

フジシール財団 研究助成事業
成果報告書

公益財団法人フジシール財団
理事長 岡 崎 裕 夫 殿

報告日 2026 年 5 月 18 日

研究課題	ヒト幹細胞の未分化大量培養に向けたナノ多糖による細胞包装技術の開拓	助成金額
		300 万円
助成名	特別長期研究助成・研究助成・若手研究助成	
ふりがな	きたおか たくや	研究助成申請年度
研究者氏名	北岡 卓也	2025 年度
所属機関	国立大学法人九州大学 大学院農学研究院	研究期間
役 職	教授	2025 年 4 月 1 日～2026 年 3 月 31 日

下記の通り、研究成果を報告いたします。

記

1. 研究成果の概要

ヒト間葉系幹細胞（hMSC）は、再生医療・細胞治療・創薬スクリーニングなど多様な分野で利用される重要な細胞資源である。しかし、従来の2次元培養では、細胞外マトリックス（ECM）が提供する本来の3次元（3D）微小環境を再現できず、未分化性の維持や大量培養に限界がある。また、コラーゲンやマトリゲルなどの動物由来ECM材料は、ロット差や安全性に課題があり、臨床応用を見据えた細胞製造には適さない。一方、天然多糖ナノファイバー材料は、化学的均質性、物性制御の容易さ、非動物由来である点から、次世代の細胞培養基材として注目されている。本研究では、表面官能基化多糖ナノファイバーを用いて、(1) hMSCの培養基盤の構築、(2) 大量培養に向けた細胞パッケージング技術の開発、(3) 分化制御への応用可能性の検証を行った。これらの研究を通じて、「未分化維持 → 大量培養 → 分化制御」へと連続する技術体系の基盤を構築する成果を得た。

【成果1】表面カルボキシ化 CNF（TOCNF）ゲルによる hMSC 培養基盤の構築

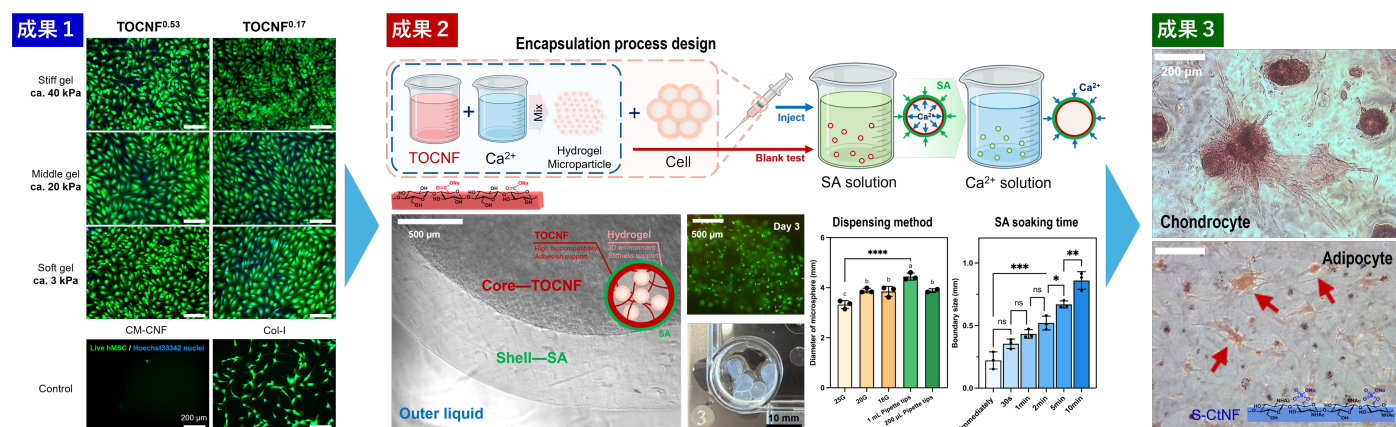
繊維長の異なる2種類の TOCNF（COONa=1.47 mmol/g; 0.17 μm, 0.53 μm）を用い、固形分濃度と Ca²⁺架橋条件を調整することで、3–40 kPa の範囲で弾性率を制御したゲル基材を作製した。この弾性域は、hMSC のメカノセンシングに基づく分化方向決定に関わる重要な物性範囲を網羅しており、細胞機能制御基材として高い汎用性が期待される。得られた TOCNF ゲル上で骨髄由来不死化 hMSC を 72 時間培養したところ、高い接着・伸展性が認められ、組織培養用ポリスチレン（TCPS）と同等であった。一方、カルボキシメチル基を有する CM-CNF ゲルでは細胞接着がほとんど見られず、Col-I ゲルでは接着するものの伸展が不十分であった。この結果から、TOCNF 固有の二糖繰り返しウロン酸構造の重要性が示された。TOCNF ゲルは高い透明性を有し、観察性・再現性にも優れることから、動物由来 ECM 素材に替わる高い細胞支持性を持つ 3D 培養基材として期待が持たれる。さらに、ゲルの弾性率に応じて細胞形態に差異が生じていることから、基材の硬さが hMSC の未分化性や分化挙動に影響を与える可能性も示唆された。現在、各基材上で培養した hMSC から抽出した RNA を用いて遺伝子発現解析を進めており、今後はメカノセンシング機構の解明と分化方向の制御可能性を詳細に評価する。

