

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 5日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2008～2010

課題番号：20686046

研究課題名（和文）

外部刺激応答機能を有するハイブリッドカプセルの創成

研究課題名（英文）

CREATION OF HYBRID CAPSULES WITH STIMULI-RESPONSIVE RELEASE PROPERTY

研究代表者

片桐 清文 (KATAGIRI KIYOFUMI)

名古屋大学・大学院工学研究科・助教

研究者番号：30432248

研究成果の概要（和文）：薬剤をターゲットとなる患部に送達するドラッグデリバリーシステム（DDS）における容器となるカプセル材料には、体内における薬剤の分布の量的、空間的、時間的にコントロールする特性が求められる。そのような特性の実現のために、外部からのシグナルに応答しオンデマンドで内包物を放出する機能を付与したスマートカプセルの開発を行った。光をシグナルとして内包物を放出するカプセルは酸化チタンの光触媒機能を利用することで、磁場をシグナルとして内包物を放出するカプセルは磁性ナノ粒子の交流磁場中での発熱現象を利用することでそれぞれ実現可能であることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Microcapsules have been widely investigated over the past few decades and have attracted great interest in the areas of drug delivery, and cosmetics industries. Now a number of efforts are devoted for the development of “smart capsules” with stimuli-responsive behavior. Stimuli-responsive smart hybrid microcapsules have been developed via the layer-by-layer (LbL) technique and the solution process for inorganic materials synthesis. UV-responsive capsules have been successfully prepared by using sol-gel derived SiO₂-TiO₂ layer on a polyelectrolyte multilayer shell. In this system, the capsular shell was ruptured by the photocatalytic reaction of TiO₂ component. These capsules have a tunable UV-triggered release function by control of composition of SiO₂-TiO₂ layer. Magneto-responsive smart capsules have also fabricated using polyelectrolytes, lipid bilayers and magnetic nanoparticles. Encapsulated materials were released on-demand by irradiation with an alternating magnetic field, due to a phase transition in the lipid membrane, induced by heating of the magnetic nanoparticles.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	11,600,000	3,480,000	15,080,000
2009年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2010年度	2,300,000	690,000	2,990,000
総計	16,700,000	5,010,000	21,710,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：材料工学、無機材料・物性

キーワード：有機-無機複合体・チタニア・交互積層法・磁性ナノ粒子・脂質二分子膜・磁気ハイパーサーミア・外部刺激応答材料・薬物運搬体

1. 研究開始当初の背景

現代において、医学・薬学の分野は急速に発

展しており、かつては不治の病として恐れられていた疾病でも薬物療法によって克服可

能になったものも数多く存在する。しかし、劇的な作用を示す薬剤であるほど重篤な副作用を示すリスクも大きくなる側面がある。うえに、それらの薬剤は希少な原材料から合成された高価なものであるにも関わらず、患部に到達するまでの過程で大部分が分解されてしまうケースも散見され、いまだ改善すべき点が多く存在する。そのため、体内における薬剤の分布の量的、空間的、時間的なコントロールにより、副作用の問題を解決することで、薬物投与の最適化を目指すアプローチであるドラッグデリバリーシステム (DDS) が注目を集めている。この DDS においては (1) 体中での薬剤放出の制御、(2) 生体の薬剤吸収の改善 (生体膜透過促進)、(3) 生体内での薬剤の標的指向 (ターゲティング) の3つの分野で研究開発が進められている。このうち、薬物放出の制御とターゲティングを行うために薬物を入れておく“容器”にあたるカプセル材料の開発が特に精力的に行われている。薬物放出の制御においては、従来ではカプセルの殻の素材の物質透過性を抑えることで薬物を徐放するタイプのものが多く開発されてきたが、最近では、ターゲティングによって、目的の患部にカプセルを送達した後、外部からシグナルを送り、それに応答してオンデマンドで薬物を放出するタイプのカプセルに関する研究が盛んに行われるようになってきている。そのシグナルの候補としては、pH、熱、光、磁場などが挙げられるが、人体への影響を最小限とすることを考慮すると、光あるいは磁場が有力な候補であると考えられる。光あるいは磁場を受信する機能においては、合成の容易さ、原料のコスト、物質の種類豊富などを考慮すると無機材料の利用が重要なカプセル開発のキーポイントとなる。このような背景から、DDS への応用を目指した有機-無機ハイブリッドカプセルの開発が近年注目され始めている。

