

## 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 5 月 16 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22790047

研究課題名（和文）電気応答マイクロカプセルを利用したインスリン放出制御

研究課題名（英文）Preparation of Microcapsules for Electro-stimuli Release of Insulin

## 研究代表者

高橋 成周（TAKAHASHI SHIGEHIRO）

東北大学・大学院薬学研究科・助教

研究者番号：90511022

研究成果の概要（和文）：2,2,6,6-テトラメチルピペリジン-1-オキシル(TEMPO)を含有する交互累積膜マイクロカプセルを作製できることがわかった。また、作製した電気応答マイクロカプセルは電位の印加により部分的に崩壊することが示された。これは TEMPO が酸化されて正電荷を持つことで、ポリカチオンとの静電的反発によって交互累積膜マイクロカプセルが崩壊したためと推察される。

研究成果の概要（英文）：We have successfully prepared microcapsules composed of Layer by Layer thin films containing 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl(TEMPO). It was found that the microcapsules have disintegrated in part at +0.7 V vs. Ag/AgCl. This result suggests that the decomposition of the microcapsules was caused by electric repulsion which originates from the positively charged oxidized TEMPO.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,200,000	660,000	2,860,000

研究分野：物理系薬学

科研費の分科・細目：薬学・物理系薬学

キーワード：交互累積膜、マイクロカプセル

## 1. 研究開始当初の背景

マイクロおよびナノエレクトロメカニカルシステム(NEMS)を利用した薬物送達システム(DDS)は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ことから、薬物の過剰投与および副作用を抑制して、より安全に、効果的に薬物投与が可能となる。また、薬物投与を必要としないため、一日に複数回注射剤の投与を強いられる患者の負担を劇的に改善することが期待できる。R. Langer らはシリコンウェーハ上に数多くの薬物貯蔵庫を作り金薄膜のアノードで貯

蔵庫を密閉し、プログラムされた回路を組み込むことで電位の印加による金薄膜の溶解を自在に制御して薬物を放出する方法を提唱した(Nature, 397, 335-338(1999))。現在、この手法は in vivo の検討が行われており実用化へ向けて様々な検討が行われている(M. J. Cima et al., J.Controlled Release, 106, 138-145 (2005)など)。しかし、回路などを組み込むために必然的に装置が大きくなり外科的な手術が必要となることや、複雑なシステムを搭載しているため非常に高価といった問題がある。このため小型化可能で簡素で安価な

NEMS による DDS の開発は極めて重要である。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は電気応答カプセルを利用することで電位変化によってインスリン放出を制御するマイクロエレクトロメカニカルシステム(MEMS)を構築することを目的としている。また、本法を利用した人工膵臓によるインスリンを放出するシステムを提案することにより、生活習慣病の一つである糖尿病疾患への適用について検討を行う。

## 3. 研究の方法

TEMPO 修飾ポリアクリル酸と様々なポリカチオンとの交互累積膜の作製を行い電位印加による崩壊特製の評価を水晶振動子マイクロバランス(QCM)法および紫外可視分光法(UV)を用いて行った。また、原子間力顕微鏡を用いて崩壊前後の膜の表面の観察して物性を調査した。次に、作製した TEMPO 修飾ポリアニオンとポリカチオンを用いて炭酸カルシウム粒子に交互累積膜を積層した。その後、EDTA で炭酸カルシウムを除去し目的の電気応答マイクロカプセルの作製を試みた。作製したカプセルは原子間力顕微鏡(AFM)および蛍光顕微鏡で確認を行った。

