

ステンレス製マイクロ針ウェアラブルバイオセンサーIOMT 基盤技術の開発

早稲田大学大学院 情報生産システム研究科
バイオ情報センシンググループ

亀岡 遵

1. はじめに

皮膚の表皮下に位置する間質性皮膚液には、血液中と同程度の疾患バイオマーカーやイオン(pH値)が含まれている[1]。血液と異なり細胞などが含まれていないため、生物付着が起こりにくいことから、生体情報の収集に最適と考えられている[2]。しかし、いまだに高精度、高感度、高再現性を備えた間質性皮膚液バイオセンサーは存在しない。これは、間質性皮膚液が表皮下600 μm から900 μm に位置し、この部位に到達してバイオマーカーを検知する基盤技術が確立されていないからである。

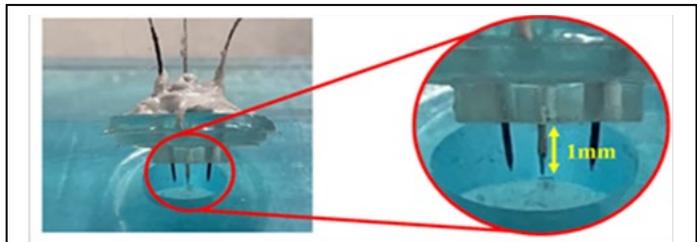


図1：バイオマーカーの測定に用いられるマイクロ針センサーの写真。このセンサーを使用し、バイオマーカーの濃度測定を行った。

そこで本研究では、ステンレス製のマイクロ針に着目している。このマイクロ針は十分な硬度があり、再現性良く表皮を穿刺できる。その表面に高感度検知が

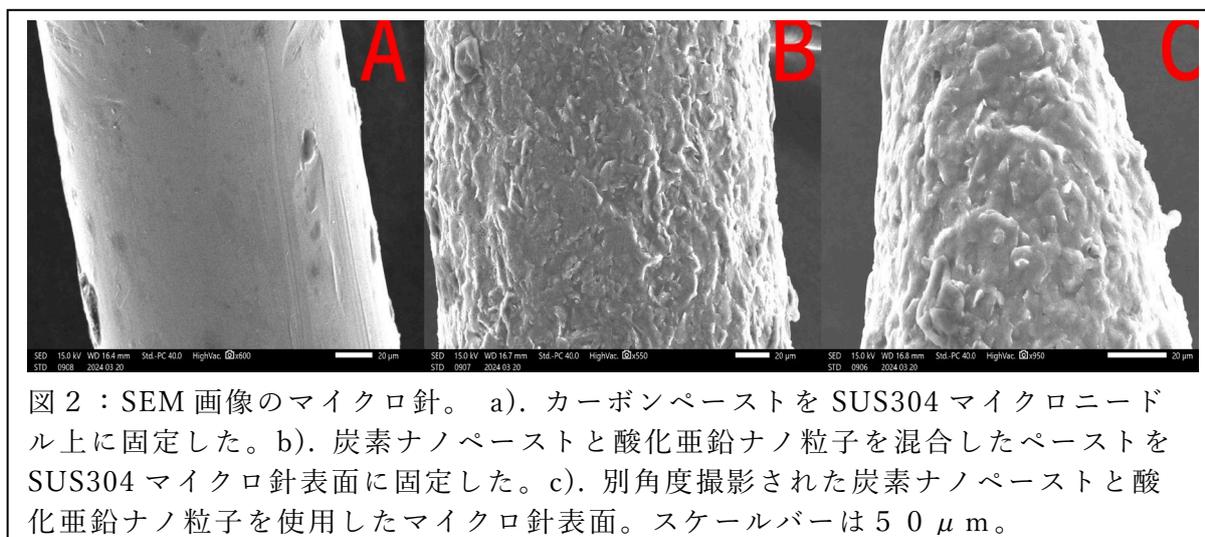
可能な酸化ジルコニアナノ粒子と導電性カーボンインクを定着させた作用電極と、銀-塩化銀を定着させた参照電極をホルダーに固定し、通信回路基盤を持つポテンショスタットと接続することで、新しいマイクロ針ポテンシオメトリバイオセンサーIOMT (Internet of Medical Things) デバイスを試作した。そして、リアルタイムでの In Vitro pH 検知性能の評価を行った。

