

動物成分を全く含まない、植物繊維のみでヒト幹細胞の制御培養に成功 ～免疫拒絶や感染リスクが少ない再生医療用新素材の開発を目指して～

ポイント

- ① 再生医療の実現には、他動物由来成分を“全く使わない”幹細胞培養の仕組みが必要不可欠
- ② 樹木由来のセルロースナノファイバー（Cellulose nanofiber: CNF, ※1）に硫酸基を導入することで、硫酸基量依存的なヒト幹細胞の接着・増殖性制御と接着因子・培地の安定化に成功
- ③ からだの外でヒト幹細胞を制御培養可能な新規医療用モダリティとしての効果・効能に期待

概要

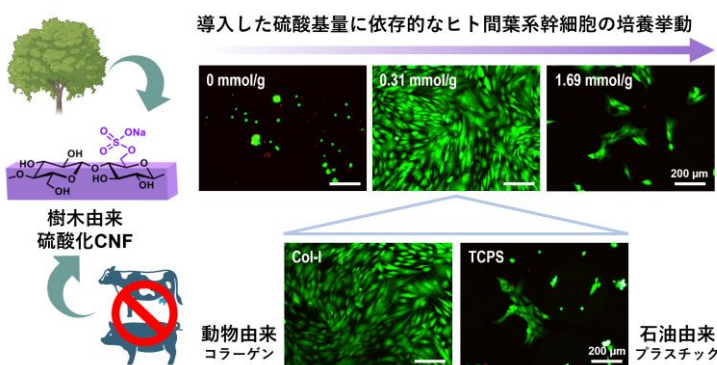
再生医療は、病気やけがなどで機能が損なわれた組織や臓器を修復・再生する医療技術です。その実現には、からだの外でヒトの細胞を効率的かつ適切に培養する必要がありますが、これまではヒト以外の動物のコラーゲンや生体成分を抽出して培養基材に使う必要がありました。そのため、免疫拒絶や感染症リスクの観点から、動物成分を全く含まない（Xeno-free, ゼノフリー）細胞培養基材の開発が望まれていました。

今回、樹木由来の構造多糖である CNF の結晶表面特異的に、生体官能基の一種である硫酸基を導入することで、動物由来成分を全く使うことなく、ヒト骨髄由来の初代間葉系幹細胞（Mesenchymal stem cell: MSC, ※2）のゼノフリー培養に成功しました。従来の動物由来コラーゲンに匹敵する培養特性を、植物繊維成分のみで達成しました。

国立大学法人九州大学大学院生物資源環境科学府の甲斐理智氏（2024 年度修士修了）、大学院農学研究の畠山真由美助教、北岡卓也教授および横河電機株式会社の岩本伸一郎博士らの共同研究グループは、木とヒトに共通するナノ構造である「ナノファイバー形状」と「規則的な多糖界面構造」に着目し、CNF の結晶構造を保ったまま硫酸基を導入することで、すぐれた細胞接着性と増殖性が発現することを見出しました。また、幹細胞の培養挙動が導入した硫酸基量に極めて鋭敏かつ強い依存性があることや、幹細胞の初期接着やその後の増殖に欠かせないタンパク質の安定化にも寄与することを発見しました。

今回の発見は、ヒト幹細胞を用いる直接的な再生医療のみならず、生体内の組織・臓器機能を持つ細胞を生体外でつくる技術や、それを活かした創薬支援基盤技術の開発に役立つことが期待されます。

本研究成果はエルゼビア社の学術雑誌「Carbohydrate Polymer Technologies and Applications」に2025 年 7 月 4 日（金）にオンライン掲載されました。



