

機関番号：12601
 研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20360093
 研究課題名（和文） 中空マイクロカプセルの製造および超音波造影剤と薬物伝達システムへの応用
 研究課題名（英文） Fabrication of hollow microcapsules and their use as ultrasound contrast agents and drug delivery systems
 研究代表者
 大宮司 啓文 (DAIGUJI HIROFUMI)
 東京大学・大学院新領域創成科学研究科・准教授
 研究者番号：10302754

研究成果の概要（和文）：

生分解性ポリマーを用いた直径十マイクロメートル以下の中空マイクロカプセルは超音波造影剤や薬物伝達システムのキャリアとして用いられることが期待されている。本研究では、生分解性ポリマーに覆われた中空マイクロカプセルを作るために、マイクロバブルを鋳型として利用する簡易な製造方法を開発した。ポリ乳酸と高分子電解質の中空マイクロカプセルについて、大きさと均一さに影響を与える主要因を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

Hollow microcapsules of biodegradable polymers with diameter less than 10 μm are expected to be used as ultrasound contrast agents or carriers for drug delivery systems in medical or pharmaceutical applications. In this study, a simple method was developed that uses microbubbles as templates to fabricate hollow microspheres covered with biodegradable polymers. We elucidated dominant factors affecting size and uniformity of hollow poly-lactic acid microcapsules and hollow polyelectrolytes microcapsules fabricated from microbubble templates.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	8,000,000	2,400,000	10,400,000
2009年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
2010年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
年度			
年度			
総計	15,200,000	4,560,000	19,760,000

研究分野：熱工学

科研費の分科・細目：マイクロ・ナノスケール伝熱

キーワード：流体、化学物理、化学工学

1. 研究開始当初の背景

(1) 中空マイクロカプセルの製造方法はこれまでも様々なものが提案されているが、特に均一な中空マイクロカプセルを作る場

合には、均一なサイズの液体または固体の芯物質を鋳型としてカプセルと作り、その後、蒸発あるいは加熱分解して芯物質を除去し、内部を空洞化する方法、あるいは、

予め芯物質に膨張剤を加えておき、カプセル全体を加熱膨張させ、内部を空洞化する方法が代表的である。いずれも、液体または固体を芯物質としているため、カプセルを中空にするためにはその芯物質を除去する工程、あるいは、加熱して膨張させる工程が必要となる。その結果、作成された中空マイクロカプセルは、殻の密封性が低い、サイズが大きい等の問題点がある。

(2) これらの問題点を解決するために、本研究においては微細気泡(マイクロバブル)の周囲に直接にカプセル殻を形成する技術を確認することを目的とする(図1参照)。液体中に作成したマイクロバブルの周囲に直接膜あるいは殻で被覆することができれば、芯物質を除去する工程を省くことができ、大幅に製造工程を簡略化することができる。また、芯物質を除去する必要がないため、密封性の高い材料を殻材料として選択することができる。しかし、これまで液体中に発生させた気泡の周囲に直接膜を形成することによって中空カプセルを生成した例はほとんどなく、特に安定した球形中空カプセルの生成に成功した例はない。その理由として、液体中に気泡を安定に維持することが困難である点、気泡表面における膜物質の吸着特性、反応特性等の知見が乏しかった点が挙げられる。

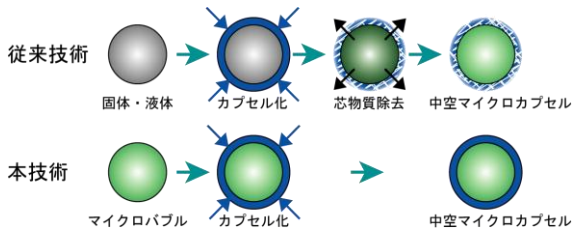


図1 中空マイクロカプセルの製法(従来技術と本提案技術の比較)

(3) 本研究を学術的な視点から見ると、中空カプセルのサイズ、諸性質を制御するためには、流体力学(特に気泡力学)、熱力学、物理化学、表面科学、高分子化学等の知識を正確に組み合わせ、マルチスケールの移動現象と化学反応を制御することが必要である。申請者はこれまで、気液界面、固気界面、ナノチャネル、ナノ細孔における熱・物質・電荷の移動現象、化学反応に関する研究に取り組んできた。申請者は微細気泡の運動や生成技術の研究者である竹村文男博士(産業技術総合研究所エネルギー技術部門・主任研究員)(研究協力者)とともに中空カプセルの製造に取り組み、現在までに、液体中に発生させた微細な気泡の周囲に、①化学的に気泡表面で重合反応を起こさせて直接膜を形

