

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：32612

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25600064

研究課題名(和文) マイクロ透析デバイスの長期使用に向けた透析膜表面改質プロセスの開発

研究課題名(英文) Development of surface modification processes of a dialysis membrane for long-term use of micro hemodialysis devices

研究代表者

三木 則尚 (MIKI, Norihisa)

慶應義塾大学・理工学部・准教授

研究者番号：70383982

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：血液透析治療を必要とする患者は週3回、各回4時間の治療が必要であり、QoLが著しく損なわれている。患者が携帯、もしくは患者にインプラントできる透析装置の開発により、QoLの改善ならびに、緩徐な透析による患者身体負担の低減が期待される。一方で、このような透析装置は月、年単位の長期使用が不可欠である。本研究では、透析膜にナノ多孔質薄膜を成膜することで、透析性能を維持しつつも表面改質を行い、血液成分の付着低減を試みた。パリレン、フッ素添加ダイヤモンドライクカーボンのナノ多孔質膜成膜プロセスを開発、これを用い表面処理を行い、牛血を用いた実験によりその効果を実証した。

研究成果の概要(英文)：Patients suffering from kidney diseases need to visit hospitals for hemodialysis treatment 3 times a week, which deteriorates their quality of life. Wearable or implantable micro hemodialysis systems would not only improve the QoL but also alleviate the damage onto the patients health due to its rather slow dialysis treatment (24 hours x 7 days). Such hemodialysis devices, however, need to overcome the biofouling originating from the blood. In this work, we attempted to modify the surface property of the dialysis membrane while maintaining the diffusion capacity by depositing nano-porous thin films. Parylene and fluorinated diamond like carbon were tested. First we developed the deposition processes of the nanoporous films and then, experimentally verified the effectiveness of the surface modification using whole cow blood. 28-days-long experiments showed successful reduction of adhesion of biomaterials by the surface modification.

研究分野：マイクロ・ナノ工学

キーワード：マイクロ・ナノデバイス 医療・福祉 人工臓器 微細加工 表面処理 成膜技術

1. 研究開始当初の背景

現在、腎代替療法を必要とする 26 万人以上の患者のうち、血液透析療法を行っている患者が 95%以上を占める。技術の進展や合併症に対する予防法の浸透により、現在の血液透析療法はほぼ完成の域に達しているともいえるが、実際には週 3 回、1 回約 4 時間の治療を受ける必要があり、大きな生活制限がかかる。また本来 48 時間かけて排泄する 2 日分の水・老廃物を 4 時間で除去するために血液透析療法自体が患者の身体に負担となるほか、太い注射針による毎回の血管穿刺・床上安静も強いストレスとなる。すなわち現在の血液透析療法は患者の QoL に関して大きな課題を有している。申請者は、上記の問題を工学的アプローチで解決すべく、図 1 に示すような、マイクロ流体デバイスを核とした、患者が携帯可能な、もしくは究極的にはインプラント可能なマイクロ透析システムを提案してきた(引用文献)。マイクロ透析システムにより、患者は通院の必要なく日常生活を送ることができ、QoL の格段の向上が見込める上に、継続的、緩徐な透析により身体への負担が小さくなるため、例えば現在の血液透析での急激な水分除去による血管の伸縮が原因とされる心血管病の発症を抑えられることが期待される。開発したマイクロ透析デバイスは体積比で腎臓のおよそ 2.4 倍の透析性能を有し、こぶし大までスケールアップすることにより、健康な腎臓と同等の老廃物除去が可能なが実験的に明らかになっている。しかしながら、通院治療で用いる使い捨ての透析回路と異なり、携帯型の人工透析システムの場合、継続的、長期的な使用による影響の評価、すなわち血液成分や生成される血栓による回路閉塞に関する評価が不可欠である。

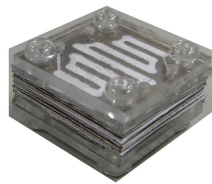


図 1. マイクロ流体を利用したマイクロ透析システム(24 mm × 24 mm × 10 mm)。透析膜として PES を用いている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、透析膜として用いられているナノポーラスなポリエーテルサルホン (PES) 膜表面を、生体適合性薄膜を成膜することにより制御し、長期間使用時の血液成分、血栓による透析性能劣化との関係を明らかにすることである。具体的な薄膜として、生体適合性が高いパリレンならびにダイヤモンドライクカーボン (DLC) 膜を用い、PES のナノポアを塞がずに成膜するプロセス条件を明らかにした後、灌流式マイクロ流体デバイスを用い、長時間ウシ全血灌流後の透析性能評価実験を行い、

