三次元超微形態の変化を定量化する手法の確立
原 樹	感染学講座(真核微生物学部門)講師	原虫宿主に対する細菌の寄生・共生基盤の構造的解析	FIB/SEMによる原虫と宿主の機能形態解析法の確立
石原(伴)玲子	分子生命科学研究 所 博士研究員	発生・分化・細胞応答時のミトコンドリアの形態変化の三次元超微形態解析	ミトコンドリアの構造・機能分化の3次元解析方法の検討とまとめ
井上 薫	知的財産本部 教授	導電性樹脂の開発	FIB/SEM 観察試料作製法改良のための新素材開発
松田 貴暁	久留米工業高等 専門学校 助教	伝導性樹脂の開発	FIB/SEM観察試料作成法改良のための新素材開発
定山 正林	日本 F. E. I (株) シニアアプリケーションエンジニア	FIB/SEMの医学生物学研究における最適化	FIB/SEMハードウェアの開発・改良

<研究者の変更状況(研究代表者を含む)>

旧

プロジェクト外での研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
骨・靭帯付着部における超微形態・機能解剖学的構造とその破綻後の解明	解剖学講座顕微解剖・生体形成部門・助教	金澤知之進	靭帯・骨組織の組織形態を対象とした FIB/SEM による解析とまとめ

(変更の時期:平成 25 年 4 月 1 日)



新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
解剖学講座顕微解剖・生体形成部門・助教	解剖学講座顕微解剖・生体形成部門・講師	金澤知之進	靭帯・骨組織の組織形態を対象とした FIB/SEM による解析とまとめ

11 研究の概要(※ 項目全体を10枚以内で作成)

(1)研究プロジェクトの目的・意義及び計画の概要

生体組織・細胞の正確な三次元微細構造を把握することは生命科学、臨床的課題の本質を理解する上で必要不可欠である。例えば脳を理解するためには少なくとも百マイクロン角の全シナプスの結合状態を電子顕微鏡レベルで立体的に解析することが求められる。

技術的に困難であったこのようなメゾスケール(光顕と電顕の間のサイズオーダー)の解析は、本プロジェクトの中心課題である FIB/SEM トモグラフィー法 (Focused ion beam/scanning

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

electron microscope tomography)と呼ばれる新しい顕微観察技術によりブレイクスルーされた。2012年、米国は国家的巨大研究プロジェクトとしての「脳の全容解明」を表明した。このような網羅的構造解析は基礎・臨床の様々な研究課題に対し全く新しい概念を提供し、各専門分野に新たな展開をもたらす可能性を秘めている。

FIB/SEMのようなメソスケールにあるストラクチャー(構造群; omics でいう-tome に倣った構造単位)解析の技術は、その一翼を担う技術として注目されている。FIB/SEM トモグラフィーの大きな特徴は、1) 走査型電子顕微鏡(SEM)で、透過型電子顕微鏡(TEM)像に匹敵する分解能でブロック表面組成コントラスト像(BFI)が得られること、および、2) 電顕試料室内に固定された試料ブロック表面の SEM 画像(BFI)撮影とその試料面をガリウムイオンビームによる精密切削することにより得られた新たなブロック表面露出とその BFI 撮影を繰り返すことにより自動で連続画像が得られることであり、これらの特性によりこれまでいかなる実験装置を用いても解析できなかったメソスケール領域の情報を網羅的に取得できるようになった。このサイズ領域には、細胞活動の全て、さらに細胞間相互作用という極めて重要な生命活動の情報を含んでおり、生命科学におけるメソスケールストラクチャーの重要性は計り知れない。

FIB/SEM トモグラフィーによって得られるストラクチャー情報は各専門分野において貴重な情報になると期待され、ポストゲノム以来、近年注目されている、形態情報を有機的に取り入れた遺伝学、細胞生物学、分子解剖学、神経科学等の生命科学研究の発展に貢献できる。同様に、本技術の研究基盤の形成は、多くの応用研究への適応を加速させる。

しかしながら、現時点において、工学・材料系の研究分野で開発された技術の医学生物学研究応用への基盤は十分成熟したとはいえない状況であり、各国の研究所が開発・最適化に凌ぎを削っているものの、一部の専門家に限定された手法に止まっている点も大きな課題であり、普及を図る必要性が大である。

このような背景から、本プロジェクト最大の目的である FIB/SEM を用いた網羅的構造解析技術の醸成と医学生物学研究への応用基盤の構築は、今、この時期にこそ行うべきものである。

久留米大学では 2010 年に国内で最初に FIB/SEM(Quanta 3D FEG, F.E.I 社製)を導入し、この手法の医学生物学研究への応用に取り組んできた。これまでの経験から、FIB/SEM トモグラフィー法を用いた組織の網羅的構造解析(ストラクチャー解析)により、従来の概念を覆すいくつかの生物学的知見を得ている。この技術で得られる連続画像データの三次元再構築解析では、これまで数多くの単一切片の観察画像から全体の形態を類推することでしか解釈できなかった微細構造をはじめ直接観察することを可能とし、そこには想像以上の重要な構造が隠れていることが示されたものである。

今回のプロジェクトでは、これまでの経験を元に、一層の解析能力向上を図ると共に、ストラクチャー解析による新しい研究集団の形成と若手研究者の育成を戦略的目的とした。

ところで、このような新機軸技術の開発・最適化に基づく生体構造解析には、ある範囲の情報の集約が必要である。研究計画として、まず 2013 年度は、取得データのその都度の評価

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

を反映させながら、装置の性能アップおよび試料作製法等の改良と並行して、データ解析プラットフォーム整備を重要課題と捉え、個別の研究課題に根ざした画像解析技術全般の開発・向上を目指した。工学材料系の研究分野で開発された FIB/SEM を医生物学研究に導入するにあたり、様々なレベルにおける最適化、及び、対象とする臓器、細胞ごとの至適な観察条件設定が重要であった。

2014 年度には、より高品質なデータを得る為の ICE 検出器を導入し、磁場環境等の改良及びハイスループット画像処理技術の開発を進め、本装置の高性能化・最適化を図ると共に、現行の体制で医生物学研究を遂行しながら、各研究課題に合わせた技術開発・最適化を目指した。さらに、得られた膨大なデータの解析に求められる画像処理技術の開発・向上を試みた。

また、研究期間を通じて、新たな方法への挑戦や観察の最適化を試みながら、個別の研究者の課題に取り組んできた。

本プロジェクトで目指した研究チームの形成は意義深く、このチームによる集中的な研究が発展途上のこの技術を様々な応用分野に開花させる力の一因である。また、日本顕微鏡学会において SEM 表面観察・連続画像解析法についての研究部会「SEM 連続断面観察法による生体組織三次元再構築法 (SSSEM)」が承認され、2013 年 5 月から 3 年間にわたり学会活動を行ったこの間、日本顕微鏡学会、解剖学会、日本生理学会、日本生物物理学会、日本組織細胞化学会、日本臨床分子形態学会において、主として、新機軸技術の紹介のためのシンポジウムおよび研究会を企画し、また、莫大な画像データ処理に関するワークショップを開催した。学術集会での企画は毎回 50～150 名が参集、盛況となり、この新機軸顕微手法に多くの研究者・技術者が注目していることを裏付けた。これらの学会活動は評価され現時点での最大の問題点としてあげられたのが 3 次元データの解析であったことを受けて 2016 年 5 月の日本顕微鏡学会総会において、次のステップとして、「生体構造ボリュームイメージング研究部会」に引き継がれることになっている。

このように、学会等における普及活動は、久留米大学だけでなく、国内外の多くの生命科学研究者において意義深いものとなった。さらに、これら学際的活動を通して我が国の医学生物学研究に大きく寄与できる人財育成を推進し、解析ノウハウの蓄積に繋げるべく今後の活動を発展される準備がある。また、現状において、顕微装置は経費の関係から各大学に設置できるものではなく、今後、メーカーとの連携も緊密にして、普及させる必要がある。

なお、以上は、久留米大学医学部電顕室をコアとした、これまでの形態研究の歴史と実績に裏打ちされた新技術開発と研究への応用の取り組みであり、この土壌においてはじめて、成果に結びつく様々な要素が極めて有効に連携したものであることから、**大学の特色を活かした研究**とした。

## (2) 研究組織

本研究プロジェクトの目的のためには、原則として久留米大学を中心とした研究チームにより取り組んだ。研究組織は、技術部分を担当する技術アドバイザリーチームと、医学研究遂行チームの、大きく 2 つに分けた。

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

技術アドバイザーチームは、2010 年度、私学助成を受け久留米大学に設置された FIB/SEM (Quanta 3D FEG) の整備、稼働、技術開発を担当するスタッフ(医学部解剖学講座および電子顕微鏡室)をコアとし、これまでに培われてきた電子顕微鏡観察技術のノウハウを活用できるチームを構築した。この路線により、解析技術の向上を図ると共に、技術的サポートをおこなう。

