

マイクロ生体適合材料加工

研究代表者：青柳 誠司*

研究担当者：新宮原 正三**・新井 泰彦*・平野 義明***・
岩崎 泰彦***・清水 智弘****・鈴木 昌人****・
高橋 智一*****

1. 緒言

微細な針、または針状のツール(マイクロニードル)が、医療(治療、検査)、バイオロジカルサイエンス等の分野で要望されている。例えば、治療の分野では、針を細くするほど皮膚の痛点を避けやすいため、穿刺時の痛みが少なくなるという利点があり、細胞操作の分野では扱う対象のサイズに合わせた極小な針が必要となる。筆者らは、MEMS (Micro-Electro-Mechanical Systems) 技術やマイクロ機械加工等、様々な微細加工技術を用いることにより、生体適合性の高い金属材料やポリマーに対するナノ・マイクロスケール加工技術の開発、およびその医療器具への応用を目的として研究を行ってきた。本稿では、生体適合性金属であるステンレスまたはタンゲステンにマイクロ加工を施して、蚊を模倣した医療用の低侵襲性マイクロニードルを開発した研究結果について紹介する。

人間は、蚊に刺されてもほとんど痛みを感じない。このため、蚊の針は低侵襲な針を開発する上で格好の手本となる。蚊の穿刺が低侵襲で痛みが少ない理由は、機械的には針の直径が30-60 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きたが^{1,2)}、詳しい穿刺メカニズムは明らかになっていなかった。生化学的には、蚊の唾液に麻酔効果があることが報告されている³⁾。これらのうち、機械的な側面に着目し、蚊と同様に針を細くすることで無痛針を実現しようという研究が、単結晶シリコン⁴⁻⁶⁾、金属⁷⁾、ポリマー^{8,9)}を材料として多数行われてきた。製品レベルでも、プレス加工を用いた直径180 μm の金属製の微細針が近年商品化されている¹⁰⁾。これらの針において、痛みが低減されたことが一部報告されているものの、単純に針を細くするという手法だけ

では未だ完全な無痛針は実現されておらず、さらなる痛みの軽減の余地があるものと思われる。

本稿では、まず蚊の穿刺動作の詳細について述べる。次に、機械切削による鋸歯状突起の作製と電解エッチングによる先鋭化により、蚊の上唇と小顎を模倣したマイクロニードルを作製した結果について述べる。さらに、電解エッチング法、ダイシング法、電解めっき法をそれぞれ用いて、中空マイクロニードルを作製した結果を示す。

2. 蚊の針の構造と穿刺動作

穿刺の痛みの低減に寄与しているものと考え、蚊の穿刺動作の詳細観察を行ってきた¹¹⁻¹³⁾。筆者の研究グループが撮影した蚊の針の光学顕微鏡写真、電子顕微鏡(SEM)写真、および蚊の針の構造の模式図をFig. 1に示す。図に示す通り、蚊の針は1本ではなく、血液の通り道である上唇(Labrum)、唾液の通り道である咽頭

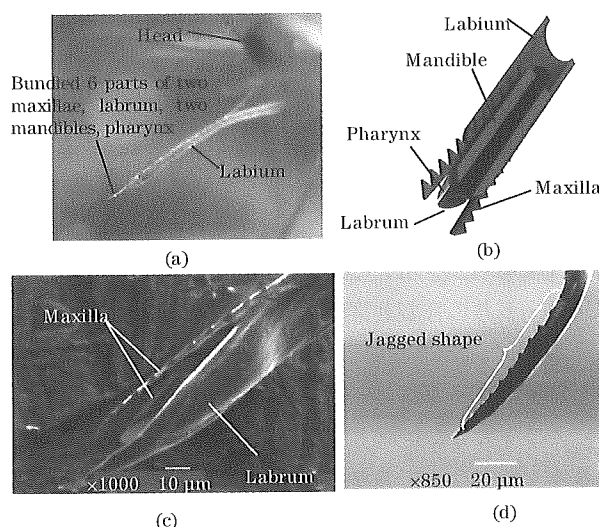


Fig. 1 Magnified images of mosquito proboscis. (a) Optical image of overview. (b) Schematic composition of seven parts. (c) SEM image of labrum and maxilla. (d) Magnified SEM image of tip of maxilla. Harpoon-like jagged shape is seen.

