

審査の結果の要旨

氏名 李 學哉 (イ ハクジェ)

本研究では、従来の採血用のランセット（皮膚穿刺器具）や注射針のかわりに、皮膚に貼るだけで容易に血糖値（血液中のグルコースの濃度）を測れる「マイクロニードルパッチ型センサー」を開発した。医療従事者でなくても扱うことが可能で、痛みを感じることなく、数分以内に肉眼で血糖値の高低を判断できる。パッチの片面に生体分解性のポリマーでできた多孔質の極小の針が大量に並び、肌に貼ると皮下から細胞間質液が採取され、裏側のセンサーへ届き、数分以内に色の変化で血糖値のレベルを定量的に判断できる。糖尿病患者は血糖値をコントロールするために定期的に血糖値をチェックし、食事と運動量を調節し、健康管理をする必要がある。しかし、血糖値測定のため、毎日侵襲性の高い採血をする作業は患者に苦痛を与える。近年、血液に代わり、細胞間質液(interstitial fluid、以下 ISF)を用い、血糖値を追跡する方法が注目されている。ISF は細胞外に存在する液体であり、グルコースを含む様々な物質が ISF を介して細胞と血管を移動するため、血液に存在する様々なバイオマーカーを含んだ生体媒体の一つである。ISF を用いた血糖値の推定は、次世代の糖尿病管理及び予防のための効果的なアプローチとして研究されている。

低侵襲かつ、無痛である ISF の採取に関しては、マイクロニードル(microneedle、以下 MN)を用い、表皮と真皮から ISF を採取するアプローチが望ましい方法として注目されている。従来、中空型の MN が主に開発されているが、アレイ状の MN の生産性、材料の安全性と非侵襲性への要求に対して課題が多い。そこで、細孔が多く空いてお互いに繋がっている構造を持つ多孔質 MN はその作製が容易であり材料の選択肢が広く、外力なく ISF を毛細管現象で吸収が可能という特性がある。本研究では、多孔質 MN アレイを用いることで外部のエネルギーがなくても皮膚に付着するだけで表皮と真皮の ISF のグルコース濃度を *in situ* で分析することが可能なパッチ型デバイスを提案、作製した。このパッチ型デバイスでは、多孔質 MN からセンサまで多孔質媒体でつながっているために、皮膚からの ISF の吸収だけではなくセンサまでの転送も毛細管現象を利用して行われる。したがって、ISF の採取、センサへの転送、センサでのグルコース濃度の分析がワンステップで行われる。センサ部は、比色分析法を用いた紙製センサを使用した。紙は毛細管現象で液体を吸収する多孔質媒体であり、紙製センサ

は作製が容易で、使用後の処理が環境にやさしい。また、比色分析法を用いたターゲット物質の分析結果は肉眼で確認が容易であり、分析反応を解析するためのトランスデューサがなくても分析反応結果を識別可能であるという特性がある。センサとしては、酵素ベースの比色分析試料を用いて、ろ紙に分析領域を構築した。多孔質 MN とセンサの間は毛細管現象が起こる別の多孔質媒体によって接続した。作製されたプロトタイプデバイスで MN 挿入後のグルコース濃度の *in situ* 分析が可能であることを、*in vitro* で確認できた。しかし、実際の応用の観点では、MN 挿入から分析まで 1 日以上長時間がかかること、分析反応による発色が分析領域に限られず色移りが発生することの 2 つの問題が起きた。

挿入から分析までの時間を短縮するため、デバイス全体の厚みを薄くし、MN とセンサまでの距離を短縮させ、MN に吸収させたサンプルがセンサまで伝送される時間を短縮する戦略を立てた。そこで本研究では、薄い多孔質基盤であるろ紙の上に多孔質 MN アレイを埋め込んだ形状で作製した。さらに、MN は生分解性の乳酸-グリコール酸共重合体 (Poly(lactic-co-glycolic acid)、以下 PLGA) で作製したので、MN の折れたかけらが体内に残存した場合でも、免疫反応や副作用を起こすことなく分解されると考えられる。作製された MN の長さ、針先端の直径の平均値はそれぞれ、約 $830 \pm 50 \mu\text{m}$ 、 $24 \pm 8 \mu\text{m}$ であり、充分低侵襲で使用可能なマイクロ寸法であると言える。

また、センサでの発色の色移りを防ぐためには、センサの基盤であるろ紙に分析試料の構成要素を強く固定するいくつかの手法を提案した。結果的に、水溶性を持たない染料を使用する場合、色移りが起こらず、最も明確な発色反応が発現された。血糖値センサーには、グルコースオキシダーゼとグルコースペルオキシダーゼという 2 種類の酵素と染料色素 (テトラメチルベンジジン) を組み合わせ、発色明度の変化を指標として、血糖値の高低を肉眼で容易に測定できる。こうして作られたデバイスを用いて MN の挿入から 2 分以内にグルコース濃度の分析結果を確認可能であることを *in vitro* で確認した。また、0 mM から 30 mM までの間の 5 段階のグルコース濃度においてセンサでの発色反応に再現性があることが観察され、また各濃度での発色が肉眼で区分可能であった。その上で、グルコース濃度の 3 mM までは発色の強度が線形に増加したことを確認し、センサの検出限界 (LOD) は 0.12 mM と算出された。

さらに本研究は、グルコース以外のバイオマーカーを持つ紙製センサとの組み合わせを考慮することで、ISF に含まれている様々な生体分子をモニタリングするモニタリングデバイス開発のための新しいプラットフォームを提供できることが期待される。

よって本論文は博士 (工学) の学位請求論文として合格と認められる。