

平成22年 5月31日現在

研究種目：基盤研究(B)
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19310091
 研究課題名（和文）蚊の穿刺行動の観察と医療用マイクロニードルへの応用
 研究課題名（英文）Observation of Mosquito's Penetrating Motion and Its Application to
 Microneedle for Low-invasive Medical Treatment

研究代表者
 青柳 誠司 (AOYAGI SEIJI)
 関西大学・システム理工学部・教授
 研究者番号：30202493

研究成果の概要（和文）：

MEMS 技術を援用し、蚊の針を模倣した低侵襲マイクロニードルの開発を目的とした。拡大光学系と高速度カメラを用いて蚊の穿刺行動を観察し、小顎が先導的に進みアンカーの役割を果たし2本の小顎の間のスペースに上唇が打ち込まれ、これを振動的に繰り返すことにより穿刺が進行することを、その穿刺スピード、同期タイミング等を含めて定量的に明らかにした。動的 FEM 解析と実デバイスによる実験の両面から本穿刺メカニズムについて検討し、小顎と上唇の協調動作による刺入方法が穿刺力を低減させる効果を確認した。微細針を3次元的に尖鋭化する手法を開発した。作製した針の穿刺力が現行の金属針に比べて小さいことを確認した。

研究成果の概要（英文）：

Aiming at use for low-invasive medical treatment, development of microneedle imitating mosquito's proboscis using MEMS technology was proposed. A penetrating motion of mosquito's proboscis to a transparent thin skin of laboratory rat was observed by a magnifying lens and high-speed camera system. Following facts were confirmed by the observation: (a) two maxillas are inserted to human skin organism, playing a role of anchor. (b) Labium is inserted to the space between two maxillas. The procedures of (a) and (b) are cyclically repeated, while the proboscis progresses deeper inside the object. Also various parameters were quantitatively evaluated such as insertion speed, cycle time, etc. Considering insertion mechanism of mosquito's proboscis using both dynamic FEM simulation and experiment on a developed device (combined microneedle), it was proven that the cooperative alternative motion of combined needles is much effective for reducing the necessary force for penetrating the skin. Moreover, a microneedle with sharp tip was realized, resistance force of which was much smaller than that of a commercial lancet needle.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	11,000,000	3,300,000	14,300,000
2008年度	3,300,000	990,000	4,290,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	15,400,000	4,620,000	20,020,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学 ・ マイクロ・ナノデバイス

キーワード：蚊、穿刺行動観察、穿刺メカニズム、医療用マイクロニードル、マイクロマシニング

1. 研究開始当初の背景

現在糖尿病患者は血糖値測定のために、1日2~6回の採血を行わなければいけない。この採血は、金属製のストレートな形状の中実な針（ランセット）を瞬間的に皮膚に突き刺して微量の出血を生じさせ、これを検査紙で吸い取ることにより行われている。採血には痛みや恐怖を伴い、患者にとって大きなストレスであり、医療現場では低侵襲性のランセットが強く望まれている。また血液検査、薬剤投与に用いられる中空針についても、同様に低侵襲性であることが強く望まれている。これら痛みの原因として、現状の金属製の針が概ね直径300 μm 以上と比較的太く、このため皮膚の痛点を避けることが困難であること、針と皮膚組織との間で摩擦力が生じ、これに伴い針周囲の皮膚組織が損傷を受ける（損傷の度合いは針の太さ、形状、材質、穿刺方法等に関連する）ことが考えられるが、定量的な痛みの発生のメカニズムは未だ解明されていないのが現状である。針を細くすることに関しては、直径200 μm の金属製針が商品化されているが、痛みが和らぐものの、無痛の穿刺は実現できていない。

一方、人間は蚊に刺されてもほとんど痛みを感じない。この理由は、蚊の針は直径が約30~50 μm と非常に小さく皮膚の痛点を避けやすいこと、針が独特のギザギザ形状をしていることであると言われているが、これらは推論の域を出ず、正確なメカニズムは解明されていない。これは蚊の針が微小であり複雑な構造をしていること、吸血対象となる生物以外の人工物への誘引が困難なこと、生体皮膚を対象とした場合も穿刺箇所が一定でないこと、生体皮膚が不透明なため皮膚内部が不可視であること等に起因して、穿刺過程の観察が容易では無いことが大きな理由となっている。また蚊の針はポリマーでありながら剛性（硬い）と靱性（折れにくい）を併せ持つ。

