

講演番号：2I05-07

質疑応答日時、会場：3月15日 11:00～ ミーティングルーム I

大量培養を志向したヒト小腸オルガノイドの培養技術開発

Development of a large-scale culture method for human small intestinal organoids

○高橋 裕、山内 祥生、佐藤 隆一郎（東大院・農生科・応生化）

○Yu TAKAHASHI, Yoshio YAMAUCHI, Ryuichiro SATO (Dept. of Appl. Biol. Chem., Grad. Sch. of Agr. and Life Sci., Univ. of Tokyo)

オルガノイドは *in vitro* で臓器様の構造、機能を有する三次元構造体であり、従来の細胞モデルよりも生理的であると見なされている。これまでに我々は、ヒト小腸オルガノイドの培養方法に関する技術開発 (*Stem Cell Reports*, 2018) や単層化 (*EBioMedicine*, 2017) に成功し、従来のヒト上皮モデルである Caco-2 細胞よりも高い生理機能を示すこと (*iScience*, 2022) を明らかにしてきた。しかし、ヒト小腸オルガノイドの培養には高額な組換えタンパク質や細胞外基質（マトリゲル）が必要であり、食品科学研究においてオルガノイドを活用する上での妨げとなっている。今回、我々は Wnt3a、R-spondin1、Noggin を強制発現させたマウス L 細胞（L-WRN 細胞）にさらに Hepatocyte growth factor を発現させ、その細胞の培養上清を培地に用いることで、オルガノイド培養の更なるコスト削減に成功した。また、マトリゲルよりも安価なコラーゲンゲルを用いても、基本的な性質を変えることなくオルガノイドの培養が可能であることを示した。これらの方法を組み合わせることで、培養コストを当初の 1/100 以下にまで抑えることができ、ヒト小腸オルガノイドの日常的な使用や大量アッセイでの使用が可能となった。本培養方法を用いて、実際に既知薬理活性化合物ライブラリからオルガノイドを用いたスクリーニングを行い、Caco-2 細胞との選択性を有する化合物を複数見出すことに成功した。本研究により、今後、小腸上皮で起こる栄養素や食品成分の生理的応答の解明といった、ヒト小腸オルガノイドを活用した研究のさらなる加速が期待される。

Organoids are useful for cell-based compound screening for drug development; however, their applications are partially limited because of the high cost of their culture. We previously succeeded in reducing the cost of human intestinal organoid culture using conditioned medium (CM) of L cells co-expressing Wnt3a, R-spondin1, and Noggin. Here, we further reduced the cost by replacing recombinant hepatocyte growth factor with CM. Moreover, embedding organoids in collagen gel instead of Matrigel did not affect organoid proliferation or marker gene expression. The combination of these replacements also enabled the organoid-oriented monolayer cell culture. Furthermore, screening thousands of compounds using organoids expanded with the refined method identified several compounds with selective cytotoxicity against organoid-derived cells. Our cost-cutting methodology enables large-scale intestinal organoid culture and subsequent compound screening, which could expand the application of organoids in various research fields.

organoid, cost reduction, screening

発表責任者：高橋裕 (ayutaka@g.ecc.u-tokyo.ac.jp)