この小型軽量のマイクロ針 pH センサーは、他の採血項目や疾患マーカーの検知にも応用できると考えられる。また、Apple Watch などのデバイスに比較的容易に組み込むことができるので、多数の慢性疾患患者の管理に多大な貢献をすることが期待される。

2. マイクロニードルセンサーの作製

マイクロ針バイオセンサーは、電気化学センサーであるため、作動電極 (WE)、対電極 (CE)、参照電極 (RE) の3つの電極で構成されている[3]。WE と CE 電極の作製方法は、ステンレス鋼 (SUS304) マイクロ針の表面をサンドペーパーで3~5回研磨し、肉眼で見える粗い表面を作ることから始まる。この工程は、マイクロニードル全体に導電性インクがより良く接着し、安定するようにするためである。次に、酸化亜鉛カーボンナノペーストを作製する。これは、カーボンセンサーペーストに酸化亜鉛ナノ粒子を混ぜて作製する。そして、針の表面に均一な層の酸化亜鉛カーボンナノペーストを塗布す

る。酸化亜鉛カーボンナノペーストは、炭素ナノ粒子を含むペーストで、センサーの導電性、化学的安定性、および機械的強度を大幅に向上させる。この時点では、酸化亜鉛カーボンナノペーストがマイクロ針の表面に完全に接着していない（乾ききっていない状態）。そこで、同じコーティング法を用いてマイクロニードル WE と CE 電極の表面に、この酸化亜鉛カーボンナノペーストを 5~7 回塗布する。酸化亜鉛ナノ粒子は、水素イオンに対する高い選択性と良好な生体親和性を持つため、マイクロ針センサーに適している。これらの工程の後、WE と CE マイクロ針を 120° C のオーブンで 15 分間加熱して表面を安定させ、その後、マイクロ針を取り出し、表面に均一にナフィオンを塗布する。最後に、再び 120° C のオーブンで 15 分間乾燥させる。この工程では、ナフィオンで電極表面を修飾し、電極の安定性とイオン導電性を向上させる。ナフィオン膜は、



プロトン (H⁺) を選択的に伝導し、他のイオンからの干渉を減少させることで、センサーの選択性と感度を向上させる。また、ナフィオンの化学的安定性と機械的強度により、さまざまな環境で安定して作動する。RE 電極の作製も、ステンレス鋼 (SS) マイクロ針の表面をサンドペーパーで 3~5 回研磨することから始まる。次に、マイクロ針の表面に Ag/AgCl を塗布し、120° C の一定温度で 15 分間オーブンで乾燥させる。

走査型電子顕微鏡 (SEM) によるこれらマイクロ針表面の観察では (図 2a-c)、カーボンペーストがマイクロ針の表面に良好に接着していることが確認できる。この良好な接着性により、センサーの導電性と感度が確保されている。

一方、図 3.2.b に示されているように、酸化亜鉛ナノ粒子とカーボンペーストの混合インク (酸化亜鉛カーボンナノペースト) を用いてマイクロ針の表面にコーティングすることができた。これらのナノ粒子の均一な分布と安定した付着は、マイクロ針センサーの有効表面積を増加させるだけでなく、ターゲット pH に対する選択性と感度も向上させた。

3. マイクロニードルセンサーを用いた pH 計測

マイクロ針センサー (図 1) は、WIFI ポテンショスタットである PalmSens と接続され、異なる pH 値測定のパフォーマンス評価を行った。そのために、クロマトポテンシオメトリー

法を使用し、そのパラメーターを $1 \mu\text{A}$ 、測定間隔時間を 0.1 秒に設定した。用意されたサンプルは、pH4 から pH9 の範囲に設定した。その結果を図 3a に示している。このデ

