

~ well-being を支える ~ 『非接触・低侵襲生体センシング技術動向』

# 視る・診る・看るためのセンサ開発

ナノテクノロジーを用いたヒトにやさしい機能材料

東海大学 工学部 機械工学科,  
マイクロ・ナノ 研究開発センター

樋谷和義

K. Tsuchiya, [tsuchiya@tokai-u.jp](mailto:tsuchiya@tokai-u.jp)  
URL:<http://www.es.u-tokai.ac.jp/>



1

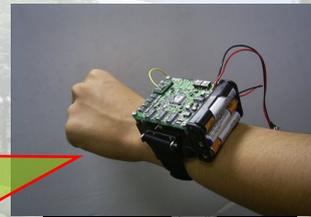
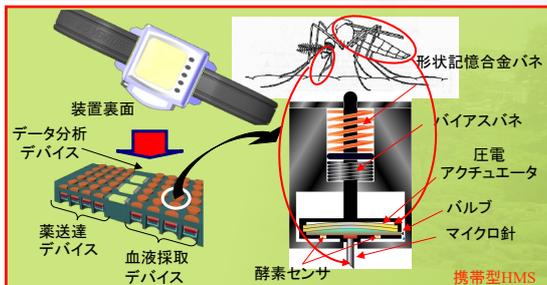
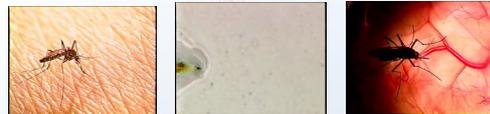
## 研究背景および目的

現在日本では、予備軍を含めた糖尿病患者は、1600万人に上ると報告されている。

自己血糖管理用の使い捨て型センサが開発されたが、(1)ランセット等の外径の大きな針による穿刺器具を指腹に穿刺する穿刺動作、(2)しみだした約1 $\mu$ lの血液を被検者自身がセンサ部位に吸引を行う、という煩雑な手動作業を要求され、患者の負担は大きい。

精密工学をベースとした医用工学への展開

穿刺針の外径の減少、血液採取の自動化



血糖値 自動モニタリング

2/32

2



# 要素技術

## 極細管創製技術

Tokai University, Tsuchiya Lab.

3

## 極細管創製技術

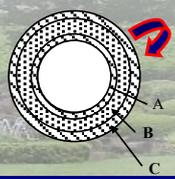
本研究では、メス蚊を模したチタン製無痛針の開発を目標

ここに、極細管創製技術およびその手順について述べる。




Rotating in a chamber

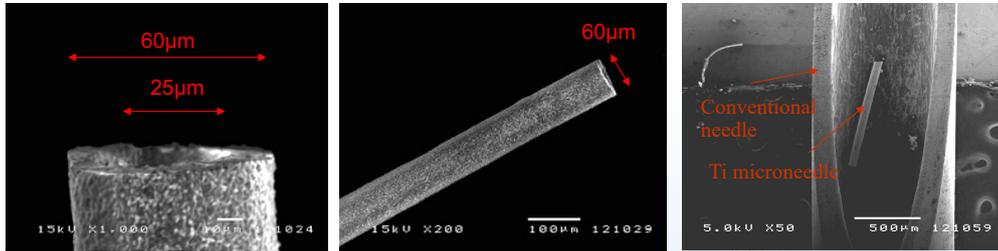
- (1) 基板はスパッタチャンバー内に配置され、基材としてワイヤが3-5rpmで回転
- (2) ターゲットとなるマイクロチューブの材料にイオンを照射
- (3) ターゲットからスパッタされた粒子は、回転するワイヤ上に堆積
- (4) ワイヤをエッチングで除去し、マイクロチューブが完成。



Tokai University, Tsuchiya Lab.

4

# チタン製マイクロニードルと中空化確認実験



SEM images of Ti microneedle deposited by sputtering method

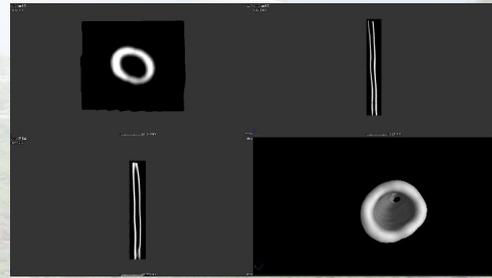
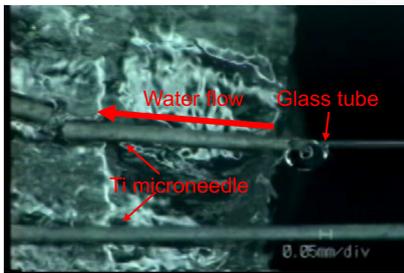


Fig. X-Ray/CT of needle fabricated with new condition

5/32

Tokai University, Tsuchiya Lab.

5



## 要素技術

### 痛みの客観的評価法(間接的手法)

Tokai University, Tsuchiya Lab.

6



# 痛みの客観的評価法

A-STEP

注射針穿刺時の痛みの客観的評価手法が確立されていない。

注射針穿刺時の痛みの評価に求められる条件

- 非侵襲的に痛みを測定.
- 少ない検体量での測定.
- 刺激に対してレスポンスが鋭敏.
- 定量的に痛みを比較.