医学研究遂行チームは、細胞生物学、神経科学、機能組織学、病理学等の基礎研究、および、形成外科、整形外科、皮膚科、口腔外科等の臨床研究分野が定期的なミーティングを通してお互いに連携し FIB/SEM による網羅的構造解析に止まらず、各研究課題が効率的に進展する為のチームを構築した。

各講座間の円滑な連携は久留米大学の規模および人材的特徴の一つでもあり、若い研究者がこのような場の中で研究に携ることで人材育成にも繋がることを期待した。技術サポートチームと応用研究チームが一体となり集中的に本技術を用いた研究を行うことでメゾスケールストラクチャーの技術的な壁を取り払い、研究の活性化を目指した。

総合的技術開発面からは、特に次の 2 項目を重要課題として、FIB/SEM トモグラフィー法をより広範囲な応用研究へと展開を試みた。第 1 は、より高品位なデータを効率的に得るためのハードウェア(顕微鏡本体)の改良、及び、試料作製法、染色法、樹脂改良等のソフトウェアの開発・改良である。並行してそれぞれの専門家により実試料を対象とした研究課題を遂行した。第 2 は、得られたデータを解析するプラットフォーム整備である。1 回の実験につき膨大な画像データが得られる本方法では、データ解析に膨大な時間と技術を要する。ここでは構造生物学研究において重視される数理生物学的画像処理技術の開発・蓄積を目指した。

この中で、研究代表者は、双方のチームに参加し、統括した。技術アドバイザーチームにおいては、5 名(うち 2 名は技術専門職)のチームメンバーと共に、学内外における電顕技術開発について、メーカーへの提案・交渉、技術職員との連携を担当し、また、久留米大学電顕室・レーザー顕微鏡室運営委員会委員長として、電顕室の運営を担当している。画像解析装置・手法(ソフトウェア)の開発・応用も行っている。次に、医学研究遂行チーム(13 名のコアメンバーおよび数名の大学院生、その他)としては、主として間質の細胞の三次元微細構造解析のモデルケースに携わり、線維芽細胞群の形態および周囲の細胞との関連、ネットワーク形成について研究を進めている。これら研究の学術的領域については 2014 年度に科研費基盤(B)に採択され、並行して研究を進行している。以上、研究代表者として本プロジェクトの技術開発の計画・運営を統括するとともに、学術的応用の啓発を心掛け、学会や研究会を通じて学内外の研究者への参加呼びかけと提案により、装置の実働経験の蓄積に努めた。個々の事例からの技術開発・応用・最適化へのフィードバックは極めて重要である。

### (3) 研究施設・設備等

本研究プロジェクトは久留米大学医学部内の研究支援施設である電子顕微鏡室・共焦点レーザー顕微鏡室(以下、電顕室)を中心に、解剖学講座顕微解剖・生体形成部門の支援のも

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

と、技術サポートチームおよび応用研究チームとして活動した。電顕室は 60 余年の歴史をもち、ノウハウと実績が蓄積されていると共に、研究支援体制に欠かせない人財が配置されている。(延べ面積 1016 m<sup>2</sup>、使用者:延べ 40 名)

これら施設および講座に設置された共用可能な設備・装置として、電顕室および解剖学講座内に設置された超微細生体構造ナノ解析システム(三次元微細構造解析ワークステーション、AMIRA/AVIZO、年間使用 4,800h)、顕微鏡制御装置一式を含む倒立顕微鏡用落射蛍光装置(3次元組織・細胞構築の蛍光構造解析、年間使用 150h)、マクロズーム顕微鏡システム(光顕レベルの組織丸ごと観察および試料作製時の観察、年間使用 100h)、共焦点レーザー走査型顕微鏡一式(三次元組織・細胞構築の蛍光構造解析、年間使用 190h)、倒立型顕微鏡システム(培養細胞等の試料作製時の光顕レベル観察と記録、年間使用 150h)、が揃っており試料作製から、得られた画像データ処理・解析まで統括的に行うことができる。また、2014 年度には私学助成により多光子レーザー顕微鏡が導入され、生物試料透明化技術の導入とあわせて、電顕観察前の生物試料観察ができるようになった。中でも、本プロジェクトのコアとなる、2010 年度私学助成で久留米大学に導入された FIB/SEM(Quanta 3D FEG)は、現在も世界最高の稼働率(3000 時間/年)で運用され、既に多数の学会発表や技術改良を含んだ学術論文発表を行っている(例; Ohta et al., Micron, 2012)。また、本機が稼働している久留米大学医学部電顕室は 1955 年に設置された専任職員をおく学内共同研究施設であり、様々な研究分野の研究者により活用され多くの成果をあげており、本プロジェクトのコアである技術サポートチームについてはこれまでの実績に基づき適切に構築された。

(4) 研究成果の概要 ※下記、13及び14に対応する成果には下線及び\*を付すこと。

Focused ion beam/ scanning electron microscopy (FIB/SEM)は、2008 年に Knott らにより報告された画期的電子顕微鏡法であり、走査型電子顕微鏡(SEM)による組成コントラスト情報の映像化、および、ガリウムイオンビームによるブロック表面の精密切削を組み合わせた画期的新機軸超微形態観察法である。まず第一に、これまで通り作製されたエポキシ樹脂包埋生物試料ブロックの平滑な表面に面だし(露出)した試料の断面画像を組成コントラスト像として SEM により可視化する技術の発達が重要である。これにより、数 mm にわたる樹脂包埋試料ブロック表面の大変広範な領域について、電顕レベルの分解能で観察することが可能となった。これまでは透過型電子顕微鏡(TEM)の蛍光板に投影される、金属グリッドに拾い上げた組織切片の画像を観察者が暗間で独り観察していたものが、明るい室内で、複数の研究者と共有できるようになったのである。次に、SEM 試料室内において、ガリウムイオンビームを用いて、厚さ 20~100nm の精密切削により新たな試料面を露出する技術の発達が重要である。それぞれ材料系の研究分野で開発・発展した技術であり、これら二つの電顕技術イノベーションの連携・融合により生まれた装置が FIB/SEM である。この手法では、おおよそ 100  $\mu$ m 四方の領域について slice & view を繰り返すことにより、一晩で 1000 枚ほどの連続画像を得ることが実現され、画像解析ワークステーション上の AMIRA/AVIZO 等の画像解析ソフトによる解析により、三次元微細構造再構築像が得られるようになった(FIB/SEM tomography)。

ところで、FIB/SEMによる組成コントラスト像観察においては、元来はSEMの反射電子モード観察が有利であることから、vCD 検出装置の使用が主流である。しかしながら、vCD 観察

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

は、vCD 自体の消耗・汚染が予想外に早く、なんらかの処置が必要であるにもかかわらず、構造的・物質的にクリーニングが難しいこと、さらに、経費の問題から部品交換は現実的ではなかった。我々は、これまでの経験から、反射電子ではなく、二次電子シグナルにより画像化することを試み、Quanta 3D FEG に装着されている ETD を使用することにより良好な結果を得ることができるようになった。また、本プロジェクト 2 年目に導入した ICE 検出器は、ETD と同様の二次電子検出器である。試料の条件によってはさらに高精度な画像を得ることが可能であり、現在もその可能性を追求している。なお、現在、vCD 交換もリーズナブルな経費で実現可能となっている。

本プロジェクトを通じて、FIB/SEM および FIB/SEM tomography 法をもちいた三次元微細構造解析により、組織・細胞のオーダーにおいて、これまで予想できなかった構造的特徴が明らかとなり、これからの形態研究に極めて重要な手法となることが示された。これまで多くの観察・解析がなされてきた細胞・組織、および臓器・器官において想像の域を出ていなかった例が思いの外多く、これら手法で再観察する意義が大きいことを伺わせる。生体全体について再検討するために、それらの普及および操作性の向上は重要な課題である。

<優れた成果が上がった点>

FIB/SEMにおいて、FIB (focused ion beam)による超薄切削は厚さ 20nm まで薄くすることが可能である。TEM 観察超薄切片が薄くて 50nm であることを考慮すると、1/2 以下である。これにより、超薄切片の厚みの中に隠されていた構造が認知可能となり、Ohta ら (Micron, 2012) のミトコンドリア cristae junction は、その効果の典型例である。本プロジェクトでは FIB/SEM の特徴を活かした複数の研究が実施されている。主たるものとして、連続超薄切削画像再構築による三次元微細構造解析ではじめて可能となった培養細胞のミトコンドリアの微細構造 (特に CLEM; correlative light & electron microscopy 観察)、通常の組織 (皮膚真皮 (Oka *et al*, Kurume Med J in press<sup>\*24</sup>), 消化管・泌尿器系臓器壁の筋・結合組織) における細胞・間質の組織構築、また、骨、腱、歯等、通常、電顕観察が最も不利な硬組織の三次元微細構造解析が挙げられる (Kanazawa *et al*, Muscles, Ligaments & Tendons J 2014<sup>\*9</sup>, Kanazawa *et al*, J Orthop Res 2015<sup>\*21</sup>)。中枢神経系における神経細胞間のシナプス、コネクトーム解析にも有意義な結果を得た。

