

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15627

研究課題名（和文）マイクロ流体緑内障インプラントデバイスの開発

研究課題名（英文）Development of microfluidic glaucoma implant device

研究代表者

木下 晴之（Kinoshita, Haruyuki）

東京大学・生産技術研究所・特任助教

研究者番号：40466850

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,700,000円

研究成果の概要（和文）：わが国で最も多い中途失明の原因である緑内障を治療するための新しいインプラントデバイスを開発した。わずかな眼圧上昇によって網膜視神経が損傷することで視力を失う緑内障を治療するため、本デバイスは眼圧が一定圧力まで上昇するとバルブが開いて眼圧を下げる機能を持つ。微小流路網や微小バルブを柔軟素材で作製したフィルム状の薄くて小さく柔らかい3次元形状デバイスに集積化することで、術後の審美性を損なう結膜上への不自然なデバイス露出を抑えつつ、安定した房水排出と確実な圧力制御を実現した。

研究成果の概要（英文）：A new implant device available for glaucoma treatment was developed by using microfluidic technologies. This implant is called a microfluidic glaucoma drainage device (GDD), which has a flow channel and a passive micro-valve. The opening pressure of the micro-valve was measured to evaluate its pressure regulation performance. The results show that the pressure is regulated at low level enough to be available for glaucoma treatment. An ex vivo test was also performed to verify the availability of the developed microfluidic GDD. A tip of the device was inserted into the anterior chamber of an eye taken from a slaughtered pig. The pressure in the eye was artificially elevated by injecting water into the eye from outside. We observed the outlet of the flow channel to detect liquid drainage and monitored the pressure. The result shows that the developed device provides a clinical-level ability in eye pressure regulation.

研究分野：マイクロ流体

キーワード：緑内障 インプラントデバイス マイクロ流体

1. 研究開始当初の背景

(1) 緑内障とは、眼圧上昇により網膜神経節細胞が圧迫され、損傷し、徐々に視野が狭まり、失明に至る疾患のことで、わが国で最も多い中途失明原因である。眼内を循環する房水の流出経路にあたる線維柱帯やシュレム管に異常が起き、流出抵抗が増加すると流れが滞って眼圧が上昇する。これを治療するため、房水産生を抑制する薬剤の投与、排出を促進するレーザー治療や線維柱帯切除術等の外科手術が実施される。それでも眼圧が下降しない難治例では、人工的に房水流出路デバイス (Glaucoma Drainage Device, GDD) を結膜下に埋め込んで圧力を下げるインプラント手術が適応となる。わが国でも2種類のGDDが認可され、2012年には保険適用にもなったため、今後さらに利用が増えるだろう。現在、臨床応用可能なGDDは世界では4種類存在するが、Baerveldt型(AMO, Inc., USA)に代表されるように、いずれも眼球内に挿入し外部へ房水を導く「管」と、眼球に固定する「プレート」で構成されており、非常に単純である(引用文献①)。簡単なバルブを持つタイプもあるが(国内未認可)、他は圧力調整機能を持たない(引用文献②)。

(2) 現行の単純構造を持つGDDの抱える最大の問題が「サイズが大きく、厚く、硬いこと」である。その結果、結膜上へのデバイスの露出が起き、術後の見た目を著しく悪くする。硬い管が結膜を破って突き出る場合もある。また「房水排出機能の喪失」も深刻な問題である。一経路で排水を行う限り、デバイス周囲の線維瘢痕化や細胞の付着や凝固によって流路がつまって排水不能になるリスクが高い。3つめの問題が「眼圧調整機能」である。正常眼圧(8~21 mmHg)に対してわずかな上昇(数 mmHg)で視神経は損傷するが、バルブ無しでは精密な圧力制御は不可能である。

2. 研究の目的

本研究では、現行のGDDが抱える問題を解決するためのキーテクノロジーとして、「マイクロ流体技術」に着目し、新しい「マイクロ流体技術を利用したGDD(マイクロ流体GDD)」を開発することを目的とする。わずかな眼圧上昇によって網膜視神経が損傷することで視力を失う緑内障を治療するため、インプラントデバイスに求められるのは眼圧調整機能である。本研究で提案するデバイスは、微小流路や微小バルブを柔軟素材で作製したフィルム状の薄くて小さい柔軟かいデバイスに集積化することで、術後の審美性を損なう結膜上への不自然なデバイス露出を抑えつつ、安定した房水排出と確実な圧力制御を実現する。

