

2018年12月7日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

## ヒト腸上皮組織の新規培養技術を開発 —「腸らしい」腸を作るための2つの因子を同定—

このたび、慶應義塾大学医学部坂口光洋記念講座（オルガノイド医学）の佐藤俊朗教授らの研究グループは、実際のヒトの腸管上皮組織に類似した「ミニ組織」、ヒト腸管上皮オルガノイド（注1）を永続的に培養する新規培養技術を開発しました。ヒトの腸管上皮には水分や栄養分の吸収、粘液の分泌やホルモンの産生を担うさまざまな分化細胞（注2）が存在します。佐藤教授らは2012年にヒトの腸管上皮細胞を体外で永続的に三次元培養する手法を確立しましたが（Sato T, et al. *Gastroenterology* 2012）、この手法では、用いられる増殖因子が分化を阻害するため、生体でみられる幹細胞から分化細胞が生じ上皮組織に供給され続ける現象をオルガノイドで再現することはできませんでした。そこで、本研究では、培養に用いる増殖因子を見直し、従来用いていた因子をヒト腸管組織で機能するIGF-1とFGF-2という2つの因子で置き換えることで、より生体内に近い環境を培養液に再現しました。この新規手法を用いることにより、分化細胞が供給され続ける生体に類似したオルガノイドを効率的に作成することができるようになりました。

本研究成果によって、より本来の組織に近いヒトの腸上皮組織を体外で構築することが可能となります。今後この新規培養技術が普及することで、従来、臨床試験や動物モデルを用いた研究で行っていた薬剤試験などを培養皿上で簡便にかつ高い精度で行えるようになることが期待されます。

本研究成果は、2018年12月7日午前1時（日本時間）米国科学誌『*Cell Stem Cell*』オンライン版に掲載されました。

### 1. 研究の背景と概要

ヒトの腸管（小腸および大腸）の粘膜、いわゆる上皮は水分や栄養分の吸収を主に担っています。この生命活動の維持に必須の機能に加えて、腸内に無数に存在する細菌へのバリアとなる粘液や抗菌物質を分泌する働きや、食欲や腸管の動きを調節するホルモンの分泌など、さまざまな重要な機能が腸管上皮には備わっています。これらの全く異なる役割をまかなうため、腸管にはそれぞれの機能を専門的に担当する分化細胞が数多く存在します。分化細胞は消化器の病気にも密接に関わっています。例えば、水分や栄養の吸収が不良になると脱水や栄養失調になり、腸管ホルモンのバランスが崩れると下痢や便秘になります。

分化細胞は機能を発揮することに特化しており、長くても2~3週間で寿命を迎えた後

に、そのまま老廃物として腸管内に排泄されます。このように絶えず失われていく分化細胞を供給するため、腸管上皮には全ての分化細胞の生みの親である幹細胞が存在します。幹細胞は生涯にわたって分化細胞を生み出すとともに、幹細胞が枯渇しないために自己を複製します。佐藤教授は、2009年にマウスの腸管上皮の幹細胞を体外で永続的に三次元培養するオルガノイド技術を開発しました (Sato T, et al. Nature 2009)。さらに2012年にはヒトの腸管上皮のオルガノイド培養に成功し、ヒトの正常腸組織や腫瘍細胞を培養皿の上で培養することが可能になりました。しかしながら、従来の培養条件では、ヒトの腸管上皮幹細胞は分化細胞を生み出すことができず、多様な分化細胞から成るヒト腸管上皮オルガノイドを長期に培養することは困難でした。

## 2. 研究の成果と意義・今後の展開

本研究では、従来の培養条件を改良することで、ヒト腸管上皮オルガノイドをより生体に近い状態で培養する新規技術を開発しました。

幹細胞がどの分化細胞になるか、あるいは幹細胞のままであり続けるかの運命は、細胞の周りの環境にどのような増殖因子(注3)が存在しているかにより定まります。生体内ではこれらの増殖因子が協調し分化細胞と幹細胞のバランスをとっています。しかし、従来のオルガノイド培養では、生体内に存在しない増殖因子が使用されており、この因子がヒトの腸管上皮幹細胞の分化を阻害する作用を持つため、分化細胞を維持したヒト腸管上皮オルガノイドを作ることは困難でした。