樹木由来セルロースナノファイバーの表面を硫酸化することで、動物由来コラーゲンに匹敵する細胞接着・増殖性を発現しています。

研究者からひとこと：

森林資源は、私たちに多くの恵みをもたらします。なかでも、樹木由来の多糖類であるセルロースナノファイバーは、世界最大の炭素固定物質であり、地球環境の保全や持続可能な資源利用に貢献するだけでなく、ヒトの健康や長寿にも役立つことが明らかになりました。人工合成が不可能な天然構造多糖を活用したバイオメディカル研究の新展開に期待が持たれます。（北岡 卓也）

【研究の背景と経緯】

再生医療とは、病気やケガなどで機能を失った組織や臓器に対し、細胞を用いて修復・再生を行う医療です。再生医療に用いられる細胞の多くは、患者本人やドナーから採取した後、からだの外で培養・増殖させて使用します。一般的な細胞培養では、培養液にウシの血清を添加したり、細胞が接着するための足場として動物由来のコラーゲンを使用したりしています。しかし、再生医療の現場で使用する場合、動物由来素材には免疫拒絶や感染症のリスクがあるため、**動物由来成分フリー（Xeno-free, ゼノフリー）な培養環境**が希求されています。ゼノフリーな培養液が様々なメーカーで開発されている一方で、細胞が育つ足場材料には依然として動物由来材料が用いられている状況でした。

【研究の内容と成果】

本研究では、**培養液と足場の両方をゼノフリーな環境**にするため、樹木由来の CNF を用いて細胞培養足場を作製し、ヒトの骨髄から採取した MSC と呼ばれる細胞を培養しました。私たちの体内では、細胞外マトリックス（Extracellular matrix: ECM, ※3）と呼ばれるタンパク質と多糖の複合体が細胞の足場となっており、主要な成分には線維状のタンパク質であるコラーゲンや、酸性多糖のヒアルロン酸などがあります。多糖で構成されている CNF の表面を化学修飾することで、ECM 成分にみられる線維形状と糖鎖構造の両方の特徴を備えた足場が作製できると考えました（図 1）。これまでの研究で、生体多糖の代表的な官能基である硫酸基やカルボキシ基の導入により、ヒト MSC のゼノフリー培養が可能であることは分かっていたましたが、官能基の最適導入量や生体適合性の発現機構については不明でした。