* システム理工学部教授 工学博士

** システム理工学部教授 理学博士

*** 化学生命工学部教授 博士(工学)

**** システム理工学部准教授 博士(工学)

***** システム理工学部助教 博士(工学)

(Pharynx)、大顎 (Mandible) 2 本、小顎 (Maxilla) 2 本の合計 6 個の器官が口針を構成し、口針が鞘状の下唇 (Labium) に納まる構造を有している。また、小顎の先端には鋸歯状 (ギザギザ形状) の突起が存在する。これら各器官がそれぞれ有機的に働いて、痛みの少ない穿刺が行われている。

我々は、この蚊の穿刺動作を解明するために、高速度カメラと長作動距離拡大レンズを使用して、穿刺動作時の蚊の口針と頭部を同期撮影した。その結果、蚊が上唇と一对の小顎を交互に突き出すように協調動作させながら、徐々に皮膚の奥へと針全体を穿刺していることが確認された。撮影結果を受けて、蚊の上唇と小顎を交互に突き出す動作を有限要素法シミュレーションで再現することにより、蚊の穿刺動作のメカニズムを推定した¹⁴⁾。その結果、小顎先端に存在する鋸歯状の突起が、穿刺の際に以下のような役割を果たしていると考えするに至った：①鋸の刃のように皮膚を切り裂く、②小顎が前進する場合、突起先端付近のみで針が皮膚と接するので、接触面積が減少する。これに伴い、接触抵抗が低減される、③小顎が後退する場合、皮膚に鋸歯状の突起が食い込み、上唇の前進を補助する足場 (アンカー) となる。高速度カメラによる観察結果とシミュレーション結果により、推定される蚊の穿刺メカニズムを Fig. 2 に模式的に示す。

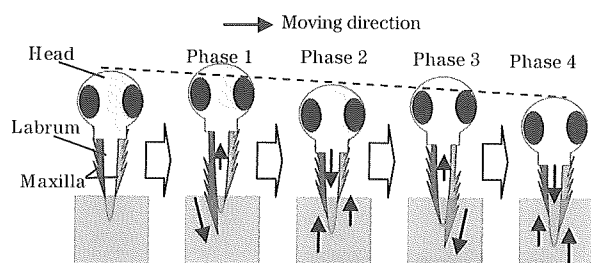


Fig. 2 Schematic motion of mosquito proboscis based on observation. The head and three needles are gradually lowered from Phase 1 to Phase 4. These phases are repeated at several Hz (2 Hz, ranging 1-7 Hz).

3. 機械切削法を用いた蚊の口針を模倣したマイクロニードルの作製と穿刺実験

筆者らは、MEMS加工と電解エッチング加工を併用したSi製のマイクロニードルの作製に成功している¹⁵⁾。Fig. 3 に作製したニードルの顕微鏡写真を示す。この針は3本1組となっており、両端の2本の針には蚊の小顎を模して鋸歯状の突起が付与されている。フォトリソグラフィとエッチングに依拠するMEMS加工は、マイクロメートルサイズの微細形状を加工するのに適している。Siで作製された形状を母型として、鍍金 (めっき) や射出成形を行うことにより、金属製やポリマー製の製

品の作製も可能となる。ただし、Siは脆性材料であり、穿刺の際に皮膚内で折損する可能性がある。また、めっき法で成形可能な金属は、Ni等生体適合性が低いものが多く、マイクロニードルとしての用途が限られる。

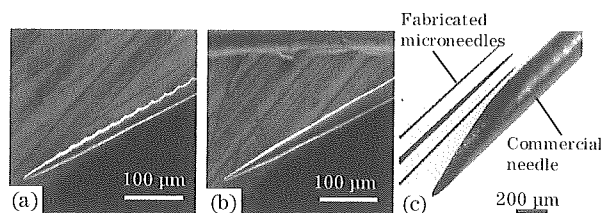


Fig. 3 Fabricated microneedles; (a) Jagged needle imitating maxilla. (b) Straight needle imitating labrum. (c) Fabricated three needles to be bundled and commercial needle for reference (diameter 0.2 mm).

