

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 17 日現在

機関番号：34406

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24360141

研究課題名(和文)使い捨てが可能で環境に優しい尿糖計測システムの構築

研究課題名(英文)Development of an ecological and economical urine sensing system for diabetic disease screening

研究代表者

矢野 満明 (Mitsuaki, Yano)

大阪工業大学・工学部・教授

研究者番号：40200563

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、使い捨てが可能で環境に優しい、糖尿病のための尿診断デバイスを提供することにある。この目的に対し、ガラス基板上の酸化タンタル膜と酸化亜鉛膜の積層膜で溶液ゲート型電界効果トランジスタを作製し、そのゲート電極上にプロトン受容体、ヒト抗体アプタマ、あるいはグルコース酸化酵素を固定化することで、診断に十分な感度を有するバイオセンサを開発した。また、当該バイオセンサを集積化してヘルスケアチップを作製するMEMS技術を開発するとともに、尿や呼気の匂いから糖尿病を診断するための半導体セラミックガスセンサを新規に開発し、その信号を処理して診断結果を判定するエキスパートシステムの雛形を構築した。

研究成果の概要(英文)：The target of this study is to develop ecological and economical urine sensing systems for diabetic disease screening. For this purpose, we developed a solution-gate field-effect transistor (SGFET) made of a Ta₂O₅/ZnO film on a glass substrate, and immobilized proton receptors, globulin aptamers, or glucose oxidase molecules on the gate electrode. These SGFET sensors were demonstrated to be able to detect the concentrations of protons, globulins, and -D glucose in solution with enough sensitivity and detection range required for the screening. We also developed the MEMS technology to integrate these SGFETs into a healthcare chip, original ceramic gas sensors to check the characteristics of diabetic odor in urine or exhaled breath, and a prototype expert system of an electronic nose using a layered neural network.

研究分野：半導体デバイス

キーワード：先端機能デバイス 計測工学 電子デバイス・機器

1. 研究開始当初の背景

国内における糖尿病患者数は人口の1割に達し、高齢化社会における医療費やQOLの圧迫要因の一つとなっている。患者は血糖値の日常管理が重要で、微量血液から血糖値を測定する市販の簡易テストを使用している。しかし、当該方法は観血的手法のため、長期にわたって毎日数回の測定を行うことは患者の負担が大きく、非観血的な測定デバイスの開発が待たれている。

非観血的測定法の一つに尿糖測定がある。正常な尿は水素イオン濃度が $\text{pH}=4.8\sim 7.5$ 、糖 (β -D グルコース) 濃度が $0.2\sim 3\text{ mmol/L}$ で、糖濃度 10 mmol/L 以上は医師への相談が必要とされている。ただし、体調や時間による変動が大きく、試験紙や簡易テストによる瞬時値測定では正確な判定ができない。しかし、健康指標マーカーの pH や腎機能マーカーの蛋白濃度 (Ig-G など) と一緒に継続測定すると、患者の健康管理に有用な情報を提供することが可能となる。

このことから、尿を分析して人工知能による専門的なアドバイスを与える診断ツールの開発は、糖尿病患者のみならず、国民全体にとって有意義である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、使い捨てが可能で環境に優しいセンサを用いた糖尿病診断支援デバイスを提供することであり、以下の項目を実施した。

- (1) 糖尿病の診断に不可欠な情報を与える、尿の pH 、 β -D グルコース濃度、Ig-G 濃度を十分な感度で検出できる溶液ゲート型電界効果トランジスタを、安価で安全な材料を用いて実現する技術の開発。
- (2) 糖尿病の診断に有益な情報を与える匂いの検出に役立つ、高感度で堅牢なガスセンサを安価な材料で実現する技術の開発。
- (3) 溶液ゲート型トランジスタをマイクロ流路と組み合わせて、ごく少量の生体液から多くの健康指標マーカーを同時に分析できるヘルスケアチップを、安価なガラス基板上に構成する要素技術の開発。
- (4) 溶液ゲート型トランジスタやガスセンサの信号を処理して測定結果を総合的に判定する、学習適応型ニューラルネットワークを用いた、信頼性の高い人工知能システムの構築。

3. 研究の方法

研究の目的に記した項目 (1) ~ (4) を達成するために、下記の方法で研究を遂行した。

- (1) 合成温度が低く安価かつ環境や生体への親和性が高い酸化亜鉛 (ZnO) をガラス基板上にスパッタリング法

で成膜し、溶液ゲート型電界効果トランジスタに加工してイオン感応電界効果トランジスタ (ISFET) を作製した。また、当該 ISFET のゲート電極上に Ig-G 抗体アプタマあるいはグルコース酸化酵素 (GOD) を固定化して、溶液中の β -D グルコースや Ig-G を選択的に検出する高感度バイオセンサを開発した。