前者としては、間質細胞の形がこれまで考えられていた長い突起をもつ紡錘形あるいは星状ではなく、薄い膜状であることが明らかになったこと (中村; 細胞工学 2015<sup>\*</sup>)、腎系球体足細胞の突起の階層性 (Ichimura *et al*; Sci Rep 2015<sup>\*17</sup>)、歯根膜細胞の形態 (Hirashima *et al*; シンポジウム発表<sup>\*</sup>, 論文準備中) がある。また、骨膜の骨表面への鋳着構造の解析 (Hirashima *et al*; Sci Rep 2016<sup>\*20</sup>) も一流雑誌に掲載され、日本体育大メンバーとの共同研究として行った、骨格筋の神経支配についての SEM 機能を活用した形態解析の論文も出版された (Kouzaki *et al*; Muscle & Nerve 2016<sup>\*25</sup>)。さらに、海馬歯状回神経細胞 spine の治療薬投与時の形態変化について、これまで主流であった光学顕微鏡による解析に加え、周辺の組織との関連について観察できたことは高く評価されている (Kitahara *et al*; PLoS One 2016<sup>\*22</sup>)。このほか、成果の多くは、学会発表され、現在論文準備中である。

一方、FIB/SEM 観察を効果的に行うため、使用する樹脂の導電性が重要である。樹脂包埋試料の樹脂表面の SEM 観察において、電子線による樹脂への帯電は、ディスチャージを惹起するため、反射電子、二次電子等のシグナルを汚染し、繊細な画像取得に重篤な障害となる。これを避けるために、試料周辺に銀ペースト等を塗布し、電荷を逃がすことにより帯電防

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

止を図る。しかしながら、微細構造観察のためにはごく少量の電荷であっても悪影響を及ぼすことがあり、それを避けるために導電性樹脂を開発し、その成果について現在特許が認可されている(太田・桐生、特許)。

#### <課題となった点>

本手法の課題の第 1 としては、顕微装置が高価であるため、どの大学・施設でも設置できるものではないことが挙げられる。また、装置の性能として、より高分解能での観察が可能である装置の開発、または、より繊細な試料作製法の開発が期待される。高分解能化により TEM 画像と同等の観察が可能となれば、これまでの TEM 観察所見の蓄積がより有効に働くと期待される。さらに、本手法では莫大な量の画像データ(large-scale data)が得られる。現状では、PC ベースのワークステーションで稼働する AMIRA/AVIZO のような画像解析ソフトウェアをもちいて手動ないし半自動の解析を行っている。しかしながら、得られる膨大な量の電顕画像(large-scale data)のトレース(segmentation)において、自動判別では精密な作業が難しく、詳細の判断は未だ目視による判断が最も信頼できるという評価もあるものの、手動では客観的な評価が必ずしも容易ではない。これを克服するには、然るべき新規解析法の開発が必須である。もう一点、組織中の目的とする細胞丸ごと一個の解析をするための技術の開発も必須である。これについてはごく最近、太田らにより多光子レーザー顕微鏡により試料ブロックの特定の領域にマーキングする手法などが開発されつつある。

#### <自己評価の実施結果と対応状況>

##### <外部(第三者)評価の実施結果と対応状況>

自己評価および外部評価に代わるものとして、関連する科研費採択情報を挙げる。本装置を使用した研究成果を元に発展させるべき研究課題として本私大戦略採択前の準備段階の科研費として 3 件、また、私大戦略採択後に科研費 9 件が採択されている(以下に挙げる)。それぞれの課題において最終報告および中間報告が行われている。

#### 平成 23 年度

中村桂一郎(挑戦的萌芽 H23-24)

#### 平成 24 年度

太田啓介(基盤(C) H24-26)

金澤知之進(若手(B) H24-26)

#### 平成 25 年度

中村桂一郎(挑戦的萌芽 H25-26)

力丸由起子(若手(B)H25-28 産休をはさむ)

#### 平成 26 年度

中村桂一郎(基盤(B)H26-28)

#### 平成 27 年度

太田啓介(基盤(C) H27-29)

林篤正(基盤(C)H27-29)

上村慶一郎(若手(B) H27-29)

平田憲(基盤(C)H27-29)

古賀憲幸(基盤(C)H27-29)

#### 平成 28 年度

藤田守(基盤(C)H28-30)



法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

また、前述の通り、複数の学会においてシンポジウム企画に参加する、または、シンポジストとして本法の紹介と共に、研究成果を公開してきた(成果の学会発表欄のリストを参照)。

日本顕微鏡学会  
 日本解剖学会  
 日本生理学会  
 日本生物物理学会  
 日本組織細胞化学会  
 日本臨床分子形態学会

<研究期間終了後の展望>

複数の研究分野において採択された科研費による医学生命科学研究の発展に繋がると期待される。また、本私大戦略に基づく活動成果の一環として、本年度(2016年度)4月に発足した文科省科研費助成事業・新学術領域研究・学術研究支援基盤形成「先端バイオイメージング支援プラットフォーム」(<http://www.nips.ac.jp/bioimaging/organize/em.html>)に採択されている。これは六年間にわたる研究支援プラットフォームであり、本私学戦略プロジェクトの成果を基盤として、意欲的な研究者の参加を得て、さらなる形態科学発展に寄与できると確信する。

<研究成果の副次的効果>

新機軸手法の技術的確立と、専門家でなくとも実現可能な取り扱いの簡潔化が実現しつつあり、それにより本手法の開発と応用の医学生物学研究における有用性が示された。今後の形態学研究に新たな展開が期待される。

12 キーワード(当該研究内容をよく表していると思われるものを8項目以内で記載してください。)

- (1) 高分解能 SEM                      (2) FIB                                      (3) 連続高分解能像  
 (4) 三次元微細構造再構築            (5) 細胞                                      (6) 細胞内小器官  
 (7) ミトコンドリア                      (8) 組織

13 研究発表の状況(研究論文等公表状況。印刷中も含む。)

上記、11(4)に記載した研究成果に対応するものには\*を付すこと。

<雑誌論文>

2013年度

- \*小林正利、太田啓介、東龍平、中村桂一郎、櫻井忠義:収束イオンビーム搭載走査型電子顕微鏡(FIB/SEM)観察による筋損傷修復時に現れる骨格筋間質細胞の3Dネットワーク. 日本体育大学紀要.Sep;43(1):1-7.2013
- 田上隆一郎、平嶋伸悟、金澤知之進、吉富宗健、太田啓介、中村桂一郎、楠川仁悟:副甲状腺ホルモンの間歇的投与がラット皮下異所性骨モデルに与える影響. 久留米医学会誌. 76:34-41. 2013

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

3. Fukata M, Ishikawa F, Najima Y, Yamauchi T, Saito Y, Takenaka K, Miyawaki K, Shimazu H, Shimoda K, Kanemaru T, Nakamura K, Odashiro K, Nagafuji K, Harada M, Akashi K: Contribution of bone marrow-derived hematopoietic stem/progenitor cells to the generation of donor-maker<sup>+</sup> cardiomyocytes in vivo. Plos One. May; 8 5: 1-10. 2013  
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0062506>
4. \*Uemura Y, Qin L, Gotoh K, Ohta K, Nakamura K, Watanabe H: Comparison study of single and concurrent administrations of carbapenem, new quinolone, and macrolide against in vitro nontypeable Haemophilus influenzae mature biofilms. J Infect Chemother. Apr 20;1-7.2013  
DOI: 10.1007/s10156-013-0598-5. Epub 2013 Apr 20.
5. Nogita H, Ohta K, Hisaka T, Nakayama M, Akashi M, Etoh D, Kawashima Y, Kawahara R, Ishikawa H, Yasunaga M, Horiuchi H, Nakamura K, Kinoshita H, Shirouzu K, Daimei E, et al. Objective Detection for Biliary Tract Carcinoma Using Autofluorescence Imaging. Abdominal Oncology. Apr;1(1):1-7. 2013  
DOI 10.5754/AB 13004
6. Ishibashi Y, Matsui T, Ohta K, Tanoue R, Takeuchi M, Asanuma K, Okuda S, Nakamura K. PEDF inhibits AGE-induced podocyte apoptosis via PPAR-gamma activation. Microvasc Res. Jan;85:54-8. 2013  
[www.elsevier.com/locate/yvmv](http://www.elsevier.com/locate/yvmv)

