

整理番号	2021-J-078	報告者氏名	LEE JI HA
------	------------	-------	-----------

研究課題名

セルロースナノファイバーと薬物内包ゲルの複合化による機械的特性を利用した薬物放出制御

<代表研究者> 機関名：広島大学 職名： 助教 氏名：LEE JI HA

<共同研究者> 機関名： 職名： 氏名：
 機関名： 職名： 氏名：
 機関名： 職名： 氏名：
 機関名： 職名： 氏名：

<研究内容・成果等の要約>

本研究では、鉄の5分の1の軽さでありながら高強度の特性を有し、安価で環境負荷が低い次世代材料として応用が期待されているセルロースナノファイバー (CNF)に着目した。CNFはβ-グルコースのβ-1,4結合を有する繰り返し構造からなり、分子内に多くのヒドロキシ基を持つ。ヒドロキシ基から様々な官能基が導入可能であり、新規材料の可能性を大いに秘めている。本研究では、このCNFの構造中に超分子架橋点を導入した「超分子ハイドロゲルフィルム」の研究に関するものである。具体的には、CNFの新規複合材料の開発として、癌の治療薬として用いられるドキソルビシン塩酸塩(DOX)を添加し、超分子相互作用で架橋させることで、機械的特性(強度と伸縮性)と機能性(分子輸送性)を与える方法論を考案し、医療用ゲルパッチ等への応用の基本設計指針を見出すことである。実験結果より、作製したフィルムは、DOXの内包量を変化させることで機械的特性(伸縮性や強度)を制御可能であり、薬物放出量測定により、最大86%のDOXを放出することに成功した。医療用ゲルパッチへの応用として、動物への皮膚(マウス)への皮膚透過試験を行い、一定量の皮膚透過を確認することができた。これらの結果より、本研究で作製したDOX内包CNFフィルムは、高い生体適合性と機械的特性(伸縮性や強度)及び機能性(薬物放出挙動)の制御可能であることから、医療分野への応用が期待される。

<研究発表（口頭、ポスター、誌上別）>

口頭

Ji Ha Lee: Development of Hydrogel with Controllable Drug Release Behavior IUMRS-ICYRAM 2022, Session J: Advances in Biomedical Science and Engineering 2022年8月5日, (Centennial Hall, Kyushu University, Fukuoka, JAPAN) Invited

Lee Ji Ha: 自己組織化技術を用いたサステイナブル材料の開発と DDS への応用 2022, 2022年9月9日(金), 2022/9/9 (岡山国際交流センター, 国際会議場) 招待発表.

神田渉, Lee Ji Ha, 矢吹彰広: 薬物放出制御可能な光異性体を有するゲルの開発, 高分子討論会 (2022), 2022年9月5日(月)~7日(水), 2022/9/7, (北海道大学, 札幌キャンパス) 口頭発表

ポスター

大下樹, Lee Ji Ha, 矢吹彰広: セルロースナノファイバーを用いたハイドロゲルフィルムの放出挙動, 中四国支部産学合同コロキウム 2022, 2022年9月9日(金), 2022/9/9 (岡山国際交流センター, 国際会議場) ポスター発表

<研究の目的、経過、結果、考察（5000 字程度、中間報告は 2000 字程度）>

研究目的

本研究では、鉄の 5 分の 1 の軽さでありながら高強度の特性を有し、安価で環境負荷が低い次世代材料として応用が期待されているセルロースナノファイバー (CNF) を超分子ハイドロゲルの骨格構造として導入することで、生体適合性が高いゲルフィルムを作製し、物性(機械的強度)や機能性(薬物放出挙動)を検証し、医療用ゲルパッチへの応用展開を想定した基本設計指針を見出すことを研究目的とする。

実験方法

CNF 水溶液 500 mg (2%CNF, 繊維長 10 μm , 直径 10-50 nm) と DMSO に溶解させた抗がん剤治療であるドキソルビシン塩酸塩(DOX)と混合しハイドロゲルを合成後、ホットプレートで 80 $^{\circ}\text{C}$ 3 時間加熱することで DOX 内包 CNF フィルムを作製した。フィルムに内包した DOX 量は、CNF 量に対して 0.005-0.1 g-DOX/g-CNF とした。作製した DOX 内包 CNF フィルムの機械的特性の分析として、引張試験を行った。また薬物放出試験として、DOX 内包 CNF フィルムを pH=5 のイオン交換水に浸漬させ、フィルムに内包した DOX を放出させた。一定時間経過後、紫外可視近赤外分光法(UV-vis)を用いて、溶媒の吸光度測定を行い、DOX の放出量および DOX 内包 CNF フィルム内の DOX 残存量を算出した。さらに、DOX 内包 CNF フィルムの皮膚透過試験を行うことで、フィルム内における DOX の皮膚への透過性を評価した。

実験結果

1. DOX 内包 CNF フィルムの作製

作製した DOX 内包 CNF フィルム (0.005, 0.01, 0.015, 0.0423, 0.1 g-DOX/g-CNF) を Fig.1 に示す。Fig.1 より、