成する方法、②物理的な吸着により気泡周囲に殻を形成する方法、③静電気力により高分子電解質を気泡表面に吸着させる方法を見出した。特に、②の方法においては、生分解性高分子材料(例えばポリ乳酸、ポリグリコール酸、それらの共重合体)を殻物質とした均一な中空マイクロカプセルを作成することに成功した。これらのカプセルの平均径は3マイクロメートル程度であり、毛細血管も淀みなく通過できることから、超音波造影剤等、医療分野への応用が期待できる材料として新聞でも取り上げられた(日刊工業新聞(科学面)2006.10.5付、他2社に掲載)。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、前述の新しく見出した中空マイクロカプセルの製造方法について、その生成メカニズムを解明し、中空カプセルのサイズ、諸性質(機械的特性、電気的特性、音響的特性等)を制御する方法を確認することを目的とする。その上で作成された中空マイクロカプセルの医療分野への応用を目指し、マイクロ、ナノチャネルにおける中空マイクロカプセル、およびカプセル殻に含浸させる分子の移動特性の評価を行う。現在のところ、前述の3つの異なるカプセル膜生成方法のそれぞれについて、中空カプセルの生成には成功しているが、サイズ、および諸性質を制御するまでには至っていない。

(2) マイクロバブルを鋳型として作る中空マイクロカプセルは、製法が独創的であるだけでなく、作られた中空マイクロカプセルも全く新しい機能性材料と言える。サイズが均一で、かつ高い気密性を有しているからである。特に、中空であること生かした分離性や断熱性、密封された気体をさまざまな部位にデリバリーできる機能、超音波等に対する音響特性など優れた機能を有していることにより、様々な分野で新しい応用の可能性があると考えている。本研究では、中空マイクロカプセル生成メカニズムを解明し、中空カプセルのサイズ、諸性質(機械的特性、電気的特性等)を制御する方法を確認し、さらに医療分野への応用を目指し、移動特性についての基礎データが得ることを目的とする。医療分野における有用な機能性材料をつくるという実用上の意義のみならず、マルチスケールの移動現象と化学反応を制御することで新しい機能性材料をつくるという本研究課題は、物理、化学、工学のあらゆる分野の移動現象の研究、気液界面における化学反応の研究としても興味深い現象が数多く含まれており、これらの現象解明の基礎研究としての意義もある。

3. 研究の方法

カプセルの殻材料として(1)ポリ乳酸と(2)高分子電解質の2種類を選び、以下の項目を研究する。

①生成メカニズムの解明 ポリ乳酸カプセルの生成においては、ポリ乳酸を溶解した油相におけるマイクロバブルの発生、およびポリ乳酸が吸着したマイクロバブルを油相から水相へ移動させるプロセスを明らかにする。また、高分子電解質中空カプセルの生成においては、気泡表面にレイヤーバイレイヤー法によりカプセル膜を積層することができる条件を明らかにする。生成された中空マイクロカプセルの分析、生成過程の直接観察から、中空マイクロカプセルの生成メカニズムのモデルを確立する。

②中空マイクロカプセルの特性評価 本項目の目的は、前項目に示されるような様々なパラメータを変化させて作成された中空マイクロカプセルの特性評価を行うことである。直径、肉厚、表面粗さ等の構造的性質のみならず、機械・電気・音響特性の評価を行う。本項目は竹村文男博士(研究協力者)と共同で行う。

