

※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

がんは主要な死因であり、特に骨肉腫は高い悪性度と薬剤耐性により治療が困難な疾患である。腫瘍微小環境における低酸素状態では、特定のたんぱく質が過剰に発現し薬剤が細胞内から排出され、化学療法の効果을阻害する。個別化医療においては、がん細胞のみを死滅させるための最小有効薬物濃度の正確な決定が治療成功の鍵となる。本論文は、骨肉腫細胞での有効薬物濃度を効率的に評価するために、シリコン樹脂 (PDMS) 製の SlipChip マイクロ流体プラットフォームを開発し、生理学的腫瘍微小環境の再現と系統的薬物評価を統合したシステムの構築を目的としている。

第1章では、がんの現状と個別化医療の重要性を概説し、マイクロ流体技術の利点と SlipChip デバイスの基礎原理を解説した上で、本研究の目的を示している。第2章では、マイクロウェルで低酸素環境を模倣するために、低酸素バッグと PDMS 流路を組み合わせた簡便な手法により、生理学的腫瘍微小環境を再現している。ヒト骨肉腫細胞株 (SAOS-2) を用いた細胞培養実験から、PDMS チップが有するガス透過性により、低酸素状態を実現し、細胞に効果的なストレス状態を与えている。第3章では、従来の高粘度シリコンオイルによるマイクロ流路の閉塞問題に対し、低粘度シリコンオイルの採用と PDMS 硬化条件の最適化により、高い細胞生存率を維持しつつ密封性を実現している。重ね合わせる2層の PDMS を異なる温度で硬化して、表面エネルギーとヤング率を最適に制御した SlipChip により、マイクロ流路の閉塞を回避し、高い密封性と操作性の向上を実現している。第4章では、SlipChip 専用の治具を作製し、精密な位置合わせを可能とし、従来の手動操作と比較して実験の再現性を向上させている。また、マイクロウェル内の気泡形成の問題に対し、PDMS の多孔性を利用して予めオイルを湿潤させて、PDMS 界面の遊離オイルの残留を排除し、密封性を実現している。さらに幅比 ($WR = \text{ウェル幅} / \text{流路幅}$) の最適化により気泡形成を最小化し、安定した流路内の濃度勾配形成を実現している。第5章では、開発した SlipChip ベースの細胞培養システムを用いて、アスコルビン酸の骨肉腫細胞増殖に対する影響を評価している。細胞培養環境を適切に再現した上で、アスコルビン酸による細胞死誘導効果を実証し、薬物応答評価プラットフォームとしての有用性を示している。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

本論文では、骨肉腫細胞の薬物有効濃度 (MEC) を迅速かつ正確に決定するスクリーニング手法として、ガス透過性を有する PDMS を素材とした SlipChip デバイスの実現に向けて、材料物性とスライド機構を最適化し、従来の課題である液漏れと気泡の発生を抑制し、デバイスの位置決め精度の向上を実現している。

密封性の課題については、PDMS の架橋密度が表面自由エネルギーと層間ファンデルワールス力を規定する原理に基づき、上下層の硬化温度を最適化して「接着力 (密封)」と「剛性 (滑り)」のトレードオフを克服している。その結果、約 60kPa の耐圧性能を有する高い密封性を維持し、かつ滑り操作時の安定性の向上が図られ、液漏れを抑制することに成功している。潤滑性の課題については、低粘度シリコンオイルの極薄膜層をスピコートで均一に塗布する方法、ならびに高粘度オイルを PDMS の多孔性を利用して内部保持させ表面残渣を除去する方法を確立し、マイクロ流路の閉塞の根因を除去して繰り返し運用時の信頼性を大幅に改善している。

気泡の混入を抑制する方法として、マイクロウェルとマイクロ流路の幅比 WR を設計指標とし、マイクロ流路からマイクロウェルへの拡張部における流速を低減させることで界面近傍の流体せん断力を緩和させる設計指針を提案している。その結果、気泡の付着や合一が抑制され、 WR を 5 に最適化した条件下では気泡数を従来比で約 60% 低減し、濃度勾配の再現性を向上させている。加えて、3D プリント磁気アライナとマイクロゲージを組み合わせた SlipChip 専用治具を開発することで、高精度な位置決め制御を可能とし、技能依存の位置ずれを技術的に解消している。

生物学的な観点からは、PDMS の生体適合性とガス透過性により約 95% の高い細胞生存率を維持し、毒性を増大させることなくマイクロ流体系へ移行が可能であることを実証している。低酸素モデルでは細胞密度が 30 cells/mm^2 まで低下するなどストレス状態を再現でき、また、アスコルビン酸による細胞死誘導効果は従来環境とほぼ同等であり、薬理応答の忠実性を示している。

本論文は、濃度勾配の安定生成と細胞応答の精密測定を両立した評価プラットフォームを提供するものであり、学術的に有用な成果である。また、腫瘍関連生理条件下での MEC 決定に必要な実験信頼性を実用水準へ引き上げ、個別化骨肉腫治療の前臨床評価基盤を確立しており、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。