3. 研究の方法

(1) デバイス材料の生体適合性について検討、

評価を行った。デバイス材料表面に細胞組織やタンパク質が接着するかどうかを、実際に動物検体に埋め込んで実験的に確認する。デバイス材料として、2液混合型のインプラント用高純度シリコン MED-6015 (NuSil Technology) を用いた。本シリコンは29日間以内であれば生体内に埋め込み可能な材料であり、また、ほぼ同じ材料特性を持った永久的に埋め込み可能なインプラントシリコンも同メーカーから提供されており、将来的な長期埋め込み動物実験や臨床応用にも対応できる。MED-6015 を用いて幅1 mm、長さ2 mm、厚み0.3 mmの試験片を作製し、それをラットの眼球の結膜下に挿入した。挿入直後と1週間後の試験片周囲の様子を顕微鏡で観察・撮影し、デバイス材料が眼球に与える影響を実験的に調査した。

(2) マイクロ流体GDDを設計し、実際に試作した。デバイス本体をはじめ、微小流路網の配置や微小バルブ構造を設計し、シリコンゴムで実際に試作デバイスを作製した。本研究では3種類のマイクロ流体GDDを設計・試作し、それぞれ評価を行う。第一に「プロトタイプデバイス」を設計・試作した。マイクロ流体GDDのアイデアを実証することを目的として、膜バルブ技術などの従来のマイクロ流体デバイス技術を利用して開発し、基本的な機能を実証した。第二に「バルブ機能付柔軟シート型デバイス」を設計・試作した。膜バルブ構造をシート状小型デバイス内に集積化し、バルブ機能の試験と評価を実施する。最後に「リーク流路付柔軟シート型デバイス」を開発した。膜バルブ構造に加えて、リーク流路を内蔵することにより、正常眼圧条件下においても房水排出機能を担保し、より健康状態に近い圧力調整機能を実現する。

(3) マイクロ流体GDDの試作では、従来のフォトリソグラフィ技術、シリコンによる型取り技術、およびシリコン同士の接合技術を利用する。房水排出流路となるパターンが描画されたフォトマスクを用意し、それを基板としてフォトレジストを塗布し、房水排出流路型を成型する。それを反転型としてインプラント用シリコン MED-6015 で型取りすることで、マイクロ流体GDDの上部シートとする。一方、同材料で平面シートを作製し、下部シートとする。上部シートと下部シートを接合し、成型することでマイクロ流体GDDを作製する。局所的に非接合領域を設け、その非接合部分が、負荷される圧力に応じて合わせ面が剥がれたり接着したりすることで流れを制御するバルブ機構を実現する。

(4) 試作した3種類のマイクロ流体GDDに対して、性能評価のための卓上実験を実施した。試験用実験セットアップを卓上に構築し、流量や圧力の計測、排水の様子を可視化を

施することで、試作デバイスの基本的な眼圧調節機構を生体外において定量的に評価する。「プロトタイプデバイス」では、マイクロ流体 GDD のアイデアを実証するため、試作デバイスを卓上眼球モデルに装着して、一定圧力になると膜バルブが開いて房水が排出される機構を実証する。膜バルブの大きさを変えることでバルブ開閉圧力しきい値を調節できることを確認する。「バルブ機能付柔軟シート型デバイス」においては、膜バルブとなる非接合領域の形状を変えることでバルブ開閉圧力しきい値を調節できることを確認する。「リーク流路付柔軟シート型デバイス」に関しては、膜バルブによる圧力調節に加えて、リーク流路による房水排出機能の実証に加えて、配置するリーク流路の本数によって圧力しきい値を調節できることも実験的に確認する。また、膜バルブとなる領域へフッ素系化合物を塗布することによる圧力制御性への影響も調査する。

