

機関番号：31602

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590155

研究課題名(和文) 次世代型薬物放出制御システムの構築と個別化薬物療法への展開

研究課題名(英文) Construction of Next Generation Type Drugs Delivery System and Development to Order-made Medicine

研究代表者

柏木 良友 (KASHIWAGI YOSHITOMO)

奥羽大学・薬学部・教授

研究者番号：50204384

研究成果の概要(和文)：電流・電位を制御することにより徐放化や遅延化が可能な電気刺激応答型薬物放出制御マイクロチップを作製することができた。このマイクロチップの表面と電極をそれぞれ金膜とシリコンジオキシフィルムで覆い、腐食性を調査した。その結果、生体内と同様な成分の溶液中ではなんら影響を受けずに腐食されず、生体内を長時間周期で薬物送達が可能である知見を得た。

研究成果の概要(英文)：The drug delivery control release microchip by controlled potential or current was able to produce a possible controlled release or delay release, respectively. Of covering the surface and electrode of a microchip with each gold membrane and silicon dioxy film corrosiveness was investigated. Without receiving an influence at all during the solution of the component similar to body inside as a result, body inside a drugs delivery see the wisdom which is possible with a long time cycle as for, without being corroded, and obtained.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：薬剤学

科研費の分科・細目：医療系薬学

キーワード：薬物送達システム、マイクロチップ、個別化療法、電気信号、バイオセンサ

1. 研究開始当初の背景

近年、薬物の過剰投与および副作用を抑制して、より安全に、効果的に薬物投与を行う手段としてドラッグ・デリバリー・システム(薬物送達システム、DDS)の研究が活発に行われている。特に最近のDDSの展開は、薬物がどこに送達されるかだけでなく、必要最小限の薬物を、必要な場所に、必要なときに供給され、患者に対して大きなベネフィットをもたらすことを目指している。

このことを考えると、マイクロチップなどを応用したDDSが有効であり、その開発が急務である。そこで近年では、近未来の薬物送達を目指し、マイクロエレクトロニクス系MEMSやマイクロチップに関連した取り組みが始められている。とりわけナノサイズの薬物貯蔵庫を含んだマイクロチップは長時間周期での薬物送達を可能にするものとして期待されている(*Science*, 293, 58 (2001))。また最近、米国で

は進歩的な薬物送達システムの需要の結果として、身体のあらゆる部分を綿密に調査し、健康な組織を冒さず、しかも全身を循環できる薬物送達を目指し、毎年 200 億ドルの予算が計上されていることから (Nature, 392, 5 (1998))、この分野に対する研究の関心の高さが伺える。

効果的な DDS を開発するために、刺激応答型薬物放出システムが有用である。とりわけ、電気刺激による薬物放出が制御できるシステムは近未来型薬物送達システムとして期待が大きい、いまだ有効なシステムは実現していない。また、これまでに、pH 変化、熱、浸透圧、光刺激などにより薬物放出を制御するシステムがいくつか提案されてきたが、一長一短があり効果的な薬物放出の実現には至っていない。このような状況からこのような状況から、電気信号 (電位や電流) を効果的に化学変化 (薬物の放出) へと変換する新しい方法の開発が必要である。電気信号による薬物放出に関する報告は、1983 年に L. L. Miller ら (J. Am. Chem. Soc., 105, 5271 (1983)) : ドーパミンを固定化させた高分子を電極表面に被覆し、電極反応によるドーパミン放出)、1985 年に相沢ら (Chem. Lett., 1985, 179 : グルタミン酸を導電性高分子であるポリピロール内に担持させ、電気パルスシュミレーションによるグルタミン酸放出)、1997 年に高野ら (Denki Kagaku, 65, 330 (1997)) : スルホニウム塩をピロールに化学結合させ電解重合により電極表面に被覆し、電極反応による放出) 国内外合わせても 3 グループのみが電気信号による薬物放出に関する基礎研究を行っている程度である。そこで本研究では、電極と薬物固定化膜を組み合わせ薬物放出制御が可能な電気刺激薬物放出制御システムを構築し、さらにそれらに電流 (電位) 検出型のバイオセンサを組み込むことにより、治療薬物のオートメーション・コントロール・リリースによる個別化薬物療法を可能にする全く新しいシステム提案することができる。

2. 研究の目的

電気信号は、システムを制御するためには理想的な媒体であり、電気刺激により薬物放出が可能な薬物固定化基材の開発とその基板電極への固定化法の工程の確立が成功するならば操作性に優れた理想的な DDS となり得る。また、マイクロチップなどにナノサイズの薬物貯蔵庫を多数持たせることに、体内において長時間周期での薬物送達が可能を可能にするとともに、疾病用センサを組み込むことで、センサが治療閾の電流を感知したとき治療薬を電氣的に放出制御させ、電気刺激薬物放出システムと生体センサと

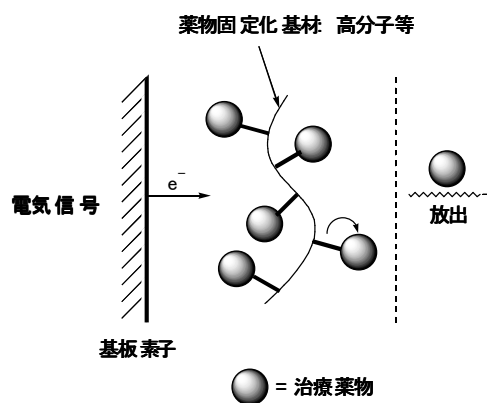


図 電気刺激による薬物放出

が一元化され、薬物のコントロール・リリースのオートメーション化を可能にし、個別化薬物療法への応用が可能となる。

本研究では、まず電気信号 (電子授受) により薬物放出が可能な薬物固定化基材の創製とその基板電極への固定化方法を確立する。次いで、微弱な電気信号により薬物放出制御が可能な経皮投与型イオントフォトレシスおよび体循環型薬物送達マイクロチップを開発する。さらにこれら電気刺激薬物放出システムに電流 (電位) 検出型のバイオセンサ、とりわけ今日生活習慣病の一つとして大きな問題となっている糖尿病疾患の治療を目的としてグルコースセンサを組み込み、治療薬物であるインスリンのコントロール・リリースのオートメーション化の可能性を検討し、糖尿病疾患の患者等への適用が可能であることを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 電気刺激により応答する薬物固定化材料の創製と治療薬物の固定化法の確立

●電解重合法による治療薬物の固定化

電解重合可能なピロール、チオフェン等に放出薬物を炭素-窒素、炭素-硫黄結合により導入し、直接電極反応による結合開裂で薬物放出が可能な機能を有する材料を創製する。また、ビピリジニウム塩は還元されることによりその対イオンが放出されることから、これを利用してビピリジニウム塩の対イオンに放出薬物を用いたビピリジニウム-放出薬物複合体を創製する。創製した薬物-固定化基材は、ピロール、チオフェン等による電解重合を利用して基板電極上への固定化を検討する。

●高分子交互累積膜法による治療薬物の固定化

陽電荷をもった高分子と陰電荷を持った高分子を混ぜ合わせることにより、水に不溶なポリイオンコンプレックスができる。このポリイオンコンプレックスに治療薬物、酵素および DNA のような電荷を持ったものを安定

に取り込み固定化させる。特に最近遺伝子治療が注目されていることから、金電極表面に自己組織化法により PEG-PLL-SH、DNA、siRNA 等を固定し、ジスルフィド結合により架橋化して、標的細胞内で濃度が高いグルタチオンによってジスルフィド結合を解離させることにより細胞内に PEG-PLL-SH、DNA、siRNA 等の取り込みを可能にさせるような固定化法について、種々検討を行う。

(2) 電気信号による薬物の放出制御ならびに pH 液性による薬物放出の影響

●定電位法による固定化薬物の放出

放出薬物の結合部位の酸化あるいは還元電位およびビピリジニウム塩の還元電位で電位を印加するため、固定されている薬物は一気に放出される。また、ビピリジニウム塩は異なる電位で 2 電子還元を受けることから、1 電子目と 2 電子目の還元を受ける部位に異なった薬物を固定化することにより、電位制御によって 2 種類の薬物を別々に放出することが可能になる。

●定電流法による固定化薬物の放出

電流を一定にすることにより印加電位が徐々に上昇するので、薬物の結合部位への電位の印加も徐々に起こる。これにより薬物の放出も徐放化されるので、電流制御や結合の種類による影響などについて検討を行う。

