

PRESS RELEASE (2024/07/24)

動物成分を全く含まない、植物素材のみでヒト幹細胞の制御培養に成功 ～樹木由来のセルロースナノファイバーで目指す再生医療～

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を用いることで動物成分不含の培養基材の開発に成功
- ③ からだの外でヒト幹細胞を制御培養することで、再生医療や創薬支援基盤での実用化に期待

概要

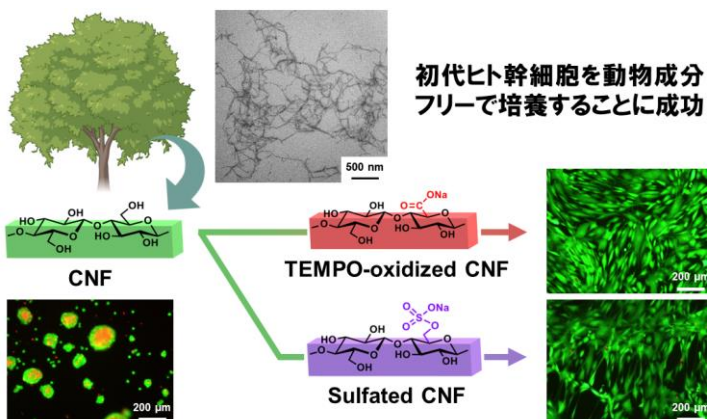
再生医療は、病気やけがなどで機能が損なわれた組織や臓器を修復・再生する医療技術です。その実現には、からだの外でヒトの細胞を効率的かつ適切に培養する必要がありますが、これまではヒト以外の動物のコラーゲンや生体成分を抽出して培養基材に使う必要がありました。そのため、免疫拒絶や感染リスクの観点から、動物成分を全く含まない (Xeno-free, ゼノフリー) 細胞培養基材が望まれていました。

今回、樹木由来のセルロースナノファイバーの表面特異的に生体官能基を導入することで、動物由来成分を全く使うことなく、ヒトの腸骨髄から採取した間葉系幹細胞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効率を、植物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 (修士課程2年)、大学院農学研究院の畠山真由美助教、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、本来細胞接着の能力を全く持たない樹木由来のセルロースナノファイバーに、結晶構造を保ったまま硫酸基等の生体官能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発見しました。

今回の発見は、ヒト幹細胞を用いる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 Polymers」に2024年7月10日 (水) に掲載されました。



研究者からひとこと：

本研究は、住宅建材や紙パルプなどで長い利用の歴史をもつ木質素材が、ナノ化技術によりヒト幹細胞を培養できることを発見したものです。大学院生の私にとって本研究は、循環型資源である天然多糖の新たな魅力を感じるきっかけとなりました。今後も環境と健康が調和する材料研究に携わりたいと考えています。(修士2年 甲斐理智)

木のナノ繊維でつくった基材上でのヒト幹細胞の培養
動物由来成分なしで、高い培養効率を発揮しています。

【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、樹木由来のセルロースナノファイバー（Cellulose nanofiber: CNF, ※1）を用いて細胞培養足場を作製し、間葉系幹細胞（Mesenchymal stem cell: MSC, ※2）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）。そこで、生体多糖の官能基に着目し、硫酸基で修飾した硫酸化 CNF（S-CNF）とカルボキシ基で修飾した CNF（TEMPO-oxidized CNF, TOCNF）を用いて足場を作製しました。