佐藤教授らの研究グループは、幹細胞をより生体内に近い環境に置くことで、オルガノイドでも生体組織と同様に分化細胞が絶えず生み出されるようになると考えました。そこで、ヒトの腸管組織に実際に存在する10種類の増殖因子に着目し、その組み合わせを網羅的に検討しました。その結果、IGF-1とFGF-2という2つの増殖因子を組み合わせることで、ヒト腸管上皮オルガノイドを効率的に培養できることを見出しました。さらに、従来使用していた増殖因子をIGF-1とFGF-2で置き換えることで、幹細胞から多様な分化細胞が生じ供給され続けるという実際の腸管上皮でみられる現象を再現したオルガノイドを永続的に培養することが可能になりました(図1)。

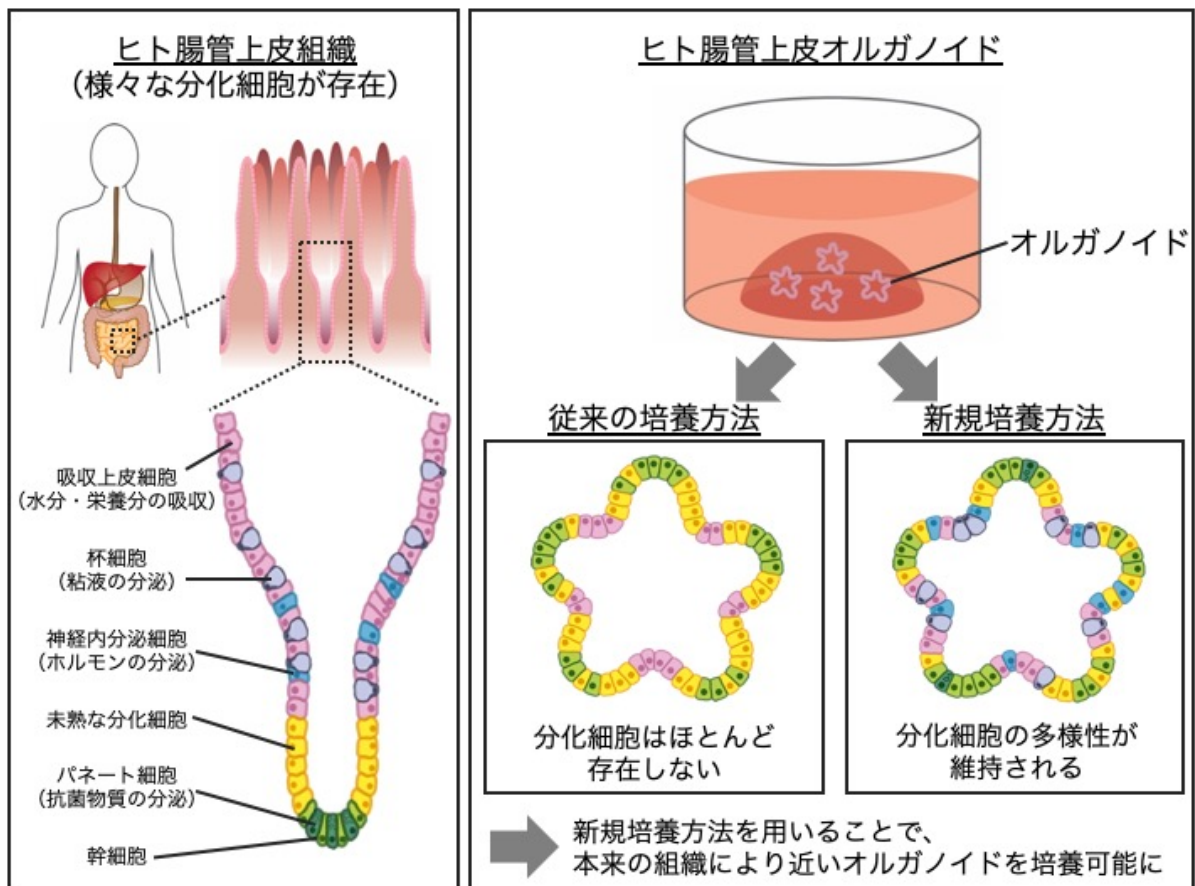


図 1：新規培養技術を用いることで、多様な分化細胞が供給され続けるヒト腸管上皮オルガノイドの安定培養が可能になった。腸管上皮幹細胞（黄緑）は未熟な分化細胞（黄）を経て様々な機能的な細胞へと分化する。従来の培養技術では分化細胞の多様性はほとんど失われていたが、新規培養法によってその多くを再現することが可能となった。