2. 研究の目的

本研究課題では、ハイブリッドカプセルの多角的な展開を目指し、光や磁場等の外部刺激に応答する新規なカプセル材料の創成を目的とした。特に、磁場は人体への透過性が高い一方で、侵襲性が低いと、ガンの温熱療法への臨床応用などがすでに進められている。この温熱療法にも利用されている交流磁場中での磁性粒子の発熱現象を利用したシステムを提案した。すなわち、カプセル殻に脂質二分子膜のような温度で物質透過性が変化する有機物質と、マグネタイトのような磁性粒子を組み合わせることで、交流磁場を外部刺激として内包物を放出するシステムである。これらのような有機-無機複合系を構築する上で、重要なポイントとしては、無

機物質をいかに有機物質に影響を与えずに合成するか、という点である。そのために結晶性の無機物質を常温・常圧の環境下で合成する水溶液プロセスを本研究では採用する。したがって、本研究課題では外部場応答機能を有する有機-無機ハイブリッド材料を低環境負荷の水溶液プロセスで低温合成するための戦略を提案し、それを実現することを目標とした。

3. 研究の方法

近年、コロイド粒子をテンプレートとして、その表面に正負それぞれの電荷を有した高分子電解質を交互に積層してコア-シェル粒子を調製し、そのコア粒子を除去することで中空カプセルを作製する手法が開発され、現在盛んに実用化に向けて研究されている。交互積層法は、最初は固体基板上への超薄膜の作製プロセスとして1991年にG. Decherらによって確立された方法で、コロイド粒子表面への交互積層によるコア-シェル粒子の作製とコア粒子の除去による中空カプセルの作製法としては、1998年にF. Carusoらによって初めて報告された。本研究課題では、この手法をベースに試料調製を行った。交互積層による中空カプセル作製の一般的なプロセスは以下になる。まず、コアとなる粒子の表面電荷と反対の電荷を有する高分子電解質溶液をコア粒子のコロイド分散液に加える。そうすると、コア粒子表面に静電相互作用によって高分子電解質が吸着が起こる。ここで、電荷の中和にとどまらず、過剰吸着が生じるため、コロイド粒子の表面電荷が反転する。吸着しなかった高分子電解質は、次の層となる高分子電解質の溶液を加える前に遠心分離等によって除去する。つぎに先に吸着させた高分子と反対の電荷を有する高分子電解質を用いて同様のプロセスを行うことで、高分子の吸着と再度の電荷反転が起こる。これを逐次繰り返すことで、高分子電解質多層膜をシェルとするコア-シェル粒子が得られる。このようにして得られたコア-シェル粒子からコア部分を除去することで、中空カプセルとすることが可能である。例えば、コア粒子が酸あるいは有機溶媒等に可溶であれば、コアを溶解除去することで中空カプセルとすることが可能である。交互積層法で得られる中空カプセルは、コア粒子の選択によって得られるカプセルのサイズ等を容易に制御することが可能である。また積層過程において、用いるコーティング溶液の濃度やイオン強度を調整したり、積層回数などを変えたりすることで、カプセルの殻部分の厚さや組成も簡便にコントロールできる。また、交互積層を行う駆動力は静電相互作用であるため、高分子電解質のみならず、多電荷を有する様々な物質を積層するこ

とができる。すなわち、タンパク質、DNA などの生体高分子、色素分子、金属ナノ粒子などに加え、無機材料もナノ粒子あるいはシート状化合物などの状態で適用することができる。この特徴を活かすことで、外部シグナルにตอบสนองして内包物を放出する機能を発現させるためのユニットとなる物質をカプセルに組み込むことが非常に容易である。

