

論文内容の要旨

博士論文題目：

フェムト秒レーザー細胞操作技術の細胞機能に基づく評価の研究

氏 名： 前澤 安代

(論文内容の要旨)

近赤外フェムト秒レーザーを水溶液中に集光すると、集光点で爆発現象が引き起こされ、数十 μm の領域に局在する衝撃力が近傍の微小物体に作用する。この現象は非熱的に引き起こされ且つ細胞に直接照射する必要が無いため、培養基板に接着した動物細胞を生存したまま 1 細胞レベルで基板より剥離、操作できる。このフェムト秒レーザー誘起衝撃力による細胞操作を駆使することにより、従来法では難しかった複数種類の細胞を培養液中で操作して基板に配列することが可能となる。配列した細胞において組織機能の一部が再現できれば、新しい細胞評価手法が実現し、更には薬剤刺激の評価・分析する細胞チップの要素技術となりえる。本論文では、フェムト秒レーザーが引き起こす爆発現象が衝撃力として細胞に与える作用について、分化、増殖、遊走、死という細胞の基本機能に基づき多角的に評価し、フェムト秒レーザー細胞操作後もこれらの機能が保持されることを統合的に実証し、その結果についてまとめた。

第 1 章では本研究の背景、目的、意義を述べた。第 2 章では、分化機能に着目し、分化状態により形状が変化する PC12 細胞を用いて、本操作において分化機能が損なわれず、操作前後で分化状態が保たれていることを実証した。第 3 章では、剥離過程を蛍光イメージング手法にて調べ、本操作で剥離された細胞の表面が細胞外基質によって覆われていることを明らかにし、そのために PC12 細胞の分化状態が保持されているものと考察した。第 4 章では、細胞の遊走機能に着目し、ヒトメラノサイトのケラチノサイトへの遊走現象を、細胞位置を制御した基板上で再現した。本操作後も細胞の指向的遊走機能が保持されていることを意味している。第 5 章では、各章の結果、さらには本細胞操作において細胞の増殖機能が保持されることを示した先行研究を含めて考察し、フェムト秒レーザー細胞操作技術の今後の展開と合わせて総括した。

(論文審査結果の要旨)

近赤外フェムト秒レーザーを水溶液中に集光したときに生じる現象を応用し、培養基板に接着した動物細胞を生存したまま 1 細胞レベルで基板より剥離、操作する技術の開発が行われている。このフェムト秒レーザー誘起衝撃力による細胞操作を駆使することにより、従来法では難しかった複数種類の細胞を培養液中で操作して基板に配列することが可能となる。配列した細胞において組織機能の一部が再現できれば、新しい細胞評価手法が実現し、更には薬剤刺激の評価・分析する細胞チップの要素技術となりえる。本論文では、フェムト秒レーザーが引き起こす爆発現象が衝撃力として細胞に与える作用について、分化、増殖、遊走、死という細胞の基本機能に基づき多角的に評価し、フェムト秒レーザー細胞操作後もこれらの機能が保持されることを統合的に実証した成果についてまとめられている。

分化機能の評価では、分化状態により形状が変化する PC12 細胞を用いて、本操作において分化機能が損なわれず、操作前後で分化状態が保たれていることが初めて実証されている。次に剥離過程を蛍光イメージング手法にて調べ、本操作で剥離された細胞の表面が細胞外基質によって覆われていることが明らかにされ、そのために PC12 細胞の分化状態が保持されているものと考察されている。さらに細胞の遊走機能の評価では、ヒトメラノサイトのケラチノサイトへの遊走現象を、細胞位置を制御した基板上で再現し、本操作により配置した細胞の指向的遊走機能が保持されていることが証明されている。

以上のように本論文では、フェムト秒レーザー細胞剥離操作を細胞の基本機能である分化・遊走・死について評価を行い、これらの機能が保持されることが統合的に示されている。本細胞操作技術は、新規性の高い細胞操作手法として注目されていたが、その衝撃力が細胞に与える作用についての研究は少なかった。本研究によって、フェムト秒レーザー細胞操作手法が、細胞機能の面から評価出来たことにより、生命科学関連分野において有用な技術として発展する道筋を築いている。よって、審査員一同は本論文が博士（工学）の学位論文として価値あるものと認めた。