

微小流体回路を用いたジャイアントベシクル形成法の開発

産業機械工学科 米原 径 指導教員 小穴英廣講師

背景・目的

従来の薬物治療においては、薬剤の治療効果の向上と副作用の軽減を同時に実現できないという問題が存在する。この問題を解決するために、薬物の体内動態を制御し、目的部位のみに必要な量の薬物を送り込むドラッグデリバリーシステム（以下 DDS）という新しい薬物投与方法が考えられるようになった。DDS を実現するためには、薬剤の運搬媒体に薬剤を必要量封入する機能、目標部位まで確実に運搬する機能、そして目的部位に到達した時点で薬物を放出する機能が要求される。この要求機能を実現できる運搬媒体として、リポソームに代表されるような、膜構造を有し、内部に液相を含む小胞体（ベシクル）が注目されている。

そして、このような小胞体の膜を形成する物質の一つとして、互いに反対の電荷を持った二種類のブロック共重合体がある。これらをそれぞれ別々に溶かした水溶液を混合させるだけで小胞体が形成されるというものである。この小胞体を PICsome (Polyion Complex polymersome) と呼ぶ。PICsome は、生理条件下で安定な膜を生成することなどから、DDS における運搬媒体として利用可能なのではないかと考えられる。

本研究では、PICsome を DDS における運搬媒体として利用するため、一様粒径 PICsome 形成手法の開発を試みた。

PICsome 形成条件の検討

PICsome の形成条件を詳しく調べるため、様々な塩濃度やポリマー濃度で実験を行った。

カチオン性ブロックコポリマー PEG-P(Asp-AP)₁₀₀ と、アニオン性ブロックコポリマー PEG-P(Asp)₁₀₀ を、それぞれ別々に Tris-HCl(pH7.4), NaCl に溶かし、それら二つの溶液を混合・攪拌した後、位相差顕微鏡で観察を行った。実験は、0.62mg/ml PEG-P(Asp-AP)₁₀₀, 0.31mg/ml PEG-P(Asp)₁₀₀, 10mM Tris-HCl, 150mM NaCl (これを標準条件とする)、塩濃度が標準条件の 1/3 のもの、各ポリマー濃度が 1/2 のものの三種類について行った。

いずれの溶液においても、ベシクルではなく、中身が一様に詰まった球体が観察された (Fig.1)。この結果より、PEG-P(Asp-AP)₁₀₀ 溶液と PEG-P(Asp)₁₀₀ 溶液を混合しただけではベシクルは形成されないと考えられる。ベシクルを形成するためには、内部に水が浸入することが必要ではないかと考えられた。

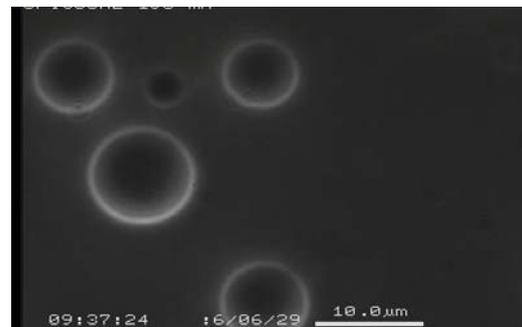


Fig.1 観察された球体(位相差像)

混合溶液中への純水の挿入

先の実験の標準条件で観察を行い、観察中に試料の中に、横からスライドガラスとカバーガラスの間に純水を導入し、そのときの変化の様子を観察した (Fig.2).

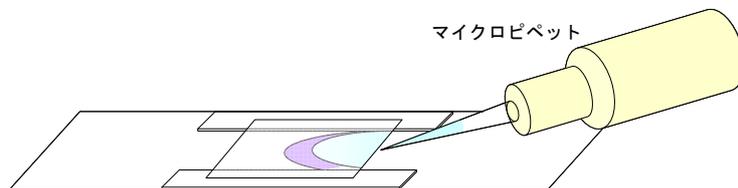


Fig.2 マイクロピペットによる水の導入

Fig.3 は水を挿した後の溶液の様子である。中身が一様に詰まった球体に純水を導入することでベシクルが形成されていることがわかる。



Fig.3 ベシクル形成の様子

微細流路を用いたベシクル形成

先の実験のベシクル形成法を利用し、微細流路内でのベシクル形成を試みた。

PDMS を用いたソフトリソグラフィで Y 字構造の微細流路を作製し、微細流路の 2 点から 0.62mg/ml PEG-P(Asp-AP)₁₀₀, 0.31mg/ml PEG-P(Asp)₁₀₀, 10mM Tris-HCl, 150mM NaCl と純水を別々に流した (Fig.4).

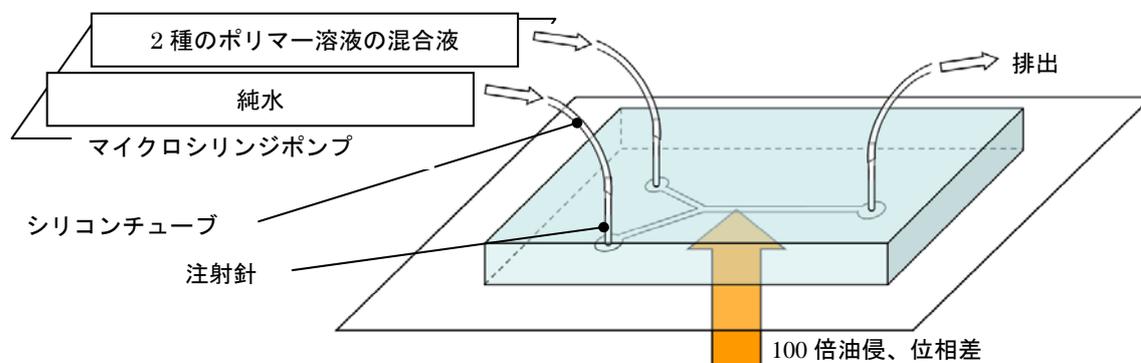


Fig.4 Y字型流路を用いた実験の様子

Fig.5 は流路中央の様子である。流路中央ではベシクルが形成された。しかし、流路端ではベシクルは形成されなかった。



Fig.5 流路中央で形成されたベシクル（位相差像）

結論

- ・PEG-polycation と PEG-polyanion の溶液を混合すると、中身が一様に詰まった粒子が形成された。
- ・形成した粒子の周りを純水で希釈することで ベシクルが形成されることがわかった。
- ・流路内においてもベシクルが形成された。ただし、その形成効率は悪く、また同一粒径ではない。形成効率をあげるためには、混合溶液を均一に希釈できる流路構造が必要である。また、同一粒径ベシクルを形成するためには、同一粒径の中身が一様に詰まった粒子を形成する方法を開発する必要があると考えられる。