

Letter

## Mouthguard type biosensor for wireless measurement of salivary uric acid ワイヤレス唾液尿酸計測のためのマウスピース型バイオセンサ

Gentaro KAWASE\* and Takumi OISHI\*

*Tokyo Medical and Dental University (TMDU), Graduate School of Medical and Dental Sciences,  
1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8580, Japan*

Kenta IITANI\*\*, Koji TOMA\*\*, Takahiro ARAKAWA\*\*, and Kohji MITSUBAYASHI\*\*

*Tokyo Medical and Dental University (TMDU), Institute of Biomaterials and Bioengineering, 2-3-10,  
Kanda-Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101-0062, Japan*

*TEL: +81-3-5280-8091 FAX: +81-3-5280-8094 e-mail: m.bdi@tmd.ac.jp*

(Received 11 January, 2022 Accepted 27 February, 2022)

The number of hyperuricemia patients has been increasing. It is important that keep normal uric acid (UA) levels to prevent complicating disease of hyperuricemia. The current standard of UA tests uses a blood sample. However, it is not suitable for self-monitoring of UA level because it involves the burden of puncture and the risk of infection by taking a blood sample. Personal UA sensor is expected to monitor diurnal variation without invasiveness in a casual manner. In this study, we fabricated and evaluated a uricase-based biosensor toward the non-invasive continuous measurement of salivary UA concentration in the oral cavity. Uricase catalyzed UA and produced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in an enzyme-immobilized membrane on a Pt electrode. Then, generated H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration which is correlated to the UA concentration was measured by the chronoamperometry technique. As a result, not only a wide dynamic range (0.1–10 μmol/L) but also high selectivity for UA was observed. In the future, the developed UA biosensor would allow monitoring UA levels non-invasively and continuously.

**Keywords:** Saliva, Uric acid, Healthcare monitoring, Wireless biosensor, Cavitas sensor

### I. INTRODUCTION

近年、運動不足や飽食により高血圧や高尿酸血症などの生活習慣病の患者数が増加している。特に、高尿酸血症の患者数が上昇し、本邦では1600万人に上り、世界では12億人に達していると報告されている。<sup>1,2</sup>尿酸値が7 mg/dLを超えると高尿酸血症と診断され、高濃度となった血液中の尿酸が関節で結晶化することで痛風発作が生じる。罹患者において、尿酸値の増加は自覚症状を伴わないため、自己の尿酸値を把握し適切に管理する必要がある。尿酸値は日内変動および日間変動も生じるため、連続的な測定にて尿酸値の推移を評価する必要がある。

\* 東京医科歯科大学大学院 歯学総合研究科

\*\* 東京医科歯科大学 生体材料工学研究所

SAS Award was given to this paper presented as Poster Presentation at the 2021 SAS Symposium.

近年では、表皮に微小な針を穿刺し血液中の尿酸濃度を計測する機器が普及しているが、身体への侵襲を伴う。<sup>3</sup>本研究では、マウスピース材料を用いて尿酸測定用のマウスピース (MP) 型バイオセンサを作製し、無線通信により口腔内で唾液尿酸値の連続測定が可能なMP型尿酸測定センサを作製した。

### II. METHODS AND MATERIALS

#### II-A. Fabrication of uric acid biosensor

口腔内での使用を想定したMP型センサのイメージ図をFig. 1に示す。MP型センサの作製では、まず金属との密着性の高いMP材料(polyethylene terephthalate glycol, PETG, ERKODENT)上にスパッタ法にて、Pt電極(working electrode)、およびAg電極(counter electrode / reference electrode)を、ステンシルシールをマスクとして成膜した。

次に、端子以外の Ag 電極部と Pt プレートとを 0.1 M の HCl 溶液に浸漬し、電圧を印加することで Ag/AgCl 電極を作製した。また、Pt 電極上へのウリカーゼの固定化では、生体適合性に優れ、機械的強度の高い光架橋性 poly(MPC-co-EHMA-co-MBP) (PMEHB) を利用した。実験ではウリカーゼ、リン酸緩衝液 (pH 7.4) 及び PMEHB (5 wt% in EtOH) を混合した溶液を Fig. 2 に示すような Pt 電極感応部に滴下し、UV 照射による架橋にて包括固定した。さらに、PMEHB でオーバーコートした (Fig. 2)。

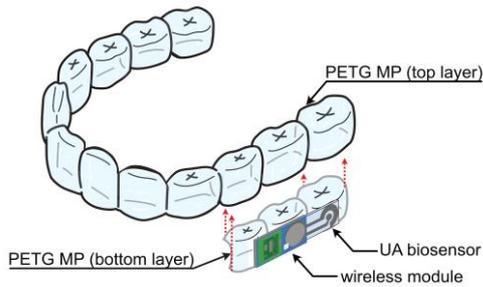


Fig. 1. Conceptual image of mouthguard biosensor with BLE telemeter for monitoring uric acid in oral cavity.