4. 研究成果

(1) TiO_2 を用いた紫外線応答性マイクロカプセル

カプセルの内包物放出特性を制御する外部シグナルとしてまず光をターゲットとした。 TiO_2 は紫外線の照射によって光触媒機能を発現することから近年注目されている。そこで、高分子電解質からなる中空カプセルにゾルゲル法によって TiO_2 を含む無機層を複合化して、紫外線にตอบสนองし内包物を放出する機能を有するカプセルを開発した。半導体である TiO_2 はアナターゼ型の場合、そのバンドギャップは 3.2 eV であり、それに相当する波長の紫外線を吸収することで光触媒特性を発現し、有機物質などを分解することが知られている。したがって、交互積層法で作製した高分子電解質からなる中空カプセルに TiO_2 を固定することで、紫外線を照射するとカプセル殻の有機成分が分解されて開裂する中空カプセルが得られる。高分子電解質の交互積層膜からなる中空カプセルを合成し、これにシリコンおよびチタンのアルコキシドを用いて、ゾルゲル法によって SiO_2 または $\text{SiO}_2\text{-TiO}_2$ のセラミックス薄層を高分子電解質のカプセル上に形成させた。中空カプセルの形成は電子顕微鏡観察によって確認でき、コア粒子のサイズを反映したカプセルが得られていることが確認された。得られたカプセルに紫外光を照射し、カプセル構造への影響を電子顕微鏡観察によって検討した。無機層が SiO_2 のみからなるカプセルでは、長時間の紫外線照射をおこなっても構造に変化は認められなかった。一方、無機層が $\text{SiO}_2\text{-TiO}_2$ からなるカプセルでは数分の紫外線照射で、カプセル殻に亀裂が生じ始め、長時間の照射後では、粒子形状が失われていることが電子顕微鏡観察で確認された (図 1)。これはカプセルの殻部分を形成している有機層の高分子電解質膜が紫外光照射による TiO_2 成分の光触媒効果により分解されることで、カプセルの開裂を引き起こしていると考えられる。つまり、紫外線にตอบสนองしカプセル殻が開裂することでカプセルに封入された内包物を放出するポテンシャルを有しているといえる。そこで標識物質として色素であるフェノールレッドを用いて、カプセル内部に内包させ、紫外光照射に対する内包物放出特性の測定を行った。この際、色素の自然

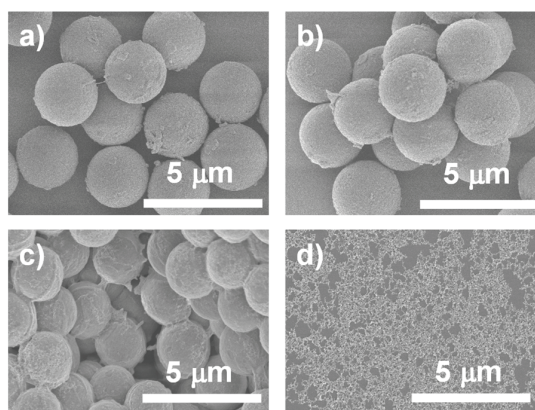


図 1. SiO_2 (a,b)もしくは $\text{SiO}_2\text{-TiO}_2$ (c,d)でコートしたハイブリッドカプセルの SEM 写真: (a,c) 紫外線照射前, (b,d) 紫外線照射後 (20 mW cm^{-2} , 1 時間)