一方、最近切削加工の性能が向上し、直径 10 μm の極小径エンドミルや、それを生かせるマシニングセンタも市場に投入されている¹⁶⁾。そこで、微細加工ツールにより、ステンレス鋼を切削加工し、蚊と同様の鋸歯状突起を有するマイクロニードルを作製することを試みた¹⁷⁾。ステンレスは生体適合性を有する。Fig. 4 に作製工程を示す。厚さ 30 μm のステンレス鋼板 (SUS304) の一角を矩形に切除し、そこに専用の超微細工具を用いて、切削加工により鋸歯状突起を形成した (Fig. 4(a))。次に、ピコ秒レーザを用いて鋸歯状突起を含む幅 30 μm の針形状に試料を切断した (Fig. 4(b))。最後に、この針の先端を電解エッチングにより3次的に先鋭化した (Fig. 4(c))。

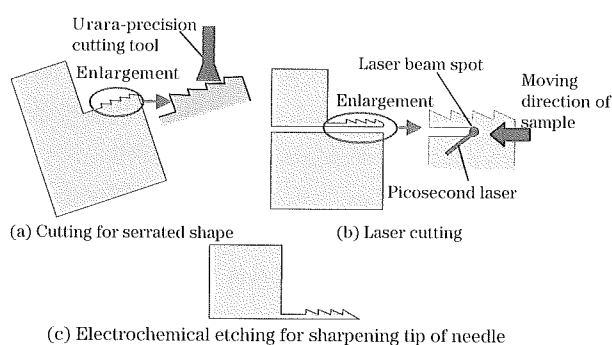


Fig. 4 Fabrication process of stainless microneedle by machining tool

作製したマイクロニードルのSEM像を Fig. 5 に示す。電解エッチングの様子とその加工条件、化学反応式を Fig. 6 に、先鋭化の結果を Fig. 7 に示す。ピコ秒レーザによる切断により幅 30 μm のストレート針を作製し、先述した鋸歯状針 2 本と組み合わせて、3 本の針を同時に穿刺する試験を実施した。各針はリニアステージ上の 3 個のピエゾアクチュエータにそれぞれ固定され、微小な

振動を繰り返しながら前進させることが可能である。蚊の上唇と小顎を模して、ストレート針を中央に、そこから7 μ m間隔で両脇に鋸歯状針を配置した。穿刺対象としては、人間の皮膚に近い弾性を有するシリコンゴム(厚さ10 mm、ヤング率22 MPa)を選定し、高感度ロードセルにこれを貼付した。本実験では、3本の針を振動させずに穿刺させた場合、3本を同位相で振動させながら穿刺した場合(周波数2 Hz)、蚊の穿刺動作を模した協調振動を行いながら穿刺させた場合、の3条件について穿刺抵抗力の時間推移を測定した。