上記の手法は、いずれも通電量を制御することで薬物の放出量を容易に制御できる。

●pH 液性による薬物放出の影響

生体内の臓器によって (胃 = pH 1~2、血液 = pH 7、小腸 = pH 9、大腸 = pH 12) 酸性からアルカリ性まで幅広い液性を示す。一方、電極上での酸化還元反応はネルンストの式に従い、溶液の pH 液性によって電位ならびに電流応答特性に影響を与える。よって、作製した薬物固定化電極を種々の pH 条件下で定電位法ならびに定電流法により薬物放出を行い、溶液の pH 液性と陽極に与えられた電気信号容量ならびに薬物放出量を調査し、マイクロチップ等が各疾患臓器に到達したときの薬物の放出制御の可能性を検討する。

(3) 電気応答型薬物放出マイクロチップの作製

基板にシリコンを用い、マイクロインジェクションやインクジェットプリンタ等の半導体微細加工技術を駆使し、少量を正確に充填できるよう貯蔵庫をピラミッド状にし、その表面を酸素や塩素イオン等による腐食を防ぐことが可能な金膜で覆い陽極とし、陰極もまた腐食を防ぐためシリコンジオキシフィルムで覆う。このマイクロチップに電気応答による放出が可能な機能性材料を固定化する。このようにして作製された電気応答型薬物放出マイクロチップについて、生体内で

の腐食性を調査するとともに、電極に与えられた電気信号容量に応じた薬物の放出制御を検討する。

(4) 各種疾病用センサを組み込んだ薬物送達インテリジェントマシンを開発

治療薬物としてインスリンを固定した経皮投与型イオントフォトレシスは、電流(電位)検出型はバイオセンサであるグルコースセンサを組み合わせ、血中のグルコース濃度を経時的にモニタリングを行いながら、インスリンを電気的に放出制御させる。さらに電気刺激薬物放出システムとグルコースセンサとの一元化を図り、センサが治療閾の電流を感知したときに、インスリンを電気的に放出制御させ、コントロールド・リリースのオートメーション化を目指す。とりわけ糖尿病疾患の患者の血糖値である 100~200mg/dL の範囲内できめ細やかな薬物放出を実現させ、個人個人の対応した個別化薬物療法への対応を図る。

従来マイクロチップに組み込まれる電源の電池には寿命がある。そこで血液中に含まれるグルコースを燃料とするバイオフィューセル電池の作製を検討する。生体触媒を用いたバイオフィューセル電池は、温和な生理的環境下で駆動可能であり、生体由来材料で構成できるために、医用電源デバイスに求められる安全性にも優れている。研究の焦点は、酵素反応を効率よく電極反応に連携するための電極界面の分子設計であり、高性能な電子移動メディエーターの創製と固定化を検討する。とりわけ血液中に含まれるグルコース/O₂系で高出力化を目指す。電子移動メディエーターには体内にある物質に近いビタミン K₃、酵素としてグルコースオキシダーゼを用い、これらを陰極に固定化し、この陰極でグルコースから電子を取り込み、さらに陽極で酸素を還元し、これらを組み合わせることにより発電を起こす。このようにして次世代型薬物放出制御システムの構築を目指す。

4. 研究成果

本研究は、電気刺激薬物放出チップの開発と生体センサを組み合わせた放出制御に関する研究を行った。電極との直接反応により薬物を放出することが可能な素子は、基板電極上にナフィオンを被覆した後、表面キャスト法によりカチオン性薬物を静電的相互作用を利用し基板上に固定化することにより作製できた。一方、間接電気反応型の素子は、放出薬物を対イオンとして持つビピリジニウム塩を置換したピロール誘導体を創製し、電気化学的重合反応により基板上へ固定化することにより作製できた。これら作製された何れの素子においても定電位電解法では、印加電位を制御することにより、固定されて

いる薬物の放出量を徐放制御できた。一方、定電流電解法では設定電位を制御することにより、固定されている薬物の放出量を徐放制御できた。さらに、設定電流を微小化にすることにより、固定されている薬物の放出開始を遅延化できた。

