

超音波による外部モニタリングおよび制御可能な 局所的薬剤投与用カプセルの開発

Ultrasonically traceable and controllable microcapsule for local drug administration

2001007



研究代表者	東京工業大学 精密工学研究所	准教授	小 山 大 介
共同研究者	同志社大学 生命医科学部	教 授	渡 辺 好 章

〔研究の目的〕

薬物投与の空間的・時間的制御を目的とした本手法は、局所的薬剤投与に伴う副作用の抑制や、薬剤量の減少に伴うコストパフォーマンスの改善等の効果が期待される。我々のグループが提案するマイクロカプセルを用いた超音波 DDS は、周囲に弾性膜を有し、中空で内部に薬液と気泡を内包した3層構造の粒径がマイクロメートルオーダーのカプセルを血流内に投与、超音波を用いて外部モニタリングを行いながら患部付近で捕捉、強力超音波によりカプセルを破壊し患部付近のみに薬液を放出するという3段階で構成される。超音波 DDS において、マイクロカプセルを破壊するための強力超音波を体内に照射した際、衝撃波の発生や強力超音波による局所的温度上昇により生体に対して悪影響を及ぼす恐れがあるため、超音波の照射音圧は極力低く抑える必要がある。しかしながら弾性膜を有するカプセルの超音波による破壊条件（破壊に適した超音波の周波数と音圧）は、カプセル膜材質の弾性定数、膜厚等の機械的要素に強く依存すると考えられ不明瞭な部分が多い。本研究では超音波 DDS に使用可能な生体適合を有するセンサ型マイクロカプセルの作製およびその周囲弾性膜の定量的評価について検討した。

〔マイクロカプセルの作製〕

カプセル作製法は乳化によって発生した液滴（薬液）をカプセル核とし、液滴周囲にカプセル膜を精製後、フリーズドライにより内部液体を蒸発しカプセルを作製する方法（ダブルエマルジョン法）を用いた。本手法は従来のカプセル膜生成後に熱を加えることにより内部液体を蒸発させる手法とは異なり、従来法では作成できなかった非常に薄く、生体内で分解可能な材質の膜を持つカプセルを任意の大きさで作製できることが期待される。作製手順の一例を以下に示す。

- ① カプセル膜となる生体適合性を有するポリ乳酸（分子量 100000）0.5 g を高揮発性の媒質（塩化メチレン 20 ml）にマグネチックスターを用いて溶解して高分子溶液を作製する。
- ② 上記高分子溶液に 4 ml の水を加え、ホモジナイザを用いて回転数 10000 rpm で乳化する。
- ③ カプセル核を保持するための高粘度溶液（PVA 水溶液, 2 wt%, 100 ml）と②の乳化液を混合し、ホモジナイザ（10000 rpm, 1 分間）で攪拌することにより、カプセル核となる μm オーダサイズの液滴が発生し、その液滴周囲にポリ乳酸製カプセル膜が精製される。攪拌速度、攪拌時間、PVA 水溶液粘性などの条件により、カプセル径を

コントロールできる。

- ④ ③に 100 ml の水を加えて約 5 時間マグネチックスターラで攪拌し、カプセル内部の塩化メチレンを十分に蒸発させ、作製したカプセルを水で洗浄する。
- ⑤ 24 時間程度フリーズドライ (-70°C) を行い、カプセル内部の液体を除去する。

図 1, 2 は作製したカプセルの電子顕微鏡像と粒径分布であり、人体投与可能な $8\mu\text{m}$ 以下の平均粒径 $2\mu\text{m}$ のカプセルの作製に成功した。