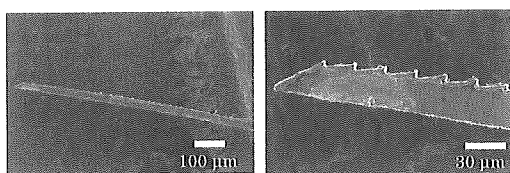


Fig. 5 SEM images of fabricated stainless serrated microneedle

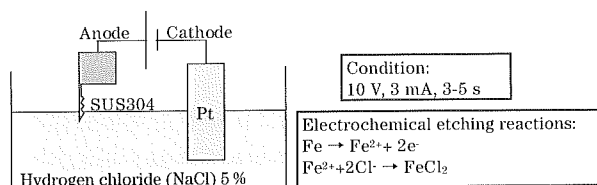


Fig. 6 Schematic of electrochemical etching for sharpening needle

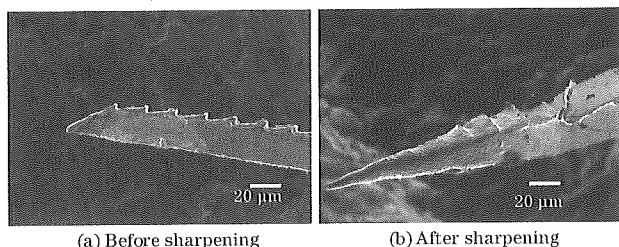


Fig. 7 SEM images of needle tip with serrations

3本のマイクロニードルがPDMSシートに穿刺される前後の様子をFig. 8に、穿刺試験によって得られた穿刺抵抗力の時間推移をFig. 9に示す。この図より、蚊と同様に針を協調動作させながら穿刺することで、最も穿刺抵抗が小さくなることが実験によっても確認された。穿刺抵抗と痛みとは正の相関があるので、痛みの軽減も期待できる。

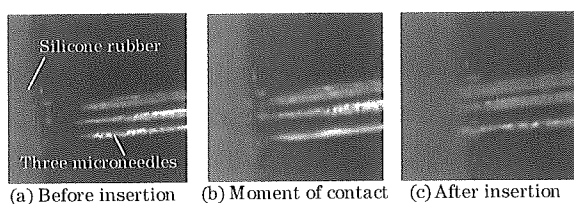


Fig. 8 Inserting experiment to silicone rubber

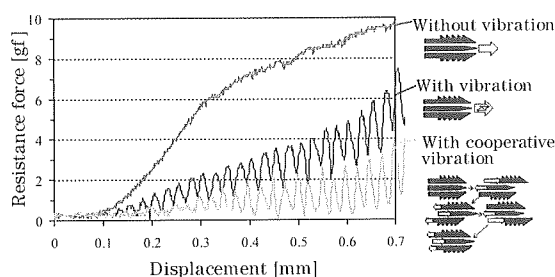


Fig. 9 Relationship between resistance force and displacement

4. 電解エッチング法を用いたタングステン製中空マイクロニードルの作製

糖尿病患者は血糖値測定のために、1日2~6回採血を行わなければならない。この採血は、金属製のストレート形状の中実針(ランセット)を、ばねを有する穿刺補助器具へ取り付け、ばねの復元力を利用して瞬間的に針を皮膚に突き刺して微量の出血を生じさせ、これを血糖値センサチップに吸いこませることにより行われている。この用途の針であれば中実でよいが、同じく糖尿病患者のインスリン投与のための針をはじめとして、薬液の投与、体液・血液の採取には、液体の吸引・吐出ができる中空の針が必要となる。

そこで、極細径金属ワイヤを用いて中空マイクロニードルの作製を試みた。中空針の加工法としては、ダイスから金属材料を引き抜くことでパイプを作製する方法や、板を冷間鍛造(プレス加工)により丸めて針形状にする方法が一般的であるが、両者とも100 μ m以下の径の針を作製することは加工原理の制約から難しい。そこで、最初から空洞を形成するのではなく、まずは針に溝を形成してからこれに蓋をすることで穴を形成する手法を提案した^{18,19)}。この方法により、従来にはない細い中空針の作製が可能である。本研究では、直径30 μ mと100 μ mの極細タングステンワイヤを用いて中空マイクロニードルを作製することに成功した。タングステンとは、生体適合性を有する金属である。特に、直径30 μ mのマイクロニードルは蚊の上唇と同程度の太さであり、ほとんど痛みを感じることなく皮膚へ穿刺可能であると期待される。Fig. 10に、外径30 μ mのタングステン製ワイ

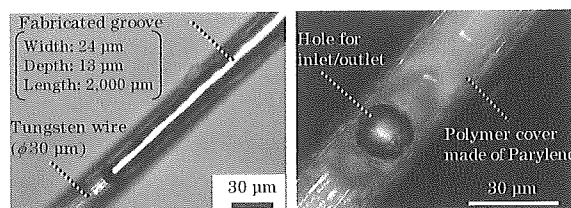


Fig. 10 Groove on tungsten wire fabricated by electrochemical etching (left). Hole for inlet/outlet fabricated by excimer laser beam (right).