外的刺激によりストレスが生じる<sup>[1]</sup>.

痛みの客観的評価としてストレス評価手法.

ストレス評価因子である唾液中 $\alpha$ -AMY濃度変動に着目.

唾液中 $\alpha$ -AMY濃度を用いた測定方法および有効性の検証を行う.

[1]宮崎東洋, ペインクリニック 痛みの理解と治療, 克誠堂出版株式会社 pp35-39 (1997)

9/32

Tokai University. Tsuchiya Lab.

9

# 外径による $\alpha$ -AMY量変化

(3) 外径の異なる代用針 (outer diameters: 35, 70, 95, 100, 150, and 200  $\mu$ m) を用いた  $\alpha$ -AMY量変化を測定

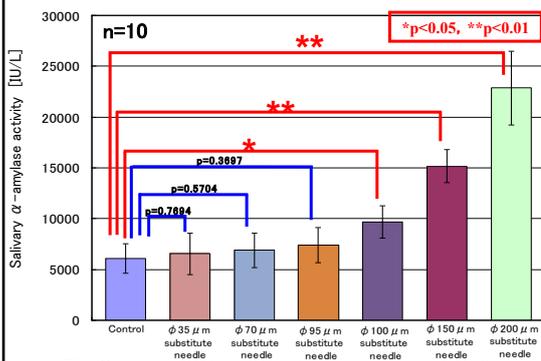


Fig. Comparison of amount of  $\alpha$ -amylase in saliva for various substitution needles and 31G and the control.

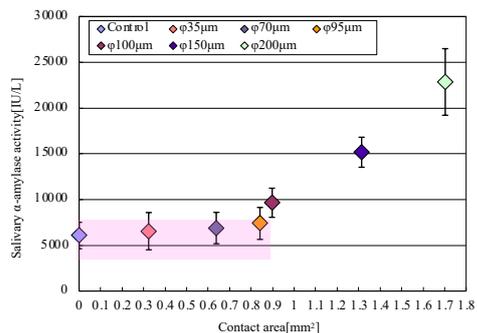


Fig. Amount of  $\alpha$ -amylase in saliva as a function of contact area for various substitution needles.

注射針外径の減少により穿刺時の痛みが減少し、マイクロ無痛針の最大許容外径は $\phi$ 95~100 $\mu$ mに存在する。さらに、最大生体接触面積は0.842 $\text{mm}^2$ 未満に存在する。

10/32

Tokai University. Tsuchiya Lab.

10

## 機能性を有する極細管/針

ピンポイント領域での測定が可能な  
pHセンサーの開発

## 極微小領域pHセンサの開発

科研費  
KAKENHI

細胞を、①連続的、②ピンポイント、③多数の情報(温度, pH, 細胞表面硬度)を同時に、**物理的・化学的にセンシング**することは、現在問題になっている**変成ウィルス**のRNA転写・複製に影響を与える因子の**解明**につながるため、細胞1個程度の情報取得法確立に向けた研究が進んでいる。

例えば、pH測定(作用, 参照電極共に) } ヒトの病態に関係する細胞内のpH  
・内部液が必要 } のバランス変動[\*]の測定には、構  
・ガラス管で覆われている。 } 造が複雑であるため**小型化が困難**。

アンチモン法[\*]により作用電極は固体で構成可能であるが、内部液とガラス管が不要な**新たな参照電極**を提案する必要がある。



[https://www.toadkk.co.jp/product/ex/e/le/phorp/g\\_series.html](https://www.toadkk.co.jp/product/ex/e/le/phorp/g_series.html)

[\*] Kyoko Shirakabe, Giuseppina Priori, Hideomi Yamada, Hideaki Ando, Shoko Horita, Toshiro Fujita, Ichiro Fujimoto, Akihiro Mizutani, George Seki, and Katsuhiko Mikoshiba, PNAS June 20, 2006 103 (25) 9542-9547  
[\*] アンチモンで構成されたセンサは、累積接触時間が24時間以内の単回又は複数回使用であれば、医療機器として生物学的安全性試験 ISO10993に遵守している。

# 小型化のための固体参照電極

参照電極として、ハロゲン元素のI(IO<sub>3</sub><sup>-</sup>)に着目し、固体であるAg/AgIO<sub>3</sub>を利用

反応系

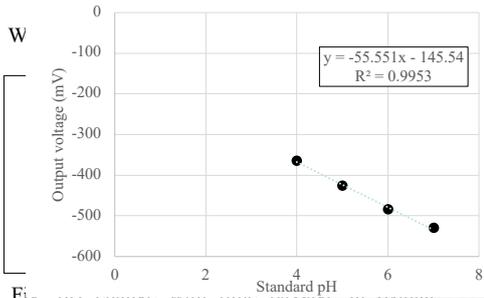
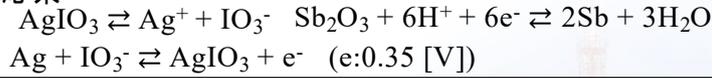


Fig. pH change with time passage in caustic standardized solution(pH1.68).  
Fig. Relationship of pH and electric potential.

