

2025年 8月 19日

豊橋技術科学大学長 殿

機械工学専攻
学位審査委員会
委員長 小林 正和 印

論文審査及び最終試験の結果報告

このことについて、博士学位論文審査を実施し、下記の結果を得ましたので報告いたします。

学位申請者	Aniket Mishra		学籍番号	第205109号
申請学位	博士（工学）	専攻名	大学院工学研究科博士後期課程 機械工学 専攻	
博士学位論文名	Controlled Cellular Perforation by Photoabsorber-Mediated Laser Irradiation: From Targeted Delivery to Selective Ablation (光吸収体媒介レーザ照射による調整型細胞膜穿孔：標的デリバリから選択的除去まで)			
論文審査の期間	2025年 7月 17日 ～ 2025年 8月 19日			
公開審査会の日	2025年 8月 19日	最終試験の実施日	2025年 8月 19日	
論文審査の結果※	合格		最終試験の結果※	合格
審査委員会(学位規程第6条) 学位申請者にかかる博士学位論文について、論文審査、公開審査会及び最終試験を行い、別紙論文内容の要旨及び審査結果の要旨のとおり確認したので、学位審査委員会に報告します。 委員長 足立 忠晴 印 委員 柴田 隆行 印 永井 萌土 印				

※論文審査の結果及び最終試験の結果は「合格」又は「不合格」の評語で記入すること。

論文内容の要旨

細胞治療や再生医療において、細胞膜を介した分子導入、がん細胞の選択的除去および細胞パターンニングは重要な基盤技術である。しかし、従来の電気穿孔法やウイルスベクター法は、位置選択的な細胞処理が行えず、細胞生存率が低く、高コストかつシステムが複雑であるといった課題を抱えている。本論文は、光吸収体を媒介とするレーザー照射による空間選択性を有する細胞膜穿孔技術を体系的に開発し、従来技術の課題を解決することを目的としている。

第1章では、既存技術の限界を詳細に分析し、光吸収体がレーザーエネルギーを局所的な熱や衝撃波に変換する現象を医学的に応用する可能性を理論的に提示し、本研究の目的を示している。第2章では、細胞膜穿孔に対する従来法の空間制御性不足と再現性の問題に対し、顔料 (PR-254) を含有した厚膜ネガ型フォトレジスト (SU-8) の微細パターンを光吸収体として用いたレーザー衝撃波の距離依存的な空間解析手法を開発している。本手法によって、細胞種 (HeLa、HEK-293、SAOS-2 細胞) に特異的な分子導入条件を定量的に最適化している。第3章では、細胞膜穿孔処理のハイスループット化を目的とし、マイクロ吸収体パターン基板と細胞を播種した基板を対向配置した構成とすることで、大面積かつ並列高速処理を実現している。さらに、細胞内分子送達に及ぼす分子サイズ依存性を解明している。第4章では、従来の近赤外 (NIR) 連続波レーザーによる広範囲での熱影響と正常組織損傷の問題を解決するために、金ナノスターと可視域パルスレーザーを組合せた細胞膜穿孔技術を提案している。がん細胞に対し位置選択的に光熱的な殺傷を達成し、局所性と効率を大幅に向上させている。第5章では、細胞膜穿孔実用化への阻害要因となっている高コストな金ナノ粒子の代替として、生体適合性の高いプルシアンブルーナノクラスターを用いた細胞処理技術を開発し、分子導入と精密細胞パターンニングの両機能を統合的に実現している。第6章では、本研究の成果を統括し、今後の展望を述べている。

審査結果の要旨

再生医療工学からがん治療に至る幅広い次世代医療応用を実現するためには、細胞膜穿孔技術の根本的な課題を解決し、位置選択的な細胞処理の実現、細胞生存率の向上、熱損傷の局在化、コストの低減、システムの簡略化などを実現する技術の提供が不可欠となっている。本論文は3種類の光吸収体を媒介させたレーザー誘起衝撃波の空間制御技術を提案し、位置選択的な細胞処理を実現し、従来技術の課題を体系的に解決している。

第一の細胞処理の位置を選択できない課題に対しては、光吸収体の微細パターンを中心としたレーザー衝撃波の距離減衰を活用した手法を開発し、従来の密着処理から位置選択的な細胞処理への転換を実現している。分子導入効率に及ぼすレーザー衝撃波の距離依存性を定量的に明らかにし、吸収体の直径とレーザーフルエンスを最適化して最大33%の分子導入効率を達成している。また、光吸収体パターンと細胞を対向かつ近接させた非接触構成を採用することにより、細胞毒性のリスクを回避し、最大63%の細胞膜穿孔を達成しており、安全かつ効率的な大面積細胞処理技術を確立している。

第二の細胞の広範囲の熱損傷の課題に対しては、粒径約200nmのPVP修飾金ナノスターの表面プラズモン共鳴 (SPR) を活用し、熱の局在化と位置選択性を高めた技術を提案している。粒子濃度とフルエンスの最適化により、単発スポットおよび走査照射の双方において選択的な細胞致死の誘導を実現し、実質的に100%の細胞除去・剥離を達成している。従来のNIR連続波レーザーで問題となる広範囲加熱を回避し、位置選択的な細胞処理が必須となる光治療への適用の可能性を示している。

第三の光吸収体のコスト低減の課題に対しては、金ナノ粒子の代替として、プルシアンブルーの高い光熱変換効率に着目し、ナノクラスター化による表面積増大によるレーザー光吸収効率の向上と、合成プロセスの簡素化による低コスト化を実現している。その結果、最大63%の分子導入効率を達成し、金ナノ粒子と比較して高効率かつ低コストでの細胞膜穿孔技術を実現している。さらに、本提案技術を細胞パターンニングにも応用し、最小100 μm のラインアンドスペースでの細胞パターンニングを実証しており、細胞への分子導入から細胞除去までの一貫したプロセスを実行可能な低コストかつ高性能な統合型細胞処理システムを開発している。

本論文において、レーザー衝撃波援用細胞膜穿孔技術における定量的な知見は学術的に価値があり、さらに、単一プラットフォームにおいて、細胞内デリバリーから細胞パターンニングに至る統合的な処理が実現できる。このことは、細胞療法、再生医療、がん治療分野における実用的基盤技術を提供するものであり社会的にも意義がある。以上、本論文は博士 (工学) の学位論文として十分な価値を有するものと判断される。