## 4. 研究成果

### (1)

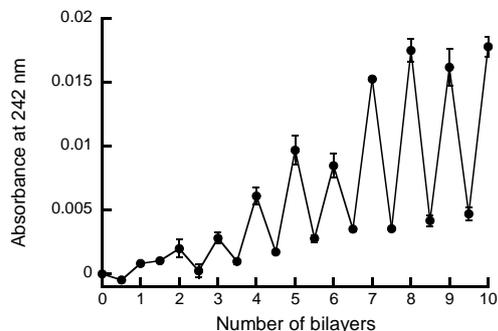


Fig.1 (TEMPO-PAA/PEI)<sub>n</sub>/TEMPO-PAA 交互累積膜の積層操作と 242 nm における吸光度の関係

TEMPO 修飾ポリアクリル酸(TEMPO-PAA)とポリアリルイミン(PEI)の交互累積膜の作製を試みた。石英板に (TEMPO-PAA/PEI)<sub>9</sub>/TEMPO-PAA を積層したところ積層操作に依存して 240 nm の増加がみられたことから交互累積膜の積層が確認できた(fig.1)。次に、作製した交互累積膜に電位を印加したときの電極応答および共振周波数変化の関係を調べた。Fig.2 は (TEMPO-PAA/PEI)<sub>4</sub>/TEMPO-PAA の交互累積膜に電位を印加したときのサイクリックボルタモグラムの示している。この結果から、掃引回数が増加すると TEMPO の酸化応答が減少することがわかった。また、Fig.3 はこのときの EQCM 図を示している。掃引操作を繰

り返すと共振周波数が増加が観察された。これらの結果から電位の印加によって TEMPO-PAA/PEI 交互累積膜の崩壊が示唆された。

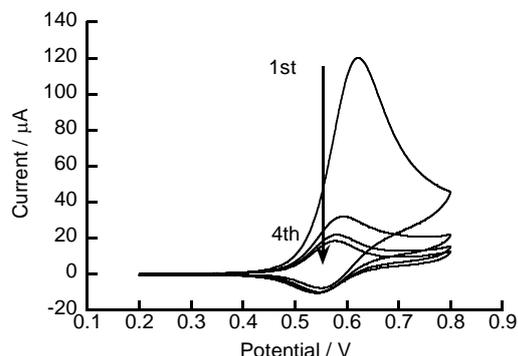


Fig.2 (TEMPO-PAA/PEI)<sub>4</sub>/TEMPO-PAA 交互累積膜の CV 図

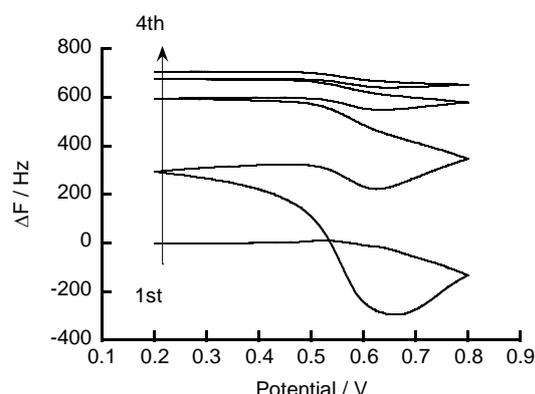


Fig.3 (TEMPO-PAA/PEI)<sub>4</sub>/TEMPO-PAA 交互累積膜の EQCM 図

膜の作製と崩壊の様子を調べるために、QCM 法で膜の作製を行って、その後 +0.7 V の電位を印加して膜の崩壊について検討を行った。Fig.4 は、(TEMPO-PAA/PEI)<sub>4</sub>/TEMPO-PAA の作製と +0.7 V の電位を印加したときの QCM 図を示している。この結果から、電位を印加することで大きな共振周波数の増加が確認された。また、交互累積膜の崩壊率はおおよそ 70% であることがわかった。これらの結果から、TEMPO が酸化されることによって膜が崩壊したことが示唆された。

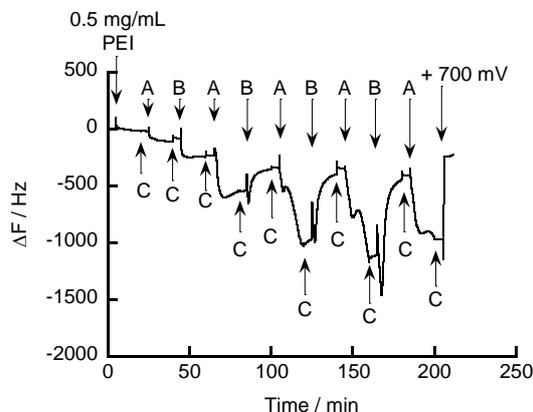


Fig.4 PEI/TEMPO-PAA 交互累積膜の調製と電位印加における QCM 図 (A: TEMPO-PAA, B: PEI, C: HEPES buffer)

