

令和元年6月3日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K14096

研究課題名(和文)皮膚生体情報のマルチモーダル計測のための微小針アレイの開発

研究課題名(英文)Development of multiplexed microneedle arrays for vital measurements on skin

研究代表者

甲斐 洋行(Kai, Hiroyuki)

東北大学・工学研究科・特任助教

研究者番号：00760167

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、多孔質構造を有するマイクロニードルアレイを皮膚組織液の多様なセンシングに用いるための技術開発に取り組んだ。グルコースを具体的な測定対象として、ボロン酸を有する蛍光分子をマイクロニードルの細孔内部に充填することで、グルコース濃度の蛍光測定の可能性を示した。多孔質マイクロニードルの細孔表面の無電解金めっきによる電極作製およびグルコースオキシダーゼを用いた電気化学センシングの基本実証を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

皮膚組織液中の成分を精密・高感度に定量することで、生体の状態を簡便かつ正確に知ることができるようになる。本研究は、そのための基盤技術の探索を行ったものである。大きな比表面積を有する多孔質マイクロニードル電極の作製に成功し、経皮グルコースセンサの基本設計に目処を付けた。グルコース以外の生体成分の測定にも応用可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Microneedle arrays with porous structures were applied to wearable sensors of interstitial fluid of skin with various modalities. A fluorescent sensor bearing a boronic acid moiety was integrated into micropores of the microneedles to demonstrate potential for the measurement of glucose concentration. Electroless plating on the micropore surface allowed for the electrochemical sensing of glucose by glucose oxidase.

研究分野：ウェアラブル材料工学

キーワード：マイクロニードル ポリマーモノリス ウェアラブルセンサ 無電解金めっき 開放型流路

様式 C-19, F-19-1, Z-19, CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

人体は表面を覆う皮膚で守られている。皮膚は異なる機能を持つ層状の構造からなる。最外層の角質は体内の水の蒸散を防ぎ、外部からの化学物質や細菌の侵入を防ぐバリアとして機能する。その内側の表皮には生体情報が豊富に含まれている。表皮の皮膚組織液には生体状態を表すさまざまな化学物質、たとえばグルコース(血糖値)・乳酸(運動強度)・カリウムイオン(肝機能・腎機能)などが含まれている。また、表皮には垂直方向の電位(表皮電位)が存在し、表皮電位は皮膚の健康との相関が示唆されている。このように、皮膚は豊富な化学的・電氣的な生体情報を持つが、通常はそれらの情報は角質の内側に隠されている。この角質バリアを迂回するために有用なのがマイクロニードル(MN)アレイである。MNアレイは数百 $\mu\text{m}$ 程度の高さの微小な針が平面的に配列した構造物であり、皮膚の最外層の角質のみを貫通して表皮に到達することで、低侵襲的に(痛みを感じず、感染もない)皮膚組織液の採取や表皮中の電気測定を行うことができる(図1)。研究代表者は以前、ポリグリシジルメタクリレート(PGMA)を基材、ポリエチレングリコール(PEG)をポロジェン(細孔作製のための犠牲層)としたポーラスポリマーモノリスを用い、連続的な細孔構造を持つポリマーマイクロニードル(以下単に「ポーラスMN」と呼ぶ)を作製し(図1(b)),これが皮膚を貫通するに十分な機械的強度と高速な吸水能力を併せ持つことを初めて実証した(L. Liu et al, *RSC Adv.*, **6**, 48630 (2016))。このポーラスMNにより、皮膚の内部(表皮)と外部(体表外)に溶液的な接続を行うことができ、それにより皮膚の内外での化学的・電氣的なインターフェイスが可能となる。

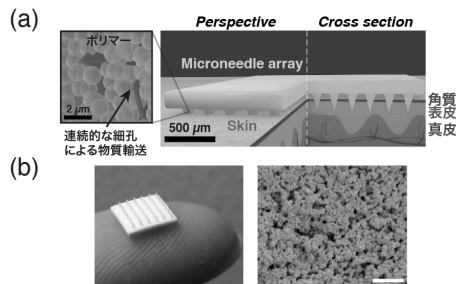


図1 (a) 皮膚断面とポーラスMNの模式図 (b) ポーラスMNの写真と表面のSEM画像 (L. Liu et al., *RSC Adv.* (2016) より一部改変)

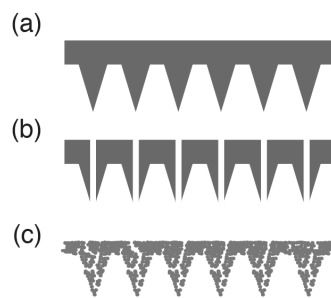


図2 MNアレイの構造の分類 (a)ソリッド型 (b)中空型 (c)ポーラス型

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、ポーラスMNをベースにして、皮膚を介して化学的・電氣的な複数の生体情報を同時に取得する一体型のマイクロニードルアレイデバイスを開発することである。ポーラス構造による皮膚組織液の効率的採取と、細孔の表面修飾によって一体化した蛍光分子による光学的センシング・酵素反応による電気化学的センシングなどを一体型のパッチで行う皮膚貼付型デバイスを作製する。このデバイスを用いて、皮膚切片および生体における皮膚組織液中のグルコースおよび乳酸の濃度測定の基本実証を行う。

