慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	腸内細菌研究のパラダイムシフトを加速する新規オルガノイド培養系の開発
Sub Title	Developing a scalable-coculturing system for gut anaerobes and intestinal epithelium
Author	佐々木, 伸雄(Sasaki, Nobuo) 佐藤, 俊朗(Satō, Toshirō)
Publisher	
Publication year	2021
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2020.)
JaLC DOI	
Abstract	本課題研究は，これまで不可能されてきた嫌気性の腸内細菌と好気性のヒト正常腸管上皮細胞を同時に培養する共培養システムの開発を目的とする．初めに申請者らは，3次元組織幹細胞培養法（オルガノイド）を改良し，ボイデンチャンバーを利用した単層培養法によるヒト大腸上皮細胞の長期間培養に成功した．次に，上皮細胞の管腔側のみを嫌気条件にしても大腸上皮が生育できる培地の開発にも取り組み，完成したシステムに偏性嫌気性細菌を培地に添加し培養すると，実際にこれらの細菌は腸管上皮細胞表面で生育コロニーを形成した．このように申請者らは，宿主-細菌間の相互作用の分子基盤を理解するための有益な共培養システムの開発に成功した． The aim of this study is to develop a novel culturing system of healthy human intestinal epithelium together with anaerobic gut bacteria. We modified the classical culture method for 3D adult-tissue stem cell, organoid firstly. Using the Boyden chamber, we succeeded in culturing human normal colon epithelial cells as the monolayer condition for long periods. Next, we also figure out the suitable conditioned medium to enable to generate anaerobic environments at apical surface of their epithelium. Actually, the obligate anaerobic bacteria can grow to form their colonies on the human colonic epithelial cells in our culture condition. Here, we demonstrated a novel coculturing system in modeling competitive and mutually beneficial relationship between human epithelium and gut microbes in vitro.
Notes	研究種目：挑戦的研究 (萌芽) 研究期間：2019～2020 課題番号：19K22544 研究分野：組織幹細胞学
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_19K22544seika

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.

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　３ 年　５ 月 ２６ 日現在

機関番号：３２６１２
研究種目：挑戦的研究（萌芽）
研究期間：2019～2020
課題番号：１９Ｋ２２５４４

研究課題名（和文）腸内細菌研究のパラダイムシフトを加速する新規オルガノイド培養系の開発

研究課題名（英文）Developing a scalable-coculturing system for gut anaerobes and intestinal epithelium

研究代表者
佐々木　伸雄（SASAKI, Nobuo）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・特任助教

研究者番号：３０７７７７６９

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本課題研究は，これまで不可能されてきた嫌気性の腸内細菌と好気性のヒト正常腸管上皮細胞を同時に培養する共培養システムの開発を目的とする．初めに申請者らは，３次元組織幹細胞培養法（オルガノイド）を改良し，ボイデンチャンバーを利用した単層培養法によるヒト大腸上皮細胞の長期間培養に成功した．次に，上皮細胞の管腔側のみを嫌気条件にしても大腸上皮が生育できる培地の開発にも取り組み，完成したシステムに偏性嫌気性細菌を培地に添加し培養すると，実際にこれらの細菌は腸管上皮細胞表面で生育コロニーを形成した．このように申請者らは，宿主-細菌間の相互作用の分子基盤を理解するための有益な共培養システムの開発に成功した．

研究成果の学術的意義や社会的意義
最近では企業における機能細菌（プロバイオティクス）研究開発現場において，動物愛護の観点から動物試験が禁止されるようになってきたため，モデル動物に変わる細菌の機能を試験する新規モデルの開発が急務であった．我々が開発した新規ヒト腸管上皮-腸内細菌共培養システムは，動物試験を不要とするだけではなく，細菌が与えるヒト細胞への影響を直接検証できるといった特徴も有している．そのため本研究成果は，製薬や食品メーカーが直面している商品開発の“死の谷”を克服するための一翼を担うことが期待されているので，今後積極的に本技術を産業界へ導出したいと考えている．

