

N-2

バクテリアセルロースゲルによる活性炭のカプセル化とグルコース吸着能の評価

Encapsulation of Activated Carbon with Bacterial Cellulose Gel and Evaluation of Its Glucose Adsorption Capacity

○山本祐介¹, 星徹²*Yusuke Yamamoto¹, Toru Hoshi²

Abstract : Effective drug therapy is needed to delay the start of insulin therapy in diabetes mellitus. One approach under investigation involves directly adsorbing glucose, a major factor in diabetes, in the gastrointestinal tract onto oral adsorbents. However, oral administration of adsorbents has disadvantages, such as side effects due to the adsorption of the adsorbent onto the inner surface of the gastrointestinal tract. In this study, activated carbon (AC) an oral adsorbent, was encapsulated using hollow-type spherical bacterial cellulose (HSBC) gel to suppress adsorption onto the gastrointestinal tract. Approximately 2.4 mg of AC was encapsulated per HSBC gel. AC encapsulated in HSBC gel reached adsorption equilibrium within 24 h.

1. 緒言

膵臓β細胞から分泌されたインスリンの作用不足により血糖値が高止まりしている状態を糖尿病と言う。糖尿病は20歳以上の10人に1人が罹患する生活習慣病の一種であり、合併症として、網膜症や腎症、神経障害などを誘発するため、適切な治療が必要である。糖尿病は血糖制御の可否により治療方法が変化する。糖尿病と診断された場合、生活習慣の改善が開始され、次に血糖降下薬を用いた薬物療法、最終的にインスリン療法が行われる^[1]。このインスリン療法でのインスリン自己注射や自己採血時の痛みによるQOLの低下や、使い捨て注射針などの医療廃棄物の処理が課題として存在する。このため、インスリン療法の開始を遅延させる効果的な薬物療法が求められており、多孔質吸着剤を用いて、血糖値上昇の要因の1つであるグルコースを吸着させることで、生活習慣改善の補助や糖尿病の進行抑制が期待されている^[2]。しかし、多孔質吸着剤を経口摂取した場合、服用時の不快感や、腸内壁への吸着による腸閉塞や腸管穿孔などの副作用が報告されている^[3]。

これらの副作用を回避するために、当研究室で調製に成功した中空球状バクテリアセルロース(HSBC)ゲルを新規薬剤カプセルとして検討する。HSBCゲルの特徴として、生体内での高い安定性と、網目サイズに依存した物質の選択的透過性が挙げられる^[4]。HSBCゲル内部に吸着剤として活性炭を内包することで、消化管内壁への吸着による副作用を抑制しつつ、グルコースを吸着した状態で体外に排出することが可能となる。

先行研究では、活性炭を含む担持体表面に酢酸菌を植菌した培養液(母液)を付着させることで、活性炭内包HSBCゲルの調製に成功した^[5]。しかし活性炭量の増加に伴い、担持体表面に活性炭が露出することで、培養液が均一に纏わり付かず、不均一なBCゲル膜産生によるHSBCゲル調製の再現性が低いことが課題であった。

本研究では、担持体表面を親水性ゲルで覆い、均一なBCゲル膜を有する活性炭内包HSBCゲルを調製し、得られたゲルのグルコース吸着能の評価を行い、糖尿病の進行を遅らせる新規経口吸着剤の基礎的な知見の収集を目的とする。

2. 実験操作

2-1. 活性炭含有球状寒天ゲルのアルギン酸カルシウム(Ca-Alg)ゲルコーティング

既報の方法で活性炭含有球状寒天ゲルを調製した^[5]。調製した球状ゲルを1 wt% CaCl₂ aqに1時間以上浸漬させた。その後、茶こし網に上げ、キムワイプを用いて球状ゲル表面に付着しているCaCl₂ aqを除去した後、800rpmで攪拌した0.8 wt% Na-Alg aq 200 mL中に1粒ずつ加え、20分間攪拌した。攪拌終了後の球状ゲルを回収し、余分なNa-Alg aqを純水で洗浄後、5 wt% CaCl₂ aqに1時間浸漬させた。回収した球状ゲルを以下(2-2)の培養操作に使用した。

2-2. 活性炭内包HSBCゲルの調製

調製したコーティング済み活性炭含有球状寒天ゲルを、母液に1日浸漬した。シリコンオイル(KF-56A)を満たしたU字底96ウェルプレート(PTFE製)の各ウェルに母液に浸漬させたゲルを1粒ずつ沈め、ゲルの表面に付着するよう母液を4 μL滴下し、30℃で培養を開始した。培養開始5日後にスパチュラを用いてウェル内のゲルを上下反転させた。反転後、母液を4 μL滴下し、さらに2日間培養した。培養後、得られたゲルを純水洗浄し、1 wt% NaOH aqに3日間浸漬することで酢酸菌の溶菌処理を行った。2 wt% Na₂CO₃ aqに1日浸漬させコーティング層の除去を行った。最後に純水中で95℃、1日加熱を行いHSBCゲル内部の寒天ゲルを溶解除去した。