(5) 開発した試作デバイスを動物眼球検体へ埋め込んで動物実験を実施した。眼圧が上昇したときの房水排出機能や圧力調整機能を測定、評価した。本実験では、生体から抽出した豚眼検体を試料として用いる。実証実験には「バルブ機能付柔軟シート型デバイス」および「リーク流路付柔軟シート型デバイス」を用いる。豚眼試料の角膜を切開して挿入口を設けて、そこからデバイス先端を挿入し、眼球にそってデバイスを設置する。眼球に2本の注射針を差し込み、一方の注射針には、眼圧を人工的に上昇させるための圧力印可装置を、もう一方の注射針には、眼圧を測定するための圧力センサを接続する。眼球内には房水の代わりに青色色素で着色した色水を満たす。圧力印可装置を使って眼圧を徐々に上昇させ、マイクロ流体 GDD によって房水が排出される様子を観察し、そのときの眼圧値を測定した。

4. 研究成果

(1) デバイス材料であるインプラント用シリコン MED-6015 の試験片をラットの眼球へ埋め込み、影響を評価した。結膜の一部を切開して試験片（幅 1 mm、長さ 2 mm、厚み 0.3 mm）を挿入して経過を観察した。比較のため、実際に臨床で治療に用いられている Baerveldt 型 GDD のチューブを埋め込んだ検体と、結膜を切開しただけの検体（コントロール）も用意した。その結果を図 1 に示す。3 検体ともに、試験片を埋め込んだ直後も一週間後も変化は全く観察されず、癒着化や炎症も確認されなかった。試験片への細胞や組織の接着も起きなかった。つまり、インプラント用シリコン MED-6015 はマイクロ流体 GDD の材料として問題なく利用できることがわかった。

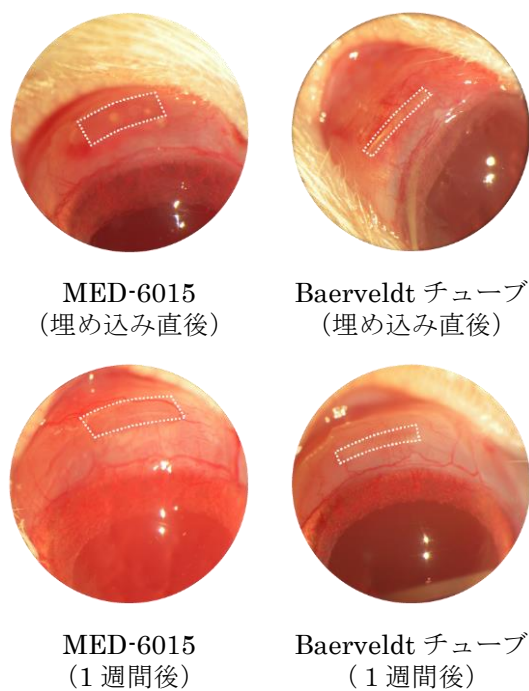


図 1 材料埋め込み試験

(2) 試作した3種類のマイクロ流体 GDD のうちの一つである「プロトタイプデバイス」を図 2 に示す。房水を排出するための流路の末端に膜バルブが配置され、眼圧が上昇すると、膜バルブに加わる圧力が上昇し、一定しきい値を超えると膜バルブが開き、房水が排出されると同時に眼圧も下降する。ここではサイズの異なる膜バルブを内蔵した2つのデバイス（タイプ A、タイプ B）で検証実験を行った。卓上眼球モデルに挿入し、眼圧を徐々に上昇させ、流路を流れる流量と圧力を測定し、圧力調節機能を評価した。その結果を図 3 に示す。タイプ A では 16.55 kPa でバルブが開いて房水が流れ出した。一方、タイプ B では 12.85 kPa でバルブが開いた。以上より、眼圧が一定圧力しきい値を超えると膜バルブが開き、眼圧が下降するという基本システムが実証され、その圧力しきい値をバルブサイズで調節できる可能性が示された。しかし、圧力しきい値は実際の正常な眼圧値（1.07～2.80 kPa）に比べると高く、さらに低い圧力しきい値で眼圧を制御できるように改良する必要が認められた。

