

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K12618

研究課題名（和文）連続インスリン測定デバイスの開発

研究課題名（英文）Development of continuous insulin monitoring devices

研究代表者

澤山 淳（Sawayama, Jun）

東京大学・生産技術研究所・特任助教

研究者番号：30580592

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：研究では、色素の合成法とハイドロゲルへの固定化、そして高感度な蛍光測定デバイスの開発に成功しました。さらに、インスリン応答性と蛍光強度を評価し、ハイドロゲルセンサーの基本組成を決定しました。最終年度では、新たな蛍光色素を合成しましたが、以前の色素に比べてインスリン応答性が低下する課題がありました。また、デバイスの組み合わせによる測定を試みましたが、繰り返し測定や全血中のバックグラウンドの影響にはまだ課題が残りました。研究は将来的な高性能なハイドロゲルセンサーの実現へ向けた重要な成果をもたらしました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究の学術的意義は、新しいインスリン検出システムの基盤となる知識を提供したことです。また、インスリンの測定において高感度で信頼性のあるデバイスを開発したことで、医療研究や治療におけるインスリンモニタリングの精度向上に寄与します。社会的な意義としては、糖尿病患者の生活の質を向上させるために重要な役割を果たします。この研究によって開発されたデバイスは、連続的なインスリンモニタリングにより、患者の血糖値の変動をリアルタイムで把握し、適切な治療の調整に役立ちます。さらに、この技術は糖尿病管理の効率化や合併症の予防にも寄与し、患者の生活の質や健康増進に大きな影響を与えることが期待されます。

研究成果の概要（英文）：In the research, successful achievements include the development of synthesis methods for various dyes, their immobilization within hydrogels. Additionally, the evaluation of insulin responsiveness and fluorescence intensity was conducted using hydrogel sensors. The development of a heated fluorescent measurement device was carried out. The sensitivity of the continuous glucose measurement device was improved by utilizing photodetectors with lower dark currents and smaller terminal capacitances. Furthermore, specific fluorescent measurement devices were developed for various synthesized dyes, each equipped with a combination of blue, green, or red LED light sources and optical filters. Moreover, a flexible film heater was successfully integrated into the fluorescent measurement device for insulin sensors, enabling temperature control from room temperature to approximately 90 degrees Celsius. As a result, a device capable of fluorescence measurement with hydrogel sensors was developed.

研究分野：生体医工学

キーワード：ハイドロゲル 蛍光測定 バイオセンサー

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

糖尿病および糖尿病による合併症の発症数は世界規模で増加し続けており、早急な対策が望まれている。とりわけ、測定した血糖値からインスリン注入を自動で行う人工膵臓の開発が社会的期待を得ている。人工膵臓には、連続で長期間計測できる高精度な連続グルコース計測デバイス(CGM)が必要である。申請者は所属する竹内研究室でグルコース応答性蛍光ゲルを用いた高精度かつ長期間稼働可能なCGMを開発してきた。しかし、間質液中のグルコース濃度を測定しているCGMでは、実際の血糖値に比べ15分近い遅れがあり、数分単位で変動している血糖値を正確に測定することは困難である。グルコースのみを測定し精度を上げるのには限界があり、遅れのない高精度な血糖値測定システムが求められている。

### 2. 研究の目的

糖尿病患者の血糖値を、連続的にモニタリングする連続グルコース計測デバイス(CGM)は、ここ2,3年で広く浸透してきている。しかし、間質液のグルコース濃度を測定しているため、血糖値に比べてどうしても遅れが生じてしまう。そこで、申請者は血糖値の下降因子であるインスリン濃度を測定し、グルコース濃度と連動させることで遅れの問題を解決し、より高精度なCGMを作製する。本研究では、インスリン結合性オリゴDNAペアとグアニン(G)-四重鎖認識色素をハイドロゲル中に固定したハイドロゲルインスリンセンサーを開発する。当該センサーは熱サイクルによって繰り返しインスリンを認識できることが期待され、加熱と測定を繰り返すことで連続測定が可能となる。また、蛍光測定部とヒーターを集積化した専用デバイスを作製する。