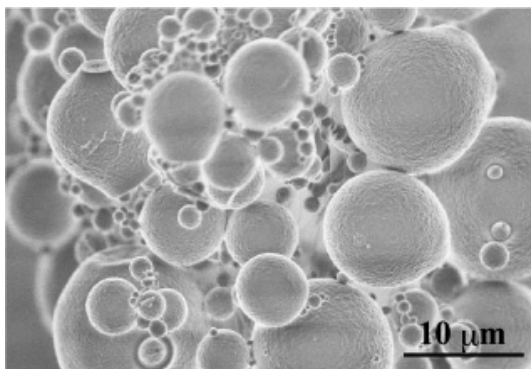


図 1 生体適合性カプセルの電子顕微鏡像

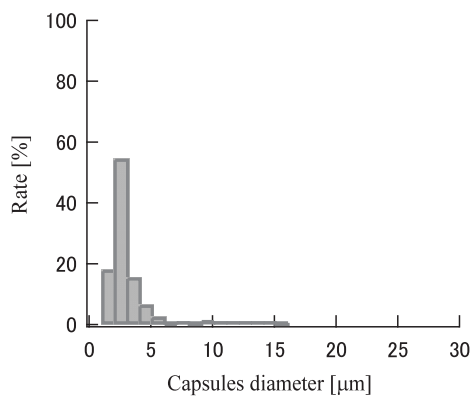


図 2 作製したカプセルの粒径分布

[カプセルの音響特性]

作製したカプセルに超音波を照射すると、駆動超音波の周期に呼応してカプセルは膨張収縮運動を繰り返す。カプセル振動を観測することにより周囲膜弾性を評価した。複数個のカプセル群を生体ファントム内水中に分散させ、そのカプセル懸濁液中に向かって超音波パルスの送

受波を繰り返した。図 3 は水中にカプセルが存在する場合としない場合の各超音波受波波形であり、カプセルの存在によって超音波パルスが減衰していることがわかる。図 4 はその周波数スペクトルをあらわしており、各波形のスペクトルの差を表したのが図 5 である。伝搬した超音波パルスのエネルギーの一部は、カプセルの膨張収縮運動によって熱エネルギーとして消費されると考えられる。したがって図 5 より、カ

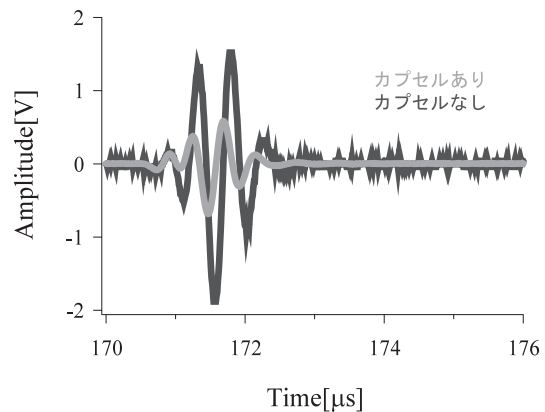


図 3 超音波透過波の時間波形

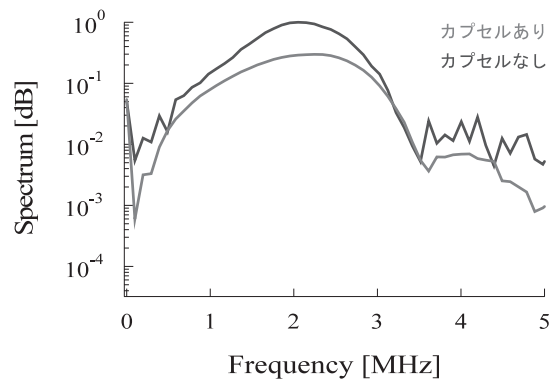


図 4 超音波透過波の周波数スペクトル

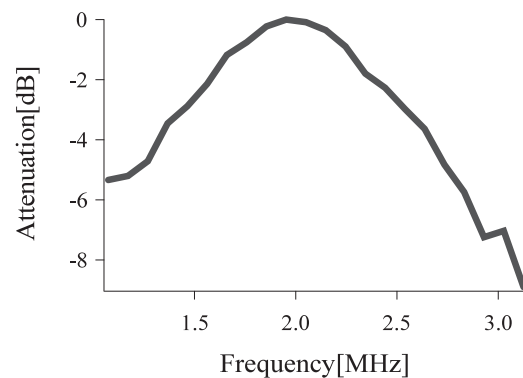


図 5 周波数スペクトルの差

プセルの共振周波数は減衰が最も大きい2 MHz であると考えられる。周囲に膜を持たない直径 $2\mu\text{m}$ の自由気泡の場合、理論式より共振周波数は1.7MHz であることから、カプセルの共振周波数は、同じサイズの気泡に比べて周囲膜弾性の効果により上昇することがわかった。

[単一カプセル振動の光学的観測]