### 3. 研究の方法

#### (1) ポーラスMNへのグルコース蛍光センサの修飾

グルコース濃度に応じて蛍光強度が変化するセンサ分子を表面修飾することで皮膚組織液のグルコース濃度を皮膚の外から光学的により定量するポーラスMNアレイを作製する。

#### (2) ポーラスMNの導電化・酵素修飾

電気化学的センシングのために元来は絶縁性のポーラスMNを導電化した上で、酵素修飾を行う。生体安全性やセンサの長期安定性を考えると、電極材料を皮膚組織に直接接触させないことが望ましい。細孔表面への無電解メッキ(S. Ikeda et al., *J. Phys. Conf. Ser.*, **417**, 012019 (2013))による金あるいは銀の薄膜の形成を検討する。

#### (3) ポーラスMNによる皮膚組織液のセンシングの実証

グルコース濃度の光学的測定のために、透明化したポーラスMNにグルコースセンサ蛍光分子を修飾したものを皮膚切片に刺し入れ、蛍光分子の蛍光強度を分光器およびカメラで定量する。また、グルコースおよび乳酸の電気化学的測定のために、前年度に開発した方法で導電化したポーラスMNに酵素を担持して酵素電極センサとする。皮膚組織液中のグルコースあるいは

乳酸を基質とした酵素電池反応により、電流測定センサーを作製し基本性能を実証する。

#### (4) 複数の機能の MN アレイへの統合

上記のセンサを統合した MN アレイデバイスを作製する。MN アレイ中の異なる MN に異なるセンサ分子を修飾することで、一つのデバイス中に複数のセンサ機能を持つ一体型の MN アレイデバイスによるマルチモーダル生体計測を行う。

### 4. 研究成果

#### (1) 蛍光グルコースセンサ

ボロン酸を有するグルコースセンサ蛍光分子を既存の報告に従い合成した。これを、アルギン酸ナトリウムに対して水溶性カルボジイミドを用いて結合させた。この蛍光分子修飾アルギン酸ナトリウム溶液にポーラス MN を浸漬した後、塩化カルシウム水溶液に浸漬することでアルギン酸ナトリウムをマイクロニードルの細孔内部でゲル化した。作製した蛍光センサゲル内包マイクロニードルを、異なる濃度のグルコース溶液中に浸漬した後取り出し、蛍光顕微鏡で蛍光強度の測定を行ったところ、グルコース濃度の増大に応じて蛍光強度も増大する傾向が確認された。しかしながら、測定するポーラス MN の部位による蛍光強度の差が大きいことが明らかになったため、センサ応用のためには原因の究明が必要である。

#### (2) 電気化学グルコースセンサ

マイクロニードルによる電気化学センシングを行うために、マイクロニードルの細孔表面への金被覆の方法を検討した。PGMA のマイクロ粒子に対して無電解ニッケルめっきをおこなった既報に従い、同じ PGMA からなるポーラス MN に無電解ニッケルめっきを行った。既存の反応条件で処理するとポーラス MN の機械的強度が劣化する問題があったが、反応条件をより温和にすることで強度を十分に保ったまま無電解ニッケルめっきを行うことに成功した。続けて市販の置換型無電解金めっき浴 (ムデンノーブル) で処理することで、金めっきの施されたポーラス MN を得た (図 3)。得られた金めっきポーラス MN に対し、糖鎖をアルデヒドに部分酸化したグルコースオキシダーゼを、シスタミンを介して共有結合により修飾した。メディアータとしてフェロセンメタノールを添加したリン酸緩衝液中でグルコース濃度を変化させてサイクリックボルタンメトリーを測定したところ、グルコース濃度増加に応じて電流の増大が見られた (論文準備中)。ポーラス MN の大きな比表面積を活用した高精度グルコースセンサの実現が期待される。

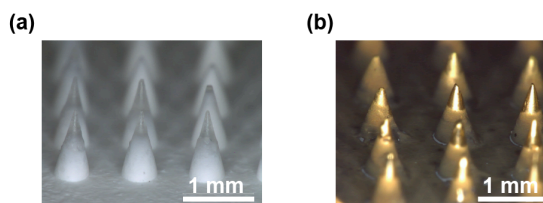


図 3 無電解ニッケル・金めっきによるポーラス MN の金被覆 (a)めっき前 (b)めっき後

#### (3) 乳酸酵素電極

グルコースに加えて、体液中の乳酸を定量するための酵素電極を作製した。乳酸オキシダーゼはミカエリス定数が 1 mM 程度と小さく、体液中の乳酸濃度をそのまま測定するには適していない。そこで、乳酸オキシダーゼを修飾した布地電極をポリウレタンのテトラヒドロフラン溶液に浸漬・乾燥を繰り返すことで、布地電極の溶液透過性を維持しつつ、測定可能な乳酸濃度範囲を増大させた (論文②)。開発した電極はポーラス MN にも応用可能であると考えられる。