研究成果の概要（英文）：The aim of this study is to develop a novel culturing system of healthy human intestinal epithelium together with anaerobic gut bacteria. We modified the classical culture method for 3D adult-tissue stem cell, organoid firstly. Using the Boyden chamber, we succeeded in culturing human normal colon epithelial cells as the monolayer condition for long periods. Next, we also figure out the suitable conditioned medium to enable to generate anaerobic environments at apical surface of their epithelium. Actually, the obligate anaerobic bacteria can grow to form their colonies on the human colonic epithelial cells in our culture condition. Here, we demonstrated a novel coculturing system in modeling competitive and mutually beneficial relationship between human epithelium and gut microbes in vitro.

研究分野：組織幹細胞学

キーワード：オルガノイド　腸内細菌　嫌気性細菌　共培養システム　プロバイオティクス

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

近年のシーケンス技術の発展に伴い，ヒト腸管内に存在する 1000 種類以上にわたる約 100 兆個の細菌群（細菌叢）の遺伝子を網羅的に解析することが可能になり，腸内細菌叢の変化と様々な疾患との相関性が示唆されるようになってきた (Jackson MA et al. Nature Comm 2018). 実際に，ヒトの健常人と患者の糞便中に含まれる細菌について遺伝子レベルでの比較解析を行うと，患者の腸内細菌叢を構成する細菌の組成比は，健常人のものと比べ大きく異なっている．興味深いことに，この腸内細菌叢の乱れは，腸内細菌が棲息する炎症性腸疾患などの消化管疾患に限らず，喘息，肥満症，アトピー性皮膚炎，膠原病，自閉症など幅広い全身性の疾患で確認されている．しかし，これらの研究のほとんどは異なる患者の糞便検体を後向きに研究したものであるため，腸内細菌の乱れがこれらの疾患の発症要因になったのか，もしくは疾患が発症した結果なのかなど，未だに議論される点が多く残されている．つまり，腸内細菌と疾患発症の間に存在する因果性に関する研究が待たれている状況であった (Honda K and Littman DR. Nature 2016).

２．研究の目的

次世代シーケンサーの登場により，大量シーケンスデータを比較的安価で短期間中に解析することが可能になった．そのため多種多様な腸内細菌の全ゲノムを網羅的に理解することが出来るようになったが，腸内細菌と直接接触する宿主上皮細胞側の役割は不明な点が多かった．その大きな理由の一つとして，腸内細菌と宿主間の相互作用を解析する in vitro 培養系が不足していたことが考えられた．そこで我々は腸内細菌と宿主へシグナルを伝播するインターフェイスとなる腸管上皮細胞の役割を理解するために，従来のオルガノイド培養法に改良を加えることで，嫌気性腸内細菌と共培養できるシステムの構築を目指す．そして，この共培養システムを利用することで，ヒト腸管内の常在している日和見細菌の機能の理解を図る．

３．研究の方法

本課題研究では，研究協力者の佐藤俊朗教授（慶應大学医学部）が樹立したヒト正常腸管上皮オルガノイドを利用して，腸内細菌との共培養を可能にするオルガノイド培養法のための培養皿の選定や培地条件の探索を行った．また，実際に腸内細菌と共培養を行った際に観察される宿主上皮細胞への影響については，腸管上皮を構成するそれぞれの分化細胞のマーカー遺伝子の発現変動を解析することで検証した．具体的には以下に示す 4 つの項目をマイルストーンに設定し，本課題研究を効率良く推進してきた．

（1）3 次元オルガノイド培養法の改良
（2）嫌気条件での腸管上皮細胞培養法の確立
（3）嫌気性腸内細菌との共培養試験
（4）細菌-上皮細胞間に存在する双方向シグナルの解析

