

マイクロ・ナノテクノロジーに基づくシステム統合と バイオメディカル応用

新井 史人

工学研究科 バイオリボティクス専攻 ロボティクス講座
知能メカトロニクス分野 教授
E-mail: arai@imech.mech.tohoku.ac.jp



1. はじめに

メカノバイオシステムは研究現場や医療現場に先端デバイスや装置を供給する点において重要な役割を果たしている。今後、小型化と機能化のためにはマイクロ・ナノテクノロジーが必要不可欠である。本プロジェクトではマイクロ・ナノテクノロジーにより統合されたメカノバイオシステムに関する研究を行う。

ここで、メカノバイオシステムとは、(1) 分子、細胞、組織といった生体を構成する要素を力学的に扱うもの、(2) 生体要素や生命自体を模擬する人工システムや、(3) 生体要素や生命を人工デバイスに取り込んだハイブリッドシステムや生体に組み込まれる生体親和性の高い人工物をさすものとする。

システムおよびその生体親和性を実現するために必要となるマイクロ・ナノテクノロジーはシステム統合において重要な役割を果たしている。以下では我々の研究成果の一部を紹介する。

2. マイクロ・ナノ生体要素の操作

2.1 光ピンセットによるオンチップ非接触操作

オンチップでの単一細胞解析は、生命科学などの分野において重要なアプローチとなっている。光ピンセットは閉空間での非接触操作手法の一つとしてよく知られている。光ピンセットはマイクロ・ナノサイズの単一微粒子の操作に適しているが、細胞操作では直接レーザ照射は推奨できない。我々はマイクロツールを間接的に利用する利点を提案した [1]。これまでに光ピンセットによる三次元 6 自由度操作を実現し [2]、より器用な操作技術に関する研究を進めている。今年度はマルチビームを統合した操作手法を提案し、フォトリソグラフィにより加工したマイクロツール (図 1) やゲル製の機能性マイクロツールの操作を実現した [3]。

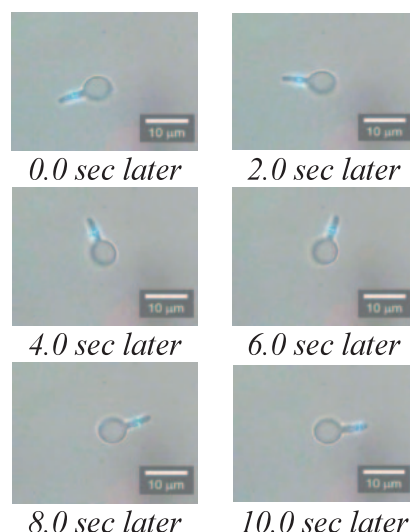


図 1. Manipulation of a microtool with IOT

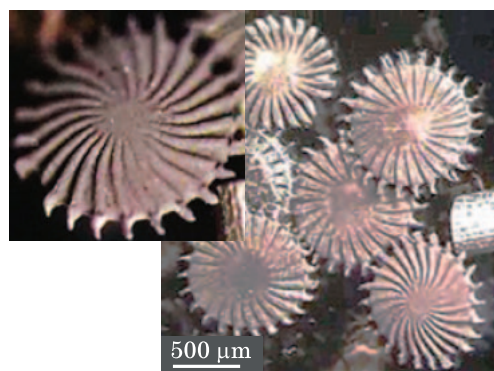


図 2. Example of 3D MMT

2.2 磁気駆動マイクロツールによる操作

細胞操作では十分な駆動力と柔軟性が必要とされる場合がある。我々は使い捨てタイプのマイクロ流体チップ内で制御する磁気駆動マイクロデバイスを提案した [4]。MMT は磁性ナノ微粒子とポリジメチルシロキサン (polydimethylsiloxane: PDMS) を混合し、フォトリソグラフィ技術により精密加工した。今年度は MMT の三次元加工 (図 2) [5]や

磁場集中による駆動特性の改善を行い、オンチップデバイスとして各種応用を行った[6].

3. 内視鏡用の外骨格型マイクロアーム

内視鏡用のマイクロデバイスとして、内視鏡的粘膜下層剥離術により腫瘍を切除するためのツールを考案した。マイクロアームは内視鏡の先端から出して腫瘍の切除に利用する。マイクロアームのコンセプトを図3に示す。アームは5層のから構成されており、中心に位置する板バネを中心で曲げることで湾曲する。このような構造を、簡便かつ大量に製作する方法として、2次元の層になったパーツを積み重ねていくことで、3次元の構造物を製作する方法 STAMP (Stacking Microassembly Process) を用いる (図4) [7]。5層目にあるひずみゲージ層は市販のひずみゲージ (KFG-I-120-C1-16L3M3R, 共和電業) を板バネに貼り付けることでセンサを取り付けた。ひずみゲージ層は、ポリミドをパターニングし、その上に Pt をパターニングしてひずみゲージを製作し, Au をパターニングすることで配線を製作する。

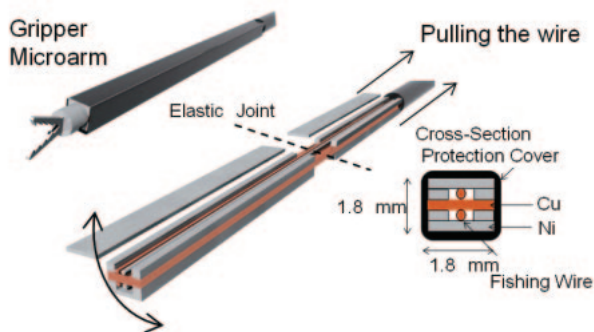


図3. Structural diagram of the microarm

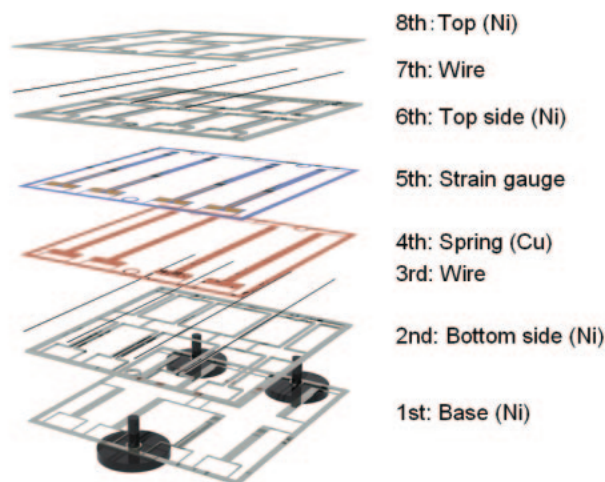


図4. Stacking Microassembly Process (STAMP)