最適な PES 膜表面処理手法を実験的に明らかにする。

3. 研究の方法

生体適合性が高いパリレンならびに DLC について、PES 膜のナノポアを塞がず、しかし表面改質するような成膜プロセス条件を明らかにする。パリレンは日本パリレン社製の Lab Coater、DLC はヒラノ光音社製の高周波プラズマ処理装置を用い、CVD 法により成膜する。目的とする成膜のために以下の 2 つのアプローチをとる。

(i) 膜量制御によるナノポーラス薄膜成膜: 成膜の過程においては、まず複数の分子が集合したアイランド構造ができたのち、これらが結び付きポーラスな膜になり、さらに成長して緻密な膜となる。すなわち、成膜量を制御することでナノポーラスな膜を成膜することができる。パリレン材料にパリレン C を用い、成膜量を決定するパリレンジマ量を変えて成膜する。DLC 成膜においては成膜時間により成膜量を制御する。また材料として、緻密性の低いフッ素を添加した F-DLC についても検討する。PES 膜のナノポアと生体適合膜のナノポアが重なった部分が、透析を担うことになる。

(ii) 低揮発性液体を利用したナノポアのアライメント: 上記(i)のアプローチから、さらに膜の透析性能を上げるために、図 2 に示すように、PES 膜下に低揮発性液体を配置し、ナノポーラス膜を成膜するプロセスを確立する。低圧化における成膜時に、低揮発性液体が緩徐に気化し、PES 膜内のナノポアを通して。この気化分子が、PES 膜のナノポア上に、生体適合膜が成膜するのを防ぐ。すなわち、PES 膜と生体適合膜のナノポアがアライメントされ、透析性能を保ったままより効果的に表面改質が可能となる。

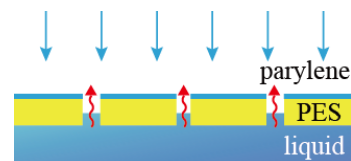


図 2. 低揮発性液体による成膜時ナノポアアライメント

上記 2 つのアプローチによる生体適合膜成膜プロセスの有効性を示すために、接触角計測による表面化学特性の評価ならびに、マイクロ流路を用いた拡散実験を行う。拡散実験においては、Na⁺、K⁺、尿素を実験対象とし、拡散係数を実験的に導出し、その結果から PES 膜のナノポアを塞がずに、透析性能を維持しながらの表面改質プロセスを実現する。

表面改質した透析膜の長期間にわたる透析性能の実験的な評価のために、血液灌流型透析性能評価システムを構築し、ウシ全血を灌流し、時間、日、月オーダでの透析膜評価を行う。透析膜はマイクロ流路でサンドイッチ

チされている。実験に用いるウシ全血は、血小板固着能を考慮し、3日毎に交換する。複数の透析膜を並行して実験し、所定の時間において取り出し、透析膜表面のSEM観察、また同条件の別の透析膜を用いて拡散実験を行い、透析性能を評価する。

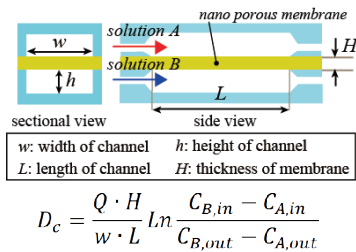
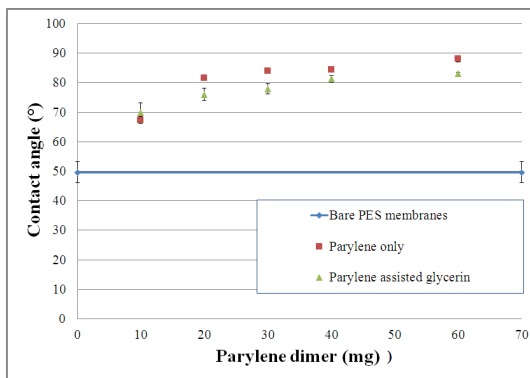