漏出の防止のために脂質二分子膜もカプセルに複合化した。図 2 に示すように、無機層が SiO_2 のみからなるカプセルにおいては、1 時間紫外光照射を行ってもフェノールレッドの漏出は認められなかった。一方 $\text{SiO}_2\text{-TiO}_2$ を用いた場合、紫外光照射によりカプセル外への色素の放出を示す最大吸収波長 550 nm における吸収が現れ、紫外光照射による膜の開裂によって内包物を放出していることが示唆された。また、 $\text{SiO}_2\text{-TiO}_2$ の組成を変化させると、内包物放出速度が変化することが分かった。 $\text{SiO}_2\text{-TiO}_2$ 組成が 75 : 25 のカプセルでは、吸光度は最初の 5 分間で急激に増大しており、このカプセルがすばやい応答特性を有しているが、組成を 95 : 5 としたカプセルでは、それと比較すると放出が緩やかになっていることが明らかになった。さらに、この応答挙動は照射する紫外光の照度でも変化することも分かった。紫外線の照度を変化させて色素放出挙動の測定を行った。 $\text{SiO}_2\text{-TiO}_2$ の組成を 75 : 25 に固定し、照射する紫外線を変化させた場合では、 20 mW cm^{-2} の強い照度では、内包物がすばやく放出され、10 分の照射で半分以上の色素の放出が認められるが、 1 mW cm^{-2} の照度では、内包物の放出はゆるやかになり、すべての色素の放出に 2 時間以上を要することが分かる。これらの結果から、無機成分の TiO_2 の割合が多くなれば、より弱い照度の紫外光でも内包物を放出し、逆に TiO_2 の割合が少なくなれば、内包物の放出にはより強い照度の紫外光の照射や、長時間の照射が必要になる。さらに、応答挙動は有機層である高分子電解質の積層数を増やし、その厚みを変化させることでも調整可能であると考えられる。これらのことから、このカプセルでは、応用する目的に応じてそれに最適な内包物放出機能を有するカプセルの設計が容易であることが示唆された。

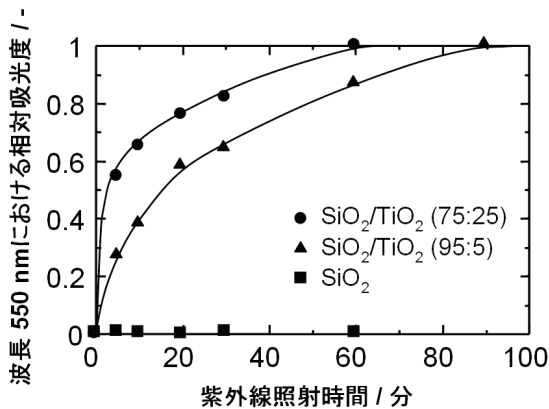


図 2. SiO₂ もしくは SiO₂-TiO₂ でコートしたハイブリッドカプセルからのフェノールレッドの紫外線照射による放出挙動 (20 mW cm⁻¹)

(2) 磁性ナノ粒子を用いた磁場応答性マイクロカプセル

外部刺激応答性カプセルの一例として、ここまで TiO₂ を用いた紫外線応答性カプセルについて述べてきたが、紫外線を内包物放出のトリガーとすることは DDS としての応用においては大きな問題点がある。DDS では薬物が放出されるのは癌などそれぞれの疾病の患部となるので、多くの場合は体内深部となる。ここで、内包物を放出するシグナルとしての紫外線は人体の組織に対する透過性が低いだけでなく、侵襲性が高く生体組織を傷つけてしまう恐れがあり、DDS としての応用においてはその適用範囲を外用薬などごく一部に限定してされてしまう。そのために、DDS への応用を視野に入れる場合、紫外線とは異なる外部場を用いなければならない。ここで研究代表者が注目したのは磁場である。磁場は人体など生体組織に対する透過性が高く、一方で侵襲性が低いとされている。実際に、すでに臨床において、核磁気共鳴画像診断 (MRI) 法が広く利用されているほか、近年では癌の磁気温熱療法も臨床試験が行われ、活発に研究されている。この磁気温熱療法は、磁性ナノ粒子に交流磁場が印加されると磁場によるヒステリシス損失やネール緩和等によって発熱する現象を利用し、熱に弱い癌細胞を死滅させるものである。研究代表者らは、この磁性粒子の交流磁場中での発熱現象を利用した磁場応答性カプセルの開発を行った。ここで、カプセルのシェル部位には、磁性を有する酸化物として Fe₃O₄ を用い、さらに脂質二分子膜を組み込んだ。脂質二分子膜は生物の細胞膜の基本構成物であり、物質の透過性を制御する役割がある。脂質二分子膜の物質透過性が大きく変化する現象として、ゲル-液晶相転移が知られている。低温域の膜の流動性が低いゲル状態では、