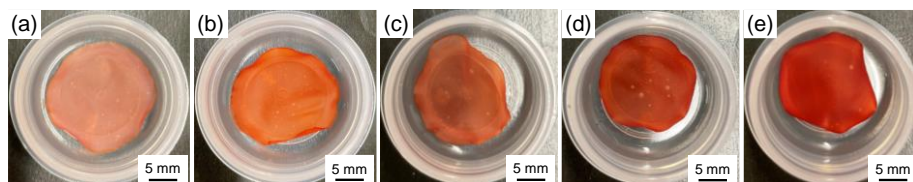


Fig.1 Photograph of DOX-loaded CNF films prepared at the weight ratio of DOX/CNF:

つれてフィルムの色は変化 (a)0.005, (b)0.01, (c)0.015, (d)0.0423, (e)0.1 し、添加した全て DOX をフィルムに内包することに成功した。

2. DOX 内包 CNF フィルムの機械的特性

DOX 内包 CNF フィルムの引張試験の結果を Fig.2 に示す。Fig.2 より、DOX の内包量を増加させると、DOX 内包 CNF フィルムの伸縮性が減少し、DOX の内包量(d)0.423 以降、DOX の内包量を増加させても、フィルムの伸縮性は変化しなかった。また、DOX の内包量を増加させるとフィルムの強度は増加し、(e)0.423 g-DOX/g-CNF では、歪み約 5%において、応力が 120 N/mm^2 となり、最大値を取った。DOX の内包量を変化させることで、フィルムの機械的強度の制御に成功した。これは DOX の内包量を増加するにつれて、CNF と DOX が超分子相互作用(水素結合など)により結合し、結合数が増加したためと考えられる。

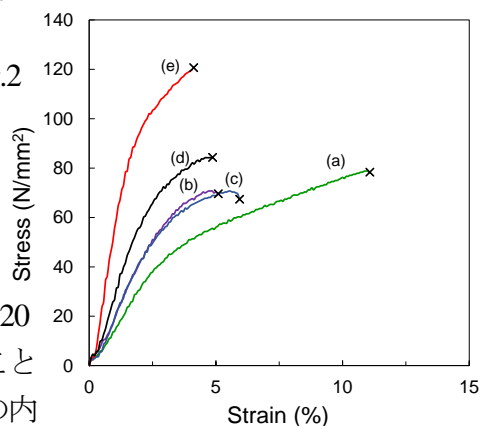


Fig.2 Tensile stress-strain curves of DOX-loaded CNF films prepared at DOX/CNF weight ratios of (a)0.005, (b)0.01, (c)0.015, (d) 0.0423, (e)0.1

3. DOX 内包 CNF フィルムの薬物放出量測定

DOX 内包 CNF フィルムの薬物放出量測定の結果を Fig. 3 に示す。全ての DOX 内包 CNF フィルムにおいて、30 分経過後、DOX の放出量は一定となった。DOX と CNF の割合が (a)0.005 の際、DOX 放出量は 60 分後に約 11% とな

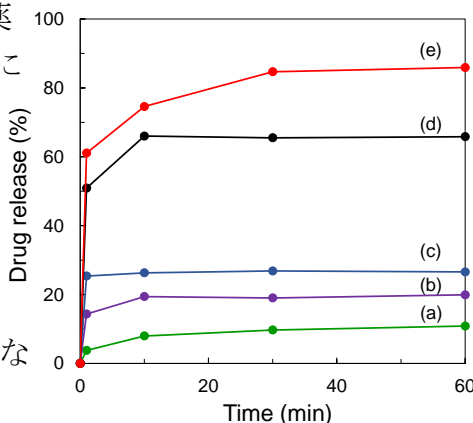


Fig.3 Cumulative release ratios of DOX from DOX-loaded CNF films prepared at DOX/CNF weight ratios of (a)0.005, (b)0.01, (c)0.015, (d)0.0423, (e)0.1

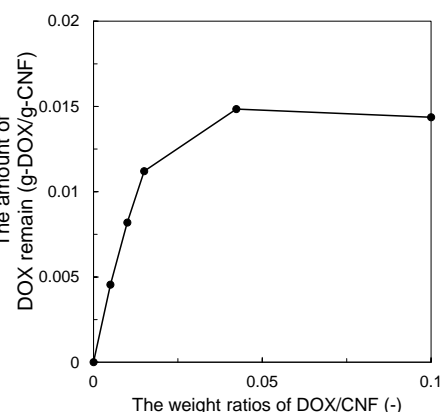


Fig.4 Cumulative release ratios of DOX from DOX-loaded CNF films prepared at DOX/CNF weight ratios of (a)0.005, (b)0.01, (c)0.015, (d)0.0423, (e)0.1

