

低採血量型血糖値測定用 センサーチップの開発

北村 貴彦・改森 信吾・原田 章
石川 智子・藤村 剛・中村 秀明
後藤 正男・軽部 征男

Development of Blood Glucose Sensor Strip that Uses Small Blood Sample — by Takahiko Kitamura, Shingo Kaimori, Akira Harada, Tomoko Ishikawa, Tsuyoshi Fujimura, Hideaki Nakamura, Masao Gotoh and Masao Karube — Sensor strips for self-monitoring of blood glucose are desired to require only small amount of blood sample so the pain of the patients with pricking their fingertips is reduced. In this study, the authors developed a new sensor strip which requires a blood sample of merely 200 nL. An advanced screen-printing technique was employed in the assembling process to attain precise spatial control over the sensor elements such as carbon electrodes and spacers. The measurement accuracy of the new sensor strip was nearly equal to that of the commercially available ones. In the Clarke Error Grid analyses using human blood samples, it was confirmed that all measured points in a glucose concentration range of 8 to 461 mg/dL were within the “A zone”. Glucose oxidase (GOD) was used as the enzyme, in order to prevent the misvaluation of the glucose concentration by the presence of maltose in human blood. Good results were obtained for the new blood glucose sensor strip using a blood sample of only 200 nL.

1. 緒言

世界の糖尿病患者数の合計は1億9400万人（2003年）であり、2025年には3億3300万人にまで増加すると予想されている⁽¹⁾。糖尿病は進行すれば神経障害や腎症、網膜症などの重篤な合併症を引き起こす⁽²⁾。糖尿病進行の抑制および医療費の削減のためには、患者自身が血糖値を把握して（血糖自己測定）、適切にコントロールすることが重要である。しかしながら、現在販売されているほとんどの自己測定用血糖値センサーは、測定に必要な血液量が多く、そのため採血時に痛みを伴う。

現在、当社、東京工科大学、独立行政法人産業技術総合研究所の産・学・官による連携で、低採血量（世界最小採血量：200nL）で測定可能かつ低コストで製造可能な血糖値センサーの共同開発を行っている。低侵襲かつ低価格な血糖値センサーを提供することで糖尿病患者のQOL（Quality of Life）を高め、急速に患者数が増加している発展途上国への普及も期待できる。

本稿では、低採血量型血糖値測定用センサーチップの構成及び評価結果について報告する。

2. センサーの構成と測定原理

本センサーチップの製造方法を図1に示す。スクリーン印刷法により樹脂基盤にカーボン電極とスペーサーを印刷後、電極上に酵素とメディエーターを固定化することにより作製している。酵素にはグルコースオキシダーゼ（GOD）を、メディエーターにはフェリシアン化カリウム（ K_3Fe

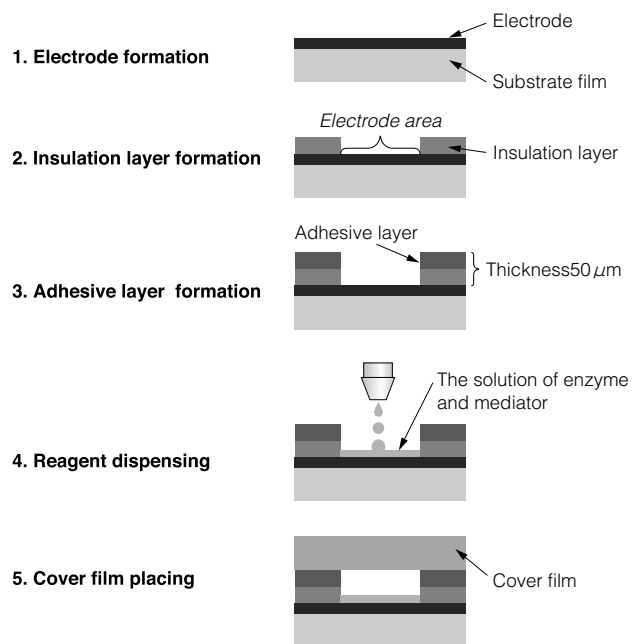


図1 開発した血糖値センサーチップの製造法

(CN)₆)を用い、それらを溶解した液を所定量滴下し、乾燥させることで電極上に固定している。

少量の採血で測定可能なセンサーチップを用いれば、採血時の痛みを低減できる。本センサーチップでは、血液を導入するためのセンサーチップのキャビリティ厚みは、スペーサー板を用いずに薄いスペーサー層の印刷により形成