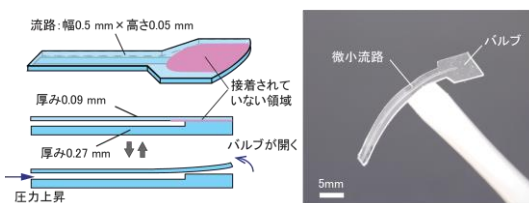
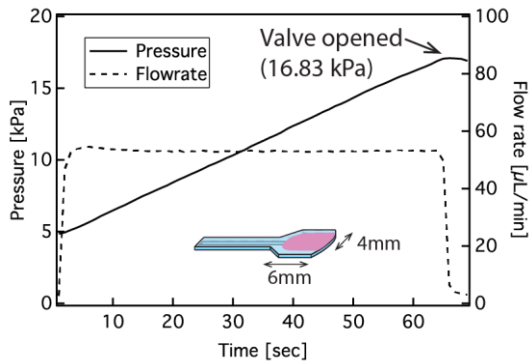
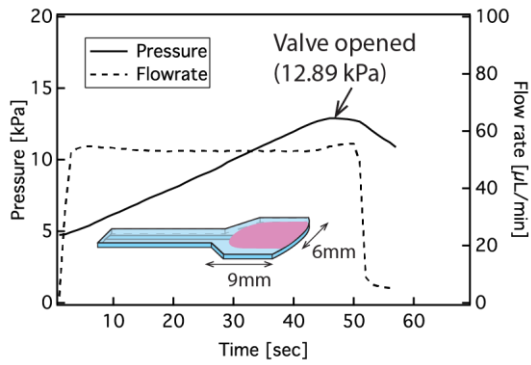


図 2 プロトタイプデバイス



タイプ A



タイプ B

図3 プロトタイプデバイス評価実験

(3) 試作した「バルブ機能付柔軟シート型デバイス」を図4に示す。本デバイスでは、膜バルブが房水排出流路の途中に配置されている。「プロトタイプデバイス」と同様に、膜バルブ部分が剥がれることで流路が開通し、房水が流れ出し、眼圧を下降させる仕組みになっている。バルブ形状を台形することで、バルブ開閉圧力しきい値を下げる効果を狙っている。流路サイズおよびバルブサイズの異なる3種類のデバイスを作製して比較した。例えば、 $W_1=1000\ \mu\text{m}$ 、 $W_2=500\ \mu\text{m}$ の場合、圧力値が9.65 kPaを超えるとバルブが開き、圧力が速やかに下降することが確認された。バルブサイズと圧力しきい値を表1にまとめる。開く圧力しきい値をバルブ形状やサイズを設計することで調整できることが実証され、台形状バルブが圧力しきい値低減に効果があることが確認された。しかし、正常な眼圧値(1.07~2.80 kPa)に比べるとまだ高く、圧力しきい値を下げるための工夫および改良が必要であることがわかった。

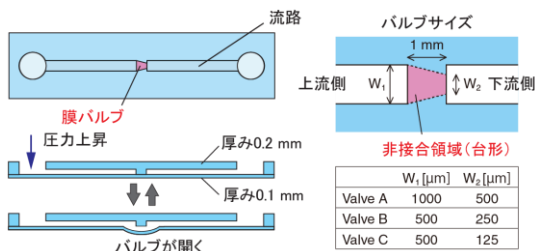


図4 バルブ機能付柔軟シート型デバイス

表1 バルブサイズと圧力しきい値

W_1 [μm]	W_2 [μm]	圧力しきい値 [kPa]
1000	500	9.65
500	250	20.88
500	125	41.54

(4) 「リーク流路付柔軟シート型デバイス」を図5に示す。「バルブ機能付柔軟シート型デバイス」のバルブ部分に、さらに微小なリーク流路を設けることで、バルブが閉まった状態でも房水が少しずつ流れ出る機構を実現している。圧力が一定値を超えるまではこのリーク流路を通して房水はわずかに流出し、圧力が一定値を超えると膜バルブが開いて、房水排出流量が増大することで圧力を下げる。リーク流路の本数が圧力調節機構に与える影響を評価した。リーク流路を3本内蔵したデバイスの場合、圧力上昇にともなってリーク流路を流れる流量も徐々に上昇し、圧力が3.70 kPaを超えた時点で膜バルブが開いて房水排出流量が増大している。リーク流路の本数とバルブが開く圧力しきい値を表2にまとめる。リーク流路によって正常眼圧範囲でも房水の排出を担保しつつ、眼圧が一定しきい値を超えるとバルブが開いて圧力を下げるといふ新しい機構を実証できた。圧力しきい値については、リーク流路の本数が多いほど小さくなり、前述の2つのデバイスよりもさらに低くすることに成功したが、まだ不十分で、より低くする工夫が求められる。

