

Title	マイクロ流体デバイスによるヒト胆管がんオルガノイド培養の確立と血管相互作用の検討
Sub Title	Establishment of organoid culture of human bile duct cancer using a microfluidic device and investigation of interactions between the organoid and blood vessels
Author	須藤, 亮(Sudo, Ryo)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2019
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2018. )
JaLC DOI	
Abstract	<p>胆管がんオルガノイド培養とは、生体内のがん組織を再現したがん幹細胞の組織培養法であり、近年のがん研究において注目を集めているが、細胞間相互作用を調べる点において培養環境を制御することが困難であるという課題があった。我々は最近の研究において、培養環境を緻密に制御することが可能なマイクロ流体デバイスを用いた培養手法とオルガノイド培養の技術を融合することによって、ヒト患者由来の胆管がんオルガノイドと血管培養が共存する培養法を確立した。そこで本研究では、この培養法を用いて胆管がんオルガノイドと血管の相互作用を検討することを目的とした。実験では2つの流路を有するマイクロ流体デバイスを用いて、一方の流路で胆管がん幹細胞のオルガノイド培養を行い、もう一方の流路に血管内皮細胞を加えることで共培養を行った。位相差顕微鏡によって培養7日目まで観察すると、胆管がん幹細胞のみを培養した単独培養に比べて、血管内皮細胞を加えた共培養では最大浸潤距離が有意に減少することが明らかになった。さらに、血管内皮細胞の調製培養液を用いて胆管がん幹細胞の培養を行った場合においても、同様に最大浸潤距離が減少することが確認された。これらの結果は、血管内皮細胞が胆管がん幹細胞の浸潤を抑制する液性因子を分泌していることを示唆している。さらに、共焦点レーザー顕微鏡を用いて胆管がんオルガノイドの三次元的な形態を解析し、胆管がんオルガノイドの極性を調べた。その結果、単独培養では内腔を形成しているのに対し、共培養では内腔の形成がみられなくなった。以上のことから、血管内皮細胞から分泌される液性因子が胆管がんオルガノイドの極性に影響を与え、その結果として浸潤距離も減少している可能性が考えられる。これらの結果は、胆管がんオルガノイドの浸潤メカニズムを明らかにしていくうえで重要な足掛かりになる。</p> <p>Organoid culture of bile duct cancer is a tissue culture method of cancer stem cells for recapitulating tumor tissues in vivo, which is paid attention to in recent cancer studies. Since conventional culture dishes have been used for this organoid culture, it was difficult to control culture environments precisely. Therefore, our recent study focused on the application of a microfluidic device, which enables us to control culture microenvironments, to the organoid culture. Consequently, we have developed a coculture method to integrate endothelial cell culture and organoid culture of bile duct cancer stem cells derived from human patients. In this study, we used a microfluidic device with two microchannels. Bile duct cancer cells were cultured in a channel, while endothelial cells were cultured in the other channel. Invasion of cancer organoids was monitored for 7 days using a phase-contrast microscope. The result revealed that maximum invasion distance was significantly reduced when the cancer organoids were cultured with endothelial cells. We also confirmed that conditioned medium of endothelial cells inhibited invasion of cancer organoids. These results suggest that endothelial cells secrete soluble factors that inhibit invasion of bile duct cancer organoids. Furthermore, the morphology of cancer organoids was three-dimensionally analyzed using a confocal microscope for investigating polarity of the cancer organoids. We found that cancer organoids formed lumens in single culture while those failed to form lumens in coculture. Taken together, endothelial cells affected polarity of the cancer organoids by secreting soluble factors, which might result in reduction of the cancer organoids invasion. These results are important to further investigate the invasion mechanism of bile duct cancer organoids.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2018000007-20180432">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2018000007-20180432</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	理工学部	職名	准教授	補助額	1,250 千円
	氏名	須藤 亮	氏名（英語）	Ryo Sudo		
研究課題（日本語）						
マイクロ流体デバイスによるヒト胆管がんオルガノイド培養の確立と血管相互作用の検討						