４．研究成果

（1）3 次元オルガノイド培養法の改良

従来のオルガノイド培養法は嚢胞状態の 3 次元構造体を形成するため，生体内で腸内細菌が存在する環境は，オルガノイドの内腔側に相当する．そのため腸内細菌と宿主の相互作用を検証するためには，マイクロインジェクション法など高度な技術を用いて，1 つずつオルガノイドの内腔側に細菌を注入する必要があったため汎用性が低かった．そこで我々はこの問題を解決するために，生体内で腸内細菌と直接接触する腸管上皮細胞の頂端部側が露呈するように頂端-基底部極性を保持した新規 2 次元培養法の開発を試みるところから始めた．

第一に，従来の細胞外基質を豊富に含んだハイドロゲル（マトリゲル）を用いた方法以外の培養皿や，腸管上皮細胞の 2 次元培養に適する細胞外基質の選定を行った．3 次元で培養したヒト大腸オルガノイドをトリプシン処理で単一細胞化し，それらをコラーゲンやゼラチンでコートしたプラスチックシャーレに播種し培養を試みた．しかしこの条件で培養した腸管上皮細胞は，一部の細胞だけがプラスチックシャーレに接着し増殖していたが，他の大部分の細胞は増殖を停止，またはシャーレに付着せず死滅していた．そこで我々は，単一化した細胞を効率良く生育させるために，2 次元培養でよく利用されるボイデンチャンバーシステムを導入することにした．ボイデンチャンバーのメンブレン表面を希釈したマトリゲル，及び Collagen Type-I や Type IV でコーティング処理を行い，トリプシン処理で単一細胞化したヒト大腸上皮細胞を播種した．その結果，プラスチックシャーレを用いた場合よりも格段に安定して単一化した腸管上皮細胞が接着し，増殖する様子が観察された．さらに，この単層状態でヒト腸管上皮細胞を長期間培養す

るために，オルガノイド培地条件の適正化を図った．その結果，従来の培地に IGF-1 と FGF-2 を適量加えることで，１ヶ月以上にわたり正常なヒト大腸上皮細胞を単層で培養できることが分かった．興味深いことに，この１ヶ月間培養した後の上皮細胞を回収し，従来のマトリゲルを用いた３次元培養法を行ったところ，この上皮細胞から再度オルガノイドが形成される事が分かった．つまり我々が開発した新規ヒト大腸上皮単層培養法では，長期間にわたり組織幹細胞も安定して培養されていることが分かった．

（2）嫌気条件での腸管上皮細胞培養法の確立

(1)の条件検討により,我々はボイデンチャンバーを利用してヒト腸管上皮細胞を単層で培養することに成功した．そこで，このボイデンチャンバーの特性である２層からなる培地層（上皮細胞頂端側と基底部側）を利用できる点を活かし，生体内の腸管環境と同じように上皮細胞の頂端部が嫌気状態，基底部側が好気状態を創ることにした．まず初めに，頂端部のインサートには嫌気性(前処理で酸素を脱気しておいた)培地を加え，酸素不透過性のゴム栓でボイデンチャンバーの開口部を閉じることで嫌気環境を作り出すことにした．下層には，通常の酸素含有培地を入れておくことで，生体内と同じ細胞の頂端側が嫌気状態，基底部側が好気状態と言った半嫌気状態を再現することができた．さらにこの段階で重要な点として，(1)で開発した改良型オルガノイド培地を利用すると，頂端部側が嫌気条件というストレスに対して耐性を示し，安定的に上皮細胞を培養出来ることが分かった．実際に，この条件で１週間培養した後に上層側の培地に含まれている酸素濃度を測定したところ，培養液中の酸素濃度はほぼ 0%のまま保たれていた．対照実験としてゴム栓をしないで培養した液中の酸素濃度は 3-５%の値を示していた．

