

博士論文審査報告書

論文題目

ハイドロゲルを加工するための
マイクロ加工技術に関する研究

Study on Microfabrication Technologies
for Processing Hydrogels

申請者

田中 龍一郎

Ryu-ichiro TANAKA

総合機械工学専攻 マイクロ・ナノ工学研究

2021年2月

(1) 審査経緯

当該博士論文審査は、以下の通り実施された。

- ・ 2020年11月5日 予備審査会
- ・ 2020年11月19日 教室受理決定
- ・ 2020年12月17日 創造理工学研究科運営委員会受理決定
- ・ 2020年12月22日 博士論文審査 第1回目
- ・ 2021年1月13日 博士論文審査 第2回目
- ・ 2021年1月28日 公聴会
- ・ 2021年2月6日 審査分科会
- ・ 2021年2月25日 創造理工学研究科運営委員会合否判定

(2) 論文の背景、内容および評価

近年、国費を圧迫する医療費や、移植治療における臓器提供者不足など、医療分野の課題は様々あり、これらの解決は急務である。再生医療は慢性疾患や高齢化に伴う疾患等を根本治療することから、これらの課題を解決すると考えられており、研究開発が盛んである。特に細胞を疾患部に移植して治療を行う細胞治療法が特に着目され、国内でいくつかの再生医療製品が実用化されている。細胞治療法は生体外で人工生体組織を構築し、これを移植することで行われるが、細胞の成長足場となるハイドロゲルは、人工生体組織の構造を決定する。高い機能、すなわち高い治療効果を持った人工生体組織を作製するためには、細胞同士のコネクションの制御が重要であり、これを実現するためには、ハイドロゲルの構造をマイクロオーダーで設計し、加工する必要がある。そこで本論文では、ディスペンシング法、静電インクジェット法、放電加工法を応用し、人工生体組織の構築に応用可能なハイドロゲルのマイクロ加工技術の開発を目的としている。

人工生体組織を構築する上で、細胞の栄養素の供給、老廃物の除去を行う血管構造は重要である。本論文ではディスペンシング法を用いて、血管構造を有する立体組織を構築するためのハイドロゲルのプリント方法を開発している。また、開発した手法を用いて積層化細胞シートへ血管構造の作製を行っている。最初に血管内皮細胞を有する血管様構造を作製するために、アルギン酸-フィブリンゲルを用いて、積層化細胞シート内に直径 200~500 μm の血管様構造の作製可能になった。また、これを培養したところ毛細血管網が構築されることを確認し、本手法によって大小様々な血管構造が作製できることを実証している。次に、培養液を灌流可能な血管構造を作製するために、RGD 修飾アルギン酸ゲルを用いて、積層化細胞シートの中に管腔構造を作製している。この手法によって、直径 200~500 μm の管腔構造を作製可能になった。また灌流デバイスによって、作製した管腔構造に培養液が灌流できる

ことを実証している。先行研究において、人工生体組織内に直径 50 μm 以下の毛細血管網が作製できることが報告されているが、直径 200~1000 μm の血管構造は作製困難であった。本手法によって、大小様々な血管構造を有する人工生体組織の構築に応用可能である。

細胞の成長足場となるハイドロゲルは、ゲル化前の状態では高粘性の液体が多いが、これを高分解能でプリントが困難である。そこで本論文では、静電インクジェット法を用いて、ジェランガムゲル、ゼラチンゲル、アルギン酸ゲルのプリント特性の調査を行っている。ジェランガムゲルは平衡塩溶液中、ゼラチンゲルは温度制御されたステンレス板上、アルギン酸ゲルは塩化カルシウムが含まれたゼラチンゲル上へプリント特性を調査している。それぞれ最小のプリント分解能は、ジェランガムゲルは 450 μm 、ゼラチンゲルは 100 μm 、アルギン酸ゲルは 70 μm であった。ジェランガムゲルは溶液中にプリントされたため、高い分解能でプリントすることは困難であった。ゼラチンゲル、アルギン酸ゲルの場合は、先行研究に比べ、高い分解能でプリントされた。また、プリントされたアルギン酸ゲルを用いて細胞の接着の制御が可能であることを実証している。以上から、静電インクジェット法が細胞やハイドロゲルを精密に配置可能な加工技術として有用である。

ハイドロゲルは柔らかい素材であるため、これまでの技術では切削加工は困難であった。本論文では、放電加工法を用いて、ゼラチンゲルを対象に加工特性の把握を行なっている。加工電極としてマイクロチタンワイヤを用いて加工し、加工される溝の幅、深さからその特性を把握している。放電加工位によって加工されたゼラチンゲルは、滑らかな加工面が得られる一方、最小の加工溝の幅は 800 μm 以上であった。そこで、加工分解能を向上させるために、加工油を用いて加工を行ったところ、数 μm の加工分解能が得られることを確認している。この分解能は、細胞の大きさに対して十分である。また、赤外分光光度計によって加工されたゼラチンゲルの特性を調査したところ、加工前後では、タンパクの二次構造の変化は見られなかった。先行研究において、ハイドロゲルの溝加工にはフォトリソグラフィによって加工された PDMS 型を用いた方法があるが、必要に応じて型を作製する必要がある。これに対して、放電加工を用いた方法は、テーラーメイドに対応することが可能である。また、放電加工による溝加工は、フォトリソグラフィと同等の加工分解能である。以上より、放電加工を応用したにハイドロゲルの加工は、マイクロオーダーで行うことが可能であり、精密な構造を持つ細胞の成長足場の作製に応用可能である。

以上を要するに、本論文は人工生体組織の構築に貢献するハイドロゲルのマイクロ加工方法の開発を実施したものであり、工学的に有用な知見が得られている。従って、博士(工学)として価値のある論文であることをここに認める。

2021年 2月

審査員

(主査)早稲田大学教授 博士(工学) 早稲田大学 梅津 信二郎

(副査)早稲田大学教授 博士(工学) 早稲田大学 宮下 朋之

(副査)早稲田大学教授 博士(工学) 早稲田大学 岩崎 清隆

(副査)早稲田大学准教授 博士(工学) 早稲田大学 坂口 勝久