STAMP で製作する各層の製作方法を述べる。加工方法としては、機械加工、放電加工などが挙げられるが、本研究では、量産のしやすさと、20 μm ほどの加工精度 (高さ 100 μm でアスペクト比が 5 の場合, SU-8), 自由な加工形状という利点からフォトリソグラフィとめっきによる方法を用いた[12]. 構造体の材料は生体適合性のある Ni をそして、板バネにはまずはめっきのできる Cu を用いた。

プロセスを図5に示す。まず、Si ウエハに犠牲層となる LOR 5B (Micro Chem) をスピコートする。そして、スパッタにて Cr と Au をそれぞれ厚さ 50 nm, 150 nm を狙ってスパッタリングした。そして、ネガ型厚膜レジストである SU-8 (Micro Chem) をスピコートして、SUSS (MicroTec AB, MA6) で露光する。そして、スルファミン酸 Ni 浴にてめっきを行う。レジストが存在しない部位だけめっきされるため、これが構造体となる。そして、RemoverPG (Micro Chem) に 6 時間浸し、LOR 5B を溶解させ、めっきの構造体をリフトオフする。そして、最後エタノールに浸し、超音波洗浄を行うことで余分なレジストや Cr/Au の薄膜を除去する。

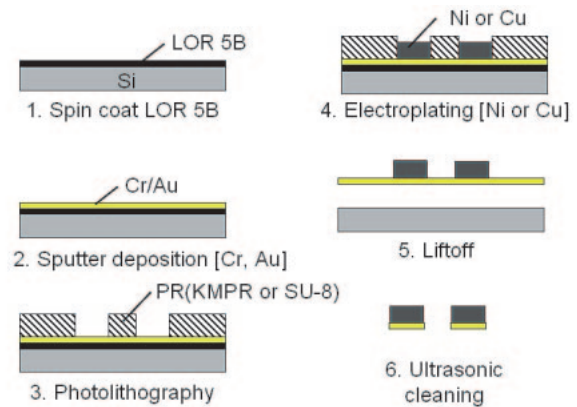


図5. Fabrication process

板バネにはバネに適したりん青銅を用いることにした。しかし、りん青銅はめっきで形成することができないため、今回はダイシングソーで幅 1 mm の板状に切断したものを使用した (厚さ 0.1 mm)。今後 STAMP で組み立てることができるようにするために、放電加工やレーザー加工を用いて、りん青銅板を加工すれば複雑な形状にも対応できる。りん青銅板を用いて組み立てたマイクロアームを図6に示す。

このアームは外骨格構造を有し、関節駆動で精密な制御が可能となる。現在、マイクログリッパを設計し製作中である。

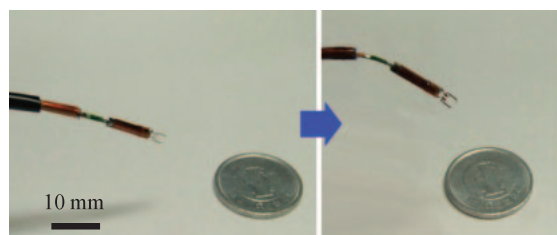


図 6. Bilateral actuation of the microarm

4. 個人用人体モデルとスキャホールド

個人データに基づく人工血管のスキャホールド（足場）を製作した。患者データからラピッドプロトタイピング、ソルトリーチングなどにより、人工頸動脈を製作した[8]。このスキャホールドは多孔性で、生分解性ポリマーからなり、内側に血管内皮細胞が接着してある。

また、細動脈や毛細血管といった微小径の血管モデルを人工的に模倣する加工技術に関して研究を行った[9,10]。以下では詳細を述べる。

4.1 円形断面を有する毛細血管モデルの作製

再生医療分野において、人工心臓や人工関節、人工血管といった人工材料を用いた様々な工学的アプローチの研究が進められている。現在、我々は個人情報に基づき、シリコーン樹脂製の血管モデルを各部分ごとに作製し、それぞれの血管モデルを接続することで血管シミュレータを作製している。血管シミュレータはカテーテル手術前のリハーサルや技術の習熟、新しい治療法の開発などの目的で医者に使用されている。そのため、我々は拍動ポンプを設置し、血流を再現している。我々は、超音波計測や他の様式によって得られた患者特有の血液ストリーミングを再生させることができる拍動ポンプを組み込み、血管シミュレータの中に流れる人間の脈動血液を再現させている（管のモデルはストリーミングで管の脈拍を再生させることができる）。しかし、これのシミュレータの血管モデルの内径は現在の作製方法では 500 μm 程度の血管モデルしか作製できておらず、人間の血流環境を再現できていない。

我々は、従来よりも人間に近い血流環境を再現するためには細動脈・毛細血管といった極細径の血管を模擬した血管モデルを円形断面で作製し、シミュレータに組み込む必要があると考え、本研究では、円形断面を有する細動脈・毛細血管モデルを作製することを最終目標とし、第一段階として円形断面を有する毛細血管モデルを作製している。また、一般的に 6 mm 以下の人工血管の研究は見当たらず、作製が難しいため毛細血管や細動脈内での細胞行動形態の知見に乏しくなっているため、極細径流路モデル内で血管内皮細胞の行動形態観察を行うことももう一つの研究目標である。

