

# 血糖値制御のための薬物放出システムにおける

## グルコース減圧機構の高出力化に関する研究

### Improvement of Glucose-driven Decompression Unit in Drug-release System for Blood Sugar Control

○ 高木寛之 佐藤怜 ムンフジャルガルムンフバヤル

松浦祐樹 宮島久美子 荒川貴博 三林浩二 (東医歯大)

Hiroyuki TAKAGI, Rei SATO, Munkhbayar MUNKHJARGAL, Yuki MATSUURA, Kumiko MIYAJIMA, Takahiro ARAKAWA, Kohji MITSUBAYASHI, Tokyo Medical and Dental University

**Abstract:** In this work, performance of the decompression unit which converts chemical energy of the glucose to the mechanical energy for the drug-release system was enhanced by modifying its structure. The enhancing method is based on increasing oxygen consumption in glucose oxidation by enlarging area of the glucose oxidase (GOD) immobilized membrane per volume of the decompression chamber. Our conventional system required about ten times higher glucose concentration (about 100 mmol/l) than blood sugar level. In this study, 3 times higher decompression performance was obtained in the modified decompression unit with 4 times larger GOD immobilized membrane areas per unit volume of the cell, and this system was able to be operated at 25 mmol/l of glucose concentration. This suggests that the system can be applied for development of a chemo-mechanical system with pancreas-like function actuated by human blood sugar.

**Key Words:** Blood Sugar Control, Drug-release System, Chemo-mechanical Energy Conversion, Glucose Oxidase

#### 1. はじめに

生体内では膵臓より分泌されるインスリンとグルカゴンの作用により血糖値が制御調節されている。インスリンは血糖値を低下させる唯一のホルモンであるため、糖尿病患者は体外からのインスリン投与による血糖値制御が必要となる。近年ではインスリンポンプに血糖測定の情報フィードバックし、インスリン投与量を自動的に調整する人工膵臓が開発されている<sup>(1)</sup>。しかし、このような人工膵臓は外部からのエネルギー供給を必要とする等の課題がある。

一方、生体には、アデノシン三リン酸(ATP)を基質とするミオシンやキネシンなどの運動性タンパク質が存在している<sup>(2)</sup>。しかし一般的な酵素においても、その触媒反応を利用することで、化学エネルギーを力学エネルギーへと変換する人工素子の構築が可能である<sup>(3)</sup>。例えば、血糖成分であるグルコースを認識可能な酵素を用いて化学-力学エネルギー変換を行なうことで、血中グルコース濃度を自律的に調節する薬物放出システムの構築が可能と考えられる。

ここでは、グルコース酸化酵素(glucose oxidase, GOD)の触媒反応にて減圧駆動可能なエネルギー変換素子“有機エンジン”を構築し、血糖値の自律的な制御が可能なグルコースを認識し自立駆動する薬物放出システムを開発した。このシステムは新規な人工膵臓としての応用が期待され、研究が進められている<sup>(4)</sup>。しかしながら既報のシステムでは薬物放出の動作に血糖値の10倍程度のグルコース濃度が必要であった。そこで、本研究では、有機エンジンの形状を改良し高出力化を図り、従来より低濃度のグルコースにて駆動が可能な減圧機構の開発を行った。

#### 2. 実験方法

本薬物放出システムは、GODを用いたグルコース駆動式減圧機構と、それと連動する薬物放出機構にて構成されており、Fig. 1にシステムの構成及び評価実験系を示す。減圧機構は、GOD固定化膜を隔膜として透析セル(FA-1, SANPLATEC CO., LTD.)に装着し作製した。GOD固定化膜は、市販の透析膜(UC 36-32-100, MWCO 14000, Sanko

Junyaku Co., Ltd)に GOD 10 U/cm<sup>2</sup>(EC 1.1.3.4, 156 U/mg, Amano Enzyme Inc.)をリン酸緩衝液(pH7.0, 50 mM)へ溶解させ、紫外線硬化樹脂 PVA-SbQ (Biosurfine SPH, Toyo Gosei Co., Ltd.)と混合させた溶液を均一に塗布し、酵素を包括固定化した。この GOD 固定化膜における触媒反応により透析セルの上部セル内で圧力減少が生じ、これにより力学エネルギーが生み出され“有機エンジン”として機能する。薬物放出機構は、貫通孔を形成したアクリルセルにダイアフラムを組み込み、弁棒をダイアフラム上に圧力解放弁と連動するように設置して間欠的に動作可能なものを構築した。最後にこれらの2つを連結し、減圧機構側の圧力減少により連動する薬物放出システムとした。

