

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 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：24790040

研究課題名(和文) 高密度集積マイクロカプセルを用いた電気応答による薬物放出制御

研究課題名(英文) Electrochemical decomposition of layer-by-layer thin films containig microcapsule

研究代表者

高橋 成周 (TAKAHASHI, SHIGEHIRO)

東北大学・薬学研究科(研究院)・助教

研究者番号：90511022

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：蛍光マーカーを修飾したウシ血清アルブミンを封入した電気応答交互累積膜マイクロカプセルを調製することができた。蛍光顕微鏡および走査型電子顕微鏡で観察するとおよそ5-10マイクロメートルのマイクロカプセルが観察された。また、作製したマイクロカプセルを静電的相互作用によって電極表面に固定化した後に、+0.7 Vの電位を印加すると電極表面のマイクロカプセルがほぼ溶出することがわかった。

研究成果の概要(英文)：We have successfully prepared layer-by-layer microcapsules containing FITC-BSA. The morphology of microcapsules was analyzed by scanning electron microscopy. The sizes of microcapsules were found to be 5-10 micrometer. The electrode potential of the microcapsules-coated Au resonator was applied to +0.7 V for 5 min. The change of frequency in a quartz crystal microbalance increased after electrolysis, suggesting the microcapsules were decomposed by electrolysis.

研究分野：薬学

科研費の分科・細目：物理系薬学

キーワード：交互累積膜 マイクロカプセル 電気化学

### 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。これまで報告された組み込み型のマイクロチップを用いた DDS は、磁場によって放出を制御している M.Chao ら(Lab Chip, 11, 3072-3080(2011))や電気による熱を利用した P. Y. Li ら(J.Microelectromech. sys., 18, 6, (2009))などが報告されている。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

本研究は、電気応答マイクロカプセルを利用して電位変化によって薬物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)の構築することを目的としている。さらに、交互累積膜法を利用して電気応答マイクロカプセルの高密度集積化を目指す。また、カプセル材料に様々な生体高分子や機能性を利用して基板表面に固定化することで即効性および徐方性を有する薬物放出システムを構築する。

### 3. 研究の方法

フルオレセインイソチオシアネートを修飾したウシ血清アルブミン(FITC-BSA)を作製し、TEMPO 修飾ポリアクリル酸およびポリエチレンイミンを用いて作製した交互累積膜マイクロカプセルに封入した。さらに作製したマイクロカプセルを電極表面に固定化して電気応答による放出を試みた。

### 4. 研究成果

炭酸アンモニウム溶液、塩化カルシウム溶液、ポリスチレンスルホン酸(PSS)溶液、FITC-BSA 溶液を混合攪拌することで、FITC-BSA を取り込んだ炭酸カルシウム粒子の作製を試みた。取り込みの確認は、蛍光顕微鏡を用いて行った。図 1 は、作製した FITC-BSA 含有炭酸カルシウム粒子の光学顕微鏡および蛍光顕微鏡画像を示している。FITC 由来の蛍光が観察されたことから、およそ 5  $\mu\text{m}$  程度の FITC-BSA が封入された炭酸カルシウム粒子の生成が確認できた。

作製した FITC-BSA 封入炭酸カルシウム粒子上に TEMPO-PAA および PEI 溶液で交互に処理することで粒子上に(TEMPO-PAA/PEI)<sub>4</sub> 交互累積膜を作製した。EDTA で処理した後に蛍光