そこで我々は，この半嫌気条件と好気条件で培養したそれぞれの腸管上皮細胞の性質を，マーカー遺伝子発現解析，免疫組織染色法や電子顕微鏡による形態解析法を用いて比較することにした．幹細胞，吸収上皮細胞，杯細胞，神経内分泌細胞のマーカー遺伝子の RNA やタンパク質発現レベルを確認したところ，両者において顕著な差は確認されなかった．また，上皮細胞の特徴であるアドヘレンスジャンクションやタイトジャンクションのマーカー分子の発現パターンを免疫組織染色法と共焦点レーザー顕微鏡を用いて詳細に解析したところ，両条件で培養された上皮細胞において頂端極性が正常に保たれていることが確認された．さらに経上皮電気抵抗値も測定したが，これに関しても両者において顕著な差は見られなかった．以上のことから，我々が開発した基底部から酸素を供給して単層状態で培養する新規腸管上皮細胞培養法は，好気条件で培養した上皮細胞とほぼ同様の性質を持っていることが分かった．

（3）嫌気性腸内細菌との共培養試験

これまでの我々の成果により，生理的な条件下で嫌気性細菌と宿主上皮細胞を共培養するシステムを構築することができた．そこで，我々は実際に代表的な嫌気性腸内細菌である *B. adolescentis*, *B. fragilis*, *C. butyricum* との共培養の可能性について検証した．半嫌気状態で培養している腸管上皮細胞の上層（上皮細胞の頂端部側）に添加し，数日間培養を続けたところ，全ての細菌が上皮細胞の表面で成長コロニーを形成していた．この結果は，我々が新規に開発した腸管上皮培養法を利用すると，嫌気性の腸内細菌と一緒に培養することができ，実際に腸内細菌と宿主上皮細胞の間の相互作用を *in vitro* で観察することができることが分かった．この共培養系は，7 日間にわたり腸管上皮細胞と腸内細菌の両者を安定的に培養できることも確認できた．

（4）細菌-上皮細胞間に存在する双方向シグナルの解析

最後に，我々の腸内に存在する常在細菌が宿主上皮細胞へ与える機能を調べるために，細菌と共培養した腸管上皮細胞から RNA を回収し，RNA シーケンスによる遺伝子発現変動解析を行った．具体的は，対照群（PBS 添加）と *B. adolescentis*, *B. fragilis*, *C. butyricum* のそれぞれを 12 時間共培養した腸管上皮を準備し，その上皮細胞における遺伝子変動について主成分解析を行った．予想していたように，対照群と比較した場合細菌と共培養した腸管上皮細胞における遺伝子発現パターンは全く異なっていることが明らかとなった．また興味深いことに，*B. adolescentis*, *B. fragilis*, *C. butyricum* と共培養させた上皮細胞の遺伝子発現変動を比較すると，それぞれの細菌においても全く異なるパターンを示すことが分かった．この結果は，我々の体内に存在する常在細菌の機能は一様ではなく，細菌ごとに特異的な機能を持つことを示唆するものであった．

また反対に，本システムを利用して宿主側から細菌へ与える効果について検証した．難培養性細菌として有名な *A.muciniphila* を本システムで培養したところ，従来の液体培地で培養した場合と比べ，非常に高い増殖率を示した．その理由を調べるために，我々は CRISPR/Cas9 法により，ヒト腸管上皮幹細胞において分泌系分化細胞のマスター制御遺伝子である *ATOH1* 遺伝子の破壊(KO)株を作製した．我々は，樹立した *ATOH1* KO オルガノイド株において，粘液産生細胞である杯細胞のマーカー遺伝子である *MUC2* の遺伝子発現や MUC2 タンパク質が発現していないことを確認した．この粘液を産出しない *ATOH1* KO 腸管上皮細胞を用いて *A.muciniphila* と共培養

させたところ，*A.muciniphila*がほとんど増殖を示さなかったことから，*A. muciniphila*は宿主細胞から産出される粘液を栄養源として増殖することが示唆された．以上のことから，粘液なども再現できる生理条件に近いオルガノイド培養法は，腸内細菌を培養する上で有利な環境を作り出すことが分かった．