これまで、我々は図 4.1 に示す様に、微細加工により作製した二枚の PDMS (polydimethylsiloxane) 基板のボンディングにより、流路直径 13 μm の円形断面をもつ Y 字型毛細血管モデルを作製したが、PDMS 基板のボンディング時のアライメントが非常に難しいため、図 4.2 に示すように作製したモデル流路の接合面には微小なずれが発生する。そこで今回、このアライメント問題を解決し、完全な円形流路をもつモデルを作製するため、微細加工（フォトリソグラフィ）プロセスにおいて、流路用曲面パターンとアライメント用オス・メス型円柱パターンを二段露光で作製し、毛細血管モデルを作製した。また、このような極細径流路モデルを用いた応用例として、10 μm 流路内で血管内皮細胞(HUVEC)を培養した。

A. 作製方法

径 10 μm の毛細血管モデルは、フォトリソグラフィによりモデルパターンを作製している。血管を模倣して作製するので、モデルは図 4.3 のモデル設計に示す様に、円形断面でなくてはならない。フォトリソグに PMER P-LA900PM (800 – 1200 Dose)を使用し、10 μm のレジスト膜を作製し、

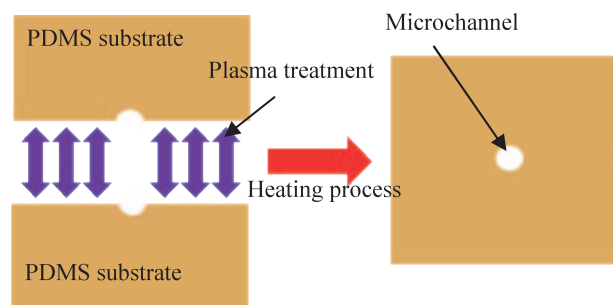


図 4.1. Concept of making capillary vessel model. After plasma treatment, we align and bond two patterned PDMS substrates by heating and complete capillary vessel model.

フォトマスクとサンプルを soft-contact 状態でオーバー露光すると球面レジストパターンが作製できる。このオーバー露光法を用いた径 10 μm モデル作製の予備実験結果として、露光量と球面パターンの真円度の関係を図 4.4 に示す。実験ではマスクパターンを 10 μm に固定し露光量を変化させて行った。この際、レジスト膜厚は 10 μm に固定し、露光・現像後にレジストパターンを PDMS 転写し、断面を顕微鏡観察して真円度を測定した。1200 ~ 1400 Doses ではレジストパターンが台形または三角形の形状になっているため、真円度が 60%程度と低い（図 4.4. (a)）。1500 ~ 1700 Doses ではレジストパターンが球面形状になり、真円度が 80%程度と高くなる（図 4.4 (b)）。1700 Doses 以上ではレジストパターンが楕円形形状になっていくため、真円度がどんどん下がっていく。この結果より、球面パターン作製には露光量 1500 Doses を利用する。この様にして作製したパターンを PDMS に転写し、二枚の PDMS 基板を張り合わせてモデルを作製するが、張り合わせアライメントを顕微鏡下で観察しながら行うため、微小なずれが生じてしまう。今回この問題を打開すべく、フォトレジスト PMER の多段露光を行った。

設計は、Si 基板上に流路用球面パターンとアライメント用オス・メス型円柱パターンを作製したものである（図 4.5）。プロセスチャートを以下に示す。

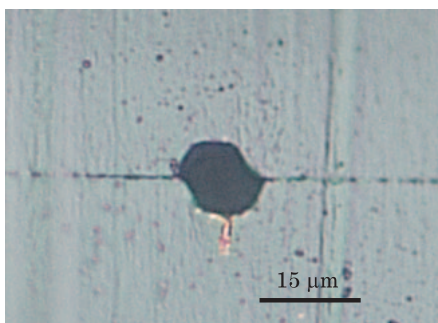


図 4. 2. Cross-section of capillary vessel model channel (before improvement).

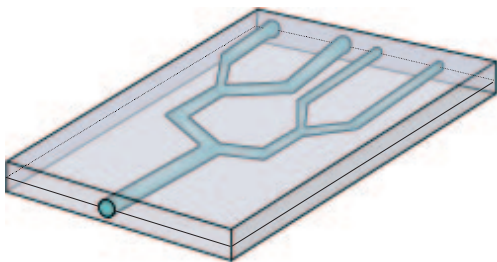


図 4. 3. Designed arteriole and capillary vessel model.

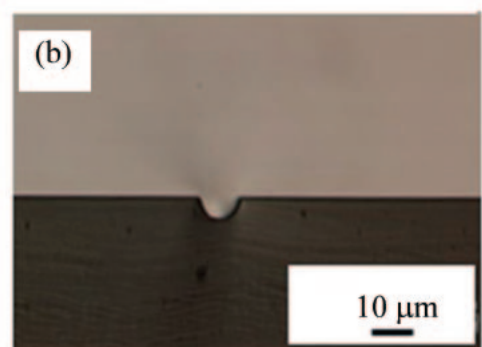
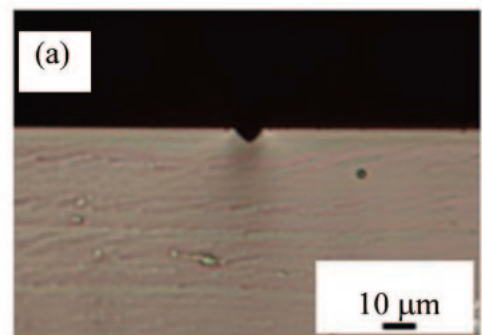
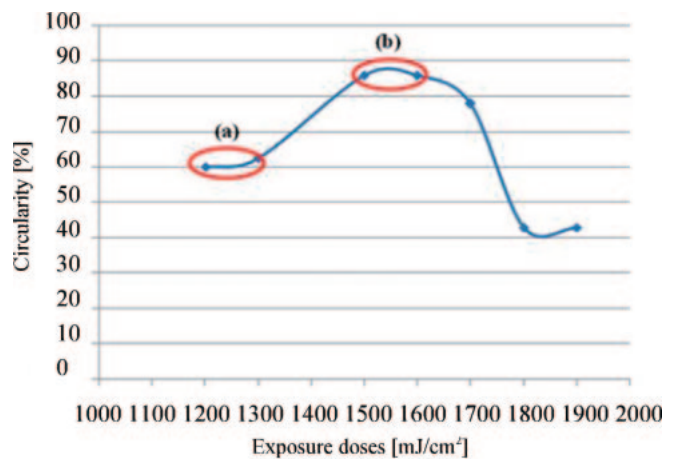


図 4. 4. Circularity result at each exposed dose. (a) shows the resist pattern shape is the trapezoid or triangular in 1200~ 1400 Doses. (b) shows the resist pattern shape is the semiround in 1500~ 1700 Doses.

