

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19700415
 研究課題名（和文） 超音波ドラッグデリバリシステム用カプセルの開発とカプセル膜弾性の定量的評価方法
 研究課題名（英文） Development of the microcapsule for ultrasonic drug delivery system and evaluation of the elasticity of the capsule shell
 研究代表者
 小山 大介（KOYAMA DAISUKE）
 東京工業大学・精密工学研究所・助教
 研究者番号：50401518

研究成果の概要：

生分解性高分子マイクロカプセルの作製を行った。カプセル作製法は微小気泡から直接 In-Situ 重合等によりカプセルを生成する方法を用いた。シェル材質にポリ-DL-乳酸及び、ポリ-L-乳酸を用いて、球形かつ表面状態の良好な含気マイクロカプセルの作製に成功した。作製した2種のマイクロカプセルを用いて、超音波を用いたカプセル破壊によるカプセル膜弾性の定量的評価手法について検討を行った。カプセルの崩壊とシェル材質のヤング率、引張強度の関連性が示された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,300,000	0	1,300,000
2008年度	1,900,000	570,000	2,470,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	570,000	3,770,000

研究分野：超音波工学

科研費の分科・細目：人間医工学・医用システム

キーワード：マイクロカプセル、超音波、ドラッグデリバリシステム、カプセル破壊、マイクロバブル、超音波造影剤

1. 研究開始当初の背景

薬物投与の際付随する副作用の問題を解決する手法として、様々なドラッグデリバリシステム（以下 DDS）が考案されている。薬物投与の空間的・時間的制御を目的とした本手法は、局所的薬剤投与に伴う副作用の抑制や、薬剤量の減少に伴うコストパフォーマンスの改善等の効果が期待される。超音波を用いた DDS には主に、経皮的手法や静脈内注射による手法等が挙げられるが、その中の一つであるマイクロカプセルを用いた超音波 DDS

は、周囲に弾性膜を有し、中空で内部に薬剤を内包した粒径がマイクロオーダーのカプセルを血流内に投与、超音波を用いて患部付近で捕捉、強力超音波によりカプセルを破壊し薬液を放出するという三段階で構成される。しかしながら強力超音波を体内に照射した際、衝撃波の発生や温度上昇等により生体に対して悪影響を及ぼす恐れがあるため、照射音圧は極力低く抑える必要がある。超音波造影剤の様に周囲に殆ど弾性膜を持たない気泡の挙動は、駆動音圧、駆動周波数、気泡径

に強く依存することが理論的、実験的に既に明らかにされている。しかしながら超音波による弾性膜を有するカプセル破壊の条件は、カプセル膜材質の弾性定数、膜厚等に強く依存すると考えられ不明瞭な部分が多い。従って生体内における安全なカプセル破壊の為には、低音圧で破壊可能なカプセルの製作とカプセル膜弾性の定量的評価が必要であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では生体内に投与可能な弾性膜を有する超音波 DDS 用マイクロカプセルの試作、並びに超音波を用いたカプセル膜弾性の定量的評価方法の確立を目的とする。試作した中空カプセルを観測セルに設置し、超音波を照射することにより音響的応答を観測し、カプセル膜の弾性を定量的に評価する。本評価方法よりカプセル膜材料や内容物を変えた場合のカプセル崩壊に要する音圧閾値を知ることができる。

3. 研究の方法

(1) 生分解性シェルを有するマイクロカプセルの作製を行った。カプセル作製法は微小気泡から直接 In-Situ 重合等によりカプセルを生成する方法を用いる。本手法は従来の液滴から化学反応によって液滴周囲にカプセル膜を生成し、膜生成後に熱を加えることにより内部液体を蒸発させる手法とは異なり、液体中に発生した微小気泡の周りに直接カプセル膜を生成する手法である。本手法により、従来法では作成できなかった非常に薄く、生体内で分解可能な材質の膜を持つカプセルを任意の大きさで作製できる可能性がある。

(2) カプセル膜の弾性評価を 2 手法より行った。1 つ目の測定として、カプセル膜材料を引張試験機により材料定数の測定を行った。2 つ目の手法として、試作したカプセルに超音波を照射し破壊特性を評価した。高速度ビデオカメラを用いて、超音波照射下のカプセル崩壊の様子を観測し、崩壊に要する音圧閾値より膜弾性を評価した。

