

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：31602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860111

研究課題名(和文)電気刺激応答制御可能な次世代薬物放出制御メディカルデバイスの開発

研究課題名(英文)The development of the electrochemical medical device capable of controlling the release of drug

研究代表者

吉田 健太郎(Yoshida, Kentaro)

奥羽大学・薬学部・助教

研究者番号：50609899

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、マイクロカプセルを基板へ固定化し、電気化学的刺激により固定化したマイクロカプセルを基板より解離させることでマイクロカプセル中に含まれる薬物の放出ができるデバイスの開発を試みた。マイクロカプセルの調製と固定化には交互累積膜法を用いた。インスリンを含有させることで、pH変化によって固定化したマイクロカプセルからのインスリンの放出ができた。一方、電気化学的応答性を持たせるためにTEMPOを修飾した機能性高分子を創製した。この機能性高分子とマイクロカプセルを組み合わせ基板に固定化したが、基板からのマイクロカプセルの解離及び薬物の放出量に十分な結果を得ることができなかった。

研究成果の概要(英文)：We aimed at the development of the electrochemical medical device capable of controlling the release of drug. For that purpose, we tried to the adsorption of the microcapsules by Layer-by-Layer (LbL) deposition and the dissociation by electrical-trigger. Insulin-containing microcapsules were prepared by a LbL deposition on insulin-containing calcium carbonate (CaCO₃) microparticles. The CaCO₃ core was dissolved in diluted HCl solution to obtain insulin-containing hollow microcapsules. Insulin was released from the microcapsules at neutral pH while the release was suppressed at acidic pH. It was modified the TEMPO having electrochemical responsiveness to polymer. It was adsorbed the microcapsules using TEMPO modified polymer on the substrate, then applying electrical potential to adsorbed microcapsules. Though, it was not sufficient dissociation of the adsorbed microcapsule.

研究分野：物理化学

キーワード：DDS 交互累積膜 機能性高分子 ミクロカプセル 電気化学

1. 研究開始当初の背景

(1)長年、ドラッグデリバリーシステム(DDS)は、薬物の放出速度のコントロール、部位特異的な取り込みなど盛んに研究が行われている。一方、最近ではマイクロおよびナノエレクトロメカニカルシステム(MEMS、NEMS)を用いた DDS が注目されている。このシステムを用いることで、必要最小限の薬物を必要な場所に、必要なときに供給することが可能なることから、患者に対して効果的な薬物投与を行うことができる。しかし、回路を組み込むことによる装置の大型化や複雑なシステムにより非常に高価といった問題があるため、小型化可能でかつ、簡素で安価な MEMS 及び NEMS による DDS の開発が重要である。

(2)装置に小型化や簡素化を行うためには、刺激応答型薬物放出システムが有用である。刺激応答型薬物放出システムは、pH、熱、光、酸化還元反応、酵素反応などに応答して薬物を放出することができる。本研究では電気信号における刺激応答型薬物システムを開発することにより、電気信号容量によってきめ細やかに薬物の放出を制御することができる近未来型薬物放出システムの開発を試みた。

2. 研究の目的

本研究では、電気刺激応答性を有する機能性高分子を用いて、薬物を内包したマイクロカプセルを固定化し、電気刺激によってマイクロカプセルの放出可能なデバイスを開発する。すなわち、必要に応じて電気信号を送ることにより、電気パルスによるわずかな刺激で薬物内包マイクロカプセルの放出を制御することで、きめ細やかに薬物の放出を制御できる医療デバイスの開発を目的とする。電気信号によって薬物の放出が可能となれば、薬物の過剰投与という大きな負荷を軽減し、必要量の薬物投与が可能となる。加えて、電気信号はシステムを制御する上では理想的な媒体であるため、操作性に優れた理想的なドラッグデリバリーシステムとなり得る。

3. 研究の方法

研究の方法の項目として、(1)交互累積膜法によるマイクロカプセルの固定化、(2)薬物の貯蔵、(3)電気刺激応答性高分子の創製、(4)微弱な電気信号によるマイクロカプセルの放出、以上4項目に分けて研究を行った(図1)。

(1)交互累積膜法は、親和性のある高分子を交互に吸着させることによって多層膜を調製することができ、特別な装置を必要としない他、親和性のある高分子を自由に選択できる利点がある。親和性のある高分子として正電荷をもつポリアリルアミン(PAH)、ポリエチレンイミン(PEI)、ポリジアリルジメチルアンモニウム(PDDA)と、負電荷をも

つポリスチレンスルホン酸(PSS)、ポリビニル硫酸(PVS)、デキストラン硫酸(DS)などを用いた。本方法を用いることで、カプセル膜の調製、マイクロカプセルの最外層と高分子の親和性におけるマイクロカプセルの固定化を行った。

