

平成 21 年 5 月 25 日現在

研究種目：基盤研究(C)  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19500392  
 研究課題名（和文） 高濃度超速効型インスリンを用いた closed-loop 皮下注入アルゴリズムの開発  
 研究課題名（英文） Development of closed-loop subcutaneous insulin infusion algorithm using rapid-acting insulin analog  
 研究代表者  
 下田 誠也（SHIMODA SEIYA）  
 熊本大学・大学院医学薬学研究部・助教  
 研究者番号：60398203

研究成果の概要：本研究では、次世代型携帯型人工膵島の開発を目標に、その制御部門として、100 U/ml 超速効型インスリンを適用した closed-loop インスリン皮下注入アルゴリズムの開発を行った。さらに糖尿病犬に対して、開発したアルゴリズムを組み込んだ人工膵島を用いて、経口ブドウ糖負荷試験時の良好な血糖制御が可能であった。以上より、高濃度超速効型インスリンアナログを用いた皮下注入アルゴリズムが有用であったことを示された。近い将来、次世代型携帯型人工膵島の使用により、より長期にわたる糖尿病患者の厳格な血糖管理が可能であることが示唆された。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学・生体材料学

キーワード：人工臓器工学

## 本研究の目的

現在、機械型人工膵島の開発が精力的に行われており(Steil GM *et al.* 2004, Renard *et al.* 2003)近い将来人工膵島の臨床応用が可能となることが期待される。当教室においても、まずは従来型携帯型人工膵島の改良を行うことにより、

一日も早く一般臨床応用に供することが至上命題であると考えており、そのためには計測部門の更なる小型・高性能化及び低侵襲化、システムの小型軽量化が必須となる。

今回、新たに開発した超小型針型ブドウ糖センサと 100U/ml 超速効型インスリンを適応した

closed-loop 皮下注入アルゴリズムを組み込んだ人工膵島を用い、その有用性を確認すべく、アロキサン糖尿病モデル犬に対し経口ブドウ糖負荷時の血糖制御を試みた。

## 方法

### 実験動物

本研究は全て熊本大学本荘地区動物実験委員会に申請し承認され、熊本大学動物実験指針に基づいて行った。実験には体重 9~12 kg の健常ビーグル犬(成犬, 雄), 及び糖尿病犬を用いた。糖尿病犬の作成, 管理は以下の通りに行った。アロキサン (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) 65 mg/kg を, pH4.4 となるように 0.1 mol/l の酢酸緩衝溶液で希釈し, これをビーグル犬に静脈内投与することにより, 投与 2 日目以降, 空腹時血糖値 400 mg/100ml 以上, 血漿インスリン濃度測定感度以下(1.5mU/ml 以下)の状態とした。

次世代型携帯型人工膵島における高濃度超速効型インスリンを適応した closed-loop インスリンアスパルト皮下注入アルゴリズムの開発  
インスリン皮下投与時の血漿インスリン動態の検討

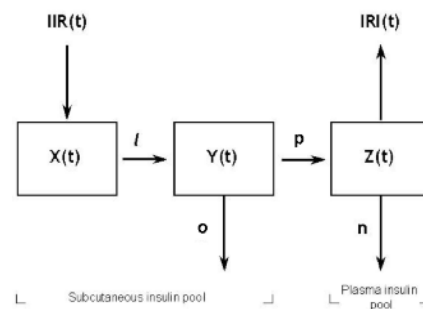
高濃度インスリンを適応した皮下注入アルゴリズムを作成するためには, 新たに 100 U/ml インスリン皮下投与時の血漿インスリン動態を解析する必要がある。

健常人 10 例(男女 8:2, 年齢  $26 \pm 5$  歳, BMI  $22.3 \pm 4.4$  kg/m<sup>2</sup>) に対し, ベッドサイド型人工膵島を用い, 実験開始前 30 分より空腹時血糖値にてグルコースクランプ下において, 濃度 100 U/ml の超速効型インスリンアスパルト 0.1 U/kg を臍上方約 4 cm の腹壁に皮下投与した際の血漿インスリンアスパルト動態を求めた。