4. 研究成果

(1) 生分解性カプセルの作製

マイクロカプセルの作製手法は物理化学的手法のひとつである気泡を核とした液中乾燥法を用いた。まず水に不溶な高分子を水に難溶性高揮発性良溶媒に溶かした高分子溶液及び核となる気泡を保持する高粘度溶液を作製する。次に気泡を高粘度溶液中に保持し、気液界面上に高分子溶液を付着させる。高分子溶液からは時間の経過と共に溶媒が水に微量溶解し、水面から蒸発する。溶媒が

完全に蒸発すると気泡表面にカプセル膜として高分子が析出し、シェルが完成する。このように液中乾燥法はカプセル化の際に重合反応などが必要ないため、他の手法と比較して簡便にカプセルを作製できるという利点を有する。本実験ではシェル材質として D 型及び DL 型ポリ乳酸を使用した。ポリ乳酸は生体適合性及び生分解性を有する高分子であり、医療分野では手術用縫糸や DDS の担体としての応用が期待されている。カプセル作製時等、ポリ乳酸を用いて実験する際は性質の変化を避けるため、ガラス転移点以下の温度 (20-30°C) で実験を行った。

本実験では、気泡を液中に保持させるための高粘度溶液として 10 wt% のポリビニルアルコール (PVA) 水溶液 100 g を用いた。水 90 ml 及び PVA 10 g をマグネチックスターラーによって加熱、攪拌し、PVA を完全に溶解させた。その後常温に戻すことで高粘度溶液を得た。高分子溶液作製の際に用いたポリ乳酸は PDLLA と PLLA である。各ポリ乳酸 0.05 g をそれぞれ良溶媒であるジクロロメタン (DCM) 2 ml と混合溶解させ、高分子溶液とした。上記の高分子溶液を高粘度溶液中に投入し、混合する。その際、注射器によって高分子溶液内に微小な気泡を生成した。生成した気泡は周りが高分子溶液で覆われた状態で混合溶液中に保持される。混合溶液をマグネチックスターラーの最低攪拌速度で約 10 分間攪拌する事で、気泡周囲の高分子溶液から高揮発性の DCM を徐々に蒸発させた。DCM が完全に蒸発するとシェルとして気泡表面にポリ乳酸が析出し、球形カプセルが形成される。シェルの周囲に付着した PVA を多量の水で除去し、ポリ乳酸のシェルを有する含気マイクロカプセルを得た。

作製結果の一例として、作製直後の PDLLA カプセルを複数個取り出し、光学顕微鏡によって観測した結果を図 1 に示す。球形で透明な含気カプセルが生成されていることが確認できる。

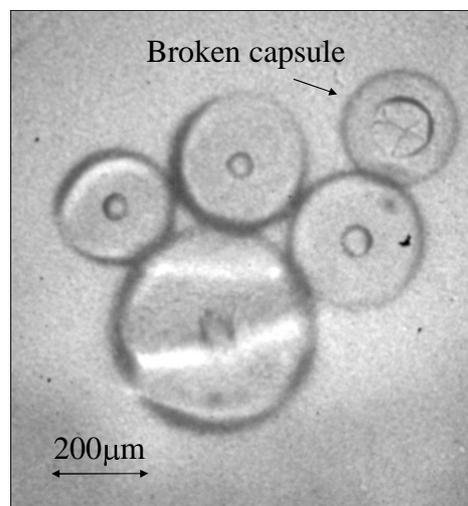


図1 作製したマイクロカプセル

壊れているカプセルを除外すると一試行で得られる含気カプセル数は数十～数百個であった。本作製手法で得られた含気カプセルの半径分布を図2に示す。シェル形成状態によってカプセル挙動に大きく影響を与えると考えられるため、単一カプセルの表面状態をより詳細に観測した。PDLLA 及び PLLA カプセルの表面を光学顕微鏡で観測した結果を図3に示す。多くの場合、シェル表面に円形の不均質部位が存在する事を確認した。これは生成過程において生じたものであるが、詳細は不明である。不均質部位の存在するカプセルの試破壊を行ったが、不均質部位が挙動に与える影響は確認できなかった。作製したカプセルのシェルの厚さを電子顕微鏡で測定した(図4)。(b)はシェルの断面が最も明確に確認できた箇所撮影した画像である。画像上部がカプセルの内壁、下部が固定観測用導電性接着剤であり、その境界に確認できる線状のものがシェルであると推測され、シェルの厚さは数百 nm であると推測される。

