

—千里ライフサイエンス新適塾—
「難病への挑戦」第10回会合

『消化器上皮幹細胞培養
“オルガノイド培養システム”の確立』

講師 佐藤 俊朗(さとう としろう)

慶應義塾大学医学部 消化器内科 特任講師

日時 2012年5月21日(月) 18:00~20:00

場所 千里ライフサイエンスセンタービル

講演会 8階 801・802号室 (18:00~19:00)

懇親会 6階 603・604号室 (19:00~20:00)

講演・懇親会ともに参加費無料

コーディネーター

菊池 章(大阪大学大学院医学系研究科 分子病態生化学 教授)

山下 俊英(大阪大学大学院医学系研究科 分子神経科学 教授)

主催:公益財団法人 千里ライフサイエンス振興財団

〒560-0082 大阪府豊中市新千里東町1丁目4番2号

千里ライフサイエンスセンタービル20階

E-mail: dsp@senri-life.or.jp Tel: 06-6873-2001

<http://www.senri-life.or.jp>

『消化管上皮幹細胞培養

“オルガノイド培養システム”の確立』

慶應義塾大学医学部 消化器内科 特任講師

佐藤 俊朗

消化管上皮は体内でも最も早い増殖サイクルを有する組織である。近年、マウスにおいて腸管上皮幹細胞が同定されるとともに、培養技術が確立され、腸管上皮幹細胞の理解は飛躍的に深まってきた。我々はマウス小腸腸管上皮幹細胞を EGF、Noggin、R-spondin1 とともにマトリジェル中で三次元培養（オルガノイド培養）することで、長期間の培養に成功した。オルガノイド培養は純粋な上皮細胞を培養しており、上皮幹細胞は自ら幹細胞にニッシュとなる娘細胞を産生していることがわかった。

オルガノイド培養の培養条件を改変することにより、胃上皮、大腸上皮、膵管上皮、肝内胆管上皮細胞の培養に成功した。しかしながら、ヒト腸管上皮細胞は、マウスの培養条件では培養が困難であった。我々は、2つの Small molecule inhibitor (Alk inhibitor、p38 inhibitor) とニコチンアミドを加えることにより、ヒト腸管上皮細胞培養が可能となった。ヒトオルガノイドの培養効率は非常に高く、たった一つの小腸および大腸内視鏡生検検体より培養が可能となった。本技術を用い、EphB2 強陽性細胞の FACS により、長期間自己複製と多分化能を示すヒト腸管上皮幹細胞を初めて同定した。本培養法は、正常腸管上皮のみならず、大腸癌、大腸腺腫、食道バレット上皮細胞にも応用でき、今後の消化器病研究、再生医療、薬剤感受性試験など、様々な用途に応用可能な有用な技術である。今回、培養技術の応用例とともに発表したい。

講師学歴/職歴：

学歴	平成 3 年 3 月	慶應義塾高校 卒業
	平成 9 年 3 月	慶應義塾大学医学部 卒業
	平成 15 年 3 月	慶應義塾大学医学部大学院単位取得退学
	平成 16 年 4 月	医学博士
職歴	平成 9 年 4 月	慶應義塾大学病院 内科研修医
	平成 15 年 4 月	慶應義塾大学病院 内科専修医
	平成 16 年 9 月	慶應義塾大学病院 COE 特別研究員
	平成 17 年 9 月	東京電力病院 消化器内科
	平成 18 年 4 月	Stowers 研究所（米国） 博士研究員
	平成 19 年 7 月	Hubrecht 研究所（オランダ） 博士研究員

平成 23 年 4 月 慶應義塾大学医学部 消化器内科 特任助教
平成 23 年 7 月 慶應義塾大学医学部 消化器内科 特任講師
現在に至る

慶應義塾大学医学部内科研修医を経て、内科大学院（消化器内科）へ入学。
日比紀文教授の指導で炎症性腸疾患の免疫学的な研究に従事した。その後、同
大学 生理学教室 岡野栄之教授の指導で腸管上皮幹細胞の研究を開始した。
Stowers 研究所では Linheng Li 教授の指導で Postdoctoral fellow として腸管
上皮幹細胞のニッチェについて研究した。その後、オランダ Hubrecht 研究所に
移り、腸管上皮幹細胞培養の研究に従事。新しい腸管上皮幹細胞培養法を確立
し、腸管上皮幹細胞ニッチェの同定に成功した。平成 23 年より慶應義塾大学医
学部消化器内科で Physician scientist として基礎研究と臨床業務に従事する。

所属学会：

日本消化器病学会、日本内科学会（認定内科医）、
日本消化器内視鏡学会、
The American Gastroenterological Association (AGA)

受賞：

- 1)平成 13 年 Young Investigator' s award, The 11th International Congress of Mucosal Immunology, Orland
- 2)平成 14 年 優秀演題賞, The 2nd Congress of the Japanese Society for Regenerative Medicine, Kobe
- 3)平成 23 年 三四会奨励賞 （慶應義塾大学医学部）
- 4)平成 24 年 慶應医学奨励賞
- 5)平成 24 年 井上リサーチアワード

知的財産

国際特許

Sato T, Clevers JC, Huch M CULTURE MEDIUM FOR EPITHELIAL STEM CELLS AND ORGANOIDS COMPRISING SAID STEM CELLS. WIPO Patent Application WO/2010/090513

著書・論文(代表のみ)

- 1) Shiro Y, Nakamura T, **Sato T**, Nemoto Y, Mizutani T, Zheng X, Ichinose S, Nagaishi T, Okamoto R, Tsuchiya K, Clevers H*, Watanabe M. Functional engraftment of colon epithelium expanded in vitro from a single adult Lgr5+ stem cell. **Nature Medicine** (in press).
- 2) **Sato T**, Clevers H, Primary culture for small intestinal stem cells. *Methods in Molecular Biology*. (in press)
- 3) Stringer EJ, Duluc I, Saandi T, Davidson I, Bialecka M, **Sato T**, Barker N, Clevers H, Pritchard

