

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：24201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K12314

研究課題名（和文）海洋バイオマス「キトサン」の有効活用を生み出す有機無機複合コアシェル微粒子化

研究課題名（英文）Fabrication of organic-inorganic composite core-shell type particles for effective utilization of marine biomass "chitosan"

研究代表者

谷本 智史 (Tanimoto, Satoshi)

滋賀県立大学・工学部・准教授

研究者番号：50303350

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：エビやカニの外骨格から得られる天然由来多糖であるキトサンを材料として、マイクロメートルスケールの有機無機ハイブリッド微粒子およびミリメートルスケールのビーズを作製した。本研究期間においてはこれらの新規材料のpH応答崩壊特性を調製条件によって制御することに成功した。また得られた微粒子およびビーズにはモデル薬物として、それぞれリボフラビンと血清タンパク質であるアルブミンを導入し、これらのキトサン材料が薬物担体として応用可能かを検討した。その結果、微粒子には炭酸カルシウムのシェルを付与することで、ビーズには調製時の濃度条件によって内部薬物の放出を制御することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

エビやカニの外骨格を支える有機成分はキチンおよびキトサンと呼ばれる多糖である。このキチン・キトサンは、自然界においてセルロースに次ぐ産生量を有しており、未来のバイオマス資源として有望視されているが、現時点では材料としての応用研究があまり進んでいない。そこで本研究では、そのうちのキトサンに新しい可能性を与えるため、制御された構造を与え、高付加価値の期待できる医薬分野への応用を検討した。キトサンの粒子・ビーズ材料はバイオマス系材料の中でも新規な領域である。ここから更なる化学的・物理化学的発展が可能である。本研究で得られる知見は、学術的にも社会的にも重要なものであると言える。

研究成果の概要（英文）：Micrometer-scale organic-inorganic hybrid microparticles and millimeter-scale beads were prepared from chitosan, a naturally occurring polysaccharide derived from the exoskeletons of shrimp and crab. The pH-responsive disintegration properties of these novel materials were successfully controlled by the preparation conditions. Riboflavin and albumin, a serum protein, were introduced into the microparticles and beads as model drugs, respectively, and the applicability of these chitosan materials as drug carriers was investigated. As a result, we succeeded in controlling the release of the internal drug in the microparticles by adding a calcium carbonate shell, and in the beads by controlling the concentration conditions during preparation.

研究分野：微粒子、多糖、吸着、界面科学

キーワード：キトサン バイオマス 薬物担体 pH応答性 コロイド 微粒子 ビーズ 有機無機ハイブリッド

1. 研究開始当初の背景

キトサンはエビ・カニなどの甲殻類の外骨格を構成するキチンから得られる天然由来高分子であり、近年はセルロースに次ぐ天然多糖材料として注目されている。キトサンは分子構造内にアミノ基とヒドロキシ基を同時に有しており、様々な機能を付与できるのではないかと期待されている。しかし、キトサン自体が酸にしか溶解しないなどの扱いにくさを持っているため、材料としての展開は進んでいなかった。これまでに実施されていたキトサンを材料として扱う研究としては、ファイバー状に加工して創傷被覆材として用いるものや、化学反応で官能基を追加し吸着剤として用いるものなどが報告されている程度である。

本研究では、キトサンをコア粒子とし、その表面に炭酸カルシウムを析出させた、コアシェル型有機無機ハイブリッド粒子をキトサン材料の新しい形態として提案している(図1)。この粒子は「制御された内部構造」を有するという点から、キトサン材料として極めて新奇な形態である。加えて、構成成分の全てが環境調和・生体調和成分であるため、新たな構造のマイクロカプセルとしての可能性を秘めている。

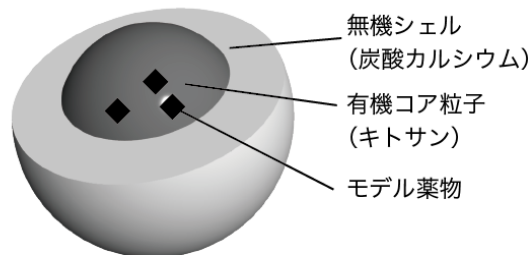


図1 有機無機コアシェル粒子のカットモデル

2. 研究の目的

本研究の最終目標は、天然高分子をコアとし無機ミネラルをシェルとする環境調和型複合微粒子の構造の完全な制御方法の確立と、刺激応答性コアシェル型微粒子としての応用検討である。そのために、次の3つの目的を掲げて研究を進める。