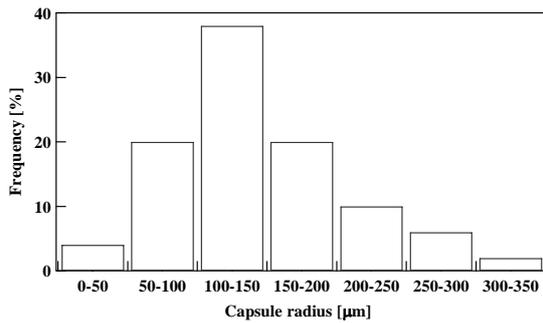


図2 カプセル粒径分布

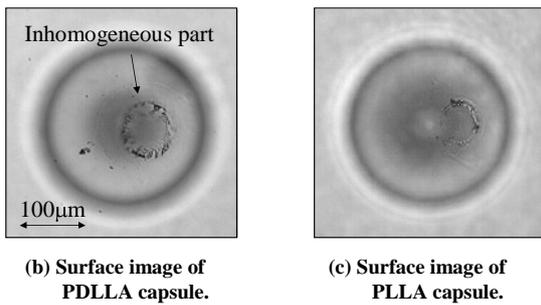


図3 カプセル表面の光学顕微鏡像

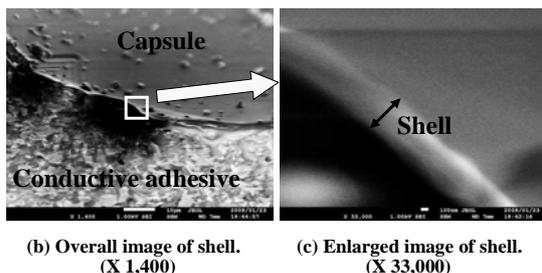


図4 カプセル膜のSEM像

(2) 引張試験によるシェル材質の弾性測定
引張試験に用いる試験片として、薄膜の作製を行った。PLLA 薄膜の作製にはスピコンコート法を用いた。PDLLA 薄膜の作製にはキャスト法を用いた。作製した PDLLA 及び PLLA 薄膜を試験速度 5 mm/min にて引張試験を行った。両試験片の応力-歪み曲線を図5に示す。また、両ポリ乳酸のヤング率、引張強度、伸びを表1に示す。両者の機械的性質を比較すると、PDLLA が弱く脆い性質であり、PLLA が強く硬い性質であることが確認できる。高分子溶液から溶媒を除去して作製した PLLA 薄膜は、ヤング率、引張強度、伸びの数値的に未配向である事が推測される。

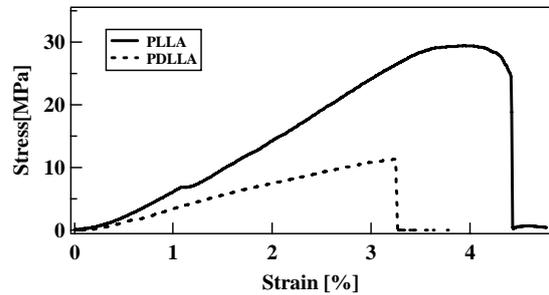


図5 カプセル膜材料の応力歪曲線

表1 カプセル膜材料定数

	Young's modulus (GPa)	tensile strength (MPa)	ultimate elongation (%)
PDLLA	0.35	10	3.5
PLLA	1.0	30	4.5

(3) 超音波照射によるカプセル破壊および膜弾性評価

作製した2種のマイクロカプセルに水中において超音波を照射することにより、その破壊の様子の観察および膜の弾性評価を行った。照射超音波の振幅が 20kPa の場合の気泡と2種のマイクロカプセルの観測結果を図6に示す。