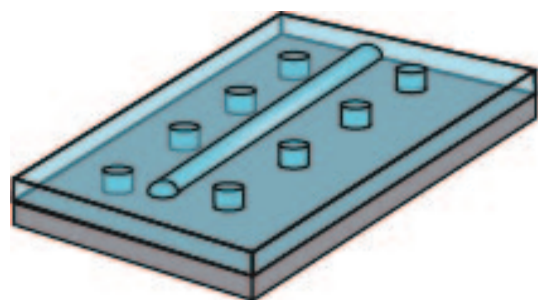


図 4.5. Designed convex pattern for channel and patterns for alignment.

- ・ フォトレジスト PMER を 8 μm 塗布.
 - ・ 1000 Dose まで露光しメス型パターンを作製 (hard-contact) .
 - ・ 7 min 現像.
 - ・ 145°C, 30min ハードベイク.
 - ・ プラズマ親水化後, フォトレジスト PMER を 10 μm 塗布.
 - ・ 1000 Dose まで露光しオス型パターンを作製 (hard-contact) .
 - ・ 6 min 現像.
 - ・ 145°C, 30min ハードベイク.
 - ・ プラズマ親水化後, フォトレジスト PMER を 10 μm 塗布.
 - ・ 1500 Dose までオーバー露光し流路パターンを作製 (soft-contact) .
 - ・ 5 min 現像.
- PDMS にパターン転写.

この PMER 多段露光プロセスで, 二段目レジストパターン作製前にはプラズマイオン処理で親水化を行った. プラズマ親水化を行うと, Si 基板上に二段目レジストパターンが作製されず, 一段目レジストパターン上にのみ二段目レジストパターンが作製できるためである. 作製したレジストパターンは Y 字型流路パターンで, 高さ 4.5 μm , 幅 10 μm であり, 組み立てアライメント用メス型パターン, 組み立てアライメント用オス型パターンは, それぞれ高さ 7 μm , 8.5 μm , 幅 1 mm であった. 作製したレジストパターンから凹型 PDMS パターンを製作し, レジストを完全に除去するためにエタノール超音波洗浄を 7 分 $\times$ 2 回行った. これを元に凸型 PDMS パターンを製作する. この凸型 PDMS パターンをマスターパターンとして転写し, 毛細血管モデル用 PDMS 基板を製作した. なお, PDMS にパターン転写を行う際には, プラズマイオン処理で親水化を行い, PDMS を剥がれ易くした. このようにして PDMS 基板を二枚作製し, プラズマイオン処理で親水化を行い, 顕微鏡観察下で組み立てを行った. 組み立ての際, PDMS パターン面同士の表面をエタノールで濡らすことでアライメント微細操作を円滑に行った. 組み立て後, オープン内にて 145°C で 30 分間加熱し, 毛細血管モデルを完成させた.

完成した毛細血管モデルは流路内に漏れがあつてはいけなないので, メチレンブルー溶液を用いて流路内のリークチェックを行った. 溶液投入前後

で流路内に色の変化が起き, 漏れなく溶液が流路内に流れたことが確認できた.

また, 作製したモデルは血管を模倣して作製しているため, 流路断面は円形でなくてはならない. 観察した流路断面は流路径が 9 – 10 μm で, ほぼ円形であり接合面のアライメントも改善されていることがわかった. 以上により, 今回二段露光を用いて作製した組み立てアライメント用オス・メス型パターンの効果があつたと考えられる.

B. 作製したモデル流路断面の定量評価

本節では, 組み立てアライメント用パターンの有無による①PDMS 接合面におけるずれの評価と, ②流路の真円度の評価を行う. PDMS 接合面におけるずれの評価は各 PDMS パターンの中心から接合面に対し垂線を下ろし, その垂線のずれを接合面のずれとする. この方法でずれを測定すると, アライメントパターンが無いモデルは 2.5 μm のずれがあつたのに対し, アライメントパターンを有しているモデルは 0.6 μm のずれであった. また, 真円度は流路断面の短軸の長さを長軸の長さで割ったもので示すことができるので, これを用いて各モデル流路の真円度を算出した. アライメントパターンが無いモデルは 70%の真円度があつたのに対し, アライメントパターンを有しているモデルは 84%の真円度であった. これらの評価から, アライメントパターンを新たに作製することによって, さらに円形に近い断面の流路を有する毛細血管モデルを作製することができるようになった.

C. 毛細血管モデルの応用例

従来研究されてきた流路内細胞培養実験を参考にして, オーバー露光法による球面作製法を用いて, 血管内皮細胞 (HUVEC) のモデル内培養実験を行った. この実験の目的は, 一般的に毛細血管程度の径の極細径流路内での細胞行動形態の知見が乏しく, この実験を通して知見を高めることである. モデルは組み立て用アライメントパターンの無い作製方法で作製した. 設計概念図を図 4.6 に示す. 流路は 1 mm の Y 字分岐型四角形断面流路の一部に 10 μm の円形断面流路を二段露光プロセスで作製する. 作製プロセスを以下に示す.

①10 μm の円形断面流路作製ステップ

- ・ シリコン基板表面を疎水化後 (OAP 塗布), フォトレジスト PMER を 10 μm 塗布.
- ・ 1500 Doses までオーバー露光 (soft-contact) .
- ・ 5 min 現像.

②1 mm の Y 字分岐型四角形断面流路作製ステップ

- ・ シリコン基板表面を疎水化後（OAP 塗布），
フォトレジスト PMER を 20 μm 塗布.
- ・ 1000 Dose まで露光（hard-contact）.
- ・ 6 min 現像.
- ・ PDMS にパターン転写.