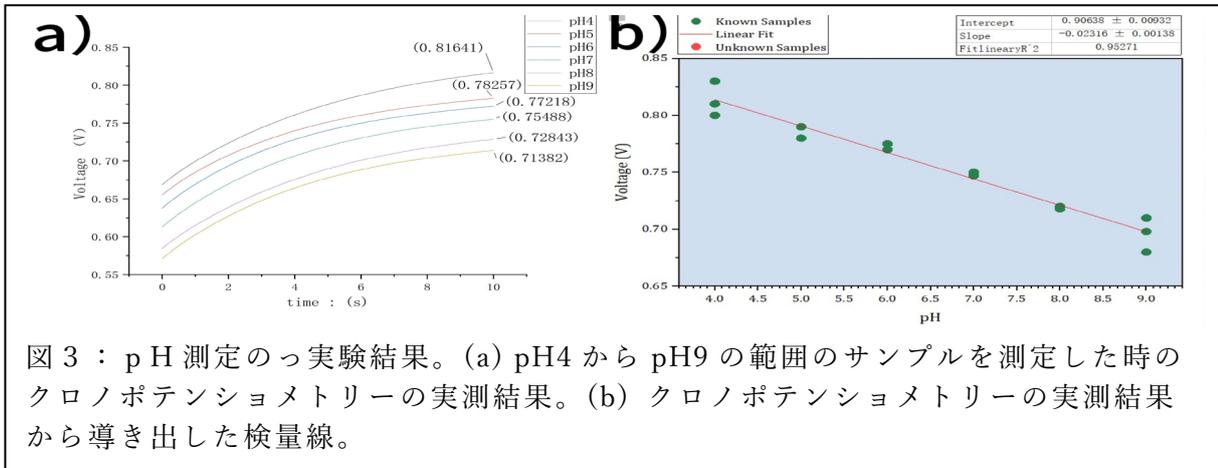


図 3 : pH 測定のつ実験結果。(a) pH4 から pH9 の範囲のサンプルを測定した時のクロノポテンシオメトリーの実測結果。(b) クロノポテンシオメトリーの実測結果から導き出した検量線。

ータから、測定された電圧が pH の増加に伴って徐々に減少することが観察でき、このセンサーの線形応答特性を検証している。この線形関係は、マイクロ針センサーの広い pH 範囲にわたる有効性と信頼性を証明している。さらに、異なる pH 値におけるセンサーの迅速な応答と安定性（誤 10 秒）は、実用的な応用の可能性をさらに示している。実験の検量線は図 3.2 に示しており、R の二乗値は 0.96 になっている。この電圧と pH の線形関係は、センサーがこの範囲内で pH レベルを正確に測定する能力を持っていると結論づけることができる。高い R² 値は、センサーの測定結果の信頼性と精度の優れたことを示しており、医療現場を含む様々なアプリケーションでのリアルタイムの pH モニタリングに適していることを意味する。

異なるイオン干渉の存在下での pH センサーの性能を評価するために、まず pH 7 の標準緩衝液中で直接測定を行い、その後、標準緩衝液中にカルシウム塩化物 (CaCl₂) 溶液、塩化ナトリウム (NaCl) 溶液、塩化カリウム (KCl) 溶液を追加し、センシング部に液滴し、その影響を分析した。まず、図 4 は 0.1 M カルシウム塩化物溶液を追加した後の測定結果を示している。実験結果は、カルシウム塩化物の存在下でセンサーの pH 読み取り値に大きな変化がなく、最大相対誤差はわずか 2%であることを示しており、カルシウム塩化物が pH 測定に与える干渉が少ないことを示している。

また、塩化ナトリウム溶液の干渉試験の結果も示している。5.84 g の塩化ナトリウム (NaCl) を 1 L の脱イオン水に溶解して 0.1 M の塩化ナトリウム溶液を使用した。結果は、NaCl の存在下でセンサーの pH 測定が安定しており、誤差は基本

