インスリン製剤への経皮・経粘膜応用

特集 経皮経粘膜吸収と DDS

山 崎 義 光*

Subcutaneous and transmucosal delivery of insulin

In order to control diabetic patients, basal and postprandial insulin supplementation must be needed. To facilitate rapid delivery or stabilize delivery of subcutaneous insulin, biotechnology realizes ultra-rapid delivered insulin and slowly delivered insulin. Ultra-rapid insulin well controlled postprandial hyperglycemia of diabetics by injection immediately before meal-intake. Slowly-delivered insulin may stabilize insulin delivery from subcutaneous depot of insulin and reduce the frequency of hypoglycemia. Various types of transmucosal delivery of insulin are established, such as insulin suppository, intranasal insulin, inhaled insulin, etc. Insulin suppository can be absorbed rapidly as intramuscular injection of insulin and control daily glycemic excursion by applying insulin suppository after every meal. As inhaled insulin, crystalline powder is inhaled for 3 minutes and insulin is appeared immediately in plasma. Insulin action lasts for more than 5 hours after inhalation. Thus, these approaches may improve "quality of life" of diabetic patients.

Yoshimitsu Yamasaki*

key words : insulin release, insulin suppository, inhaled insulin, slowly delivered insulin, ultra rapid insulin

インスリンの絶対的不足により発症する1型糖尿病(インスリン依存型糖尿病)に対する究極的な治療法は、膵臓(膵ラ氏島)移植か“最適化”されたインスリン治療である。また、インスリンの相対的不足により発症する2型糖尿病(インスリン非依存型糖尿病患者)においても、インスリン分泌障害が進行したとき、インスリン治療が必要となる。糖尿病の治療目的は、長期にわたる高血糖の持続による細小血管合併症(網膜症、腎症、神経障害)、および心筋梗塞や脳梗塞などの大血管合併症の発症予防・進展阻止することにある。このためには、厳格な血糖管理を長期間遂行することが必要である。本目的のために、理想的な insulin delivery device である人工膵臓が開発され、臨床応用された。

この結果、実用可能なインスリン療法として、頻回自己血糖測定(1日4回以上)に基づき速効型インスリンを毎食前に1日3回注射し、眠前に中間型インスリンを注射する強化インスリン療法が導入された。この療法を7年継続することより、1型糖尿病患者

者や2型糖尿病患者の細小血管合併症の発症予防および早期病変の進展阻止が明らかとなった。本法は1日8回以上も採血針および注射針を刺入する必要があり、患者に多大な苦痛を強いており、インスリン療法を導入すべき患者にインスリン療法の導入が遅れる一因となっている。

もし、インスリンを注射によらず生体内に注入することができれば、針刺入による多大の苦痛を強いることなくインスリン療法の導入、遂行が可能となる。この点において新しいインスリンDDSの必要性が望まれているといえよう。本稿では、生体の生理的な insulin delivery, insulin に対する drug delivery system について最近の知見を中心に述べたい。

生理的 insulin delivery

インスリンは、血糖刺激に対して初期相ならびに後期相からなる特有な二相性の分泌パターンを示す。前者の初期相のインスリン分泌により、健常人にブドウ糖負荷時、血糖応答のピークより早くイン

* Department of Internal Medicine and Therapeutics Osaka University Graduate School of Medicine 大阪大学大学院病態情報内科学教室

スリン分泌応答のピークがみられる現象が起こる。インスリンの初期分泌を意図的に1型糖尿病患者に食事負荷直前に投与したとき、明らかなインスリン必要量の減少を認めた。また、2型糖尿病患者では、糖尿病発症前から初期インスリン分泌の低下を認めることから、初期インスリン分泌の欠如が2型糖尿病の primary な病変であること、初期インスリン分泌が欠如し、後期相のインスリン分泌のみでは血糖管理が不良となり、かつ高インスリン血症をきたしやすい(2型糖尿病の初期病変)ことが考えられる。

膵ラ氏島から分泌されたインスリンは門脈に入り、特に食後には門脈血中の血糖値およびインスリン値は高濃度となる。これにより、肝臓でのブドウ糖摂取が亢進し、食後の高血糖を効率よく抑制する。また、インスリンは肝臓通過時に約40%分解されるため、末梢において高インスリン血症をきたしにくい利点を有している。