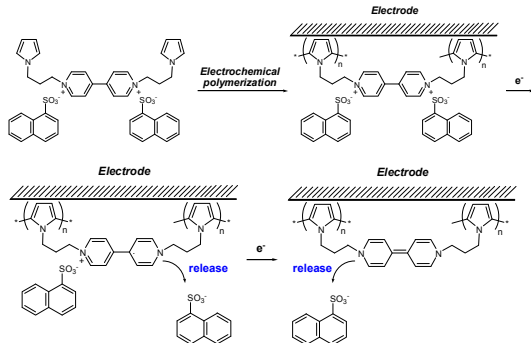


図 電気刺激による薬物放出機構

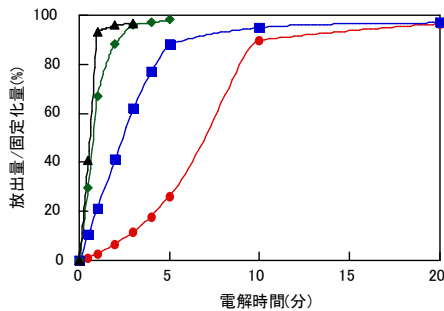


図2-9 pH 7における各電解電位での放出量の経時変化

● -1.0 V ■ -1.1 V ◆ -1.2 V ▲ -1.3 V

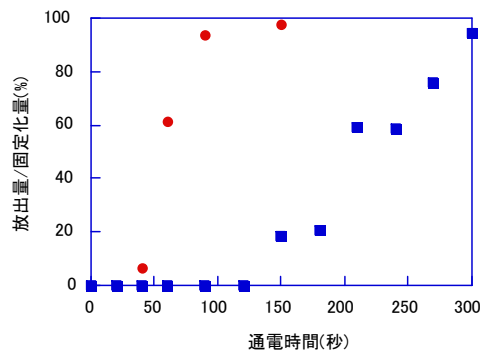


図2-15 pH 7における定電流電解での放出量の経時変化

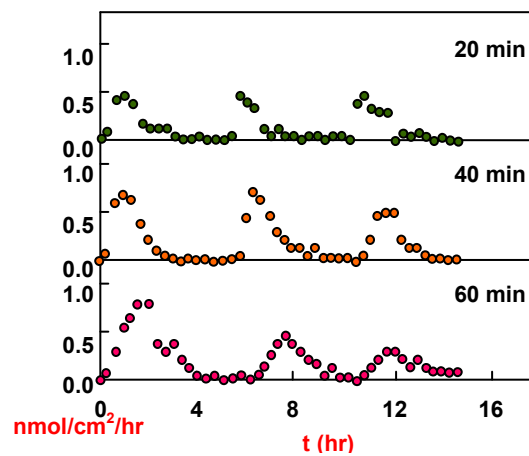
● -5 μA ■ -2 μA

次に、電気刺激薬物放出チップと生体センサとの一元化に関する研究を行った。まず、薬物放出素子とグルコースセンサとを組み合わせて、経時的にモニタリングを行いながら糖尿病治療薬であるインスリンの放出制御を試みたところ、治療域に達したとき薬物放出素子よりインスリンが放出された。また、

長時間周期で薬物送達が可能な素子の開発を目指し、基板にシリコンを用い、マイクロインジェクション等の技術を駆使し、少量を正確に充填できるよう貯蔵庫をピラミッド状にし、その表面を酸素や塩素イオン等による腐食を防ぐことが可能な金膜で覆い陽極と、陰極もまた腐食を防ぐためシリコンジオキシフィルムで覆った。この素子の陽極上に、電気刺激により薬物が放出する機能性材料を固定化し、生体内での腐食性を調査した。その結果、生体内と同様な成分の溶液中ではなら影響を受けずに腐食されず、本電気刺激薬物放出チップが長時間周期で薬物送達が可能である知見を得た。

ペプチド性薬物：アルギニン-バソプレシン

ラット皮膚への印加電流：0.47 mA/cm²



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 3 件)

- (1) Tetsuya Ono, Makiko Tsunoda, Shigehiro Takahashi, Toshio Obata, Takanori Sone, and Yoshitomo Kashiwagi, Voltammetric Behavior of Mediator-Modified Electrode by Electrochemical Polymerization of Nitroxyl Radical Precursor Containing Pyrrole Side Chain, *Heterocycles*, **81**, 2771-2780 (2010).
- (2) Yoshitomo Kashiwagi, Makiko Tsunoda, Takanori Sone, and Tetsuya Ono, Voltammetric Behavior of Mediator Modified Electrode by Electrochemical Copolymerization of Nitroxyl Radical Precursor Containing Pyrrole Side Chain and Thiophenes, *New J. Chem.*, in press.
- (3) Yoshitomo Kashiwagi, Yumiko Takamori, and Tetsuya Ono, Electrocatalytic Oxidation of Amine on a Mediator Modified Electrode by Electrochemical Copolymerization of Nitroxyl Radical Precursor Containing

Pyrrole Side Chain and Bithiophene Heterocycles, in press.