## II-B. Measurement of uric acid

電極に固定化したウリカーゼは尿酸を酸化触媒し、過酸化水素を生成する。その過酸化水素を定電位電流計測にて尿酸濃度を測定する。なお口腔内計測時では、唾液中に存在する電気化学活性を有する成分が、尿酸計測に影響を及ぼす可能性がある。そのため、Pt 電極上に負に帯電する 2-mercaptoethanesulfonic acid sodium salt (MESNA) を材料とする自己組織化単分子膜を静電排斥フィルタとして利用した。MESNA 修飾では、まず 1 mM となるようにエタノールに MESNA を溶解させた。次に、Pt 電極上を MESNA 溶液にてコートした。最後に、エタノールと純水により洗浄を行い、余剰の MESNA を除去した。

## III. RESULTS

### III-A. Characteristics of uric acid biosensor

本センサの基礎特性を評価するために Fig. 2 に示すシ

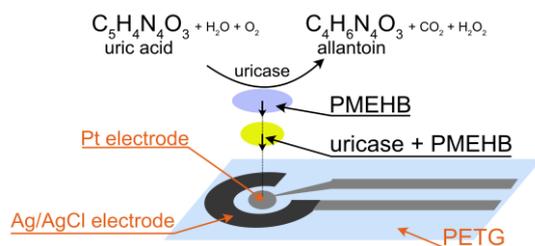


Fig. 2. Enzymatic reaction of uricase to UA on electrode.

ート型センサを用いて実験を行った。リン酸緩衝液中で本センサの特性を調べたところ、尿酸濃度に応じた出力電流値の増加が観察された。また、応答特性を調べたところ、90%出力に要する時間  $T_{90}$  は 24 秒 (10  $\mu$ M) と良好な応答性が観察された。またセンサの定量特性を調べた結果、0.1~10  $\mu$ M の範囲にて尿酸の定量が可能で、高い再現性も確認できた。

### III-B. Effect of MESNA on salivary chemicals

唾液尿酸の電気化学計測において、唾液中に含まれる成分 (グルコース、乳酸、尿素、アンモニア、クエン酸、アスコルビン酸) の影響が危惧される。Fig. 3 は各成分を唾液中濃度に調整し、MESNA 修飾したセンサに順次、負荷した結果を示す。図に示すように、尿酸以外の成分には出力応答を示さず、ウリカーゼの基質特異性に基づく選択性が確認された。なおアスコルビン酸の負荷時に、尿酸に比して 2.1% 程度の正の出力変動が生じており、MESNA 未修飾センサでは 15% であったことから、MESNA による静電排斥フィルタの効果と考察される。

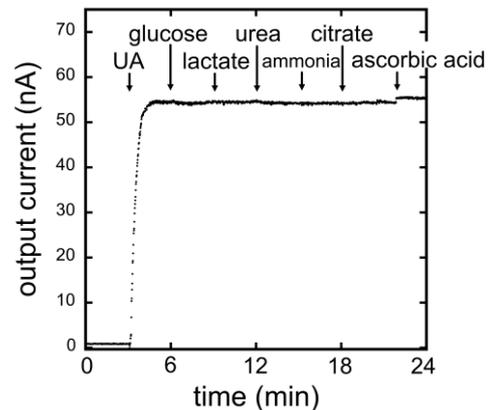


Fig. 3. Output current against UA and typical chemicals in saliva.

## IV. CONCLUSIONS

本研究では電極に対する MESNA 修飾によって形成したスルホ基を有する自己組織化単分子膜を用いて、電気化学センサにおけるアスコルビン酸の影響抑制法を検討した。MESNA 修飾を行った尿酸センサでは、アスコルビン酸に対する酸化還元電流の変動が小さくなり、酵素の基質特異性と併せて、夾雑物を含む唾液中での尿酸計測の可能性が示唆された。今後はヒト唾液中尿酸の計測について検討を進める。

## ACKNOWLEDGEMENTS

本研究には、JSPS 科研費 19KK0259 および日本 IDDM ネットワークの助成に基づく成果を含みます。

## REFERENCES

- <sup>1</sup> C. Kuo, M. Grainge, W. Zhang and M. Doherty, *Nat. Rev. Rheumatol.*, 11, pp. 649-662 (2015).
- <sup>2</sup> Lili. You, A). Liu, G. Wuyun, H. Wu, and P. Wang, *J. Atheroscler. Thromb.*, 21, pp. 355-365 (2014).
- <sup>3</sup> A. Pal, D. Goswami, H. Cuellar, B. Castro, S. Kuang and R. Martinez, *Biosens. Bioelectron.*, 117, pp. 696-705 (2018).