図3. 透析膜評価のための拡散実験。

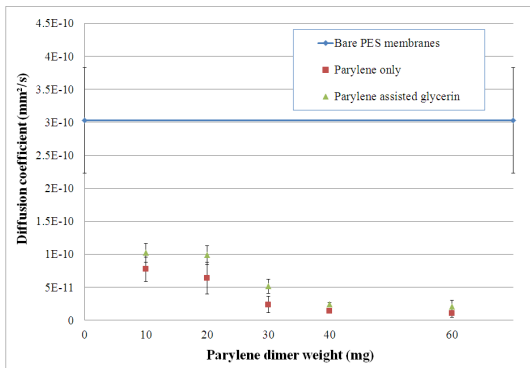
また、*in vitro* 実験での有効性を検証するために、ラットへの透析システムの接続、実験プロトコルを確立する。

4. 研究成果

まず、生体適合性の高いパリレン薄膜ならびに F-DLC 膜による PES 表面処理を行った。表面改質効果を十分に発揮しつつも、PES のナノポアを塞がないプロセスを開発した。まず、パリレンに関しては、成膜量を原料量により制御するとともに、低揮発性液体を利用したプロセスについて実験を行った。図4に示すように、パリレンの量とともに接触角が上昇する一方、透析性能は低下した。これ



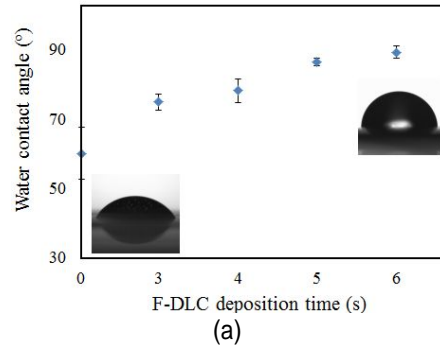
(a)



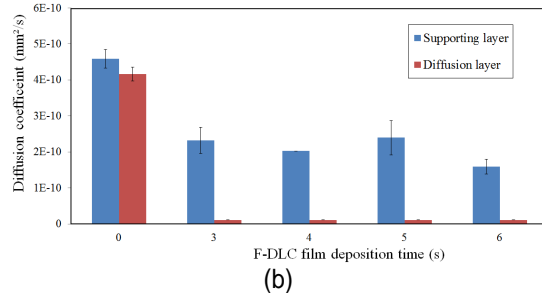
(b)

図4. (a)パリレン成膜による接触角と、(b)拡散性能の変化。

はパリレン薄膜によりナノポアがふさがれたためと考える。低揮発性液体の効果は顕著なものではなかった。原料量を 20 mg 程度にすることで、表面改質するとともに、低分子イオンの透過を可能とすることが明らかになった。



(a)



(b)

図5. (a)F-DLC 膜による接触角と、(b)拡散性能の変化。

F-DLC の成膜においても図5に示すように、パリレンと同様、接触角の増加が見られた。一方、F-DLC ではパリレンを成膜した拡散層（ナノ多孔質を有する側）に成膜した場合、拡散性能が著しく低下した。そこで、裏側の支持層側（マイクロ多孔質）に成膜し、実験においては支持層側を血液側とすることで、表面改質しつつも拡散性能を維持することができた。

次に、デバイス内に牛血を還流させることで、血液成分の付着について評価を行った。図6に、パリレン成膜の効果を示す。28日間の実験において、表面処理を施していない PES 膜では、血液成分の付着が観察された。一方で、パリレン薄膜を成膜したものでは、その付着が低減され、表面処理の効果を示すことができた。

図7に膜の拡散性能の変化を示す。表面処理を施していない PES 膜のみ、PES 膜表面にパリレンを施したものの（ダイマー量 10 mg、20 mg）で実験を行った。まず実験開始時には、表面処理を行っていない PES 膜が最も高い拡散性能を有していた。これは図4に示した実験結果と一致している。しかし、最初の1週間ほどで、PES 膜は拡散性能を急激に失っている。これは表面に血液成分が付着したことが原因と考えられる。一方で、パリレンにより表面処理したものは、実験開始時には拡散性能が低いものの、その後も安定して拡散性能を維持しており、表面処理の効果が見