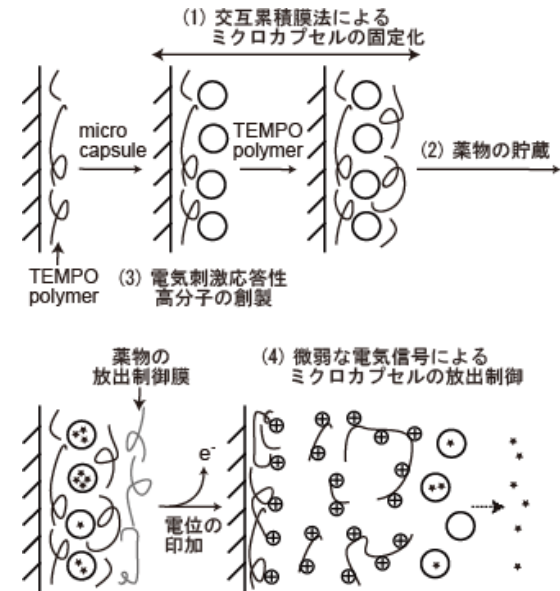


図1 電気刺激応答型薬物放出システムの概略図

(2)薬物の貯蔵のモデル物質としてインスリンを用いた。貯蔵方法は以下の2点を試みた。

インスリンの貯蔵方法としては、マイクロカプセルを調製の際、予めインスリンを封入することでインスリンの貯蔵を試みた。

基板にマイクロカプセルを固定化後、インスリンの薬液に長時間浸すことで、カプセル膜内にインスリンを取り込ませることにより、インスリンの貯蔵を試みた。

(3)電気刺激応答性物質として、TEMPO(2,2,6,6-Tetramethylpiperidine 1-Oxyl Free Radical)を用いた。高分子にTEMPOを修飾することによって電気刺激応答性を持たせる。高分子にはアクリル酸やアルギン酸などを用いて検討した。

(4)(3)にて創製した電気刺激応答性高分子を用いてマイクロカプセルの固定化した後、微弱な電気信号によるマイクロカプセルの解離、薬物の放出を試みた。TEMPOに電位を印加することによって、正電荷を持つオキソアンモニウムイオンとなり、これにより、TEMPOを修飾した高分子との分子間や正電荷を持つマイクロカプセルが静電的反発を生じるため、固定化されたマイクロカプセルが放出できると考えられる。また、マイクロカプセル膜にTEMPOを修飾した高分子を用いることで、カプセル膜の分解により、薬物の放出挙動が変化できると考えらえる。

4. 研究成果

(1) 交互累積膜法を用いたマイクロカプセルの調製は、芯物質として予め調製した炭酸カルシウム粒子をポリアリルアミン (PAH) 溶液とポリスチレンスルホン酸 (PSS) 溶液に交互に分散させ、炭酸カルシウム粒子表面に交互累積膜を被覆させた。その後、希塩酸にて新物質を溶解させることによって、交互累積膜をカプセル膜としたマイクロカプセルを調製した (図 2 左)。ポリアニオンには、PSS の他にポリビニル硫酸、デキストラン硫酸を用いたマイクロカプセルも調製できた。炭酸カルシウム粒子の調製の際に、予めインスリンを含有させることで、マイクロカプセル内にインスリンを含有させることができた (図 2 右)。インスリンを含有したマイクロカプセルは、酸性ではインスリンを保持し、中性よりインスリンを放出することができた (K. yoshida, et. al., *Polymers*, (2015) 7, 1269-1278)。マイクロカプセルを乾燥させ、インスリンの含有量を調査した。1 mg あたりのマイクロカプセルに含まれるインスリンの含有量は、(PAH-PSS)₅ におけるマイクロカプセルでは 0.189 mg 含有していた。

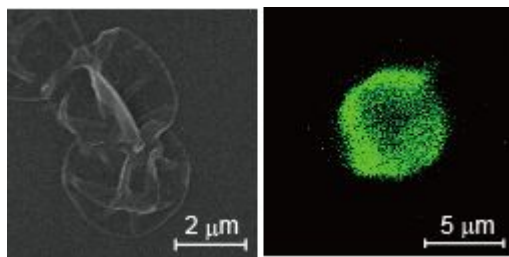


図 2 交互累積膜法を用いたマイクロカプセルの SEM イメージ (左) と FITC-インスリンを含有したマイクロカプセルの蛍光顕微鏡イメージ (右)

(2) QCM 法より、交互累積膜法で調製された (PAH-PSS)₅ マイクロカプセルの基板への固定化を行った。最外層にポリアニオンを有するマイクロカプセルと PAH の静電的相互作用による吸着により、マイクロカプセルの吸着による共振周波数変化がみられた。