4. 研究成果

(1) 中空ポリ乳酸マイクロカプセル

①中空マイクロカプセルの製法 従来の研究を基に考え出された液中乾燥法と均一なマイクロバブルの発生法を組み合わせた新しい中空マイクロカプセルの製法(バブルテンプレート法)について説明する。図2はその作成手順を示している。はじめに、膜材料溶液として、2 g/Lのポリ乳酸(分子量2000)の塩化メチレン溶液を、連続相として、2% (w/w)ポリビニルアルコール水溶液を準備する。次に、シャーレにポリビニルアルコール水溶液を満たし、水溶液中に、マイクロシリンジを用いて、ポリ乳酸の塩化メチレン溶液の液滴(直径1.0 mm)をつくる(図2 a)。この際、ポリビニルアルコール水溶液を連続相に用いると、ポリビニルアルコールの界面活性効果により、塩化メチレン溶液の液滴が互いに合体することを防ぐことができる。時間の経過とともに、塩化メチレンがポリビニルアルコール水溶液中へ溶解するため、液滴は小さくなる。それに伴い、塩化メチレン中に溶解していた空気が溶解度を超えるため、マイクロバブルが発生する(図2 b)。塩化メチレン中の空気の溶解度は、ポリビニルアルコール水溶液中の空気の溶解度と比べてはるかに大きいので、塩化メチレンに溶解している空気は、ポリビニルアルコール水溶

液へ移動することなく、塩化メチレン液滴の内部でマイクロバブルとして発生する。さらに時間が経過すると、塩化メチレン液滴の表面から中空ポリ乳酸マイクロカプセルがポリビニルアルコール水溶液へ向けて自然に移動を開始する(図2 c)。

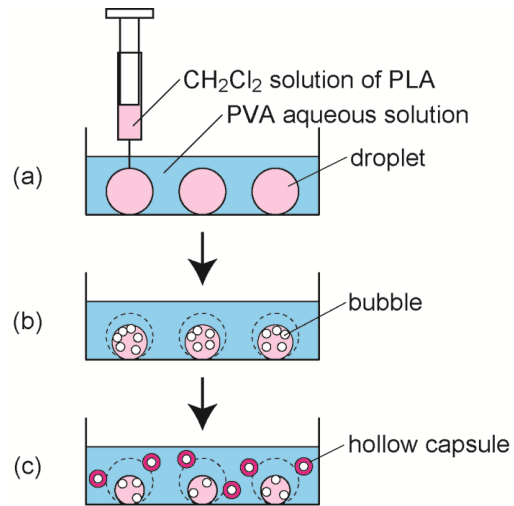


図2 バブルテンプレート法による中空ポリ乳酸マイクロカプセルの作成手順

図3は塩化メチレン液滴の内部に発生したマイクロバブルの顕微鏡画像である。液滴内部に均一な大きさのマイクロバブルが発生していることがわかる。塩化メチレン液滴は閉じた系ではなく、周囲のポリビニルアルコール水溶液へ塩化メチレンが絶えず溶解している開いた系である。しかし、塩化メチレンの溶解速度に比べて、マイクロバブルと塩化メチレン溶液が気液平衡に達する速度は著しく速いため、各々の瞬間は閉じた系とみなすことができる。したがって、閉空間に満たされた液体中で発生する気泡は均一なサイズになるという性質より均一なバブルが発生する。



図3 膜材料溶液(ポリ乳酸の塩化メチレン溶液)の液滴内部に発生したマイクロバブル

図4は中空ポリ乳酸カプセルの生成過程を示している。時間が経過するにつれて、塩化メチレンが周囲のポリビニルアルコール水溶液へ溶解するため、塩化メチレン液滴は小さくなり、それに伴い、中空ポリ乳酸カプセルが塩化メチレン液滴から周囲のポリビニルアルコール水溶液へ放出される様子が見られる。

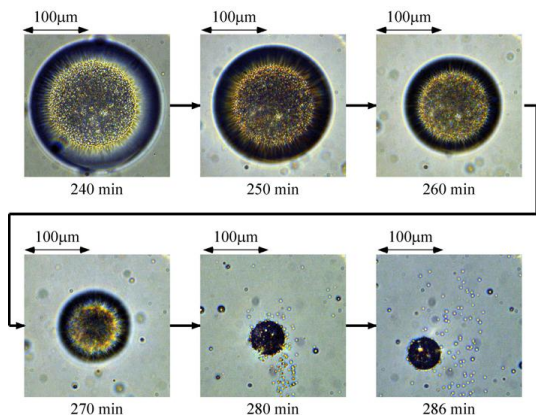


図4 中空ポリ乳酸マイクロカプセルの生成過程

図5はバブルプレート法によって作られた中空ポリ乳酸マイクロカプセルの蛍光画像である。予め、塩化メチレンにナイルレッドを溶かしておくことにより、ポリ乳酸をナイルレッドで染色した。この蛍光画像により、中空カプセルができていることが確認された。

