

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24710138

研究課題名(和文) 酵素反応駆動による通電式薬剤投与デバイスの創出

研究課題名(英文) Bionic Transdermal Patch

研究代表者

三宅 丈雄 (Miyake, Takeo)

東北大学・工学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：50551529

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、イオントフォレシスを誘導させる酵素反応駆動型薬剤投与デバイスを提案し、そのための各要素技術や統合技術などの新たなウェットプロセス技術を確立することに取り組んだ。この際、4つの基本計画を掲げ、(1)基本性能の向上、(2)燃料一体型発電デバイスの評価、(3)電気湿布の開発(薬剤溶液と燃料一体型発電デバイスのパッケージング)、(4)電気湿布における皮下組織への薬剤投与の評価、全てにおいて良い成果をあげること成功している。

研究成果の概要(英文)：We report here a transdermal biofuel cell patch that is composed of bioanode fabrics for fructose oxidation, hydrogel tanks containing fructose fuel and chemical compounds (Rhodamine B and ascorbyl glucoside (AG)), O<sub>2</sub>-diffusion biocathode fabrics, and an ion-isolating hydrophobic flame. When the patch is mounted on the mammalian skin, the patch generate the ionic current of ca.140 microampere cm<sup>-2</sup> between the anode and the cathode across the skin. This ion current could be controlled by setting up the external resistance. The applied current induced a water flow of ca. 7.7 microliter cm<sup>-2</sup> for 1 h at small current of 5 microampere cm<sup>-2</sup> toward the cathode, and then assisted a chemical administration into the skin (ex. AG delivery of 20 microgram cm<sup>-2</sup> within the epidermis and 2.5 microgram cm<sup>-2</sup> within the dermis) at the anodic side.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学、マイクロ・ナノデバイス

キーワード：マイクロ・ナノデバイス ナノバイオ バイオインターフェイス

## 1. 研究開始当初の背景

表皮を經由して薬剤を投与する経皮吸収パッチ(transdermal patch)の開発は、世界中で急速に取り組みられており、2015年での市場予測は320億ドルを超える大きな新市場になると言われている。経皮を介して薬剤を投与するメリットは、初回通過効果の回避(肝臓による吸収分解)や副作用の低減に加え、従来の経口剤に代わる新たな薬剤が投与可能となる点である。しかしながら、外部から薬剤を投与する場合、皮膚のバリア層を如何にして通過させ、真皮組織の下部に存在する血管内に吸収させるかが技術的課題と言える。

現在開発が進められているのは、a.湿布タイプ、b.イオントフォレシス促進タイプ、c.マイクロニードルタイプの3つである。湿布タイプでは、大半の薬剤が表皮にトラップされ、吸収量は比較的少ない。マイクロニードルタイプでは、生分解性ポリマー型のマイクロニードルアレイを使い、膜厚20~30マイクロメートル程度の表皮の壁を物理的に突き破り、ニードル先端からの分解と共に薬剤を真皮に放出させるものである。これらのタイプと比較して、イオントフォレシスは、低侵襲・高効率な薬剤投与の両立が見込めるが、電源の制約(物理的大きさや薬剤との絶縁)、人体への安全性の考慮から実用化に至った例は少ないのが現状である。こうした背景の中で、申請者は既に実用化が進んでいる湿布タイプの経皮吸収パッチに、我々独自の技術を組み合わせることで、オール有機物で構成されるエネルギー自立型・薬剤投与デバイス“電気湿布”を実現させることが本研究のねらいである。

## 2. 研究の目的

世界的人口増加や新たな基幹産業の創出を見据えた社会的背景から、個人を対象にした携帯型治療デバイスの必要性が高まりつつある。申請者は、安全性や信頼性の観点から、従来型ドライデバイスに代わる革新的なウェットデバイスを創出したいと考えており、今回その具現化の1つとしてイオントフォレシスを誘導させる酵素反応駆動型薬剤投与デバイスを提案し、そのための各要素技術や統合技術などの新たなウェットプロセス技術を確立することに取り組んだ。