次に、紫外可視分光法を用いて膜の崩壊について検討を行った。材料としてフルオレセインイソチオシアネート修飾ポリエチレンイミン(FITC-PEI)と TEMPO-PAA を用いて、ITO 電極上に FITC-PEI/TEMPO-PAA 交互累積膜を作製して、+0.2 - +1.0 V の範囲で電位走査を複数回行った後の吸光度変化を調べた。Fig.5 は(TEMPO-PAA/FITC-PEI)<sub>9</sub>/TEMPO-PAA の電解前後の紫外可視吸収スペクトルを示している。この結果から、電解によって大きな吸光度の減少が確認できた。また、500 nm の吸光度の変化から崩壊率はおよそ 60%であった。

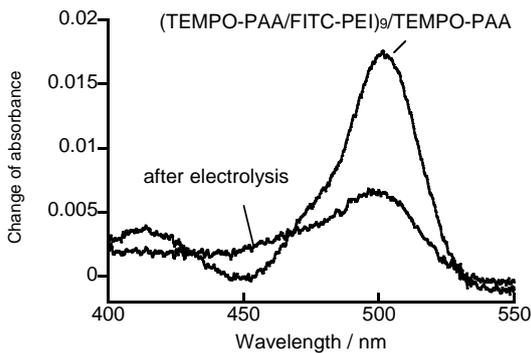


Fig.5 電解前後のITO電極上の(TEMPO-PAA/FITC-PEI)<sub>9</sub>/TEMPO-PAA交互累積膜のUVスペクトル

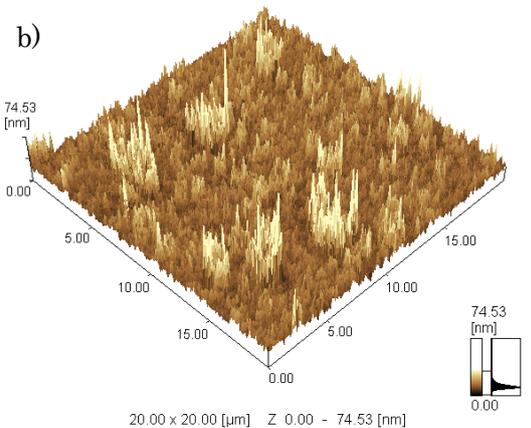
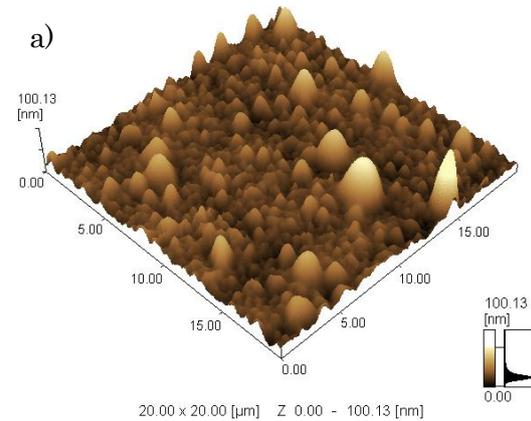


Fig.6 電解前(a)と電解後(b)の AFM 図

作製した電気応答薄膜表面を調べるために AFM で観察を行った。Fig.6 は(TEMPO-PAA/PEI)<sub>9</sub>/TEMPO-PAA の電解前後の AFM 画像を示している。電解前後の膜表面を比較すると電解前と比較して電解後の粗さが見られた。これは電解によって膜の表面が剥がれたためと推察される。さらに、電解前後の(TEMPO-PAA/PEI)<sub>9</sub>/TEMPO-PAA 交互累積膜の断面から膜厚を調べた。その結果、崩壊前と後で、それぞれ  $22.20 \pm 2.50$  nm および  $9.16 \pm 3.26$  nm ( $n = 12$ )であった。この結果から崩壊率はおよそ 60%であることがわかった。これは EQCM 法および紫外可視分光法によって求められた結果とおおよそ一致することから、TEMPO-PAA/PEI 交互累積膜が電気応答によって崩壊することが示された。

(2)