#### (4) 微小な水滴を収集するフィルム

派生的な研究として、微小の体液を収集することを目指したフィルムの開発を行った。フラクタル形状に枝分かれした開放型流路 (疎水性の基板上の、親水性のパターン) を設計することで、広い面積から水滴を一ヶ所に集めるフィルムを作製した (論文①, ③; 図 4)。この技術を応用すると、ポーラス MN で採取した微小な体液を一ヶ所に収集した後にその成分を精度良く分析することが可能になると期待される。

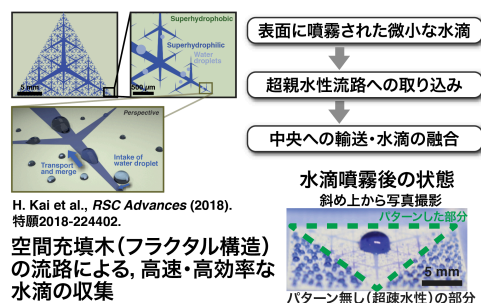


図 4 微小な水滴を収集するフィルム

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 3 件）

- ① 甲斐洋行\*, 豊里涼馬, 西澤松彦  
階層的枝分かれ構造を持つ開放型流路による液滴収集機構  
化学とマイクロ・ナノシステム学会誌, 17(2), 33-35 (2018), 査読なし  
URL: <http://cheminas.chips.jp/wp-content/uploads/2019/01/kaishi17-2.pdf>
- ② Hiroyuki Kai\*, Yuto Kato, Ryoma Toyosato, Matsuhiko Nishizawa\*  
Fluid-permeable enzymatic lactate sensors for micro-volume specimen.  
*Analyst*, 143, 5545-5551 (2018), 査読あり  
DOI: 10.1039/C8AN00979A
- ③ Hiroyuki Kai\*, Ryoma Toyosato, Matsuhiko Nishizawa\*  
Space-filling open microfluidics designed to collect water droplets.  
*RSC Advances*, 8, 15985-15990 (2018), 査読あり  
DOI: 10.1039/C8RA02655F

〔学会発表〕（計 13 件）

- ① 甲斐洋行  
新たな経皮インターフェイスのための高分子材料・デバイス（招待講演）  
平成 30 年度東北地区先端高分子セミナー（2019/3/4）
- ② 甲斐洋行, 熊田裕希, 西澤松彦  
蛍光グルコースセンサを一体化した多孔質樹脂マイクロニードル  
第 28 回日本 MRS 年次大会（2018/12/19）
- ③ Hiroyuki Kai, Hiroki Kumata, Matsuhiko Nishizawa  
Porous Polymer Microneedles for the Sensing of Subcutaneous Interstitial Fluid  
MRS Fall 2018 Meeting (2018/11/28)
- ④ 甲斐洋行  
皮膚間質液センシングのための多孔質マイクロニードルの開発  
第 1 回 COI 学会（2018/10/25）
- ⑤ 甲斐洋行, 熊田裕希, 西澤松彦  
皮膚間質液分析のための多孔質マイクロニードルの開発  
日本分析化学会 第 67 回年会（2018/9/12）
- ⑥ 甲斐洋行, 豊里涼馬, 西澤松彦  
階層的枝分かれ構造を持つ開放型流路による液滴収集機構  
化学とマイクロ・ナノシステム学会 第 37 回研究会（2018/5/22）
- ⑦ Hiroyuki Kai, Ryoma Toyosato, Matsuhiko Nishizawa  
“Mathematical microfluidics” – fractal, space-filling open microfluidic channels for the efficient collection of water droplets.  
CEMSupra 2018 (2018/1/9)
- ⑧ 甲斐洋行, 熊田裕希, 久保田淳, 西澤松彦  
高分子モノリスからなる皮膚間質液分析のためのマイクロニードルアレイ  
第 66 回高分子討論会（2017/9/22）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 3 件）

①

名称：液滴収集デバイス

発明者：甲斐洋行

権利者：同上

種類：特許

番号：特願 2018-224402

出願年：2018 年

国内外の別： 国内

②

名称： 皮膚の疾患又は状態の検出，診断又は治療のためのデバイス

発明者： 甲斐洋行，大黒耕，長峯邦明

権利者： 同上

種類： 特許

番号： PCT/JP2018/32167

出願年： 2018 年

国内外の別： 国外

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

報道

① 日経産業新聞 第 6 面「微小針，痛み抑え体液採取 東北大，多数の穴開けた構造に」（2018 年 10 月 30 日）

アウトリーチ活動

① JST センター・オブ・イノベーション (COI) プログラム 新技術説明会 ～ヘルスケア関連～「新規構造マイクロニードルによる疾患診断・治療デバイス」（2019 年 5 月 30 日）

② 山形東桜学館 キャンパスツアー 講師「分野を越境する面白さ～異分野融合によるウェアラブル診断・治療技術の開発～」（2018 年 6 月 27 日）

個人ウェブサイト

<https://hirokai.github.io/about/index.ja.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

該当なし

※科研費による研究は，研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため，研究の実施や研究成果の公表等については，国の要請等に基づくものではなく，その研究成果に関する見解や責任は，研究者個人に帰属されます。