- (2) 現行の N 形半導体セラミックスを用いたガスセンサと相補的に使用する目的で、殆ど報告例のない P 型半導体セラミックスを用いた高感度ガスセンサを開発し、その動作機構を明らかにした。
- (3) ガラス基板ヘルスケアチップに不可欠な、マイクロ流路中の溶液混合と夾雑物除去の手段を開発した。
- (4) 測定データから特徴量を抽出し、特徴量の 1 次結合で表現した被検体の信号データを入力とするニューラルネットワークを構築して、測定データを正しく判断するエキスパートシステムを開発した。

4. 研究成果

研究の方法に記した項目 (1) ~ (4) に関して下記の成果を得た。

- (1) ガラス基板上に成膜した ZnO 系積層膜をフォトリソグラフィ法で加工して、図 1 に示す ISFET を作製した。当該 ISFET は、溶液ゲート絶縁膜に ZnO との適合性に優れ電解液に対する耐性が高い 8 nm 厚の酸化タンタル (Ta_2O_5) 膜、電流チャネルにインジウム (In) をドーピングした 30 nm 厚の ZnO 膜、ガラス基板と電流チャネル間の電気絶縁性バッファ層には 100 nm 厚の酸化マグネシウム亜鉛 (MgZnO) 膜を用いた。溶液ゲート電極のサイズは幅 2.4 mm ・長さ $25\text{ }\mu\text{m}$ で、その表面を 3 アミノポリプル・トリメトキシシランで処理することにより、プロトン受容体のアミノ基で覆った。

この ISFET の電流・電圧特性は、ゲート電位の基準を Ag/AgCl 標準電

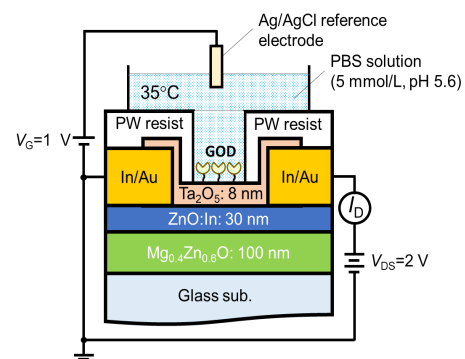


図1 ZnO系溶液ゲートトランジスタの構造

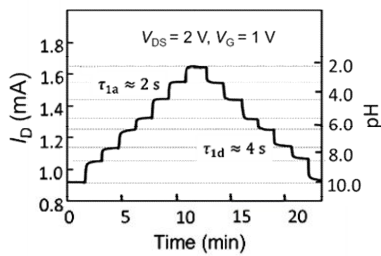


図2 ISFET の出力電流の pH 依存性

極の電位にとった状態で、N 型デプレッションモードFETの式に従うことが分かった。水溶液の pH を時間とともにステップ状に変化させたときのドレイン電流応答 (pH 感度) を図 2 に示す。その特性は、表-1 に示すように、pH 感度のみならず、溶液中の安定性や可視光不感性を含めて、シリコン (Si) 製の市販 ISFET と同等以上の特性を有していた。

表 1 ZnO ISFET と Si ISFET の比較

| | ZnO ISFET (This work) | Si ISFET (Maker A) | Si ISFET (Maker B) | |
|---|--------------------------------|--------------------------------|--|------------------------|
| Gate material | Ta ₂ O ₅ | Ta ₂ O ₅ | Ta ₂ O ₅ /Si ₃ N ₄ /SiO ₂ | |
| pH sensitivity | (μA/pH) (mV/pH) | ~90 ~55 | ~20 ~53 | ~60 ~53 |
| Drift in pH | (ΔpH/h) | ~1×10 ⁻² | < 1×10 ⁻² | < 0.1×10 ⁻² |
| Gate leak current | (μA/mm ²) | < 0.05 | < 30 | < 1 |
| Hysteresis width ΔV _{th} under V _G : -1V ↔ 1.5V (mV) | | < 30 | < 2 | < 10 |
| Photo-induced error in pH (ΔpH/1000Lx) | White EL | ~3×10 ⁻³ | ~660×10 ⁻³ | ~70×10 ⁻³ |

この ISFET のアミノ基に共有結合法でヒト抗体 Ig-G アプタマを固定化し、溶液中の Ig-G を検出する免疫センサを作製した。図 3 は Ig-G 滴下に対するドレイン電流の応答である。

測定結果を Michaelis Menten 式に当てはめて解析した結果、当該センサの Ig-G 検出範囲は 3.5 ~ 230 nmol/L で、正常血液中よりも 1 桁低い濃度まで検出可能であった。

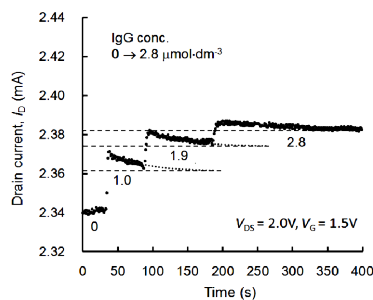


図 3 Ig-G 免疫センサの出力特性

この ISFET のアミノ基にグルタルアルデヒドを用いた架橋法反応法で GOD 分子を固定化し、β-D グルコースと GOD の反応で生成されるプロトンを残余のアミノ基で捉える尿糖センサを作製した。図 4 は、溶液中の β-D グルコース濃度を 0

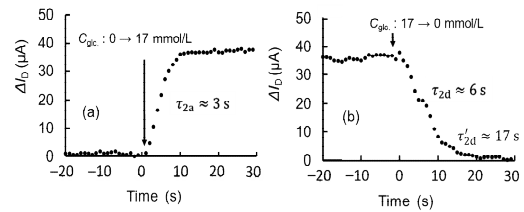


図 4 グルコースセンサの出力特性

0 mmol/L とステップ状に変えたときのドレイン電流の応答である。

濃度を変えて同様に測定したドレイン電流の飽和値を Hanes-Woolf プロットして求めた β-D グルコースの検出範囲は 0.2 ~ 40mmol/L で、尿糖値を診断する上で十分な感度を有し、かつ、繰り返し測定できることが分かった。また、ステップ状の濃度変化に対する過渡応答が 1 次の可逆反応式に従い、その時定数から見積もった Michaelis 定数が Hanes-Woolf プロットから求めた値と一致することも確認した。

(2) 電気抵抗の変化でガス (匂い) を検出するセンサを、P 型半導体である 75mol%MgCr₂O₄-25mol%TiO₂ 系セラミックスを用いて作製し、各種ガスに対する検出特性を解析した。

当該セラミックス半導体は、原料の酸化物粉末を焼成して作製し、感度特性を変える為に酸化カルシウム (CaO) 酸化スズ (SnO₂) 酸化ニオブ (Nb₂O₅) 酸化亜鉛 (ZnO) あるいは酸化ジルコニウム (ZrO₂) を 1.0 wt% の濃度で添加した。このセラミックス半導体を 2.0×2.0×0.2 mm³ の短冊状に切り出し、カンタル線のスパイラル状ヒータに挿入して傍熱型ガスセンサに加工した。

ガスセンサとしての特性評価は、水素 (H₂) アンモニア (NH₃) エチレン (C₂H₄) 一酸化炭素 (CO) を

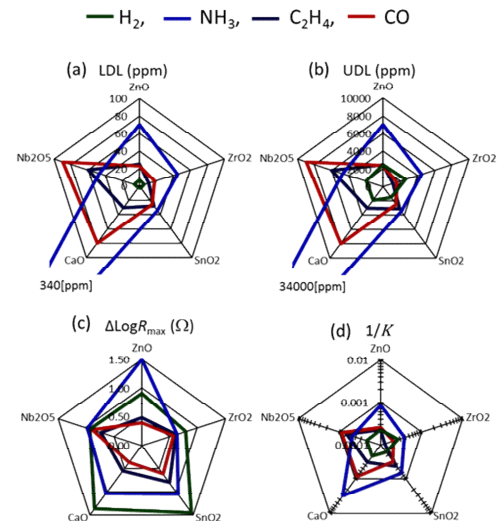


図 5 ガスセンサの特徴量

エアガス（窒素 79%+酸素 21% の混合ガス）で 3~3000 ppm に希釈した被検ガスに対して実施した。静特性の測定結果を、横軸をガス濃度、縦軸を抵抗変化の対数として Langmuir プロットすることで、測定下限濃度（UDL）と上限濃度（UDL）、感度（最大抵抗変化）、解離平衡定数（ $1/K$ ）を求め、図 5 に示す結果を得た。