以上述べた生理的インスリン分泌の特徴の一部を再現すべく、種々のインスリン製剤の開発がすすめられている。また、インスリン注射の疼痛などを軽減すべく、注射によらない insulin delivery の新しいアプローチが検討されている。

Insulin delivery の新しいアプローチ

1. 超速効型インスリン製剤の開発

皮下組織に注入された速効型インスリン製剤は、製剤中では6分子が会合し6量体(ヘキサマー)を形成しているが、このままでは毛細血管膜を通過することが不可能である。注入された皮下組織内で二量体(ダイマー)あるいは1分子(モノマー)となつてはじめて血中に移行し作用部位に流れていく。この重合した状態から解離、血中に出現するのに時間がかかることより、その血中インスリン濃度の頂値は45~90分後にみられ、さらにその作用発現にはさらに時間遅れがあるため最大作用は注射後2~4時間後に観察されることが多い。

健康人が食事をするとき食事摂取直後の未だ血糖上昇が十分でないときから内因性インスリン分泌が亢進する(脳相のインスリン分泌)といわれており、食後30~45分頃インスリンの頂値が血糖値の頂値に

先立ってみられ、このインスリン分泌が組織のインスリン作用を亢進し食後血糖上昇を速やかに抑制し、かつリバンドの低血糖発生をも未然に防止している。速効型インスリン製剤を食事終了直後に注射してもその血中のインスリン頂値は約60分後でさらに、その最大作用の発現も遅延し、食後は過血糖さらに食後2~3時間には最大インスリン作用の発現のため低血糖が出現することもある。したがって、従来の速効型インスリン製剤は食前15分前の皮下注射が推奨されているが、食後血糖管理はまだ十分でなく、食事摂取時間が少し遅れると食前に低血糖が起こるなど臨床上的問題が多い。

ダイマー形成に関わる部位はインスリンのB鎖C末端の疎水性部分である。インスリンの類似構造を有するIGF-1分子はB鎖C末端が同様の疎水性部分を有するにも関わらず蛋白分子の重合が起こりにくいことが判明した。インスリン分子とIGF-1分子のB鎖C末端の唯一の差異は、インスリンのB28のプロリンおよびB29のリジンのアミノ酸の並びがIGF-1分子ではリジン、プロリンとなっていることであり、IGF-1分子の重合を起こしにくくさせている可能性が考えられた。そこで遺伝子工学的手法でB28位をリジンに、B29位をプロリンとした“リスプロ”インスリンを作成した。このインスリンリスプロは、製剤中では6量体を形成し、製剤としての安定性が高く、皮下注後速やかに皮下組織でモノマーまで解離し、血中に出現するインスリンの誘導体である。

リスプロインスリンは、作用部位の構造は保たれているため、インスリンとほぼ同等の種々の生理的作用を示すことが報告されている。また、インスリン抗体産生も認められていない。健康男性にリスプロインスリン0.025, 0.05 U/kg 皮下注時、血中インスリン濃度の上昇は速やかであり、ヒトインスリン注射時に比し、インスリン濃度の頂値は約2倍、インスリン頂値の時間は約40分と約1/2であった。血糖値が最低に達する時間も約60分とヒトインスリン注射時の約半分であった。注射後の血中インスリン濃度の増加面積、血糖値下降面積はヒトインスリン注射時とほぼ同等であり、仮説通り皮下注後の血中への出現およびその血糖降下作用発現も速やかで

図 1

Insulin glargine 注射後のインスリン作用(a)と血中インスリン濃度(b)の時間的推移を中間型インスリン(NPH Insulin)と比較した。

あることが判明した。

糖尿病患者で、リスプロインスリンの効果を検討した。1回注射の検討では、ヒトインスリンに比し、その血中へのインスリンの出現は速やかであった。リスプロインスリンを食事直前に、ヒトインスリンは食事前15分に注射し、血糖の日内変動を比較したとき、有意差を認めず、従来の速効型インスリン製剤食事前15分注射の問題点を改善しうることが判明した(図1)。

