

【目的】 豊富で再生可能なバイオマスである森林資源のセルロースや海産物のキチンは、ともに人工合成不可能なβ-1,4グリコシド結合の伸びきり鎖結晶からなるナノファイバー形状を特徴とする構造多糖であり、結晶構造の精密性を保持したまま、界面物性や化学特性を制御できる。本研究では、天然多糖の個性である「しなやかな硬さを持つナノ繊維形状（物理的特性）」と「制御可能な糖鎖界面（化学的特性）」が、生体内で細胞を取り囲む細胞外マトリックス（Extracellular matrix : ECM）の特徴を備える点に着目し、天然多糖のナノ構造が鍵を握る生体ECMの機能模倣のコンセプトで、再生医療・創薬支援基盤に有用な幹細胞制御培養基材の開発を試みた。

【方法】 バイオイナートなセルロースナノファイバー（Cellulose nanofiber : CNF）やキチンナノファイバー（Chitin nanofiber : CtNF）に対して、表面カルボキシ化・表面硫酸エステル化・表面リン酸化・脱アセチル化などの化学修飾を施した。所定濃度の水分散液をガラス基材や細胞培養用ポリスチレン（Tissue culture polystyrene : TCPS）基材に塗布、あるいはCa²⁺イオン架橋によりゲル化し、各種細胞培養基材を作製した。ヒト骨髄由来不死化間葉系幹細胞（Human mesenchymal stem cell : hMSC; UE6E7T11）や初代hMSCを播種し、通常培地や血清フリー条件で培養した。生細胞数・生死細胞染色・遺伝子発現挙動解析・各種バイオアッセイを実施し、構造多糖を生体材料とするヒト幹細胞の培養挙動を検討した。

【結果】 CNFやCtNFには細胞接着性がないにもかかわらず、適切な表面官能基化によって、線維芽細胞・筋芽細胞・肝細胞・骨芽細胞様細胞・ヒト間葉系幹細胞を培養可能なバイオマテリアルの開発に成功した。特に、無血清培地を用いて初代hMSCを培養した場合、TCPS基材やCNF基材にはhMSCは接着せず、細胞同士が凝集したスフェロイド形態を示したのに対して、CNF表面にカルボキシ基や硫酸基を適量導入（0.5~1.5 mmol/g）することで、細胞接着・増殖性が著しく向上した。hMSCは多分化能を保持しており、軟骨細胞・脂肪細胞・骨芽細胞に分化できた。さらに、表面カルボキシ化CNFのゲル化により表面弾性率を制御した基材では、hMSCは硬さに応じた遺伝子発現挙動の変化を示し、3~4 kPaの柔らかいゲル基材においては未分化維持に関与する*Nestin*遺伝子の発現量が有意に上昇した。一方で、CNF表面にランダムにカルボキシメチル基を導入してもこの効果は得られず、ECM様の規則的なウロン酸繰り返し構造の重要性が示唆された。構造多糖が細胞機能に直接働きかける新規バイオアダプティブ基材としての医療応用に期待がもたれる。

構造多糖ナノファイバーを用いる幹細胞制御培養基材の開発戦略