コンパートメントモデルによるインスリン皮下吸収動態の解析

インスリンアスパルト皮下投与時の血漿インスリ

ンアスパルト動態を解析すべく, インスリン皮下投与時の血漿インスリン応答特性を, 薬物動態学において用いられている数理モデルにより求めた。まず, 末梢コンパートメントに相当する皮下コンパートメントを, 皮下インスリン注入スペースと皮下インスリン拡散スペースに分け, 更に体循環コンパートメントに相当する血漿インスリンスペースを加えた 3 コンパートメントモデルを作成した(図 1)。



(図 1) インスリンアスパルト皮下投与時の血漿インスリンアスパルト動態の解析のためのコンパートメントモデル  
IIR(t): インスリン皮下注入率(mU/min)、IRI(t): 血漿インスリン濃度(μU/ml)、  
X(t), Y(t):皮下血漿インスリン量(mU)、Z(t):血漿インスリン量(mU)、  
l, n, o, p:速度計数(/min)、r:血漿インスリンスペース。

但し,  $t = 0$  をインスリン皮下注入開始時とし, 以後の経過時間を  $t$  (min), また体重 1 kg 当りにおいて, IIR (t)はインスリン皮下注入率 (mU/min), IRI(t)は血漿インスリン濃度 (mU/ml), X(t)はインスリンの注入局所における拡散前皮下インスリン残存量(mU), Y(t)は拡散により皮下組織に移行したインスリン量(mU), Z(t)は血漿インスリン量(mU), 更に l はみかけ上の皮下インスリン拡散移行速度係数(/min), p はみかけ上のインスリン吸収速度係数(/min), o はみかけ上の皮下インスリン崩壊速度係数(/min), n はみかけ上の血漿インスリン消失速度係数(/min), また r はみかけ上の血漿インスリンスペースの容量(l)とし

た.

このモデルにおいて,

$$dX(t)/dt = IIR(t) - l \cdot X(t) \quad \dots(1)$$

$$dY(t)/dt = l \cdot X(t) - (o + p) \cdot Y(t) \quad \dots(2)$$

$$dZ(t)/dt = p \cdot Y(t) - n \cdot Z(t) \quad \dots(3)$$

$$IRI(t) = Z(t)/r \quad \dots(4)$$

と表現できる. これらの式より, 血漿インスリン濃度と時間との関係式(6)式を得た.

$$IRI(t) = a \cdot e^{-lt} + b \cdot e^{-mt} + g \cdot e^{-nt} + d \quad \dots(5)$$

$$a = l \cdot p / r \cdot (m - l) \cdot (n - l)$$

$$b = l \cdot p / r \cdot (n - m) \cdot (l - m)$$

$$g = l \cdot p / r \cdot (l - n) \cdot (m - n)$$

$$d = 0$$

更に各係数を定めるために, 実験 で求めた 0.1 U/kg 皮下ボラス投与を行った際の血漿インスリン濃度を simulate するべく, 最小自乗法により求めた.

Closed-loop インスリンアスパルト皮下注入アルゴリズムの作成

前述の通り, 膵ラ氏島灌流実験において認められる 2 相性のインスリン分泌は, 血糖値に対する 1 次遅れを伴った比例・微分動作によって近似できる (Nomura M et al. 1984). この原理を用いて, インスリン末梢静脈内注入アルゴリズム開発と同様にインスリンアスパルト皮下注入アルゴリズムを作成した.

まず, 先に示したように血糖値に対する生理的血漿インスリン濃度の関係式は(7)式で表現する.

$$IRI(t) = a \cdot G(t) + b \cdot dG(t)/dt + c \quad \dots(7)$$

ここで,  $G(t)$  は時間  $t$  における血糖値 (mg/100ml),  $dG(t)/dt$  は時間  $t$  における 1 分あたりの血糖変化量 (mg/100ml/min),  $a, b, c$  はインスリン分泌能を示す個体特性パラメータである. 以上の式より closed-loop インスリンアスパルト皮下注入アルゴリズム(7)式を導いた.

$$IIR(t) = Kp \cdot G(t) + Kd \cdot dG(t)/dt + Kc \quad \dots(7)$$

ここで,  $Kp$  はインスリン比例動作注入係数 (mU

100ml/mg/kg/min),  $Kd$  はインスリン微分動作注入係数 (mU · 100ml/mg/kg/min),  $Kc$  はインスリン基礎注入係数 (mU/kg/min) である.