- CA, Winton DJ, Wright NA, Freund JN, Deschamps J, Beck F. Cdx2 determines the fate of postnatal intestinal endoderm. **Development**. 2011 Dec 21. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22190642.
- 4) Koo BK, Stange DE, **Sato T**, Farin H, Huch M, van Es J, Clevers H. Controlled gene expression primary organoid culture of endodermal epithelia. **Nature Methods** 2011; 9:81-3.
 - 5) Jung P[#], **Sato T**[#], TM, Merlos-Suarez A, Barriga FM, Iglesias M, Gallardo MM, Blasco MA, Sancho E, Clevers H, Batlle E. Isolation and in vitro expansion of human colonic stem cells. **Nature Medicine** 2011 ; 17:1225-7. ***Equal authorship**
 - 6) **Sato T**^{*}, Stange DE, Vries RGJ, van ES JH, van den Brink S, van Houdt WJ, Pronk A, van Gorp J, Siersema PD, Clevers H^{*}. Long-term in vitro expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma and Barrett's Esophagus. **Gastroenterology**. 2011;141:1762-72. ^{*} shared corresponding authors
 - 7) **Sato T**, van Es JH, Snippert HJ, Stange DE, Vries RG, van den Born M, Barker N, Shroyer NF, van de Wetering M, Clevers H. Paneth cells constitute the niche for Lgr5 stem cells in intestinal crypts. **Nature**. 2011;469:415-8.
 - 8) Snippert HJ, Flier LG, **Sato T**, van Es JH, van den Born M, Kroon-Veenboer C, Barker N, Klein AM, van Rheenen J, Simons BD, Clevers H. Intestinal crypt homeostasis results from neutral competition between symmetrically dividing Lgr5 stem cells. **Cell**. 2010;143:134-44.
 - 9) Barker N, Huch M, Kujala P, van de Wetering M, Snippert HJ, van Es JH, **Sato T**, Stange DE, Begthel H, van den Born M, Danenberg E, van den Brink S, Korving J, Abo A, Peters PJ, Wright N, Poulsom R, Clevers H. Lgr5 stem cells drive self-renewal in the stomach and build long-lived gastric units in vitro. **Cell Stem Cell**. 2010;6:25-36.
 - 10) **Sato T**, Vries RG, Snippert HJ, van de Wetering M, Barker N, Stange DE, van Es JH, Abo A, Kujala P, Peters PJ, Clevers H. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche. **Nature**.
 - 11) Sakuraba A, **Sato T**^{*}, Kamada N, Kitazume M, Sugita A, Hibi T. Th1/Th17 immune response is induced by mesenteric lymph node dendritic cells in Crohn's disease. **Gastroenterology**. 2009;137:1736-45. ^{*}equally contributed author
 - 12) Kamada N, Hisamatsu T, Okamoto S, Chinen H, Kobayashi T, **Sato T**, Sakuraba A, Kitazume MT, Sugita A, Koganei K, Akagawa KS, Hibi T. Unique CD14 intestinal macrophages contribute to the pathogenesis of Crohn disease via IL-23/IFN-gammaaxis. **J Clin Invest**. 2008 ;118:2269-80.
 - 13) Scoville DH, **Sato T**, He XC, Li L. intestinal stem cells and signaling. **Gastroenterology**. 2008 Mar;134:849-64.
 - 14) He XC, Yin T, Grindley JC, Tian Q, **Sato T**, Tao WA, Dirisina R, Porter-Westpfahl KS, Hembree M, Johnson T, Wiedemann LM, Barrett TA, Hood L, Wu H, Li L. PTEN-deficient intestinal stem cells initiate intestinal polyposis. **Nat Genet**. 2007;39:189-98.
 - 15) Chinen H, Matsuoka K, **Sato T**, Kamada N, Okamoto S, Hisamatsu T, Kobayashi T, Hasegawa H, Sugita A, Kinjo F, Fujita J, Hibi T. Lamina propria c-kit⁺ immune precursors reside in human adult intestine and differentiate into natural killer cells. **Gastroenterology**. 2007;133:559-73
 - 16) **Sato T**, Sakuraba A, Matsuoka K, Fukushima T, Uede T, Hibi T. Osteopontin/Eta-1 is upregulated in Crohn's disease and regulates Th1 immune response. **Gut** 2005;54:1254-62.
 - 17) **Sato T**, Kanai T, Watanabe M, Okazawa A, Sakuraba A, Inoue N, Ishii H, Hibi T. Hyperexpression of Inducible Costimulator and its Contribution to Cytokine Production and Proliferation of Lamina Propria T cells in Inflammatory Bowel Disease. **Gastroenterology**. 2004 ;126:829-39.
 - 18) Kanai T, Watanabe M, Okazawa A, **Sato T**, Yamazaki M, Okamoto S, Ishii H, Totsuka T, Iiyama R, Okamoto R, Ikeda M, Kurimoto M, Takeda K, Akira S, Hibi T. Macrophage-derived IL-18-mediated intestinal inflammation in the murine model of Crohn's disease. **Gastroenterology**. 2001;121:875-88.
 - 19) Inoue N, Watanabe M, **Sato T**, Okazawa A, Yamazaki M, Kanai T, Ogata H, Iwao Y, Ishii H, Hibi T. Restricted V(H) gene usage in lamina propria B cells producing anticolon antibody from patients with ulcerative colitis. **Gastroenterology**. 2001;121:15-23.

2012 年 3 月 17 日 現在