

審査の結果の要旨

氏名 井口 裕道

本論文は、「連続的標識分離機能を有するマイクロ磁気細胞分離システムの開発」と題し、5章より成っている。

再生医療や医療生体検査をはじめ様々な次世代医療技術において、高い精度と低コストで生体液から目的の細胞を分離抽出する技術の開発が望まれている。特に、様々な組織に分化可能な幹細胞をいかにして入手するかは、重要な課題である。倫理的な問題を伴う胚性幹細胞に対して、成人の体内から得る幹細胞を利用することが望ましいが、後者は未だ十分に確立した技術とは言えない。骨髄に直接アクセスして間葉系幹細胞を得ることはすでに実現しているが、ドナーや患者への侵襲が大きいので、むしろ患者本人の末梢血から幹細胞を得ることが望ましい。しかし、末梢血中の幹細胞の数は、全ての単核細胞の中で、 $10^8 \sim 10^9$ の中にひとつある程度であり、こうした希少な細胞を健全な状態で効率よく抽出する低コストデバイスが必要である。本論文では、こうした事情を背景に、MEMS 技術を用いたオンチップ型の細胞分離器を構想し、設計、製作、性能評価を行い、こうしたデバイスの設計指針を得ることを試みたものである。

第一章は序論であり、再生医学の現状、幹細胞に関わる既存の知識、幹細胞の分離法に関する従来の研究と技術開発などを概観している。目的細胞の標識法として、抗体抗原反応によってマイクロ磁気ビーズを目的細胞に付着させ、その後、外部磁場の印可によって目的細胞を分離する方法を研究の対象とすることが述べられている。そのため、構想するシステムとしては、磁気ビーズと生体液の混合付着を促進する混合器、そして外部磁場によって磁気ビーズ付着の目的細胞を抽出する磁気分離器の二つの要素が必要であり、また、それらのマイクロ化システムの開発を本論文の目的とすることが述べられている。

第二章では、構想するマイクロ磁気細胞分離システムが所定の性能を得るための原理的な検討を進めている。連続型の分離抽出を可能とするために、まず磁気分離器において要請される磁場の設計を行い、さらに従来高い混合性能が認められているラミネーション混合器を採用して、目的細胞と磁気ビーズが十分

な衝突付着を達成するために必要な設計仕様を導いている。

第三章では、外部磁場を利用したマイクロ磁気細胞分離器の詳細設計と実際の製作を試みている。集積が容易な電磁石を磁場発生源とし、コイル近傍の強磁力を効率的に細胞に付加する分離流路を設計している。磁場下のマイクロチャネル流において、磁力と浮力を受ける細胞の運動を運動方程式に基づいて解析し、流線と垂直方向の分離速度から流路とコイルの形状配置を決定している。計算には、汎用コード Fluent 6 を用い、入口から導入された粒子の軌跡を、ONE-WAY カップリングによって求めている。その結果、分離流路の入口形状と、上下二層に分かれた流れの中の細胞を分離回収する出口形状を設計している。

これらを基に、磁気分離器を混合器と組み合わせ、全体システムを設計している。システムは、5層のPDMS層と、銅コイルによって構成される。ただし、混合後分離器に導入するまでの反応時間の違いに対する依存性を評価するため、混合器と分離器の間の流路長さが異なる二種類のシステムを製作している。製作は、ソフトリソグラフィ技術を用いて、各層の構造をPDMSに転写、その後リソグラフィ処理、エッチングによってコイルが製作される。このコイルと各PDMS層を表面処理後、位置を合わせ、貼り合わせて試作デバイスを製作している。

第四章では、製作されたデバイスとモデル細胞を用いて分離実験を行っている。結合反応モデルにストレプトアビジン-ビオチンを用い、モデル細胞として、細胞と同程度の直径を持ち、ビオチンで表面修飾されたマイクロビーズを採用している。磁気粒子には、ストレプトアビジンで修飾された直径 $1\ \mu\text{m}$ の微粒子を用いている。デバイスの二つの出口で回収されたマイクロビーズの総数に対し、目的細胞側出口で回収されたマイクロビーズの比率を分離率と定義し、評価指標としている。

まず、磁気分離器単体の分離性能評価を行うため、あらかじめ磁気粒子を結合させてあるマイクロビーズをデバイスに導入し、出口での分離率を評価している。コイルへの電流値を変化させ、分離器出口での粒子分離割合を計測し、実験値と設計値の良い一致を得て、磁気分離器の動作確認を果たしている。

さらに、連続的標識分離実験を行っている。デバイスの各入口から、マイクロビーズ、磁気粒子、バッファ溶液がそれぞれ導入され、マイクロビーズと磁気粒子の結合を混合器と区間流路で行い、磁気分離が達成される。設計上期待されたように、分離率は電流の増加に伴い増加し、連続的標識分離の原理が確認されている。ただし、得られた分離率は設計値よりも小さく、増加量は緩やかであった。この結果から、高純度分離のためには、混合後により長い反応時間の確保が必要と考察している。

最後に、連続的標識分離を有するマイクロ磁気分離システムを設計し、試作デバイスを用いて、モデル分離性能評価実験を行っている。その結果、混合器と分離機との区間流路が長い方が、滞留時間内に結合する磁気粒子個数が多く、より多くの目的粒子を分離できることを再確認している。また、細胞と磁気粒子の結合確率は 1 よりも小さく、結合個数の分散が大きい可能性を指摘し、一定の剪断率の下でより長い流路内滞留時間が必要であることを指摘している。

第五章は結論であり、本論文で得られた成果をまとめている。

以上、本論文では、再生医療に求められる、高い精度と低コストで連続的に幹細胞を抽出できる、MEMS 技術を用いたオンチップ型の細胞分離器を構想し、設計、製作、性能評価を行い、その設計指針について新たな基礎的知見を得たもので、生体医療工学や機械工学の学術の上で寄与するところが大きい。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。