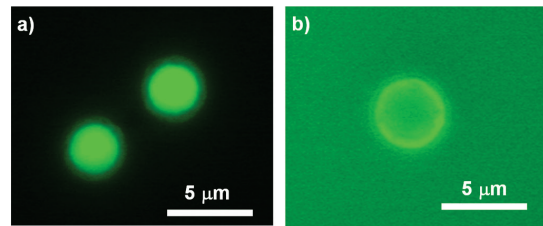


図 3. Fe₃O₄ ナノ粒子と脂質二分子膜からなるハイブリッドカプセルの蛍光顕微鏡写真: (a) 交流磁場印加前, (b) 交流磁場印加後 (234 Oe, 360 kHz, 30 分)

イオンや分子は脂質膜をほとんど透過することができないが、相転移温度以上になって膜が液晶状態となり、流動性が高くなると脂質膜の物質透過性は飛躍的に向上する。すなわち、カプセルのシェルに磁性体である Fe₃O₄ 粒子と脂質二分子膜を組み込み、交流磁場印加による Fe₃O₄ 粒子の発熱によって脂質膜がゲル状態から液晶状態に相転移することで、シェルの物質透過性が向上し、内包物が外部に放出されるものと考えられる。高分子電解質多層膜表面に Fe₃O₄ ナノ粒子を析出させ、これにさらにカチオン性の人工脂質であるジメチルジオクタデシルアンモニウムブロミドの二分子膜をコーティングしたカプセルを作製した。これに、色素を内包して、その放出特性の実験を行った。図 3 には、蛍光色素を内包させたカプセルに交流磁場を印加する前後の蛍光顕微鏡写真を示している。磁場印加前には色素の発光はカプセル内部からのみ起こっており、色素がカプセル内部に封入されていることがわかる。一方、360 kHz、234 Oe の交流磁場を 30 分印加した後では、視野全体が明るいことから色素の発光はカプセルの外でも起こっている様子が見られる。これはすなわち、磁場印加で色素がカプセル外に放出されたことを示している。図 4 にはフェノールレッドを用いたカプセルからの磁場応答内包物放出特性の結果を示している。磁場を印加していないサンプルにおいては、カプセルからのフェノールレッドの漏出が起こっていないことがわかる。一方、交流磁場を印加すると、色素の放出を示す極大吸収波長 550 nm における吸光度の増大が確認された。ここでカプセル分散液の温度を測定すると、交流磁場印加前ではジメチルジオクタデシルアンモニウムブロミドの二分子膜の相転移温度である 40 °C 以下であったが、交流磁場印加後ではそれを上回る温度に上昇していた。したがって、色素の放出は、交流磁場印加による Fe₃O₄ 粒子の発熱によって、脂質膜が相転移してカプセルのシェルの物質透過性が向上したことによって起こっていることが確認された。この交流磁場印加による内包物放出挙動も、印加する磁

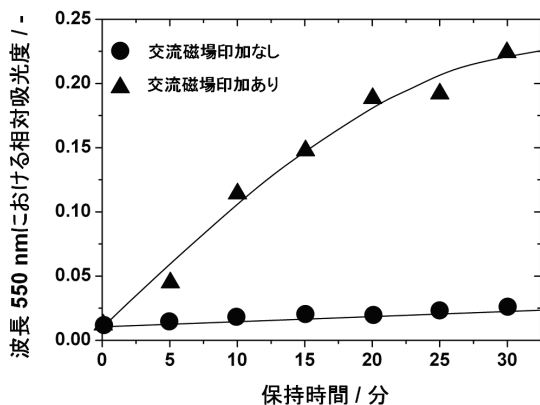


図 4. Fe_3O_4 ナノ粒子と脂質二分子膜からなるハイブリッドカプセルからの交流磁場印加による色素放出挙動 (234 Oe, 360 kHz)

