

国士舘大学審査学位論文

「博士学位請求論文の内容の要旨及び審査結果の要旨」

「細胞処理作業における
培地交換プロセスの効率化に関する研究」

野々山 良介

氏名 野々山 良介
学位の種類 博士(工学)
報告番号 乙第58号
学位授与年月日 令和5年3月20日
学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当
学位論文題目 細胞処理作業における培地交換プロセスの効率化に関する研究
論文審査委員 (主任審査員) 教授 神野 誠
(審査員) 教授 本田 康裕
(審査員) 准教授 堀井 宏祐
(学外審査員) 特任研究員 松日楽 信人 (東京大学)

博士論文の要旨

題目 細胞処理作業における培地交換プロセスの効率化に関する研究

氏名 野々山 良介

学位論文要旨

2023年3月
野々山 良介

論文題目

細胞処理作業における培地交換プロセスの効率化に関する研究

論文要旨

再生医療分野では、損傷した組織等に種々の細胞を移植することで損なわれた機能を修復しようとする試みが行われている。これらの細胞は、細胞培養施設と呼ばれるクリーンルームにおいて専門の知識を有する作業員による手作業で製造されており、製造にかかる費用や労力は大きく、その効率化が望まれている。近年、これらの細胞の培養に関する作業をロボットにより行う自動培養装置や、細胞培養の自動化に関する技術が提案されている。しかしながら、全ての作業を自動化した場合、装置の構成が複雑になり、汎用性や拡張性などフレキシビリティに欠けるうえ、装置のコストが高くなるなどの問題がある。本研究では、ロボットが得意な作業と人が得意な作業を組み合わせることで、単純な構成でかつ合理的な細胞処理システムの実現を目指すことを目的とした。

最初に、細胞処理作業を構成する全ての作業を抽出し、作業員とロボットの分担を検討した。一般的な細胞処理作業では、細胞増殖に必要な成分を維持するために、数日ごとに培養液の交換を繰り返す必要がある。無菌環境下での大量培養では、この培地交換に要する時間が生産管理面での重要要素となる。そのため、培地交換を効率的に行うことが、作業全体の効率化に繋がると言える。継代は培地交換の次に実施頻度が高いが、作業員が細胞を観察しながら行う必要があるため、作業員の分担とすることとした。培地交換プロセスは、フラスコ内の培養液を排出し、新たな培養液をフラスコ内に注入する一連の作業であり、フラスコ把持・キャップ取外し・廃液作業・キャップ取付けから成る廃液プロセス、フラスコ把持・キャップ取外し・注液作業・キャップ取付けから成る注液プロセス、フラスコ搬入・搬出・移送から構成されている。そのなかで、安全キャビネット内で完結する作業であり、所要時間が培地交換プロセス全体の大部分を占めている廃液作業と注液作業を、ロボットの分担に決定した。作業員の手ブレなどにより液だれが発生した場合、コンタミネーションが起きないように、こぼれた培養液をしっかりと拭き取らなければならないが、作業員がどれだけ慎重に作業しても液だれを完全に防ぐことは不可能で、さらに、慎重になればなるほど作業時間は長くなる。それに対して、ロボットを使用した廃液作業と注液作業では、液だれ防止と作業時間短縮が可能と考えた。

次に、ロボットによる廃液作業の効率化手法を検討した。実際の培地交換プロセスにおいて細胞処理作業従事者がフラスコ内の培養液 75 g を排出する様子を分析し、廃液作業を排

出動作・滴下動作・退避動作の3つの動作に分解した。ロボットによる排出動作は、フラスコの排出口の排出側端部をTCPとし、TCPを回転中心とした姿勢変化のみの軌道により実現できる。ロボットはブレの無い軌道での誘導が可能のため、作業員より短時間での滴下動作が可能となる。フラスコを退避する際、作業員は元の方向にしか退避できないが、ロボットは作業員では不可能な方向にも退避可能なため、次工程への速やかな移行や液だれの防止に繋がる。作業員の排出動作を参考に、排出動作をさらに第1高速回転動作・低速回転動作・第2高速回転動作の3段階の動作に分け、それぞれの動作速度を3種類ずつ設定した。実験計画法の手法を適用することで最適な速度の組み合わせを決定した後、液だれが発生するパターンを考慮して動作速度や滴下時間の調整を行った。その結果、ロボットによる廃液作業の条件として、第1高速回転動作を54 deg/s、低速回転動作を11 deg/s、第2高速回転動作を32 deg/s、滴下時間を0.5秒、退避速度を54 deg/sに決定した。その条件で検証実験を行うことにより、ロボットによる廃液作業は作業員より4.7秒短い時間で行うことができ、液だれによる廃液ボトル外の汚染を防止できることを確認した。