申請者は過去に、マイクロマシン技術を用いて、シリコン製中空マイクロ注射針および生分解性ポリマー製中実マイクロ注射針の作製を行った。これらいずれの針も、蚊の針を模擬して外形をギザギザ形状にして、痛みの低減を目指している。また作製された針を人工皮膚に見たてたシリコンゴ

ムに穿刺する試験を行い、穿刺抵抗力の評価も行った。しかしながら、ギザギザ形状の効果を確認できなかった。

また蚊の穿刺メカニズムを解明すべく、透明な寒天に蚊を穿刺させ、その行動を拡大レンズを介してCCDカメラにより観察したが、拡大率とサンプリングレートの制約から、ギザギザ形状の機能や振動とのシナジー効果等について解明できるに至らなかった。

以上を考慮し、真に痛みの少ない微細針の実現には蚊をモデルにしてその穿刺メカニズムを解明し、数値シミュレーション等によりその妥当性を検証し、これらの結果に基づいて針の構造、材質、穿刺方法の観点から蚊を模倣したマイクロ注射針を開発する必要があるとの判断に至った。

2. 研究の目的

MEMS技術を援用し、蚊を模倣した低侵襲マイクロニードルの開発を目的とする。拡大光学系と高速度カメラを用いて蚊の口器構造・穿刺動作を詳細に観察した結果と、有限要素法解析の結果に基づいて蚊の穿刺メカニズムについて検討し、その成果をマイクロニードルの設計・製作にフィードバックする。具体的には以下の研究内容を遂行した。

- (1) 蚊の穿刺行動の観察
- (2) 蚊の穿刺メカニズムのモデル構築と有限要素法による妥当性の確認
- (3) マイクロマシニングによるシリコン製とポリマー製のマイクロニードルの作製
- (4) 微細針を組み合わせたアクチュエータ付き複合針の開発と穿刺実験による穿刺抵抗力の確認

3. 研究の方法

(1) 蚊の穿刺行動の観察

蚊の口器構造をSEM（走査型電子顕微鏡）を用いて観察する。また作動距離の長い光学レンズ（ライカ社、最大光学倍率:115倍）と高速度カメラ（ナック社、秒1,000コマ撮影）を組み合わせた観察システムにより蚊の穿刺動作を撮影する。蚊は生体内を流れている血液に最も誘引される。ラットに麻酔を施し、呼吸による振動の影響を受けにくく、かつ透明な組織が観察しやすい下肢筋肉部分を切開により露呈させ、蚊にその部分への穿刺を行わせる。本観察結果から、蚊のギザギザ形状の機能、振動付与の効果、

これら両者のシナジー効果等、蚊の針の穿刺メカニズムを推定・検討する。

(2) 蚊の穿刺メカニズムのモデル構築と有限要素法による妥当性の確認

衝突・破壊現象が扱える有限要素法(Finite Element Method: FEM) ソフト ANSYS LS-DYNAにより、蚊と同様の形状・寸法の微細針を複数組み合わせた針をモデル化し、前項で推定されたメカニズムに従って各微細針を運動させ、穿刺対象である皮膚の変形・破壊していく様子をシミュレーションする。本解析では皮膚内の微小有限要素に破壊強度以上の応力が加わった際にその要素を削除するモードを適用し、蚊の針が皮膚組織を破壊しながら進行する様子をシミュレーションできる。

移動境界条件を扱う動的解析では、針や穿刺対象の厳密な機械的物性値(ヤング率・破断強度等)が必要となる。そのため、マイクロ材料評価試験を実施し、これら測定した物性値をシミュレーションへ反映させる。

(3) マイクロマシニングによるシリコンおよびポリマー製マイクロニードルの作製

尖鋭な針先端付近に生じる応力が皮膚の破壊応力以上となった時に、針の皮膚への穿刺が生じる。針先端が鋭いほど応力集中の度合いが大きくなり、針に加える力が小さくても穿刺が可能となると考えられる。そこで、電解エッチング手法を利用し、微細針先端を3次元的に尖鋭化することについて検討した。