られているといえる。しかしながら、PES膜のみのものも、拡散性能が0になるわけでもなく、実験開始時よりは低下したものの、拡散性能を安定して維持できていることがわかる。これは、膜状に形成された生体膜も、低分子イオンに関して拡散性能を有しているためだと考えられる。今後より長期間の実験、また、*in vivo* 実験により、評価を続けていく。*in vivo* 実験に向けて、マイクロ透析システムを腎不全モデルラットへ接続、透析実験を行うプロトコルを確立した。図8にマイクロ透析システムを、ラットに接続した写真を示す。低分子イオンの拡散に加え、例えば血中クレアチニン量などで、マイクロ透析システムの有効性を示す。

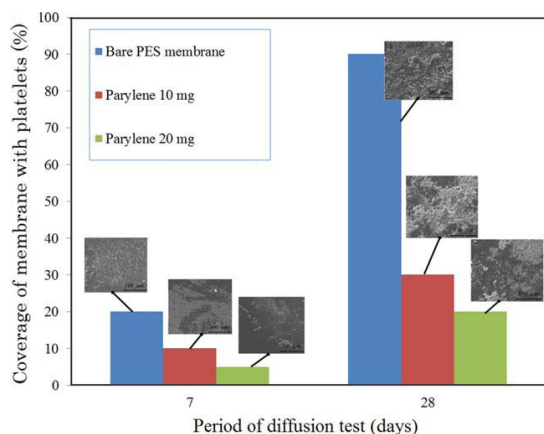


図6. パリレン成膜による血液成分付着低減効果。

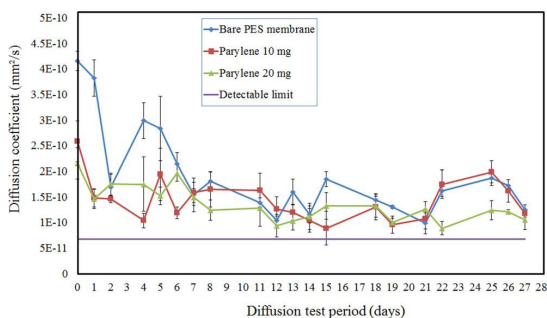


図7. 長期牛血灌流実験(28日間)における拡散性能の変化。

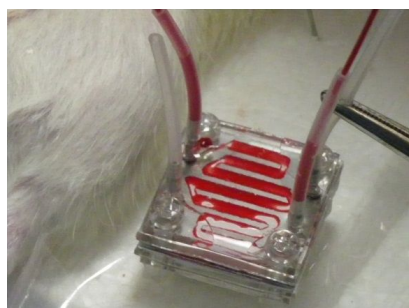


図8. ラットへのマイクロ透析システムの接続。

<引用文献>

Y. Gu, N. Miki, Multilayered microfilter using a nanoporous PES membrane and applicable as the dialyzer of a wearable artificial kidney, *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 19, 2009, 065031.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計3件)

G.S. Prihandana, H. Ito, K. Tanimura, H. Yagi, Y. Hori, O. Soykan, R. Sudo, N. Miki, Solute diffusion through fibrotic tissue formed around protective cage system for implantable devices, *Journal of Biomedical Materials Research Part B*, 査読有, 2015 (採択決定). DOI:10.1002/jbm.b.33298

G.S. Prihandana, H. Ito, I. Sanada, Y. Nishinaka, Y. Kanno, N. Miki, Permeability and blood compatibility of nanoporous parylene film-coated polyethersulfone membrane under long-term blood diffusion, *Journal of Applied Polymer Science*, 査読有, 131, 2014, 40024. DOI: 10.1002/app.0024

G.S. Prihandana, I. Sanada, H. Ito, M. Noborisaka, Y. Kanno, T. Suzuki, N. Miki, Antithrombogenicity of fluorinated diamond-like carbon films coated nano porous polyethersulfone (PES) membrane, *Materials*, 査読有, 6, 2013, 4309-4323. DOI: 10.3390/ma6104309

[学会発表](計16件)

三木則尚、マイクロ・ナノ医療デバイスとその実装技術、「第四回次世代の物質科学・ナノサイエンスを探る」シンポジウム、2015年1月9日、北海道大学(北海道・札幌市)
真田一平、藤直也、伊藤昂、森田伸也、菅野義彦、三木則尚、ラットを用いた人工透析装置の性能評価、電気学会 BMS 研究会、2014年12月2日、名古屋駅前イノベーションハブ会議室(愛知県・名古屋市)