電子顕微鏡を用いた超拡大観察によって、IGF-1 と FGF-2 を用いて培養したヒトの腸管上皮オルガノイドは、生体組織と同等の分化細胞を有することが細胞構造レベルでわかりました。さらに、最新技術（シングルセル RNA シーケンス）を用い、オルガノイドを形成する数千の細胞の1つ1つについて個別に遺伝子発現を解析したところ、腸上皮組織に存在する多様な分化細胞のほとんどは新規培養法によってオルガノイド内で再現されることが明らかになりました。

IGF-1 は成長ホルモンの一種で全身臓器の成長を促します。また、FGF-2 はさまざまな細胞の増殖を促進し、皮膚潰瘍の治療薬として臨床でも用いられています。これらのことも、IGF-1 と FGF-2 を用いた組織培養法が理にかなった方法であることを示唆しています。従来使用していた増殖因子をこれらの 2 つの新しい増殖因子に置き換えるだけで、この改良培養法は成立します。そのため、ヒト腸管上皮オルガノイドの効率的な長期培養と分化細胞の維持を両立する簡便な新規培養技術として今後さまざまな分野での応用が可能です。

生きた正常組織を研究する場合、従来は臨床試験や動物モデルを対象とした研究が必要とされてきましたが、近年これに正常組織の長期培養を可能にするオルガノイド技術が新たな選択肢として加わりました。さらに、本研究で開発した新規培養法を用いることで、より本

来の組織に近いヒト腸管上皮オルガノイドを効率的かつ半永久的に培養することが可能になります。これにより、従来マウスで行っていた薬剤試験や遺伝子機能解析、および新規治療薬の臨床試験などを、培養皿の上で高精度かつ簡便に行うことができるようになることが期待されます。

### 3. 特記事項

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）の次世代がん医療創生研究事業 研究開発課題「がん多階層フェノタイプの理解に基づいた先端的創薬システムの開発」の支援によって行われました。

### 4. 論文

英文タイトル：Human intestinal organoids maintain self-renewal capacity and cellular diversity in niche-inspired culture condition

タイトル和訳：生体環境に基づいたヒト腸管上皮オルガノイドの新規培養技術の確立

著者名：藤井正幸、股野麻未、利光孝太、高野愛、三上洋平、錦織伸吾、杉本真也、佐藤俊朗

掲載誌：Cell Stem Cell（オンライン版）

#### **【用語解説】**

（注1）オルガノイド：オルガノイド（Organoid）とは「臓器（Organ）」と「～に類似したもの（～oid）」からなる科学造語で、広義には三次元培養を用いてつくられる臓器あるいは組織の特徴を有する細胞塊をさします。オルガノイドには大きく分けてiPS細胞などからの万能分化細胞から作られたものと、成熟した組織の幹細胞を直接培養したものが存在し、本研究では後者を使用しています。組織幹細胞由来のオルガノイドの培養には、細胞の足場となる栄養豊富なゼリー状物質（マトリゲル）とさまざまな増殖因子（後述）を含む培養液を使用します。

（注2）分化細胞：腸に限らず、生物の臓器・組織には特定の機能を専門的に担うさまざまな細胞が存在します。幹細胞がこれらの機能的な細胞に変化することを分化とよびます。幹細胞からの分化は基本に一方通行で、分化細胞が幹細胞に戻ることはめったにありません。

（注3）増殖因子：生体内に存在するそれぞれの細胞は、どのタンパク質を作るか、増殖するかしないか、どの細胞に分化するか、などの多くの判断を細胞外からの信号に依存しています。そのうち、特に細胞の増殖や分化に関係する信号を伝えるタンパク質を増殖因子と呼びます。幹細胞に作用する増殖因子はそれぞれの臓器で異なっており、オルガノイド培養法では培養する組織ごとに増殖因子の組み合わせを最適化する必要があります。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、各社科学部等に送信しております。

【本発表資料のお問い合わせ先】

慶應義塾大学医学部

坂口光洋記念講座（オルガノイド医学）

教授 佐藤 俊朗（さとう としろう）

TEL : 03-5363-3063

E-mail : t.sato@keio.jp

【本リリースの発信元】

慶應義塾大学

信濃町キャンパス総務課：鈴木・山崎

〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35

TEL : 03-5363-3611 FAX : 03-5363-3612

E-mail : med-koho@adst.keio.ac.jp

<http://www.med.keio.ac.jp/>

※本リリースのカラー版をご希望の方は  
上記までご連絡ください。