また構造材をシリコンから生分解性ポリマー(ポリ乳酸, Polylactic acid: PLA)へ変更し、電解メッキとマイクロモールディングによる微細針の開発を行った。

(4) 微細針を組み合わせたアクチュエータ付き針の開発

蚊の口針の上唇と小顎を模擬し、微細針を複数組み合わせた複合微細針をマイクロマシニングにより作製する。蚊の観察結果から、上唇と小顎は一方が前進・後退するとき他方が後退・前進するような位相差を持つ振動運動をすることを確認している。これに倣い、各微細針をアクチュエータにより位相差を持たせて振動駆動できるような針構造を設計・製作する。

(5) 穿刺実験による穿刺抵抗力の確認

作製したアクチュエータ付き複合微細針を人工皮膚へ穿刺する実験を行い、前記ギザギザ形状と振動付与のシナジー効果等を実験的に評価し、蚊の針の穿刺メカニズムについてより定量的に検討する。

4. 研究成果

(1) 蚊の穿刺行動の観察

① 蚊の口器は血液の通り道である上唇(Labrum)、唾液の通り道である咽頭(Pharynx)、大顎(Mandible) 2本、小顎(Maxilla) 2本の複数の器官で口針を構成し、

口針が鞘状の下唇(Labium)に収まる構造であることをSEMより確認した。小顎の外形がギザギザ形状をしていることを確認した。

② 従来は観察が困難であった咽頭、大顎の観察に成功した。さらに、咽頭から唾液を頻繁に出す様子、赤血球を高速に吸い取る様子の観察に世界で初めて成功した。

③ 蚊は穿刺の際、小顎が先導的に進みアンカーの役割を果たし、2本の子顎の間のスペースに上唇が打ち込まれ、これを振動的に繰り返すことにより穿刺が進行することを、その穿刺スピード、同期タイミング等を含めて定量的に明らかにした(図1)。

④ 観察結果より、小顎のギザギザの役割は、接触面積を減らして摩擦抵抗を減らす、鋸のように組織を切り裂くという目的よりも、上唇を打ち込むためのアンカーとしての役割が大きいことを明らかにした。

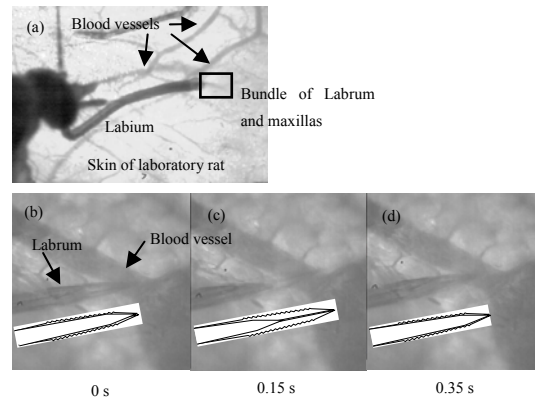


図1 蚊の穿刺動作の撮影結果：(a) 蚊の穿刺動作の撮影画像、(b-d) 小顎と上唇の協調動作による穿刺の撮影画像蚊の針の協調動作(光学倍率 46倍)。

(2) 蚊の穿刺メカニズムのモデル構築と有限要素法による妥当性の確認

① 蚊の口器構造を模擬し、3本のマイクロニードルから構成される複合微細針をFEMでモデル化し、針の穿刺による皮膚組織の変形・破壊現象の様子をシミュレーションすることに成功した。