## 3. 研究の方法

### (1)基本性能の向上

ハイドロゲル表面への導電性高分子配線の印刷

ブレインマシン・インターフェイスを始めとする生体環境に適した電極材料(柔軟性・伸縮性・高導電性)は、近年必要不可欠な材料と言える。柔軟な支持基板であるゴム状フィルムの上に薄膜金属を堆積することで柔軟性と導電性の両立は為されているが、電極材料自体の剛性により伸縮性の実現には至らない。導電性高分子は、このような課題を

克服する可能性を持つが、従来の電極は重合する金属電極が残っていたため、伸縮性の実現には至らなかった。申請者の手法は、重合した電極から導電性高分子をハイドロゲルシートに転写する技術であり、ハイドロゲルシートと導電性高分子のみで構成される。従って、ハイドロゲルシートが導電性高分子と“一緒に動く”というユニークな特徴を持たせることに成功した。本申請では、重合時にカーボンナノチューブと一緒に混ぜることで、電極の脆さと導電率の改善を試みる。

### 貼るタイプの酵素フィルム

酵素は、金属触媒と比較すると、触媒能の高さや反応特異性といった類い稀な性能を有するが、構造の脆弱性により、電極上に配置する酵素の多くは失活し、また固定化プロセスの制限(有機溶媒や真空プロセス)といった本質的な課題を残していた。このような課題の克服が、電極性能を改善するカギとされている。申請者は、新規ナノ構造体(carbon nanotube forest)に酵素を包含する新しい原理の酵素固定法を開発しており、その性能は従来電極を凌駕する。本申請では、サイズの異なる酵素あるいはメディエーターの修飾など、ナノスケールでの電極エンジニアリングによってさらなる性能の向上を目指す。

### (2)燃料一体型発電デバイスの評価

ハイドロゲル表面に堆積させた導電性高分子配線に、酵素を包含したナノカーボン電極を貼り付け、燃料一体型発電デバイスを作製する。この際の、電圧と電流をポテンショスタットを用いて計測し、性能を評価する。ゲルの乾燥や形状を制御するため、市販の湿布などで使われているプラスチックフィルムを加工する。

### (3)電気湿布の開発(薬剤溶液と燃料一体型発電デバイスのパッケージング)

申請者が提案する電気湿布は、電気化学を基本とするプロセス開発(大型装置が不要)であり、電源一体型(生体環境に適したバイオ燃料発電)を可能にするため、低価格と小型化が実現される。原理は、とてもシンプルである。まず、バイオ燃料を含んだハイドロゲル発電デバイスを皮膚に貼り付けると、皮膚に含まれる電解質によって回路が閉じ、発電が開始される。続いて、発電によって生じた電位差によりドーパント(薬剤)が皮下組織へと浸透する。ここでの電解質は、間質液に多く含まれるナトリウムイオンと塩素イオンであり、これらのイオンの流れが電流となる。ゲルの乾燥や薬剤の流出を防ぐため、プラスチックフィルム等を活用する予定である。また、マイクロ流路を用いた空気バルブを利用することで、溶液の絶縁や隔離をスムーズに行う技術の開発も進める予定である。

### (4)電気湿布における皮下組織への薬剤投

## 与の評価

作製した電気湿布の評価は、in vitro および in vivo 系にて行う。In vivo 系では、「国立大学法人東北大学における動物実験等に関する規定」を遵守して実験をおこなう。今回使用する試薬は、モデル蛍光剤としてローダミンBおよびビタミン剤であるアスコルビン酸グルコシドを用いて実験を行った。また、In vitro 系では、美容整形などで余ったヒト皮膚をフランスの会社から購入して使用する、あるいは、研究用ブタ皮膚を購入して利用した。