作製したモデルパターンは、毛細血管モデル作製法同様の方法で、PDMS 基板にパターン転写し、プラズマボンディング及び熱処理して、基板を接着させ、縁に PDMS を塗り固めてモデルを完成させる。作製モデルのリークチェックでは流路内に液体の漏れがないことを確認し、流路断面観察では図 4.7 に示す様に、最小限のずれで作製できていることを確認した。この作製したモデルを用いて細胞培養実験を行った。

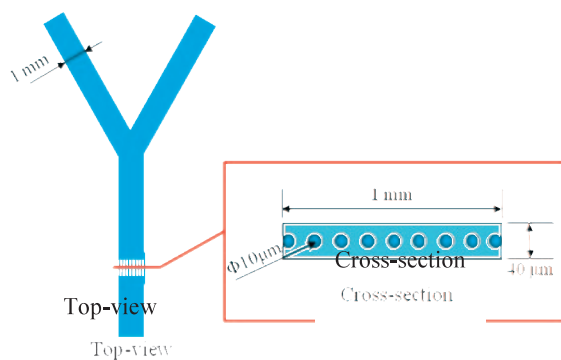


図 4. 6. Designed model for seeding and observing HUVEC experiment.

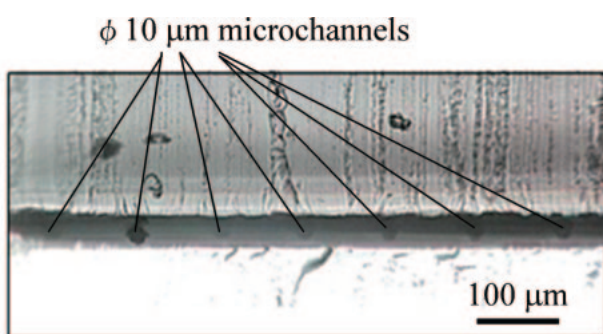


図 4. 7. Fabricated model's cross-section.

作製したモデル流路内をエタノールで洗浄し、pH7.4 リン酸緩衝溶液（PBS(-)）で洗浄した。次に、細胞接着因子として、ウシ血清由来フィブロネクチン（Fibronectin ; FN, SIGMA 社）を 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で溶解させた PBS 溶液を流路内に導入し、25°C で 10 分間作用させフィブロネクチンコートを行った。

最後に培地の濃度が 15%になるように希釈した PBS で流路内を洗浄後、9 代目 HUVEC（細胞数： 5.6×10^5 cells/流路）を播種し、3 日間培養した（37°C, 5%CO₂）。流路内に接着した HUVEC の形態観察のために、蛍光染色を行った。

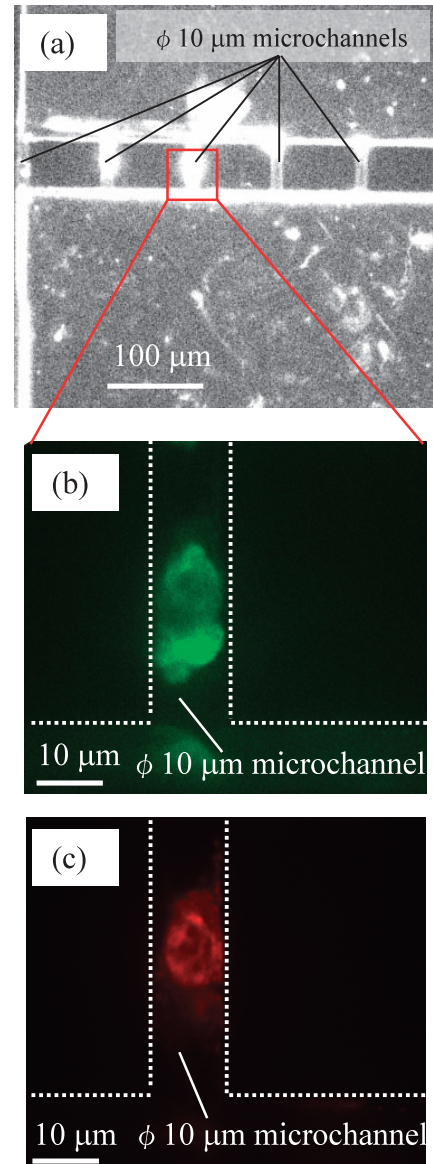


図 4. 8. Cell seeding and culture on microchannel.

(a) Photograph of the fabricated microchannel three day after HUVECs seeding. (b) Nucleic acid of HUVECs. (c) F-actin of HUVECs. Objective lens: (a) is 10x. (b), (c) are 60x.

核酸の染色には、SYTO13（5 mM DMSO 溶液，Molecular probes 社）を用いた。アクチンフィラメントを構築する F-アクチンの染色には、ファロイジン-ローダミン X 結合（和光純薬工業㈱）を用いた。SYTO13 は、増殖培地で 1 μM に調整した。

ファロイジン-ローダミン X 結合は、メタノールで $6.6 \mu\text{M}$ に調整し、PBS(-)で $0.16 \mu\text{M}$ に希釈した。HUVEC を培養した流路を PBS(-)で洗浄し、SYTO13 溶液を流路内に導入し、 37°C で 20 分間加温した。HUVEC を固定するために、SYTO13 で染色した流路内を PBS(-)で洗浄し、4%パラホルムアルデヒドリン酸緩衝溶液を導入し、室温で 20 分間静置した。固定後、0.1%TritonX-100 で細胞膜溶解処理を行った流路内にファロイジン溶液を導入し、20 分間室温で静置した。最後に、PBS(-)で洗浄した。

蛍光観察には、正立蛍光システム電動生物顕微鏡 (BX62, オリンパス光学工業株), 共焦点ユニット (CSU10, 横河電気株), 10, 60 倍の対物レンズを用いた。蛍光画像は、高感度 EMCCD (iXson^{EM}, Andor 社) で撮影した。図 4. 8 (a) は、HUVEC を 3 日間培養後の PDMS 流路 (明視野, 蛍光) の画像である。蛍光画像は、(a) の $\phi 10 \mu\text{m}$ 流路の一本に注目した (b) 核酸染色, (c) F-アクチン染色の画像を示す。HUVEC が $10 \mu\text{m}$ 流路内に接着していることがわかった。