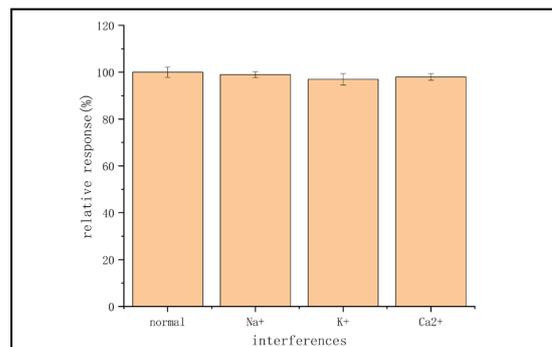


図 4 : マイクロニードルセンサーへの干渉化学物質の pH 計測への影響実験結果。ナトリウム、カリウム、カルシウムの pH 測定への影響を調査した。その結果、ほとんど、影響を及ぼさないことがわかった。

的に 1%以内であることを示しており、NaCl がセンサーに与える影響がほとんどないことを示している。

最後に、塩化カリウム溶液の pH 測定への影響を試みた。7.46 g の塩化カリウム (KCl) を 1 L の脱イオン水に溶解して 0.1 M の塩化カリウム溶液を用意した。実験結果は、塩化カリウムもセンサーにほとんど干渉せず、pH 測定値に大きな変化がなく、誤差は約 2% であることがわかった。

よって、CaCl₂、NaCl、KCl の存在下で、マイクロ針 pH センサーはイオンの干渉に対して良好な反応を示した。これらの結果は、このセンサーがこれらの一般的なイオンを含む生体サンプル中でも高い精度と信頼性を維持できることを示しており、実際の医療応用に使用できることを示している。

また、デバイスの耐久性と再現性の評価を行った。図 5a はデバイスの再現性テストの結果を示している。10 グループのデバイスをテストし、デバイスが高い再現性を持つことを確認した。

具体的には、テストされたすべてのデバイスの最大相対誤差は 10% 以内であり、大部分のデバイスの誤差は 5% 以内になっている。これは、マイクロ針デバイスが一貫した性能と信頼性を示している。

次に、図 5b は同じデバイスの複数回使用時の性能を示している。

単一のデバイスで複数の測定を行った結果、最初の 10 回の測定ではデバイスの効果にほとんど劣化が見られない。しかし、約 30 回の使用後にはデバイスの効果が約 20% 減少し、50 回の使用後にはデバイスがほぼ機能しなくなった。この性能の劣化は主に Ag/AgCl 電極の剥離によるものであった。

最後に、図 5c はデバイスの保管日数（実験室での。温度 23 度、湿度 55%）が性能に与える影響を示している。結果は、5 日間の保管期間中に、デバイスの機能にほとんど劣化が見られないことがわかった。しかし、約 2 週間の保管後にはデバイスの性能に著しい