## 2014 年度

7. \*小林正利、太田啓介、東龍平、中村桂一郎: マウス骨格筋組織における骨髄由来細胞の分布. 久留米医学会誌 2014 77(1): 34-44
8. 岩本修、田上隆一郎、太田啓介、中村桂一郎、楠川仁悟: 早期口腔癌特殊観察の臨床的意義. 久留米医学会誌 2014 77(1): 8-17
9. \*Kanazawa T, Gotoh M, Ohta K, Shiba N, Nakamura K  
Novel characteristics of normal supraspinatus insertion in rats: an ultrastructural analysis using three-dimensional reconstruction using focused ion beam/scanning electron microscope tomography.  
Muscles, Ligaments and Tendons Journal 2014 4 (2): 182-187,
10. Kanazawa T, Soejima T, Noguchi K, Tabuchi K, Noyama M, Nakamura K, Shiba N.  
Tendon-to-bone healing using autologous bone, marrow-derived mesenchymal stem cells in ACL reconstruction without a tibial bone tunnel -A histological study-.  
Muscles, Ligaments and Tendons Journal 2014 4 (2): 201-206
11. Shibata H, Gotoh M, Mitsui Y, Kai Y, Nakamura H, Kanazawa T, Okawa T, Higuchi F,

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

Shirahama M, Shiba N .Risk factors for shoulder re-dislocation after arthroscopic repair .Journal of orthopaedic surgery and research. 2014 July 9(1) 53

12. Hayashi T, Takeya M, Nakamura K, Matsuoka K. Effects of Silodosin and Tamsulosin on the Seminal Vesicle Contractile Response. Lower Urinary Tract Symptoms 2014  
DOI: 10.1111/luts.12072
13. \*太田啓介、金澤知之進、中村桂一郎:FIB/SEM トモグラフィー法による三次元再構築の特徴、顕微鏡、査読有、Vol.49、pp.161-165. 2014
14. Oshita K, Itoh M, Hirashima S, Kuwabara Y, Ishihara K, Kuwahara K, Nakao K, Kimura T, Nakamura K, Ushijima K, Takano M. Ectopic automaticity induced in ventricular myocytes by transgenic overexpression of HCN2. Journal of Molecular and Cellular Cardiology 80 (2015) 81-89  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2014.12.019>

#### 2015 年度

15. Uemura K,Ohta K, Kanazawa T,Hayashi T,Tanoue R,Yoshitomi M,Hirashima S,Suekane S,Matsuoka K,Igawa T,Nakamura K. Subcutaneous transplantation promotes organ formation of the fetal rat urogenital sinus. Acta Histochem.2015 Jul;117(6):512-20.doi: 10.1016/j.acthis.2015.03.008. Epub 2015 Apr 6.
16. Hara M, Takahashi T, Mitsumasu C, Igata S, Takano M, Minami T, Yasukawa H, Okayama S, Nakamura K, Okabe Y, Tanaka E, Takemura G, Kosai K, Yamashita Y, Matsuishi T. Disturbance of cardiac gene expression and cardiomyocyte structure predisposes Mecp2-null mice to arrhythmias. SCIENTIFIC REPORTS, 2015  
DOI:10.1038/srep11204
17. \*Ichimura K, Miyazaki N, Sadayama S, Murata K, Koike M, Nakamura K, Ohta K, Sakai T. Three-dimensional architecture of podocytes revealed by block-face scanning electron microscopy. SCIENTIFIC REPORTS | 5 : 8993 |DOI: 10.1038/srep08993, 2015
18. \*Nguyen MJ, Higashi R, Ohta K, Nakamura K, Hashitani H, Lang JR. Autonomic and sensory nerve modulation of peristalsis in the upper urinary tract. Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical. 2015  
<http://dx.doi:10.1016/j.autneu.2015.07.425>
19. Nakamura H, Gotoh M, Kanazawa T, Ohta K, Nakamura K, Honda H, Ohzono H, Shimokobe H, Mitsui Y, Shirachi I, Okawa T, Higuchi F, Shirahama M, Shiba N, Matsueda S. 2015. Effects of corticosteroids and hyaluronic acid on torn rotator cuff tendons in vitro and in rats. J Orthop Res. 33: 1523-1530, 2015  
DOI 10.1002/jor.22921

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

20. \*Hirashima S, Ohta K, Kanazawa T, Uemura K, Togo A, Yoshitomi M, Okayama S, Kusakawa J, Nakamura K. Anchoring structure of the calvarial periosteum revealed by focused ion beam/scanning electron microscope tomography. SCIENTIFIC REPORTS, December 2015 DOI:10.1038/srep17511
21. \*Kanazawa T, Gotoh M, Ohta K, Shiba N, Nakamura K. Three-dimensional ultrastructural analysis of development at the supraspinatus insertion by using focused ion beam/scanning electron microscope tomography in rats. J Orthop Res. Nov 2015 DOI: 10.1002/jor.23111
22. \*Kitahara Y, Ohta K, Hasuo H, Shuto T, Kuroiwa M, Sotogaku N, Togo A, Nakamura K, Nishi A. Chronic fluoxetine induces the enlargement of perforant path-granule cell synapses in the mouse dentate gyrus. PLoS One: Oct 2015  
http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0147307

## 2016 年度

23. Honda H, Gotoh M, Kanazawa T, Nakamura H, Ohta K, Nakamura K, Shiba N: Effects of lidocaine on torn rotator cuff tendons. J Orthop Res. Jan 2016  
DOI: 10.1002/jor.23153.
24. \*Oka T, Ohta K, Kanazawa T, Nakamura K: Interaction between macrophages and fibroblasts during wound healing of burn injuries in rats.  
Kurume Medical Journal (in press) 2016
25. \*Kouzaki K, Kobayashi M, Nakamura K, Ohta K, Nakazato K: Repeated bouts of fast eccentric contraction produce sciatic nerve damage in rats. Muscle Nerve. Mar 19. 2016  
doi: 10.1002/mus.25110. [Epub ahead of print]

## &lt;図書&gt;

1. \*太田啓介: 三次元画像センシングの新展開-リアルタイム・高精度に向けた要素技術から産業応用まで久留米大学 順天堂大学 市村浩一郎 2015.5.29 , 株式会社エヌ・ティー・エス 刊
2. \*太田啓介: 産業応用を目指した無機・有機新材料創製のための構造解析技術 Structural Analysis of Novel Organic-Inorganic Materials for Industrial Applications 監修:米澤 徹, 陣内浩司 発行 2015.8 月株)シーエムシー出版 P156~165
3. \*太田啓介: SEM 連続断面観察(SSSEM)法による三次元形態観察-電子顕微鏡を用いた nm スケールの 3D 観察 超解像画像イメージングができる! (仮)(印刷中)

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

## &lt;学会発表&gt;

2013 年度

1. Uemura K, Ohta K, Kanazawa T, Yoshitomi M, Hirashima S, Hayashi T, Matsuoka K, Nakamura K. Androgen dependent prostate like growth of fetal rat urogenital sinus by subcutaneous allotransplantation. The 65<sup>th</sup> annual meeting of west japan urological association. Nov; 2013 (Saga)
2. 岡毅、金澤知之進、太田啓介、中村桂一郎: 熱傷形成ラットにおける細胞の分布と配列の差違. 第 65 回日本皮膚科学会西部支部学術大会. Nov; 2013 (鹿児島)
3. \*金澤知之進、太田啓介、都合垂記暢、中村桂一郎: ラット棘上筋腱-骨縫合後の三次元超微形態構造解析. 第 69 回解剖学会九州支部学術集会. Nov; 2013 (鹿児島)
4. \*太田啓介: FIB/SEM トモグラフィ-3 次元解析のターゲットと試料作製. 日本顕微鏡学会「SEM 連続断面観察による生物組織三次元再構築法研究部会」第一回研究会. Oct; 2013 (久留米)
5. \*金澤知之進、後藤昌史、太田啓介、中村桂一郎、志波直人、永田見生: 次世代走査型電子顕微鏡(FIB/SEM tomography)を用いた、ラット棘上筋腱正常付着部/腱板縫合後腱骨間の三次元超微形態構造解析. Oct; 2013 (幕張)
6. 金澤知之進、後藤昌史、中村秀裕、柴田英哲、中村桂一郎、志波直人、永田見生: ラット棘上筋腱損傷モデルにおけるコルチコステロイドの影響: 腱骨間治癒について. Oct; 2013 (幕張)
7. \*Kanazawa T, Gotoh M, Ohta K, Togo A, Higashi R, Shiba N, Nakamura K: 3D-Ultrastructural analysis at repaired supraspinatus tendon/bone insertion in rat. 8<sup>th</sup> Combined meeting Orthopaedic Research Societies. Oct; 2013 (Venice)
8. Kanazawa T, Gotoh M, Shibata H, Nakamura H, Shiba N, Nakamura K: Effect of corticosteroid on tendon-bone healing after acute rotator cuff tear in rat. 8<sup>th</sup> Combined meeting Orthopaedic Research Societies. Oct; 2013 (Venice)
9. \*金澤知之進、後藤昌史、中村秀裕、志波直人: ラット棘上筋腱-骨縫合後の三次元超微形態構造解析. 第 40 回日本肩関節学会. Sep; 2013 (京都)
10. 金澤知之進、後藤昌史、中村秀裕、柴田英哲、志波直人: ラット棘上筋腱断裂モデルにおけるコルチコステロイドの影響. 第 40 回日本肩関節学会. Sep; 2013 (京都)