やに溝を加工した結果（左図）、それに蓋をして、液の吐出・吸引用の穴を開けた結果（右図）を示す。

現在、直径100 μm の中空針については、液体の吸引・吐出が確認できている¹⁹⁾。シリンジ先端に接続したマイクロニードルを水中に入れ、プランジヤを押して空気を排出した結果をFig. 11に示す。気泡が水中へ排出されており、作製した針が中空であることが確認できた。水の吸引・吐出を行った結果、吸引速度は1.2 $\mu\text{l}/\text{sec}$ 、吐出速度は3.3 $\mu\text{l}/\text{sec}$ であった。糖尿病患者の血液検査の際に必要な採血量は、最低0.5 μl 程度あればよいので、今回の針で吸引を行っても数秒で採血することが可能である。しかし、吐出に関しては、例として歯科に必要な麻酔液の量は、1.8 mlであるので、今回作製した針を用いると、吐出に約9分かかってしまうことになる。このため、吐出量を増やす必要がある。

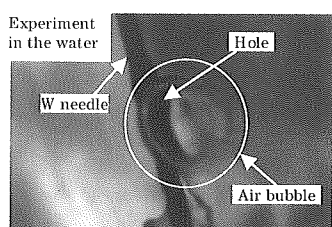


Fig. 11 Air bubble extruded from a hole on the fabricated W hollow needle. Pressure is given by a syringe.

5. ダイシング法を用いた中空マイクロニードルの作製

電解エッチングを用いた中空マイクロニードルの作製法では、原理上アスペクト比の高い溝を形成することが出来ない。これが、液体の吐出速度が不十分であった原因の一つであると考えられる。そこで、よりアスペクト比の高い溝を形成する手法として、ダイシング法に着目した。ダイシング法とは、高速回転する円板状の刃（ダイシングブレード）を用いて、基板をダイ（サイコロ）形状に切断する加工法である。また、非常に薄い（最薄で10 μm ）ブレードの厚みとほぼ同じ幅の溝を形成可能であるという特徴がある。本研究では、ステンレス箔から幅50 μm 、厚さ30 μm 、長さ3 mmの中空マイクロニードルを作製した²⁰⁾。この作製プロセスをFig. 12に示す。まず、ステンレス箔に、幅15 μm のダイシングブレードを用いて、幅と深さが共に15 μm の溝を形成する（Fig. 12(a), (b)）。次に、この溝を中心とした幅50 μm の角柱（ロッド）を切り出す（Fig. 12(c), (d)）。このロッドを電解エッチングにより先鋭化し（Fig. 12(e)）、溝にシリコンオイルを充填（Fig. 12(f)）した後に、ニードル全体をポリパラキシレン（パリレン）樹脂で被覆する（Fig. 12(g)）。最後に、エキシマレーザ加工により吸引・吐出口を形成し（Fig. 12(h)）、そこからシリコンオイル