[学会発表] (計 15 件)

- (1) 柏木良友、柴崎有理慧、小野哲也、各種ニトロキシラジカル類の電極反応挙動とアルコール類の電解触媒酸化能に関する評価、日本薬学会第 131 回年会、2011 年 3 月 29 日、静岡
- (2) 柏木良友、田中恵梨、小野哲也、PQQ-醣素複合修飾電極の作製とカルボン酸類の電解触媒還元反応への応用、日本薬学会第 131 回年会、2011 年 3 月 29 日、静岡
- (3) 柏木良友、高森由美子、小野哲也、電解重合法により作製したニトロキシラジカル置換ピロール固定化電極を用いたアミン類の電解触媒酸化反応、日本薬学会第 131 回年会、2011 年 3 月 29 日、静岡
- (4) 柏木良友、電気刺激応答型高分子の作製とその応用、平成 22 年度第 2 回機能性材料・製造プロセス研究会、2010 年 11 月 5 日、郡山
- (5) 柏木良友、柴崎有理慧、小野哲也、各種ニトロキシラジカル類の電極反応挙動とアルコール類の電解触媒酸化能に関する評価、第 49 回日本薬学会東北支部大会、2010 年 10 月 24 日、郡山
- (6) 柏木良友、田中恵梨、小野哲也、PQQ-醣素複合修飾電極の作製とカルボン酸類の電解触媒還元反応への応用、第 49 回日本薬学会東北支部大会、2010 年 10 月 24 日、郡山
- (7) 柏木良友、高森由美子、小野哲也、曾根孝範、電解重合法により作製したニトロキシラジカル置換ピロール固定化電極を用いたアミン類の電解触媒酸化反応、第 49 回日本薬学会東北支部大会、2010 年 10 月 24 日、郡山
- (8) 柏木良友、高森由美子、小野哲也、曾根孝範、電解重合法により作製したニトロキシラジカル置換ピロール固定化電極を用いたアミン類の電解触媒酸化反応、第 40 回複素環化学討論会、2010 年 10 月 14 日、仙台
- (9) 柏木良友、高橋成周、小野哲也、電解重合法により作製したニトロキシラジカル置換ピロール固定化電極の電極反応挙動、日本薬学会 130 年会、2010 年 3 月 29 日、岡山
- (10) 柏木良友、高橋成周、小野哲也、TEMPO 修飾ポリアクリル酸を用いた交互累積膜の電気応答による崩壊制御、日本薬学会 130 年会、2010 年 3 月 29 日、岡山
- (11) 柏木良友、小野哲也、角田麻希子、高橋成周、小畑俊男、ニトロキシラジカル置換ピロールとチオフェン類の電解

共重合膜の作製とその評価、第 48 回日本薬学会東北支部大会、2009 年 10 月 18 日、仙台

- (12) Yoshitomo Kashiwagi, Tetsuo Osa, and Uichi Akiba, Design and Preparation of Chemically Modified Electrodes for Selective Organic Electro-Preparative Synthesis, The sixth International Conference on Materials Engineering for Resources (ICMR2009 AKITA)、2009 年 10 月 21 日、秋田
- (13) 柏木良友、高橋成周、小野哲也、TEMPO 修飾高分子交互累積膜を用いたインスリン放出制御、みちのく分析科学シンポジウム、2009 年 7 月 25 日、仙台
- (14) 柏木良友、高橋成周、小畑俊男、安斉順一、電気応答による TEMPO 含有交互累積膜の崩壊制御、日本薬学会 129 年会、2009 年 3 月 27 日、京都
- (15) 柏木良友、小野哲也、イミダゾール型ニトロキシラジカル類の電極反応挙動とアルコール電解触媒酸化反応への応用、日本薬学会 129 年会、2009 年 3 月 27 日、京都

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柏木 良友 (KASHIWAGI YOSHITOMO)
奥羽大学・薬学部・教授
研究者番号：50204384