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

11. \*中村桂一郎、東龍平、金澤知之進、武谷三恵、都合亜記暢、岡山聡子、林篤正、太田啓介: 管腔臓器壁を構築する細胞群の FIB/SEM トモグラフィによる三次元超微形態解析. 第 45 回日本臨床分子形態学会. Sep; 2013 (福岡)
12. \*金澤知之進、太田啓介、都合亜記暢、東龍平、岡山聡子、中村桂一郎: FIB/SEM トモグラフィを用いた、ラット腱板正常付着部/縫合後腱骨間の超微形態観察. 第 45 回日本臨床分子形態学会. Sep; 2013 (福岡)
13. 林篤正、上村慶一郎、中村桂一郎、松岡啓: モルモット精嚢に存在する間質細胞. 第 45 回日本臨床分子形態学会. Sep; 2013 (福岡)
14. 上村慶一郎、太田啓介、林篤正、松岡啓、中村桂一郎: 同種皮下移植を行ったラット雄性尿生殖洞の組織学的検討. 第 45 回日本臨床分子形態学会. Sep; 2013(福岡)
15. \*太田啓介、岡山聡子、吉富宗健、力丸由起子、都合亜記暢、岡毅、金澤知之進、中村桂一郎: FIB/SEM トモグラフィ法による生体組織のメゾスケールと免疫組織化学的観察の接点. 第54回日本組織細胞化学会学術集会. Sep; 2013 (東京)
16. \*吉富宗健、太田啓介、東龍平、金澤知之進、上村慶一郎、岡山聡子、都合亜記暢、平嶋伸悟、森岡基浩、中村桂一郎: FIB/SEM による下垂体前葉と血管との空間的關係性. 第54回日本組織細胞化学会学術集会. Sep; 2013 (東京)
17. \*岡山聡子、太田啓介、東龍平、石原玲子、石原直忠、中村桂一郎: FIB・SEM を用いたヒトミトコンドリア核様体の免疫組織化学的局在. 第54回日本組織細胞化学会学術集会. Sep; 2013 (東京)
18. \*太田啓介: FIB/SEM トモグラフィ SEM 組成観察像に基づく生物組織の3次元再構築法. ScanTech2013. Sep; 2013 (東京)
19. \*Ohta K, Nakamura K: 3D Reconstruction of the cells and tissues using FIB/SEM tomography method. International Symposium on Morphological Science. Sep; 2013 (Niigata)
20. \*太田啓介: FIB/SEM トモグラフィ法による生体組織3次元構造解析. 第29回分析電子顕微鏡討論会. Sep; 2013 (千葉)
21. \*太田啓介: FIB/SEM トモグラフィ法による生物試料の3次元構造解析. 日本顕微鏡学会「分析電子顕微鏡討論会」. Sep; 2013 (幕張)
22. \*太田啓介: 3D マルチスケールトモグラフィで明らかにする命のかたちの階層性. 生化学若い研究者の会 九州支部 秋のセミナー. Nov; 2013 (久留米)

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

23. \*太田啓介: Block Face Image バルク標本の平滑面からの組織観察. 医学生物学電顕技術学会大23回「夏の学校」. Aug; 2013 (北九州)
24. \*Ohta K, Higashi R, Togo A, Okayama S, Nakamura K: Distribution of the mitochondria-associated ER membrane in rat hepatocyte revealed by FIB/SEM tomography. Microscopy & Microanalysis 2013.Aug; 2013 (Indianapolis)
25. \*太田啓介: FIB/SEM を用いた連続ブロック表面観察による生物組織のメゾケール3次元形態観察. 日本顕微鏡学会第 69 回学術講演会. May; 2013 (大阪)
26. 作田祐介、森本健吾、朝比奈俊輔、菊池真樹、太田啓介: 低入射エネルギー反射電子像によるソフトマテリアルの無染色観察. 日本顕微鏡学会第 69 回学術講演会. May; 2013 (大阪)
27. \*都合垂記暢、東龍平、川本晃大、太田啓介、柳田俊男、中村桂一郎: 急速凍結置換試料のための FIB/SEM トモグラフィー観察用 *en bloc* 染色法. 日本顕微鏡学会第 69 回学術講演会. May; 2013 (大阪)
28. \*Kanazawa T, Gotoh M, Ohta K, Togo A, Higashi R, Shiba N, Nakamura K. 12<sup>th</sup> International congress of shoulder and elbow surgery. April; 2013 (Nagoya)
29. \*太田啓介: 収束イオンビーム搭載走査型電子顕微鏡(FIB/SEM)観察による細胞・組織の3次元メゾスケール構造. 順天堂大学超微形態研究室研究報告会. Dec; 2013 (東京)
30. \*吉富宗健: FIB/SEM による下垂体前葉細胞と血管との空間的關係性. 顕微鏡学会地方会. Dec; 2013 (福岡)
31. \*Ohta K : Three-dimensional organization of the organelle visualized by FIB/SEM tomography. JSM-BA & MPFI Joint-Seminar 2013. Dec; 2013 (Max Planck Florida Institute)
32. \*Kanazawa T, Ohta K, Gotoh M, Togoh A, Shiba N, Nakamura K: Three-dimensional ultrastructural analysis at the repaired supraspinatus insertion in rat Orthopaedic Research Society2014 Annual meeting. Dec; 2013 (New Orleans)
- 2014 年度
33. \*Ohta K, Nakamura K: Three-dimensional entire membrane organization of the mitochondria revealed by high resolution FIB/SEM tomography method. 第 91 回日本生理学会全国学術集会. Mar; 2014 (鹿児島)

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

34. \* 太田啓介: SEM 連続断面観察法における FIB/SEM トモグラフィー法の特徴. 第 119 回日本解剖学会総会・全国学術集会 Mar; 2014 (宇都宮)
35. \* 吉富宗健: 下垂体細胞と血管との空間的関係性. 第 119 回日本解剖学会総会・全国学術集会 Mar; 2014 (宇都宮)
36. \* 平嶋伸悟: 歯根膜における歯根膜線維の走行と細胞性ネットワークの関連性. 第 119 回日本解剖学会総会・全国学術集会 Mar; 2014 (宇都宮)
37. \* 太田啓介, 中村桂一郎: SEM 連続断面観察による生物組織の 3 次元再構築法. 第 70 回日本顕微鏡学会記念学術集会 May; 2014 (千葉)
38. \* 都合亜紀暢: SEM 断面観察用 en bloc 染色における Hydroquinon 処理の効果について. 第 70 回日本顕微鏡学会記念学術集会 May; 2014 (千葉)
39. \* 平嶋伸悟: 歯根膜に置ける歯根膜線維の走行と細胞間ネットワーク. 第 68 回日本口腔科学会学術集会 May; 2014 (東京)
40. \* 太田啓介: Volume 電子顕微鏡技術で解析する細胞・組織の 3 次元メゾスケール構造. 京都市立医科大学大学院医学研究科大学院特別講義. Jun; 2014 (京都)
41. \* 太田啓介: FIB/SEM 装置を用いた細胞・組織の 3 次元メゾスケール構造解析. 生物系試料のための FIB/SEM 研究会. Jun; 2014 (名古屋)
42. Ohta K, Okayama S, Togo A, Nakamura K, : Detailed membrane association between mitochondria and surrounding endoplasmic reticulum in mammal cells revealed by three-dimensional reconstruction using focused ion beam scanning electron microscope. 18<sup>th</sup> International Microscopy Congress. Sep; 2014 (プラハ)
43. Okayama S, Ohta K, Higashi R, Nakamura K: Three-dimensional distribution of the mitochondrial DNA in the mammalian cell using FIB/SEM. 18<sup>th</sup> International Microscopy Congress. Sep; 2014 (プラハ)
44. Togo A, Higashi R, Ohta K, Nakamura K: Effect of hydroquinone treatment on OTO en bloc stained biological specimens. 18<sup>th</sup> International Microscopy Congress. Sep; 2014 (プラハ)
45. 平嶋伸悟: 歯根膜における歯根膜線維の走行と細胞性ネットワークの 3 次元超微形態解析. 第 56 回歯科基礎医学会学術大会・総会サテライトシンポジウム. Sep; 2014 (福岡)
46. Ohta K, Significance of electron microscopic 3D reconstruction in medical biology. Riken Qbic PI meeting. Oct; 2014 (Kobe)