### 3. 研究の方法

1年目の研究では、新たな色素の合成が困難だったため、予備検討で合成した色素の合成法を確立し、ハイドロゲル中に固定化しました。その後、ハイドロゲルセンサにインスリンを添加し、蛍光測定装置を使用してインスリン応答性と蛍光強度を評価しました。また、ヒーター付きの蛍光測定デバイスの開発も行いました。

2年目の研究では、「研究項目1:オリゴDNAペアと色素の組成の最適化」と「研究項目2:ゲルへの固定化法の確立」に焦点を当てました。新たな蛍光色素の合成とハイドロゲル中への固定化方法について検討し、インスリン応答性と蛍光強度を評価しました。骨格を持つ蛍光色素とPEG系のゲルが適していることがわかり、ハイドロゲルインスリンセンサーの基本組成を決定しました。また、蛍光測定デバイスの改良も行い、高感度かつ大きなダイナミックレンジを持つ小型の無線蛍光デバイスを開発しました。

3年目の研究では、ハイドロゲルセンサーの基本組成を元に蛍光色素を固定化し、インスリン応答性と蛍光強度を評価しました。新たな蛍光色素の合成も行いましたが、以前に合成した色素と比較してインスリン応答性が低下してしまいました。また、ハイドロゲルセンサーと改良したデバイスを組み合わせて実験を行いましたが、ハイドロゲルセンサーの熱電動が低く、測定の繰り返しが困難であり、全血や血漿中ではバックグラウンドが上昇してしまい、定量的な測定が難しくなりました。

### 4. 研究成果

#### 1年目の研究成果：

新たな色素の合成が困難だったため、予備検討で合成した色素の合成法の確立と追加合成を行った。

合成した色素をハイドロゲル中に固定化し、インスリン応答性と蛍光強度を評価した。ヒーター付きの蛍光測定デバイスの開発を先行して実施し、連続グルコース計測用のデバイスの感度を改善した。

青色、緑色、赤色蛍光用のLED光源と光学フィルターを組み合わせた蛍光測定デバイスを開発した。

ハイドロゲルセンサー用にフレキシブルな面状フィルムヒーターを組み込み、温度制御が可能なデバイスを開発した。

#### 2年目の研究成果：

「研究項目 1: オリゴ DNA ペアと色素の組成の最適化」と「研究項目 2: ゲルへの固定化法の確立」を中心に研究を実施した。

新たな蛍光色素の合成と、ハイドロゲル中への固定化方法について検討した。

ハイドロゲルセンサーにインスリンを添加し、インスリン応答性と蛍光強度を評価した。

合成した蛍光色素とハイドロゲル中での固定化方法を最適化し、基本組成を決定した。

高感度かつ大きなダイナミックレンジを持つ小型の無線蛍光デバイスの開発に成功した。

3年目の研究成果：

ハイドロゲルセンサーの基本組成を元に蛍光色素を固定化し、インスリン応答性と蛍光強度を評価した。

新たな蛍光色素の合成を試みたが、溶解性や結合の不安定性の影響により、以前の蛍光色素に比べてインスリン応答性が低下した。

ハイドロゲルセンサーと改良されたデバイスを組み合わせてインスリンの測定を試みたが、ハイドロゲルセンサーの熱電動やバックグラウンドの影響により、定量的な測定が困難であった。血漿や全血中のインスリン測定では、周りの夾雑物の影響により、蛍光強度のバックグラウンドが上昇し、微量なインスリンの測定が困難であった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Jun Sawayama and Shoji Takeuchi	4. 巻 10
2. 論文標題 Long-term Continuous Glucose Monitoring Using A Fluorescence-based Biocompatible Hydrogel Glucose Sensor	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Advanced healthcare materials	6. 最初と最後の頁 2001286
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/adhm.202001286	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Jun Sawayama, Teru Okitsu, Akihiro Nakamata, Yoshihiro Kawahara, and Shoji Takeuchi	4. 巻 23
2. 論文標題 Hydrogel Glucose Sensor with In Vivo Stable Fluorescence Intensity Relying on Antioxidant Enzymes for Continuous Glucose Monitoring	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101243
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2020.101243	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------