



能となりつつある。このように三次元培養法はがんの特性を維持しながら *in vitro* で薬効評価試験などを行うことができるモデルとしてその有効性が期待されている。その一方で、モデル構築においてはその培養手技の影響を受けやすく、同じ実験者、実験手技を用いて培養を行った場合であっても、同一の形状、サイズのモデルを構築することは難しく、その品質は実験者の目視による主観によって判断されてきた。しかし目視による判断は、定量的な評価が難しいために記録性がなく、再現性をとることが難しい。よって非侵襲的かつ定量的に三次元培養細胞モデルの評価が可能な技術が求められている。

2つ目はがん細胞のヘテロ性解明に向けた新指標としての研究応用である。がん細胞ヘテロ性評価を行う為には、腫瘍内にどのような性質の細胞が存在するのか評価する必要がある。従来法としてはレーザーマイクロダイセクション法による腫瘍内の任意の部位の採取を行う手法や、マーカータンパク質を用いた細胞の分類を行う手法があげられる。しかし、いずれの手法においても、生きたまま細胞を評価することは難しく、目印となるマーカーが未知な細胞は分類できないという問題点があった。これまでの研究から、ゲル培養または浮遊培養された細胞凝集塊は細胞種や遺伝的性質によって異なる凝集形態を示すことが報告されている。このことから、三次元培養法は多様な細胞種を検出するツールとしても期待されている。しかし、これまでに凝集形態の違いを定量的に評価できる手法はなく、実験者の主観にゆだねられていた。また、特徴的な形態の細胞凝集塊を検出できたとしても従来の培養環境下では個々に評価するための回収が難しく、生きたまま定量的に細胞を分類し、回収・評価可能なシステムの開発が求められている。

以上の背景から、本論文ではがん創薬における三次元培養細胞モデルの応用およびヘテロ性解明に向けた細胞凝集塊の非侵襲的定量評価手法の実現を目指し、従来では実験者の感覚的に判断されてきた細胞凝集塊の形態評価を、画像解析技術とバイオインフォマティクス解析技術との融合（画像情報解析）によって定量化・効率化し、細胞評価における新しいがん細胞凝集塊の評価技術の一つとして開発することを目指した。また、がんヘテロ性解明を目指し、画像情報解析技術と工学分野のロボティクスを用いた細胞クローニング技術とを組み合わせた技術プラットフォームの開発を目指した。本研究では、従来では二次元培養細胞の評価に用いられてきた画像情報解析をゲル培養・浮遊培養双方の培養法において得られた細胞凝集塊の評価に用いるための技術開発を行った。また、形態情報による品質評価の妥当性を目指し示すため、がん細胞の性質をその形態から分類可能であるかについても検証した。

本論文は、がん細胞のヘテロ性と、三次元培養細胞を用いた創薬における問題点、技術的課題について序章として議論し（第一章）、画像情報解析による細胞評価のための基礎条件の検討（第二章）、細胞形態情報を用いたがんモデルの評価についての

検証（第三章）、がん細胞ヘテロ性理解のためのがん細胞自動選別回収装置の開発（第四章）、今後のがん治療・診断・研究における三次元培養細胞評価技術としての形態評価法の可能性と課題（第五章）の全5章で構成されている。

以下に各章の具体的な内容を述べる。

第一章では、がん治療におけるヘテロ性解明の重要性と、評価手法の課題、三次元培養細胞を用いた腫瘍モデルの課題、および画像情報解析の概要と可能性について序章として議論した。

第二章では、画像情報解析技術を三次元培養細胞凝集塊に応用するための技術的課題について検証した。具体的には、撮影時の焦点位置、培養容器、培養期間、播種細胞数、撮影期間、撮影倍率、形態評価指標についてである。その結果、従来の二次元培養下の細胞の形態評価においては培養器底面に合わせていた焦点位置が、ゲル培養時にはゲル表面の凹凸によりずれが生じることが判明し、ゲルを均一にコーティング可能な培養容器を開発した。その他の検証条件についても、形態評価に及ぼす影響を評価した。

第三章では、最適化された培養条件下において細胞画像情報解析の有効性についてより深く検証するため、培養法・由来の異なる腫瘍由来がんモデル細胞株を用いて形態情報により同一細胞種モデルの検出および株の違いを評価・分類できるか検証した。

第四章では、三次元培養細胞と画像情報解析による評価法の応用法の一つとして、がんのヘテロ性解明を加速するためのテクノロジーとして光分解性ゲルを用いたクローニング技術と画像情報解析技術を組み合わせた技術プラットフォームの開発を行った事例を紹介する。

第五章では、本論文を通じて構築された三次元培養細胞評価のための画像情報解析の有効性と課題について考察し、今後のがん創薬やヘテロ性解明への応用に向けた画像情報解析による評価法の可能性について総括した。

本研究では、三次元培養細胞モデルの構築及びヘテロ性評価法における三次元培養細胞塊の定量的な形態評価法の有効性について情報解析的理論構築および実証検証を行い、非破壊的かつ効率的な評価のための基盤技術の確立に成功したと言える。また細胞培養技術(生物学)と画像情報解析(情報学)、ロボティクス技術(工学)と異分野を組み合わせることで、がんヘテロ性を解明する新しい基盤技術を構築することが出来たと考えている。本論文ががん創薬を中心として、がん研究や精密医療におけるがん診断などに向けた有用なテクノロジーとなることを期待している。