法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

47. 金澤知之進: 出生後ラット棘上筋腱付着部形成過程の三次元超微形態解析. 第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会. Oct; 2014 (鹿児島)
48. 吉富宗健: 下垂体前葉細胞は血管と接することで分泌顆粒を局在させる. 第 73 回日本脳神経外科学会学術総会. Oct; 2014 (東京)
49. 金澤知之進, 中村桂一郎: 出生後における正常腱骨付着部形成過程の超微形態構造解析—肩関節腱板縫合後の組織変化との比較—. 第 46 回日本臨床分子形態学会総会・学術集会. Oct; 2014 (東京)
50. 右田尚, カ丸由起子, カ丸英明, 太田啓介, 清川兼輔, 中村桂一郎: ラットを用いた移植肋軟骨の経時的変化に関する組織学的研究. 第 70 回日本解剖学会九州支部学術集会. Oct; 2014 (北九州)
51. 金澤知之進: ラット棘上筋腱骨付着部の超微形態における機能解剖学的構造解析. 第 41 回日本肩関節学会. Oct; 2014 (佐賀)
52. Ichimura K, Miyazaki N, Sadayama S, Murata K, Koike M, Nakamura K, Ohta K. Newly characterized structure of podocytes revealed by three-dimensional analysis using block face scanning electron microscopy. Opening International Symposium JSM Next-generation Microscopic Science. Nov; 2014 (淡路島)
53. Ohta K: Three dimensional organization of the endoplasmic reticulum membrane around the mitochondrial constriction site in mammalian cell revealed by using focused-ion beam tomography. 第 58 回日本顕微鏡学会シンポジウム. Nov; 2014 (福岡)
54. Okayama S, Ohta K, Higashi R, Nakamura K: Correlative light and electron microscopic observation of mitochondrial DNA in mammalian cells by using focused-ion beam scanning electron microscopy. 第 58 回日本顕微鏡学会シンポジウム. Nov; 2014 (福岡)
55. Togo A, Ohta K, Higashi R, Nakamura K: en bloc staining with HQ treatment for the Block face imaging. 第 58 回日本顕微鏡学会シンポジウム. Nov; 2014 (福岡)
56. Ohta K, Nakamura K(Invited)  
3D entire membrane organization of the mitochondria revealed by high resolution FIB/SEM tomography method .The 91st Annual Meeting of the Physiological Society of Japan. 2014.3.18 (鹿児島)
57. 中村 桂一郎, 東 龍平, Nguyen MJ, Lang RJ, 金澤 知之進, 林 篤正, 太田 啓介. FIB/SEM tomography による腎盤内 尿管起始部の細胞構築の観察. 第 56 回日本顕微鏡学会九州支部学術集会. 2014.12.6 (宮崎)
58. Togo A, Ohta K, Higashi R, Nakamura K: *en bloc* staining with HQ treatment for the block

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

face imaging. 第 58 回日本顕微鏡学会シンポジウム. 2014.11.16-17 (福岡)

59. Okayama S, Ohta K, Higashi R, Nakamura K: Correlative light and electron microscopic observation of mitochondrial DNA in mammalian cells by using focused-ion beam scanning electron microscopy. 第 58 回日本顕微鏡学会シンポジウム. 2014.11.16-17 (福岡)
60. Ohta K, Okayama S, Togo A, Nakamura K: Three dimensional organization of the endoplasmic reticulum membrane around the mitochondrial constriction site in mammalian cell revealed by using focused-ion beam tomography. 第 58 回日本顕微鏡学会シンポジウム. 2014.11.16-17 (福岡)

#### 2015 年度

61. Nakamura K, Higashi R, Takeya M, Hayashi T, Hirashima S, Kanazawa T, Nguyen M, Lang R, Hashitani H, Ohta K: A novel stromal cell network visualized by FIB/SEM tomography. Symposium on “Multicellular Inputs Regulating Muscle Excitability”. June 14-17, 2015 (Tahoe City アメリカ合衆国)
62. Hayashi T, Takeya M, Uemura K, Kanazawa T, Iino S, Igawa T, Nakamura K: Symposium on “Multicellular Inputs Regulating Muscle Excitability”. June 14-17, 2015 (Tahoe City アメリカ合衆国)
63. 太田啓介, 北原陽介, 渡辺瑞希, 忠成斗, 池澤綾子, 青島利裕, 中村桂一郎: 材料上に培養した藻類の FIB/SEM を用いた形態学的評価法. 日本顕微鏡学会第 71 回学術講演会. 2015.5.13-15 (京都)
64. 太田啓介, 岡山聡子, 中村桂一郎: SEM 連続切片法による三次元再構築と CLEM 観察への応用. 日本顕微鏡学会第 71 回学術講演会. 2015.5.13-15 (京都)
65. Kobayashi M, Ohta K, Nakamura K, Sakurai T. The stromal cells interaction and formed 3D network following acute muscle trauma. 第 120 回日本解剖学会全国学術集会シンポジウム. 2015.3.21-23 (神戸)
66. Takeya M, Hayashi T, Nakamura K, Takano M. Epithelium-dependent periodical excitation in response to stretch of guinea pig seminal vesicle. 第 120 回日本解剖学会全国学術集会. 2015.3.21-23 (神戸)
67. Ichimura K, Miyazaki N, Sadayama S, Murata K, Koike M, Nakamura K, Ohta K, Sakai T. Newly characterized structure of podocytes revealed by three-dimensional analysis using block-face scanning electron microscopy. 第 120 回日本解剖学会全国学術集会シンポジウム. 2015.3.21-23 (神戸)
68. Kanazawa T, Ohta K, Hirashima S, Okayama S, Nakamura K. 3D-ultrastructural analysis

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

- of the development at the supraspinatus tendon insertion with FIB/SEM tomography. 第 120 回日本解剖学会全国学術集会. 2015.3.21-23 (神戸)
69. Kitahara Y, Ohta K, Sotogaku N, Nakamura K, Nishi A. Analysis of synaptic connectivity with FIB/SEM: anti depressant-induced morphological changes in perforant path synapse in the dentate gyrus. 第 120 回日本解剖学会全国学術集会シンポジウム 2015.3.21-23 (神戸)
70. Nakamura K, Higashi R, Nguyen M, Lang R, Hirashima S, Kanazawa T, Takeya M, Hayashi T, Hashitani H, Ohta K: A novel somal cell network visualized by FIB/SEM tomography. 第 120 回日本解剖学会全国学術集会シンポジウム. 2015.3.21-23 (神戸)
71. Kanazawa T, Gotoh M, Ohta K, Togo A, Shiba N, Nakamura K. 3D-ultrastructural analysis of the development at the supraspinatus insertion with FIB/SEM tomography. 2015 Annual meeting Orthopaedic Research Society . 2015.3.28-31 (LasVegas MGM hotel)
72. 金澤知之進、後藤昌史、太田啓介、都合亜記暢、中村桂一郎: 3D-ultrastructural analysis of the development at the supraspinatus insertion with FIB/SEM tomography. 日独整形外科医会. 2015.5.20 (神戸)
73. 金澤知之進、後藤昌史、太田啓介、都合亜記暢、中村桂一郎 : ラット正常付着部と腱板縫合後腱骨間の超微形態/細胞分布の検討. 第 47 回日本臨床分子形態学会総会・学術集会. 2015.9.18-19 (長崎)
74. 太田啓介、中村桂一郎: FIB/SEM を用いた CLEM 観察によるミトコンドリア関連小胞体の三次元構築. 第 47 回日本臨床分子形態学会総会・学術集会. 2015.9.18-19 (長崎)
75. 平嶋伸悟、太田啓介、金澤知之進、都合亜記暢、楠川仁悟、中村桂一郎: 力学的負荷に対する歯根膜組織変化の 3 次元超微形態解析. 第 57 回歯科基礎医学会学術大会・総会サテライトシンポジウム. 2015.9.11 (新潟)
76. Ohta K. CLEM observation of the mitochondrial dynamics in mammalian cells combined with focused ion-beam scanning electron microscopy. (Max Planck, Florida)
77. Satoko Okayama. Visualization of Mitochondrial Nucleoid under Electron Microscopy. (Max Planck, Florida)
78. Ohta K .Advanced electron microscopy. A new world view of mesoscale 第 53 回日本生物物理学会. 2015.9.13-15 (金沢)
79. Ohta K. 3D organization of the mitochondria-associate membrane in mammalian cells by using FIB-SEM tomography. 第 53 回日本生物物理学会. 2015.9.13-15 (金沢)
80. Nagai R, Ohta K, Ichinose T, Mori H, Iwane A. New obvious information obtained from the