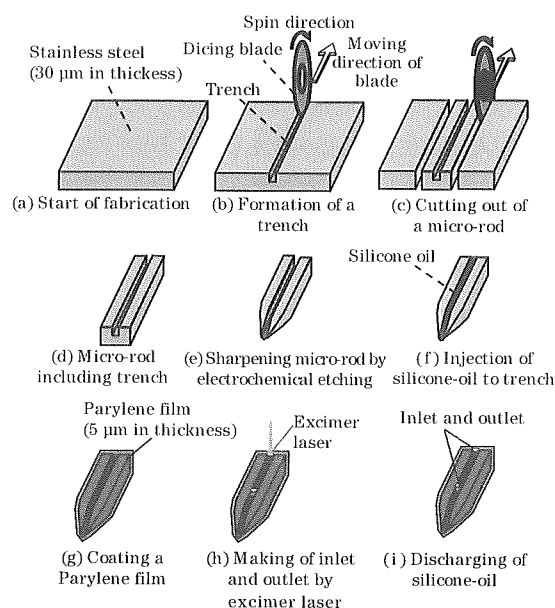


Fig. 12 Fabrication process of microneedle using dicing method

を排出する（Fig. 12(i)）。

Fig. 13(a)に、作製したマイクロニードルの先端部のSEM像を示す。シリンジ先端に接続したマイクロニードルを用いて、水を吸引・吐出実験を実施したところ、Fig. 13(b)に示すように、水の吸引・吐出が可能であることが確認された。この際の吸引・吐出速度は、それぞれ0.4 $\mu\text{l}/\text{sec}$ および0.3 $\mu\text{l}/\text{sec}$ であった。前節で述べたタングステン製中空マイクロニードルより吸引・吐出速度が低いのは、本節のステンレス製ニードルの断面積（30 $\mu\text{m} \times 50 \mu\text{m}$ ）がタングステン製ニードル（直径100 μm ）より小さいことによる。吐出速度は、実用上の目標値に達していないため、引き続き吐出速度向上を目指していく。

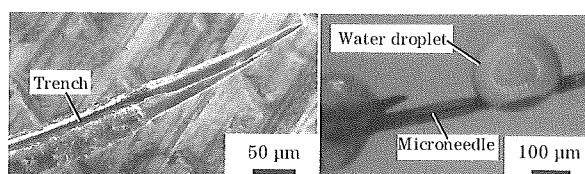


Fig. 13 Microneedle fabricated by dicing method, which is sharpened by electrochemical etching.

6. 電解めっき法を用いたタングステン-ニッケル合金製中空マイクロニードルの作製

電解めっき法により生体適合性金属を用いた中空マイクロニードルの作製を行った。芯材に電解めっき法で金属膜を堆積する。ここで芯材を電解めっきの陰極として利用する。その後、芯材のみを選択的に溶かす薬液に浸して、中空の金属針を作製する。第4、5章においては、ステンレスまたはタングステンを用いて、中空マイクロ

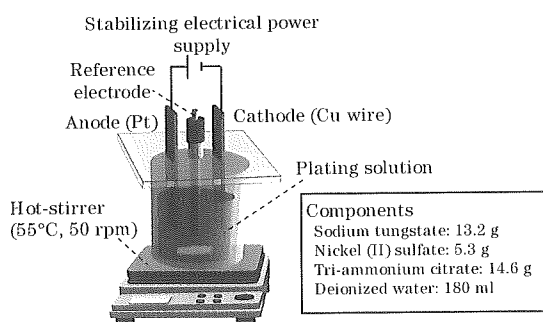
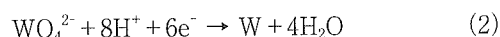


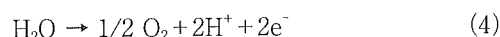
Fig. 14 Electroplating system for fabricating W-Ni alloy

ニードルを作製した。しかし、これらの材料は、電解めっき法により形成することが困難であるため、ここではタングステン-ニッケル (W-Ni) 合金の電解めっきを試みた²¹⁾。この合金は硬質で強度も高く、生体適合性も有する。めっきの実験環境をFig. 14に示す。このW-Ni合金めっきにおける化学反応を(1)-(4)式に示す。

陰極上での反応

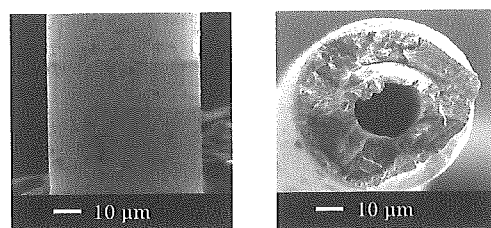


陽極上での反応



上記めっき反応において、陰極には直径30 μmの銅 (Cu) ワイヤを、陽極には白金 (Pt) を用いた。めっき浴の温度は55℃、攪拌速度は50 rpmで固定とした。電流密度は、480–800 mA/dm²の範囲で変化させた。また、めっきの前処理として、陰極である銅線にアセトン浸漬による脱脂、硝酸 (0.5%) 浸漬による酸化皮膜除去を実施した。

