

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 13167 号
------	---------------

氏 名 Anas Bin Mohd Noor

論文題目

Microfluidic Devices for Capturing, Imaging and Counting White Blood Cells
(ヒト白血球の捕捉, 検出, 計数のためのマイクロ流体デバイス)

論文審査担当者

主査	名古屋大学	教授	新井 史人
委員	名古屋大学	教授	福澤 健二
委員	名古屋大学	准教授	前田 英次郎
委員	名古屋大学	准教授	丸山 央峰

論文審査の結果の要旨

Anas Bin Mohd Noor君が提出した論文「Microfluidic Devices for Capturing, Imaging and Counting White Blood Cells (ヒト白血球の捕捉, 検出, 計数のためのマイクロ流体デバイス)」は、血液検査で多く実施されている白血球分画(主にT細胞, B細胞)に対して、マイクロ流体デバイスを用いた血液細胞分離システムによって、T細胞・B細胞を捕捉し、検出し、計数を行う手法について述べており、デバイスのデザインと計数の精度を実験的に明らかにしている。また、細胞が捕捉される分布情報を調べている。各章の概要は以下の通りである。

第1章では、本研究の背景を述べている。ヒトの全血からの細胞分離および計数の重要性を説明している。細胞の分離と計数のための従来手法の原理と課題を説明し、マイクロ流体デバイスを用いた細胞の分離と計数方法を説明している。マイクロ流体デバイスは、従来手法の代替と期待されているが、その実現に向けて、細胞の目詰まりなどの課題を述べ、本研究の目的と論文の概要を説明している。

第2章では、高効率の細胞分離を目的とした方法を紹介している。マイクロ流体デバイスでの目詰まりを解消するために、流路パターン構造のデザインを工夫する方法を提案している。具体的には、流路パターンにエスケープルートを使用することで目詰まりを抑制するものである。これにより、追加のポンプや流体制御システムを必要とせず、デバイスの目詰まりを大幅に改善できることを提案している。エスケープルートを搭載したマイクロ流体デバイスの予備実験の結果、マイクロ流体デバイス上で細胞の詰まりが発生しないことを確認している。

第3章では、イメージングシステムについて説明している。蛍光標識された細胞の蛍光画像を計測するためにイメージングシステムが必要である。ここで用いている直接免疫蛍光染色方法は、間接的な染色方法よりも染色時間が短く、安価であることを特徴としているが、蛍光強度が低いという問題がある。また、蛍光計測において、細胞表面でのタンパク質発現が細胞ごとに異なるため、光強度のバラつきが細胞検出精度に影響を与える。したがって、光学フィルター、光源、検出器などのコンポーネントの選択が重要である。ここでは、これらの問題を解決し、細胞を正確に検出するために必要となる方式が具体的に示されている。

第4章では、作製したマイクロ流体デバイスを使用して、サイズと変形能に基づく細胞分離結果を示している。細胞の機械的特性として、流体圧による細胞の変形能が、マイクロフィルターで捕捉された細胞の空間分布に基づいて評価されている。白血球のサイズは、7~35 μm といわれているが、白血球の変形能力は種類ごとに異なることが知られている。実験では、ほとんどのT細胞およびB細胞が、ギャップサイズ4~8 μm の場所で捕捉された。これらの細胞の捕捉率が最も高かったのは、ギャップサイズ6 μm の場所であった。これは、リンパ球がそのサイズよりも小さなフィルターギャップを通過していることを示している。白血球の分離実験において、白血球の捕捉率は99.8%を示し、本マイクロ流体デバイスがヒト末梢血1 μL から効率よく白血球を分離できることを確認している。

第5章では、作製したマイクロ流体デバイスを使用して、白血球集団におけるT細胞およびB細胞の計数結果を、既存のフローサイトメーターによる結果と比較している。ヒト疾患のモニタリングにおいて、T細胞やB細胞の細胞数の計数は重要である。例えば、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)はT細胞に直接感染して損傷し、HIV感染者のT細胞の数が時間とともに減少する。本章では、マイクロ流体デバイスとフローサイトメーターを用いたそれぞれ2つの方法による分離結果を比較した結果、強い相関関係($r = 0.987$)を確認している。このように、提案したマイクロ流体デバイスを用いる方法は、従来方法と同等の性能を持つことから、小型化や携帯性の点において、将来有用な技術に発展することが示唆されている。

第6章では、本論文の結論および今後の展望を述べている。

以上のように、本論文では、血液検査のための白血球分画として、マイクロ流体デバイスを用いた血液細胞分離システムによって、主にT細胞およびB細胞の検出方法を明らかにしている。これらの評価方法並びに得られた結果から、血液細胞分離システムを用いることによって、微量(1 μL)の全血から、溶血処理なしで、T細胞およびB細胞を計数できることを示している。これは血液検査などの医療検査機器の分野において、今後広く応用が期待され、工学の発展に寄与するところが大きいと判断できる。よって、本論文の提出者であるAnas Bin Mohd Noor君は博士(工学)の学位を受けるに十分な資格があると判断した。