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

- cell size and shape during mitosis cycle. 第 53 回日本生物物理学会. 2015.9.13-15 (金沢)
81. Ohta K. Entire membrane organization of mitochondria and surrounding endoplasmic reticulum in mammal cells revealed by three-dimensional reconstruction using focused ion beam scanning electron microscope. Super-resolution in different dimensions. Advanced microscopy meeting in summer. 2015.7.2~3 (Moscow)
82. Ohta K. Recent Serial Slice Scanning Electron Microscopy Uncover the Structural Hierarchy between Tissue and Organelle. IGER International Symposium on Frontiers in Biological Research with Advanced Electron Microscope Technologies. 2015.1.15~16 (Nagoya)
83. 太田啓介、中村桂一郎 :FIB/SEM を用いた CLEM 観察によるミトコンドリア関連小胞体の三次元構築. 臨床分子形態学会. 2015.9.19 (長崎)
84. 太田啓介、吉富宗健、中村桂一郎: FIB/SEM による下垂体三次元再構築データの定量解析の試み~下垂体前葉細胞は血管と接することで分泌顆粒を偏在させる~. 第 31 回日本電子顕微鏡技術学会総会. 2015.6.19~21 (名古屋)
85. 原樹、東龍平、太田啓介、中村桂一郎:Balamuthia mandrillaris のメゾスケール structome 解析.第 84 回日本寄生虫学会. 2015.3.21~22 (東京)
86. Kitahara Y, Ohta K, Shuto T, Kuroiwa M, Sotogaku N, Hasuo H, Togo A, Nakamura K: Chronic fluoxetine treatment induces morphological changes of the perforant path synapse in the dentate gyrus.analysis of synaptic fine structures with FIB-SEM CNS-FANOS. 2015.2015.9 (烏鎮 中国)
87. 太田啓介 :ナノ~ミクロの視点から見る除菌抗菌のメカニズム 第 5 回化学フェスタ(招待講演) 2015.10(東京)
88. 太田啓介:D-CLEM:Live imaging と FIB-SEM3 次元解析を組み合わせた細胞相関観察法の可能性 日本顕微鏡学会マルチスケール電子線トモグラフィ研究部会.2015.12.5 (東京)
89. 力丸由起子、太田啓介、金澤知之進、東龍平、都合亜記暢、岡山聡子、中村桂一郎:ケロイドおよび癬痕の三次元微細構造解析(正常皮膚と成熟癬痕との比較検討) 日本解剖学会第 71 回九州支部学術集会. 2015.10.31 (熊本)
90. 宮園佳宏、太田啓介、都合亜記暢、岡山聡子、中村桂一郎 :FIB/SEM を用いた CCCP 投与後のミトコンドリア超微形態解析:FIB/SEM を用いた CLEM 観察 日本解剖学会第 71 回九州支部学術集会. 2015.10.31 (熊本)
91. 岡山聡子、太田啓介、東龍平、中村桂一郎 :FIB/SEM を用いたミトコンドリア DNA の光

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

顕・電顕相関観察法(CLEM)による解析 第 57 回日本顕微鏡学会九州支部総会・学術講演会. 2015.11.21 (福岡)

92. 平嶋伸悟、太田啓介、金澤知之進、都合亜記暢、楠川仁悟: 力学的負荷に対する歯根膜組織変化の3次元超微形態解析 第 57 回日本顕微鏡学会九州支部総会・学術講演会. 2015.11.21 (福岡)

2016 年度

93. 太田啓介 : FIB 内臓 SEM による細胞・組織の立体構築 第 21 回細胞構造研究会. 2016.1.30~31 (大阪)
94. 原樹、東龍平、岡山聡子、太田啓介、中村桂一郎: *Balamuthia mandrillaris* の捕食運動 第 85 回日本寄生虫学会大会. 2016.3 (宮崎)
95. 太田啓介、宮園佳宏、岡山聡子、金澤知之進、中村桂一郎 : Volume CLEM による機能構造解析への展望. 第 121 回日本解剖学会総会・全国学術集会. 2016.3.28~30 (福島)
96. 小林正利、太田啓介、岡山聡子、東龍平、中村桂一郎、櫻井忠義: FIB/SEM 観察による再生筋間質に現れる細胞性ネットワークの検討 第 121 回日本解剖学会 総会・全国学術集会. 2016.3.28~30 (福島)
97. 力丸由起子、太田啓介、金澤知之進、東龍平、都合亜記暢、岡山聡子、中村桂一郎 FIB/SEM tomography を用いた皮膚の病態生理解析の新技术 第 121 回日本解剖学会 総会・全国学術集会. 2016.3.28~30 (福島)
98. 中村桂一郎、金澤知之進、力丸由起子、平嶋伸悟、宮園佳宏、岡山聡子、東龍平、太田啓介: 次世代走査型電子顕微鏡による三次元微細構造解析. 第 93 回日本生理学会大会. 2016.3.22 (札幌)
99. 武谷三恵、橋谷光、林篤正、中村桂一郎、鷹野誠: モルモット精嚢の自発活動発生における粘膜の役割. 第 93 回日本生理学会大会. 2016.3.22 (札幌)
100. Hayashi T, Hirashima S, Ohta K, Nakamura K, Igawa: Three-dimensional relationship between the bladder intramuscular interstitial cell and the axon innervated in the detrusor bundle by FIB/SEM tomography. AUA2016. May 6-10 (San Diego CA USA)
101. Ohta K (Invited)  
“Three-dimensional organization of mitochondria-associated membrane revealed by FIB-SEM combined with live cell imaging” 11th Asia-Pacific Microscopy Conference (APMC11) May 23 - 27, 2016. (Phuket)

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

<研究成果の公開状況>(上記以外)

シンポジウム・学会等の実施状況、インターネットでの公開状況等  
<既に実施しているもの>

シンポジウム学会等

世話人 太田啓介

「SEM 連続断面観察による生物組織三次元再構築法研究部会」 第一回研究会 「超微全構造解析法 -FIB/SEM,3View,ATUM- のターゲットと試料作製」  
2013.10.20. 9:30-16:40(久留米)

オーガナイザー: 大野伸彦、太田啓介

シンポジウム S9「SEM 連続断面観察による 3 次元微細構造解析法」  
第 119 回日本解剖学会全国学術集会. 2014.3.28 9:15~11:15(宇都宮)

オーガナイザー: 窪田芳之、太田啓介

Symposium 51 Morphological analysis of 3D reconstructed image using serial block-face electron microscope.電子顕微鏡連続断面微細構造観察による 3 次元再構築イメージ解析  
第 91 回日本生理学会総会. 2014.3.18 9:00-11:00(鹿児島)

オーガナイザー: 太田啓介、青山一弘

SB-2「SEM 連続断面観察による生物組織三次元再構築法」  
日本顕微鏡学会第 70 回記念学術講演会. 2014.5.11 13:00~(幕張)

日本顕微鏡学会第 58 回シンポジウム

セッション IV.「3次元電子顕微鏡法がみせるナノとマクロの架け橋」  
(マルチスケルトモグラフィ研究部会・生体構造解析分科会・SSSEM 研究部会)の共同立案. 2014.11.16 (福岡)

世話人: 太田啓介

「SEM 連続断面観察による生物組織三次元再構築法研究部会」第二回研究会 Workshop  
テーマ: SEM 連続断面画像のセグメンテーション. 2014.11.15 13:00(福岡)

座長: 太田啓介、大野伸彦

SB1 「走査型電子顕微鏡が拓く最先端 3 次元 構造解析」  
日本顕微鏡学会第 71 回学術講演会 シンポジウム  
2015. 5.15 13:15~16:10 C 会場(京都)

座長: 中村桂一郎、澤口朗

「超微形態可視化のフロンティア」  
第 47 回日本臨床分子形態学会総会・学術集会. 2015.9.18-19 (長崎)

座長: 大野伸彦、太田啓介

S20「走査型電子顕微鏡による 3 次元超微形態解析の進展と展望 ~試料作製からデータ

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

解析まで〜」第 121 回日本解剖学会全国学術集会. 2016.3.28~30 9:10~11:00(福島)

中村桂一郎、金澤知之進、力丸由起子、平嶋伸悟、宮園佳宏、岡山聡子、東龍平、太田啓介:「次世代走査型電子顕微鏡による三次元微細構造解析 Three dimensional ultrastructural analyses of cells and tissues by a novel scanning electron microscopy.」

日本解剖学会生理学会合同企画シンポジウム: New biological approaches based on large-scale data analyses.第93回日本生理学会総会. 2016.3.24 9:00-10:30(札幌)

座長: 小賤健一郎、中村桂一郎

シンポジウムS22: 革新的技術が切り開く発生・再生医学研究の最前線.第121回日本解剖学会全国学術集会. 2016.3.30 14:30~16:20(福島)