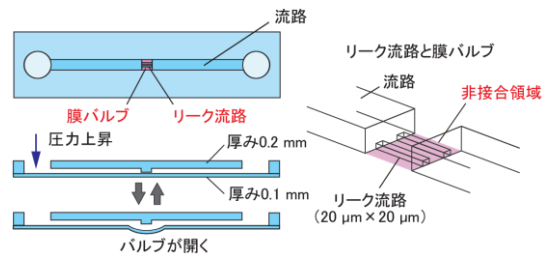


図5 リーク流路付柔軟シート型デバイス

表2 リーク流路と圧力しきい値

圧力しきい値 [kPa]	リーク流路本数			
	0	1	2	3
圧力しきい値 [kPa]	5.55	4.40	4.20	3.70
Std	0.30	1.12	0.89	0.56

(5) さらに低い圧力しきい値で膜バルブが開くようにするため、膜バルブ部分に表面コーティングを行った。ここでは CHF_3 プラズマを膜バルブ部分のみに照射することで、フッ素系化合物である CHF_3 を膜バルブ部分のみに局所的に塗布した。 CHF_3 を塗布することによってシリコン同士の粘着力を下げることで、膜バルブが開く圧力しきい値を低くする。ここでは塗布される CHF_3 層の厚みを

プラズマ照射時間で制御している。プラズマ照射時間（CHF₃層の厚み）と、そのときの膜バルブが開く圧力しきい値を表3にまとめる。CHF₃プラズマを30秒間または40秒間照射することにより、圧力しきい値は2 kPaより低くなった。この結果より、膜バルブ部分へのCHF₃塗布によって、膜バルブ開閉圧力しきい値を正常圧力範囲付近に調節可能であることが確認された。つまり、緑内障治療に利用できる圧力調節機構を実現できることが実証された。

表3 CHF₃塗布と圧力しきい値

	照射時間[sec]			
	0	20	30	40
圧力しきい値 [kPa]	5.55	3.19	1.38	1.36
Std	0.34	0.55	1.18	0.55

(6)最後に、生体から抽出した豚眼試料に開発したマイクロ流体 GDD を実装し、眼圧調節試験を実施した。実験セットアップを図6に示す。ここでは「バルブ機能付柔軟シート型デバイス」と、「リーク流路を1本内蔵した「リーク流路付柔軟シート型デバイス」を用いた(図7)。どちらも膜バルブ部分にはCHF₃プラズマを30秒間照射し、CHF₃を塗布している。実際に眼球へ挿入するため、デバイス全体の厚みが0.4 mmとなるように作製している。実験の様子を図8に示す。「バルブ機能付柔軟シート型デバイス」の場合、眼圧を徐々に上昇させていくと、しばらく房水(青色水)は排出されず、眼圧が1.87 kPaを超えると、房水排出流路から房水が流れ出てきた。一方、「リーク流路付柔軟シート型デバイス」の場合、眼圧を上昇させるとわずかに房水が流出しているのが確認され、眼圧が2.00 kPaに到達すると房水排出流路からの排出量が増大した。以上の結果より、開発した2種類のマイクロ流体 GDD は眼圧を一定圧力しきい値以下に抑えるために有効であることが実証された。