り、DOX と CNF の割合が (e)0.1 の際は、DOX 放出量は約 86% となった。またフィルム内の DOX 内包量が増加す

るにつれて、DOX の放出量は増加することがわかった。これらより DOX 内包量を変化させることで、DOX の放出量を制御することに成功した。Fig.4 に DOX 放出試験後の DOX 内包 CNF フィルム内に残留する DOX 量を示す。フィルム内に残留した DOX は、DOX 内包量を増加するにつれて増加したが、内包量が (c) 0.015 以降、増加割合は減少し、(d) 0.0423 以降では、DOX 残留量は変化しなかった。これは、フィルムの引張試験による伸縮性の結果と同様の傾向を示している。これらのことより、DOX 内包量の増加とフィルム内の構造を超分子相互作用の観点から考察した。フィルム内において、DOX を添加することで、CNF 間同士の間 DOX が超分子相互作用(水素結合)によって結合する。これにより、フィルムの機械的特性は向上する。しかし、DOX 内包量が一定の量を超えると、CNF 間同士の間 DOX が

結合する箇所がなくなり飽和する。以降フィルム内に内包される DOX は、CNF と物理吸着する。これらの作用によって内包された DOX は、超分子相互作用(水素結合)によって内包された DOX に比べ、系外に放出されやすくなる。

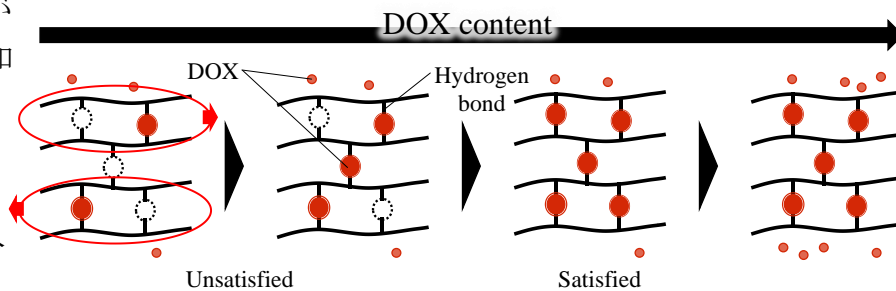


Fig.5 Mechanism of DOX-loaded CNF films as the increase of DOX loaded to the films.

そのため、Fig.2-4 で示したように、DOX 内包量が一定値を超えることによって、機械的特性(伸縮性)は変化しなくなり、薬物放出試験後のフィルムの内包量は変化しないと考えられる。

4. DOX 内包 CNF フィルムの薬物皮膚透過試験

Fig.6 に DOX 内包量 0.0423(-) の DOX 内包 CNF フィルムを用いた皮膚透過試験の結果を示す。皮膚透過試験には、動物皮膚(マウス)を用い、任意の大きさに調節したフィルムをドナーセルに設置し、37°C 環境下においてフィルムに内包した DOX の皮膚透過性を分析した。実験値(a)より求めた近似直線(b)の傾きより、透過速度は約 $0.0345 \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ となった。

この値は、薬物放出量測定時の放出速度約 $290 \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ の約 $1/8000$ であり、透過速度が律速であることが分かった。またこのフィルムを用いた場合、実際に放出される DOX が全て皮膚を透過するのに約 50 日かかることが分かった。これは、皮膚とフィルムとの密着性を考慮することで、より短い期間での薬物の皮膚透過が今後期待できる。

5. まとめ

本研究では、鉄の 5 分の 1 の軽さでありながら高強度の特性を有し、安価で環境負荷が低い次世代材料として応用が期待されているセルロースナノファイバー (CNF) をビルディングブロックとし、モデル薬物として、抗がん剤であるドキソルビシン塩酸塩(DOX)を混合することで、薬物内包ゲルを創製し、乾燥させることで DOX 内包 CNF フィルムを作製した。作製したフィルムは、DOX の内包量を変化させることで機械的特性(伸縮性や強度)を制御可能であり、薬物放出量測定により、最大 86 % の DOX を放出することに成功した。医療用ゲルパッチへの応用として、動物への皮膚(マウス)への皮膚透過試験を行い、一定量の皮膚透過を確認することができた。これらの結果より、本研究で作製した DOX 内包 CNF フィルムは、高い生体適合性と機械的特性(伸縮性や強度)及び機能性(薬物放出挙動)の制御可能であることから、医療分野への応用が期待される。

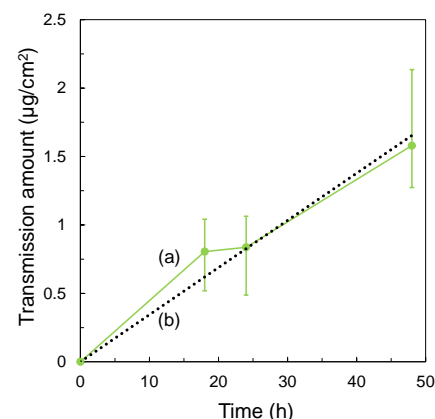


Fig.6 The amount of DOX that permeated from DOX-loaded CNF films into the harmless mouse skin: (a) Experimental data, (b) Linear regression.