② 微細針の振動付与の穿刺効果について検討し、振動付与により穿刺の際に必要な力が小さくなることを確認した。

③ 小顎を先導的に穿刺させ上唇を打ち込む刺入方法が穿刺力の低減に効果があることを確認した。

(3) マイクロマシニングによるシリコン製マイクロニードルの作製

① フッ酸溶液を用いた電解エッチング手法により、シリコンニードルの先端を3次元的に尖鋭化することに成功した(図2)。針の先端角度は約15~30°であった。

② 鋭利な先端角度をもつポリマーニードル

の製作プロセスを提案し、電解メッキとマイクロ射出成形で製作した。バリが少なく表面が滑らかなポリマーニードルが実現できた(図3)。

③ 尖鋭化したシリコンおよびポリマーニードルの穿刺抵抗力を評価し、既存の金属針と比べて同等以下の力で穿刺できることを確認した(図4)。

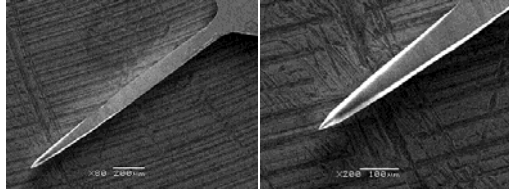


図2 電解エッチングで尖鋭化したシリコンニードル

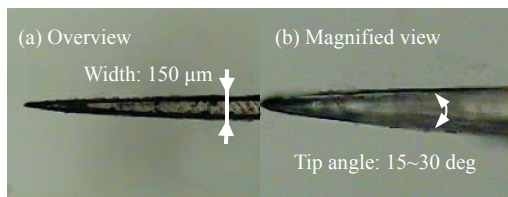


図3 尖鋭化したPLAニードル

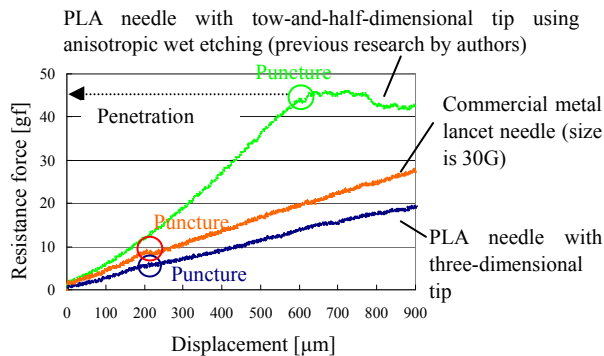


図4 PLAニードルの穿刺抵抗力の評価結果

(4) 微細針を組み合わせたアクチュエータ付き針の開発と穿刺実験による穿刺抵抗力の確認

① マイクロマシニングにより複合微細針を製作した(図5)。小顎のギザギザ形状はDRIE (Deep Reactive Ion Etching)により加工した。製作した微細針とPZTアクチュエータと組み合わせ、各微細針が独立して振動駆動できる穿刺デバイスを実現した(図6)。

② 3本の微細針を同時に穿刺する(Mode A)、3本の微細針を振動させながら穿刺する(Mode B)、3本の微細針に位相差を持たせ協調動作させながら穿刺する(Mode C)という3種類の異なる穿刺方法において、穿刺抵抗力を評価した。その結果、上記シミュレーションと同様の事項が実験においても確認できた(図7)。

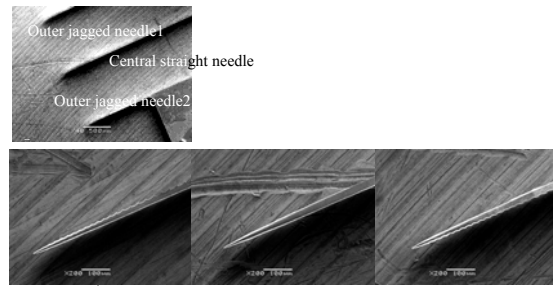


図5 マイクロマシニングにより製作した複合微細針

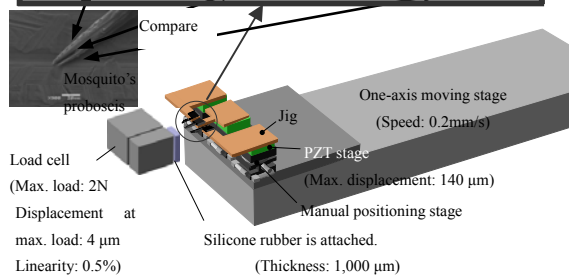
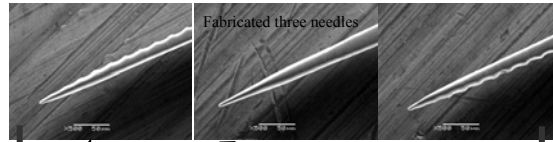


図6 複合微細針の穿刺評価試験装置(分解能: 位置 0.75 μm, 力 0.5 μN)