作用電極には固体で構成されているアンチモン電極法[\*]と参照電極としてAg/AgIO<sub>3</sub>を用いる。

内部液が**不要**

**小型化が可能**

[\*] 一時的もしくは短期的の接触でかつ接触部位粘膜炎で、アンチモン電極は生物学的的安全性試験JIS T 0993-1:2012に適合している

13/32

Tokai University, Tsuchiya Lab.

13

# 微小領域pHセンサの創製手法

RFマグネトロンスパッタリング法を用いた極細管創製手法[\*]を応用し微小領域pHセンサを創製

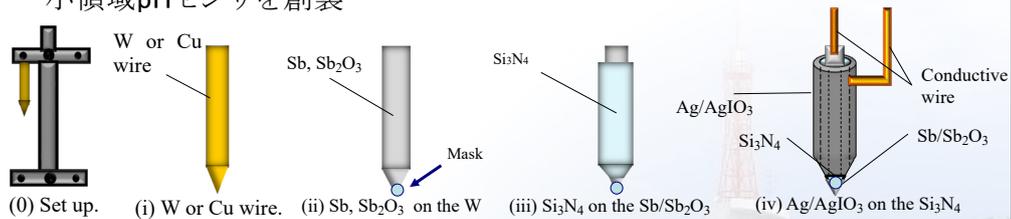


Fig. Process of producing a new pH sensor.

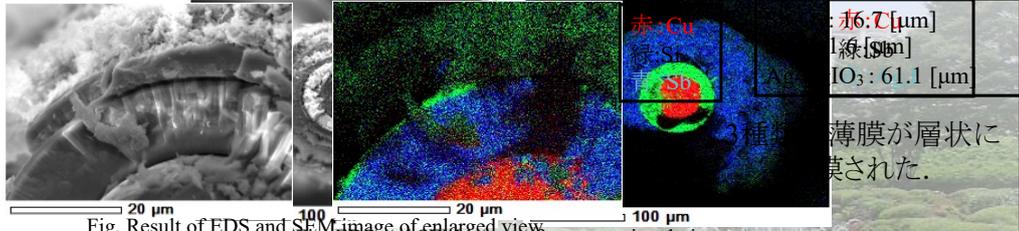


Fig. Result of EDS and SEM image of enlarged view.  
Fig. EDS and SEM image of cross sectional view.

[\*] 梶谷和義, 金属製極細管製造方法, 特許公開2004-232077, 2004-8-19

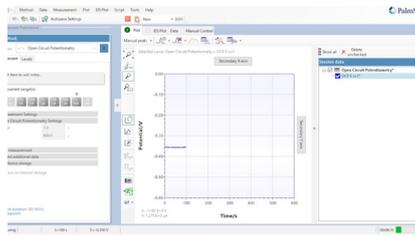
14/32

Tokai University, Tsuchiya Lab.

14

# pH センサの応答性と細胞固定方法

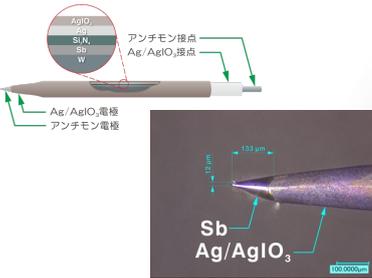
pH 4 → 5 → 7



- ヒトの病態に関わる細胞内pHバランス変動[\*]の測定のため、極微小領域pHセンサに振動を与えながら、等速度運動により細胞内に穿刺する。
- 浮遊細胞はPLLAナノシートで覆いディッシュに固定
- Si基板上に犠牲層PVA膜とPLLA膜をスピコートし、PLLAフリースタンディングナノシートを作製

## Spin Coating Condition

substrate	Si	Si/PVA
target	PVA	PLLA
slope time[sec]	10	10
RPM / time[sec]	4000 / 30	3000 / 30
slope time[sec]	10	10



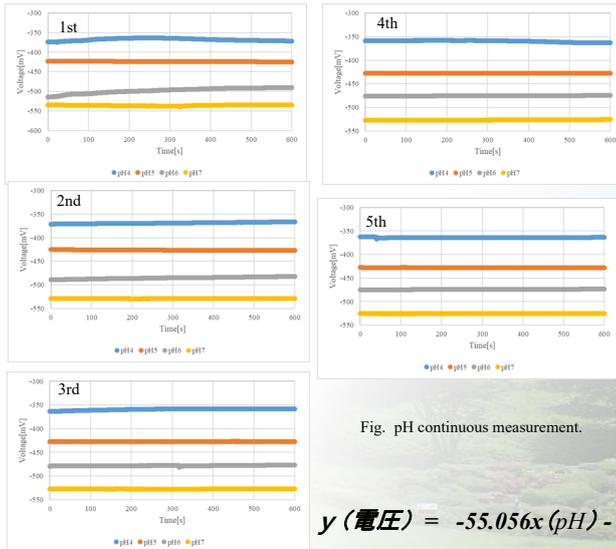
[\*] Kyoko Shirakabe, Giuseppina Priori, Hideomi Yamada, Hideaki Ando, Shoko Horita, Toshiro Fujita, Ichiro Fujimoto, Akihiro Mizutani, George Seki, and Katsuhiko Mikoshiba, PNAS June 2014, 111(25):9542-9547

15/32

15

# センサの分解能

創製したAg/AgIO<sub>3</sub>センサの連続測定の結果を以下に示す。



pH	4	5	6	7
min(mV)	-374.6	-425	-514.6	-539.9
Max(mV)	-363.7	-422.9	-490	-534.5
min(pH)	4.12289305	5.03832461	6.6657585	7.12529061
Max(pH)	3.92491282	5.00018163	6.21894071	7.02720866
pHの分解能	0.09899012	0.03841543	0.44234961	0.07624964
min(mV)	-371	-426.9	-489.3	-530
Max(mV)	-366.1	-425.2	-481.8	-528.6
min(pH)	4.05750509	5.07283493	6.20622639	6.9454737
Max(pH)	3.9685048	5.04195728	6.07000145	6.92004505
pHの分解能	0.04450015	0.05739611	0.13811392	0.06724063
min(mV)	-363.9	-427.4	-482	-527.9
Max(mV)	-358.2	-426.9	-476.8	-527.2
min(pH)	3.92854548	5.08191659	6.07363412	6.90733072
Max(pH)	3.82501453	5.07283493	5.97918483	6.89461639
pHの分解能	0.12321999	0.07737576	0.04722464	0.09902645
min(mV)	-363	-427.6	-476.4	-527.4
Max(mV)	-357.9	-427.3	-474.7	-525.8
min(pH)	3.91219849	5.08554926	5.9719195	6.89824906
Max(pH)	3.81956553	5.08010026	5.94104185	6.86918774
pHの分解能	0.13411799	0.08282476	0.04351933	0.1162816
min(mV)	-367.3	-428.2	-475	-525.7
Max(mV)	-362.6	-427.5	-473.4	-524.9
min(pH)	3.99030078	5.09644725	5.94649085	6.8673714
Max(pH)	3.90493316	5.08373293	5.91742953	6.85284074
pHの分解能	0.05238303	0.09090909	0.06803981	0.13989393

Fig. pH continuous measurement.

$y$  (電圧) =  $-55.056x$  (pH) - 147.61

0.1pHの分解能を実現

16/32

16

# 生細胞内部のpH測定



Fig. Microneedle pH sensor indentation units are used under the microscope.



Fig. Picture of Microneedle pH sensor indentation units

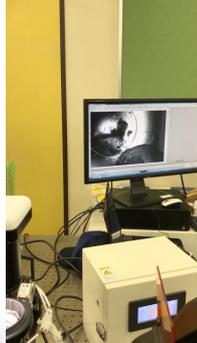
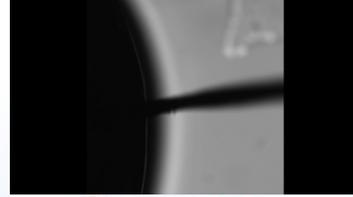


Fig. Video scene of Microneedle sensor into the cell



シャーレ上に設置した800 $\mu$ mの魚卵をに穿刺。  
電解液で示した電位約-80mV(5s)から穿刺後に-135mVに変化を確認。

穿刺時に細胞表面と内部では電位応答に差がある。

卵細胞の雌雄へのpHの影響など、発生学的な考察を行いたいと考える。

17/32

Tokai University, Tsuchiya Lab.

17

# 動物実験の結果

「マウスを対象とした動物実験」承認番号: 161075

## 生体への穿刺によるpHセンサの電位測定

B6Nマウスの後頭下穿刺による筋組織の電位測定結果

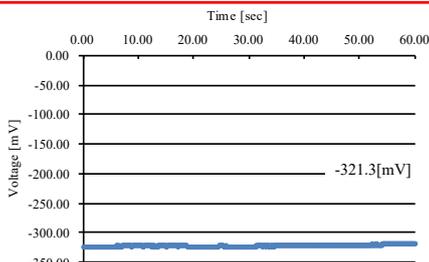


Fig. Result of voltage measurement in muscle tissue.

B6Nマウスの後頭下穿刺による髄液の電位測定結果

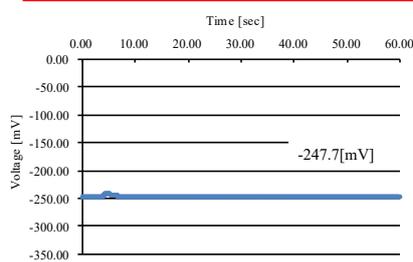


Fig. Result of voltage measurement of spinal fluid.

測定されたマウスの筋組織内はpH8.7

測定されたマウスの髄液はpH6.8

組織内の極微量の濡れでpH測定可能

自発呼吸時のラットの髄液pHはpH7付近<sup>[\*\*]</sup>

[\*] L.A.Moran, H.R.Horton, K.G.Scraggour, M.D.Perry 著, 鈴木敏一, 笠井敏一, 宗川吉洋 監訳, ホートン生化学(第5版)

[\*\*] 硬膜外麻酔における達成耐性と髄液pH変化の関係

18/32

Tokai University, Tsuchiya Lab.

18

TOKAI UNIVERSITY MNTC

# 固体pH電極の応用研究

## 貼付型pHナノシートセンサの開発

Tokai University, Tsuchiya Lab.

19

### 貼付型pHナノシートセンサの開発 科研費 KAKENHI

地球温暖化により気温35 °C以上の猛暑日の日数が年々増加し、マスコミや地方公共団体が熱中症に対する警戒を呼びかけているにもかかわらず、その死亡人数は増加の一途をたどっている。

発汗により汗pHは塩基に傾く[\*]性質を用いて、ナノシート上に両電極が固体であるAg/AgIO<sub>3</sub>[\*\*]とSb/Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub> [\*\*\*]を成膜し、貼付型ナノシートpHセンサの開発を行う。

Fig. construction of The pH sensor.

#### 高分子を用いた熱中症用貼付型pHセンサの開発

[\*]中山昭雄 入来正躬, エネルギー代謝・体温調節の生理学, 医学書院, (1987)  
 [\*\*]金子大樹, 穂谷和義, Ag/AgIO<sub>3</sub>電極法を応用した微小領域pHセンサの開発, 2014年度精密工学会春季大会, (2014)  
 [\*\*\*]山本大貴, 穂谷和義, 貼付型熱中症用pHセンサの創製手法の確立, 2017年度精密工学会春季大会, (2017)

20/32 Tokai University, Tsuchiya Lab.

20

# 貼る・設置するセンサ(貼付型熱中症ナノシートセンサ)


  
<https://doi.org/10.1021/acssensors.1c05037>


  
**大阪大学**
  
 大阪大学

**科研費**
  
 KAKENHI

**Advanced Artificial Electronic Skin Based pH Sensing System for Heatstroke Detection**  
 Ganesh Kumar Mani,<sup>1</sup> Yuka Nimura,<sup>1</sup> and Kazuyoshi Tsuchiya<sup>1\*</sup>

[Cite This](#) [https://doi.org/10.1021/acssensors.1c05037](#)

[Read Online](#)

ACCESS | Metrics & More | Article Recommendations | Supporting Information

**ABSTRACT:** Heatstroke is a serious illness that can potentially damage many systems every year. Many intelligent physical sensors have been developed to prevent heatstroke fatalities. However, it remains a challenge to fabricate skin-adhesive, simple, and low-cost sensors for *in situ* heatstroke detection to overcome the weaknesses of the physical sensors. As far as we know, this is the first breakthrough for exploiting a PEDOT-based freestanding nanosheet skin patch consisting of pH sensing elements (antimony/simony oxide and silver (silver oxide)) to achieve high pH sensitivity and reusability. The sensing elements were investigated for structural and morphological properties. The easy to use and easy to fabricate nanosheet sensor exhibited a linear pH response of  $-43 \text{ mV/pH}$ . Overall, the developed sensor showed high sensitivity, reusability, and stability. Our initial results indicate that the developed sensor adhered well to a skin surface. It is expected that this proof-of-concept approach gives reliable fabrication and measurement unlike other physical sensors.

**KEYWORDS:** *in-situ* pH sensor, nanosheet, thin film, heatstroke

**H**eatstroke is life-threatening, and it occurs when the body temperature rises to  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  or above, leading to neurological dysfunction, coma, seizures, and sometimes death. Importantly, a continuous heatstroke attack increases the risk of multi-organ damage. Even exertional heat stroke (EHS) can lead to disability if not treated promptly.<sup>1–3</sup> The mortality rate due to heatstroke is increasing rapidly due to extreme heatwaves in the summer. A total of 304 people were taken to hospital due to heatstroke in Japan in August 2018. A healthy and hydrated skin pH is in the range of 4.2 to 5.6. Dehydrated skin makes the transition from slightly acidic to slightly basic.<sup>4</sup> Existing systems such as body temperature sensors, electrocardiograms, and electroencephalography to detect heatstroke have been confined in the laboratory.<sup>5–7</sup> However, to replace bulky and expensive tools, a simple device capable of detecting heatstroke by individuals is still lacking. Current healthcare challenges have encouraged many researchers to explore biocompatible, facile, and flexible sensor systems to monitor body conditions. A wide range of applications using various materials has been explored for *e-skin* devices. Although recent pH analysis in day-to-day life has a significant impact on monitoring physiological information due to content of several minerals in sweat can affect the measurement conditions. Previous skin pH measurement techniques required a more extended period, rigid electrodes, and a high number of sweat samples. It is tough to measure the pH of the skin directly. Hence, monitoring the *in situ* skin pH level is of great interest to reveal the real-time body conditions. Over the past decade, we have witnessed rapid growth of wearable sensors for personalized healthcare.<sup>8–11</sup> Hence

monitoring. Modern efforts show the various sensors integrated into numerous platforms such as gloves, tattoos, smartwatches, contact lenses, shoes, etc.<sup>12–14</sup> Uchida recently developed the only portable, small, and highly efficient prototype available for skin pH measurement. However, the challenge is that it takes 5 to 15 min for measurement. Moreover, it is unclear whether the sensor is reusable or not. Therefore, it is essential to measure skin pH precisely and timely. Narys et al proposed an individual-based heatstroke alert system based on environmental humidity and temperature. However, one cannot precisely monitor a current health situation based on the environmental stimulus.<sup>15</sup> The body condition of each individual differs. Hence, a skin attachable pH sensor system could work effectively for individuals. Recently, an ultra-thin, transparent freestanding nanosheet has attracted attention as a promising candidate to solve many challenges. The freestanding nanosheet was produced using a simple spin-coating and peel-off technique. The conventional way to detach nanosheets from the solid substrate by a sacrificial layer technique was used to make a freestanding nanosheet sensor after depositing sensing elements.<sup>16,17</sup> Based on its adhesive and mechanical properties, herein, we showed the first

Received: January 29, 2020  
 Accepted: March 11, 2020  
 Published: March 11, 2020

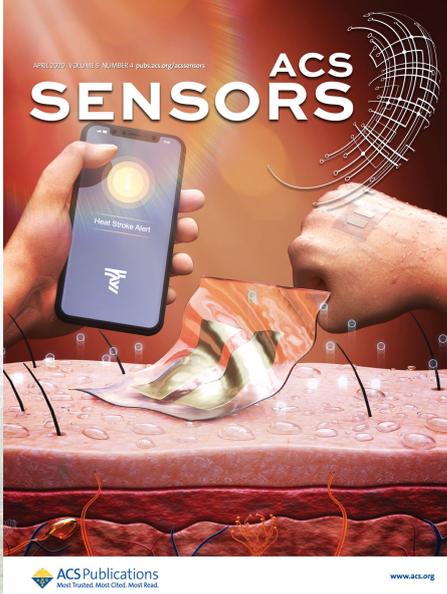
ACS Publications  
 © 2020 American Chemical Society

ACS SENSORS

APRIL 22, 2020 | VOL. 9, NO. 4 | PAGES 1021–1027

ACS Publications  
 Most Trusted. Most Cited. Most Read.

www.acs.org



21/32

Tokai University, Tsuchiya Lab.

21


  
**TOKAI UNIVERSITY**


  
**MNTC**

**固体pH電極の応用研究**

**マウスピース型デバイスに搭載するpH測定センサの開発**


  
**Tokai University, Tsuchiya Lab.**

22

# 研究背景

スポーツ選手の体調管理指標は多く提案されている[\*].

提案されている方法は選手に**広く浸透しているとは言えない現状**[\*].

Table Health care index table.

血液検査[*]	被験者への心身の負担が大きく結果の <b>早期取得が困難</b> .
POMS検査 [*][**]	簡易的質問紙指標であるため生理的な指標ではない. ↓ 実施・評価上に課題が存在し、 <b>継続的な測定が困難</b> .

コンディション評価として生理的指標かつ  
非侵襲的に採取できる**唾液**に注目[\*\*\*].

**口腔内を測定可能なメディカルチェック装置の開発が必要.**

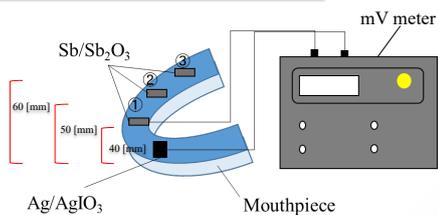
[\*] 中野貴博, 鈴木岳, 名古屋学院大学論集, 人文・自然科学篇, 第46巻, 第1号 (2009年7月)

[\*\*] 大石康彦・金濱聖子・比屋根哲・田口春幸, 日林誌, 85: 70~77, 2003

[\*\*\*] 鈴木洋一郎, 雨谷晴之, 電子情報通信学会技術研究報告, MBE, MEとバイオサイバネティクス, 98(672), 25-32, 1999-03-19

# 口腔内測定(東海大学「人を対象とする研究」承認番号15119)

## マウスピースデバイス



マウスピース上にAg/AgIO<sub>3</sub>電極, ①~③位置に市販のアンチモン電極を搭載する. ①~③の位置に搭載された電極により3か所のpHを測定.

- ①: 前歯付近
- ②: 犬歯付近
- ③: 奥歯付近

**上顎部面内を3か所によるpH変化を確認し, 作製電極の有効性を確認**

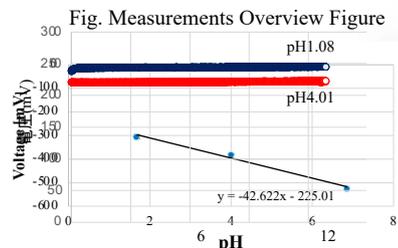


Fig. Mouthpiece device  
標準ガラス電極 VS Ag/AgIO<sub>3</sub>

累積接触期間が24時間以内の単回又は複数回使用であれば, アンチモンで構成されたセンサは, 医療機器として生物学的安全性試験 ISO10993Iに遵守している.

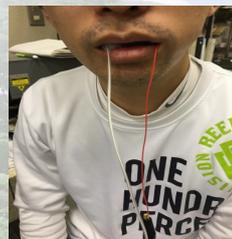


Fig. Measurements landscape view.

## 口腔内測定(東海大学「人を対象とする研究」承認番号15119)

測定位置①～③までの口腔内測定結果を以下に示す.

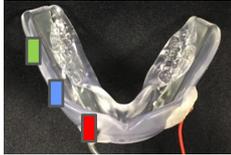


Fig. Mouthpiece device

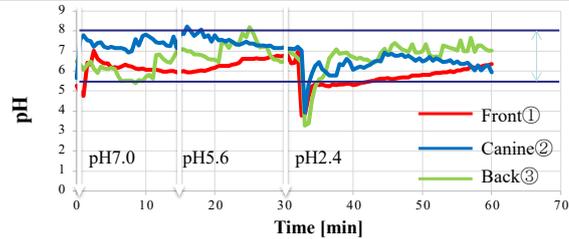


Fig. Intraoral measurement results.

- ・どの測定位置においても飲用直後を除き, 人間の口腔内pH値の範囲内[\*]で推移していることを確認.
- ・すべての測定位置においてコーラ(pH2.4)を飲用後に口腔内pHの下降を確認.
- ・測定位置①においてコーラ(pH2.4)を飲用後, pH値の戻りが最も遅いことを確認. ➡ 唾液が活発に分泌されるが, 唾液が前歯に流れる量が少ない[\*\*].

作用電極と標準電極の個数と電極間隔を同じとする測定

[\*] 王丸寛美 九州歯会誌 54 (4) 326~353, 2000.

[\*\*] THE JOURNAL OF THE JAPAN HEALTH CARE DENTAL ASSOCIATION Vol 12 No 1, 2010 25-31

25/32

Tokai University. Tsuchiya Lab.

25

## 聴覚からのストレス刺激時のpH変化

創製したpHセンサを搭載したマウスピース型センサを用いホワイトノイズ静聴時の口腔内唾液pH測定を行う.

測定位置として口腔内の舌下[\*]におけるpH測定を行う.



Fig. Mouse piece Sensor.

測定は1秒刻みで行い, 開始10分後にストレス負荷がかかることとされているホワイトノイズ[\*]を10分間の聴取し, 聴取を止めて10分間の連続測定を行う.

ホワイトノイズの設定dBは89.9dB[\*\*]とし, 測定中は目を閉じる.

[\*] 渡部茂 日本ヘルスケア歯科研究会誌 第55巻 第6号(1991)727-728

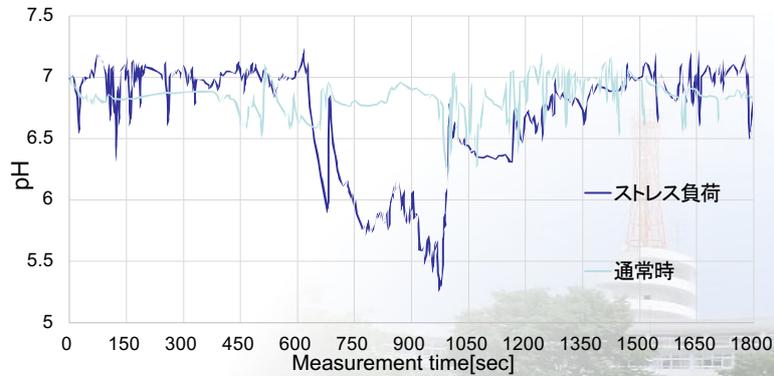
[\*\*] NARITA INTERNATIONAL AIRPORT CORPORATION 騒音レベルの目安

26/32

Tokai University. Tsuchiya Lab.

26

## 聴覚からのストレス刺激時のpH変化 (東海大学「人を対象とする研究」承認番号15119)



平常時の平均pHは6.97, ストレス負荷時の平均pHは6.17へと推移した。

閉眼時の安静状態のpH変化より, マウスピース装着時であっても, ストレス負荷時と比較してストレスを感じ方は小さい。

[\*] 森 幸男, 小林 慧太, 森 弘樹, 富田 雅史, 中川 雅文, 松本 有二, 渡邊 志 快音および不快音の対聴取における 被験者の嗜好別主観評価と生体信号解析との相関  
 [\*\*] NARITA INTERNATIONAL AIRPORT CORPORATION 騒音レベルの目安

## クレペリン検査時のpH変化

創製したpHセンサを搭載したマウスピース型センサを用いクレペリン検査時の口腔内唾液pH測定を行う。

測定位置として口腔内の舌下[\*]においてのpH測定を行う。

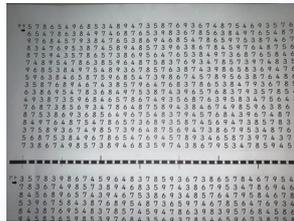


Fig. Kuraepelin Paper.

測定開始5分後より15分間のクレペリン検査を行い, クレペリン検査時と通常時の差異を確認するため1回目のクレペリン検査後に10分間の休憩を挟み, 休憩後に2回目のクレペリン検査をおこない, 最後に5分間の通常時測定を行う。

[\*] 渡部 茂 日本ヘルスケア歯科研究会誌 第55巻 第6号(1991)727-728

## クレペリン検査時の口腔内pH変化 (東海大学「人を対象とする研究」承認番号19070)

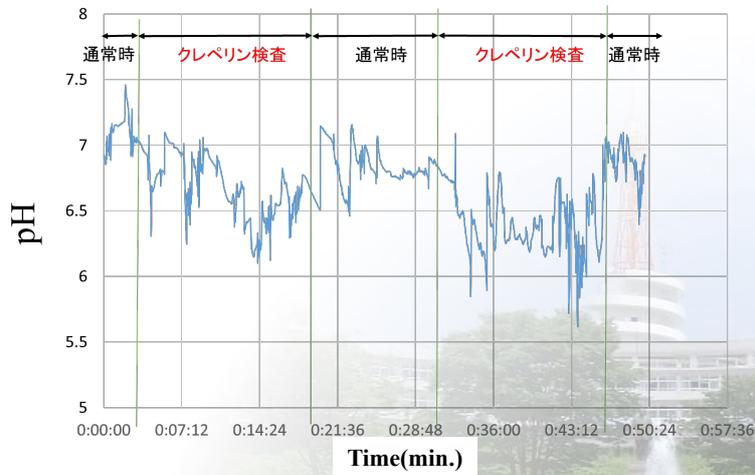


Fig. Measurement results during Kraepelin test

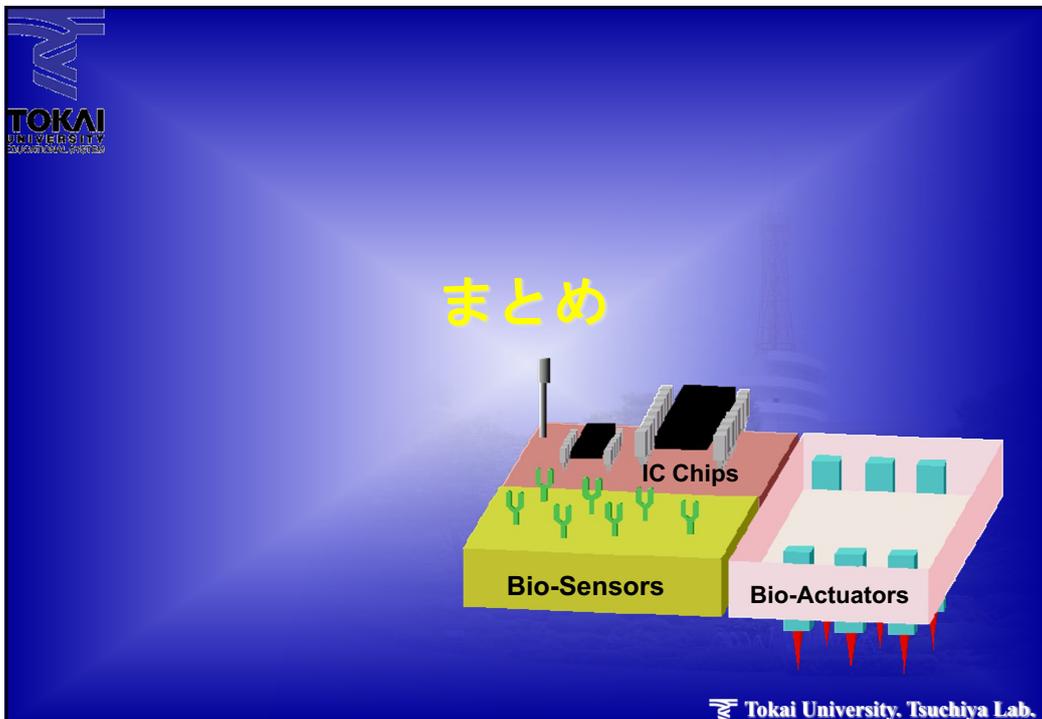
クレペリン検査によるpHの酸性への推移と検査停止によるpHの回復を確認.

クレペリン検査が進むにつれてpHの変化が増加.

29/32

Tokai University, Tsuchiya Lab.

29



Tokai University, Tsuchiya Lab.

30

# 機能性を有する極細管

## 要素技術を用いた「機能性を有する極細管」

溝付加中実針\*,\*\*      異形状注射針      針型蠕動アクチュエータ3\*      穿刺針4\*

\* : 2011年度 A-STEP研究成果最適展開支援プログラム(A-STEP) FSステージ(シーズ顕在化)特開2013-233240  
 \*\* : 2011年度 京浜臨海部ライフイノベーション国際戦略総合特区(横浜プロジェクト)推進課題  
 3\*: WO2008/102817  
 4\*: 特開2019-141588(特許査定): 意匠登録第1640840号

# まとめ

要素技術「極細管創製技術」により、

- 内面の良質な管の提供
- 任意の内径・外径を有する極細管の創製が可能
- 円管以外の任意な内・外の形状が異なる異形管の創製も容易に実現可能
- 管内の圧力損失を軽減可能な、異種材料のコーティングが可能、また材料によっては、管剛性の向上も期待できる。

さらには、“痛みの定量化”により、様々なパラメータを考慮することで、様々な使用環境に適した“針の設計”が可能。

今後は、安全面を設計因子とした“さらなる新しい針”の設計が課題となる。