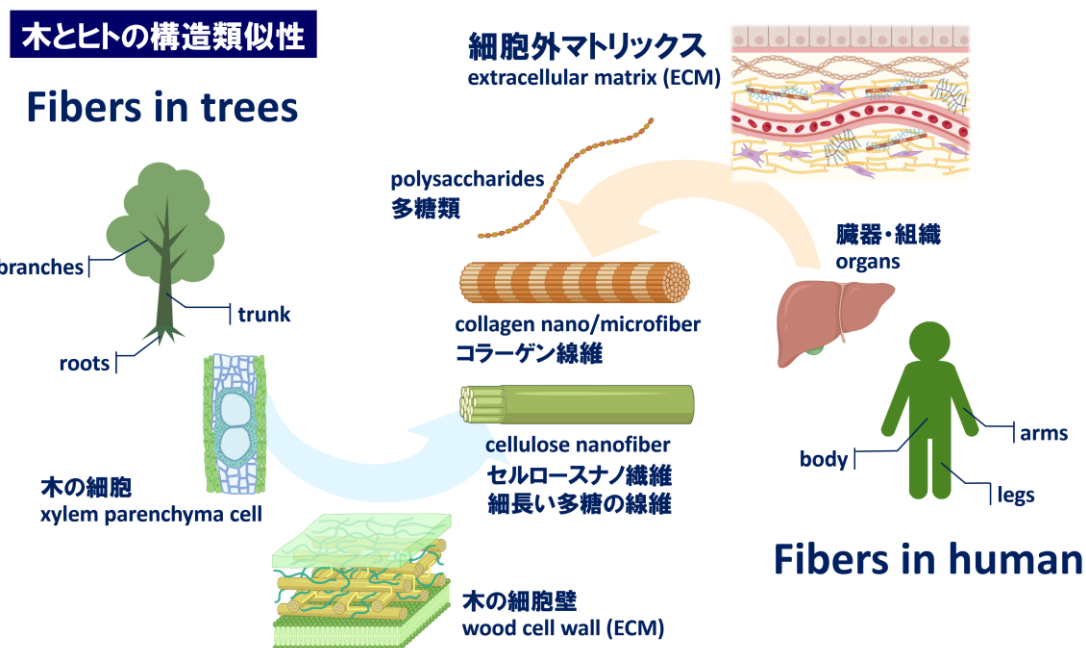


図1 木とヒトに共通するナノ構造「ナノファイバー形状」と「多糖構造」に着目した研究コンセプト

そこで、今回、修飾度合いを細かく調節した硫酸化 CNF（S-CNF™, 硫酸基量 0～1.69 mmol/g, 横河電機製）を用いて、初代ヒト MSC を無血清条件で培養したところ、導入なしのものと CNF 基材には全く細胞が接着しないにも関わらず、わずか **0.3～0.4 mmol/g の導入で急激に細胞が接着・増殖**することを見出しました（図 2）。さらに硫酸基を導入すると細胞増殖性は徐々に低下し、約 1 mmol/g で市販のプラスチック製基材と同等になり、約 1.7 mmol/g では細胞接着・増殖能力が失われました。すなわち、ヒト幹細胞の培養挙動が、**CNF に導入した硫酸基量に極めて鋭敏かつ強い依存性**があることを発見しました。

つぎに、細胞接着・増殖性発現機構の解明に向け、接着班（Focal adhesion: FA, ※4）の形成や塩基

性線維芽細胞増殖因子（basic fibroblast growth factor: bFGF, ※5）の吸脱着挙動を確認しました。その結果、適切な硫酸基量の導入により、細胞と ECM との結合を強める FA の形成促進や、bFGF の吸着と徐放の効果を見出しました。無血清培地の安定性向上にも寄与しており、本来は生体不活性な樹木由来 CNF が、わずかな硫酸基の導入により、ヒト幹細胞との高い生体適合性を獲得する仕組みの一端が解明されました。