減圧機構は、酵素膜を隔膜とする気相(上部)セルと液相(下部)セルから構成され、その出力(減圧速度)は、①酵素膜での触媒反応により消費される酸素の量と②気相セルの容積により決定される。そこで減圧機構の形状を、①酵素膜の反応面積を従来 2.84 cm<sup>2</sup>であったものを 11.35 cm<sup>2</sup>へ拡大し、②気相セルの深さを 6 mm から 1 mm へ変更して小容積化するように改良し、単位容積あたりの酵素膜面積を 4.11 倍へ増加させて高出力化を図った。改良前後の減圧機構の寸法を Fig. 2 に示す。

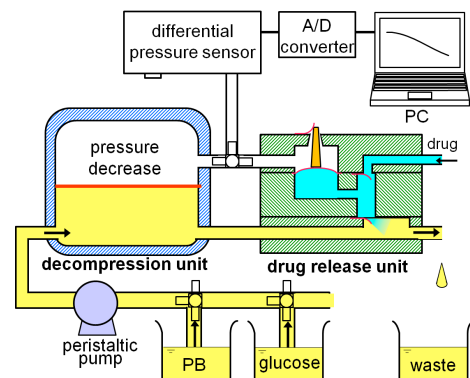


Fig. 1 Schematic diagram of the drug-release system and experimental set-up for evaluation.

改良型減圧機構の評価では、本機構の気相セルに微差圧計(DMC-202N11, OKANO WORKS, LTD)を接続して5~100 mmol/lのグルコース溶液を液相セルへ送液して気相セル内の圧力変化を計測し、その後減圧速度を算出して減圧性能の評価を行った。また、改良型の減圧機構を用いて薬物放出システムを構築し、25 mmol/lのグルコース溶液を送液したときの圧力変化の計測を行った。

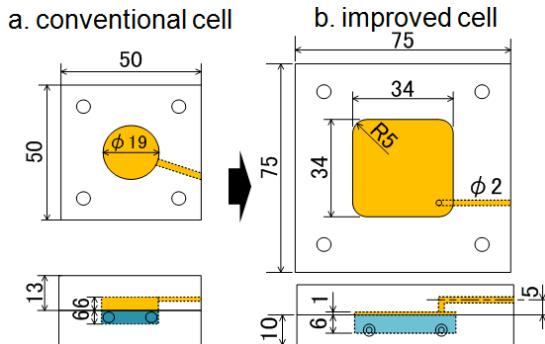


Fig. 2 The dimensions of conventional cell and improved cell

### 3. 結果及び考察

改良した減圧機構へ5~100 mmol/lの各濃度のグルコース溶液を送液したときの気相セル内の圧力変化を Fig. 3 に示す。この結果より、グルコース濃度に応じて気相セル内の能動的な減圧が得られ、高濃度では大きな減圧速度が得られることが確認された。これは、液相セル内のグルコース溶液が透析膜を、気相セル内の酸素が GOD の固定化に用いた PVA-SbQ をそれぞれ透過することで、GOD 固定化面で気相セル内の酸素を効率的に消費したと考えられる。また、圧力変化から減圧速度を求め、従来型の減圧機構と比較したところ、減圧速度が約3倍に向上し、25 mmol/lのグルコース濃度において、従来型の機構に100 mmol/l(薬物放出に必要な濃度)を送液したときと同等の性能(-7.2 Pa·cm<sup>3</sup>/sec)が得られ、減圧能力の向上が確認された。単位容積あたりの酵素膜面積の約4倍に対して3倍となったが、これは容積拡大や形状の変化により液相セル内においてグルコースの循環が不十分となり、その分圧力減少の効率が低下したと考えられる。今後はこの点を考慮し、液相全体にグルコースが行きわたるようなセル形状の設計を行う必要があるといえる。