強化インスリン療法を行っても血糖管理が不安定な患者や、妊娠中の糖尿病患者の血糖管理に、通常は少量のインスリンを食事直前には大量のインスリンを携帯型ポンプにより持続注入するCSII(continuous subcutaneous insulin infusion)療法が行われる。Zinmanらは、リスプロインスリンをCSIIに用

図 2

Insulin glargine 注射時には NPH insulin 注射時にくらべ低血糖、ことに夜間の低血糖の頻度が有意に低下した。

い、ヒトインスリンと比較したとき、食後血糖値の改善と長期血糖管理の改善、低血糖発現の減少を報告している。Shimodaらは、連続測定した血糖値に応じインスリンの皮下注入率を変え長期の血糖管理を目指した closed-loop subcutaneous insulin infusion にリスプロインスリンを用い、ヒトインスリンに比較し、低血糖発現の少ない良好な血糖管理をえたことを報告している。

リスプロインスリン実用上の最大の利点は、インスリン治療患者のQOL(quality of life)の改善にある。すなわち、速効型インスリン製剤は食前30~15分に注射をする必要があり、食直前に注射可能なりスプロインスリンでは、精神的苦痛が軽減されることである。また、速効型インスリン製剤注射時には、食事がなにかの都合で遅れ低血糖が発現し低血糖昏睡に至ることも頻回に経験する。この低血糖の危険性から回避できることが最大の利点かもしれない。

2. 遅効溶解型インスリン製剤

前述のごとく、空腹時の血糖管理に重要な基礎インスリン分泌を吸収時間が遅い中間型インスリンの就寝前注射により補充するのが現在の強化インスリン療法である。夜間のインスリン必要量は深夜2~4時頃が最低であり、以降必要量が増加する暁現象(dawn phenomenon)が認められる。このときインスリン注射量が過少となると早朝血糖上昇は過大と

図3 健常人, 2型糖尿病患者インスリン座剤 50 U(……), 100 U(—)投与時の血糖, インスリン, CPRの推移

データは平均 $\pm$ SEM, •は前値からの有意差を, ☆は50 U投与時との有意差を示す。

なる。逆に早朝血糖上昇を抑えるべく過量の間中型インスリンを眠前注射すると深夜低血糖が起こり, なかには低血糖リバンドのため早朝の血糖上昇をきたす危険性もある(ソモギー効果)。これらは, 中間型インスリン製剤の皮下からの吸収が基礎インスリン補充の面からは少し早すぎることに基づいている(図1)。また, さらに吸収時間を遅くしたウルトラレンテインスリンは, 皮下からの吸収率, 吸収時間にばらつきが多いともいわれており, 臨床応用上問題が多い。

インスリンは注射部位の皮下で溶解され血中に出現するが, 中性の皮下で結晶化するインスリンの誘導体は, その吸収も遅延することが期待される。A鎖21位のアスパラギンをグリシンに置換し, さらにB鎖のC末端に2個のアルギニンを追加し, 中性で結晶化する製剤特性を付与したinsulin glargineが開発された。このインスリンもその作用部位に変更

はないため, ヒトインスリンと同等の作用特性を有していることが実証されている。この遅効型インスリン製剤は, 従来の中間型のインスリン製剤に比しその皮下からのインスリンの血中への出現が安定しており, そのインスリン作用も24時間にわたって持続することが示されている(図1)。したがって, 入眠前のinsulin glargine注射により睡眠中の低血糖の発症頻度が低下し, 全体としても低血糖の頻度が低下し1型糖尿病の血糖管理をさらによくすることが期待されている(図2)¹⁾。

3. 経粘膜的投与経路の検討

注射によらないインスリン投与経路として, 経皮的および経粘膜的投与経路が検討されている。経口可能なインスリン製剤がはじめ検討されたが, 蛋白分解酵素が存在することより, そのbio-availabilityは著しく低く, またその血糖降下効果も一定し

図 4 2 型糖尿病患者に毎食後 15 分にインスリン座剤 100 U 単位投与時の血糖，血中インスリン，血中 CRP の日内変動
データは平均±SEM を示す。●は空腹時との有意差を，☆は非投与時との有意差を示す。