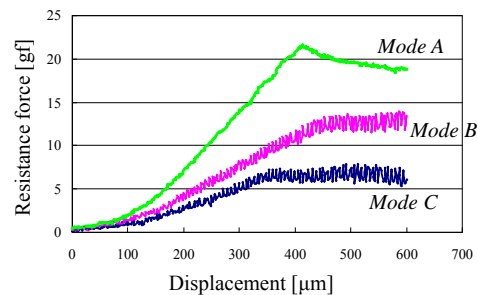


図7 シリコンゴムへ穿刺させた際の穿刺抵抗力の測定結果

(5) 今後の展望

① 本研究成果の一部は、既に国際会議やジャーナル論文において発表済みであるが、今後さらに Transducers, MEMS 等の関連国際会議にて論文発表を予定している。直近では MEMS・ナノテクノロジー分野に関する国際会議 (APCOT2010) で口頭発表 (平成 22 年 7 月) することが決定している。また学術論文についても数誌に執筆予定であり、Nature への投稿を最終目標とする。

② 現段階で、電子機器メーカ、精密加工機器メーカ等の数社から本研究成果について問い合わせがあり、共同研究に向けて打合せを行っている段階である。その過程において、特許が必要であると判断されれば、特許出

願も積極的に行っていく予定である。

③ 開発した複合微細針は現行の金属針と比べて小さな穿刺力を実現できていることを確認している。これより、穿刺の際の痛みが小さいことが期待されるが、今後、痛みの度合いを定量的に評価することが必要となる。将来的には、医療用器具製造・販売企業との共同研究を目指し、その過程で臨床治験による現行金属針に対する痛みの低減の度合いなどの定量的評価を行っていききたい。

④ 開発した生分解性ポリマー製マイクロニードルは、医療への実用面では機械的強度が十分ではない。そのため、生分解性を有しつつポリ乳酸よりもさらに高い強度が期待できるキチン（蟹等甲冑類の生体構成材料）やセルロース、またこれらとポリ乳酸との複合材料（繊維方向をそろえることにより鋼に匹敵する強度を持つものが提案されている）等で材料の強化を施した上で微細針を開発していききたい。

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7件）

- ① H. Izumi, M. Suzuki, S. Aoyagi, T. Kanzaki, Realistic Imitation of Mosquito's Proboscis: Electrochemically etched Sharp and Jagged Needles and Their Cooperative Inserting Motion, *Sensors & Actuators*, 査読有, 2010 (Online first, 印刷中).
- ② H. Izumi, T. Okamoto, M. Suzuki, S. Aoyagi, Development of Silicon Microneedle with Three-Dimensional Sharp Tip by Electrochemical Etching, *IEEJ Transaction on Sensors and Miromachines*, 査読有, Vol. 129, No. 11, pp. 372-379 (2009).
- ③ MEMS技術を援用したマイクロニードルの開発, 青柳誠司, 泉隼人, 精密工学会誌, 査読無, Vol. 74, No. 11, pp. 1156-1159 (2008).
- ④ H. Izumi, T. Tsubasa, S. Aoyagi, N. Tagawa, Y. Arai, M. Hirata, S. Yorifuji, Combined Harpoonlike Jagged Microneedles Imitating Mosquito's Proboscis and Its Insertion Experiment with Vibration, *IEEJ Transaction on Electrical and Electronic Engineering*, 査読有, Vol. 3, No. 4, pp. 425-431 (2008).
- ⑤ S. Aoyagi, H. Izumi, S. Nakahara, M. Ochi, H. Ogawa, Laser Microfabrication of Long Thin Holes on Biodegradable Polymer in Vacuum for Preventing Cloginess and Its Application to Blood Collection, *Sensors and Actuators*, 査読有, A145-146, pp. 464-472 (2008).
- ⑥ S. Aoyagi, H. Izumi, M. Fukuda, Biodegradable Polymer Needle with Various Tip Angles and

Consideration on Insertion Mechanism of Mosquito's Proboscis, *Sensors and Actuators*, 査読有, A143, No.1, pp.20-28 (2008).

- ⑦ S. Aoyagi, H. Izumi, Y. Isono, M. Fukuda, H. Ogawa, Laser Fabrication of High Aspect Ratio Thin Holes on Biodegradable Polymer and Its Application to a Microneedle, *Sensors and Actuators*, 査読有, Vol. A139, pp.293-302 (2007).