【今後の展望】

これまでの腸内細菌に関する研究は，次世代シーケンサーの登場により遺伝子レベルでの解析が中心となり，多種多様な腸内細菌の全体像を理解することが主流であった．この技術革新により，腸内細菌は宿主の恒常性維持や疾患発症と高い相関性があることが示唆されてきたが，その一方で個別の細菌の機能解析はあまり進んでおらず，疾患発症と特定の腸内細菌との因果性を分子レベルで検証したものは少ないのが現状である．そこで本研究成果は，細菌と宿主の直接的な相互作用を *in vitro*で検証できるシステムであり，実際にトランスクリプトームのみならず，全ゲノム解析やプロテオーム，メタボローム解析など多階層にわたるオミックス解析をすることができるため，今後の細菌と宿主細胞間における詳細な分子基盤の理解を加速させることが期待される．

また近年では，腸内細菌が創薬標的となることも示唆されているので，アカデミアのみならず世界中の製薬企業や食品企業が競争して研究を行っている．しかし動物愛護の観点から創薬や健康食品開発研究において，モデル動物を使用することができないので，従来のモデル動物を使用した研究に代わる腸内細菌の機能評価系の登場が望まれていた．そのため本課題研究の成果は，基礎研究のみならず産業の推進にも繋がることが期待されるので，今後積極的にこの技術を企業に導出し，産学連携を推進することで，新規機能性細菌の探索と商品化を目指していきたいと考えている．

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計7件（うち査読付論文　6件／うち国際共著　4件／うちオープンアクセス　1件）

１．著者名 Nakamoto N、Sasaki N、Aoki R、Miyamoto K、Suda W、Teratani T、Suzuki T、Koda Y、Chu P.S.、Taniki N、Yamaguchi A、Kanamori M、Kamada N、Hattori M、Ashida H、Sakamoto M、Atarashi K、Narushima S、Yoshimura A、Honda K、Sato T、Kanai T	４．巻 4
２．論文標題 Gut pathobionts underlie intestinal barrier dysfunction and liver T helper 17 cell immune response in primary sclerosing cholangitis	５．発行年 2019年
３．雑誌名 Nature Microbiology	６．最初と最後の頁 492～503
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41564-018-0333-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

１．著者名 Bolhaqueiro A.C.F., Ponsioen B., Bakker B., Klaasen S., Kucukkose E., van Jaarsveld R.H., Vivie J., Verlaan-Klink I., Hami N., Spierings D.C.J., Sasaki N., Dutta D., Boj S.F., Vries R.G.J., Lansdorp P.M., van de Wetering M. van Oudenaarden A., Clevers H., Kranenburg O., Foijer F., Snippert H.J.G., Kops G.J.P.	４．巻 51
２．論文標題 Ongoing chromosomal instability and karyotype evolution in human colorectal cancer organoids	５．発行年 2019年
３．雑誌名 Nature Genetics	６．最初と最後の頁 824～834
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41588-019-0399-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

１．著者名 Han S, Fink J, Jorg DJ, Lee E, Yum MK, Chatzeli L, Merker SR, Josserand M, Trendafilova T, Andersson-Rolf A, Dabrowska C, Kim H, Naumann R, Lee JH, Sasaki N, Mort RL, Basak O, Clevers H, Stange DE, Philpott A, Kim JK, Simons BD, Koo BK	４．巻 25
２．論文標題 Defining the Identity and Dynamics of Adult Gastric Isthmus Stem Cells	５．発行年 2019年
３．雑誌名 Cell Stem Cell	６．最初と最後の頁 342～356.e7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.stem.2019.07.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1．著者名 van Es Johan H.、Wiebrands Kay、L?pez-Iglesias Carmen、van de Wetering Marc、Zeinstra Laura、van den Born Maaike、Korving Jeroen、Sasaki Nobuo、Peters Peter J.、van Oudenaarden Alexander、Clevers Hans	4．巻 116
2．論文標題 Enteroendocrine and tuft cells support Lgr5 stem cells on Paneth cell depletion	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6．最初と最後の頁 26599～26605
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.1801888117	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1．著者名 Nanki Kosaku、Fujii Masayuki、Shimokawa Mariko、Matano Mami、Nishikori Shingo、Date Shoichi、Takano Ai、Toshimitsu Kohta、Ohta Yuki、Takahashi Sirirat、Sugimoto Shinya、Ishimaru Kazuhiro、Kawasaki Kenta、Nagai Yoko、Ishii Ryota、Yoshida Kosuke、Sasaki Nobuo、他3名、Sato Toshiro	4．巻 577
2．論文標題 Somatic inflammatory gene mutations in human ulcerative colitis epithelium	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Nature	6．最初と最後の頁 254～259
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

