衝撃波 DDS 開発のための マイクロカプセルの試作と力学的特性*

山野井 一郎^{*1}, 玉川 雅章^{*2}, 川島 真一^{*3}

Prototype of Microcapsules and Their Mechanical Properties for Developing Shock Wave Drug Delivery Systems

Ichiro YAMANOI^{*4}, Masaaki TAMAGAWA and Shinichi KAWASHIMA

^{**} Graduate School of Life Science and Systems Engineering, Kyushu Institute of Technology,
2-4 Hibikino, Wakamatsu-ku, Kitakyusyu-shi, Fukuoka, 808 0196 Japan

This paper describes prototype of microcapsule including a bubble for Shock Wave Drug Delivery Systems and evaluation of their mechanical properties. Microcapsules are generated by dropping mixed solution of Sodium Alginate and Polyvinyl Alcohol (PVA) into Calcium Chloride solution (CaCl_2). Young's modulus are estimated by an aspiration experiment and its numerical analysis. Liquid and gas are injected into the microcapsules on micromanipulation system by hand. The result showed that microcapsules generated by low concentration of Sodium Alginate, PVA, and CaCl_2 are able to be injected by micropipette and to make the microcapsule including a bubble. Furthermore, we found the existence of threshold value of apparent Young's modulus between able or disable of injection on the assumption of visco elasticity of microcapsule shell.

Key Words: Medical Engineering, Drug Delivery Systems, Microcapsule, Shock Wave, Visco Elasticity

1. 緒 言

衝撃波の技術は、非侵襲的な結石治療である集束衝撃波結石破碎治療(ESWL)や骨形成術をはじめとして種々の医療技術⁽¹⁾に応用されている。衝撃波は作用時間が短く単位時間当たりのエネルギーの作用量が多いなどの特徴があり、現在、それらの特徴を生かした新たな応用技術開発が求められている。本研究では衝撃波技術をドラッグ・デリバリー・システム(DDS)におけるカプセル破壊に利用することを考える。

衝撃波 DDS では、薬物と気泡を内包したマイクロカプセルを血流中に流し、患部付近で衝撃波により破壊する。図 1 に衝撃波 DDS の概念図を示す。気泡内包マイクロカプセルに衝撃波が作用すると、カプセル内の気泡は周囲のカプセル壁の存在により不安定な振動をして崩壊に至る。この際に、気泡は高速のジェット流であるマイクロジェットを発生する。このジェットがカプセル壁を内部から貫通することでカプセルの効率よい破壊が期待できる。

Fig.1 The schematic of shock wave Drug Delivery Systems

衝撃波 DDS を開発するに当たり、効率よく破壊できる気泡内包マイクロカプセルの設計方法および製作法の検討が必要となる。既報⁽²⁾では、カプセル内の気泡変形挙動に関するモデル実験と解析を行い、弾性曲率壁近傍での気泡変形挙動の基本的性質を調べた。本報では、衝撃波 DDS で用いる気泡内包マイクロカプセルを試作し、その製作法の検討を行う。ここでは、まず、マイクロカプセルを生成し、その力学的特性を計測する。次に、マイクロピペットによりカプセルに液体と気体を注入して気泡内包マイクロカプセルを製作し、力学的特性の製作への影響について調べる。

* 原稿受付 2004 年 12 月 24 日。

^{*1} 正員, 京都大学大学院エネルギー科学研究科(☎ 606-8501 京都市左京区吉田本町)。

^{*2} 正員, 九州工業大学大学院生命体工学研究科(☎ 808-0196 北九州市若松区ひびきの 2-4)。

^{*3} 学生員, 九州工業大学大学院生命体工学研究科。

E-mail: yamanoi@cbmlife.kyutech.ac.jp

Fig.2 The schematic of the devise for microcapsule generation

2. マイクロカプセルの生成と評価

2・1 マイクロカプセルの生成 本研究では、アルギン酸ナトリウム水溶液にポリビニルアルコール (PVA) を添加した混合溶液を塩化カルシウム水溶液に滴下してカプセルを生成する。この際、カプセルの力学的特性を変化させるため、アルギン酸ナトリウム濃度を 0.5, 1.0, 2.0, 3.0wt%, PVA 添加量を 0, 0.01, 0.05, 0.1g, 塩化カルシウム濃度を 1.0, 10, 20wt% と変化させる。ここでのカプセル生成には、小さなカプセルを作ることができるマイクロカプセル生成装置を用いる。図2はこの装置の概略図で、10ml 用の注射器の内部に 1ml 用の注射器を同軸で固定し、中心軸に対して斜めにチューブを固定している。このチューブに 0.4MPa の圧力をかけて、内部の注射器の先端付近に整流のための旋回流を生じさせる。この状態で、内部の注射器から混合溶液を押し出して、注射器の下部の塩化カルシウム水溶液に滴下し、マイクロカプセルを生成する。

