

報道関係者 各位

2020年6月8日
国立大学法人 東京農工大学リーディングシュタイナーを発動!?『2.5次元培養細胞』の作出に成功
～筋層浸潤性膀胱がんの新たな治療法開発への利用に期待～

国立大学法人東京農工大学大学院共同獣医学専攻のアミラ・アブゴマ大学院生(博士課程1年)、東京農工大学農学研究院の佐々木一昭准教授、臼井達哉特任講師らは、膀胱がんの3次元(3D)オルガノイド培養組織から細胞を分離し、新たな培養液成分を用いてゲルフリーの2次元環境下(平面上)で高速培養が可能かつ、3Dオルガノイド培養組織の特徴を維持する新たな2.5次元培養細胞(2.5Dオルガノイド)を作出することに成功しました。本成果は、現在治療が困難とされている重症膀胱がん患者に対する創薬のスクリーニング試験へ応用されるとともに、細胞株の作製が困難ながん種への活用が期待されます。

本研究は、「Scientific Reports」に2020年6月10日(水)にオンライン掲載されます。

報道解禁日時：2020年6月10日(水)18時00分(日本時間)

論文名：Establishment of 2.5D organoid culture model using 3D bladder cancer organoid culture

URL：<https://www.nature.com/articles/s41598-020-66229-w>

現状：3次元(3D)オルガノイド培養法は、臓器から単離した上皮細胞をゲルと混合し、幹細胞性を高める因子を含む特殊な培地で培養することで3次元の上皮組織構造を培養ディッシュ上で再現できる方法として開発され、がんの個別化医療や創薬への応用が進められています。

本研究チームはこれまでに膀胱がん罹患犬の尿サンプルを用いて非侵襲的に3D膀胱がんオルガノイドを培養する技術を開発し、作製したオルガノイドが生体内の膀胱がんの特徴を3次元的に再現し、免疫不全マウス体内での腫瘍の再形成能試験や、病気にかかった動物個々の抗がん剤感受性試験へ応用可能であることを明らかにしてきました(Elbadawy and Usui et al., *Cancer Sci.* 2019)。

3Dオルガノイド培養法は、患者組織の多様性を再現できる一方で、培養のコストが非常に高いことや、ゲルを用いるため煩雑な作業が多いこと、細胞の増殖スピードが通常の細胞培養に比べてかなり遅いことが課題となっています。

従来の2次元(2D)細胞株を用いた実験では、細胞の増殖スピードが速く、安価で扱いやすいという利点がありますが、患者由来のがん組織と性質が乖離してしまっているため、得られた研究成果を臨床現場に還元していくことが困難でした。また、細胞株として樹立可能な系統が限られており、ごく一部の患者の組織から突然変異的に増殖した細胞を増やすことで作製されていました。

研究体制：東京農工大学、岐阜大学、北里大学の研究グループの共同研究として実施されました。

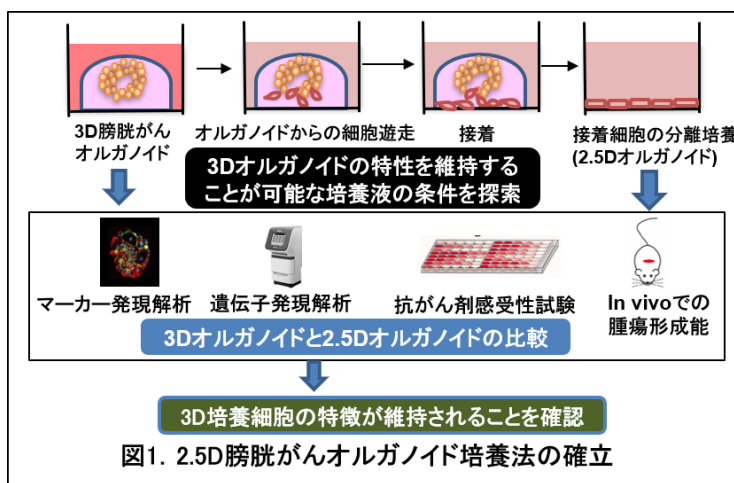
著者：アミラ・アブゴマ¹、モハメド・エルバダウィー¹、山中恵¹、後藤悠太¹、林希佳¹、森崇²、打出毅¹、皆上大吾¹、福島隆治¹、吉田敏則¹、渋谷淳¹、山下理紗子¹、小林美央¹、山脇英之³、篠原祐太¹、金田正弘¹、臼井達哉¹、佐々木一昭¹

