

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 23 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25246016

研究課題名(和文) 導電性高分子ゲル電極による高効率な細胞刺激システムの開発

研究課題名(英文) Hydrogel-Based Conducting Polymer Electrode for Efficient Stimulation of Cells

研究代表者

西澤 松彦(Nishizawa, Matsuhiko)

東北大学・工学研究科・教授

研究者番号：20273592

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 32,200,000円

研究成果の概要(和文)：ハイドロゲルの表面に導電性高分子PEDOTとポリウレタンPUの複合体を配線した導電性高分子ゲル電極の作製プロセスを大幅に改良し、これまでの電解重合法による配線方法に加えて、光重合による配線が可能になった。これによって、絶縁被覆したPEDOT/PUをハイドロゲル上に配線することも可能となり、局所計測・局所刺激用の電極ツールとしての実用性が高まった。また、自らが変形によって発生する力によって患部に固定する(付着する)機能の実現に目途がついた。具体的には、脳の間隙部に膨張力で固定される脳電極や、神経束に巻きつく電極を作製した。

研究成果の概要(英文)：We have succeeded in developing a technique to laminate the composite of conducting polymer PEDOT and polyurethane (PEDOT-PU) onto hydrogel substrates by the novel interfacial photo-initiated radical polymerization of the polymer of adhesion layer. This technique enable the lamination of even the insulated PEDOT-PU electrodes, improving the accuracy and sensitivity on the medical use. In addition the possible function of self-immobilization to organs was demonstrated by using the PEDOT-PU-laminated hydrogel devices. As an example, the the expansion force of the gel substrate showed self-fixing to the gaps of brain. The curling force of the gel sheet showed self-wrapping to a neuronal bundle.

研究分野：バイオデバイス工学

キーワード：ハイドロゲル 電極 生体親和性

1. 研究開始当初の背景

高齢社会に対応する高効率・低コストなIT化医療システムの開発が全世界の英知を結集して急ピッチで進められており、その鍵を握るウェアラブル及び埋め込み型デバイスの生体親和性を追及する開発競争が激化している。電氣的な診断・治療(計測・刺激)を担う電極デバイスは、図1の様に、素子の微小化および基材の薄膜化が生み出したフレキシブルなウェアラブルデバイスとして製品化が進んでいる。さらに近年では、極薄のプラスチックフィルムを基材とするエレクトロニクス技術が進展し、体表および臓器表面の微細な凹凸にも対応して密着するフィルムデバイスの研究が盛んである。しかしながら、極薄とはいえプラスチックは硬い材料であり(ヤング率:数GPa)、柔らかい細胞・組織(ヤング率:数10KPa)とは明らかに異質である。また、体液の循環を遮るため生理環境を乱してしまう。よって、生体と同様に柔軟で分子透過性のある電極デバイスの実現が望まれている。



図1 生体親和性デバイスの開発動向

2. 研究の目的

バイオ医療電極デバイスの生体親和性と低侵襲性を格段に向上させるために、ソフトウェット有機電極システムの開発に取り組む。そのために、コラーゲン、アガロース(寒天)、グルコマンナン(蒟蒻)などのハイドロゲルの表面に導電性高分子PEDOTが配線された「導電性高分子ゲル電極」の作製プロセスを確立し、電極特性の改良を進めながら、その低侵襲性を活かして培養細胞や生体組織への通電デバイスを開発する。具体的には、骨格筋細胞の培養系と組み合わせた“動く”細胞チップ、医用電極としての計測・刺激(診断・治療)を研究開発のターゲットとする。導電性高分子ゲル電極は、「細胞・生体安全性」「生体組織と同等の柔軟性」「電気分解が起き難い高容量」そして「分子(酸素や栄養)の透過性」を有する前例のない電極であり、培養環境を乱さない細胞との電氣的インターフェース形成によって、通電効果が格段の向上をもたらすと期待できる。