2・2 マイクロカプセルの生成評価 表1は、アルギン酸ナトリウム濃度と塩化カルシウム濃度を变化させた時のマイクロカプセル生成への影響を表す。表中の○は、球形のマイクロカプセルを生成できる条件を表し、×はできない条件を表す。表1(a)は、混合溶液に PVA を含まない場合を、表1(b)は PVA を含む場合を表す。表1(a)での、アルギン酸ナトリウム濃度が小さい場合では、滴下により生成するゲルの形状がゆがみ、球形のマイクロカプセルを生成できない。また、表1(b)から、アルギン酸ナトリウム濃度が 3.0wt% と大きくなるとマイクロカプセルを生成できないことがわかる。これは、混合溶液の粘性が大きくなり、注射器から押し出せないためである。なお、生成するカプセルの大きさはカプセルの組成により異なり、それぞれの組成における平均半径は 16 μ m~80 μ m である。

Table 1 Evaluation of microcapsule generation

(○: able of generation ×: disable of generation)

(a) Without PVA

		Calcium Chloride (wt%)		
		1.0	10	20
Sodium Alginate (wt%)	0.5	×	×	×
	1.0	×	×	×
	2.0	○	○	×
	3.0	○	○	○

(b) With PVA

		Calcium Chloride (wt%)		
		1.0	10	20
Sodium Alginate (wt%)	0.5	○	○	○
	1.0	○	○	○
	2.0	○	○	○
	3.0	×	×	×

3. 吸引実験によるヤング率の計測

マイクロカプセルの力学的特性は、カプセルの組成により変化すると考えられる。ここでは、生成したマイクロカプセルをマイクロピペットにより吸引し、有限要素モデルでその変形形状を再現することで、カプセル殻のヤング率を同定し、カプセル組成のヤング率への影響を調べる。

3・1 マイクロピペットによる吸引実験 吸引実験には、図3(a)に示すマイクロマニピュレーションシステムを用いる。マニピュレーションシステムでは、プレパラート上の対象物を xyz 軸ステージに取付けた二本のマイクロピペットにより顕微鏡下で操作できる。吸引実験では、一方のピペットの後端にアスピレータ (アズワン, AS-01) を取付け、プレパラート上の液滴に含まれるマイクロカプセルを 90kPa の吸引圧で吸引する。図3(b)は吸引実験の写真である。吸引しているカプセルの半径は 100 μ m で、マイクロピペットの内径は 50 μ m である。ここでのピペットの先端は、ピペットの中心軸に対して 50 度傾いている。このピペットを用いて、それぞれの組成のカプセルに対して吸引実験を行い、CCD カメラによりカプセルの変形形状を画像に取り込む。

3・2 数値解析によるヤング率の同定 吸引実験によるカプセルの変形形状は、カプセルの組成により変化する。それぞれの組成におけるカプセル殻のヤング率を同定するため、ピペットによる吸引を模擬した有限要素モデルを用いて数値解析を行う。解析には汎用有限要素解析ソフト ANSYS6.1 を用いる。

数値解析では、カプセルを殻とその内部の液体からなる二層構造とする。殻の厚さに関しては、生成させ

(a) Micromanipulation system (b) Microcapsule aspiration

Fig.3 Micromanipulation system and the microcapsule aspiration by micropipette

(a) Deformation geometry by microcapsule aspiration (b) Lower half of deformation geometry of capsule shell

Fig.4 Deformation geometry of microcapsule by numerical analysis for microcapsule aspiration

Fig.5 Effect of blending recipe of Sodium Alginate and Polyvinyl Alcohol on Young's modulus of microcapsule shell