## 4. 研究成果

### (1)基本性能の向上

ハイドロゲル表面への導電性高分子配線の印刷

ハイドロゲル表面に電解重合した導電性高分子配線は、物質透過性や柔らかいことに加え、自立したフィルムとして利用できるなどの優れた特性を有しているが、導電性能が低いという問題を抱えていた。そこで、申請者は、電解重合プロセスを2段階にすることで、ITO電極並みの導電性能を有する電極の開発に成功した。これは、1段階目に高密度の導電性高分子を金属配線上に電解重合し、続いて、2段階目の電解重合で導電性高分子の配線パターンをのみをハイドロゲル表面に移し取る手法である。

### 貼るタイプの酵素フィルム

燃料にグルコースを利用するため、カーボンナノチューブ電極にグルコースオキシダーゼ(GOD)を修飾し、電極性能を評価した。一般的に、GODは電極と直接電子伝達のできない生体材料であるため、メディオータ高分子を予め電極に修飾する工夫を行った。その結果、体温(37度)程度で約26 mA/cm<sup>2</sup>の大きな酸化電流を得ることに成功した。この時の電流値を評価した結果、電極に存在するおよそ3万個の酵素の全てがフルに稼働していることが分かった。本成果は、雑誌論文1および多数の学会で報告されている。

### (2)燃料一体型発電デバイスの評価

燃料一体型発電デバイスを作製するため、バイオ燃料を含むハイドロゲルシートと酵素を包含したナノカーボン電極(アノードおよびカソード)を貼り付けた。ここで作製したカーボン電極は、カーボンナノチューブが修飾された導電繊維であり、柔軟で電極サイズを大きくできる。また、皮膚などとも相性の良い材質である。この一体型デバイスの性能を評価した結果、1mW/cm<sup>2</sup>の大きな出力を得た。本成果は、雑誌論文2,3および多数の学会で報告されている。

### (3)電気湿布の開発(薬剤溶液と燃料一体型発電デバイスのパッケージング)

上述した構成要素に加え、PDMS フレームお

よび医療用メディカルテープを用いて、シートタイプの電気湿布を開発した。原理としては、バイオ発電によって電気浸透流を誘発し、イオン(水や薬剤)を皮膚に届ける仕組みである。実際にキャピラリーを使った実験によって、5 μA/cm<sup>2</sup>の電流を1時間印加すると約7.7 μl/cm<sup>2</sup>の水量が移動することがわかった。本シートデバイスの使い方として、顔などのしわ取りパックに応用することが可能となる。ヒトは、おおよそ1時間に2.0 μl/cm<sup>2</sup>ほど乾燥する。従って、本デバイスを局部に1時間ほど貼れば、約3時間は皮膚に潤いを持たせることができると考えられる。

### (4)電気湿布における皮下組織への薬剤投与の評価

上記で作製したデバイスにローダミンB、あるいは、ビタミン誘導体を含ませ、電気を流すことで浸透効果が増すことを確認した。購入した皮膚を用いて、自然拡散(電池オフ)とさまざまな電流(数十μA から mA/cm<sup>2</sup>)を与えた際の試薬の浸透を評価した結果、電流を与えた方がより多くの試薬が浸透することが分かり、さらに、電流値を大きくするほど浸透はより大きくなった。これらの一連の研究は、現在論文投稿に向けて取り組んでいる状況にある。

## 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3件) 全て査読有り

1. Yoshino, S., Miyake, T., Yamada, T., Hata, K., Nishizawa, M. "Molecularly ordered bioelectrocatalytic composite inside a film of aligned carbon nanotubes." *Advanced Energy Materials*, 3, 60-64, 2013.  
DOI: 10.1002/aenm.201200422
2. Miyake, T., Haneda, K., Yoshino, S., Nishizawa, M. "Flexible, layered biofuel cells." *Biosensors & Bioelectronics.*, 40, 45-49, 2013.  
DOI:10.1016/j.bios.2012.05.041
3. Haneda, K., Yoshino, S., Ofuji, T., Miyake, T., Nishizawa, M. "Sheet-shaped biofuel cell constructed from enzyme-modified nanoengineered carbon fabric." *Electrochimica Acta*, 82, 175-178, 2012.  
DOI:10.1016/j.electacta.2012.01.112