D. 考察

今回の円形断面を有する毛細血管モデルの作製において、新たにアライメントパターンを作製することによって、今まで問題になっていた PDMS 接合面の微小なずれを $2.5 \mu\text{m}$ から $0.6 \mu\text{m}$ に改善でき、真円度を 70%から 84%に改善することが出来た。このことから、今回採用した多段露光プロセスが毛細血管モデルの作製に非常に有用であることを確認した。

また、多段露光プロセスによって作製した毛細血管モデル内において HUVEC の培養を行い、 $10 \mu\text{m}$ 流路内に細胞の存在を確認した。しかし、流路径が細胞の大きさと同程度であるため、細胞が流路内に接着しているのではなく詰まっているだけの可能性がある。

4. 2 透明な細動脈膜モデルの作製

現在の積層造形機による WAX モデルを用いる作製方法では、WAX が脆性材料であるため内径 $500 \mu\text{m}$ 以下の血管モデルの作製は困難であり、人間の血流環境を完全に再現できていない。また、脳底血管のような内径 $100 \mu\text{m}$ 程度の非常に細い血管内でも血管疾患が起こることが確認されているが、従来の血管シミュレータでは内径 $500 \mu\text{m}$ 以下

の血管内で起こる血管疾患の治療を対象としたリハーサルを行うことができない。この従来の血管シミュレータの欠点を補うために、我々はこれまでに従来の血管シミュレータに組み込むことが可能な内径 $10 - 500 \mu\text{m}$ の細動脈・毛細血管といった極細径の血管を模擬した円形断面血管モデルを図 4.9 に示すような設計に基づき、フォトリソグラフィで作製してきた。図 4.10 に示すように、円形断面モデル作製に用いるフォトリソグラフィプロセスには、オーバー露光法、リフロー法、グレイスケールリソグラフィの三種類がある。これらの露光法それぞれに作製できるモデル径の限界が存在するので、目的とする作製モデル径によって適切な方法を使い分ける必要がある。これらの露光法でこれまでに作製してきた細動脈・毛細血管モデルはブロック型の血管モデルであり、本物の血管のヤング率などのコンプライアンスを再現することができない。この問題を解決するために、細動脈・毛細血管モデルを膜モデルで作製する必要があるが、従来の作製方法では WAX が脆性材料であるため犠牲モデルを作製することが難しかった。

我々は、透明な細動脈膜モデルを作製する新しい方法を提案する。WAX にポリマーであるポリビニルアルコール(PVA)を混ぜることで脆性を低下させ、犠牲モデルを作製し、ディップコーティングによって細動脈膜モデルを作製した。今回提案する血管シミュレータ用の内径 $500 \mu\text{m}$ 以下の膜型血管モデルを作製する利点は、(1)脳底血管のような内径 $100 \mu\text{m}$ 程度の血管内で起こる血管疾患を治療対象にできるようになること、(2)流体力学的に従来よりも血流環境の再現性が向上することが挙げられる。今回は試作段階であるため、内径 $500 \mu\text{m}$ の細動脈膜モデルの試作を行った。また、犠牲モデル作製には、WAX と PVA の混合材料を用いることが非常に重要になるので、本混合材料の評価も行った。

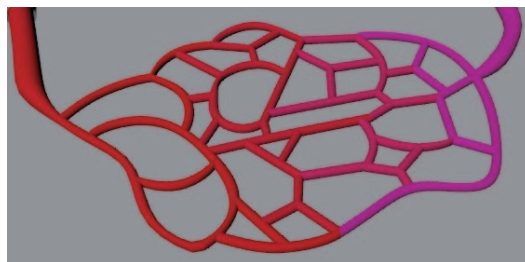


図 4. 9. Designed arteriole and capillary vessel model.

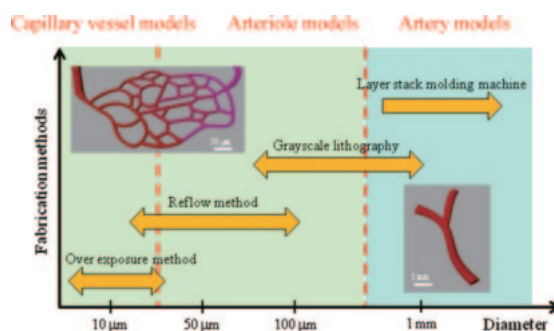


図 4.10. Concept of fabrication methods for multi scale blood vessel models.

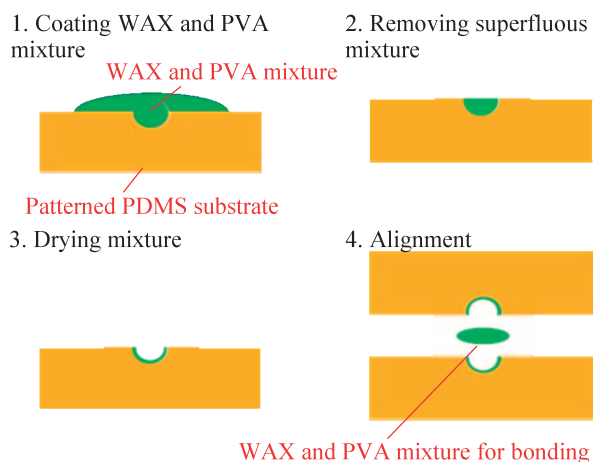


図 4.11. Process chart for sacrificial model.

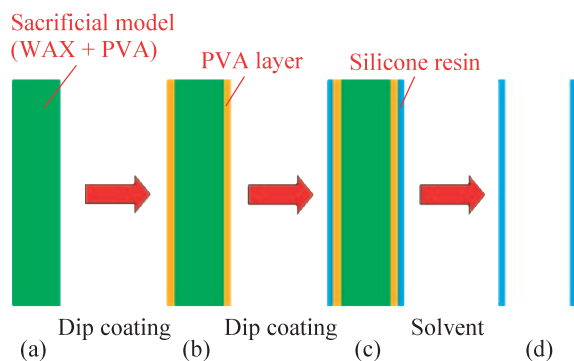


図 4.12. Process chart for membrane model.

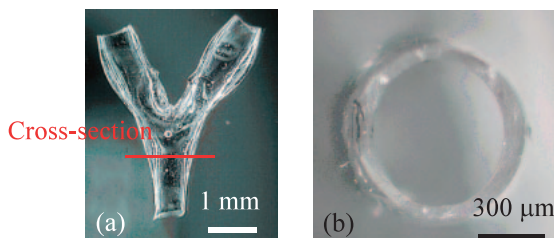


図 4.13. $\Phi 500 \mu\text{m}$ arteriole membrane model made by using WAX and PVA mixture material and grayscale lithography. (a) fabricated arteriole membrane model. (b) cross-section of fabricated arteriole membrane model.

A. 細動脈膜モデルの試作

膜モデル作製には、グレイスケールリソグラフィーによりモデルパターンの作製を行い、PDMS (poly(dimethylsiloxane)) にパターン転写を行う。パターンニングした PDMS に WAX と PVA 混合材料を塗り込んだ基板を二つ用意し、アライメント・乾燥させることで膜モデル作製用犠牲モデルを作製する。この犠牲モデルに平滑化のため PVA、膜モデル用にシリコン樹脂をディップコート、その後アセトン、DI 水で犠牲モデルと PVA を溶解させて、目的の膜型血管モデルを作製する。

細動脈膜モデルを作製するには、まず PVA・シリコン樹脂をコートする際の型となる犠牲モデルが必要である。この犠牲モデルを作製する材料には、様々な材料が考えられる。従来の犠牲モデルを構成している WAX、平滑化のために用いている PVA などが身近なものとして考えられる。しかし、WAX は非常に脆い材料であり、PVA は曲げ強さが小さくモデル形状の維持が難しい。そこで、これら WAX と PVA の二つの材料を混ぜることで、モデル形状を維持でき、脆くない材料を作製し、本材料を用い犠牲モデルを作製した。また、犠牲モデルの型となる PDMS 基板はネガ型フォトリソグレイスケールリソグラフィーによって球面露光することでパターン作製し、PDMS にパターン転写することで作製した。以下に、犠牲モデル作製プロセスを説明する(図 4.11)。

1. PDMS 基板のパターン面に WAX + PVA 混合材料を塗り込む。
2. 余分な混合材料をすりきって、取り除く。
3. 室温で 10 分程度静置し、水分を蒸発・乾燥させる。

混合材料を塗り込んで乾燥させた PDMS 基板を二枚準備し、接着材として混合材料を間に挟みアライメントする。

4. 30 分程度静置し、水分を蒸発・乾燥させ、PDMS 基板を外し、犠牲モデルを完成させる。
5. 犠牲モデル周りのバリを取り除く。

上記のプロセスにより作製した犠牲モデルを用い細動脈膜モデルを作製する。まず、犠牲モデルの表面平滑化のためにコートする PVA と最終的に膜モデルの構成材となるシリコン樹脂は、従来方法同様にディップコートにより膜形成を行う。このあと犠牲モデルと平滑化 PVA を溶解することで、膜モデルを完成させる。以下に、膜モデル作製プロセスを説明する(図 4.12)。

表 1. Experimental rigidity

PVA:WAX ratio[%]	Young's modulus [MPa]
1:0	9.57
4:1	9.69
3:2	8.78
2:3	15.7
1:4	22.8
0:1	20.6

4. 膜状のシリコン樹脂を乾燥させ、膜型血管モデルを完成させる。

完成した試作細動脈膜モデルを図 4.13 に示す。図 4.13(b)が示す様に膜状かつ中空構造で円形断面の細動脈モデルが作製できているのが確認できる。また、短軸の長さを長軸の長さで割ることで真円度を算出したが、今回作製した膜モデルの真円度は 90%と高い真円度を有していた。

B. WAX + PVA 混合材料の評価

この膜型血管モデルの作製プロセスにおいて、WAX + PVA 混合材料で犠牲モデルを作製することが内径 500 μm 以下の膜型血管モデルを作製するのに非常に重要な役割を果たしている。WAX のみで作製するには、周辺温度の管理が必要であり、また、脆い材料であるため今回の犠牲モデル作製には適さない。PVA のみで作製すると、曲げ強さが小さいためディップコート時に自重で形状の変形が起こってしまう。そこで、WAX と PVA を混合して犠牲モデルを作製する手法を提案した。本混合材料の特性としては WAX と PVA の双方の特性を併せ持っていることが容易に予想できるが、今回、WAX と PVA の混合比によってどのような特性の変化があるのかを評価した。評価した特性は機械的特性としてヤング率（縦弾性係数）、化学的特性として溶液に対する溶解度である。使用する試験片は混合比（質量比）WAX : PVA = 1 : 0, 4 : 1, 3 : 2, 2 : 3, 1 : 4, 0 : 1 で作製した。

ヤング率の測定には引張り試験機を用いた。使用する試験片は、50×10×2 mm（長さ×幅×厚さ）で作製した。測定結果は、荷重－変位曲線で出力されるので、このデータを応力－歪み線図に変換し、グラフの初期立ち上がりからヤング率を計算し、測定結果とした。また試験回数は各混合率試験片に対し 3 回とした。測定結果から算出したヤング率を表 1 に示す。PVA のヤング率が 9.57 MPa であるのに対し、WAX のヤング率は 20.6 MPa であった。混合材料試験片は WAX の割合が増える程ヤング率が大きくなっていく傾向が確認された。したがって、混合比によって、WAX と PVA の機械的性質を制御できることがわかった。

溶解度の測定は経過時間に対する質量変化を測定することで評価した。実験には、温度を 50℃一定にした、超音波洗浄機を用いた。また溶解溶液は PVA を非常によく溶かす DI 水、WAX を非常によく溶かすアセトン、そして今回は混合材料を用