たカプセルではカプセル半径の20%から50%程度であるが、この範囲では数値解析による変形状の違が見られない。したがって、ここでは、殻の厚さをカプセル半径の35%とする。殻と液体を均質で等方性を持つ非圧縮性の弾性体とし、ポアソン比を0.499とする。また、液体のヤング率を1Paとする。境界条件として、ピペットとカプセルの接触部の変位を0とし、ピペット内部にあるカプセル表面に、吸引圧90kPaを負荷する。これらの条件の下で、殻のヤング率を与えて計算を行う。この数値解析と前節の吸引実験でのカプセル変形状を比較し、それらの形状が最も近くなるヤング率をカプセル殻のヤング率と同定する。なお、数値解析ではヤング率を10kPa単位で変化させる。

図4(a)(b)は、カプセル吸引実験におけるカプセル変形状の解析結果の一例で、図4(a)は数値解析によるカプセル吸引の概観図で、図4(b)は変形したカプセル殻の下半分を表す。図4(b)を見ると、ピペット内部のカプセル殻が吸引により変形していることがわかる。

図5にアルギン酸ナトリウム濃度とポリビニルアルコール添加量および塩化カルシウム濃度を变化させた時のカプセル殻のヤング率への影響を示す。図5(a)の塩化カルシウム濃度が1.0wt%の場合を見ると、PVA添加量が同じであれば、アルギン酸ナトリウム濃度が

大きくなるとカプセル殻のヤング率も大きくなることがわかる。また、アルギン酸ナトリウム濃度が2.0wt%では、PVAを添加しない場合と比較してPVAを添加するとヤング率が大きくなり、0.01g添加する時に最もヤング率が大きくなる。これらの傾向は、塩化カルシウム濃度が10wt%、20wt%の場合にも同様に見られる。塩化カルシウム濃度によるヤング率への影響を見ると、同じ組成の混合溶液であれば、塩化カルシウム濃度が大きくなるとヤング率は小さくなる傾向が見られる。

4. 気泡内包マイクロカプセルの製作

4・1 気泡内包マイクロカプセルの製作 気泡内包マイクロカプセルの製作には、マイクロマニピュレーションシステムを用いる。図6は、半径30μmのマイクロカプセルを直径45μmのホルダーで左側から固定し、右側から先端径6μmマイクロピペットをカプセルに押し当てている時の写真である。この後、ピペット先端をホルダー方向へ移動する。その際、ピペットをカプセル殻に突き刺すことができれば、ピペットにあらかじめ入れている水と空気の混合液をカプセル内に注入する。注入後にピペットを引き抜くことで、気泡内包マイクロカプセルができあがる。

Fig. 6 Injection into microcapsule by micropipette

4・2 気泡内包マイクロカプセルの製作評価 図7には、製作した半径 $50\mu\text{m}$ の気泡内包マイクロカプセルを示す。カプセルの組成は、混合溶液のアルギン酸ナトリウム濃度が $2.0\text{wt}\%$ 、PVA 添加量が 0g で、塩化カルシウム濃度が $1.0\text{wt}\%$ である。この図より、カプセルは殻と水と空気の三層構造になっていることがわかる。カプセル半径が $50\mu\text{m}$ 以上の場合、どのような組成のカプセルにも、ピペットを突き刺して液体と気体を注入できる。しかし、半径が $35\mu\text{m}$ 程度のカプセルでは、カプセルの組成によってはピペットを突き刺すことができず、気泡内包マイクロカプセルを作れない。

表2は、アルギン酸ナトリウム濃度とポリビニルアルコール添加量および塩化カルシウム濃度を变化させた時の気泡内包マイクロカプセル製作の可否への影響を表す。ここでは、半径が $35\mu\text{m}$ 程度の球形のマイクロカプセルに対して気泡内包マイクロカプセルの製作を行う。表中の○はピペットをカプセル殻に突き刺し、カプセル内部に液体と気体を注入できることを表し、×はピペットを突き刺せないことを表す。—はマイクロカプセルを生成できないことを表す。

表2より、塩化カルシウム濃度が小さくなると、多くのカプセル組成で○を示すことがわかる。また、アルギン酸ナトリウムの濃度が小さく、PVA の添加量が少ない組成で○を示す傾向がある。したがって、アルギン酸ナトリウム濃度、PVA 添加量、塩化カルシウム濃度を小さくして生成したカプセルほど、ピペットを刺しやすくなることがわかる。

4・3 気泡内包マイクロカプセルの製作とヤング率 気泡内包マイクロカプセルを製作する際、カプセル殻が破断する応力をピペットで負荷することで、ピペットをカプセルに突き刺すことができる。一般に、応力とヤング率には関連があることから、気泡内包マイクロカプセル製作にはヤング率が関係すると考えられる。