実験の結果、W-Ni合金の成長速度は、ほぼ印加した電流密度に比例することが分かった。ただし、電流密度が高い (500–800 mA/dm²) 場合、得られた試料表面に瘤や欠陥、亀裂等が発生することが判明した。一方、印加した電流密度を480 mA/dm²まで抑制した場合は、凹凸や亀裂はほとんど観察されず、良好な表面が得られた (Fig. 15(a))。そこで、電流密度480 mA/dm²で成長させたW-Ni合金の芯材である銅線を硝酸 (濃度60%) によりエッチング除去することで、外径90 μm、



(a) Before removal of Cu wire (b) After removal of Cu wire

Fig. 15 SEM images of electroplated W-Ni alloy (density of supplied current is 480 mA/dm²)

内径30 μmのW-Ni合金製中空管を作製した (Fig. 15(b))。今後はこの中空管を先鋭化することで、W-Ni製マイクロニードルを作製することを目指す。

7. まとめ

低侵襲性マイクロニードルの作製を目標として、種々の微細加工方法を開発した。結果を以下に示す。

i) マイクロ機械切削技術を用いて、ステンレス鋼箔から蚊の上唇を模倣した鋸歯状突起を有するマイクロニードル (幅30 μm、厚さ30 μm、鋸歯状突起は幅15 μm、高さ5 μm) を作製した。このステンレス製マイクロニードル3本に、蚊の穿刺動作を模倣した協調動作を行わせて人工皮膚に穿刺した結果、協調動作なしで穿刺した場合より穿刺抵抗力を低減できることを確認した。

ii) 電解エッチング法を用いて、タングステンワイヤに微細溝を形成し、これをパリレン樹脂薄膜で被覆することにより、中空マイクロニードルを作製した。これを用いて、空気および水を吸引・吐出することに成功した。

iii) ダイスング法により、ステンレス箔に溝加工を施した後に短冊状に切り出し、これをパリレン樹脂薄膜で被覆することにより中空マイクロニードルを作製した。

iv) 電解めっき法により、芯材にタングステン-ニッケル合金を堆積し、その後に芯材をエッチング除去する手法により、中空マイクロニードルを作製した。

今後の課題として、中空マイクロニードルに蚊と同様の鋸歯状突起を付与することが挙げられる。

謝辞

本研究は、平成25年度関西大学先端科学技術推進機構の研究グループにおいて、研究課題「生体適合材料のナノ・マイクロ加工と医療への応用」として研究費を受けた。本研究は、平成25年度関西大学研究拠点形成支援経費において、研究課題「蚊を模倣した中空針のマイクロ加工と低侵襲歯科医療への応用」として研究費を受けた。また、本研究の一部は独立行政法人日本学術振興会の科研費 (23656188)、科学技術振興機構 (JST) 平成24-25年度研究成果最適展開支援プログラム (ASTEP) 研究課題「蚊を模倣した中空微細針の開発と液体吸引・吐出性能の評価」の助成を受けて実施した。ステンレスの切削加工は、三栄精機株式会社で行っていただいた。ダイシング加工においては、株式会社ディスコの協力を得た。

参考文献

- 1) 池庄司敏明, 蚊, 東京大学出版会, 189-214 (1993).
- 2) K. Oka, S. Aoyagi, Y. Arai, Y. Isono, G. Hashiguchi, H.

- Fujita, Fabrication of a Micro Needle for a Trace Blood Test, *Sensors and Actuators*, Vol. 97-98C, 478-485 (2002).
- 3) H. Isawa, *et al.*, A mosquito salivary protein inhibits activation of the plasma contact system by binding to factor XII and high molecular weight kininogen, *J. Biol. Chem.*, 277 27651-27658 (2000).
 - 4) S. Henry, *et al.*, Micromachined Needles for the Transdermal Delivery of Drugs, *Proceedings of IEEE International Conference on Micro-electro-mechanical Systems (MEMS '98)*, 494-498 (1998).
 - 5) P. K. Campbell, *et al.*, A Silicon-Based, Three-Dimensional Neural Interface: Manufacturing Processes for an Intracortical Electrode Array, *IEEE Transaction Biomedical Engineering*, Vol. 38, No. 8, 758-768 (1991).
 - 6) K. Najafi, *et al.*, Scaling Limitations of Silicon Multichannel Recording Probes, *Journal of Biomedical Engineering*, Vol. 37, No. 1, 1-11 (1990).
 - 7) S. Chandrasekaran, J. D. Brazzle, A. B. Frazier, Surface Micromachined Metallic Microneedles, *Journal of MEMS*, Vol. 12, No. 3, 281-288 (2003).
 - 8) S. J. Moon, S. S. Lee, Fabrication of Microneedle Array Using Inclined LIGA Process, *Technical Digest Transducers '03* 1546-1549 (2003).
 - 9) P. A. Stupar, *et al.*, Silicon, Parylene, and Silicon/Parylene Micro-Needles for Strength and Toughness, *Technical Digest Transducers '01*, 1386-1389 (2001).
 - 10) テルモ株式会社HP : <http://www.terumo.co.jp/>
 - 11) S. Aoyagi, *et al.*, Development of a Micro Lancet Needle Made of Biodegradable Polymer for Low Invasive Medical Treatment, *Technical Digest Transducers'05*, 1195-1198 (2005).
 - 12) S. Aoyagi, *et al.*, Biodegradable Polymer Needle with Various Tip Angles and Effect of Vibration and Surface Tension on Easy insertion, *Sensors and Actuators*, Vol. A143, 20-28 (2008).
 - 13) 高柳弘輝, 田中隆寛, 中尾健, 鈴木昌人, 高橋智一, 青柳誠司, アルギン酸ゲルを用いた模擬皮膚組織の開発およびこれを用いた蚊の穿刺動作の観察, 日本機械学会第4回 マイクロ・ナノ工学シンポジウム講演論文集, CDROM P-OS3-6 (2012).
 - 14) S. Aoyagi, *et al.*, Equivalent negative stiffness mechanism using three bundled needles inspired by mosquito for achieving easy insertion, 2012 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems (IROS2012), 2295-2300 (2012).
 - 15) H. Izumi, M. Suzuki, S. Aoyagi, T. Kanzaki, Realistic imitation of mosquito's proboscis: electro-chemically etched sharp and jagged needles and their cooperative inserting motion, *Sensors and Actuators*, Vol. A, 165-1115-123 (2011).
 - 16) 松岡甫寛, 最新の切削加工: 精度と効率向上を目指す, 日経 Tech-On (2010), <http://techon.nikkeibp.co.jp/article/FEATURE/20100526/182938/>.
 - 17) 宮崎寛之, 鈴木昌人, 高橋智一, 青柳誠司, 松本真一, 蚊を模倣したステンレス製鋸歯状ニードルのマイクロ機械加工および穿刺評価, 2013年度精密工学会秋季大会論文集, 595-596 (2013).
 - 18) 田中隆寛, 漆畑雄也, 高橋智一, 鈴木昌人, 青柳誠司, 直径30 μm のタングステン中空マイクロニードルの作製, ロボティクス・メカトロニクス講演会2013論文集, CDROM 1A2-A09 (2013).
 - 19) T. Tanaka, T. Takahashi, M. Suzuki, S. Aoyagi, Development of Minimally Invasive Microneedle Made of Tungsten -Sharpening through Electrochemical Etching and Hole Processing for Drawing up Liquid Using Excimer Laser-, *J. Robotics and Mechatronics*, Vol. 25, No. 4, 755-761 (2013).
 - 20) 曹晨磊, 高橋智一, 鈴木昌人, 青柳誠司, ダイシング法による溝形成と電界エッチングによる先鋭化を用いた中空マイクロニードルの作製, 2013年度精密工学会秋季大会講演論文集, 213-214 (2013).
 - 21) 土田昇平, 石谷朋輝, 中尾健, 鈴木昌人, 高橋智一, 青柳誠司, 金谷昌幸, 歯科治療具を想定したW-Ni合金めっきによるマイクロブの作製, 2013年度精密工学会秋季大会論文集, 909-910 (2013).