- ①炭酸カルシウムの自発析出シェル形成におけるバインダー高分子の効果の解明
- ②炭酸カルシウムシェルの結晶構造と薬物担体としての薬物放出特性の関係検討
- ③キトサンコア粒子の粒径制御と表面・内部の構造制御

3. 研究の方法

これまでの研究成果により、キトサンコア粒子の作製方法および炭酸カルシウムのシェル形成の基本的な方法に関しては、確立できている。その成果を踏まえ、本申請の期間内には研究目的に記載した三項目(①~③)に関して研究を進める。

(1) 令和3年度の研究計画

初年度はこれまでの研究成果で得られた知見を拡充していくことを目指す。現時点では、球状キトサンコア粒子を作製する手順とコア粒子表面に炭酸カルシウムを自発析出させ、コアシェル型複合粒子とする手順とが確立できている。

①炭酸カルシウムの自発析出におけるバインダー高分子の効果の解明

これまでの研究成果における炭酸カルシウムシェルの自発析出形成の際には、キトサン粒子表面と炭酸カルシウムとの間を取り持つための成分(バインダー)として高分子電解質であるポリアクリル酸を添加していた。加える高分子の種類を変えることで、得られる無機シェルの結晶構造が制御できるため、本研究では生分解性のポリペプチド(ポリグルタミン酸など)をバインダーとして自発析出を試み、完全生分解性コアシェル粒子を作製する。そして得られたシェルの結晶構造をX線回折によって評価する。

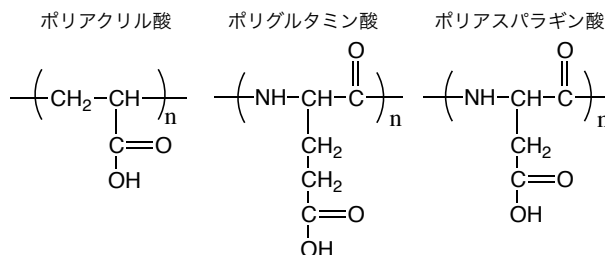


図2 用いる予定のバインダー高分子

(2) 令和4年度以降の研究計画

2年目以降は、初年度に作製したシェルの結晶構造の異なるコアシェル粒子を用い、薬物担体としての応用検討を中心として実施する。

②炭酸カルシウムシェルの構造とマイクロカプセルとしての薬物放出特性の関係検討

炭酸カルシウムシェルの溶解性の pH 依存性が薬物担体として用いる際のトリガーとして利用できることがわかっている。上記①で炭酸カルシウムシェルの結晶構造を制御したコアシェル粒子の内部に低分子モデル薬物を含浸させておき、それらからの薬物放出特性を評価する。シェルの結晶構造の違いが放出特性に影響を及ぼす結果も得られ始めているため、薬物放出制御の新しい仕組みを提案できると考えている。また昨年より、タンパク質を内包させる試みにも取り組んでおり、成立すれば新規薬剤ジャンルの構築に貢献できる。

③キトサンコア微粒子の粒径制御

これまでに作製していたキトサンコア粒子の粒径は数十マイクロメートルであった。③では作製可能な粒径の範囲を広げることを目指す。コアシェル複合粒子を血液中で DDS 材料として用いるならば粒径を 100 ナノメートル以下に収める必要がある。また農業用薬物担持材料などとして環境中で用いるならば、取扱いの簡便さを考えて、ミリメートルスケール以上である必要がある。したがって、粒径範囲の大幅な拡大は応用可能性を広げる意味で重要である。既にミリメートルスケールを想定した予備的実験はスタートしており、より系統的な検討を計画している。

4. 研究成果

(1) マイクロメートルスケールのキトサン微粒子

①マイクロメートルスケールのキトサン微粒子の調製法が大きく進展した。これまで作っていた手順に工夫を加え、1 回の手順で調製することのできる微粒子量を数倍にまで増加させることに成功した。これは今後の検討を拡充していく上で極めて重要な成果である。今後、粒子調製時の容器サイズをスケールアップしていくことで、更なる大容量調製が可能であると考えられる。

②マイクロメートルスケールのキトサン微粒子表面に炭酸カルシウムの層を付与することに成功した。これにより新規な有機・無機コアシェル微粒子材料とすることに成功した。炭酸カルシウムのシェル層を付与した後も微粒子は球形を保っており、均一な厚みを有するシェル層が構築できたと言える。このコアシェル構造はマイクロカプセルとしての利用に向けて、検討を続けていくべきと考える。