〔学会発表〕（計11件）

- ① H. Izumi, Y. Takaoki, C. H. Huang, M. Suzuki, T. Kanzaki, S. Aoyagi, Three-Dimensionally Sharpened Silicon Microneedle with a Trench for Collecting Blood, The 5th Asia-Pacific Conference on Transducers and Micro-Nano Technology 2010 (APCOT2010), 2010.7, Perth, Australia (accepted).
- ② H. Izumi, M. Suzuki, T. Kanzaki, S. Aoyagi, Realistic Imitation of Mosquito's Proboscis -Sharp and Jagged Needle and Their Cooperative Inserting Motion-, The 15th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators & Microsystems, 2009.6, Denver, U.S.A.
- ③ 泉 隼人, 岡本篤介, 矢嶋 翼, 荒木俊彦, 平田雅之, 依藤史郎, 鈴木昌人, 青柳誠司, 神崎 務, 無痛針のモデルとしての蚊の穿刺行動の観察 -コンセプトと高速度カメラを用いた観察システム-, 第61回日本衛生動物学会全国大会, 2009.4, 高松, 香川.
- ④ 泉 隼人, 岡本篤介, 矢嶋 翼, 荒木俊彦, 平田雅之, 依藤史郎, 鈴木昌人, 青柳誠司, 神崎 務, 無痛針のモデルとしての蚊の穿刺行動の観察 -観察結果と穿刺メカニズムの推定-, 第61回日本衛生動物学会全国大会, 2009.4, 高松, 香川.
- ⑤ 泉 隼人, 岡本篤介, 鈴木昌人, 青柳誠司, 神崎 務, マイクロマシン技術を援用した医療用マイクロニードルの開発, 2009年度電気学会全国大会, 2009.1, 札幌, 北海道.
- ⑥ H. Izumi, T. Okamoto, M. Suzuki, S. Aoyagi, Development of Silicon Microneedle with Tree-Dimensional Sharp Tip by Electrochemical Etching, 2008.10, The 25th Sensor Symposium, Ginowan, Okinawa.
- ⑦ H. Izumi, T. Tsubasa, S. Aoyagi, T. Araki, M. Hirata, S. Yorifuji, T. Kanzaki, Harpoonlike Jagged Microneedles Imitating Mosquito's Proboscis and Its Insertion Experiment with Vibration, The 4th Asia-Pacific Conference on Transducers and Micro-Nano Technology 2008 (APCOT 2008), 2008.6, Tainan, Taiwan.

- ⑧ 泉 隼人, 矢嶋 翼, 青柳誠司, 平田雅之, 依藤史朗, 神崎 務, FEMを用いた蚊の穿刺メカニズムの考察と微細針の開発, 2008.3, 2008 年度精密工学会春季大会, 川崎, 神奈川.
- ⑨ H. Izumi, T. Yajima, S. Aoyagi, N. Tagawa, Y. Arai, M. Hirata, S. Yorifuji, Consideration on Insertion Mechanism of Mosquito's Proboscis and Development of Microneedle, The 24th Sensor Symposium, 2007.10, Edogawa, Tokyo.
- ⑩ 泉 隼人, 青柳誠司, 小河 宏, エキシマレーザによる生分解性ポリマーへのマイクロ穴加工と血液採取への応用, 日本機械学会 2007 年度年次大会, 2007.9, 吹田, 大阪.
- ⑪ H. Izumi, Y. Isono, S. Aoyagi, H. Ogawa, Laser Microfabrication of Long Thin Holes on Biodegradable Polymer under Vacuum and Its Application to Collecting Blood, 2007, The 14th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators & Microsystems (Transducers'07), 2007.6, Lyon, France.

[その他]

ホームページ等

<http://www2.ipcku.kansai-u.ac.jp/%7Ek458012/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

青柳 誠司 (AOYAGI SEIJI)
関西大学・システム理工学部・教授
研究者番号：30202493

(2) 研究分担者

鈴木 昌人 (SUZUKI MASATO)
関西大学・システム理工学部・助教
研究者番号：70467786

(3) 連携研究者

平田 雅之 (MASAYUKI HIRATA)
大阪大学・医学部・准教授
研究者番号：30372626