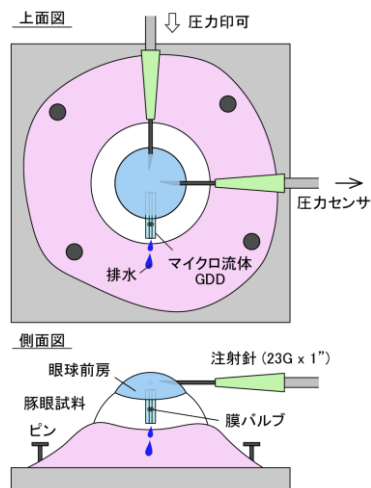
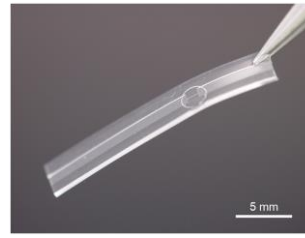
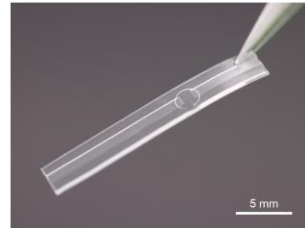


図6 豚眼を用いた実験セットアップ



バルブ機能付柔軟シート型デバイス



リーク流路付柔軟シート型デバイス

図7 豚眼の眼圧調節試験に用いたマイクロ流体 GDD

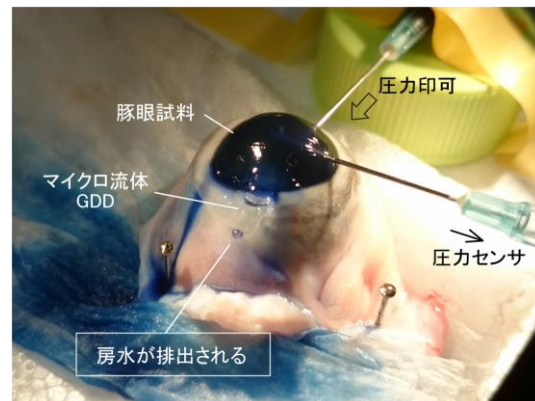


図8 豚眼を用いた実証実験の様子

(7)本研究では、緑内障治療に利用できるマイクロ流体 GDD を開発し、その評価を行った。開発したマイクロ流体 GDD は柔軟で、薄いシート状になっており、さらに眼圧調節機能を内蔵している。リーク流路を内蔵させることで、正常眼圧範囲において房水排出流量を確保することができ、より健常状態に近い圧力制御機能および房水排出機能を実現している。リーク流路の本数や、膜バルブ部分への表面コーティングによって、制御される圧力しきい値の調節が可能であることが実証された。実際に、開発したマイクロ流体 GDD を使って豚眼の眼圧調節試験を実施したところ、眼圧を1.87~2.00 kPa (14~15 mmHg) の範囲に抑えながら房水を排出することに成功した。

<引用文献>

- ① T. M. Shaarawy, *et al.*, Glaucoma Volume 2: Surgical Management, Saunders Ltd., 2009.
- ② Q. M. Luong *et al.*, Adv. Healthcare

Mater., 3, 2014, 205-213.

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 3 件)

- ① 徐 若棋、木下 晴之、朝岡 亮、相原 一、藤井 輝夫、緑内障インプラントデバイスのためのマイクロバルブの改良、2015 年度精密工学会秋季大会学術講演会、2015 年 9 月 5 日、東北大学 (宮城県仙台市)
- ② 徐 若棋、木下 晴之、藤井 輝夫、マイクロ流体技術を応用した緑内障インプラントデバイス開発、東京大学医学部附属病院先端医療シーズフォーラム 2016、2016 年 2 月 2 日、東京大学 (東京都文京区)
- ③ R. C. Hsu, H. Kinoshita, R. Asaoka, M. Aihara, and T. Fujii, Development and demonstration of microfluidic glaucoma drainage device, the 20th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2016), 2016 年 10 月 11 日, Dublin (Ireland)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称：房水排出装置

発明者：木下 晴之、藤井 輝夫、徐 若棋、朝岡 亮、相原 一

権利者：国立大学法人東京大学

種類：特許

番号：特許願 2017-046945

出願年月日：平成 29 年 3 月 13 日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木下 晴之 (KINOSHITA, Haruyuki)

東京大学・生産技術研究所・特任助教

研究者番号：40466850

(2) 連携研究者

藤井 輝夫 (FUJII, Teruo)

東京大学・生産技術研究所・教授

研究者番号：30251474

朝岡 亮 (ASAOKA, Ryo)

東京大学・医学部附属病院・特任講師

研究者番号：00362202