続いて、ロボットによる注液作業の効率化手法を検討した。実際の注液作業において細胞処理作業従事者は、電動ピペットを用いて注液ボトル内の培養液75gを吸引後、フラスコ内に注液する作業を行っている。作業員と同じように、ピペットによる注液作業をロボットで再現しようとした場合、ピペット操作が複雑であることや、ピペット先端からの液だれリスクが高いという問題があるため、ロボットの先端に注液ボトルを取り付け、注液ボトルから直接注入する方法を採用することとした。吸気ポートと注液ポートを備えたキャップを開発することで、注液ボトルから一定流量の注液が可能となった。ロボットによる注液作業は、注液ポートの先端をTCPとし、TCPを回転中心とした姿勢変化のみの軌道により、注液開始動作・注液動作・注液終了動作の3段階に分けて行う。ロボットはブレの無い軌道での誘導が可能のため、作業員より短時間での注液が可能で、かつ液だれを防止できる。ロードセルによりフラスコ内に注液された培養液の重量をリアルタイムで測定し、注液終了動作開始の指令を出してから最終注液量に到達するまでの時間(ΔT)に注液される量(X)を事前に予測して注液停止タイミングを決定することで、作業員よりも高い精度で注液できるアルゴリズムを開発した。作業員より精度が高だけでなく流量の変化にも対応できたが、注液を繰り返すと注液ボトル内の残量が減少し、注液終了動作中の注液量が減少することから、最終的な注液量が減少するという現象が発生した。そこで、さらなる注液精度向上のため、注液量の y 切片と目標注液量による補正を追加した。また、補正を含めた注液アルゴリズムと同等の機能を持つ別の方法として、機械学習の線形回帰を用いた注液アルゴリズムを考案した。注液量の傾き(=流量)、注液量の y 切片、目標注液量の三つを線形回帰の特徴量とし、そこから注液終了動作開始注液量を予測した。モデル構築にはPythonの機械学習ライブラリであるscikit-learnを用いた。目標注液量が固定の場合は、注液するたびに機械学習のパラメータを自動で再計算するオートチューニングも使用可能であった。 ΔT と X を用いた注液アルゴリズムと機械学習を用いた注液アルゴリズムを使用して検証実験を

行った結果、ロボットによる注液作業は作業者より効率的に行うことができ、かつ液だれによるフラスコ外の汚染を防止できることを確認した。手作業の場合の注液プロセスの所要時間は1フラスコ当たり約40秒であったが、ロボットを用いた場合の注液作業の所要時間は1フラスコ当たり約15秒であった。注液ボトルから直接注入する手法では、ピペットによる吸引作業が不要となる。ロボットによる作業と手作業を組み合わせた場合、キャップ脱着を手作業で行ったとしても、注液プロセスの所要時間を半分以下に短縮できると考えられる。手作業の場合は目標注液量75gに対する注液誤差が ± 1.5 g以内であったが、 ΔT と X を用いた注液アルゴリズムと機械学習を用いた注液アルゴリズムを使用した場合は目標注液量50g~150gに対する注液誤差が ± 1 g以内、オートチューニングを使用した場合は目標注液量75gに対する注液誤差が ± 1 g以内となり、全ての注液アルゴリズムで注液精度を向上させることができた。

最後に、作業者と協働して培地交換を実施できる培養補助ロボットとして、廃液作業の効率化手法を適用した廃液装置と、注液作業の効率化手法を適用した注液装置を、安全キャビネット内に設置可能となるように開発した。どちらの装置も可搬性が高く、安全キャビネットへの搬入・搬出は容易に行うことができた。廃液装置を使用した廃液時間の検証実験では、手作業と同等以下の時間で、かつ液だれなく廃液作業を行うことができた。注液装置を使用した注液精度の検証実験では、手作業より高精度で、かつ液だれなく注液作業を行うことができた。また、培地交換プロセスの作業分析を行い、培養補助ロボットを導入した場合に、ロボットの作業と手作業をどのように組み合わせれば効率的に作業できるのかを検討した。手作業の場合は、8フラスコの廃液プロセスと注液プロセスを1セットとし、培地交換プロセス全体で5セット繰り返していたが、培養補助ロボットを導入した場合は、1フラスコの廃液プロセスと注液プロセスを1セットとし、培地交換プロセス全体で40セット繰り返す手順が効率的と考えた。作業者が単独で培地交換を行う場合は廃液プロセスと注液プロセスを順次行う必要があったが、培養補助ロボットの導入により並行作業が可能となり、培地交換の所要時間を43分16秒から20分37秒(47.7%)に短縮することができた。