さらに、ガス吸着に伴う半導体粒子表面の電位障壁の高さ変化に関する理論的な解析から、これらの値がセンサのガス検出特性を表す特徴量であることを示した。ステップ状のガス濃度変化に対する過渡応答が 1 次の可逆吸着反応式に従うこと、その時定数から見積もった解離平衡定数は静特性から求めた値と一致することも明らかにした。

- (3) 実用的なヘルスケアチップにおいては、基板の上に集積した溶液ゲート型電界効果トランジスタへ、夾雑物を濾過した生体液を導く必要がある。この機能をヘルスケアチップ上で実現するため、図 6 のようなマイクロピラー配列を設けて、フィルタ機能を付与したマイクロ流路をガラス基板上に形成した。

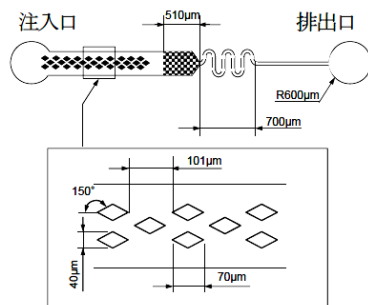


図 6 マイクロ流路に組み込んだフィルタ

このマイクロピラー配列は光感光樹脂の SU-8 を用いたフォトリソグラフィ法で流路と一体で形成し、生体液と接する面には親水化処理とタンパク質付着防止剤のコーティングを施した。上面カバーには、薄いシリコン樹脂シートを熱圧着した。

赤血球や白血球ならびにリンパ球を対象に、マイクロピラー配列のサイズと配置を流体力学的に解析することで、それぞれの夾雑物を選択的に濾過して、分析に必要な体積の生体液を濾過できる、マイクロ流路組み込み型フィルタを実現した。

- (4) ヘルスケアチップに組み込んだ溶液ゲート電界効果トランジスタの信号や、特徴量の感度係数が異なるガスセンサを組み合わせた電子鼻の信号を処理する人工知能の中核として、

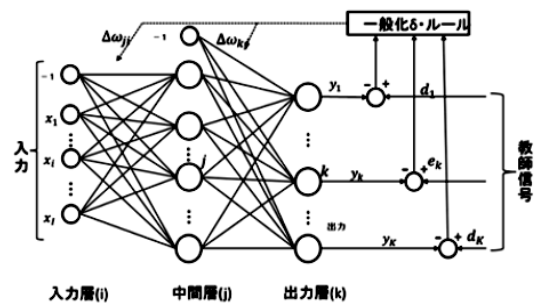


図 7 学習適応型ニューラルネットワーク

図 7 に示した 3 層構造の学習適応型ニューラルネットワークを構築した。その有効性については、溶液ゲート型電界効果トランジスタが多数回測定時の感度保持に課題を残している現状から、匂い分析システムを用いて検証した。

匂い分析システムには、半導体セラミックスのガスセンサ 4 種あるいは 6 種を組み込んだ小型の電子鼻を使用し、口臭の快・不快や、銘柄によるコーヒーの香りの違いに対する弁別度で有効性を判定した。その結果、当該ニューラルネットワークは、相互に干渉する複雑な情報や感性に係る情報を、数値による指標化で客観性を持たせながら、実用可能な精度での弁別に有効であることが分かった。

5. 主な発表論文等

(雑誌論文)(計 17 件)

Mitsuaki Yano, Kazuto Koike, Takayuki Murayama, Yoshiyuki Harada, Katsuhiko Inaba, Growth and characterization of molecular beam epitaxial WO_3 and MoO_3/WO_3 thin films on sapphire substrates, Applied Surface Science, 査読有, Vol.381, 2016, 32-35

DOI: 10.1016/j.apsusc.2016.01.097

Sigeru Omatu, Mitsuaki Yano, Mixed odors classification by neural network, IEEE Intelligent Data Acquisition and Advanced Computing Systems 2015: Technology and Applications, 査読有, Vol.1, 2015, 171-176

DOI: 10.1109/IDAACS.2015.7340723

矢野満明、平原陽介、寺田二郎、佐々誠彦、大松 繁、 $MgCr_2O_4-TiO_2$ 系 P 型半導体セラミックスのガス検出特性、電気学会論文誌 E、査読有、Vol.135、2015、317-322

DOI: 10.1541/ieejsmas.135.317

矢野満明、藤井建太、村岡茂信、大松 繁、熱線式マイクロブリッジ MEMS センサ

のガス検出特性、電気学会論文誌 E、査読有、Vol.135、2015、263-268
DOI: 10.1541/ieejsmas.135.263

寺田二郎、平原陽介、大松 繁、佐々誠彦、矢野満明、 $(Zn_{1-x}Mg_x)Cr_2O_4$ - TiO_2 系 P 型セラミックスガス感応素子の特性、電気学会論文誌 E、査読有、Vol.134、2014、308-313
DOI: 10.1541/ieejsmas.134.308