以上, 血糖値に対する 1 次遅れを加味した比例・微分動作によるインスリン皮下注入アルゴリズムを作成し, 先に得られた結果を代入することで濃度 100 U/ml インスリンアスパルト皮下注入パラメータ ( $Kp, Kd, Kc$ ) を算出した.

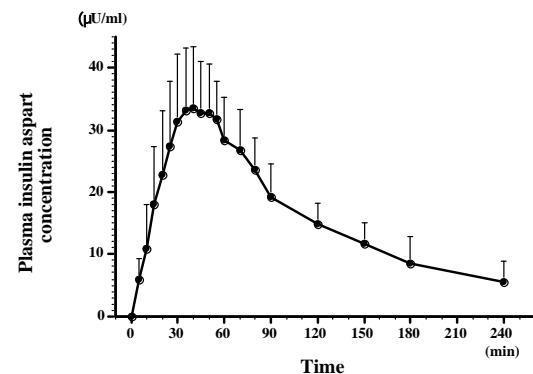
人工膵島を用いた糖尿病犬における経口ブドウ糖負荷時の血糖制御

作成した closed-loop インスリンアスパルト皮下注入アルゴリズムの有用性を検討すべく, これを組み込んだベッドサイド型携帯型人工膵島を用い, 糖尿病犬 5 例に対して 1.5 g/kg 経口ブドウ糖負荷時の血糖制御を試みた. また対照として, 糖尿病犬に対しインスリン非注入下において同様のブドウ糖負荷を行った際の血糖動態を検討した.

結果

インスリン皮下投与時の血漿インスリン動態の検討

健康人に対し空腹時血糖値グルコースランブ下にて, 腹部皮下組織に濃度 100 U/ml インスリンアスパルト 0.1 U/kg を投与した際の血漿インスリンアスパルト動態を図 2 に示す.



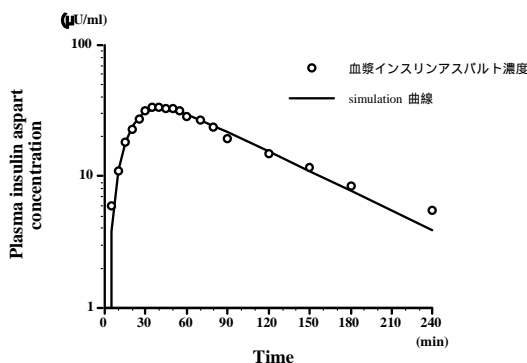
(図 2) 健康人におけるインスリンアスパルト皮下投与時の血漿インスリン動態

健康人 10 名に対し, 100 U/ml 超速効型インスリンアスパルト 0.1 U/kg を腹部皮下組織に投与した際の血漿インスリンアスパルト濃度をモノクローナル抗体を用い選択的に測定した結果を示す

血漿インスリンアスパルト濃度の最高値(Cmax)は  $33.5 \pm 10.0$  mU/ml, Cmax 到達時間(Tmax)は 40 分であった。

コンパートメントモデルによるインスリン皮下吸収動態の解析

図 3 に健常人に対しインスリンアスパルト皮下投与を行った際の平均血漿インスリン濃度と、モデルから得られた血漿インスリンアスパルト濃度と時間との関係式を用いて、最小自乗法により simulate した血漿インスリン曲線を示す。この曲線から得られたインスリンアスパルト皮下投与時の数理モデルにおける各係数は  $(l, n, o, p, r) = (0.0949, 0.01149, 0.0898, 0.0050, 0.1123)$  となった。



**(図 3) 健常人におけるインスリンアスパルト皮下吸収動態の解析**

健常人における、100 U/ml の超速効型インスリンアスパルト 0.1 U/kg を腹部皮投与時の血漿インスリンアスパルト濃度の simulation 曲線を示す。

Closed-loop インスリンアスパルト皮下注入アルゴリズムの作成

インスリンアスパルト皮下注入パラメータ( $K_p, K_d, K_c$ )を、インスリンアスパルト皮下投与時の各速度係数及び血漿インスリンスペース( $l, n, o, p, r$ ) 及び個体特性パラメータ( $a, b, c$ )を代入することにより算出した。個体特性パラメータは  $a = 1, b = 4, c = -72$  とし(Shichiri M et al.1985), これらの値を用いることによりインスリンアスパルト皮下注入パラメータは  $K_p = 0.024, K_d = 2.73, K_c$