1．著者名 Sasaki Nobuo、Miyamoto Kentaro、Maslowski Kendle M.、Ohno Hiroshi、Kanai Takanori、Sato Toshiro	4．巻 159
2．論文標題 Development of a Scalable Coculture System for Gut Anaerobes and Human Colon Epithelium	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Gastroenterology	6．最初と最後の頁 388～390.e5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1053/j.gastro.2020.03.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1．著者名 佐々木　伸雄	4．巻 75
2．論文標題 腸内細菌－宿主細胞の相互作用メカニズムを紐解く新規共培養系の開発	5．発行年 2021年
3．雑誌名 臨床免疫・アレルギー科	6．最初と最後の頁 77-81
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

〔学会発表〕　計6件（うち招待講演　6件／うち国際学会　2件）

１．発表者名 Nobuo Sasaki
２．発表標題 Organoid unravels the interaction mechanism between mucosal barrier and bacteria
３．学会等名 Keio International Symposium, The Crossroads of Intestinal Microbiology, Mucosal Immunology and Epithelial Biology（招待講演）（国際学会）
４．発表年 2019年

１．発表者名 佐々木　伸雄
２．発表標題 大腸がんにおいて1細胞レベルで明らかにされた単一腫瘍内における不均一性の網羅的解析
３．学会等名 第46回日本毒性学会学術年会（招待講演）
４．発表年 2019年

１．発表者名 佐々木　伸雄
２．発表標題 オルガノイドが切り拓く腸内細菌研究の新時代
３．学会等名 日本乳酸菌学会2019年度秋季セミナー（招待講演）
４．発表年 2019年

１．発表者名 佐々木　伸雄，佐藤　俊朗
２．発表標題 オルガノイドが切り拓く次世代の腸内細菌研究
３．学会等名 第42回日本分子生物学会年会（招待講演）
４．発表年 2019年

１．発表者名 Nobuo Sasaki
２．発表標題 The study of epithelial crosstalk at the host-microbes interface using organoid
３．学会等名 8th Global Network Forum on Infection and Immunity: Microbiome（招待講演）（国際学会）
４．発表年 2020年

１．発表者名 佐々木　伸雄
２．発表標題 嫌気性腸内細菌とヒト正常大腸上皮細胞の共培養を可能にする新規培養系の開発
３．学会等名 第43回日本分子生物学会年会（招待講演）
４．発表年 2020年

〔図書〕　計1件

１．著者名 佐々木　伸雄，金井　隆典，佐藤　俊朗	４．発行年 2019年
２．出版社 羊土社	５．総ページ数 372
３．書名 決定版　オルガノイド実験スタンダード（佐藤，武部，永楽/編）	

〔出願〕　計1件

産業財産権の名称 上皮細胞培養用培養容器及びその使用	発明者 佐藤　俊朗，佐々木　伸雄	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2019-096905	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕　計0件

〔その他〕

－

６．研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究協力者	佐藤　俊朗 (Sato Toshiro) (70365245)	慶應義塾大学・医学部・教授 (32612)	

７．科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕　計0件

８．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
英国	University of Birmingham			