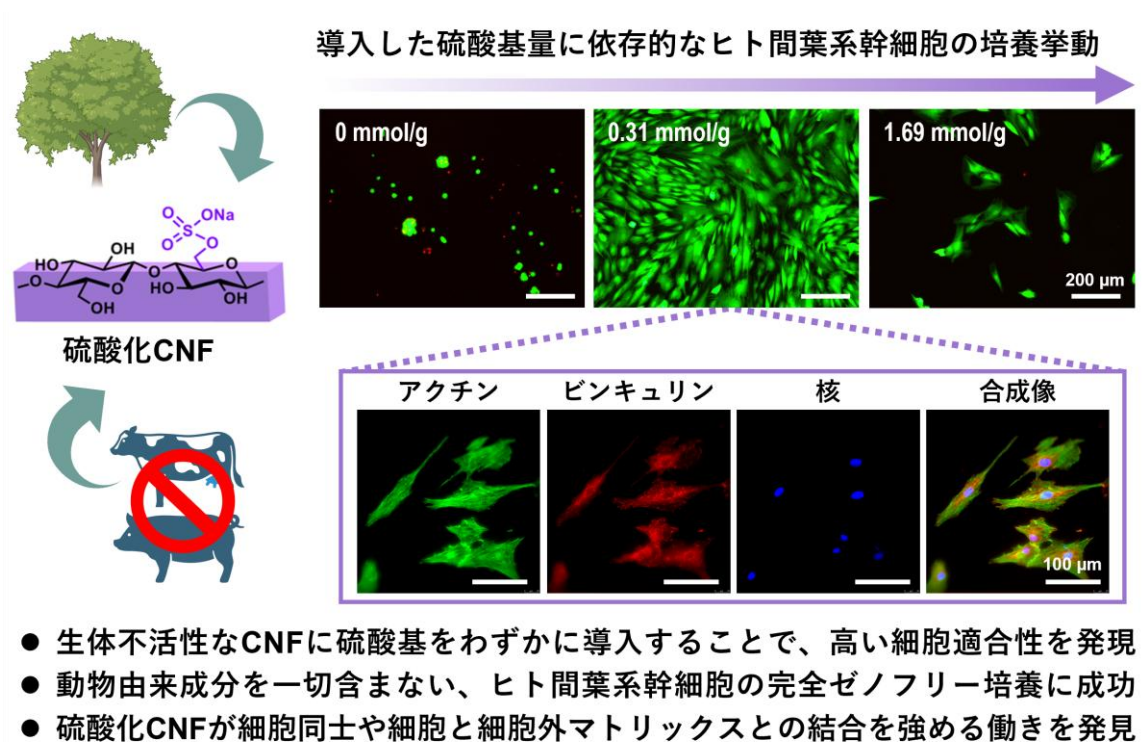


図2 硫酸化 CNF 基材における初代ヒト MSC の硫酸基量依存的な細胞接着・増殖挙動

【今後の展開】

本研究により、樹木由来の CNF を適切に硫酸化することで、培養液と足場の両方で動物成分を全く使用しない完全ゼノフリー条件で、臨床応用でも使用される初代ヒト MSC の培養挙動を硫酸基の導入量で制御できることを明らかにしました。CNF の表面改質は研究が盛んであり、今後も多様な CNF 基材が開発され、幹細胞のみならず様々な細胞の制御培養への展開が期待されます。培養した幹細胞の特性解析や、幹細胞が分泌する有効成分の解析などを行うことで、再生医療や創薬支援基盤技術への応用を目指します。

【用語解説】

(※1) セルロースナノファイバー (CNF)

樹木や草などの植物の主要成分であるセルロースを、ナノ（1 ナノは 10 億分の 1）メートルサイズまで微細化した天然ナノ素材。

(※2) 間葉系幹細胞 (MSC)

成体内に存在し、骨や軟骨・脂肪・筋肉など様々な細胞へと分化できる細胞。

(※3) 細胞外マトリックス (ECM)

動物細胞の隙間を埋めているタンパク質や多糖類からなる複合体で、細胞の増殖・分化・形質制御に深く関与している。植物細胞壁も「植物の細胞外マトリックス」として、多様な生理機能を担っている。

(※4) 接着班 (FA)

細胞－ECM間をつなぐ接着構造であり、インテグリンという膜タンパク質を介して細胞内外をつなぎ、細胞の形や動き、情報伝達に関与している。

(※5) 塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF)

代表的な細胞接着・増殖因子であり、基底膜や血管内細胞の ECM などに多く存在する。FGF 受容体と結合して生じる様々なシグナル伝達が、細胞－基質間接着や幹細胞性の維持などに深く関わっている。

【謝辞】

本研究は JSPS 科研費 (JP23H00345, JP24K17941) および池谷科学技術振興財団の研究助成を受けたものです。

【論文情報】

掲載誌：Carbohydrate Polymer Technologies and Applications

タイトル：Adhesion and proliferation behavior of primary human mesenchymal stem cells on sulfated cellulose nanofiber scaffolds with different sulfate contents

著者名：Ritomo Kai, Mayumi Hatakeyama, Shinichiro Iwamoto, Takuya Kitaoka

D O I : 10.1016/j.carpta.2025.100930

【お問合せ先】

<研究に関すること>

九州大学 大学院農学研究院 教授 北岡 卓也 (キタオカ タクヤ)

TEL : 092-802-4665 FAX : 092-802-4665

Mail : tkitaoka@agr.kyushu-u.ac.jp

<報道に関すること>

九州大学 広報課

TEL : 092-802-2130 FAX : 092-802-2139

Mail : koho@jimu.kyushu-u.ac.jp