している。キャピリティ厚みの形成には、一般的にスペーサー板を用いるが、 $100\mu\text{m}$ 以上の厚みがないと製造時の取り扱いが困難となる。一方、スクリーン印刷によるスペーサー層の厚みは、 $50\mu\text{m}$ 以下で形成できる。さらに、安価なカーボンインクを適用することにより、低採血量で測定可能なセンサーチップを低コストで実現できる。

血液をセンサーチップ内に注入して電極間に電圧 0.5V を印加してクーロアンペロメトリー測定を行い、発生した電流値を換算することで血糖値を求めている。図2に示すように、血液中のグルコースを電極上に固定化してあった酵素が酸化し、生成したフェロシアン化カリウム ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$) の酸化電流を検出している。

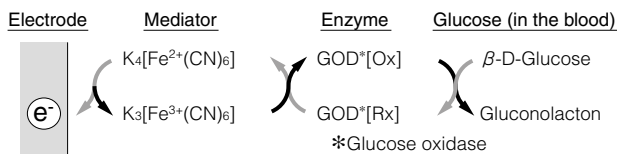


図2 GODを用いた血糖値センサーの反応機構

3. センサーチップの性能評価

検出される電流値と血糖値の相関性を評価した結果を図3に示す。サンプルとしてグルコースを溶解して血糖値を調整した綿羊血を用い、血糖値は全自動グルコース測定装置GA-1151（アークレイ株）にて測定した。血糖濃度 $20\sim 600\text{mg/dL}$ の範囲で変動係数（CV値：標準偏差／平均値）が5%以下であり、非常に高い相関係数を示していることが確認できた（ $r = 0.998$ ）。

本センサーチップの現状での血糖値の測定再現性を市販センサーと比較した結果を表1に示す。測定サンプルとして血糖濃度を調整した綿羊血を用いた。測定した血糖濃度（48, 81, 139, 233, 386 mg/dL）において変動係数は1.8～4.8%と市販センサーとはほぼ同等の測定精度が得られることを確認できた。

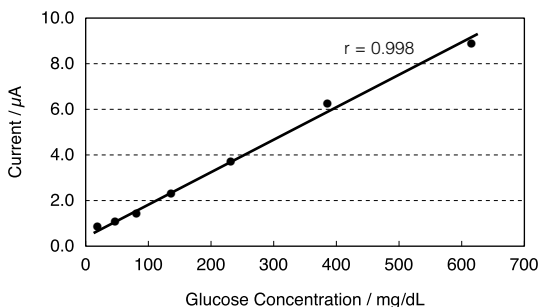


図3 開発したセンサーチップの検量線
サンプル：血糖濃度を調整した綿羊血

表1 市販血糖値センサーとの測定精度比較

Sensor	Our sensor	Company A	Company B	Company C	
Enzyme	GOD	GOD	GDH	GDH	
Sample Volume (μL)	0.2	2.0	0.6	0.3	
Coefficient of Variation (%)					
Concentration of glucose (mg/dL)	48	2.9	3.8	3.5	2.8
	81	2.2	5.2	2.9	5.3
	139	1.8	3.0	1.1	4.6
	233	4.8	1.9	2.4	2.8
	386	2.7	1.8	0.9	2.5

開発したセンサーチップを用いて、血糖値を調整した人血での Clarke Error Grid の作成を行った結果を図4に示す。⁽³⁾ 血糖濃度 $8\sim 461\text{mg/dL}$ の範囲で測定した20点の相関係数は非常に高く（ $r = 0.993$ ）、また20点すべてがAの領域（clinically accurate）に入っていることを確認できた。

血糖測定値を変動させる干渉物質として代表的なマルトースの影響を調査した結果を図5に示す。酵素としてグルコースデヒドロゲナーゼ（GDH）を使用しているC社のセンサーチップはマルトースの添加量を増やすと、顕著に測定値が上昇している一方、酵素としてGODを使用して

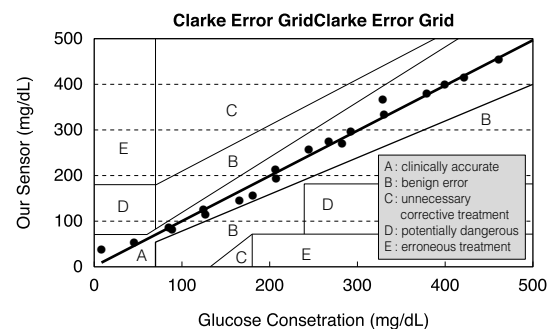


図4 Clarke Error Grid解析
サンプル：血糖濃度を調整した人血

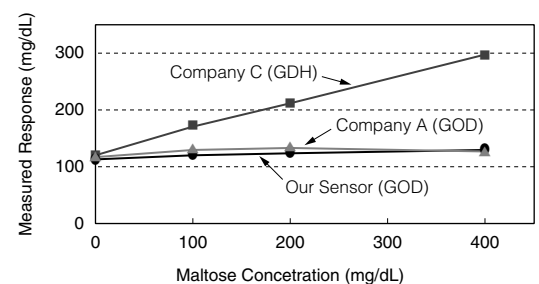


図5 マルトースの血糖値への影響調査
サンプル：血糖値 115mg/dL の綿羊血
酵素：開発したセンサー→Glucose Oxidase (GOD)
A社→GOD
C社→Glucose Dehydrogenase (GDH)

いる開発したセンサーチップはマルトースの添加量を増やしても血糖測定値はほとんど上昇せず、同じく GOD を使用している A 社のセンサーチップと同等であることが確認できた。

4. 結 言

酵素に GOD を使用した低採血量（200nL）で血糖値測定が可能なセンサーチップを開発し、干渉物質として代表的なマルトースの影響もほとんど受けないことを確認した。低採血量で測定可能な血糖値センサーチップのほとんどがマルトースの影響を受けやすいことが知られている GDH を使用しているのに対し、今回開発した GOD を適用した低採血量型センサーチップは特長あるものと言える。今後はヘマトクリット値の影響と保存特性に着目して評価し、センサーチップの早期供給を目指す。

参 考 文 献

- (1) 厚生労働省保険局、平成 14 年糖尿病実態調査報告（2004）
- (2) Klonoff DC. Noninvasive blood glucose monitoring Diabetes Care 1997；20：433-437.
- (3) Clarke WL, COX D, Linda A, et al. Evaluating clinical accuracy of system for self-monitoring of blood glucose. Diabetes Care 1987；10：622-628.

執 筆 者

北村 貴彦*：エレクトロニクス・材料研究所 高分子材料技術研究部
改森 信吾：エレクトロニクス・材料研究所 高分子材料技術研究部 主査
原田 章：エレクトロニクス・材料研究所 高分子材料技術研究部
プロジェクトリーダー
石川 智子：独立行政法人産業技術総合研究所
藤村 剛：独立行政法人産業技術総合研究所（工学博士）
中村 秀明：独立行政法人産業技術総合研究所 東京工科大学（工学博士）
後藤 正男：独立行政法人産業技術総合研究所 東京工科大学（工学博士）
軽部 征男：独立行政法人産業技術総合研究所 東京工科大学（工学博士）

*主執筆者