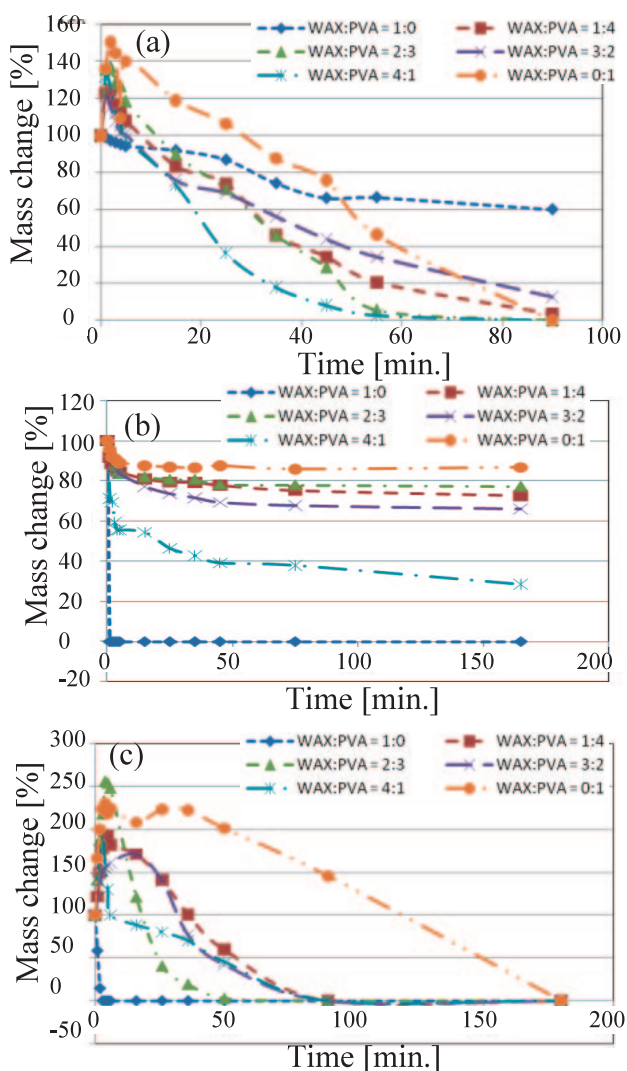


図 4.14. Evaluation of chemical features. (a)DI water (b)acetone (c)acetone + DI water

1. 表面平滑化のため、犠牲モデルに 10wt% の PVA 溶液をディップコートする。
2. PVA 乾燥後、シリコン樹脂をディップコートする。
3. アセトン、DI 水で犠牲モデル・平滑化 PVA を交互に選択溶解する。

いているので溶液も DI 水とアセトンを 1 :1 で混合した溶液を用意し、上記の三種類の溶液で溶解度評価測定実験を行った。DI 水、アセトン、DI 水・アセトン混合溶液に対する溶解度測定実験結果を図 4. 14 に示す。DI 水には PVA 成分がよく溶けるので、WAX・PVA 混合材料試験片も溶かすことができた。WAX 試験片の質量変化があるのは、温度による溶解と超音波によるエッチングの影響であると考えられる。アセトンには WAX 成分がよく溶けるが、WAX・PVA 混合材料試験片の質量変化が小さいことが確認できた。これは、WAX が PVA によりコートされ、アセトンに触れていないためだと考えられる。DI 水・アセトン混合溶液には、WAX・PVA 双方の成分が溶けることが予測され、実験結果も予想通りであった。DI 水・アセトンそれぞれ単体の溶液の溶解速度と比較すると、混合溶液では溶解速度は低下しているが、全ての試験片を溶かすことができた。また、DI 水が含まれている溶液中では、PVA 成分が水分を含み膨潤し、質量が増えることも確認した。以上の結果から、WAX・PVA 混合材料を用いたモデルを溶解させる際は、DI 水・アセトン混合溶液が最適であると考えられる。

5. おわりに

メカノバイオシステムはバイオメディカル工学にて重要な役割を果たしており、更なる改良のためにはマイクロ・ナノテクノロジーが重要となることは明白である。今後も異分野にまたがり、境界領域での教育・研究を推進していく。

文 献

- [1] Arai F, et al. High speed random separation of microobject in microchip by laser manipulator and dielectrophoresis. *Proc. IEEE Micro Electro Mechanical Systems Conf*, 727-732, 2000.
- [2] Arai F, et al. 3D 6DOF Manipulation of Micro-object Using Laser Trapped Microtool. *Proc. of 2006 IEEE Int'l Conf. on Robotics and Automation*, 1390-1395, 2006.
- [3] Arai F, Onda K, et al. Micromanipulation of Microtools Made of SU-8 by Integrated Optical Tweezers. *μ-TAS*, 396-398, 2008.
- [4] Yamanishi Y, Lin YC, and Arai F. Magnetically

Modified PDMS Devices for Active Microfluidic Control. *μ-TAS*, 883-885, 2007.

- [5] Yamanishi Y, Sakuma S, Kihara Y, and Arai F. On-chip Magnetic 3D Soft Microactuators Made by Gray-scale Lithography. *2008 IEEE/RSJ Int Conf on Intelligent Robots and Systems (IROS2008)*, 4054-4059, 2008.
- [6] Yamanishi Y, Sakuma S, Onda K, and Arai F. Magnetically Modified Polymeric Microsorter for On-chip Particle Manipulations. *2008 IEEE/RSJ Int Conf on Intelligent Robots and Systems (IROS2008)*, 570-575, 2008.
- [7] Azuma D, Narumi K, and Arai F. Fabrication of Articulated Microarm for Endoscopy by Stacked Microassembly Process (STAMP). In *IEEE MHS '08*, Nagoya, Japan, 2008 (submitted).
- [8] Uchida T, et al. Development of biodegradable scaffolds based on patient-specific arterial configuration. *J Biotech* **133**, 213-218, 2008.
- [9] Nakano T, Yoshida K, et al. Fabrication of Capillary Vessel Model with Circular Cross-Section and Applications. In *Proc 2008 JSME Conf on Robotics and Mechatronics (ROBOMECH2008)*, Nagano, 2P2-J17, 2008.
- [10] Nakano T, Yoshida K, et al. Fabrication of Transparent Arteriole Membrane Models. In *Proc of IEEE MHS '08*, Nagoya, Japan, 2008 (to appear).