本研究で提案した細胞処理システムでは、培地交換プロセスの廃液作業と注液作業をロボットの分担とした。TCPを回転中心とした姿勢変化のみで廃液作業と注液作業を行う方法を考案したことで、どちらのロボットも1つのモーターのみで実現できた。それにより、両方のロボットを安全キャビネットに収めることが可能となり、手作業と組み合わせたシステム全体としても単純な構成にすることができた。本システムを導入することで、作業時間短縮による培養コストの削減や、液だれ防止によるコンタミネーションリスクの低減が期待できる。培養補助ロボットは手作業による細胞処理作業の一部を置き換えるものであるため、現時点で製造販売承認を受けている再生医療等製品の生産工程にそのまま導入可能となっている。

氏名 野々山 良介
学位の種類 博士(工学)
報告番号 乙第58号
学位授与年月日 令和5年3月20日
学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当
学位論文題目 細胞処理作業における培地交換プロセスの効率化に関する研究
論文審査委員 (主任審査員) 教授 神野 誠
(審査員) 教授 本田 康裕
(審査員) 准教授 堀井 宏祐
(学外審査員) 特任研究員 松日楽 信人(東京大学)

博士論文の審査結果の要旨

題目 細胞処理作業における培地交換プロセスの効率化に関する研究

氏名 野々山 良介

学位論文の審査結果の要旨

工学研究科 博士課程

専攻名	応用システム工学専攻	学籍番号		氏名	野々山 良介
-----	------------	------	--	----	--------

再生医療で使用される細胞は、製造にかかる費用や労力が大きく、その効率化が強く望まれている。再生医療等製品の本格的な事業化に合わせて、多くの企業や研究機関が自動培養装置の開発を進めているが、全工程を自動化した装置は汎用性や拡張性などフレキシビリティに欠けるうえ、コストが高くなるなどの課題がある。そのような背景のもと、本論文は、細胞処理作業における培地交換プロセスを効率化するために、ロボットが得意な作業と人が得意な作業を組み合わせることにより、単純な構成でかつ合理的な細胞処理システムを実現することを目的としている。培地交換プロセスのなかで特に作業者の感覚動作に頼っている廃液作業と注液作業をロボットによる効率化の対象とし、効率化手法の検討と提案、さらに、システムの試作と検証実験を実施し、その有用性を示した。本研究で構築した細胞処理システムを導入することで、作業時間短縮による培養コストの削減や、液だれ防止によるコンタミネーションリスクの低減が大きく期待できる。

以下に、本論文の各章の内容をまとめる。

第 1 章では、研究背景と既存の自動培養装置の課題を説明し、本研究の具体的なアプローチを示した。再生医療の領域では全自動の細胞培養装置の導入が困難であったため、ロボットによる作業と手作業を組み合わせた細胞処理システムの実現を目指すことを目的とした。

第 2 章では、細胞処理作業を構成する各作業を抽出し、作業者とロボットの分担を判断した。実施頻度が高く、かつロボットが得意な動作という観点から、培地交換プロセスの廃液作業と注液作業をロボットの分担とした。ロボットの特性をいかした作業方法により、液だれの防止と作業時間の半減を実現できると考えた。

第 3 章では、ロボットによる廃液作業の効率化手法を提案し、検証実験を実施した。作業者が行った廃液作業の分析を通じて、廃液作業を排出動作・滴下動作・退避動作の 3 つの動作に分解した。フラスコを退避する際、作業者は元の方向にしか退避できないが、ロボットは作業者では不可能な方向にも退避可能なため、液だれを防ぐことができると考えた。作業者の排出動作を参考に、排出動作をさらに第 1 高速回転動作・低速回転動作・第 2 高速回転動作の 3 段階に分け、それぞれの動作速度を 3 種類ずつ設定し、実験計画法により最適な速度の組み合わせを決定した。また、液だれが発生するパターンを考慮して、動作速度の調整を行った。その結果、第 1 高速回転動作を 54 deg/s、低速回転動作を 16 deg/s、第 2 高速回転動作を 43 deg/s、滴下時間を 0.5 秒、退避速度を 54 deg/s とした。決定した条件における検証実験では、ロボットは作業者より 4.7 秒短い時間で、液だれなく廃液作業を実施できることを確認した。