研究課題（英訳）						
Establishment of organoid culture of human bile duct cancer using a microfluidic device and investigation of interactions between the organoid and blood vessels						
研究組織						
氏 名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
須藤 亮（Ryo Sudo）		理工学部・システムデザイン工学科・准教授				
齋藤 義正（Yoshimasa Saito）		薬学部・薬物治療学講座・准教授				
1. 研究成果実績の概要						
<p>胆管がんオルガノイド培養とは、生体内のがん組織を再現したがん幹細胞の組織培養法であり、近年のがん研究において注目を集めているが、細胞間相互作用を調べる点において培養環境を制御することが困難であるという課題があった。我々は最近の研究において、培養環境を緻密に制御することが可能なマイクロ流体デバイスを用いた培養手法とオルガノイド培養の技術を融合することによって、ヒト患者由来の胆管がんオルガノイドと血管培養が共存する培養法を確立した。そこで本研究では、この培養法を用いて胆管がんオルガノイドと血管の相互作用を検討することを目的とした。実験では 2 つの流路を有するマイクロ流体デバイスを用いて、一方の流路で胆管がん幹細胞のオルガノイド培養を行い、もう一方の流路に血管内皮細胞を加えることで共培養を行った。位相差顕微鏡によって培養 7 日目まで観察すると、胆管がん幹細胞のみを培養した単独培養に比べて、血管内皮細胞を加えた共培養では最大浸潤距離が有意に減少することが明らかになった。さらに、血管内皮細胞の調製培養液を用いて胆管がん幹細胞の培養を行った場合においても、同様に最大浸潤距離が減少することが確認された。これらの結果は、血管内皮細胞が胆管がん幹細胞の浸潤を抑制する液性因子を分泌していることを示唆している。さらに、共焦点レーザー顕微鏡を用いて胆管がんオルガノイドの三次元的な形態を解析し、胆管がんオルガノイドの極性を調べた。その結果、単独培養では内腔を形成しているのに対し、共培養では内腔の形成がみられなくなった。以上のことから、血管内皮細胞から分泌される液性因子が胆管がんオルガノイドの極性に影響を与え、その結果として浸潤距離も減少している可能性が考えられる。これらの結果は、胆管がんオルガノイドの浸潤メカニズムを明らかにしていくうえで重要な足掛かりになる。</p>						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
<p>Organoid culture of bile duct cancer is a tissue culture method of cancer stem cells for recapitulating tumor tissues in vivo, which is paid attention to in recent cancer studies. Since conventional culture dishes have been used for this organoid culture, it was difficult to control culture environments precisely. Therefore, our recent study focused on the application of a microfluidic device, which enables us to control culture microenvironments, to the organoid culture. Consequently, we have developed a coculture method to integrate endothelial cell culture and organoid culture of bile duct cancer stem cells derived from human patients. In this study, we used a microfluidic device with two microchannels. Bile duct cancer cells were cultured in a channel, while endothelial cells were cultured in the other channel. Invasion of cancer organoids was monitored for 7 days using a phase-contrast microscope. The result revealed that maximum invasion distance was significantly reduced when the cancer organoids were cultured with endothelial cells. We also confirmed that conditioned medium of endothelial cells inhibited invasion of cancer organoids. These results suggest that endothelial cells secrete soluble factors that inhibit invasion of bile duct cancer organoids. Furthermore, the morphology of cancer organoids was three-dimensionally analyzed using a confocal microscope for investigating polarity of the cancer organoids. We found that cancer organoids formed lumens in single culture while those failed to form lumens in coculture. Taken together, endothelial cells affected polarity of the cancer organoids by secreting soluble factors, which might result in reduction of the cancer organoids invasion. These results are important to further investigate the invasion mechanism of bile duct cancer organoids.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 （著者・講演者）	発表課題名 （著書名・演題）	発表学術誌名 （著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月 （著書発行年月・講演年月）			
肥高 邦彦、長南 友太、齋藤 義正、須藤 亮	マイクロ流体デバイスにおける胆管がん幹細胞の三次元オルガノイド培養及び共培養モデルの確立	第 57 回 日本生体医工学会大会	2018 年 6 月			