【成果 2】幹細胞パッケージング技術の開発 (Core-Shell Beads)

hMSC の大量培養に向けて、TOCNF を用いた細胞パッケージング (Cell Packaging) 技術の開発を試みた。一段階包埋法では、オートクレーブ滅菌により TOCNF 分散液が部分的にゲル化し、安定したビーズ成形が困難であった。そこで、アルギン酸 (SA) をシェル、TOCNF をコアとする Core-Shell 構造を導入した二段階法を確立した。Core-Shell ビーズは、(1) 針径 (ゲージ) に応じてビーズ径を 3.3–4.4 mm の範囲で制御可能、(2) SA 濃度と架橋時間によりシェル厚を 0.35–0.86 mm の範囲で調整可能、(3) コア部の TOCNF ゲルは 2.0–2.5 kPa と生体軟組織に近い弾性率、(4) 架橋時間や Ca^{2+} 濃度はビーズ径に大きく影響しない、などの特長を示し、サイズ・シェル厚・弾性率を独立に制御できる 3D パッケージング基材としての特性を有することが明らかとなった。

細胞包埋実験では、hMSC および NIH/3T3 細胞を TOCNF コアに均一に分散させた状態で封入でき、高い生存率が得られた。また、SA 単独ビーズでは細胞は球状形態であるのに対し、Core-Shell ビーズでは細胞が伸展し、接着性が明確に向上した。3D 分散環境により細胞の形態保持が促進されたと考えられ、TOCNF コアが細胞接着性と生体模倣性を付与することが確認された。

これらの結果から、Core-Shell ビーズは、(1) 細胞の均一分散、(2) 高い生存率、(3) 生体類似の 3D 環境提供という大量培養に不可欠な要素を満たしており、スケールアップ可能な 3D 細胞パッケージング技術の基盤として有望である。現段階では未分化維持や長期増殖のデータは未取得であるが、今後、遺伝子発現解析や長期培養試験を進め、hMSC の大量培養技術としての実用性を検証する。



【成果 3】硫酸化キチンナノファイバー (S-CtNF) ゲルによる分化制御の実証

CNF と構造的に類似する CtNF に硫酸基を導入することで、生体内のグリコサミノグリカン (GAG) 様の構造を模倣した S-CtNF を用い、ヒト幹細胞の分化制御能を評価した。S-CtNF は強い負電荷を持ち、成長因子の保持やシグナル伝達に関与することから、細胞分化を促進する可能性がある。まず、硫酸基導入量の異なる S-CtNF (0.37–1.53 mmol/g) を作製し、 Ca^{2+} 架橋によりゲル化した基材上で hMSC を培養した。得られたゲルの弾性率は、S-CtNF0.56 が約 9 kPa と最も高く、硫酸基量の増加にともない 3.5 → 2 kPa へと軟化した。先行研究で報告される「6–7 kPa が軟骨分化に適する」条件と一致する硬さを示した。軟骨分化誘導培地で 21 日間培養した後にサフラニン O 染色を行ったところ、S-CtNF0.56 において顕著に濃く染色され、hMSC が軟骨 ECM に多く含まれるプロテオグリカン蓄積した可能性が示された。次に、脂肪由来間質細胞 (ADSC) を S-CtNF ゲル上で培養したところ、脂肪滴形成が顕著に促進され、脂肪分化が明確に確認された。特に、脂肪分化に適した弾性域 (2–4 kPa) を示す S-CtNF0.71 (2.6 kPa) では、オイルレッド O 染色により多数の脂肪滴が観察された。細胞は丸い形態を保持しており、低付着・低張力の 3D 微小環境が脂肪分化に寄与したと考えられる。また、誘導なし条件でも脂肪滴が形成されたことから、適切な硫酸基量を有する S-CtNF が自発的な脂肪分化を促す可能性が示唆された。これらの結果から、S-CtNF は軟骨分化と脂肪分化の双方を制御可能な 3D 微小環境を提供し、TOCNF とは異なる“分化制御型”足場としての機能を持つことが明らかとなった。