なかった。つぎに検討されたのが、直腸粘膜からの吸収を目指したインスリン座薬製剤である。その bio-availability は投与量の約 10% と高率であり、糖尿病患者投与時、投与 45 分に血中インスリン濃度の頂値を認め、直腸からの吸収もインスリン筋肉注射時と同等に速やかであった(図 3)。このインスリン座剤を用いて、2 型糖尿病患者の血糖日内変動の管理を試みた。インスリン座剤 100 単位を 1 日 3 回ごと食後に直腸に挿入した。食後インスリン濃度は有意に増加し、また食後血糖値も良好にコントロールされた(図 4)²⁾。また、直腸からのインスリン吸収量は空腹時血糖値に比例して増加することを認めた(図 5)。

直腸から吸収されたインスリンは、1/3 が門脈に流入するとされており、インスリン皮下注射と異なり、食後の門脈インスリン濃度を高め、肝臓での糖摂取を促進することが期待されるなどの利点を有する。しかし、下痢などの下腹部症状が起こりやすく臨床応用されていない。

眼瞼結膜からのインスリン吸収も検討されている。Nomura らはインスリンを NaOH 溶液に溶解し高濃度のインスリン溶液を作成し、イヌの眼瞼粘膜に滴下し粘膜からのインスリン吸収を認めている。速効型インスリン皮下注射時と比較し、眼瞼粘膜からのインスリン吸収率を健常犬では 1%、薬剤により糖尿病としたイヌでは約 5% と座薬インスリ

図 5 2型糖尿病患者にインスリン座剤投与時のインスリン吸収率は、血糖の程度に比例する。

ン同様、高血糖状態での吸収増加を報告している³⁾。

鼻粘膜からのインスリン吸収も検討されている。鼻粘膜の下には静脈叢があり、胆汁酸などとともに投与されたインスリンは、速やかに静脈叢から吸収される。したがって、その吸収は生理的な内因性インスリン分泌動態とほとんど同等とされている。鼻粘膜からのインスリン吸収促進剤として、didecanoyl-L- α -phosphatidylcholine, polyoxyethylene-9-lauryl ether (laureth-9), saponin, sodium deoxycholate, sodium glycocholate, などが用いられている。Salzman らは⁴⁾、1%laureth-9 溶液にインスリンを溶解し、鼻腔に噴霧し、インスリン依存型糖尿病患者の3カ月間血糖管理を試みた。その結果、インスリン皮下注時と同様の血糖コントロールをえたことを報告した。しかし、副作用として、鼻粘膜の肥厚やびらん、アレルギー性鼻炎、鼻汁分泌などが報告され、広く臨床応用されるまでは至っていない。現在、鼻腔粘膜からの吸収を図るため、インスリン粉末あるいはインスリン溶液製剤の吸引方法が検討され、欧米で phase II, phase III の治験が進行中で結果の発表が待たれている。

図 6

4. 噴霧インスリン製剤

現在、治験が進んでいるのが、噴霧インスリン製剤である(図6)。これはインスリンを噴霧製剤として、気管支粘膜からの吸収を図るものである。粘膜からの吸収を図るため上述と同様の種々の問題点がある。① 製剤の bioavailability: 粘膜からのインスリン吸収率の個体変動、日差変動、② 副作用としての気管支のアレルギー反応、③ 吸収動態、などが問題となる。日差変動はあまり指摘されていない。ただし、人によっては気管支アレルギー(咳など)のため、使用できないケースが存在する。また、喫煙者は吸収率が良好であることが知られている。気管支粘膜からのインスリンの吸収は速やかであり、食直前に使用したとき、効果的に食後血糖上昇を是正する可能性が強い。

吸入方法はインスリン微細結晶粉末を深呼吸してできるだけ速やかに吸入し呼吸を5~10秒間止める。これを30秒を1サイクルとして6回都合3分間かけて99Uのインスリンを吸入する。健常人に99Uのインスリンを吸引したときの血中インスリン濃度(図7)およびインスリン作用としてのブドウ糖の取り込みの推移を図8に示した。インスリンの頂値は15分にみられ以降45分まで高値を維持し漸減した。インスリン吸引後、インスリン作用は45分にプラトーとなり、以降360分にわたり持続した。5Uの静脈内注入インスリンと比しインスリン吸収率は $5.6 \pm 2.8\%$ (± 1 SD)と推定され、インスリン作用