座長: 小賤健一郎・中村桂一郎

力丸由起子、太田啓介、金澤知之進、東龍平、都合亜記暢、岡山聡子、中村桂一郎

「FIB/SEM tomographyを用いた皮膚の病態生理解析の新技术」

シンポジウムS22:「革新的技術が切り開く発生・再生医学研究の最前線」

第121回日本解剖学会全国学術集会. 2016.3.30 14:30~16:20(福島)

インターネットでの公開状況

太田啓介を代表世話人とし、2013年5月日本顕微鏡学会内に「SEM連続断面観察による生物組織三次元再構築法研究部会」を設置

FIB/SEMをはじめとするSEMベースの3次元再構築法について、広く取り扱う研究会を主催同時に <http://www.sssem.info> にて情報公開を行っている。

<これから実施する予定のもの>

座長:太田 啓介、村田和義

S3 SEMによる立体再構築法によって開かれた Mesoscale Biology

日本顕微鏡学会第72回学術講演会 シンポジウム.2016. 5. 15 13:15~16:10 C 会場(仙台)

中村桂一郎

第68回日本皮膚科学会西部支部学術大会(特別講演)

2016.11.19~20(米子市)

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

## 14 その他の研究成果等

太田啓介、桐生俊幸：電子顕微鏡用包埋樹脂組成物及び当該組成物を用いた電子顕微鏡による試料の観察方法.特許第 5822362 号(発明) 2015

中村桂一郎 「1枚の写真館」細胞工学.Vol 34, No10. 2015

## 15 「選定時」及び「中間評価時」に付された留意事項及び対応

## &lt;「選定時」に付された留意事項&gt;

技術の改良を課題を絞って行い、全体に拡げる戦略も必要ではないか。

## &lt;「選定時」に付された留意事項への対応&gt;

FIB/SEM 装置をもちいた FIB/SEM tomography 法は、SEM 観察のイノベーションと FIB を用いた microfabrication の発展を連結することによりはじめて可能となった顕微観察手法であり、材料工学において発展してきた多数の新機軸概念の連携により医学生物学的試料の三次元微細構造解析を実現したものである。2008 年にはじめて報告された新機軸技法であり、国内のメーカーは SEM、FIB それぞれの技術分野では世界最高水準の実力をもつにもかかわらず、生命科学研究に必要となる技術連携は試みてないという事情もあり、開発途上の領域が多い。

久留米大学においては、私学助成により、上記領域の連携を実現した外国メーカーの FIB/SEM 装置を国内で最初に導入し、科研費を得て、様々な生体組織について観察条件の最適化を行うなど、リーディングな立場で研究を推進してきた。本私大戦略プロジェクト採用後も、同じ路線でデータを蓄積し、また、学会等で公開することにより、国内の研究界の啓発に努めてきた。いくつかの学会では本法の紹介や研究成果について招聘されることも多く、また、基礎・臨床を問わず、医学生物学関連の学会においてシンポジウムを企画することも多い。

このような観点から、採択時留意事項については実現できていると考え、さらなる本法の普及に貢献できるよう活動したい。

## &lt;「中間評価時」に付された留意事項&gt;

なし

## &lt;「中間評価時」に付された留意事項への対応&gt;

なし



(様式 2)

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

## 16 施設・装置・設備・研究費の支出状況(実績概要)

(千円)

年度・区分	支出額	内 訳						備考
		法人負担	私学助成	共同研究機関負担	受託研究等	寄付金	その他 (科学研究費助成金)	
平成25年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	6,350	2,117	4,233				
	研究費	11,603	3,650	2,753	0	0	0	5,200
平成26年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	20,100	4,115	3,885	0	0	0	12,100
平成27年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	17,802	7,110	5,892	0	0	0	4,800
平成年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	0						
平成年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	0						
総額	施設	0						
	装置	0						
	設備	6,350	2,117	4,233	0	0	0	0
	研究費	49,505	14,875	12,530	0	0	0	22,100
総計	55,855	16,992	16,763	0	0	0	22,100	

※ 最終年度は予定額。

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

## 17 施設・装置・設備の整備状況 (私学助成を受けたものはすべて記載してください。)

《施設》(私学助成を受けていないものも含め、使用している施設をすべて記載してください。)(千円)

施設の名 称	整備年度	研究施設面積	研究室等数	使用者数	事業経費	補助金額	補助主体
基礎一号館 (解剖学講座、電子顕微鏡室)	S56	596	26	10			
動物実験センター新実験棟1階	H3	41	3	10			
動物実験センター3階飼育室・実験室	S45	327	2	10			
動物実験センター4階飼育室の各一部	S46	52	3	10			

※ 私学助成による補助事業として行った新增築により、整備前と比較して増加した面積

0 m<sup>2</sup>

《装置・設備》(私学助成を受けていないものは、主なもののみを記載してください。)

(千円)

装置・設備の名称	整備年度	型 番	台 数	稼働時間数	事業経費	補助金額	補助主体
(研究装置)				h			
				h			
				h			
(研究設備)							
倒立型顕微鏡システム一式	19	オリンパス顕微鏡IX71N-22PH他	1	150	h 2,930		
倒立顕微鏡用落射蛍光装置	19	IX2N-FL-1	1	上記部品の一部	h 14,330		
共焦点レーザー走査顕微鏡一式	18	FV1000-MPE	1	190	h 39,000	26,000	私学助成
マクロズーム顕微鏡システム	19	オリンパス MVX10-4	1	100	h 2,400	2,400	日本学術振興会
超微細生体構造ナノ解析システム一式	22	本体 Qunta3型 FEG型	1	4,800	h 78,399	39,373	私学助成
ICE検出器	25	フィールドスルーボックス	1	上記部品の一部	h 6,350	4,233	私学助成
				h			

## 18 研究費の支出状況

(千円)

年 度	平成 25 年度	積 算 内 訳	
小 科 目	支 出 額	主 な 使 途	金 額
教 育 研 究 経 費 支 出			
消 耗 品 費	2,784	薬品、実験器具他	2,784
光 熱 水 費	0		
通 信 運 搬 費	2	郵送代、宅急便代	2
印 刷 製 本 費	240	コピー代、用紙代	240
旅 費 交 通 費	239	学会旅費 国内	239
報 酬 ・ 委 託 料	1,792	事務補助委託費、謝礼	1,792
(機械器具修理、雑用費)	116	機械器具修理、雑用費	116
計	5,173		5,173
ア ル バ イ ト 関 係 支 出			
人 件 費 支 出 (兼務職員)			
教 育 研 究 経 費 支 出			
計	0		
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)			
教 育 研 究 用 機 器 備 品	1,230	機器	1,230
図 書			
計	1,230		1,230
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出			
リサーチ・アシスタント			
ポスト・ドクター			
研究支援推進経費			
計	0		

法人番号	401002
プロジェクト番号	S1312009

## 18 研究費の支出状況 (千円)

年 度	平成 26 年度		
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳	
		主 な 使 途	金 額
教 育 研 究 経 費 支 出			
消 耗 品 費	3,453	薬品、実験器具他	3,453
光 熱 水 費			
通 信 運 搬 費	2	郵送代、宅急便代	2
印 刷 製 本 費	229	コピー代、用紙代	229
旅 費 交 通 費	465	学会旅費 国内	465
報 酬 ・ 委 託 料	1,864	事務補助委託費、謝礼	1,864
(機械器具修理、雑用費)	703	機械器具修理、雑用費	703
計	6,716		6,716
ア ル バ イ ト 関 係 支 出			
人件費支出 (兼務職員)	148	アルバイト代	20
			128
教育研究経費支出			
計	148		148
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)			
教育研究用機器備品	1,136	機器	1,136
図 書			
計	1,136		1,136
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出			
リサーチ・アシスタント			
ポスト・ドクター			
研究支援推進経費			
計	0		

## 18 研究費の支出状況 (千円)

年 度	平成 27 年度		
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳	
		主 な 使 途	金 額
教 育 研 究 経 費 支 出			
消 耗 品 費	6,670	薬品、実験器具他	6,670
光 熱 水 費	0		
通 信 運 搬 費	3	郵送代、宅急便代	3
印 刷 製 本 費	9	用紙代	9
旅 費 交 通 費	2,108	学会旅費 国内・国外	2,108
報 酬 ・ 委 託 料	1,674	事務補助委託費	1,674
(機械器具修理・保守)	1,225	機械器具修理、保守	1,225
計	11,689		11,689
ア ル バ イ ト 関 係 支 出			
人件費支出 (兼務職員)	467	アルバイト料	240
			227
教育研究経費支出			
計	467		467
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)			
教育研究用機器備品	846	機器	846
図 書			
計	846		846
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出			
リサーチ・アシスタント			
ポスト・ドクター			
研究支援推進経費			
計	0		