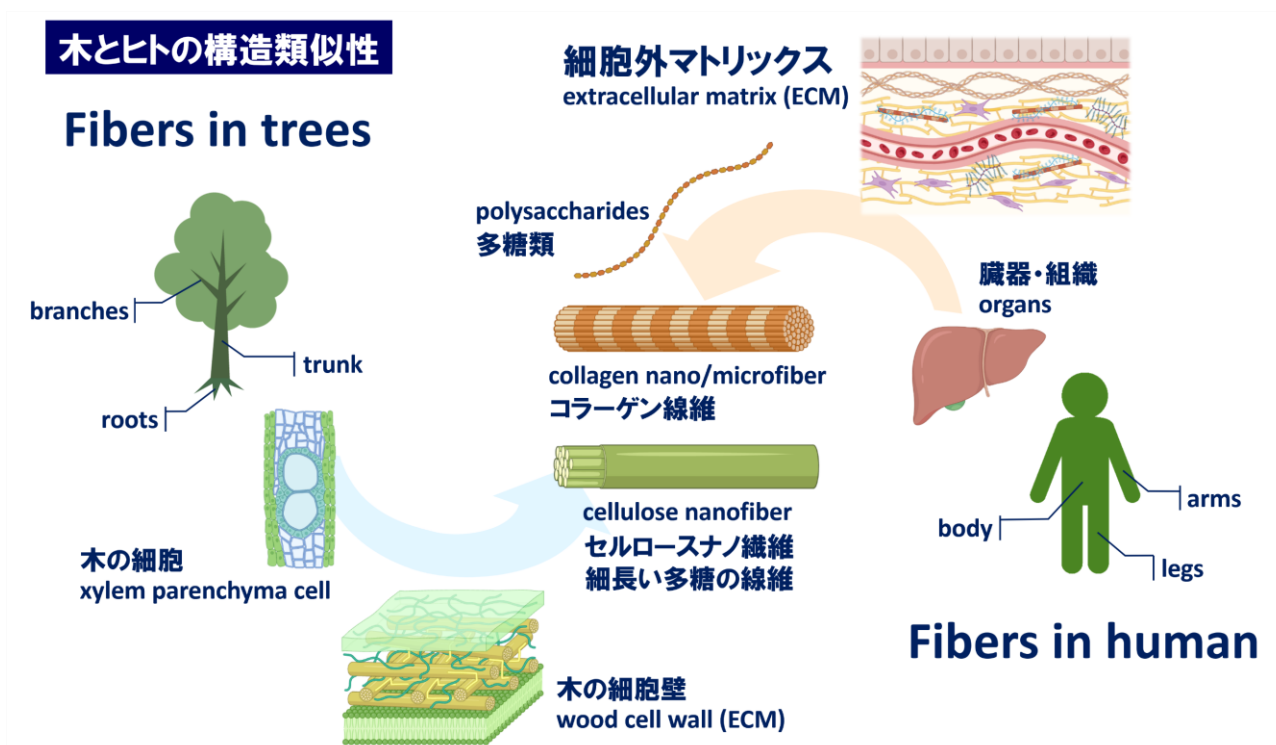


図1 木とヒトに共通するナノ構造「ナノファイバー形状」と「多糖構造」に着目した研究コンセプト

まず、修飾度合いの異なる S-CNF™（横河電機製）と繊維の長さが異なる TOCNF（日本製紙製）を組み合わせて、動物成分を含んだ培養液中で不死化（※4）した MSC が良好に育つ条件を検討しました。その後、ゼノフリーな培養液を使用して、MSC の増殖性を確認したところ、従来の足場材料に使われてきた動物由来のコラーゲンに匹敵する増殖性を CNF 足場で発現させることに成功しました。しかしながら、遺伝子組み換えした不死化 MSC では、再生医療に用いることができません。

そこで、再生医療への応用に向けて、ヒトから採取した初代細胞（※4）の MSC を用いてゼノフリー培養を行いました。すると、不死化した MSC と比べて細胞が増殖しにくい初代細胞の MSC においても、表面改質 CNF 足場では良好な細胞増殖性を示しました（図 2）。一方、汎用のプラスチック足場（TCPS）では、不死化 MSC では良好に増殖していたものの、初代培養では増殖性が著しく低下しました。すなわち、ヒト幹細胞培養において、樹木由来 CNF が優れた素材であることが判明しました。