3. 研究の方法

独自の電極材料である高伸縮性PEDOT-PUについて、界面容量が10

mF/cm²以上、界面インピーダンスは100/cm²程度であることを示し、電気分解を伴わない低侵襲刺激や高感度計測に適することを実証する。ハイドロゲル基板には、強靱なアクリルアミド系のダブルネットワーク(DN)ゲルを用い、電極の接着には、電解重合による方法と、光重合による絶縁物の接着技術を駆使して、絶縁被覆した電極の固定による生体局所の電気計測・刺激を実現する。一方、ゲルの膨潤速度と膨張率の向上によって低侵襲挿入の効果を高める。20倍の体積変化(現在10倍)を2分以内(現在5分)に完了させることを目標に設定し、これをゲルのイオン性官能基の割合の最適化と階層的な多孔構造の調節によって実現する。

細胞培養に対する応用に関しては、フィブリンゲルのシートに配向培養した骨格筋細胞とPEDOTゲル電極を貼り合せ、電気刺激によって自由に収縮運動できる“動く”細胞チップを創出し、筋組織の収縮運動と代謝活性との関連を探る。具体的には血糖(グルコース)取込みトランスポーター-Glut4の膜移行がどのような運動条件で促進されるかを調べる。2型糖尿病における筋の糖代謝不全の改善には運動治療が施されるが、運動(筋収縮)が引き起こす分子レベルの効果は殆ど未知であり、筋をターゲットとした創薬研究は、極めて重要でありながらも進捗が遅い。その一因として、培養シャーレに付着した筋細胞の運動能力(収縮性)は未熟であり、電場の印加も困難である。本研究では、筋細胞自体を培養シャーレからゲルシートに移行させて運動性の獲得を促すとともに、電気刺激のための電極基板にも運動性(柔軟性)と細胞培養環境を乱さない分子透過性を持たせることで、運動と代謝活性の連関が従来以上に明らかになると期待できる。

4. 研究成果

(1) PEDOTとPUの複合化はポリウレタンの内孔壁にPEDOTを重合する方法で実現し、通常法(予め合成したPEDOT微粒子の分散体をPUに混合する)よりもPEDOTがネットワークを形成し易いため、比較的高い導電性と、歪みに対する耐久性が得られることが分かった。EDOT、p-トルエンスルホン酸(pTS)およびPUを有機溶剤(THF)で粘性の混合物とし、ガラス板上にスピニングで厚さ3μm程度に成膜した。これを10分間ホットプレートで100に加熱すると、PEDOTの熱化学重合と有機溶剤の蒸発が同時に進行して、PEDOT/PU複合体フィルムが形成された。冷却後、ガラス基板ごと水中に12時間程度浸して、未反応のEDOTやpTSを除去した。PEDOTとPUの複合割合(重量%)を変えて導電性を測定した結果が図2aである。PEDOTの割合が40%を越えると、PEDOTが多いほど導電率が低下するという特徴的な結果となっている。この現象の解明は未だ済んでいないが、恐らく

PEDOT の相分離が起こり、PU 内部でのネットワーク形成の妨げになるためではないかと考えられる。以後の研究では、PEDOT の割合が 40wt% の複合体 (PEDOT/PU) を用いる。

図 2b は、40wt% PEDOT/PU フィルムを伸縮させながら導電率を計測した結果である。伸ばすと導電率が上昇する傾向が認められるが、これは PEDOT のフィブリルが伸展方向に配向する効果だと考えられる。歪み 10% 程度ではヒステリシスが殆どない。最大歪み 50% および 100% の場合は、初めの伸展・収縮でヒステリシスが生じるが、2 回目以降の伸縮では安定しているのがわかる。50% の伸縮については 100 回繰り返したが、導電率に大きな変化は生じなかった。すなわち、体表で発生し得る最大歪みである 50% 程度の歪みでは、断線などの不可逆な電気物性変化が起きないことが確認できた。

導電性高分子 PEDOT はスーパーキャパシタの材料でもあり、これを複合要素として含む PEDOT/PU 電極は巨大な電気二重層容量を有する。充電・放電可能な電荷量は Pt などの金属電極では幾何面積 1cm² 当たり数 mC に留まるのに対し、PEDOT/PU では数 100mC に及ぶ。よって、体液の電気分解などのファラディックな反応を起こさず、充電・放電だけで一定量の電荷を細胞や組織に注入できることを意味し、すなわち低侵襲な刺激に適した電極材料である。

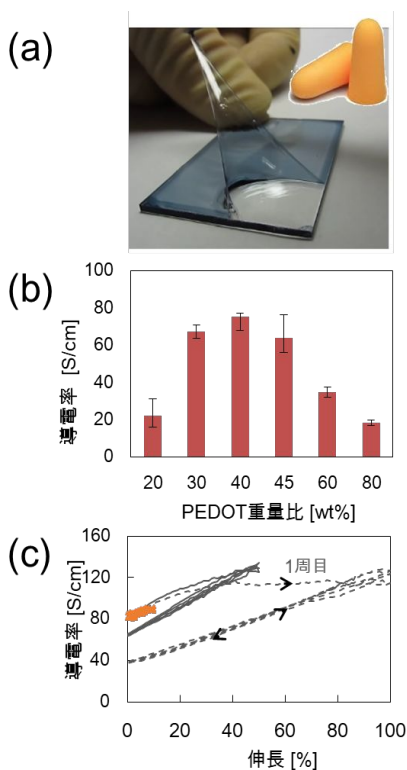


図 2 PEDOT-PU の基本特

PEDOT/PU フィルムをカッティングブロッカーで切り出して電極パターンを作製した(余計な部分をはがす) (図 3a)。この方法

では、0.1mm 程度の精度で電極形状がデザインできる。インクジェットプリンターで粘性混合物を描画すれば 10 μ m 精度のパターニングも可能である。この電極パターン上に、非常に強靱なダブルネットワーク (DN) ゲルのシートを配置する。DN ゲルは、第一のゲル PAMPS の中で、第二のゲル poly-acrylamide を重合して作製した。DN ゲルシート上に EDOT と LiClO₄ の水溶液を注ぎ、PEDOT の電解酸化重合を行って接着を得る (図 3b)。つまり、PEDOT は電極材料にも含まれるし、接着剤としても利用している。最後に、ガラス基板からハイドロゲルを水中で剥離し、PEDOT/PU ゲル電極を得た。断面写真 (c) では、PEDOT がゲルの内部に成長して絡み付き、接合部が一体化している様子が分かる。

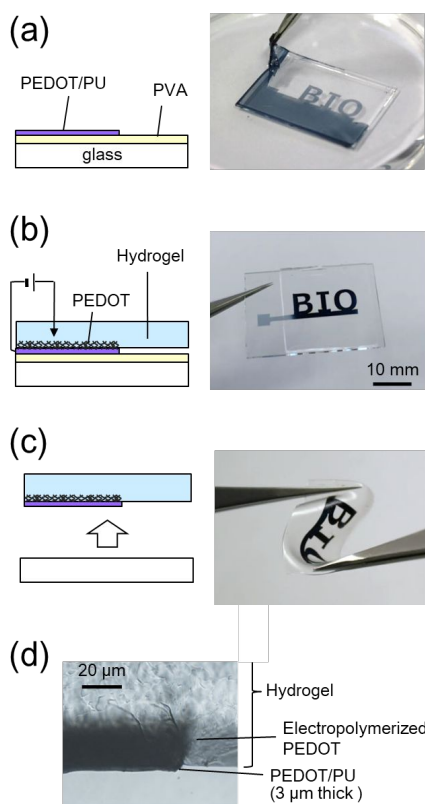


図 3 ハイドロゲル基盤電極の作

上記の方法で作製した電極基板では、基板・接着剤・電極の総てが同等に柔らかく、硬さのミスマッチが無いために応力集中が起き難い。そのため、大きな変形によっても剥離しない強固な接着が実現する (図 4a)。そもそもハイドロゲルの体積は自然に変化し得る。たとえば、乾燥させると体積が 10% 程度に縮んでしまい、水に浸すと再び膨潤する。その際に電極の接着面にかかる応力は相当に大きいはずであるが、図 4b に示すように、乾燥・膨潤を繰り返しても電極の剥離は起きず、電極の電気特性も大きくは変わらなかった。この乾燥と膨潤を繰り返せる頑丈さは、乾燥状態で保存・販売し、ユーザーが膨

潤させて使用することを可能とするため、実用化に向けて重要である。DN ゲルは熱にも安定であり、医療応用に必要な高压熱水によるオートクレーブ滅菌（120℃、2 気圧、20 分）が可能である（図 4c）。さらに、細胞に毒性を示さないことが確認できたので（図 4d）将来的には体内への埋め込みも検討可能である。構成材料の体内での安全性に関して、PEDOT はラットへの 12 週間の埋植実験で性能が変わらず、毒性・炎症性も発生しないとの報告がなされている。アクリルアミド系の DN ゲルについても、ラビット体内で 6 週間の安定性・安全性が確認されている。そして PU は、人工血管などのインプラント材料に広く使われている材料である。よって、これらを組み合わせて作製する DN ゲル基板の PEDOT/PU 電極デバイスは、安全性に問題を有しないと考えられる。

(2) 現在世界中で増加傾向にある 2 型糖尿病患者の骨格筋の糖代謝は、健康者の半程度に落ち込んでおり、筋組織を鍛える運動療法が経験的に有効とされてきた。その分子機序

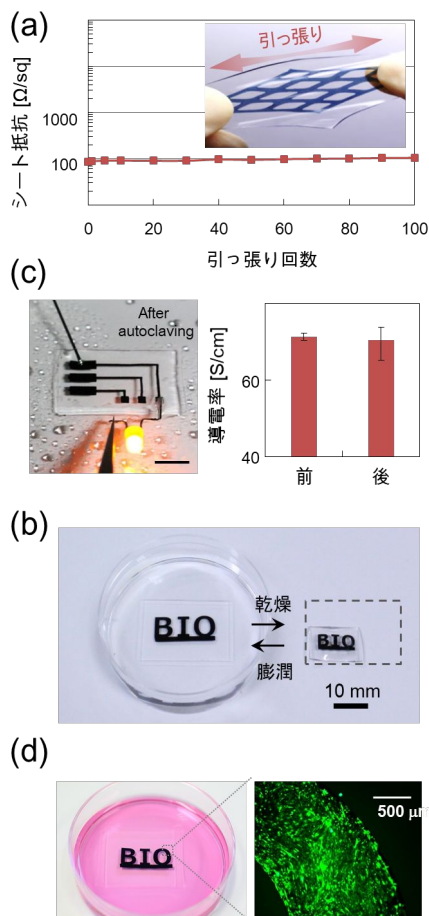


図 4 ハイドロゲル電極の基本特

の解明と創薬への展開は、実験動物の組織観察によって進められてきたが、動物実験の縮小と分子レベルの詳細解析のために、培養細胞を用いる代替実験系の開発が強く求められている。柔軟なフィブリンゲルを培養基板に用いることで活発な筋肉細胞の収縮運動

を適切にサポートし、運動負荷が電気刺激の強さや周波数により自在に制御できることを示した。さらに筋肉細胞をパターン培養し、マイクロ電極による局所刺激システムと組み合わせれば、運動効果の詳細なメカニズム解明が進む。そこで、ハイドロゲル基板電極の特徴が活きる。つまり、培養環境を乱すことなく細胞・組織に張り付け可能で、一緒に収縮できるという PEDOT/ハイドロゲル電極の特徴は、筋細胞の運動制御に極めて有効であった。図 5 に示すように、PEDOT/アガロース電極と、骨格筋細胞を縮状に培養したフィブリンゲルシートを貼りあわせて、培養基板/細胞/電極が一体となって“動く”細胞チップを創り、骨格筋細胞の代謝活性を運動と関連付けて詳細に調べた。矩形波を入力した際の PEDOT 電極および細胞の変位のプロットより、筋管細胞の収縮に同期して電極も動いていることが確認できた。適切な運動条件（2V、10Hz、3.5hour）のもとで糖代謝活性に明らかな向上（グルコーストランスポーターの膜移行）が確認された。休憩を織り交ぜることで運動効果が顕著になるという結果も得られており、この新しいツールを用いて、2 型糖尿病の治療に有効な運動条件を細胞内の分子動態と関連付けて説明する見通しが得られた。

生体の神経・筋活動は電極を貼り付けてモニタリング可能であり、使い易く高性能な電極の研究開発が続けられている。非常に薄いプラスチックフィルムを基板とする電極が登場して注目を集めており、そのメリットの 1 つは表面の形状（脳表の凹凸など）に沿って貼り付く性質である。しかしその様な極薄

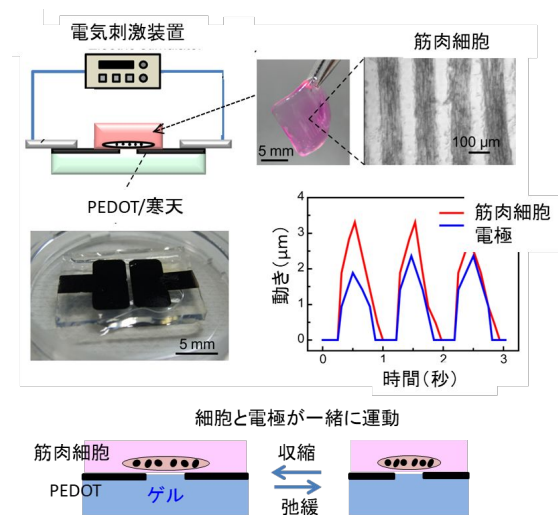


図 5 筋細胞アッセイへの応用

の電極基板のハンドリングは容易でない。ハイドロゲル基板はハンドリングに無理のない厚みでも、表面形状に沿う柔軟性としっとり貼り付く粘着性を有しており、実用的な附着性電極の候補といえる。図 6 には、(a)皮膚に附着した様子、および (b) 心電計測の様子を示している。粘着シールなどを用いなく

とも、ハイドロゲル特有の水による粘着性で貼り付き、関節の屈曲によっても剥がれず、筋電信号を拾っている。外表の電極は接着用の PEDOT およびハイドロゲルを挟んで生体に貼付される。ゲル内に成長した PEDOT は巨大な電気二重層容量を有し、図 6c に示す界面インピーダンスの低減に効果を示し、一般に使われる Ag/AgCl シール電極や、導電ペーストを練りこむ皿電極と同程度である。また、この界面容量の効果は、低ノイズ特性にもあらわれる。図 6d では、 ± 1 nA の電流(擬ノイズ)を印加した際の電極電位の変化であるが、金属電極の場合に見られる電位のドリフトが本ハイドロゲル電極では抑えられているのが分かる。

ハイドロゲル電極の特徴が際立つのは、体表よりも臓器表面への貼付であろう。インプラントデバイスの電極としての将来性はもちろんのこと、手術時における神経系のモニタリングも重要であり、たとえば脳外科手術の際には脊髄などに計測電極が貼付される。このような生体電気のモニタリング全般において、ハイドロゲル電極は有効に使われると期待している。

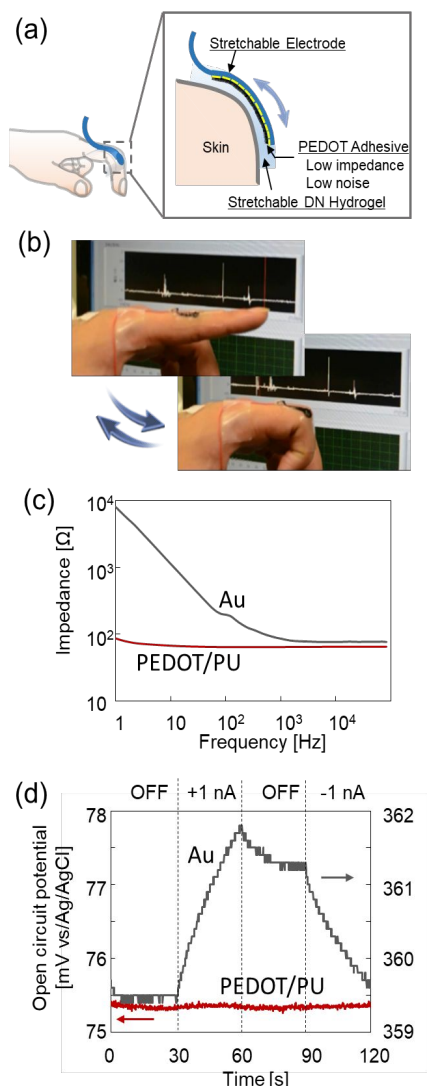


図 6 筋電計測への応

5 . 主な発表論文等 〔雑誌論文〕(計 7 件)

Kuniaki Nagamine, Hirotaka Sato, Hiroyuki Kai, Hirokazu Kaji, Makoto Kanzaki, Matsuhiko Nishizawa, Contractile Skeletal Muscle Cells Cultured with a Conducting Soft Wire for Effective, Selective Stimulation, Scientific Reports, 査読有, 2018, in press
DOI: 10.1038/s41598-018-20729-y

Kuniaki Nagamine, Shun Chihara, Hiroyuki Kai, Hirokazu Kaji, and Matsuhiko Nishizawa, Totally Shape-Conformable Electrode/Hydrogel Composite for On-Skin Electrophysiological Measurements, Sensors and Actuators B, 査読有, 2016, 237, pp. 49-53.
DOI: 10.1016/j.snb.2016.06.076

Kuniaki Nagamine, Takuya Hirata, Kohei Okamoto, Yuina Abe, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, Portable Micropatterns of Neuronal Cells Supported by Thin Hydrogel Films, ACS Biomaterials Science & Engineering, 査読有, 2015, 1, pp. 329-334.
DOI: 10.1021/acsbiomaterials.5b00020

Kuniaki Nagamine, Yuina Abe, Hiroyuki Kai, Hirokazu Kaji, and Matsuhiko Nishizawa, Highly Stretchable Cell-Cultured Hydrogel Sheet, RSC Advances, 査読有, 2015, 5, pp. 66334-66338.
DOI: 10.1039/C5RA11059A

Masato Sasaki, Bijoy Chandapillai Karikkineth, Kuniaki Nagamine, Hirokazu Kaji, Keiichi Torimitsu, and Matsuhiko Nishizawa, Highly Conductive Stretchable and Biocompatible Electrode-Hydrogel Hybrids for Advanced Tissue Engineering, Advanced Healthcare Materials, 査読有, 2014, 3, pp. 1919-1927.
DOI: 10.1002/adhm.201400209

Kuniaki Nagamine, Kohei Okamoto, Hirokazu Kaji, and Matsuhiko Nishizawa, Bonding of Synthetic Hydrogels with Fibrin as the Glue to Engineer Hydrogel-Based Biodevices, J. Biosci. Bioeng., 査読有, 2014, 118, pp. 94-97.
DOI: 10.1016/j.jbiosc.2013.12.024

Kuniaki Nagamine, Kohei Okamoto, Shingo Otani, Hirokazu Kaji, Makoto Kanzaki and Matsuhiko Nishizawa,

Hydrogel-Based Bioassay Sheets for In-Vitro Evaluation of Contraction-Dependent Metabolic Regulation in Skeletal Muscle Cells, Biomater. Sci., 査読有,2014, 2, pp. 252-256. DOI: 10.1039/c3bm60179j

〔学会発表〕(計 5 件)

Matsuhiko Nishizawa, Biocompatible Moist Microelectrode Systems, 14th International Conference on Flow Dynamics, 2017

Matsuhiko Nishizawa, Hydrogel-Based Cytocompatible Electrode Systems, SSDM, 2016

Matsuhiko Nishizawa, Spatiotemporal Control of Bio-Assembly by Electrochemical Lithography, PACIFICHEM, 2015

Matsuhiko Nishizawa, Moist Electronic Devices with High Affinity to Living Systems, EMNT, 2014

Matsuhiko Nishizawa, Hydrogel-Based Electronic Devices with High Affinity to Living Systems, NIMS Conference, 2014

〔図書〕(計 2 件)

長峯邦明, 西澤松彦
筋肉細胞チップ、臓器チップの技術と開発動向 第 8 章、201-207, シーエムシー、293 ページ、2018

西澤松彦
ハイドロゲルを基板とする導電性高分子電極、ウェアラブルセンシング最新動向 8 章 12 節 p490-494
技術情報協会、350 ページ、2015

〔産業財産権〕

出願状況 (計 5 件)

名称：多孔質基板電極体及びその製造方法
発明者：西澤松彦
権利者：国立大学法人東北大学
種類：特願
番号：2013-070450, PCT/JP2014/058947
出願年月日：2013.3.28
国内外の別：国内および国外

名称：複合材料、複合材料の製造方法
発明者：西澤松彦、長峯邦明
権利者：国立大学法人東北大学
種類：特願
番号：2015-194485, PCT/JP2016/079880
出願年月日：2015.9.30

国内外の別：国内および国外

名称：被覆複合材料
発明者：西澤松彦、長峯邦明、富永悌二、中澤徹、岩崎真樹、中川敦寛、川口奉洋、徳江彩子、新倉仁、齋木佳克
権利者：国立大学法人東北大学
種類：特願
番号：2016-069352, PCT/JP2017/ 13392 出願年月日：2016.3.30
国内外の別：国内および国外

名称：複合材料
発明者：西澤松彦、長峯邦明、富永悌二、齋木佳克、岩崎真樹、中川敦寛、川口奉洋
権利者：国立大学法人東北大学
種類：特願
番号：2016-069353, PCT/JP2017/ 13393
出願年月日：2016.3.30
国内外の別：国内および国外

名称：生体固定用複合材料
発明者：西澤松彦、長峯邦明、富永悌二、齋木佳克、荒井陽一、新倉仁、井樋栄二、香取幸夫、岩崎真樹、中川敦寛、川口奉洋、新妻邦泰、徳江彩子、遠藤俊毅、萩原嘉廣、綿貴宗則、橋本功
権利者：国立大学法人東北大学
種類：特願
番号：2016-069354, PCT/JP2017/ 13394
出願年月日：2016.3.30
国内外の別：国内および国外

6. 研究組織

(1)研究代表者
西澤松彦 (NISHIZAWA, Matsuhiko)
東北大学・工学研究科・教授
研究者番号：20273592

(2)研究分担者
鳥光慶一 (TORIMITSU Keiichi)
東北大学・工学研究科・教授
研究者番号：00393728

(2)研究分担者
長峯邦明 (NAGAMINE Kuniaki)
東北大学・工学研究科・助教
研究者番号：00551540

(3)連携研究者
神崎展 (KANZAKI Makoto)
東北大学・医工学研究科・准教授
研究者番号：10272262

(3)連携研究者
山崎研志 (YAMAZAKI Kenshi)
東北大学・医学系研究科・准教授
研究者番号：40294798