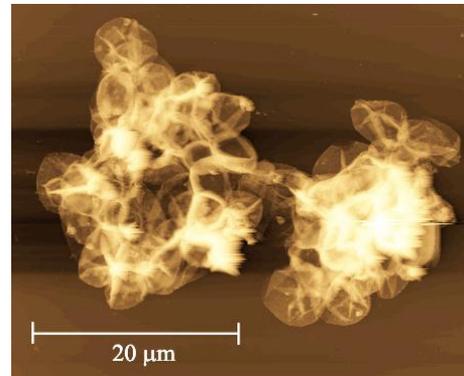


Fig.7 (TEMPO-PAA/PAH)<sub>4</sub> 交互累積膜マイクロカプセルの AFM 図

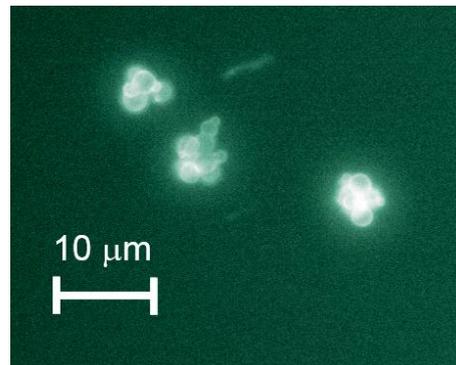


Fig.8 (TEMPO-PAA/PAH)<sub>4</sub> 交互累積膜マイクロカプセルの蛍光顕微鏡図

TEMPO-PAA とポリアリルアミン(PAH)を用いて炭酸カルシウム粒子に交互累積膜を作製し、その後、EDTA で核を除去することで電気応答交互累積膜マイクロカプセルの作製を試みた。Fig.7 は(PAH/TEMPO-PAA)<sub>4</sub> 交互累積膜マイクロカプセルの AFM 画像を示している。この結果から、およそ  $5 \mu\text{m}$  のマイクロカプセルができていることが確認できた。断面図から判断すると(PAH/TEMPO-PAA)<sub>4</sub> の層の厚さはおよそ  $40 \text{ nm}$  であることがわかった。

また、FITC 修飾 PAH(FITC-PAH)を用いて (FITC-PAH/TEMPO-PAA)<sub>4</sub> 交互累積膜マイクロカプセルを作製して蛍光顕微鏡にて観察を行った(fig.8)。この画像を見るとおよそ 3-5 μm のマイクロカプセルが観察できた。これらの結果から、電気応答マイクロカプセルが作製できることがわかった。

次に、電気応答によるマイクロカプセルの崩壊を調べるために金薄膜を蒸着した水晶振動子上にマイクロカプセルを滴下乾燥させ、電解前後の共振周波数変化について調べた。fig.9 は、カプセルに+0.7 V の電位をしたときの共振周波数変化を示している。この結果から、カプセルの固定化量は電解の前後でそれぞれ、78.3 μg および 64.4 μg でおよそ 20% の崩壊が確認された。

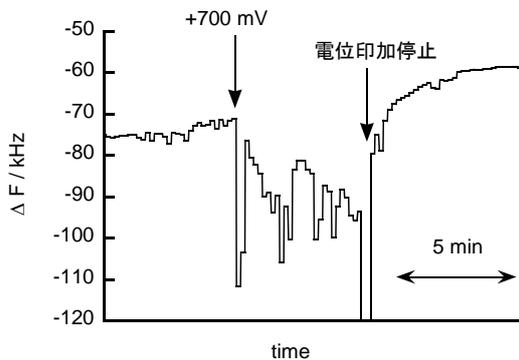


Fig.9 (TEMPO-PAA/PAH)<sub>4</sub>交互累積膜マイクロカプセルの電気応答による共振周波数変化

## 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 6 件)

1. 高橋成周、交互累積膜法を用いた電気応答マイクロカプセルの調製、日本薬学会第 132 年会、2012 年 3 月 30 日、札幌
2. 高橋成周、交互累積膜法を用いた電気応答薄膜の作製と崩壊制御、みちのく分析化学シンポジウム 2011、2011 年 7 月 23 日、米沢
3. 高橋成周、フェロセンボロン酸誘導体の糖類に対する電気化学応答、日本薬学会第 131 年会、2011 年 3 月 29 日、静岡
4. 高橋成周、フェロセンボロン酸の糖およびフェノール類に対する電気化学応答、第 56 回 ポーラログラフィーおよび電気分析化学討論会、2010 年 11 月 6 日、秋田
5. 高橋成周、フェロセンボロン酸のフェノール類に対する電気応答、第 49 回 日本薬学会東北支部大会、2010 年 10 月 24 日、郡山
6. 高橋成周、フェロセンボロン酸の様々な物質に対する応答性、日本分析化学会

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

高橋 成周 (TAKAHASHI SHIGEHIRO)  
 東北大学・大学院薬学研究科・助教  
 研究者番号：90511022

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：