

課題番号 : F-15-AT-0080  
利用形態 : 技術代行  
利用課題名(日本語) : 新しい ex vivo 微小血管モデルにおける白血球活性化の指標の検討  
Program Title (English) : A Novel Parameter Reflecting Rheology and Activity of Leukocytes in *ex vivo* Microvascular Model  
利用者名(日本語) : 清水理葉<sup>1)</sup>, 安隆則<sup>2)</sup>  
Username (English) : Riha Shimizu<sup>1)</sup>, Takanori Yasu<sup>2)</sup>  
所属名(日本語) : 1) 獨協医科大学日光医療センター 心臓・血管外科  
2) 獨協医科大学日光医療センター 心臓・血管内科  
Affiliation (English) : 1) Dokkyo Medical University Nikko Medical Center Cardiovascular surgery  
2) Dokkyo Medical University Nikko Medical Center Cardiovascular medicine

## 1. 概要(Summary)

本研究では、シリコン微細加工で作製したマイクロチャンネルアレイ微小血管 ex vivo モデルによる血液流動性の計測・観察により微小血管内の血球の挙動を可視化し心臓疾患他の有力な診断技術とすることを目的に、産業技術総合研究所ナノプロセッシング施設(NPF)を利用してマイクロチャンネルアレイチップを試作し、計測・観察に適したマイクロチャンネルアレイの構造、チップ間の計測再現性を実現するための計測手順を明らかにする。

## 2. 実験(Experimental)

### **【利用した主な装置】**

多目的エッチング装置・プラズマ CVD 装置・酸アルカリドラフトチャンバー・マスクレス露光装置・触針式段差計・ダイシングソー・短波長レーザー顕微鏡(OLS-4100)

### **【実験方法】**

熱酸化膜付シリコンウエハ上に血管のサイズを模倣した 2 種類の深さの流路を形成したマイクロチャンネルアレイチップに、流体をマイクロチャンネルアレイに導入するための貫通孔の作製を行うため、まず、プラズマ CVD によるハードマスク形成及びマスクレス露光を用いて形成した厚膜レジストをマスクとして形成した。レジストマスクはエッチング時に発泡現象が発生しないようにハードベークを行い、多目的エッチング装置を用いて貫通孔の作製を行った。流路の親水化処理及びチップの耐久性向上のためにプラズマ CVD を用いて成膜を両面から行った。チップ間の深さなどのばらつきの確認は、短波長レーザー顕微鏡(OLS-4100)を用いて行い、全面の形状を画像化する事での実験結果とばらつきを調査できるようにデ

ータを取得した。最後にダイシングソーを用いてチップサイズに切り出した。

作製したシリコンチップを利用して、ヒト血液にヘパリンまたは EDTA-2Na+ヘパリンを混合。それぞれ全血が通過する前後の生理食塩水通過時間、白血球の接着数を計測した。

## 3. 結果と考察(Results and Discussion)

ヘパリン投与前後の生理食塩水通過時間は接着した白血球数と相関を認めた。また、ヘパリンと EDTA の通過補正時間の差は接着白血球数と相関を認めた。

ヘパリン全血の生理食塩水通過時間、ヘパリンと EDTA の通過時間の差は白血球活性化の指標となりうる可能性があると考えられる。

## 4. その他・特記事項(Others)

共同研究者: 産業技術総合研究所 秦信宏

## 5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

なし。

## 6. 関連特許(Patent)

・特許出願中