[学会発表](計18件)

1. Y. Ogawa, S. Yoshino, K. Kato, T. Magome, T. Yamada, T. Miyake, K. Hata, M. Nishizawa "Self-Powered Sugar Indicator Using CNT-Enzyme Ensemble Film" *PowerMEMS 2013*, Royal Society, London, UK,

- 2013.12.3-6.
2. 三宅文雄, 吉野修平, 小川雄大, 大藤琢矢, 加藤孝一郎, 山田健郎, 畠賢治, 西澤松彦 “ 酵素修飾カーボン繊維を用いたフレキシブルバイオニック電池の開発 ” 第 33 回表面科学学術講演会, つくば国際会議場, 2013.11.26-28.
  3. Y. Ogawa, S. Yoshino, T. Miyake, T. Yamada, K. Hata, M. Nishizawa “ Miniature Biofuel Cells Using Enzyme-Nanotube Ensemble Films ” 7th East Asian Consortium on Biomedical Engineering, National Taiwan University, 2013.11.18 ~ 20.
  4. Y. Ogawa, S. Yoshino, T. Yamada, T. Miyake, K. Hata, M. Nishizawa “ Fabrication of enzymatic power device for sugar monitoring ” 第 30 回 『センサ・マイクロマシンと応用システム』シンポジウム, Sendai, JAPAN, 2013/11/5-7
  5. Y. Ogawa, S. Yoshino, T. Miyake, H. Kaji, M. Nishizawa “ Miniature biofuel cells with self-regulating enzyme-nanotube ensemble film ” International Symposium for the 70th Anniversary of the Tohoku Branch of the Chemical Society of Japan, Sendai international center, Sendai, JAPAN, 2013/9/28-30
  6. S. Yoshino, Y. Ogawa, T. Ohuji, K. Kato, T. Magome, T. Miyake, H. Kaji, M. Nishizawa “ Highly efficient bioelectrocatalytic films using enzyme-Carbon nanotube composite ” International Symposium for the 70th Anniversary of the Tohoku Branch of the Chemical Society of Japan, Sendai international center, Sendai, JAPAN, 2013/9/28-30
  7. T. Miyake, S. Yoshino, T. Yamada, K. Hata, M. Nishizawa “ Ordered enzyme assembly inside carbon nanotube Forest films for electrocal power generation from biofuels in raw grapes ” International Soft Matter Conference 2013, Sapienza Universita di Roma, Rome, Italy, 2013.9.15-19.
  8. 三宅文雄, 馬籠隆博, 吉野修平, 小川雄大, 大藤琢矢, 加藤孝一郎, 西澤松彦 “ 酵素発電システムによる細胞電気走性の制御 ” 第 7 3 回応用物理学会, 愛媛大学, 愛媛県松山市, 2013.9.11-14
  9. 三宅文雄, 吉野修平, 大藤琢矢, 西澤松彦 “ 小型酵素電池と体液発電 ” 第 60 回応用物理学会春季学術講演会, 神奈川工科大学, 2013.3.27-30
  10. S. Yoshino, T. Ohuji, K. Kato, T. Magome, T. Miyake, T. Yamada, K. Hata, M. Nishizawa “ High Efficient bioelectrocatalysis by Ordered Molecular Assembly inside Carbon Nanotube Forests ” Seventh International conference on Molecular Electronics and Bioelectronics (M&BE7), Fukuoka International Congress Center, Fukuoka, JAPAN, 2013/3/17-19.
  11. T. Miyake, S. Yoshino, T. Ofuji, T. Magome, K. Kato, M. Nishizawa “ Electrical Power Generation from Biochemical Energy Using Laminar Biofuel Cells ” Power MEMS 2012, Georgia Tech Hotel and Conference Center, Atlanta, USA, 2012.12.2-5
  12. M. Sasaki, D. Takahashi, K. Nagamine, T. Miyake, H. Kaji, M. Nishizawa, “Conducting polymer microelectrode anchored to hydrogel films and its electrical applications” Sendai Symposium on Analytical Sciences 2012, 2012.11.9-10
  13. T. Miyake, S. Yoshino, T. Ohuji, H.Kaji, M. Nishizawa “ ENZYME-BASED BIOFUEL CELL DESIGNED FOR DIRECT POWER GENERATION FROM BIOFLUIDS IN LIVING ORGANISMS ” Micro-TAS 2012, Okinawa Convention Center, Okinawa, Japan, 2012.10.29-11.1
  14. S. Yoshino, T. Miyake, H.Kaji, T. Yamada, K. Hata and M. Nishizawa “ Ordered Molecular Assembly inside Carbon Nanotube Forest films for High-Efficiency Enzymatic Biofuel cell ” Micro-TAS 2012, Okinawa Convention Center, Okinawa, Japan, 2012.10.29-11.1.
  15. T. Yamada, S. Yoshino, T. Ohuji, T. Miyake, H. Kaji, M. Nishizawa “ Flexible biofuel cell constructed from enzyme-modified nanoengineered carbon fabric ” Pacific RIM Meeting on electrochemica and solid statel, Hawaii Convention Center and the Hilton Hawaiian Village Honolulu, HI 96815 United States of America, 2012.10.7-13
  16. S. Yoshino, T. Miyake, T. Yamada, K. Hata and M. Nishizawa “ High Efficient Glucose Oxidation by Ordered Molecular Assembly inside Carbon Nanotube Forests ” Pacific RIM Meeting on electrochemica and solid statel, Hawaii Convention Center and the Hilton Hawaiian Village Honolulu, HI 96815 United States of America, 2012.10.7-13
  17. D. Takahashi, M. Sasaki, R. Suzuki, K. Nagamine, T. Miyake and M. Nishizawa “ PEDOT Microelectrodes

