

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 傳 曉 廷

「SPG 膜乳化法を用いたマイクロサイズのパーフルオロカーボン酸素運搬体の開発」と題した本博士論文は、シラス多孔ガラス (SPG) 膜乳化法を用いた再生医療・組織工学用途のマイクロサイズのパーフルオロカーボン (PFC) 酸素運搬体を開発したものである。ミリメートルあるいはセンチメートルサイズ以上の組織を体外の灌流培養で育成することを想定した場合、赤血球の機能を代替する人工酸素運搬体および酸素運搬体が通過する流路が必要不可欠になることは、細胞による酸素消費と供給の物質収支から明らかであるが、現状では優れた酸素運搬体が存在しない。現在、酸素運搬体として、ヘモグロビン型酸素運搬体と、PFC 型酸素運搬体が期待されているが、本研究では、原料供給安定性、滅菌性、保存安定性、コストなどの観点で優れた PFC 型酸素運搬体に着目した。既存の PFC 型酸素運搬体は、ほぼすべてがナノエマルジョンサイズであり、流動状況における分散安定性や生体適合性に十分な性能を有しない。一方でマイクロサイズのエマルジョンやコアシェル粒子はほとんど研究がなされてこなかった。そこでヒトの赤血球と、サイズ・形状・変形柔軟性が類似した新しい PFC 型酸素運搬体を開発することを試みた。本論文は、以下の 5 つの章で構成されている。

第 1 章では、序論として、本研究の背景と目的を述べている。再生医療や組織工学における十分な酸素供給の必要性和酸素運搬体の必要性を示している。ヘモグロビン型酸素運搬体として、重合やコンジュゲイションなどの化学修飾、カプセル化などの既往の研究と限界をまとめている。次に、PFC の特性や、今まで研究されてきた PFC 型酸素運搬体の特性や限界をまとめている。さらに、ナノサイズの PFC 型酸素運搬体の安全性や細胞への影響を議論し、マイクロサイズの酸素運搬体の潜在的な利点を議論している。さらに近年報告されてきたマイクロサイズ酸素運搬体の既往の研究の現状をまとめ、本研究の独創性を明確にしている。最後に、SPG 膜乳化法の利点、あるいは SPG 膜乳化法を用いた既往の粒子作成に関する研究についてまとめ、本研究を実現する上で有用であることを示唆している。以上の既往の研究の総括を踏まえ、本論文がマイクロサイズを持ち、柔軟変形性を兼ね備えた新しいマイクロサイズの PFC 型酸素運搬体

の開発を目的とすることを述べている。

第2章では、SPG膜乳化によるマイクロサイズのPFCエマルジョンの開発について述べている。膜の孔径、界面活性剤の種類、濃度などの複数の実験条件を系統的に検討することで、シングルマイクロメートルオーダーで精密サイズ制御が可能であることを示している。また得られたエマルジョンは、オートクレーブ滅菌後にもサイズ分布を維持し、さらにルテニウム錯体系の酸素プローブを吸着により容易に搭載することが可能で、酸素運搬と酸素濃度センシングを同時に可能とすることも示している。最後に低酸素環境でGFPを発現するHeLa細胞株を用いて、細胞への酸素供給性能を実証している。

第3章では、第2章で開発したエマルジョンの毛細血管並みの微細流路中における不安定性について述べ、PFCエマルジョンに代わって、PFCを内包したフルオロカーボン内包コアシェル酸素運搬体(FCs)が有効であることを述べている。さらにFCsの作成方法として、SPG膜乳化法と溶媒蒸発誘起相分離を使用して、FCsの開発に成功していることを報告している。シェルの素材として、柔軟性に富むポリカプロラクトン・ポリ乳酸共重合体を用いた変形性パーフルオロカーボン内包コアシェル酸素運搬体(DFCs)と、比較的硬いポリ乳酸・グリコール酸共重合体を用いたFCsの二種類を作成することにも成功している。さらにFCsとDFCsを用いて、粒子圧縮試験、および毛細血管モデルとなるマイクロチャネル透過試験を行って、DFCsがFCsに比べて、優れた柔軟変形性と流路通過性を持つことを述べている。

第4章では、ヒトの赤血球の形状や優れた変形性についてまとめるとともに、第3章で開発したDFCsを基盤にして、ヒトの赤血球と類似の形状と変形性を持つ、さらに優れた酸素運搬体であるコンケイブDFCs(cDFCs)を提案している。実際に、イソプロパノールによる溶媒誘起形状変化法により、cDFCsの開発に成功していることを述べている。形状を電子顕微鏡や共焦点顕微鏡で詳細に解析するとともに、その力学物性を粒子圧縮試験や原子間力顕微鏡によって詳細に解析し、cDFCsが架橋した赤血球よりも変形しやすく、はるかに低いヤング率を持つことを認めている。さらにマイクロチャネル透過試験によって、cDFCsがDFCsよりも微細流路通過特性がさらに改善され、ヒト赤血球の流路通過性に性能が迫ってきていることを述べている。

第5章では、第2章から第4章の内容と意義を総括し、研究の成果の限界と今後の発展の方向性も議論している。

以上要するに、SPG膜乳化法を用いて、新規なマイクロサイズのパーフルオロカーボン酸素運搬体の開発に成功し、優れた性能を示すことにも成功しており、本研究はバイオエンジニアリングの発展に大きく貢献するものであると考えられる。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。