場の強度やカプセルに固定する磁性ナノ粒子の量によってコントロール可能であることが分かった。カプセルに印加する磁場強度を 96 Oe から 307 Oe の間で変化させたところ、弱い磁場では非常に緩やかな内包物の放出、強い磁場では速やかな放出が確認された。また、カプセルに固定する磁性ナノ粒子の量を変化させたところ、同じ強度の磁場を印加しても、より多くのナノ粒子を組み込んだカプセルほど速やかな内包物の放出が起こることも明らかになった。したがって、磁場応答性カプセルにおいても、その内包物放出機能を目的に応じてチューニングすることが可能であることが分かった。

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 9 件)

- ① 片桐清文, “オンデマンドで内包物を放出するハイブリッドスマートカプセル,” セラミックス, 46, 2011, 109–113 (査読無) .
- ② K. Katagiri, M. Nakamura, K. Koumoto, “Magneto-responsive Smart Capsules Formed with Polyelectrolytes, Lipid Bilayers and Magnetic Nanoparticles,” *ACS Appl. Mater. Interface*, 2, 2010, 768–773, DOI: 10.1021/am900784a (査読有) .
- ③ M. Nakamura, K. Katagiri, K. Koumoto, “Preparation of hybrid hollow capsules formed with Fe_3O_4 and polyelectrolytes via the layer-by-layer assembly and the aqueous solution process,” *J. Colloid Interface Sci.*, 341, 2010, 64–68, DOI: 10.1016/j.jcis.2009.09.014 (査読有) .
- ④ K. Katagiri, K. Koumoto, S. Iseya, M. Sakai, A. Matsuda F. Caruso, “Tunable

UV-Responsive Organic-Inorganic Hybrid Capsules,” *Chem. Mater.*, 21, 2009, 195–197, DOI: 10.1021/cm802873f (査読有) .

- ⑤ K. Katagiri, M. Nakamura, K. Koumoto, “Aqueous Phase Deposition of Fe_3O_4 on the Polyelectrolyte Multilayered Films Prepared via Layer-by-Layer Assembly,” *Colloids Surf. A*, 321, 2008, 262–265, DOI: 10.1016/j.colsurfa.2008.02.016 (査読有) .

[学会発表] (計 29 件)

- ① 片桐清文, “液相プロセスと分子集合体を用いた新規ハイブリッド材料の開発,” 日本セラミックス協会 2011 年 年会, 2011 年 3 月 16 日, 静岡大学 (浜松)
- ② K. Katagiri, Y. Imai, M. Nakamura, K. Koumoto, “Stimuli-responsive smart hybrid capsules prepared via layer-by-layer assembly,” The 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2010), 2010 年 12 月 18 日, Honolulu, USA.
- ③ Y. Imai, K. Katagiri, and K. Koumoto, “Tunable Magneto-responsive Hybrid Capsules Formed with Fe_3O_4 Nanoparticles and Lipid Membrane,” The 3rd International Congress on Ceramics (ICC3), 2010 年 11 月 16 日, Grand Cube Osaka.
- ④ K. Katagiri, Y. Imai, M. Nakamura, K. Koumoto, “Tunable Magneto-responsive Smart Hybrid Capsules Prepared via Layer-by-layer Assembly,” 13th International Conference on Organized Molecular Films (LB-13), 2010 年 7 月 19 日, Quebec, Canada.
- ⑤ 片桐清文, 今井雄治, 河本邦仁, 改田知宏, 河野健司, 青島貞人, “磁場応答放出能を有するハイブリッドリポソームの創成,” 第 59 回高分子学会年次大会, 2010 年 5 月 27 日, パシフィコ横浜 (横浜) .
- ⑥ 片桐清文, オンデマンド放出機能を有するハイブリッドスマートカプセルの創成, 第 28 回無機高分子研究討論会, 2009 年 11 月 5–6 日, 東京理科大学 (東京) .
- ⑦ 片桐清文, ありふれた物質の機能融合で創るハイブリッドスマートカプセル, 粉体粉末冶金協会平成 21 年度秋季大会, 2009 年 10 月 27–29 日, 名古屋国際会議場 (名古屋) .
- ⑧ 今井雄治, 中村雅人, 片桐清文, 河本邦仁, Fe_3O_4 ナノ粒子および脂質膜を利用した磁場応答ハイブリッドカプセルの作製, 日本化学会第 89 春季年会, 2009 年 3 月 27 日～30 日, 日本大学 (船橋) .
- ⑨ K. Katagiri, Y. Imai, M. Nakamura, K. Koumoto, “Magneto-responsive hybrid