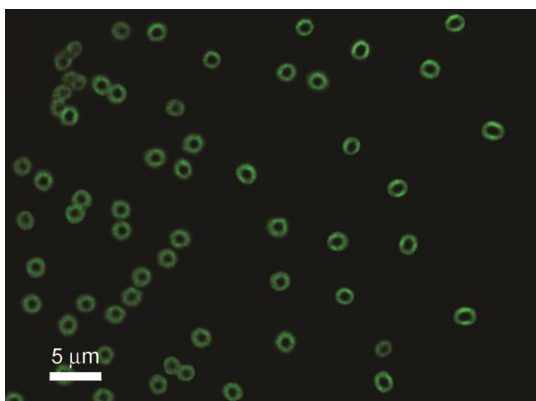


図5 中空ポリ乳酸マイクロカプセルの蛍光画像

②生成メカニズムの解明 カプセルの均一性がポリ乳酸の初期濃度、分子量、連続相への界面活性剤の添加等に強く依存することを明らかにした。また、均一なカプセルが生成された条件においても、カプセルの内径が鑄型の気泡径よりも小さくなることを明らかにし、気泡力学とポリ乳酸の気泡界面における性質について考察した。

③中空マイクロカプセルの特性評価 直径、膜厚等を制御することに成功した。超音波造影剤として応用可能な音響特性をもつことを確認した。

(2) 中空高分子電解質マイクロカプセル

①中空マイクロカプセルの製法 高分子電解質としてpoly-allylamine hydrochloride と poly-sodium styrene sulfonate (PAH/PSS)を用いた。図6は中空PAHマイクロカプセルの作成手順を示している。1.0 mg/ml PAH水溶液を1 M NaOH水溶液を用いてpH = 12.0に調整した。調整した1 M NaOH水溶液を圧力容器内に入れ、CO₂ガスで300 kPaに加圧した。水溶液が透明の状態から白濁の状態へ遷移するとき、マイクロバブルを発生させるために圧力容器を大気開放した。実験の結果、CO₂ガスを加圧し続けると、溶液全体が白濁した後に、再び透明に戻るということがわかった。白濁した状態で大気圧まで減圧すると、白濁した状態はしばらく続き、この時に安定な中空カプセルが確認できた。

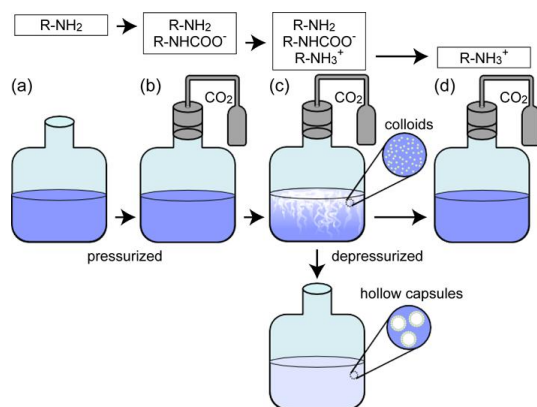


図6 中空PAHマイクロカプセルの作成手順

PAH水溶液は二酸化炭素を吸収することによって負の電荷を持つR-NHCOO⁻と正の電荷を持つR-NH₃⁺が共存する状態になると考えられる。R-NH₂とR-NH₃⁺はそれぞれ水に溶解するが、両者が水溶液中に共存すると、電気的相互作用によってコロイドを形成し、その結果、溶液が白濁すると考えられる。

PAHコロイド及び中空マイクロカプセルの大きさを特定するため、動的光散乱測定を行った。図7は2種類のpH値の異なるPAH水溶液の粒径分布を示す。水溶液はどちらも図6に示される方法で作成し、CO₂ガスの加圧時間のみ変えた。水溶液のpHは10.0と8.5であった。PH = 10.0の水溶液は透明であったが、pH = 8.5の水溶液は白濁していた。pH = 10.0における平均直径は約20 nm、一方、pH = 8.5における平均直径は約4 μmであった。以上の結果よりコロイドの平均