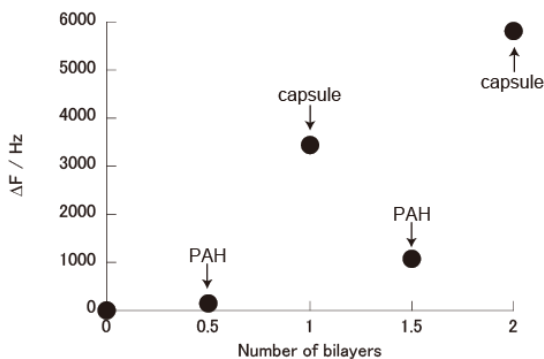


図 3 交互累積膜法によるマイクロカプセルの固定化における共振周波数変化

インスリンを含有するマイクロカプセルを固定化し 0.1 M 水酸化ナトリウム溶液でマイクロカプセルの分解を行いインスリンの含有量を調査した。固定化したマイクロカプセルにおける単位面積当たりの FITC-インスリン含有量は、(PAH -{(PAH-PSS)₅ マイクロカプセル})₅ において $0.717 \pm 0.045 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 、(PAH -{(PAH-PSS)₅ マイクロカプセル})₁₀ において $2.331 \pm 0.310 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ であった。これらの結果、基板表面にマイクロスケールのカプセルを吸着することは可能であり、PAH とマイクロカプセル分散溶液の浸漬回数を増やすことにより、マイクロカプセルの吸着量および単位面積当たりのインスリン含有量を増やすことができた。固定化されたマイクロカプセルを異なる pH 溶液に浸漬した時、酸性でインスリンは保持され、中性よりインスリンが放出された (図 4)。さらに、異なる pH 溶液に浸漬したことによるマイクロカプセルの解離はみられなかった。

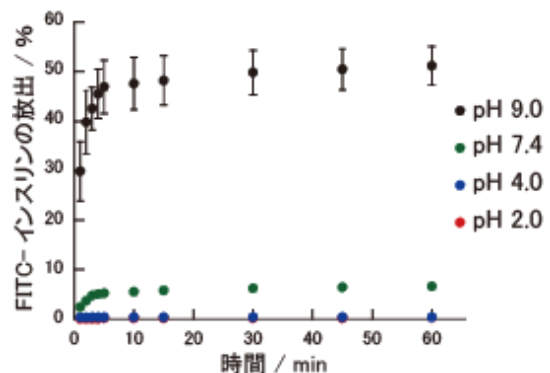


図 5 異なる pH 変化による (PAH-{(PAH-PSS)₅ microcapsules})₅ の FITC-インスリン放出変化

(3) 4-Amino-TEMPO 及び 4-Hydroxy-TEMPO をポリアクリル酸に修飾することで電気化学応答性機能性高分子を創製した。TEMPO 修飾ポリアクリル酸の電気化学的応答性は確認できたが、固定化したマイクロカプセルを解離するための反発力を得ることができない、電気信号に応答してインスリンの放出を確認できなかった。理由として、マイクロカプセルの固定過量が少なさ、インスリンの含有量の低さ、TEMPO の修飾率低さなどがあげられる。

(4) 今後の展望として、TEMPO 修飾高分子の最適化、薬物の貯蔵量の改善を優先的に行う。電気化学的的刺激以外の薬物放出の試みを行う。

TEMPO 修飾率の向上のために EDC や DCC を用いてエステル他、ポリ塩化ビニルを用いた TEMPO の修飾を試みる。

マイクロカプセル内に薬物を取り込ませるために、陽イオン交換能を有するナフィオンをカプセル膜に用いる。ナフィオンを用いることで、インスリンなどのタンパク質製剤の

他に、より低分子である塩基性薬物の取り込みを可能にされ、カプセル膜に含有できる薬物取り込み量の向上を試みる。

では、電極ではなく基板表面に熱源を用いることで熱に反応して放出できる薬物放出システムの構築を試みる。

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 1 件)

Kentaro Yoshida, Tetsuya Ono, Yoshitomo Kashiwagi, Shigehiro Takahashi, Katsuhiko Sato, Jun-ichi Anzai, pH-Dependent Release of Insulin from Layer-by-Layer-Deposited Polyelectrolyte Microcapsules *Polymers*(査読有り), 7, 2015, 1269-1278 doi:10.3390/polym7071269

〔学会発表〕(計 2 件)

大和田 翼、厚美 優弥、吉田 健太郎、小野 哲也、柏木 良友
ミクロカプセルで構成された交互累積膜によるインスリンの放出と pH 応答性、日本薬学会第 136 年会、2016 年 3 月 26-29 日パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

渡辺 亮太、吉田 健太郎、吉田 孝次、若月 裕也、小野 哲也、柏木 良友

ミクロカプセルで構成された交互累積膜の調製と性質、日本薬学会第 135 年会、2015 年 3 月 25-28 日神戸サンボーホール(兵庫県神戸市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉田 健太郎 (Yoshida, Kentaro)

奥羽大学・薬学部・助教

研究者番号: 50609899

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: