

令和2年度 博士論文



A study on paper-based glucose sensor using
biodegradable porous microneedles
(生分解性多孔質マイクロニードルを用いた紙製センサに関する
研究)

指導教員 金 範俊 教授

東京大学大学院 工学系研究科 精密工学専攻

学生証番号 37-187042

李 學哉

糖尿病は血糖値を下げるホルモンであるインスリンが体内で生成されないか、あるいはインスリンが正常に動作しないために血糖値の調整ができなくなる疾患である。世界中の成人の11人に1人が糖尿病患者と推定されており、糖尿病は様々な合併症を発生させ、完治が非常に困難な病気である。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。その中で、ISFのグルコース濃度は血糖値を5分から30分程度の遅れで捉えることができる。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。MNは、血管や神経を触ることなく皮膚に挿入されるため、痛みを伴わない経皮輸送を可能にするツールである。特に細孔が多く空い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源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。

デバイス開発の第一段階として、MN挿入後の*in situ*分析のコンセプトを証明するために、プロトタイプデバイスを作製した。多孔質MNとしては、ポリジメチルポリシロキサン(Polydimethylsiloxane、以下PDMS)を用い作製、親水化処理したのち、ヒアルロン酸(Hyaluronic acid、以下HA)でコーティングして機械的な強度を上昇させた。センサとしては、酵素ベースの比色分析試料を用いた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*で確認した。しかし、実際のアプリケーションのためには、(1)MN挿入から分析まで1日以上の上時間がかかること、(2)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。

(1)の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。MNの基盤がデバイス全体の厚みで最も大きな割合を占めるが、基板の厚みはMNの作製プロセスに影響を受けるために精密な調節が困難であった。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)で作製したため、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 $830 \pm 50 \mu\text{m}$ 、 $24 \pm 8 \mu\text{m}$ であった。

(2)の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。(2)の問題を解決した上で、MNによって吸収されたサンプルがセンサまで

伝送される際にMNとセンサまでの多孔質媒体で構成された流体チャンネルが安定して維持されるように、センサを多孔質MNに接合した。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、センサの検出限界は0.11 mMと算出された。

以上の結果から、本研究で提案、作製されたデバイスは、多孔質MNを用い、低侵襲にISFを採取し、従来の血糖値センサとは違って電力のような駆動エネルギーを必要とせず、皮膚に貼るだけでグルコースの濃度を分析可能な新型の診断機器の実現可能性を示した。糖尿病管理の観点としては、日常生活で無痛かつ簡単に使用可能な血糖値推定デバイスの開発のための一歩を示した。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するものである。