$= -1.529$  と決定した。以上より血糖値の比例・微分動作に基づいた closed-loop インスリンアスパルト皮下注入アルゴリズムを得ることができた。

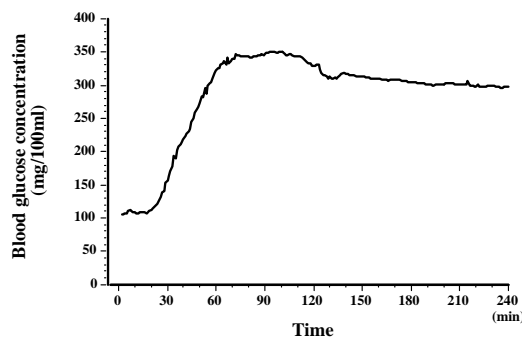
人工膵島を用いた糖尿病犬における経口ブドウ糖負荷時の血糖制御

まず対照実験として糖尿病犬に対しインスリン非注入下において 1.5 g/kg 経口ブドウ糖負荷を行った際の血糖動態について示す(図 4)。

ブドウ糖負荷前血糖値は 103 mg/100ml と安定していたが、ブドウ糖負荷後、血糖値は速やかに上昇し負荷後 70 分には最高値(350 mg/100ml)に達した。その後血糖値は徐々に低下を認めるものの、負荷後 240 分においても 300 mg/100ml と高値のままであった。

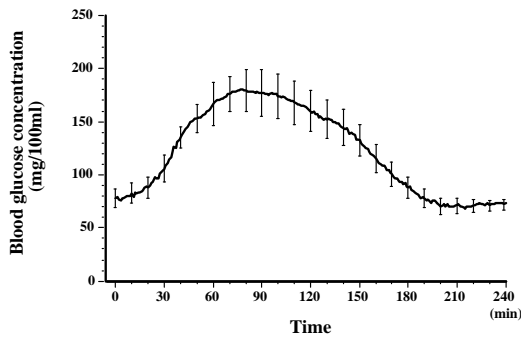
次に糖尿病犬に対し、今回開発した closed-loop インスリンアスパルト皮下注入アルゴリズムを組み込んだベッドサイド型人工膵島を用いて、1.5 g/kg 経口ブドウ糖負荷時の血糖制御を行った(図 5)。

血糖値は前値  $80.8 \pm 7.5$  mg/100ml より上昇し、負荷後 75 分に頂値  $178.2 \pm 19.3$  mg/100ml に達し、240 分後には  $83.6 \pm 11.8$  mg/100ml を示した。全経過において血糖値が 60 mg/100ml 以下となることはなく、良好な血糖コントロールが遂行された。



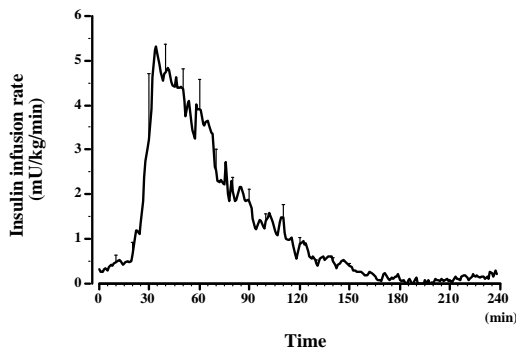
**(図 4) 糖尿病犬におけるブドウ糖負荷後の血糖動態**

糖尿病犬に対しインスリン非注入下において 1.5 g/kg 経口ブドウ糖負荷を行った際の血糖動態を示す。



**(図 5)人工膵島を用いた糖尿病犬におけるブドウ糖負荷後の血糖制御・血糖動態**

次に、この際のインスリン注入パターンについて示す(図 6)。本アルゴリズム作動時、インスリン注入率はブドウ糖負荷前の基礎注入率  $0.25 \pm 0.1$  mU/kg/min から速やかに上昇し、負荷後 34 分には最高注入率  $5.2 \pm 1.2$  mU/kg/min に達し、240 分には  $0.21 \pm 0.1$  mU/kg/min まで低下しほぼ前値と等しくなった。総インスリン注入量はブドウ糖負荷後 240 分間で  $297.9 \pm 35.5$  mU/kg であった。



