

医薬・バイオ分野への応用を目指した 高分子ナノ構造形成技術の開発

電子技術課 横山義之, 高田耕児 生活工学研究所 金丸亮二

1. 緒言

温度応答性高分子を用いた含水ゲルは、一定温度以上でゲル内部に大量に吸蔵した水分を構造変化により放出する。この鋭敏な温度応答性は、様々な医用材料として、近年、大きく注目を集めている。

我々は、この温度応答性の含水ゲルをナノファイバー化して、温度によって“吸水⇄放水”を可逆的に制御できる温度応答性ナノファイバーシートを開発した。体温や気温の変化によって、冷却性能や薬剤放出性能が変化するゲルシート剤や、再生医療用の高機能な細胞培養シートなど、医薬・バイオ分野への応用を目指している。本研究の中では、これまでに開発した温度応答性ナノファイバーシートの基礎的な特性調査（吸水⇄放水特性、薬剤の放出機能、細胞培養に対する毒性）を行った。

2. 温度応答性ナノファイバーの調製

はじめに、エレクトロスピンニング法によりナノファイバー化できる温度応答性高分子を合成した。ナノファイバー化した温度応答性高分子は、そのままでは水に溶解してしまうため、含水ゲル化に必要な不溶化処理を行い、温度によって吸水⇄放水を可逆的に繰り返せるナノファイバーシートを作製した（図1）。

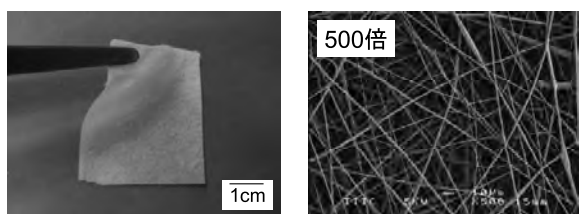


図1 作製した温度応答性ナノファイバーシート
(左:外観写真、右:電子顕微鏡による拡大写真)

3. 温度応答性ナノファイバーの吸水⇄放水特性

温度応答性ナノファイバーシートの温度を制御しながら、吸水⇄放水特性に関して調査を行った（図2）。はじめに、ナノファイバーシートを室温（23℃）に保持しながら、水を徐々に加えていった。ナノファイバーシートは、自重の約10倍量の水を吸収して膨潤し、柔らかい半透明のゲル状のシートになった。この時、乾燥状態に比べて、シート面積が約1.7倍に広がった。次に、36℃までの昇温を行った。ナノファイバーシートは、水を周囲に放出しながら収縮し、乾燥状態と同じ大きさまで小さ

くなった。この時、取り込んでいた水の95%以上を再放出できることがわかった。また、この“吸水⇄放水”挙動は、1分以内の短時間で、可逆的に何度も繰り返すことができた。通常、温度応答性高分子を用いた含水ゲルの塊（数cm程度）では、ゲル内部への水の出入りに時間がかかり、温度応答には数時間以上かかってしまう。この速い応答性は、ナノファイバー化によって得られた大きな比表面積の効果によるものと思われる。

次に、ナノファイバーシートを構成しているファイバー1本1本の温度応答性を、光学顕微鏡を用いて拡大観察した。23℃の時は、ファイバーは膨潤し太くなっているのに対して、36℃の時は、収縮し細くなっていた。このことから、ナノファイバーシートの温度応答性は、ファイバー1本のレベルで起きていることが確認できた。

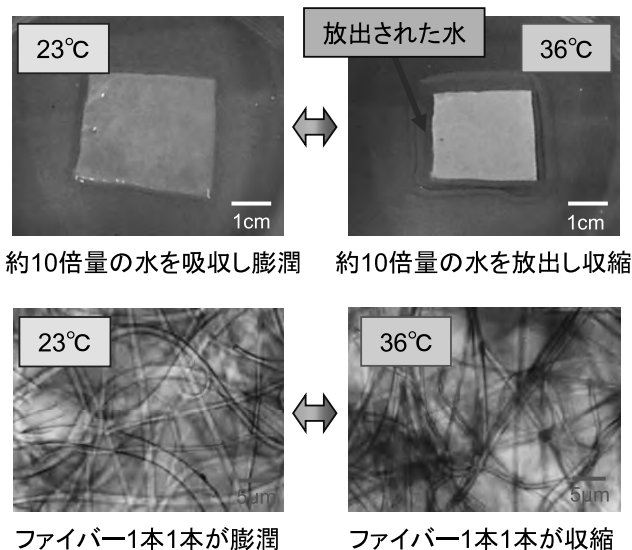


図2 温度応答性ナノファイバーシートの
吸水⇄放水挙動(上:シート全体、下:光学顕微鏡像)

次に、ナノファイバーシートが吸水⇄放水を引き起こす転移温度について、示差走査型熱量計（DSC）を用いて精密に測定した（図3）。ナノファイバー4.6mgに、室温にて水を充分吸収させた後、昇温/降温速度1℃/minで測定を行った。温度応答性ゲルの温度応答は、昇温時の収縮過程は吸熱ピーク、降温時の膨潤過程は発熱ピークとして観測される。昇温時・降温時どちらも28℃付近にピークが見られ、このナノファイバーシートの転移温度は、ちょうど室温（23℃）と体温（36℃付近）の間に存在することが確認できた。転移温度は、用いる温度応答