Anchored to Hydrogel for Efficient Cellular Electrical Stimulation ” Pacific RIM Meeting on electrochemical and solid state, Hawaii Convention Center and the Hilton Hawaiian Village Honolulu, HI 96815 United States of America, 2012.10.7-13

18. 三宅丈雄, 吉野修平, 大藤琢矢, 西澤松彦 “ 生体/食物からの直接バイオ発電システムの開発, 第73回応用物理学会, 愛媛大学, 愛媛県松山市, 2012.9.11-14

〔図書〕(計4件)

1. Miyake, T., Nishizawa, M., Miniature Enzymatic Fuel Cells (ch. 17), in Enzymatic Fuel Cells: From Fundamentals to Applications: (eds P. Atanassov, G. Johnson, H. Luckarift), Wiley-VCH, Weinheim, Germany, May (2014) in press.
2. 三宅丈雄, 西澤松彦, “ 酵素を使ったバイオ発電の最新動向 ”電気学会論文誌E (センサ・マイクロマシン部門誌)、vol.133, pp.242-247, 2013 .
3. 三宅丈雄, 西澤松彦, “ 電池マテリアルとして期待される「発電酵素」～生体や環境に優しい酵素電池の最前線～ ” マテリアルステージ、vol.17, pp.20-23, 2012 .
4. 三宅丈雄, 西澤松彦, “ 小型酵素電池の最前線 ”化学と工業 ,vol.65-6, pp.451-453, 2012 .

6 . 研究組織

(1)研究代表者

三宅 丈雄 (MIYAKE, TAKEO)  
東北大学・大学院工学研究科・助教  
研究者番号 : 50551529

(2)研究分担者 なし