微小気泡の挙動観測手法としては、高速度カメラを用いた観測システムが主流である。しかし画像の空間分解能が低い等の欠点があり、微小振幅振動する気泡挙動の観測は難しい。本報告では、レーザドップラ振動計（以下 LDV）を用い、定在波音場中のカプセル挙動の観測を試みた。最初に、振動振幅が大きい自由気泡について高速度カメラとの光学的同時観測を行い、振動波形を比較し、その有用性について検討した。図6は実験系であり、高さ60 mm 内径55 mm のセル内を脱気水で満たし、下部に接着した共振周波数27 kHz のボルト締めランジュバン振動子より超音波を照射する。水面高さを調節することによりセル内に定在波を形成させ、音圧腹部に気泡を捕捉した。捕捉された気泡の半径はおよそ $40\sim 100\mu\text{m}$ である。高速度カメラ（HPV-1, SHIMADZU）とLDV（NLV-2500, Polytec）の焦点を気泡の捕捉位置に一致させた。高速度カメラはキセノンランプの連続光をバックライトとし、LDVはセルの上部に設置し、気泡の挙動を観測した。高速度カメラには長距離望遠鏡を装着し、空間分解能は $4\mu\text{m}/\text{pixel}$ である。また、LDVには対物レンズ（M Plan Apo 20 $\times$, Mitutoyo）を装着した。対物レンズの倍率は20倍、作動距離は20 mm であり、このレンズにより集光されるレーザの最小スポット径は $1.5\mu\text{m}$ である。図7は高速度カメラによる観測画像とその時間変化（円プロット）であり、実線はLDVによる観測結果である。LDV及び高速度カメラにより測定した両波形の振動振幅値が約 $2\mu\text{m}$ とほぼ一致してい

ることが確認でき、LDVを用いた観測システムでも挙動観測が可能であると実証している。また、 $2\mu\text{m}$ と非常に小さい振動振幅を鮮明に観測できていることから、LDVによる観測手法は微小振幅振動を行うマイクロカプセルの挙動観測に適していると考えられる。

超音波照射下における単一カプセルの振動を光学的に観測した。図8はその測定系であり、

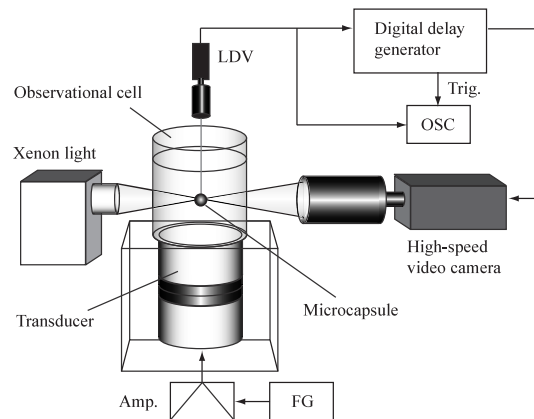


図6 高速度カメラとLDVによる観測系

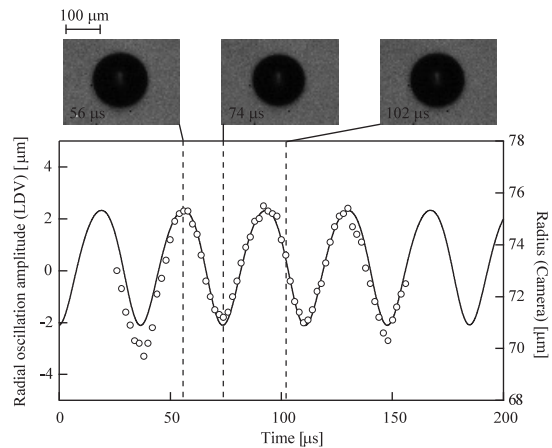


図7 気泡半径の時間変化

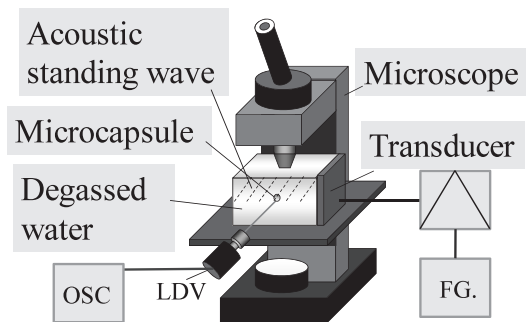


図8 カプセル振動観測系

顕微鏡視野下のセルを水で満たし、超音波定在波を発生して単一カプセルを捕捉した。捕捉したカプセルの振動を顕微鏡とLDVで観測した。図9は捕捉したカプセルの顕微鏡画像の一例であり、LDVのビームを照射するとその散乱光が確認できた。図10はLDVによって観測されたカプセル振動の時間波形の一例であり、駆動周波数は970 kHz、カプセルの直径は30 μm である。カプセルの振動は同条件における周囲膜を持たない自由気泡の振動に比べて1桁以上小さく、従来の光散乱観や高速度カメラを用いた観測手法では困難な非常に小さい振幅30 nmのカプセル振動を観測することに成功した。

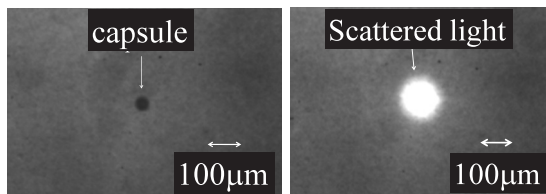


図9 (左) 捕捉カプセルの顕微鏡像 (右) レーザ照射時の様子

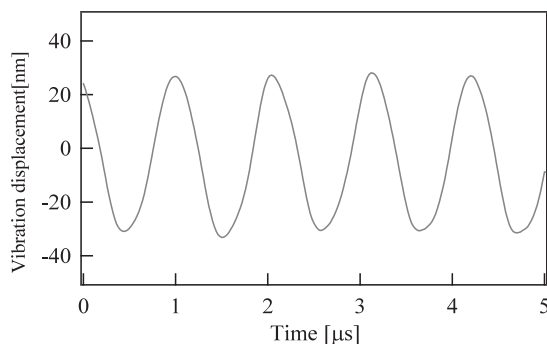


図10 カプセル振動の時間波形

[今後の研究の方向, 課題]

本報告では、マイクロカプセルの周囲膜弾性が超音波照射下の振動に与える影響について検討した。その結果、カプセルの周囲弾性膜により、気泡に比べて振動振幅が抑制され、共振周

波数が上昇することが定性的に明らかになった。今後カプセル膜厚、粒径を考慮に入れた定量的評価を行う予定である。

[成果の発表, 論文等]

1. D. Koyama et al.: "Vibration of a single microcapsule with a hard plastic shell in an acoustic standing wave field," IEEE Trans. Ultrason., Ferroelect., Freq. Contr., Vol. 58, No. 4, pp. 737-743 (2011)
2. H. Kotera et al.: "Measurement of a single microcapsule vibration in an acoustic standing wave field," Proc. 2010 IEEE International Ultrasonic Symposium, pp. 1708-1711 (2010)
3. H. Kotera et al.: "A simultaneous observation system for microbubble vibration in an acoustic field by using a high-speed camera and an LDV," Proc. 20th International Congress on Acoustics, p. 793, (2010)
4. D. Koyama et al.: "Measurement of a microcapsule vibration having a hard plastic shell in an acoustic standing wave," Proc. 20th International Congress on Acoustics, p. 159 (2010)
5. 田畑拓他: 定在波音場中における生分解性カプセルの捕捉と振動測定, 日本音響学会 2011 春季研究発表会講演論文集, pp. 1491-1492 (2011)
6. 吉川泰甫他: レーザドップラ振動計を用いた壁面付着気泡の音響共振特性の測定, 電子情報通信学会技術研究報告. US, 超音波 110 (366), pp. 1-6 (2011)
7. H. Kotera et al.: "Optical observation of biodegradable microcapsules under ultrasound irradiation," 第31回超音波エレクトロニクスの基礎と応用に関するシンポジウム, pp. 399-400 (2010)
8. T. Yoshikawa et al.: "Observation of a vibrating bubble attached to wall in ultrasonic field by using a laser Doppler vibrometer," 第31回超音波エレクトロニクスの基礎と応用に関するシンポジウム, pp. 11-12 (2010)
9. 吉田憲司他: レーザドップラ振動計を用いた生分解性マイクロカプセルの振動計測, 日本音響学会 2010 秋季研究発表会講演論文集, pp. 1193-1194 (2010)
10. 小寺宏典他: 超音波駆動された単一マイクロカプセルの振動変位の測定, 電子情報通信学会技術研究報告. US, 超音波 110 (10), pp. 19-24 (2010)