図 7

健常人に 99 U のインスリン粉末を吸入したときの血中インスリンの推移(—)を、静脈内インスリン 5 U 注入時(……)と皮下インスリン 5 U 注射時(-----)の血中インスリン推移と比較した。

図 8

健常人に 99 U のインスリン吸入(—), インスリン 5 U の静脈内注入(……), インスリン 10 U の皮下注射時の全身でのブドウ糖摂取率の推移を血糖クランプ法を用いて検討した。

(血糖値を生理的濃度に固定し生体全体のブドウ糖摂取率から推定する)は $7.8 \pm 3.5\%$ と推定された⁵⁾。

噴霧インスリン製剤は、気管支粘膜から血中への移行が速やかであることから、基礎インスリン分泌の代替えよりも追加インスリン分泌の代替えを図るべきと考える。インスリン分泌がまったく枯渇した1型糖尿病患者のインスリン治療に置き換えることは不可能であり、中間型インスリン製剤を1日1回注射した上で、噴霧インスリンを食直前に噴霧することが血糖管理に必要である。ただし、食後の血糖変動は速効型インスリン製剤皮下注射より大きいと想定される。したがって、噴霧インスリンがより有効な糖尿病患者は、基礎インスリン分泌が保たれた2型糖尿病患者である。これら症例では内因性インスリン分泌が少し存在するため、噴霧インスリンの吸収の変動が大きくても内因性インスリン分泌が代償し、食後の血糖変動を良好にコントロールしうると考えられる。

5. 経皮的吸収の検討

皮膚からは、ペプチドあるいは蛋白は吸収されないとされている。しかしながら、Chienらはインスリンの単分子をイオン化し、皮膚に電流を流すことにより皮膚からのインスリン吸収を可能とした⁶⁾。しかし、いまだ動物実験レベルでインスリンの血糖降下効果がみられるにすぎない。

Mitragotriら⁷⁾は、transducerをインスリン溶液に浸け、皮膚から1 cm はなして、 $12.5 \sim 225 \text{ mW/cm}^2$ の強度の超音波(20 K Hz, 100 msec パルス)により、インスリンの経皮的吸収が起こりうることを明らかにした。本方法を体毛のないラットに応用し、超音波を1分間あるいは1時間かけることにより、

明らかな血糖の効果を認めている。超音波による明らかな副作用は報告されておらず、臨床応用の可能性の検討が待たれている。

おわりに

1型糖尿病のみならず2型糖尿病患者でもその長期減少傾向にある内因性インスリン分泌の低下を代償するためには、注射によらないインスリン製剤の開発が望まれている。その開発は1960年代よりつづいているが、近年臨床応用可能な製剤が現在治験段階にある。噴霧インスリンは、吸収に個体間変動が多きなど問題を有するが、軽症2型糖尿病患者に用いればその治療効果は大きく、吸収が一定している遅効型インスリン製剤と組み合わせれば、QOLを損うことなくインスリン治療を早期に導入、遂行することが可能となるなど、その臨床応用が待たれている。

文 献

- 1) Insulin glargine
- 2) Yamasaki Y, Shichiri M, Kawamori R, Kikuchi M, Yagi T, Arai S, Tohdo R, Hakui N, Oji N, Abe H: The effectiveness of rectal administration of insulin suppository in normal and diabetic subjects. *Diabetes Care* 4: 454-458, 1981.
- 3) Nomura M, Kubota M, Sekiya M, Hoshiyama S, Imano E, Matushima Y, Ishimoto I, Kawamori R, Kamada T: Insulin absorption from conjunctiva studied in normal and diabetic dogs. *J Pharm Pharmacol* 42: 292-294, 1990.
- 4) Salzman M et al.: Intranasal aerosolized insulin. Mixed-meal studies and long-term use in Type I diabetes. *New Engl J Med* 312: 1078-1084, 1985.
- 5) Heinemann L, Traut T, Heise T: Time-action profile of inhaled insulin. *Diabetic Med* 14: 63-72, 1997.
- 6) Chien YW et al.: Transdermal iontophoretic delivery of therapeutic peptide/proteins. I. Insulin. *Ann New York Acad Sci* 507: 32-51, 1987.
- 7) Mitragotri S et al.: Ultrasound-mediated transdermal protein delivery. *Science* 269: 850-853, 1995.