次に、改良型セルを用いて薬物放出システムを構築し、25 mmol/lのグルコース溶液を減圧機構に送液してシステムを動作させた。間欠式減圧機構の圧力解放は-550 Paで作動し、連続して減圧することで間欠的な薬物放出動作が可能であった。Fig. 4 に従来型の薬物放出システムに100 mmol/lのグルコース溶液を送液した際と、25 mmol/lのグルコース溶液を送液した際の減圧機構の圧力変化をそれぞれ示す。これより、改良型セルでは25 mmol/lのグルコース溶液において、従来型の100 mmol/lのグルコース溶液での駆動と同等の8分周期での間欠的な圧力の開放が可能で、4分の1のグルコース濃度で同様の駆動が可能であることが確認された。しかしながら、糖尿病患者の血中グルコース濃度は10 mmol/l程度であることから、今回試作した改良型の減圧機構においても十分な薬物放出動作を行えないため、今後さらなる高効率化が必要であると考えられる。

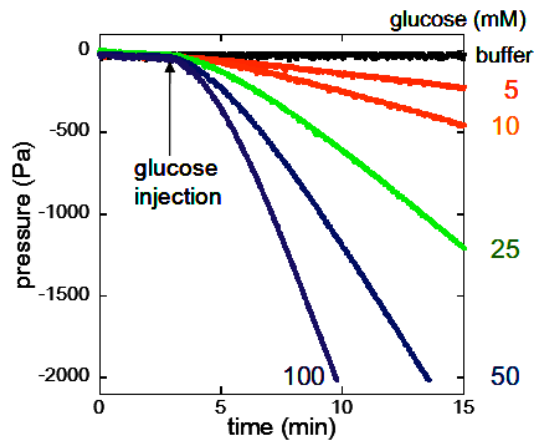


Fig. 3 Pressure change in the improved decompression unit.

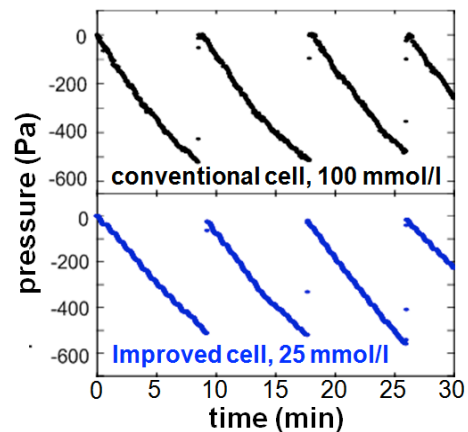


Fig. 4 Intermittent pressure change in the conventional and improved decompression unit with release valve.

### 4. まとめ

本研究では、薬物放出システムにおける有機エンジンの形状を改良し高出力化を図り、従来のシステムより低濃度のグルコース溶液にて駆動が可能な減圧機構の実現した。減圧機構の改良では単位容積あたりの酵素膜面積を従来型の約4倍へ増加させ、改良した減圧機構の評価を行ったところ、解放圧-550 Paにて駆動し、従来型減圧機構の約3倍の減圧能力の向上が確認された。今後さらに改良を加えて減圧機構の高出力化を図り、血糖値レベルにて駆動可能な薬物放出システムの開発を進める。

### 参考文献

- (1) R. W. Beck, The Effect of Continuous Glucose Monitoring in Well-Controlled Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*, 32, 1378-1383, 2000.
- (2) S. A. Endow, Kinesin motor as molecular machines, *BioEssays*, 25, 1212-1219, 2003.
- (3) K. Mitsubayashi, T. Ohgoshi, T. Okamoto, Y. Wakabayashi, M. Kozuka, K. Miyajima, H. Saito, H. Kudo, Tonometric biosensor with a differential pressure sensor for chemo-mechanical measurement of glucose, *Biosensors and Bioelectronics*, 24, 1518-1521, 2009.
- (4) R. Kato, M. Munkhjargal, D. Takahashi, T. Arakawa, H. Kudo, K. Mitsubayashi, An autonomous drug release system based on chemo-mechanical energy conversion "Organic Engine" for feedback control of blood glucose, *Biosensors and Bioelectronics*, 26, 1455-1459, 2010.