**(図 6)人工膵島を用いた糖尿病犬におけるブドウ糖負荷後の血糖制御・インスリン注入パターン**

このように、糖尿病犬に対し、制御部門としての closed-loop インスリンアスパルト皮下注入アルゴリズムを組み込んだ人工膵島を用い、1.5 g/kg 経口ブドウ糖負荷時の血糖制御を試みた結果、高血糖及び低血糖の発症を来すことなく、且つ、ブドウ糖負荷後血糖値をほぼ 180 mg/100ml 以下に抑えるなど、血糖応答反応を良好に制御す

ることが出来、本システムの有用性が確認された。

#### 考察

次世代型携帯型人工膵島制御部門としての closed-loop インスリンアスパルト皮下注入アルゴリズムの有用性の検討

携帯型人工膵島においてインスリン注入経路の管理と安全性を考えると、現時点では皮下注入が最も現実的であると思われる。

本研究では、ヒトインスリンのアミノ酸配列において B 鎖 C 末端 28 位のプロリンをアスパラギン酸に置換したアナログ製剤であるインスリンアスパルトを用い(Kaku K *et al.* 2000)、新たに 100 U/ml インスリンアスパルトの皮下吸収動態を解析することにより開発した closed-loop インスリン皮下注入アルゴリズムを組み込んだ人工膵島を用いることで、1.5 g/kg 経口ブドウ糖負荷時の血糖制御を良好に達成し、本アルゴリズムの有用性を確認した。

本研究にて算出したインスリン皮下注入パラメータが様々な病態の患者にも使用できるのか、といった問題も考えられる。例えば感染症併発時、ステロイド内服時、肝機能異常などによりインスリン感受性が低下しているような患者、腎機能障害によりインスリンの代謝・排泄能が著しく低下しているような患者、あるいは不安定型糖尿病によりインスリン感受性が予期せぬ変化を起こすような患者など、あらゆる状態の糖尿病患者において最適な血糖制御を可能とするためには、個体特性パラメータを各患者毎に検討し変更する方が望ましい。そのため現在、個体の血糖制御特性を経時的に把握し、ニューラルネットワークを利用し個体特性パラメータを一定のアルゴリズム下で自動的に変換し、血糖制御を行い得る新たなプログラムの開発に着手している。

#### 結語

本研究では、次世代型携帯型人工膵島の開発を目標に、その制御部門として、100 U/ml 超速効型インスリンを適用した closed-loop インスリン皮下注入アルゴリズムの開発を行った。さらに糖尿病犬に対して、開発したアルゴリズムを組み込んだ人工膵島を用いて、経口ブドウ糖負荷試験時の良好な血糖制御が可能であった。以上より、高濃度超速効型インスリンアナログを用いた皮下注入アルゴリズムが有用であったことを示された。近い将来、次世代型携帯型人工膵島の使用により、より長期にわたる糖尿病患者の厳格な血糖管理が可能であることが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

下田誠也, 西田健朗, 荒木栄一:インスリン療法の将来展望. 月刊糖尿病, 2009 年 in press, 査読なし

下田誠也, 西田健朗, 荒木栄一:人工膵島. Modern Physician, 28:244-246, 2008 年, 査読無し

[学会発表] (計 1 件)

西田健朗, :分かりやすい人工臓器講座「人工膵島とは」. 第 46 回日本人工臓器学会大会, 2008 年 11 月 27-29 日, 東京

[図書] (計 1 件)

荒木栄一, 下田誠也, 岩下晋輔:人工膵島. メディカルレビュー社, 糖尿病ナビゲーター, 2009 年 in press

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

下田 誠也 (SHIMODA SEIYA)

熊本大学・大学院医学薬学研究部・助教  
研究者番号: 60398203

(2)研究分担者

西田 健朗 (KENRO NISHIDA)

熊本大学・大学院医学薬学研究部・助教  
研究者番号: 50336244

(3)連携研究者

宮村 信博 (NOBUHIRO MIYAMURA) (2007 年度は研究分担者)

熊本大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号: 40274716

松村 剛 (TAKESHI MATSUMURA) (2007 年度は研究分担者)

熊本大学・医学部附属病院・医員  
研究者番号: 20398192