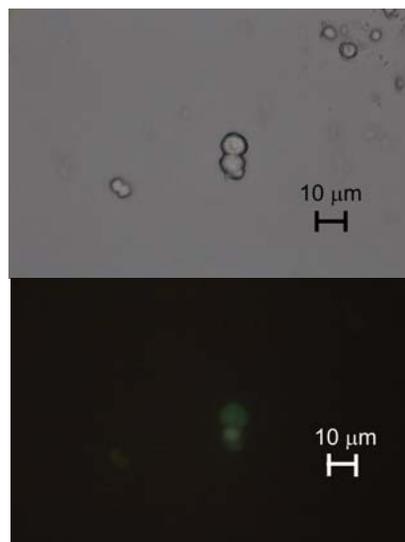


図 1 FITC-BSA 封入炭酸カルシウム粒子の光学顕微鏡および蛍光顕微鏡画像。

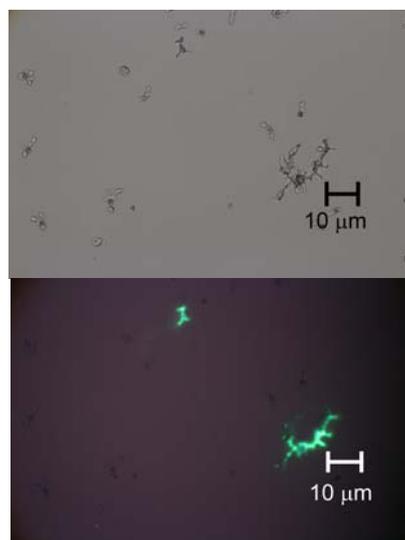


図 2 FITC-BSA 含有(TEMPO-PAA/PEI)<sub>4</sub> 交互累積膜マイクロカプセルの光学顕微鏡および蛍光顕微鏡画像。

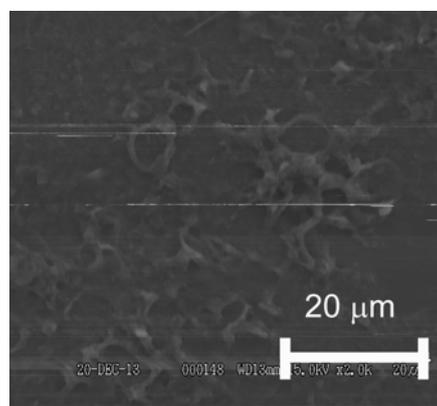


図 3 FITC-BSA 含有(TEMPO-PAA/PEI)<sub>4</sub> 交互累積膜マイクロカプセルの SEM 画像

顕微鏡で観察すると蛍光を示す凝集体が見られた(図 2)。詳細な様子を調べるために走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて作製したマイクロカプセルについて観察した(図 3)。しかし、マイクロカプセルは観察されず(TEMPO-PAA/PEI)<sub>4</sub> 交互累積膜では FITC-BSA ミクロカプセルは作製できないことがわかった。これは(TEMPO-PAA/PEI)<sub>4</sub> の強度が弱いためと推察される。

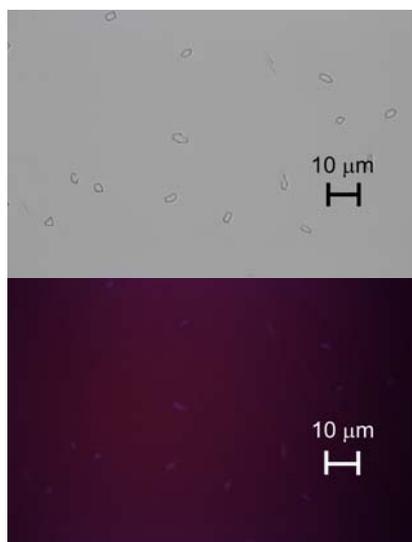


図 4 FITC-BSA 含有 (PSS/PEI)<sub>2</sub>/(TEMPO-PAA/PEI)<sub>4</sub> 交互累積膜マイクロカプセルの光学顕微鏡および蛍光顕微鏡画像。

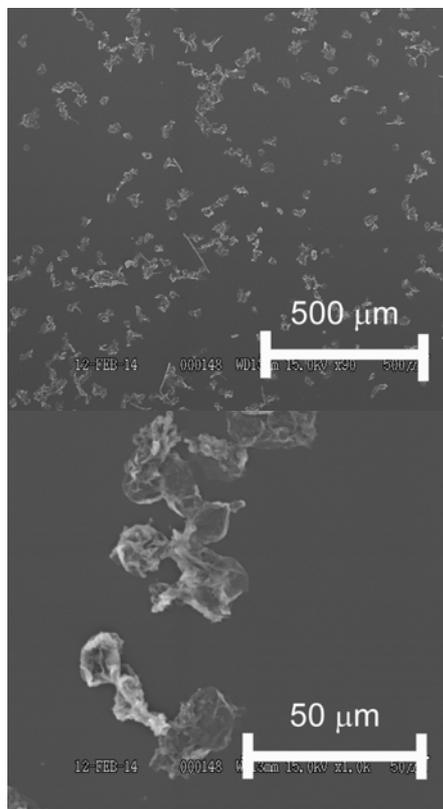


図 5 電気応答マイクロカプセルの SEM 画像

そこで、FITC-BSA 封入炭酸カルシウム上に PSS と PEI で交互累積膜を作製して膜を補強した後に TEMPO-PAA/PEI 交互累積膜を作製してマイクロカプセルの調製を試みた。初めに、FITC-BSA 封入炭酸カルシウム粒子上に PSS と PEI 溶液に交互に処理することで (PSS/PEI)<sub>2</sub> 交互累積膜を作製した。さらに、TEMPO-PAA および PEI 溶液で処理して炭酸カルシウム粒子上に (PSS/PEI)<sub>2</sub>(TEMPO-PAA/PEI)<sub>4</sub> 交互累積膜を調製した。EDTA で炭酸カルシウム粒子を除去して目的の FITC-BSA 封入電気応答マイクロカプセルを作製した。図 4 は、作製した FITC-BSA 封入マイクロカプセルの蛍光顕微鏡画像を示している。5 μm のマイクロカプセルと FITC-BSA 由来の蛍光が観察されたことから、電気応答マイクロカプセルに FITC-BSA が取り込まれていることが示唆された。

また、作製した FITC-BSA ミクロカプセルを乾燥させて走査型電子顕微鏡(SEM)で観察した(図 5)。5 μm のマイクロカプセルが観察されたことから FITC-BSA 封入電気応答マイクロカプセルが作製できていることがわかった。

作製した電気応答マイクロカプセルの電極表面への固定化と電位の印加による放出は水晶振動子マイクロバランス法を用いて評価した。水晶振動子上に PEI を被覆した後に、カプセル溶液に浸して電気応答マイクロカプセルの固定化を行った。その結果、およそ 36 ng のマイクロカプセルの固定化が観察された。+0.7 V の電位を 5 分間印加した後に固定化量を調べたところほぼすべてのマイクロカプセルが溶出したことがわかった(図 6)。この結果から、電位の印加によって固定化された電気応答マイクロカプセルが溶出することが示唆された。

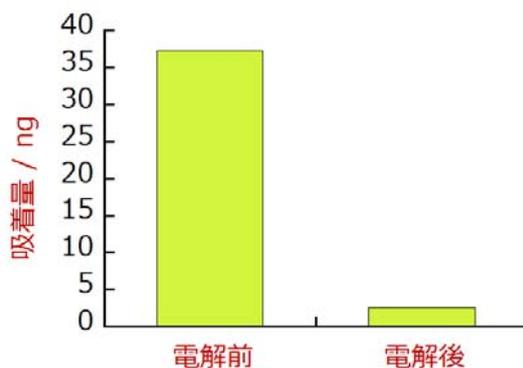


図 6 電位の印加前後の吸着量変化

次に、電位の印加によって放出された FITC-BSA の放出量について蛍光分光法を用いて評価した。図 7 に電位の印加したときと 5 分間 +0.7 V の電位印加した後の溶液の蛍光スペクトルを示した。

この結果を見ると電位の印加による蛍光スペクトルの上昇は観察されなかった。これは、電極表面への電気応答マイクロカプセルの固定化量が少ないため、十分な FITC-BSA 由

来の蛍光が得られなかったためと推察される。今後、高密度集積法についてさらなる検討を行う予定である。

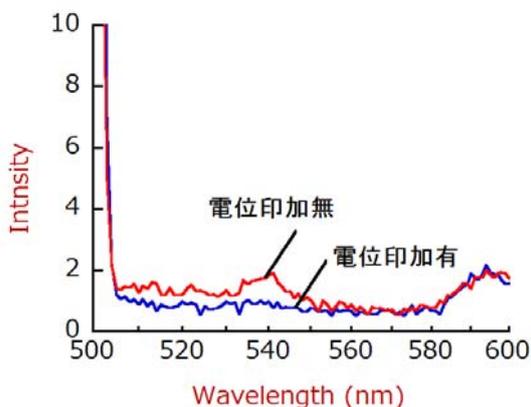


図7 電位印加有無による蛍光スペクトル。

#### 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1件)

Shigehiro Takahashi, Yu Aikawa, Tomotaka Kudo, Tetsuya Ono, Yoshitomo Kashiwagi, Jun-ichi Anzai, Electrochemical decomposition of layer-by-layer thin films composed of TEMPO-modified poly(acrylic acid) and poly(ethyleneimine), Colloid and Polymer Science (2014), 292, 771-776. 査読有 DOI: 10.1007/s00396-014-3169-0

[学会発表] (計9件)

1. 高橋成周、清水星来、相川優、小野哲也、柏木良友、安齊順一、FITC-BSA 封入電気応答交互累積膜マイクロカプセルの電気化学応答、日本薬学会 134 年会、2014 年 3 月 28 日-30 日 (熊本)

2. 高橋成周、還元グラフェンオキシド修飾電極を用いた電気化学分析、第二回日本薬学会東北支部物理分析化学セミナー、2013 年 11 月 9 日 (郡山)、招待講演

3. 高橋成周、濱中伸夫、安孫子直幸、安齊順一、還元グラフェンオキシド修飾電極を用いた固定化 1-ナフタレンボロン酸-アリザリンレッド S 複合体の電気化学応答、第 52 回日本薬学会東北支部大会、2013 年 10 月 20 日 (仙台)

4. Shigehiro Takahashi, Nobuo Hamanaka, Naoyuki Abiko and Jun-ichi Anzai, Electrochemical response of the complex of alizalin red with 1-naphthylboronic acid deposited on reduced graphene oxide-modified electrode, The Twelfth

Asian Conference on Analytical Sciences, 2013-08-23, Fukuoka, Japan.

5. 高橋成周、濱中伸夫、安孫子直幸、安齊順一、還元グラフェンオキシド修飾電極を用いた固定化アリザリンレッド S-フェニルボロン酸複合体の電気化学応答、日本薬学会第 133 年会、2013 年 3 月 29 日 (横浜)。

6. Shigehiro Takahashi, Yu Aikawa, Jun-ichi Anzai, TEMPO-modified LbL films and microcapsules, Sendai Symposium on Analytical Sciences 2012, 2012-11-09, Sendai, Japan.

7. 相川優、高橋成周、工藤智貴、小野哲也、柏木良友、安齊順一、TEMPO 含有電気応答マイクロカプセルの調製、第 51 回日本薬学会東北支部大会、2012 年 10 月 7 日 (青森)

8. 高橋成周、相川優、工藤智貴、小野哲也、柏木良友、安齊順一、TEMPO 含有電気応答マイクロカプセルの作製と電気学応答、第 51 回日本薬学会東北支部大会、2012 年 10 月 7 日 (青森)

9. 相川優、高橋成周、工藤智貴、小野哲也、柏木良友、安齊順一、交互累積膜法を用いた電気応答カプセルの作製と電気学応答、みちのく分析科学シンポジウム 2012、2012 年 7 月 21 日 (米沢)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

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：