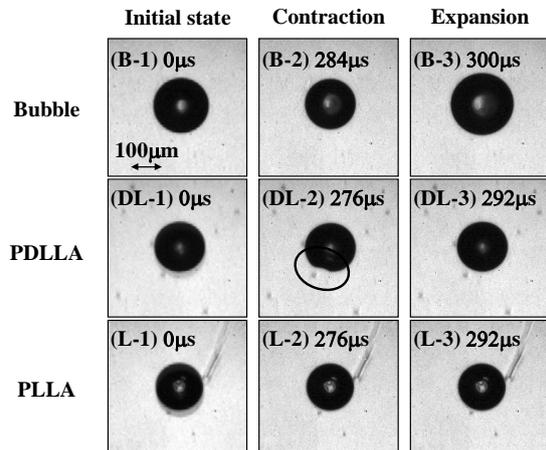


図6 気泡とカプセル振動の様子

PDLLA カプセルは収縮しているが、PLLA カプセルは殆ど収縮していない事が確認できる。PDLLA カプセルの最も収縮した箇所における変位は約 $7\mu\text{m}$ である。また、PLLA カプセル収縮時の最大変位は、撮影に用いた高速ビデオカメラの空間分解を考慮すると $4\mu\text{m}$ 以下であると考えられる。同条件における気泡収縮時の最大半径変化が約 $11\mu\text{m}$ であることから、両カプセルとも収縮を抑制する効果があると考えられる。また、両カプセルの収縮変位の差はシェル材質のヤング率の違いによって生じたと考えられ、ヤング率が大きい PLLA カプセルの膨張収縮の抑制が顕著に現れた結果となった。

音圧振幅値が 40kPa 時における PDLLA カプセルの破壊の様子を図7に示す。照射音圧が正の時、 $P_{\text{max}}=20\text{kPa}$ の時と同様に PDLLA カプセルが局所的に収縮している。その後照射音圧が負に転じると PDLLA カプセルから内部気体が流出した。これはカプセル膨張時にシェルに生じる引張応力が PDLLA の弾性限界を超えて破壊し、内部気体が外部に流出したためであると考えられる。これらの結果より膜材質の機械的特性と超音波照射下のカプセル挙動の関係について定性的ではあるものの評価することができた。

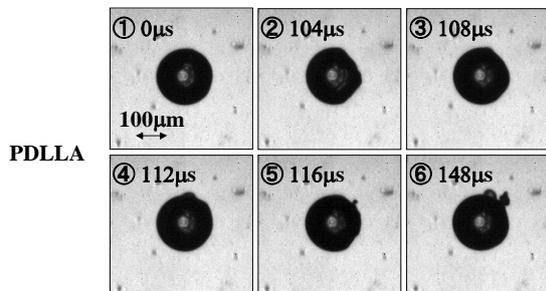


図7 PDLLA カプセル破壊の様子

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)

[学会発表] (計5件)

①宮部潤, 吉田憲司, 小山大介, 渡辺好章, 超音波照射時における含気カプセル挙動の光学的観測-シェルがカプセル振動に与える影響-, 超音波研究会, 2008. 10. 30, 同志社大学

②宮部潤, 吉田憲司, 渡辺好章, 小山大介, 超音波によるポリ乳酸カプセルの破壊, 非線形音響研究, 2008. 08. 30, 加藤科学振興会 軽井沢研修所

③J. Miyabe, K. Yoshida, D. Koyama, and Y. Watanabe, Destruction of the gas-filled capsule using effects of the collapsing bubble near the capsule, Acoustics' 08 Paris, 2008. 06. 29, Palais des Congrès

④宮部潤, 吉田憲司, 小山大介, 渡辺好章, 超音波及び気泡の崩壊現象を利用したマイクロカプセルの破壊, 第10回日本音響学会関西支部若手研究者交流研究発表会, 2007. 11. 29, 甲南大学

⑤宮部潤, 吉田憲司, 小山大介, 渡辺好章, 流路内での超音波によるマイクロカプセルの捕捉及び破壊 -カプセルサイズによる内部気体放出過程の違い-, 電気関係学会関西支部連合大会, 2007. 11. 18, 神戸大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小山 大介 (KOYAMA DAISUKE)
東京工業大学・精密工学研究所・助教
研究者番号: 50401518

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし