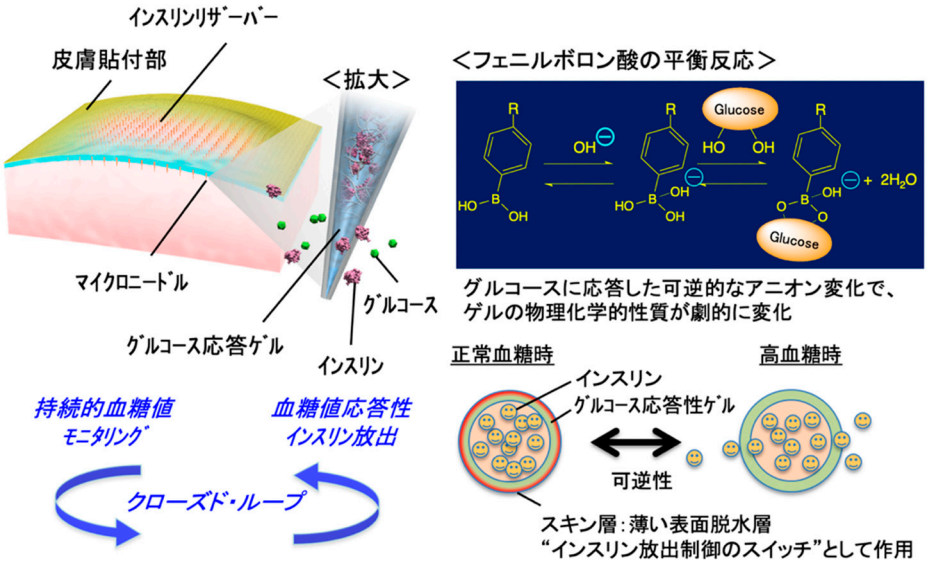
84　貼るだけ人工膵臓デバイスの開発と医学応用	菅波　孝祥

【目的】本研究では、独自に考案した“グルコース応答性ゲル”を用いて、血糖変動に応答して自律的にインスリンを放出する人工膵臓様デバイスを開発し、革新的な糖尿病治療の実現を目指す。糖分子と可逆的に結合するフェニルボロン酸を高分子ゲル中に導入すると、その物理化学的性質が劇的に変化し、ゲル表面の物質交通が遮断される。この“スキン層”と呼ばれる薄い脱水収縮層は極めて短時間で可逆的に生じるため、濃度勾配に従って拡散放出されるインスリンの制御スイッチとして利用することを着想した。これまでに、グルコース応答性ゲルとカテーテル、中空糸、マイクロニードルなどを融合させて人工膵臓デバイスを作製してきた。スケールアップと侵襲性の低減を両立する方策として最終的にマイクロニードルを選択し、本研究では、臨床応用に向けた要素課題の解決を目的とした。

【方法と結果】1. マイクロニードル融合型デバイスの作製：当初、再生絹フィブローインを用いて、多孔性でかつ連通孔様の微小構造を有する材料を新規に開発し、マイクロニードル融合型デバイスを作製した。グルコース濃度依存性のインスリン放出やマウス皮膚を用いて良好な刺入性を確認したが、ヒト糖尿病治療に十分なインスリン放出能が得られないと判断し、グルコース応答性ゲルのみでマイクロニードルを作製することを試みた。ゲル組成として、モノマー濃度や架橋密度、ボロン酸組成を変化させたところ、刺入に必要な力学的強度と十分な水和によるインスリン放出能を両立する適切な条件を見出すことができた。グルコース負荷試験や絶食飢餓状態において、血糖依存性にゲルタブレットからインスリンが放出されることを確認した。2. テレメトリーシステムを用いたリアルタイム機能評価：デバイスを装着後、どの程度のタイムラグで効果が発揮されるか、また糖尿病合併症の主要な原因となる血糖日内変動に対してデバイスが有効性を示すかなどは、臨床応用時に非常に重要な観点となる。そこで、テレメトリーシステムを用いて、血糖値のリアルタイム連続測定を実施した。テレメトリーシステムの利点として、リアルタイムに連続測定が可能なこと、2〜3 週間の長期データの取得が可能なこと、採血不要でラットのストレスがないことなどが挙げられた。3. マイクロニードル穿刺部位の病理組織学的解析：本デバイスは、表皮バリアを破ってインスリンを投与することにより効果を発揮する。本研究では、種々のマイクロニードルにより明確な穿刺痕を観察し、病理組織学的にマイクロニードルが皮膚上皮層を穿破していることを確認した。一方、皮膚の穿刺痕は 1 時間後には概ね消失し、皮膚へのデメージは必要最小限と考えられた。

貼るだけ人工膵臓の概要



84. 貼るだけ人工膵臓デバイスの開発と医学応用

菅波　孝祥

名古屋大学 環境医学研究所 分子代謝医学分野

Key words：人工膵臓，フェニルボロン酸，インスリン，糖尿病，医工連携

緒　言

世界に類を見ない速度で高齢化が進行する本邦では、糖尿病患者が 1,000 万人を数え、その克服は最重要課題の 1 つである。インスリン療法は糖尿病治療の根幹を成す一方、患者や介護者の QOL を著しく損なう上、意識障害等の重篤な症状に繋がる低血糖の危険性を有する。また糖尿病合併症を予防するためには、より精密な血糖コントロールが必要だが、頻回の低血糖はむしろ予後を悪化させる。そこで低血糖発作を忌避する結果、既存の治療法では十分な血糖コントロールが得られていない。ペン型注射器による間欠的インスリン投与に加えて、最近では、マイクロコンピューター制御のインスリンポンプによる持続的なインスリン投与が欧米を中心に普及しつつあるが、これらも予め設定されたアルゴリズムに従ってインスリンを投与するにとどまり、オーダーメイド医療とは程遠いものである。

本研究では、独自に考案した“グルコース応答性ゲル”を用いて、血糖変動に応答して自律的にインスリンを放出する人工膵臓様デバイスを開発し、革新的な糖尿病治療の実現を目指す。糖分子と可逆的に結合するフェニルボロン酸を高分子ゲル中に導入すると、その物理化学的性質が劇的に変化し、ゲル表面の物質交通が遮断される。この“スキン層”と呼ばれる薄い脱水収縮層は極めて短時間で可逆的に生じるため、濃度勾配に従って拡散放出されるインスリンの制御スイッチとして利用することを着想した。我々は既に、シリコンカテーテルと融合させたデバイスを作製して、マウスにおいて血糖依存性にインスリンを放出し、適切に血糖値を制御できることを機能実証した［1］。本デバイスのインスリン放出はグルコース応答性ゲルの表面積と比例するため、次に、サイズバリア機能を有する血液透析用中空糸をグルコース応答性ゲルでコーティングし、その全周を有効面積とすることで大幅な効率アップに成功した［2］。また臨床応用を見据えて、種々の環境で 1 週間以上の機能持続性を得るため、グルコース応答性ゲルの温度耐性や生体適合性の向上等の改良を行った［2］。しかしながら、中空糸融合型デバイスは皮膚に装着する際の侵襲が大きいため、スケールアップと侵襲性の低減を両立すべく、マイクロニードル技術と融合させたデバイスを着想した（図 1）。本研究では、マイクロニードル融合型デバイスの社会実装に向けた要素課題の解決を目的とした。



図 1. スケールアップと低侵襲性の両立を目指して：マイクロニードル融合型デバイスの考案
独自に開発したグルコース応答性ゲルとシリコンカテーテル、血液透析用中空糸、マイクロニードルなどを融合させ、種々の人工膵臓デバイスを作製し、スケールアップと低侵襲性の両立を図ってきた。

方法および結果

本研究では、糖尿病・内分泌代謝学を専門とする研究代表者が臨床的な観点も踏まえてデバイスの機能評価を実施し、グルコース応答性ゲルの考案者で、生体医工学・材料工学を専門とする松元亮博士に取得したデータをフィードバックすることで、必要な要素課題を解決する。具体的には、以下の項目について検討を行った。

1. マイクロニードル融合型デバイスの作製

再生絹フィブローインを用いて、多孔性でかつ連通孔様の微小構造を有する材料を新規に開発し、シリコン製のモールドを用いてマイクロニードル融合型デバイスを作製した（図 2）。既に、*in vitro* においてグルコース濃度依存性のインスリン放出やマウス皮膚を用いて良好な刺入性を確認した［3〜8］。一方、再生絹フィブローインを用いたマイクロニードルでは、ヒト糖尿病治療に十分なインスリン放出能が得られないため、グルコース応答性ゲルのみでマイクロニードルを作製することを試みた。ゲル組成として、モノマー濃度や架橋密度、ボロン酸組成を変化させたところ、刺入に必要な力学的強度と十分な水和によるインスリン放出能を両立する適切な条件を見出すことができた。条件の最適化に至る過程では、グルコース応答性ゲルをタブレット状に成型し、Sprague Dawley（SD）ラット皮下に留置することで、皮膚刺入性とは独立したインスリン放出能を検討した。グルコース負荷試験や絶食飢餓状態において、血糖依存性にゲルタブレットからインスリンが放出されることを確認した（図 3）。

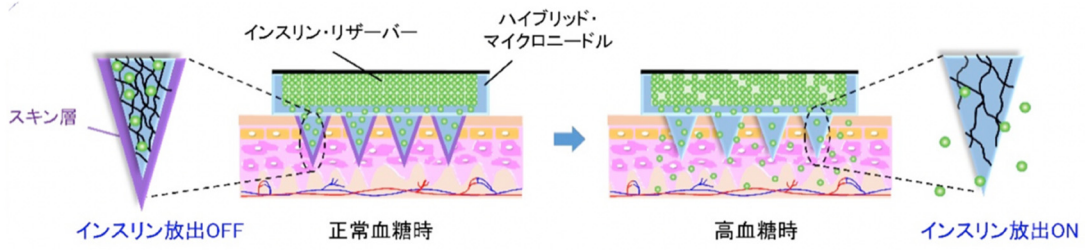


図 2. マイクロニードル融合型デバイスの構造と原理
グルコース応答性ゲルがマイクロニードルの表面をコーティングしており、周囲のグルコース濃度が低下すると、脱水反応が生じてスキン層と呼ばれるプラスチック様の薄膜が形成され、インスリン放出が遮断される。これに対して、周囲のグルコース濃度が上昇するとゲルは水和し、インスリン放出が再開する。

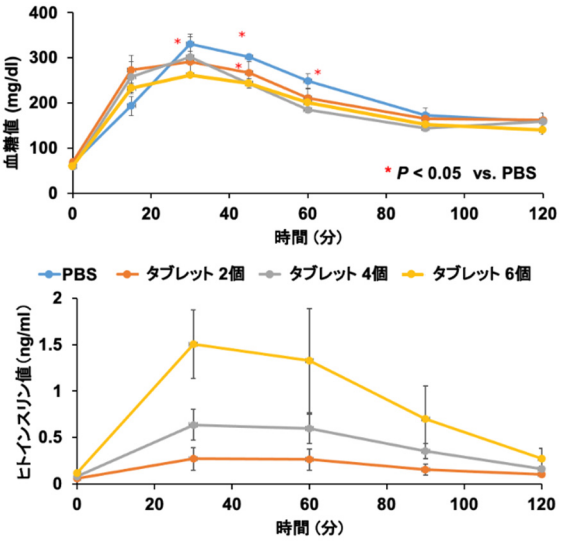


図 3. 正常ラットに対するゲルタブレットの効果
正常ラットの皮下にゲルタブレットを留置し、一晩絶食の後にグルコース負荷試験を行った。ゲルタブレットの個数に依存して、血糖低下作用と血中インスリン値の上昇が認められた。
N=3、P<0.05 vs. PBS 含有ゲルタブレット（One-way ANOVA、Tukey-Kramer 法）。

2. テレメトリーシステムを用いたリアルタイム機能評価

デバイスを皮膚に装着後、どの程度のタイムラグで効果が発揮されるか、また糖尿病合併症の主要な原因となる血糖日内変動に対してデバイスが有効性を示すかなどは、臨床応用時に非常に重要な観点となる。そこで、テレメトリーシステム（DSI 社）を用いて、血糖値のリアルタイム連続測定を実施した。血糖値センサーは SD ラットの腹部大動脈内、送信器は腹部皮下に留置し、比較検討のため、背部皮膚に実臨床で使用されている持続血糖モニタリング装置 FreeStyle リブレ Pro（Abbott 社）を装着した。グルコースを腹腔内投与したところ、テレメトリーシステム（動脈血）、FreeStyle リブレ Pro（皮下間質液）、尾静脈採血（静脈血）のいずれの方法においても、一過性の血糖上昇を観察した。テレメトリーシステムの利点として、リアルタイムに連続測定が可能なこと、2～3 週間の長期データの取得が可能なこと、採血不要でラットのストレスがないことなどが挙げられた（図 4）。

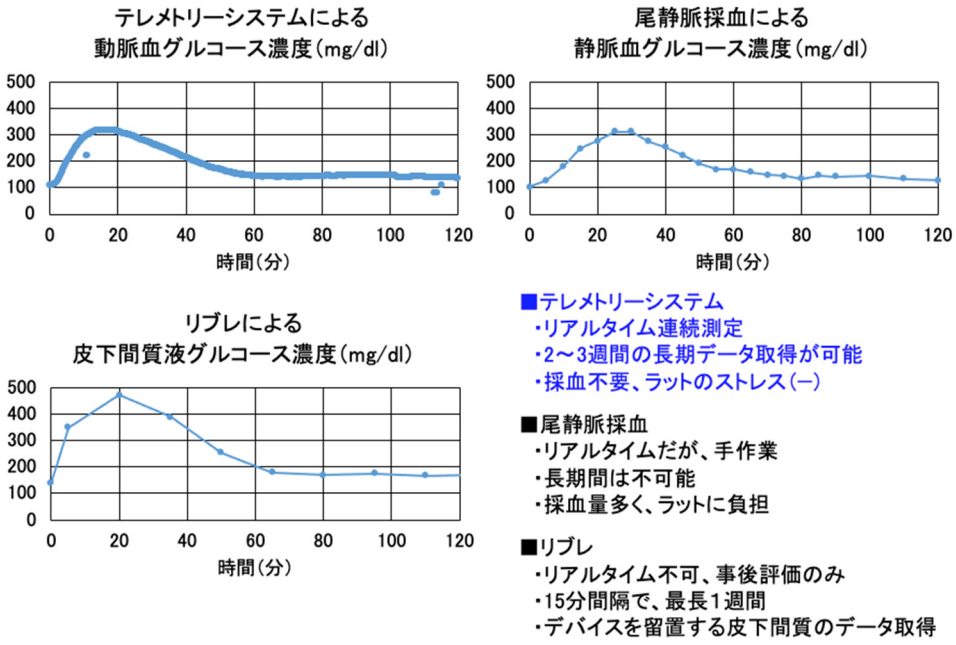


図 4. 正常ラットに対するグルコース負荷試験の血糖値変化
正常ラットに対するグルコース負荷試験を、テレメトリーシステム、FreeStyle リブレ Pro、尾静脈採血で解析し、それぞれの特徴を比較した。

3. マイクロニードル穿刺部位の病理組織学的解析

本デバイスは、表皮バリアを破ってインスリンを投与することにより効果を発揮する。従って、マイクロニードルの表皮穿破を確認し、皮膚の様々な環境（温度や血流、体動に伴う物理的刺激など）がインスリン放出に及ぼす影響を明確化することは極めて重要な課題である。また本デバイスは、最大 1 週間の連続使用を予定しているため、かぶれや痒みなど皮膚の恒常性に及ぼす影響、インスリン抗体の産生リスクなども評価する必要がある。そこで、様々なゲル組成でマイクロニードルを成型し、SD ラットの皮膚に装着後、すぐに取り外して 1 時間後まで観察した（図 5）。その結果、マイクロニードルにより明確な穿刺痕が観察され、ヘマトキシリン・エオジン染色や I 型コラーゲンの免疫染色など病理組織学的な評価により、マイクロニードルが皮膚上皮層を穿破していることを確認した。一方、皮膚の穿刺痕は 1 時間後には概ね消失し、皮膚へのデメージは必要最小限と考えている。

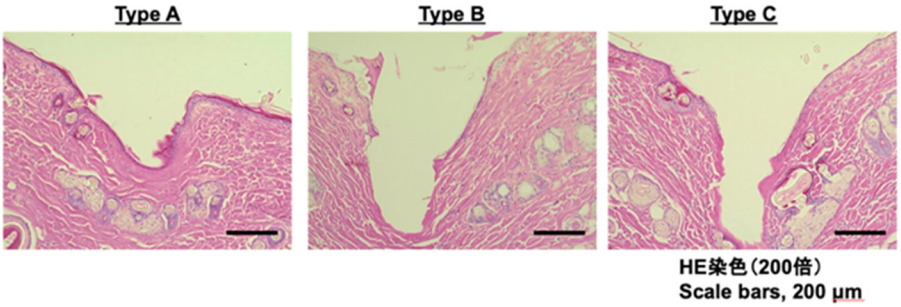


図 5. マイクロニードル穿刺部位の病理組織像
正常ラットの皮膚に種々のマイクロニードルを装着し、そのまま病理組織標本を作製して、ヘマトキシリン・エオジン染色を行った。ゲル組成の違いにより、皮膚上皮層の穿破に違いが生じた。

考　察

これまでに、独自に開発したグルコース応答性ゲルとカテーテル、中空糸、マイクロニードルなどを融合させて人工膵臓デバイスを作製してきた。スケールアップと侵襲性の低減を両立する方策として、最終的にマイクロニードルを選択し、臨床応用に向けた要素課題の解決に努めている。マイクロニードルは、主にワクチン（一過性）、あるいは化粧品（生分解性）用に使用されているが、体内で長期間機能性を保持するマイクロニードルは未だ実用化されていない。刺入性を担保する力学的強度は、トレードオフとしてインスリン放出能の低下につながる。そこで本研究では、この二律背反する要件を満たす新たなゲル組成を探索した。現状は、ゲルタブレットによるインスリン放出評価とマイクロニードルによる皮膚穿刺評価を別々に行っているが、今後、マイクロニードル融合型デバイスを作製して、皮膚刺入性とインスリン放出能を同時に評価する予定である。また様々な糖尿病治療薬の開発により、近年、糖尿病の治療目標は、単に血糖値を低下させることから、合併症の発症を予防し、健常者と変わらない生活を維持することにシフトしてきた。この点において、テレメトリーシステムを用いたリアルタイム血糖変動の測定は、デバイスの生体における機能評価に加えて、合併症の誘因となる血糖変動を詳細に解析することができるため、他の治療戦略との差別化にも有用と考えられる。さらに、長期間装着するマイクロニードルは未だ実用化されていないため、皮膚環境がマイクロニードルの機能に及ぼす影響やマイクロニードルが皮膚恒常性に及ぼす影響に関して、十分なデータ蓄積が必要と考えられる。これまでは、デバイスから放出されるインスリンの挙動を鋭敏に検出するために、ヒトリコンビナントインスリンを用いていたが、今後は臨床応用を見据えて、超速効型インスリン製剤を搭載したい。最近、超速効型インスリン製剤に血管拡張剤を添加することで、さらに吸収を早めた製剤が開発・上市された。マイクロニードルと血管拡張剤の組み合わせに関しては全く評価されていないため、今後の重要な検討課題となる。

共同研究者

本研究の共同研究者は、東京医科歯科大学生体材料工学研究所バイオエレクトロニクス分野の松元亮博士である。

文　献

1） Matsumoto A, Tanaka M, Matsumoto H, Ochi K, Moro-Oka Y, Kuwata H, Yamada H, Shirakawa I, Miyazawa T, Ishii H, Kataoka K, Ogawa Y, Miyahara Y, Suganami T. Synthetic "smart gel" provides glucose-responsive insulin delivery in diabetic mice. Sci Adv. 2017 Nov 22;3(11):eaaq0723. PMID: 29202033 doi: 10.1126/sciadv.aaq0723.

2) Matsumoto A, Kuwata H, Kimura S, Matsumoto H, Ochi K, Moro-Oka Y, Watanabe A, Yamada H, Ishii H, Miyazawa T, Chen S, Baba T, Yoshida H, Nakamura T, Inoue H, Ogawa Y, Tanaka M, Miyahara Y, Suganami T. Hollow fiber-combined glucose-responsive gel technology as an in vivo electronics-free insulin delivery system. Commun Biol. 2020 Jun 17;3(1):313. PMID: 32555343 doi: 10.1038/s42003-020-1026-x.

3) Chen S, Matsumoto H, Moro-Oka Y, Tanaka M, Miyahara Y, Suganami T, Matsumoto A. Smart Microneedle Fabricated with Silk Fibroin Combined Semi-interpenetrating Network Hydrogel for Glucose-Responsive Insulin Delivery. ACS Biomater Sci Eng. 2019 Nov 11;5(11):5781-5789. PMID: 33405670 doi: 10.1021/acsbiomaterials.9b00532.

4) Miyazaki T, Khan T, Tachihara Y, Itoh M, Miyazawa T, Suganami T, Miyahara Y, Cabral H, Matsumoto A. Boronic Acid Ligands Can Target Multiple Subpopulations of Pancreatic Cancer Stem Cells via pH-Dependent Glycan-Terminal Sialic Acid Recognition. ACS Appl Bio Mater. 2021 Sep 20;4(9):6647-6651. PMID: 35006967 doi: 10.1021/acsabm.1c00383.

5) Chen S, Miyazaki T, Itoh M, Matsumoto H, Moro-Oka Y, Tanaka M, Miyahara Y, Suganami T, Matsumoto A. A Porous Reservoir-Backed Boronate Gel Microneedle for Efficient Skin Penetration and Sustained Glucose-Responsive Insulin Delivery. Gels. 2022 Jan 24;8(2):74. PMID: 35200456 doi: 10.3390/gels8020074.