直径は約20 nm、カプセルの平均直径は約4 μ m であると考えられる。

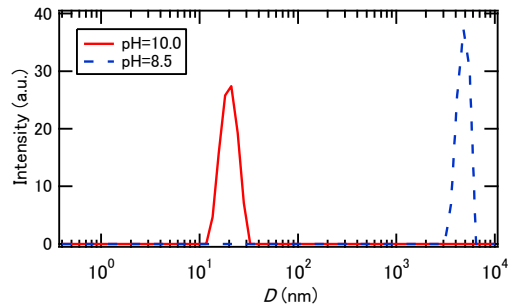


図7 動的光散乱測定によるPAH水溶液の粒径分布

中空PAHマイクロカプセルを作成後、PSS水溶液を混ぜ合わせるにより、中空PAH/PSSマイクロカプセルを作成することに成功した。図8は中空PAH/PSSマイクロカプセルの明視野画像と蛍光画像である。

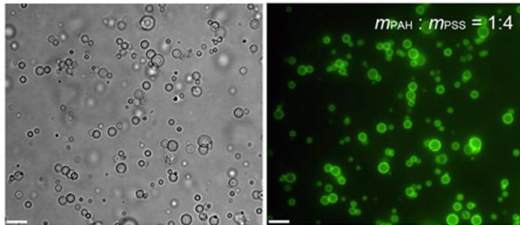


図8 中空PAH/PSSマイクロカプセルの明視野画像（左図）と蛍光画像（右図）

②生成メカニズムの解明 鋳型の気泡を安定に保ちながらレイヤーバイレイヤー法によりカプセル膜を積層する条件を明らかにするために、ゼータポテンシャル計測、赤外分光による表面化学種の同定等を行った。

③中空マイクロカプセルの特性評価 直径、層数を制御することに成功した。超音波造影剤として応用可能な音響特性をもつことを確認した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計7件)

- ① Jay Jesus Molino Cornejo, Eitaro Matsuoka and Hirofumi Daiguji, Size control of hollow poly-allylamine hydrochloride / poly-sodium styrene sulfonate microcapsules in bubble template method, *Soft Matter*, 査読有, 7, 2011, 1897-1902.
- ② Hirofumi Daiguji, Eitaro Matsuoka and

Satoshi Muto, Fabrication of hollow poly-allylamine hydrochloride/poly-sodium styrene sulfonate microcapsules from microbubble templates, *Soft Matter*, 査読有, 6, 2010, 1892-1897.

- ③ 大宮司 啓文, 竹村 文男、マイクロバブルを用いた中空マイクロカプセルの製造技術、分離技術、査読無、40、2010、169-174.
- ④ Hirofumi Daiguji, Shingo Takada, Jay Jesus Molino Cornejo and Fumio Takemura, Fabrication of hollow poly(lactic acid) microcapsules from microbubble templates, *Journal of Chemical Physics B*, 査読有, 113, 2009, 15002-15009.
- ⑤ Toshinori Makuta, Shingo Takada, Hirofumi Daiguji and Fumio Takemura, Simple fabrication of hollow polylactic acid microspheres using uniform microbubbles as templates, *Materials Letters*, 査読有, 63, 2009, 703-705.
- ⑥ 竹村 文男、大宮司 啓文、マイクロバブルから作る中空マイクロカプセル、コンバーテック、査読無、36 (9)、2008、80-83.
- ⑦ 竹村 文男、大宮司 啓文、中空マイクロカプセルの新しい製造技術、ケミカルエンジニアリング、査読無、53、2008、262-266.

[学会発表] (計3件)

- ① Jay J. Molino, Hirofumi Daiguji and Fumio Takemura, Size control of hollow polylactic acid microcapsules and hollow polyelectrolyte microcapsules in bubble template method, ASME/JSME 8th Thermal Engineering Conference, 03/17/2011, Honolulu, USA.
- ② Jay J. Molino, Shingo Takada, Hirofumi Daiguji and Fumio Takemura, Fabrication of hollow polylactic acid microcapsules using microbubble templates, ASME 2009 2nd Micro/Nanoscale Heat & Mass Transfer International Conference, 12/20/2009, Shanghai, China.
- ③ Shingo Takada, Hirofumi Daiguji and Fumio Takemura, Fabrication of hollow poly-lactic acid microcapsules from microbubble templates, US-Japan Seminar on Nanoscale Transport Phenomena -Science and Engineering, 7/15/2008, Boston, USA.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大宮司 啓文 (DAIGUJI HIROFUMI)
東京大学・大学院新領域創成科学研究科・
准教授
研究者番号：10302754

(2) 研究協力者

竹村 文男 (TAKEMURA FUMIO)
産業技術総合研究所・エネルギー技術研究
部門・主任研究員
研究者番号：20313041