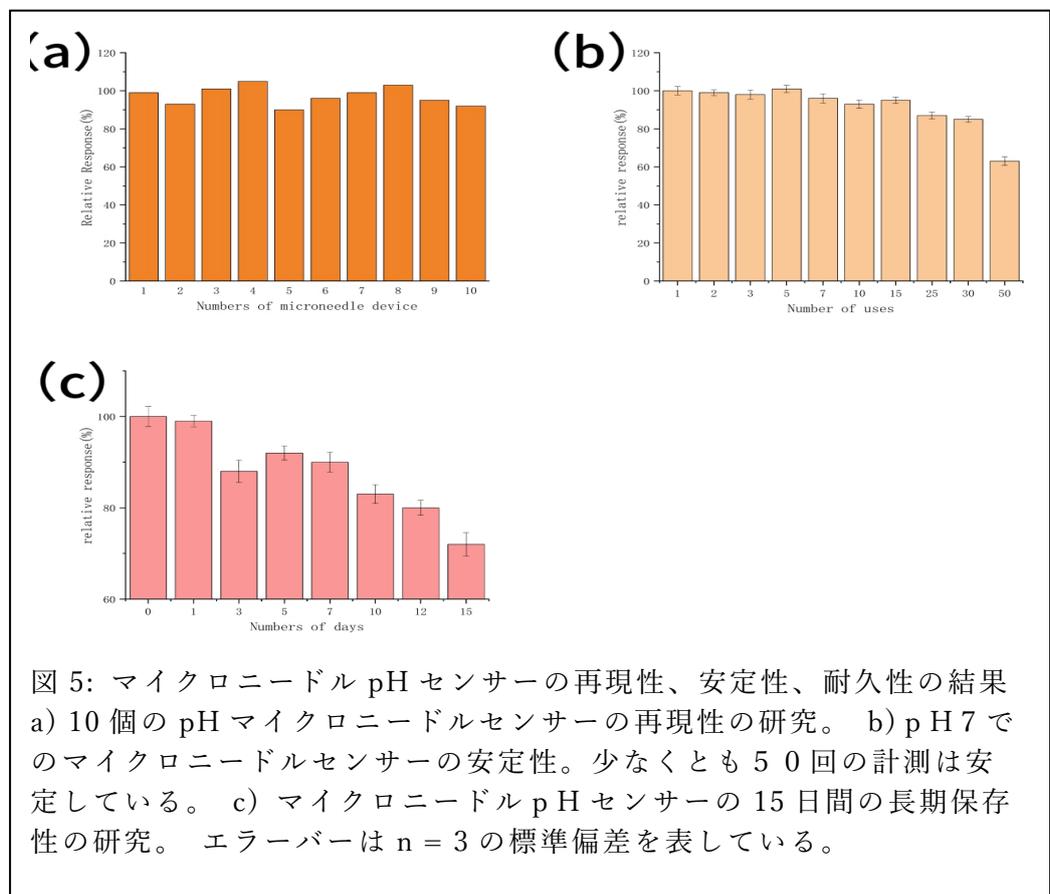


図 5: マイクロニードル pH センサーの再現性、安定性、耐久性の結果
a) 10 個の pH マイクロニードルセンサーの再現性の研究。 b) pH 7 でのマイクロニードルセンサーの安定性。少なくとも 50 回の計測は安定している。 c) マイクロニードル pH センサーの 15 日間の長期保存性の研究。 エラーバーは n = 3 の標準偏差を表している。

劣化が観察された。この機能低下の主な原因は、Ag/AgCl 電極の酸化によるものと考えられる。

9. まとめ

この研究では、ステンレス鋼マイクロ針、炭素ナノペースト、および酸化亜鉛ナノ粒子を用いた pH バイオセンサーを開発した。この革新的なセンサーは、pH 4 から 9 の範囲で非常に高い感度と特異性を示した。このセンサーは優れた信頼性と再現性を持ち、複数回の使用でも一貫した信頼性のある測定結果を示した。このバイオセンサーの大きな利点は、マイクロ針の使用による最小侵襲性である。従来のサンプリング方法とは異なり、マイクロ針は皮膚に深刻な痛みや損傷を与えずに貫通するため、患者にとってより快適でストレスの少ないバイマーカー検知プロセスとなると考えられる。この特性は、長期の継続的モニタリングに特に有益であり、感染リスクを低減し、患者のコンプライアンスを向上させる。

この pH バイオセンサーの開発は、生化学センサー分野における重要な進歩を象徴しており、間質液の pH をリアルタイムで *in situ* で監視するための強力なツールを提供すると考えられる。この機能は、慢性疾患の管理、代謝状態のモニタリング、そしてインターネットを利用した医療 (Internet of Medical Things, IoMT) を含む広範な医療および研究の応用にとって不可欠である。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、天野工業から多大なご支援を頂きました。ここに記して謝意を示します。この結果をもとにして、現在論文を作成中です。

参考文献

- 1) Wu, Z., Qiao, Z., Chen, S. *et al.* Interstitial fluid-based wearable biosensors for minimally invasive healthcare and biomedical applications. *Commun Mater* 5, 33 (2024).
- 2) Oharazawa, A, Maimaituxun G, et al. Metabolome analysis of skin dialysate: Insight into skin interstitial fluid biomarkers, 114, 104 (2024).
- 3) Liao Z, Shang J, Nohgi T, Kameoka J, Electrochemical Biosensor Enhanced with Graphite Ink and Multiwalled Carbon Nanotube for High Sensitivity Detection of Serotonin, *IEEE Sensor Letter*, 99, 1 (2024).