以上の研究成果より、表面官能基化多糖ナノファイバーを基盤とした「未分化維持・大量培養・分化制御」を一体化する細胞培養技術の基盤を構築できた。これらは、動物由来材料に依存しない幹細胞製造プロセスの実現に向けた重要な知見であり、天然多糖ナノファイバーを基盤とする“次世代幹細胞制御培養技術”の確立に大きく貢献するものである。

2. 研究成果のパッケージ産業への貢献の可能性

本研究は、従来のパッケージング研究の枠組みを大きく超え、「生きたヒト細胞を安全かつ機能的に包み込み、目的の状態へ導く」という新たな概念を提示するものである。セルロースやキチンなどの天然構造多糖ナノファイバーを表面改質し、未分化 hMSC の培養、3D 細胞パッケージング、分化制御という一連の技術基盤の構築に向けた知見を獲得できたことは、パッケージ産業に新たな応用領域を拓く成果である。

TOCNF ゲルは弾性率を精密に制御でき、hMSC の接着・増殖を高い再現性で支えることが明らかとなった。また、Core-Shell 構造を用いた細胞パッケージング技術は、細胞を均一に分散させたまま 3 次元的に保持し、外部環境から保護しつつ、内部では適切な生体シグナルを提供するという、“生きた細胞を包む”というパッケージングの新概念を体現している。さらに、S-CtNF ゲルでは、軟骨分化や脂肪分化といった細胞機能の誘導が可能であり、細胞の状態を「包みながら変える」機能性パッケージとしての可能性も示された。

これらの成果は、パッケージ産業が従来扱ってきた「食品・化粧品・工業製品の保護・輸送」という枠を超え、細胞・生体材料・医療用途にまで拡張し得る新たな産業領域を示唆するものである。特に再生医療の実現に向けては、ドナー由来の初代幹細胞を未分化のまま大量に増やし、必要に応じて分化誘導する技術が不可欠である。本研究で得られた成果は、こうした細胞製造プロセスにおいて、「細胞を包む」「細胞を守る」「細胞を望ましい状態へ導く」というパッケージングの新たな役割を提示した。

本研究助成の支援により、天然構造多糖ナノファイバーとパッケージング技術を融合した新領域の基盤を築くことができた。今後は、細胞製造・創薬支援・再生医療などの分野において、パッケージ産業が果たし得る役割をさらに拡張し、“生命を扱うパッケージング”という新産業領域の創出につなげていきたい。

3. 学会発表、学会誌等への論文掲載、産業財産権出願などの実績

【学会発表（招待講演）】

- (1) Emerging potential of biomass-derived polysaccharide nanofibers as biomedical materials, Takuya Kitaoka, Sustainable Chemicals and Bioproducts from Biomass (CES039), Pacifichem2025, Honolulu, December 19 (2025)
 - (2) 天然構造多糖によるバイオメディカル機能の開拓、北岡卓也、第 76 回医用高分子研究会「医用高分子と環境問題・循環経済との接点を探る」、公益社団法人高分子学会、京都、2026 年 3 月 5 日
- その他、国際会議口頭発表 2 件・ポスター 3 件、国内学会他招待講演 2 件・口頭発表 4 件・ポスター 8 件など

【論文掲載】

- (3) Proliferation and differentiation of human dental pulp stem cells on phosphorylated cellulose nanofiber scaffolds, Akihiro Iwasaki, Mayumi Hatakeyama, Qimei Liu, Ai Orimoto, Tomokazu Fukuda, Takuya Kitaoka, *Carbohydrate Polymers*, **359**, 123593 (2025)
- (4) Adhesion and proliferation behavior of primary human mesenchymal stem cells on sulfated cellulose nanofiber scaffolds with different sulfate contents, Ritomo Kai, Mayumi Hatakeyama, Shinichiro Iwamoto, Takuya Kitaoka, *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, **11**, 100930 (2025)
- (5) Biointerface engineering of cellulose nanofibers to design immunomodulatory Pickering emulsion microparticles, Qi Li, Mayumi Hatakeyama, Takuya Kitaoka, *Chemical Engineering Journal*, **529**, 172799 (2026)

【産業財産権出願】

- (6) 特願 2025-115589、2025 年 7 月 9 日出願
- (7) 特願 2025-171551、2025 年 10 月 10 日出願