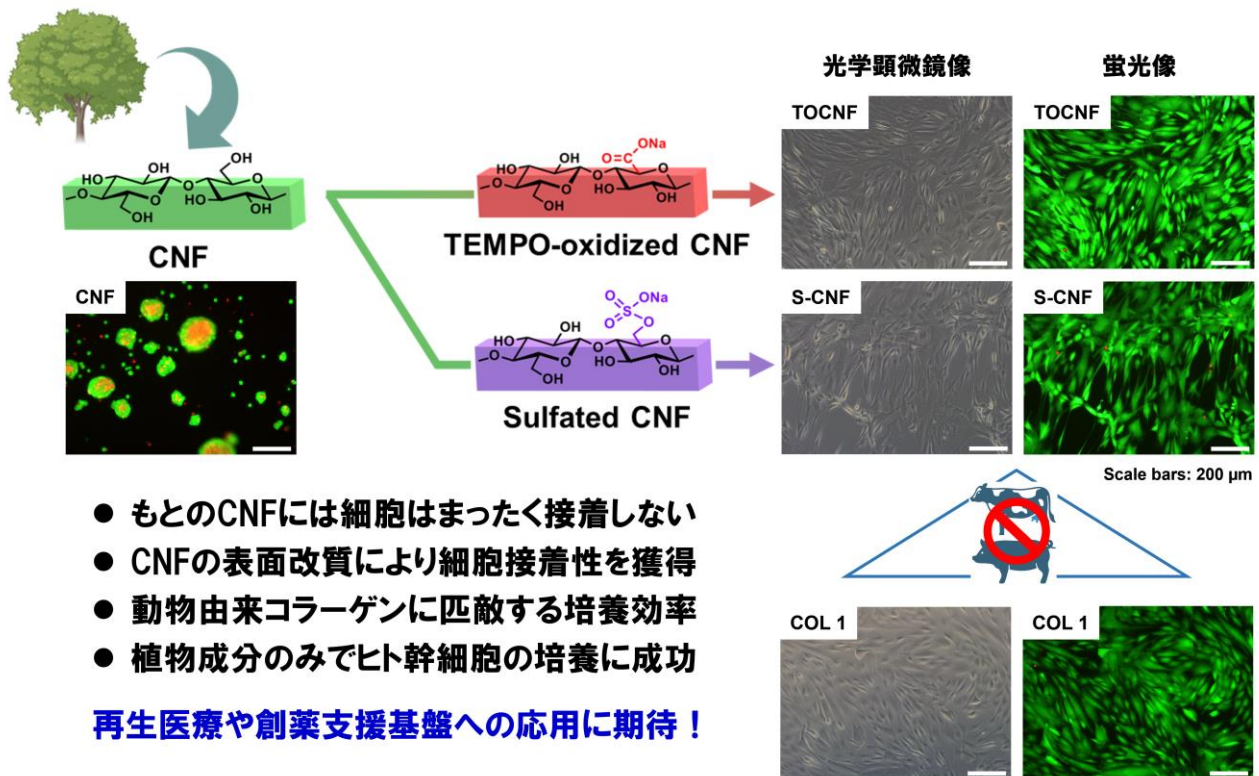


図2 初代ヒト間葉系幹細胞の培養の様子(CNFの表面改質により、コラーゲンに匹敵する培養を達成)

【今後の展開】

本研究により、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ている初代細胞のヒト MSC で良好な培養を達成しました。今後は、表面改質 CNF 足場上で培養した初代 MSC の特性解析や、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

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

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

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) 不死化と初代細胞

正常な細胞は細胞分裂を無限に繰り返すことができず、分裂回数には限界がある。そこで、細胞不死化酵素として知られるテロメラーゼなどを導入して、無限に細胞分裂ができるようにしたものが不死化細胞

胞であり、実験細胞として研究に使用されている。一方、ヒトや動物の生体組織から採取したそのままの細胞を初代細胞といい、特に初代ヒト幹細胞は様々な臨床応用に期待が集まっている。

【謝辞】

本研究は JSPS 科研費（JP21K14890, JP21K19150, JP23H00345）、上原記念生命科学財団 2022 年度研究助成【生命科学と他分野との融合部門】の助成を受けたものです。

【論文情報】

掲載誌：Carbohydrate Polymers

タイトル：Primary human mesenchymal stem cell culture under xeno-free conditions using surface-modified cellulose nanofiber scaffolds

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

D O I : 10.1016/j.carbpol.2024.122479

【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