Mitsuaki Yano, Kazuto Koike, Kazuya Mukai, Takayuki Onaka, Yuichi Hirofuji, Ken-ichi Ogata, Shigeru Omatu, Toshihiko Maemoto, Shigehiko Sasa, Zinc oxide ion-sensitive field-effect transistors and biosensors, Physica Status Solidi, 査読有 (招待論文), Vol. A211, 2014, 2098-2104
DOI: 10.1002/pssa.201300589

Kazuto Koike, Takayuki Onaka, Toshihiko Maemoto, Shigehiko Sasa, Mitsuaki Yano, A potentiometric immunosensor based on a ZnO field-effect transistor, Japanese Journal of Applied Physics, 査読有, Vol.53, 2014, 05FF04 (4 頁)
DOI: 10.7567/JJAP.53.05FF04

Kazuto Koike, Ryota Wada, Shinji Yagi, Yoshiyuki Harada, Shigehiko Sasa, Mitsuaki Yano, Characteristics of MoO_3 films grown by molecular beam epitaxy, Japanese Journal of Applied Physics, 査読有, Vol.53, 2014, 05FJ02 (4 頁)
DOI: 10.7567/JJAP.53.05FJ02

Hiroshi Tsutsui, Masanori Miyagawa, Mitsuaki Yano, Blood plasma separator using micro pillars arranged like a labyrinth, Proc. Micro-TAS 2013, 査読有, Vol.1, 2013, 587-589
<http://www.proceedings.com/22480.html>

[学会発表] (計 34 件、国内会議招待講演 1 件、国際会議招待講演 2 件と国際会議一般講演 14 件を含む)

Mitsuaki Yano, Yuina Mori, Shigehiko Sasa, Yuichi Hirofuji, Kazuto Koike, Glucose sensing by an enzyme-modified ZnO-based FET, 30th Euro Sensors, 2016 年 9 月 5 日, Budapest (Hungary)

Sigeru Omatu, Mitsuaki Yano, Smells classification for human breath using a layered neural network, 13th Int'l Conf. on Distributed Computing and Artificial Intelligence, 2016 年 6 月 3 日, Seville (Spain)

前元利彦、孫 屹、松田宗平、佐々木翔太、芦田浩平、カルトシュタイン オリバー、小山政俊、小池一步、矢野満明、佐々誠彦、酸化物半導体を用いた薄膜デバイス応用の新展開 (招待講演) 電子情報通信学会 電子デバイス研究会、2016 年 3 月 3 日、北海道大学 (札幌市)

Hiroshi Tsutsui, Hiroyuki Kobayashi, Slipping characteristics of multichannel flexible tactile sensor applicable for a robot finger, 37th Conf. of IEEE Eng. in Medicine and Biology Society, 2015 年 8 月 27 日, Milan(Italy)

Shigehiko Sasa, Mitsuaki Yano, Kazuto Koike, Toshihiko Maemoto, Ken-ichi Ogata, Zinc oxide devices: Current and future (招待講演), Asia Pacific Microwave Conf. Workshop 2014, 2014 年 11 月 5 日, Sendai(Japan)

Mitsuaki Yano, Kazuto Koike, Kazuya Mukai, Takayuki Onaka, Yuichi Hirofuji, Ken-ichi Ogata, Shigeru Omatu, Toshihiko Maemoto, Shigehiko Sasa, Zinc oxide ion-sensitive field-effect transistors and biosensors (招待講演), European Materials Research Society 2013 Fall Meeting, 2013 年 9 月 16 日, Warsaw(Poland)

[その他]

ホームページ等

<http://www.oit.ac.jp/japanese/nanotech/project/archive.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

矢野 満明 (YANO, Mitsuaki)
大阪工業大学・工学部・教授
研究者番号: 40200563

(2) 研究分担者

小池 一步 (KOIKE, Kazuto)
大阪工業大学・工学部・准教授
研究者番号: 40351457

佐々 誠彦 (SASA, Shigehiko)
大阪工業大学・工学部・教授
研究者番号: 50278561

筒井 博司 (TSUTSUI, Hiroshi)
大阪工業大学・工学部・教授
研究者番号: 00351453

大松 繁 (OMATU, Shigeru)
大阪工業大学・工学部・教授
研究者番号: 30035662