性高分子の化学組成の親水・疎水バランスを調整することで、低温側や高温側にシフトさせることが可能である。

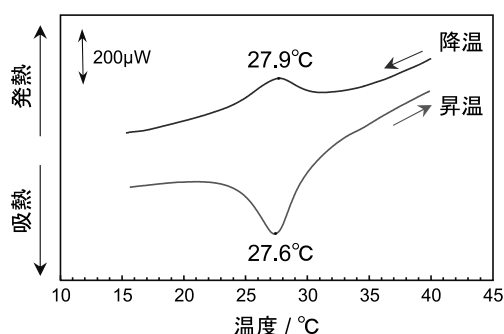


図3 温度応答性ナノファイバーの示差走査型熱量測定

4. 温度応答性ナノファイバーの薬剤放出機能

ナノファイバーシートの医薬品・化粧品シートへの応用を目指して、薬剤放出機能についての調査を行った。水溶性の薬剤としてヒドロキノン（美白効果、0.025 wt% 水溶液に調整）、微粒子状の薬剤として、銀ナノ粒子（抗菌効果、平均粒径 10nm、0.01 wt% 水分散液に調整）について、それぞれ室温にて、ナノファイバーシートに取り込ませた後、36°Cで再放出させた。吸光度測定の結果から、各々の濃度を求めて、再放出率を算出した結果、水溶性の薬剤であるヒドロキノンは、93%が水と一緒に再放出できることがわかった。それに対して、微粒子状の薬剤である銀ナノ粒子は、60%のみが再放出され、残りはナノファイバー内に取り込まれたままとなった。

5. 温度応答性ナノファイバーの細胞毒性の調査

ナノファイバーシートの細胞培養シートへの応用を目指して、ここでは、細胞毒性に関する調査を行った(図4)。はじめに、ナノファイバーシートをφ14mmに型抜きして、市販の細胞培養用マルチプレートの底面にセットした。

次に、浮遊系の細胞（Jurkat 細胞：ヒト T リンパ腫由来）を 1×10^4 個/ウェルとなるように入れて1週間培養を行い、増殖した細胞数を計測した。ナノファイバーシートを入れなかった場合は、 22×10^4 個、ナノファイバーを入れた場合は、 24×10^4 個まで増殖した。両者に、ほぼ同等の増殖能が見られたことから、ナノファイバーシートに、細胞培養への悪影響・毒性は確認されなかった。

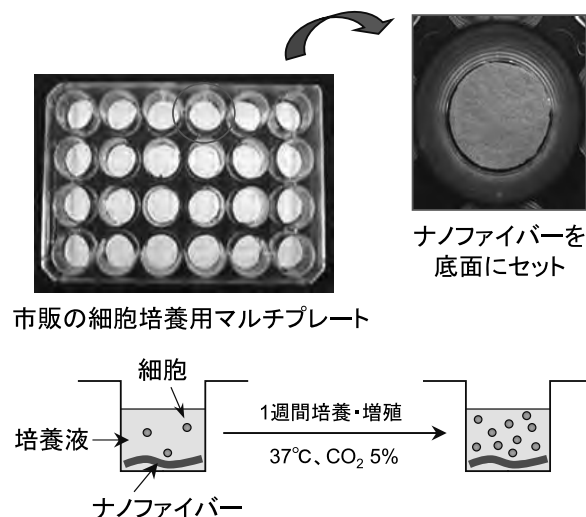


図4 温度応答性ナノファイバーシートを入れた細胞培養プレートでの細胞増殖実験

6. 結論

温度応答性ナノファイバーシートを作製し、医薬・バイオ分野への応用を目指して種々の特性調査を行った。室温から36°Cへ昇温させることで、自重の約10倍量の水を迅速に放出することができた。さらに、水溶性の薬剤であれば、取り込んだ量の93%を水と一緒に再放出できた。また、細胞培養に対する毒性は見られなかった。

1) Y. Takegami, Y. Yokoyama et al., *J Biomed Mater Res B*, 98(B), 110-113 (2011)

キーワード：ナノテクノロジー，ナノファイバー，エレクトロスピニング法，温度応答性ゲル

Development of Polymer Nanostructure Formation Technology for use in the Medical and Bio Fields

Yoshiyuki YOKOYAMA, Koji TAKATA, Ryoji KANAMARU (Toyama Industrial Technology Center)

We are considering the application of a sheet created from a thermo-responsive gel that has been converted into a nano-fiber sheet, which can repeatedly alternate between absorbing and discharging water depending on the temperature. In this research, we have conducted a basic investigation of this sheets properties with the goal of using this sheet as a high-functionaitly drug release sheet, or a cell culture sheet. In bulk form (a chunk of a few centimeters), this thermo-responsive gel takes more than one hour to convert from absorption to discharge. However, when converted into a nano-fiber sheet it was able to rapidly convert from absorption to discharge in less than one minute. After using this sheet to absorb water-soluble drugs at a low temperature, at a high temperature it was possible to discharge more than 93% of the absorbed drugs. When performing cell cultivation on this sheet we observed cell growth similar as when using market-available cellular cultivation plastic, and we did not observe any cell toxicity.