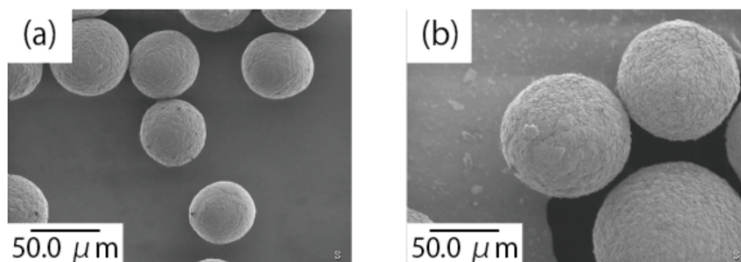


図2 得られた微粒子の SEM 写真 左図:キトサン微粒子、右図:コアシェル微粒子

③キトサン微粒子の表面にシリカコロイドを付着させることに成功した。また、金属金をシェルとすることにも成功した。これらは新規な有機無機コアシェル微粒子の成分構成であり、新しい利用方法の創出につながると考えている。これまでの成果として、炭酸カルシウムのようなイオン性結晶、シリカコロイドという共有結合物質、そして金属というように様々な種類の無機構造物をシェルとすることができた。

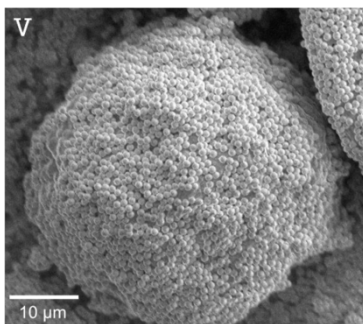


図3 シリカコロイドをシェルとしたキトサン微粒子

(2) ミリスケールのキトサンビーズ

①ミリスケールのキトサンビーズの系においては、キトサンビーズ調製時の条件確立に注力し、球形ビーズを安定して形成可能な濃度条件などを整理することに成功した。

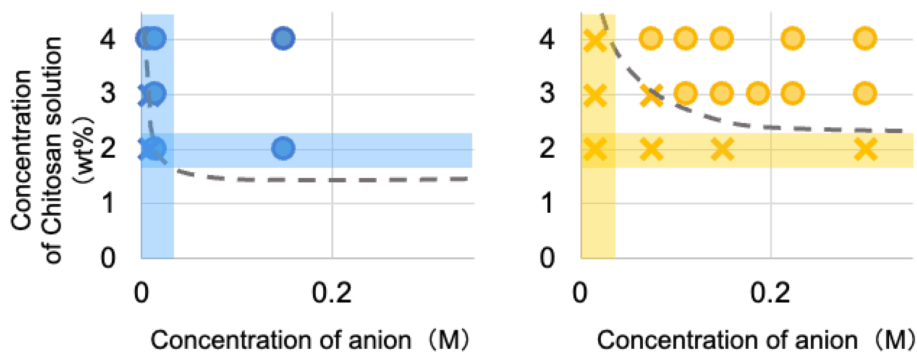


図4 キトサンビーズを調製可能な濃度範囲 左:TPPNa、右:クエン酸 Na

②ミリスケールビーズの内部にタンパク質を封入することに成功し、ペプチド・タンパク質系薬剤の担体としての活用に向けた検討ができた。タンパク質の放出は、弱酸性においてビーズの崩壊とともに行われていた。また、中性～アルカリ性において放出はなされなかった。この研究で得られたタンパク質内包キトサンビーズは、その放出挙動に pH 応答を示しており、新規な刺激応答性材料として期待できる。特に、消化管内での利用を想定した場合、新規薬物運搬材料の創出が期待できる。

③ミリスケールビーズの系で崩壊特性をコントロールするため、キトサンにデンプンをブレンドすることを発案し、ビーズの pH 応答崩壊特性をコントロールすることに成功した。用いるデンプンとして馬鈴薯由来のものとうもろこし由来のものを選び、比較したところ、崩壊特性に差がみられた。これはそれぞれのデンプンの糊化特性の違いに由来するものではないかと考えた。またデンプンブレンドによってビーズの表面構造に影響が生じることが明らかとなった。この現象とタンパク質放出との関連性を調査する必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

| | |
|--|-------------------|
| 1. 著者名 佐藤彩香, 谷本智史 | 4. 巻 28 |
| 2. 論文標題 自発還元反応を利用したキトサン/Au複合コアシェル微粒子の水中での調製 | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 キチン・キトサン研究 | 6. 最初と最後の頁 5-9 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|------------------|
| 1. 著者名 Satoshi Tanimoto | 4. 巻 25 |
| 2. 論文標題 Biom mineralization-inspired preparation of chitosan microparticles with inorganic shells | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Glycoforum | 6. 最初と最後の頁 A4 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.32285/glycoforum.25A4 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------|
| 1. 著者名 谷本智史 | 4. 巻 25 |
| 2. 論文標題 海洋バイオマス「キトサン」のバイオミネラリゼーションに做った有機無機複合コアシェル微粒子化 | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Glycoforum | 6. 最初と最後の頁 A4J |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.32285/glycoforum.25A4J | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 谷本智史, 森田匠海, 金岡鐘局, 安楽誠 |
| 2. 発表標題 多価アニオンを架橋剤として用いたキトサンビーズの調製とpH応答タンパク運搬体としての応用検討 |
| 3. 学会等名 第73回高分子学会年次大会 |
| 4. 発表年 2024年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 森田匠海、金岡鐘局、谷本智史 |
| 2. 発表標題 タンパク質担持体としてのキトサン/デンブンプレンドビーズの作製およびpH応答評価 |
| 3. 学会等名 第73回高分子学会年次大会 |
| 4. 発表年 2024年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 森田匠海、石場友梨子、大羽輝、金岡鐘局、谷本智史 |
| 2. 発表標題 キトサン/デンブンプレンドビーズの調製とタンパク質担持体としてのpH応答評価 |
| 3. 学会等名 第37回日本キチン・キトサン学会大会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 谷本智史、森田匠海、金岡鐘局、安楽誠 |
| 2. 発表標題 イオン架橋によって調製したキトサンビーズの特異的pH応答崩壊とタンパク質運搬体としての応用検討 |
| 3. 学会等名 第37回日本キチン・キトサン学会大会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 森田匠海、金岡鐘局、谷本智史 |
| 2. 発表標題 キトサン/デンブンプレンドビーズの調製とタンパク質担持体としてのpH応答評価 |
| 3. 学会等名 第72回高分子討論会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 森田匠海、大羽輝、石場友梨子、金岡鐘局、谷本智史 |
| 2. 発表標題 pH応答タンパク質運搬体としてのキトサンビーズの調製と放出挙動評価 |
| 3. 学会等名 第72回高分子学会年次大会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 谷本智史、金岡鐘局 |
| 2. 発表標題 無機シェルを有するキトサンマイクロ微粒子の調製と薬物担体としての応用検討 |
| 3. 学会等名 第72回高分子学会年次大会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 谷本智史、大羽輝、石場友梨子、金岡鐘局 |
| 2. 発表標題 pH応答タンパク質運搬体としてのキトサンビーズの調製と放出挙動評価 |
| 3. 学会等名 第71回高分子討論会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 谷本智史、大羽輝、石場友梨子、金岡鐘局 |
| 2. 発表標題 pH応答タンパク質運搬体としてのキトサンビーズ調製法の基礎的検討 |
| 3. 学会等名 第 36 回 日本キチン・キトサン学会 大会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Satoshi Tanimoto |
| 2. 発表標題 Biom mineralization-inspired preparation of chitosan/calcium carbonate composite core-shell microparticles for drug carrier |
| 3. 学会等名 The 8th International Symposium on Metallomics (ISM-8) (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 谷本智史 |
| 2. 発表標題 キトサン/炭酸カルシウム複合コアシェル型微粒子のバイオミネラリゼーションに倣った調製と pH 応答薬物担体としての検討 |
| 3. 学会等名 第35回日本キチン・キトサン学会大会 (招待講演) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 谷本智史、西井泉賀、金岡鐘局 |
| 2. 発表標題 バイオミネラリゼーションに倣ったキトサン/炭酸カルシウム複合コアシェル型微粒子の調製と薬物担体としての速度論的検討 |
| 3. 学会等名 第72回コロイドおよび界面化学討論会 |
| 4. 発表年 2021年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|------------------------------|-----------------|
| 1. 著者名 執筆者：58名、技術情報協会 | 4. 発行年 2023年 |
| 2. 出版社 技術情報協会 | 5. 総ページ数 576 |
| 3. 書名 造粒プロセスの最適化と設計・操作事例集 | |

〔産業財産権〕

〔その他〕

2021研究紹介
<https://youtu.be/R82WAF6uPVo>

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|