図8にアルギン酸ナトリウム濃度 c とカプセル殻のヤング率 E を変化させた時の気泡内包マイクロカプセル

Fig. 7 Microcapsule including a bubble

Table 2 Evaluation of making of microcapsule including a bubble (○: able of making, ×: disable of making, —: disable of generation of microcapsule)

(a) Calcium Chloride 1.0wt%

		Polyvinyl Alcohol (g)			
		0	0.01	0.05	0.1
Sodium Alginate (wt%)	0.5	—	○	○	○
	1.0	—	○	○	○
	2.0	○	○	○	×
	3.0	○	—	—	—

(b) Calcium Chloride 10wt%

		Polyvinyl Alcohol (g)			
		0	0.01	0.05	0.1
Sodium Alginate (wt%)	0.5	—	○	○	○
	1.0	—	○	○	×
	2.0	○	○	○	×
	3.0	○	—	—	—

(c) Calcium Chloride 20wt%

		Polyvinyl Alcohol (g)			
		0	0.01	0.05	0.1
Sodium Alginate (wt%)	0.5	—	○	○	×
	1.0	—	○	×	×
	2.0	—	○	×	×
	3.0	○	—	—	—

製作の可否を示す。ここでは、混合溶液中の PVA の有無で場合分けをしている。PVA を含む場合では、気泡内包マイクロカプセル製作の可否の間には境界が存在し、点線で示す境界線より下側の領域で気泡内包マイクロカプセルを作れないことがわかる。PVA を含まない場合では、いずれの組成のカプセルもこの下側の領域に入っているが、PVA を含む場合とは異なり、気泡内包マイクロカプセルを作れる。

以上より、気泡内包マイクロカプセルの製作の可否をヤング率の大きさだけで判定できず、アルギン酸ナトリウム濃度と PVA の有無の影響を考慮する必要があることがわかる。

4・4 粘弾性効果の気泡内包マイクロカプセル製作への影響 前節より、気泡内包マイクロカプセル

Fig. 8 Positioning map of making of microcapsule including a bubble between Young's modulus E and Sodium Alginate concentration c

の製作の可否をヤング率だけでは判定できないことがわかった。実際は、ピペットによるカプセル変形は動的であり、カプセルの粘弾性の影響により、作用する荷重は増加すると考えられる。これは、粘弾性の影響を考慮することで、ヤング率が見かけ上変化することを意味する。したがって、本節では、カプセルの動的な変形を考慮に入れて、見かけのヤング率により製作の可否を整理することを試みる。前節より、製作の可否にはアルギン酸ナトリウム濃度が関係することがわかっているため、粘弾性の減衰係数がアルギン酸ナトリウム濃度の関数であると仮定する。

まず、減衰係数 ξ のカプセルにピペットを押した時の変形を有限要素解析により調べる。図 9(a) は $\xi = 0$ の時の、ピペットによるカプセル変形の 2 次元軸対称の有限要素モデルである。半球部分は殻と液体からなるカプセルで、カプセルの半径は $37.5\mu\text{m}$ 、殻の厚さはカプセル半径の 35% の $13.1\mu\text{m}$ である。左の長方形部分は中実棒としたマイクロピペットで、 r 方向の半径は $3\mu\text{m}$ である。右上部分は肉厚 $5\mu\text{m}$ のホルダーで、カプセルと接触している。カプセル殻のヤング率を E 、ポアソン比を $\nu = 0.499$ とする。また、内部液体を弾性体とし、ヤング率を 1Pa 、ポアソン比を 0.499 とする。境界条件として、対称軸上の r 方向変位と、ホルダーと殻の接触部分の r, z 方向変位を 0 とし、ピペットと殻の接触部分の摩擦を 0 とする。これらの条件の下で、カプセル殻の減衰係数 ξ とヤング率 E を変化させて、 z 方向に $U_z = 100\mu\text{m/s}$ の一定速度で変位するピペットによるカプセル変形を調べる。この時の z 方向の垂直応力を σ_z と定義する。

Fig. 9 Finite element model simulating injection into a microcapsule by a micropipette and its deformation shape after pushing micropipette $10\mu\text{m}$

Fig. 10 Effect of Damping coefficient ξ of capsule shell on dimensionless normal stress σ_z/E

図 9(b) にピペットを z 方向に $10\mu\text{m}$ 変位させた時のカプセルの変形形状を示す。ピペットの左端には荷重がかかっており、ピペット左端の σ_z を σ_z とする。

図 10 は減衰係数 ξ の垂直応力 σ_z/E への影響を表す。これより、 ξ が大きくなると σ_z/E が線形的に大きくなることがわかり、 $E = 80, 160, 240$ と変化させても、ほぼ同一直線の

$$\sigma_z/E = 1.74(1 + 9.72\xi) \quad \cdots(1)$$

で近似できることがわかる。減衰係数 ξ が大きくなると応力 σ_z が大きくなることから、ヤング率は見かけの上で大きく見積もられる。この時の見かけのヤング率を E' とすると、

$$E' = E(1 + 9.72\xi) \quad \cdots(2)$$

とすることができる。

次に、この見かけのヤング率 E' で気泡内包マイクロカプセル製作の可否を整理する。前節より、混合溶液に PVA を含む場合では、製作の可否の境界線はヤング率 E とアルギン酸ナトリウム濃度 c に関係することがわかっている。したがって、 ξ を濃度 c の関数とすること

Fig. 11 Effect of Sodium Alginate concentration c on damping coefficient ξ

で、ヤング率 E と濃度 c に依存する境界線を見かけのヤング率 E' のみで表すことができると考えられる。ここで、製作の可否の境界となる見かけのヤング率のしきい値を E'_{th} と定義する。図 11 は、混合溶液に PVA を含む場合、アルギン酸ナトリウム濃度 c と減衰係数 ξ の関係を表す。ここでは、 $E'_{th} = 250, 300, 350$ とした時の結果を示している。いずれの E'_{th} においても、濃度 c に対して ξ は線形であることがわかる。

図 12 はアルギン酸ナトリウム濃度 c とカプセル殻の見かけのヤング率 E' を変化させた時の気泡内包マイクロカプセル製作の可否を表す。混合溶液に PVA を含む場合の E' は、 $E'_{th} = 250$ での減衰係数 ξ を用いて求めている。これより、製作の可否をアルギン酸ナトリウム濃度 c に関係なく見かけのヤング率 E' のみで整理できていることがわかる。なお、PVA を含まない場合も、適切な減衰係数を考慮することで同様に整理できる。

以上より、カプセル殻を粘弾性体とし、その減衰係数がアルギン酸ナトリウム濃度の関数であると仮定することで、気泡内包マイクロカプセル製作の可否を見かけのヤング率により整理できることがわかる。

5. 結 言

本研究では、衝撃波 DDS の開発にあたり、マイクロカプセルを生成し、その力学的特性を評価した。また、マイクロピペットによりカプセルに液体と気体を注入して、気泡内包マイクロカプセルを製作し、力学的特性の製作への影響について検討した。その結果、以下の結論を得た。

- (1) カプセル生成に際して、混合溶液のアルギン酸ナトリウム濃度を大きくすると、カプセル殻のヤング率は大きくなった。また、ポリビニルアルコールを添加すると、ヤング率は大きくなった。
- (2) アルギン酸ナトリウム濃度とポリビニルアルコール添加量を小さく、塩化カルシウム濃度を小さくして生成したカプセルには、マイクロピペットを突き刺して液体

Fig. 12 Positioning map of making of microcapsule including a bubble between apparent Young's modulus E' and Sodium Alginate concentration c

と気体を注入することができ、気泡内包マイクロカプセルを製作できた。

- (3) カプセル殻を粘弾性体とし、その減衰係数がアルギン酸ナトリウム濃度の関数であると仮定することで、気泡内包マイクロカプセル製作の可否を見かけのヤング率により整理できた。

謝 辞

本研究の一部は、科学研究費基盤研究(B)(2)16360092、萌芽研究 16656065 の補助を受けて行われた。また、カプセル製作に助力を頂いた九州工業大学修士二年の長崎仁也氏に謝意を示す。

文 献

- (1) たとえば、衝撃波医療法研究会、第 14 回 ME 学会秋季大会講演論文集、(2000)
- (2) 山野井一郎、玉川雅章、衝撃波 DDS のための曲率弾性壁近傍での気泡変形挙動解析、機械学会論文集 A 編、70-697、(2004)、1269-1275
- (3) 山野井一郎、玉川雅章、衝撃波 DDS のための曲率弾性壁近傍での気泡変形挙動解析 (第 2 報、気泡内気体と曲率弾性壁の影響)、機論、71-707、B (2005)、1762-1767