

1. 氏名	倉科 佑太
2. 所属機関	東京工業大学 物質理工学院
3. 研究題目	UV 照射遠心分離システムによるインテリジェントマイクロゲルビーズ材料の生成

研究の目的: ハイドロゲルは、水を含む高分子ネットワークで構成され、その分子の特性により極めて多様な機能や性質を示す。例えば、温度などの刺激に反応する機能性ポリマなどが開発されている。ハイドロゲルを用いたマイクロゲルビーズは、ドラッグデリバリーシステム (DDS) をはじめとした体内で活躍するインテリジェントデバイスとなる新たな材料として注目を集めている。従来、マイクロゲルビーズはマイクロ流路中に油液を流し、重合させる方法で生成していた。このため、さまざまな機能を持ったポリマを生成できる一方で、プロセスが複雑であり、生成するために時間がかかるため、劣化の早い生体サンプルには不適であった。

一方で、遠心分離機を用いたマイクロゲルビーズの生成方法は、少量のサンプルで高速に生成できることから、細胞やその他生体物質を封入した DDS の生成に期待されている。しかし、アルギン酸ナトリウムを塩化カルシウムの溶液中に投射してマイクロゲルビーズの形を形成するため、紫外線 (UV) 照射による光重合などを用いた刺激応答性のゲルを生成しようとする、光重合を行う前にモノマー状態の物質はアルギン酸カルシウムの網目構造から抜け出し、高分子を生成することができない。このため、本研究では、遠心分離機を用いたイオン架橋を UV 照射によるモノマーの光重合と同時に行うことにより、遠心分離機によるマイクロゲルビーズの生成方法を用いて刺激応答性ゲルを生成することを目的とする。また、生成したハイドロゲルビーズの構造と条件から、本ハイドロゲルマイクロビーズの生成メカニズムについても言及する。本研究によりマイクロゲルビーズを生成する方法を確立することで、複数の重合反応により生成したハイドロゲルマイクロビーズ内で起きる高分子の挙動の観察することが可能となる。

4. 研究の内容(手法、経過、評価など。書ききれない場合には、同一様式のページを追加してください。):

遠心分離機を用いたマイクロゲルビーズの生成方法は、少量のサンプルで高速に生成できることから、細胞やその他生体物質を封入した DDS の生成に期待されている。しかし、アルギン酸ナトリウムを塩化カルシウムの溶液中に投射してマイクロゲルビーズの形を形成するため、紫外線 (UV) 照射による光重合などを用いた刺激応答性のゲルを生成しようとする、光重合を行う前にモノマー状態の物質はアルギン酸カルシウムの網目構造から抜け出し、高分子を生成することができない。このため、本研究では、遠心分離機を用いたイオン架橋を UV 照射によるモノマーの光重合と同時に行うことにより、遠心分離機によるマイクロゲルビーズの生成方法を用いて刺激応答性ゲルを生成した。本研究を実現するために、下記の手順により実験を行った。

はじめに、(1) 遠心分離と UV 照射によるマイクロゲルビーズ生成装置の開発し、つぎに製作した装置を用いて (2) 温度応答性ポリマを用いたマイクロゲルビーズの生成条件の確立を行った。さらに、生成条件から (3) マイクロゲルビーズ生成メカニズムの解明を行い、最後に応用として (4) pNiPAAM を利用したドラッグリリース機能の確認を行った。これらの手順から新たなハイドロゲルビーズの生成方法の有効性を確かめた。

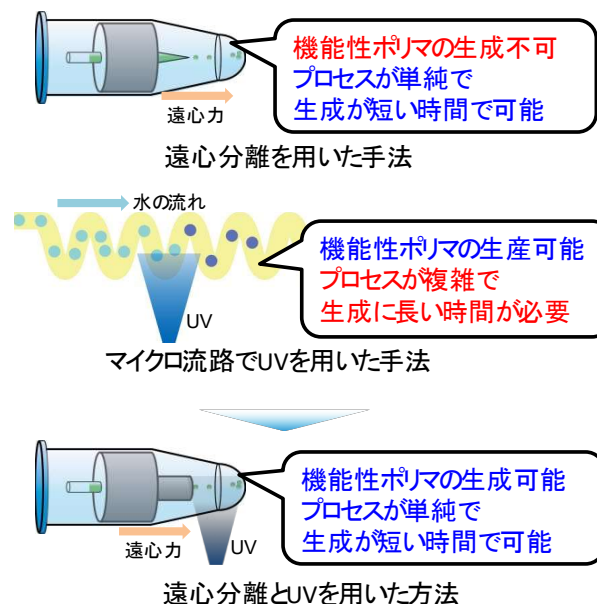


図 1 ハイドロゲルビーズの従来手法と本研究による生成手法の比較

5. 研究の成果と結論、今後の課題:

本研究から得られた結果を以下に示す.

(1) 遠心分離と UV 照射によるマイクロゲルビーズ生成装置の開発: 遠心分離機にスリッピングを搭載したデバイス (図 2) を製作した. これにより, 遠心分離機に設置した遠沈管内に電力を供給することができ, さらに遠沈管内に複数の深紫外 LED (波長 325 nm) を内向きに配置し, 遠沈管内にマイクロチューブを設置することで, 遠心分離中にマイクロチューブ内に紫外線を照射可能とした.

(2) 温度応答性ポリマを用いたマイクロゲルビーズの生成条件の確立: 給電型遠心マイクロゲルビーズ生成装置を用いて, アルギン酸ナトリウムと NIPAM モノマーを混合し, メチレンビスと光重合開始剤を添加したプレゲル溶液をマイクロチューブ内で微細ガラス管から射出して, UV 照射しながら塩化カルシウムによりゲル化させることでハイドロゲルビーズを生成した. 生成したハイドロゲルビーズは, コアシェル構造を有しており (図 3A), 熱を加えることで収縮する (図 3B) ことから温度応答性ポリマを含有したコアシェル構造のハイドロゲルマイクロビーズを生成できることを確かめた.

(3) マイクロゲルビーズ生成メカニズムの解明: 生成したハイドロゲルマイクロビーズのアルギン酸のゲル化前の UV 照射時間を変えることで, 生成されるコアのサイズが変化することを確認した. この結果から, アルギン酸のゲル化前にコアが生成され, アルギン酸がゲル化することによって中心方向に押し固められるというメカニズムが明らかとなった.

(4) pNiPAAM を利用したドラッグリリース機能の確認: 本ハイドロゲルマイクロビーズを生成する際に, 模擬薬剤として蛍光デキストランを含有した状態でハイドロゲルマイクロビーズを生成した. 蛍光顕微鏡によるハイドロゲルマイクロビーズの観察結果 (図 4A) から, ハイドロゲルマイクロビーズ内に薬剤を充填できることが確かめられた. また, 温度刺激を付与することで, 充填した蛍光デキストランを徐放できることを蛍光吸光度計から確かめた (図 4B). 以上の結果から, 同時に重合することで, コアシェル構造を有したハイドロゲルマイクロビーズを生成できることが示唆された.

今回はアルギン酸のイオン架橋と NIPAM の光重合の 2 つのゲル化現象を用いて本ハイドロゲルマイクロビーズを生成したが, 今後の課題として材料としての多様性とより実践的な医療環境での使用に対する耐性を確認する必要がある. 材料としての多様性については, 極性などが異なる様々なハイドロゲルを用いた場合に生成されるハイドロゲルビーズの挙動を確認し, それぞれの特性から新たな現象および応用先を考えることが重要である. また, 実践的な医療環境での使用については, 模擬薬剤を徐放できることを確かめたが, 実際に動物実験などにより, 本ハイドロゲルマイクロビーズが薬剤徐放に用いることが可能であるかどうかを確認する必要がある.



図 2 開発した給電型遠心マイクロゲルビーズ生成装置

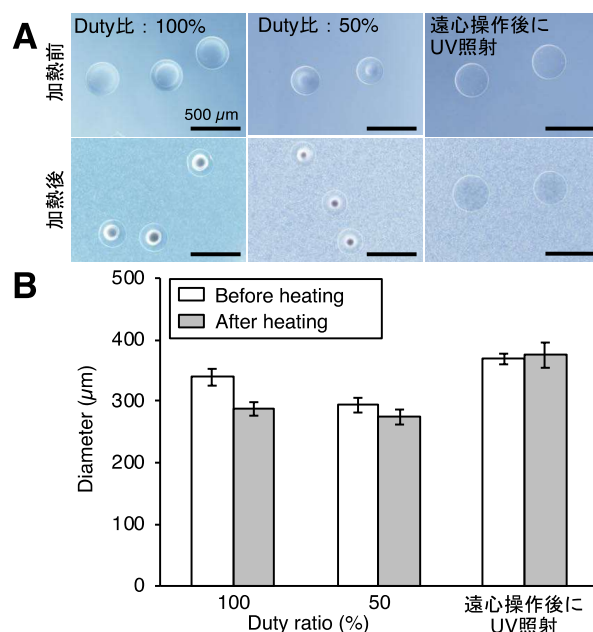


図 3 生成したハイドロゲルビーズの (A) 位相差顕微鏡写真と (B) 温度応答性

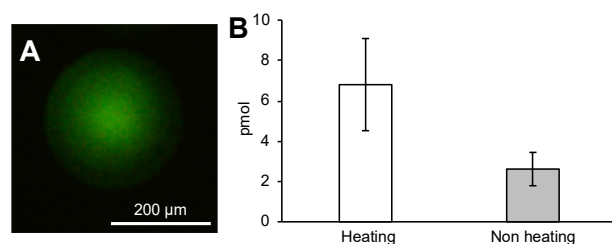


図 4 模擬薬剤を含有したハイドロゲルマイクロビーズ

6. 成果の価値

7.1_学術的価値:本研究において、通常のゲル化では起こりえないひとつの混合溶液からコア-シェルの分離構造を形成することが明らかとなった。これは、本研究が高速でマイクロスケールで、極性の異なる材料を重合することで生じた現象である。本現象は、これまでのゲル化の研究ではあまり扱われていなかったゲル化過程に生じた環境変化によるゲル化した材料の物性の違いを示した結果であり、すなわち同じ材料を用いてゲル化を行ったとしてもゲル化のタイミングや重合の進行速度により、生成できる物質が異なることが明らかとなった。加えて、アルギン酸のシェルの厚さから本研究で生じた現象は、マイクロスケールであることが極めて重要であり、マイクロスケールでのゲル化に対して、これまでとは異なる視点の研究結果を示すことができた。さらに、本研究をさらに進めることで、今後様々な物性のハイドロゲルを用いた新たな物性を有する多種類の混合ゲルを生成できることが期待できる。

7.2_社会的価値:本ハイドロゲルマイクロビーズは薬剤投与のためのカプセルとして用いることが可能である。このハイドロゲルマイクロビーズにはアルギン酸カルシウムのシェルを付与することができた。アルギン酸カルシウムは水溶液によく分散する。体内へ投与する薬剤は、疎水性相互作用により血管が詰まることを防ぐために親水性でなくてはならない。このため、本研究によるマイクロビーズの生成方法を用いることでアルギン酸カルシウムのシェルを付与することができ、生体に安全なドラッグデリバリーシステム (DDS) 用のカプセルを生成できる。これにより、今までカプセル化が難しかった高分子の薬剤などのカプセル化が可能となり、DDS の発展に寄与することができる。また、用いる材料を変更することなく、重合条件のみを変えることで異なる物性のハイドロゲルビーズを生成できることから、用途に合わせて簡単に条件を変えた DDS 用の薬剤カプセルを生成できる。

7.3_研究成果:

国際学会発表

- [1] Mio Tsuchiya, Yuta Kurashina, Yun Jung Heo, Hiroaki Onoe, “One-step fabrication of multi-functional core-shell Janus hydrogel microparticles for theranostics application”, The 33rd IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS2020), Vancouver, Canada, 2020/1/18-22.
- [2] ○Yuta Kurashina, Mio Tsuchiya, Keitaro Kasahara, and Hiroaki Onoe, “Phase-separated core-shell hydrogel microbeads from homogeneous mixed polymer solution by simultaneous gelation,” The 23rd International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (μ TAS 2019), Basel, Switzerland, 2019/10/29.
- [3] Mio Tsuchiya, Yuta Kurashina, Hiroaki Onoe, “Stimuli-responsive structural color hydrogel microbeads for wearable biometric sensors”, The 20th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers 2019), Berlin, Germany, 2019/06/23-27.

特許

- [4] 超音波徐放 Drug Delivery System (特願 2019-192868), 出願日: 2019/10/23, 久保田剛, 倉科佑太, 尾上弘晃, 出願者: 学校法人慶應義塾.
- [5] 薬物送達用担体 (特願 2018-161863), 出願日: 2018/8/30, 倉科佑太, 吉田知彦, 宮内央子, 宮原英生, 小川優樹, 尾上弘晃, 岡野 James 洋尚, 栗原渉, 藤岡正人, 出願者: 学校法人慶應義塾, 東京慈恵会医科大学.
- [6] 遠心分離装置、液滴生成方法及びゲルビーズ (特願 2018-076379), 出願日: 2018/4/11, 発明者: 倉科佑太, 尾上弘晃, 出願者: 学校法人慶應義塾.

受賞

- [7] Mio Tsuchiya, Yuta Kurashina, Yun Jung Heo, Hiroaki Onoe, Outstanding Student Paper Award, International conference on micro electro mechanical systems (MEMS) 2020, 2020/1/23.