hollow capsules formed with polyelectrolytes, lipid bilayers, and Fe₃O₄ nanoparticles,” First International Conference on Multifunctional, Hybrid and Nanomaterials, 2009年3月15日～19日, Tours, France.

- ⑩ K. Katagiri, Y. Imai, M. Nakamura, K. Koumoto, “Magneto-Responsive Hollow Capsules Prepared via Colloid Templating,” The Fourth Biennial Australian Colloid and Interface Symposium (ACIS2009) and the 10th Australia-Japan Colloid and Interface Science Symposium, 2009年2月1日～5日, Adelaide, Australia.
- ⑪ K. Katagiri, “Sol-Gel Nanohybrids Fabricated via Supramolecular Organization,” The 1st Korea-Japan Joint Forum on Sol-Gel Science and Technology, 2008年12月4日～6日, Daejeon, Korea.
- ⑫ 片桐清文、松田厚範、河本邦仁、子間相互作用を利用した有機-無機ハイブリッド材料の開発、日本セラミックス協会第21回秋季シンポジウム, 2008年9月17日～19日, 北九州国際会議場 (北九州)。
- ⑬ 中村雅人、片桐清文、河本邦仁, 磁性ナノ粒子/脂質膜ハイブリッドカプセルの作製と磁場応答材料への展開, 第61回コロイドおよび界面化学討論会, 2008年9月7日～9日, 九州大学 (福岡)。
- ⑭ 中村雅人、片桐清文、河本邦仁, 磁場応答材料を目指した有機-無機ハイブリッドカプセルの作製, 日本ゾルーゲル学会第6回討論会, 2008年7月31日～8月1日, 吹上ホール (名古屋)。

[図書] (計4件)

- ① K. Katagiri (分担執筆), Bio-Inspired Materials Synthesis (Ed.; Y. F. Gao), Research Signpost, 2010, pp. 123-142.
- ② 片桐清文, 大幸裕介, 武藤浩行 (分担執筆), コアシェル微粒子の設計・合成技術・応用の展開 (川口春馬監修), シーエムシー出版, 2010, pp. 25-38.
- ③ 片桐清文 (分担執筆), ゾルーゲル法技術の最新動向 (作花済夫監修), シーエムシー出版, 2010, pp. 82-90.
- ④ 片桐清文 (分担執筆), 超分子サイエンス&テクノロジー (国武豊喜監修), エヌ・ティー・エス, 2009, pp. 797-805.

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称: 磁場応答性リポソーム及び磁場応答性薬剤放出システム

発明者: 河野健司, 改田知宏, 片桐清文, 今井雄治, 青島貞人, 森田勇人, 佐藤充則

権利者: 大阪府立大学, 名古屋大学

種類: 特許

番号: 特願 2010-100103

出願年月日: 2010年4月3日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

片桐 清文 (KATAGIRI KIYOFUMI)

名古屋大学・大学院工学研究科・助教

研究者番号: 30432248

(2) 研究分担者なし

(3) 連携研究者なし