N. To, I. Sanada, S. Morita, Y. Kanno, N. Miki, Water permeable nanoporous membrane for implantable hemodialysis device, The 18th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, MicroTAS2014, 2014年10月29日, San Antonio (USA)

藤直也、真田一平、伊藤昂、森田伸也、菅野義彦、三木則尚、埋め込み型透析装置の開発へ向けた透析膜の透水性向上、第31回「セサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム、2014年10月22日、くにびきメッセ(島根県・松江市)

三木則尚、マイクロ・ナノ医療デバイスの実装技術、実装エレクトロニクス学会主催 2014 修善寺ワークショップ、2014年10月24

日、ラフォーレ修善寺（静岡県・伊豆市）

藤直也、真田一平、伊藤昂、森田伸也、菅野義彦、三木則尚、埋め込み型マイクロ透析装置の開発、ロボティクス・メカトロニクス講演会 2014、2014 年 5 月 27 日、富山国際会議場（富山県・富山市）

真田一平、伊藤昂、G.S. Prihandana, G. Ye、登坂万結、鈴木哲也、菅野義彦、三木則尚、長期にわたるマイクロ透析装置の私用評価、ロボティクス・メカトロニクス講演会 2014、2014 年 5 月 27 日、富山国際会議場（富山県・富山市）

I. Sanada, H. Ito, G.S. Prihandana, M. Noborisaka, Y. Kanno, N. Miki, Anticoagulant nano porous polyethersulfone membrane coated with fluorinated diamond-like carbon for dialysis membrane, 26th International Microprocesses and Nanotechnology Conference, MNC 2013, 2013 年 11 月 8 日、ロイトン札幌（北海道・札幌市）

三木則尚、医療用マイクロ・ナノデバイスのための加工・表面処理技術 - マイクロ透析システムを例にとって -、第 105 回マイクロ接合研究委員会、2013 年 11 月 15 日、東京/学術総合センター（東京都、千代田区）

伊藤昂、真田一平、G. S. Prihandana、菅野義彦、三木則尚、埋め込み型マイクロ透析装置の開発、第 5 回マイクロ・ナノ工学シンポジウム、2013 年 11 月 7 日、仙台国際センター（宮城県、仙台市）

真田一平、伊藤昂、G. S. Prihandana、菅野義彦、三木則尚、登坂万結、マイクロ透析装置の長期私用評価、第 5 回マイクロ・ナノ工学シンポジウム、2013 年 11 月 7 日、仙台国際センター（宮城県、仙台市）

H. Ito, I. Sanada, G.S. Prihandana, M. Hayashi, Y. Kanno, N. Miki, No-dialysate micro hemodialysis system, The 17th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, MicroTAS 2013, 2013 年 10 月 29 日、Freiburg (Germany)

I. Sanada, H. Ito, G.S. Prihandana, M. Noborisaka, Y. Kanno, N. Miki, Antithrombogenicity of nano porous polyethersulfone membrane coated with fluorinated diamond-like carbon, The 17th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, MicroTAS 2013, 2013 年 10 月 29 日、Freiburg (Germany)

三木則尚、医療用 MEMS の人工透析システムへの応用、MEMS 実装パッケージング・フォーラム、ナノ・マイクロビジネス展、2013 年 7 月 3 日、東京ビックサイト（東京都、江東区）

G.S. Prihandana, Y. Nishinaka, H. Ito, Y. Kanno, N. Miki, Long term diffusion performance of nano porous polyether sulfone membrane in dialysis system, The 17th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators, and Microsystem, Transducers 2013,

2013 年 6 月 18 日, Barcelona (Spain)

真田一平、伊藤昂、G. S. Prihandana、菅野義彦、三木則尚、マイクロ透析装置に用いる透析膜への DLC コーティング、ロボティクス・メカトロニクス講演会 2013、2013 年 5 月 22 日、つくば国際会議場（茨城県、つくば市）

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.miki.mech.keio.ac.jp>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

三木 則尚 (MIKI, Norihisa)

慶應義塾大学・理工学部・准教授

研究者番号：70383982

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号：

(3) 連携研究者

菅野 義彦 (KANNO, Yoshihiko)

東京医科大学・医学部・主任教授

研究者番号：30276232