第 4 章では、ロボットによる注液作業の効率化手法を提案し、検証実験を実施した。吸気ポートと

注液ポートを備えたキャップを開発することで、注液ボトルから一定流量の注液を可能とした。ロードセルによりフラスコ内に注液された培養液の重量をリアルタイムで測定し、注液終了動作中に注液される培養液量を事前に予測して注液停止タイミングを決定することで、作業者よりも高い精度で注液できるアルゴリズムを開発した。作業者より精度が高いだけでなく流量の変化にも対応できたが、注液を繰り返すと注液ボトル内の残量が減少し、注液終了動作中の注液量が減少することから、最終的な注液量が減少するという現象が発生した。そこで、さらなる注液精度向上のため、注液量の y 切片と目標注液量による補正を追加した。また、補正を含めた注液アルゴリズムと同等の機能を持つ別の方法として、機械学習の線形回帰を用いる注液アルゴリズムを考案した。これらの注液アルゴリズムを用いて検証実験を行い、ロボットは作業者より効率的に、かつ液だれなく注液作業を実施できることを確認した。手作業の場合は目標注液量 75 g に対する注液誤差が ± 1.5 g 以内であったが、本研究で考案した注液アルゴリズムを用いた場合は目標注液量 50 g~150 g に対する注液誤差が ± 1 g 以内となり、注液精度を向上させることができた。

第 5 章では、人と協働して培地交換を実施できる培養補助ロボットとして、廃液作業の効率化手法を適用した廃液装置と注液作業の効率化手法を適用した注液装置を、安全キャビネット内に設置可能になるように開発した。培地交換プロセスの作業分析を行い、培養補助ロボットを導入した場合に、ロボットの作業と手作業をどのように組み合わせれば効率的に作業できるのかを検討した。廃液装置を使用した廃液時間の測定と、注液装置を使用した注液精度の測定を行ったところ、手作業と同等以上の結果が得られた。作業者が単独で培地交換を行う場合は廃液プロセスと注液プロセスを順次行う必要があったが、培養補助ロボットにより並行作業が可能となり、手作業の場合と比較して培地交換の所要時間を 47.7%に短縮することができた。

以上、細胞処理作業における培地交換プロセスを効率化するために、ロボットが得意な作業と人が得意な作業を組み合わせることにより、単純な構成でかつ合理的な細胞処理システムを実現した。本システムを導入することで、作業時間短縮による培養コストの削減や、液だれ防止によるコンタミネーションリスクの低減が期待できる。培養補助ロボットは手作業による細胞処理作業の一部を置き換えるものであるため、現時点で製造販売承認を受けている再生医療等製品の生産工程にそのまま導入可能なシステムである。さらなる波及効果として、今後、再生医療等製品の生産効率向上による治療コストの低下により、再生医療の普及が加速されることが期待できる。

以上

最終試験の審査結果の要旨

工学研究科 博士課程

専攻名	応用システム工学専攻	学籍番号		氏名	野々山 良介
-----	------------	------	--	----	--------

I. 本研究は、培地交換プロセスのなかで特に作業者の感覚動作に頼っている廃液作業と注液作業をロボットによる効率化の対象とし、効率化手法の検討と提案、さらに、システムの試作と検証実験を実施し、その有用性を示した。その内容は、新規性・独創性に優れ、工学的価値は極めて高い。さらなる波及効果として、今後、再生医療等製品の生産効率向上による治療コストの低下により、再生医療の普及が加速されることが期待できる。

II. 審査制度のある学術雑誌への掲載論文

1.	野々山良介, 神野誠, 鮫島正, 頼紘一郎 “細胞処理作業の効率化システムに関する研究 (システムコンセプトと培地交換プロセスにおけるロボットによる廃液作業の効率化)” 日本機械学会論文集, Vol.84, No.859, pp.1-13, 2018.
2.	野々山良介, 神野誠, 鮫島正, 頼紘一郎 “細胞処理作業の効率化システムに関する研究 (培地交換プロセスにおけるロボットによる注液作業の効率化)” 日本機械学会論文集, Vol.85, No.874, pp.1-13, 2019.
3.	野々山良介, 頼紘一郎, 杉浦圭一, 神野誠 “細胞処理作業の培地交換プロセスにおける培養補助ロボットの効果検証” 医療機器学, Vol.92, No.3, pp.263-271, 2022.

III. 提出された論文の査読、および、公聴会の質疑応答を通じて、当該分野の基礎に対する理解も深く、実験方法・論文作成方法も十分に体得していることが確認できた。

上記 I, II, III は、「大学院工学研究科論文博士の学位審査に関する内規」を満たしている。なお、国士舘大学大学院工学研究科博士課程における学位審査基準の目安及び博士候補者資格の判定に関する申し合わせ参考とした。

以上により「合格」とする。