¹東京農工大学、²岐阜大学、³北里大学

研究成果：本研究チームは、3D膀胱がんオルガノイドから細胞を分離し、新たな培養液成分を用いて平面上で培養(2次元化)することで、各患者の3次元培養細胞の特徴を維持し、作製効率が高い新たな2次元細胞(2.5Dオルガノイド)として培養することができるのではないかと仮説を立てました。この仮説

を立証するために、様々な系統の3D膀胱がんオルガノイドを用いて、その性質(組織特異的マーカー発現、幹細胞マーカー発現、各種抗がん剤に対する反応性、腫瘍再形成能など)を維持可能な培養液の組成を探索し、新たな培養方法(2.5D膀胱がんオルガノイド培養法)を開発しました(図1、特許出願中)。作製した2.5D膀胱がんオルガノイドは、3D膀胱がんオルガノイドと比較して高い増殖スピードをもちながら、尿路上皮細胞マーカーの発現や、in vivoでの腫瘍形成能などの3D膀胱がんオルガノイドの性質が維持されることが示されました。また、作製した2.5D膀胱がんオルガノイドは、再び3D膀胱がんオルガノイドとして培養可能であることや、膀胱がんの幹細胞マーカー発現のパターンが3D膀胱がんオルガノイドに近いことがわかりました(図2)。

今後の展開：本研究チームは、培養液の組成を改変することで、ゲルフリーの環境下で3D膀胱がんオルガノイドの性質を維持する2.5D膀胱がんオルガノイドが作出可能であることを示しました。本研究成果は、創薬スクリーニング試験における培養コストの大幅な削減、培養作業の効率化に貢献する可能性が考えられます。さらに、培養成分を調整することによって、ヒトやマウスを含めた様々なオルガノイドや細胞株の作製が困難ながん種への活用などの波及効果が期待されます。



培養方法	2D細胞株	3D膀胱がんオルガノイド	2.5D膀胱がんオルガノイド
材料	培養液 細胞	培養液 細胞 ゲル	培養液 細胞
扱いやすさ	◎:増えやすい、継代、遺伝子導入も容易	△:ゲルを用いるため作業が煩雑、増殖スピード遅い	○:ゲルが不要なため作業が容易、3Dオルガノイドに比べて高速増殖
コスト	◎:培養液が安価	△:培養液、ゲルが高価	○:培養液が3Dに比べて安価。ゲルが不要
生体組織の性質維持	✖:単一の分化したがん細胞で構成される	◎:組織構成細胞の多様性や幹細胞性、立体構造を再現可能	○:3Dオルガノイド構成細胞の多様性や幹細胞性などを維持
抗がん剤感受性試験の効率	✖:細胞株樹立までに数か月を要するため	◎:8割以上の膀胱がん罹患犬で抗がん剤感受性試験が実施可能	○:2.5D化された系統で抗がん剤感受性試験が実施可能

図2. 2.5D膀胱がんオルガノイド培養法と従来法との比較

◆研究に関する問い合わせ◆

東京農工大学大学院農学研究院 動物生命科学部門 特任講師

白井 達哉 (うすい たつや)

TEL/FAX : 042-367-5770

E-mail: fu7085@go.tuat.ac.jp

ウェブサイト <http://vet-pharmacol.com/>