1: 日大理工・院(前)・応化 2: 日大理工・教員・応化

2-3. 活性炭内包 HSBC ゲルのグルコース吸着能の評価

18 g/L に調製したグルコース水溶液 2.5 mL に対して活性炭内包 HSBC ゲル 10 個, または活性炭粉末 25 mg をそれぞれ分散させ, 所定時間攪拌した. 分散開始から 6, 12, 24, 48 時間後に分散媒を 1 mL ずつ分取した. 回収した溶液は純水で 8 倍希釈して試料溶液とした. この試料溶液をラボアッセイ™ グルコース(富士フイルム和光純薬(株))を用いてグルコースの定量を行った. 得られた実測値から擬一次反応速度式を用いて平衡吸着量を算出した. またグルコース水溶液の溶媒を崩壊試験液(1 液: pH 1.2(模擬胃液), 2 液: pH 6.8(模擬腸液))に変更し, 恒温槽内(37 °C)で分散させることで消化管内の環境を再現した *in vitro* 条件下での吸着試験も同様に行った.

3. 結果・考察

3-1. 活性炭内包 HSBC ゲルの調製

内部の粒子に流動性があることから, HSBC ゲル内部コーティング層と寒天部分が除去されたことを確認し, 均一な膜厚を有する活性炭内包 HSBC ゲルの調製に成功した(Fig. 1). 直径約 2 mm の HSBC ゲル 1 個あたりに内包された活性炭量は 2.4 mg であり, 回収率は 67.0%であった.

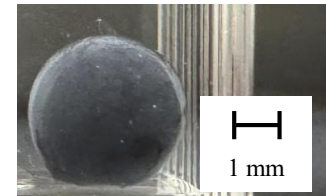


Fig. 1 Activated carbon (AC) encapsulated HSBC gel (AC-HSBC gel).

3-2. 活性炭内包 HSBC ゲルのグルコース吸着能の評価

活性炭粉末と同様の吸着挙動が見られたため, 活性炭内包 HSBC ゲルがグルコースに対する吸着能を持つことが示唆された(Fig. 2).

消化管内環境においてもグルコースの吸着が確認された(Fig. 3, 4). また全ての条件で分散開始から 24 時間で吸着平衡に達した. この時の活性炭内包 HSBC ゲルでの平衡吸着量は, 純水, 模擬胃液(pH 1.2), 模擬腸液(pH 6.8)の順に, それぞれ 266.4, 112.9, 211.5 [μg/mg-AC]であった. 溶媒を変更したことで, 平衡吸着量に差が見られたため, 活性炭のグルコースに対する吸着能は pH に依存することが示唆された.

以上のことより, 活性炭が HSBC ゲルから漏れ出ず, グルコースの吸着が可能な新規経口吸着剤としての機能を確認した.

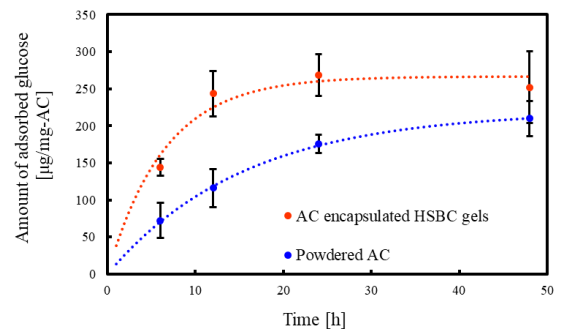


Fig. 2 Glucose adsorption capacity of powdered AC and AC-HSBC gels in Milli-Q water.

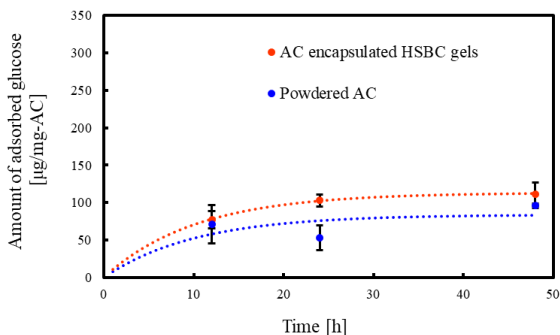


Fig. 3 Glucose adsorption capacity of powdered AC and AC-HSBC gels in simulated gastric fluid (pH 1.2).

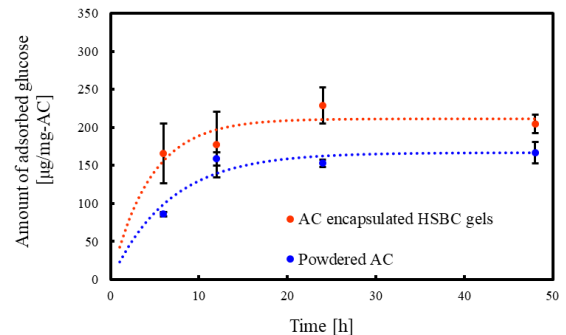


Fig. 4 Glucose adsorption capacity of powdered AC and AC-HSBC gels in simulated intestinal fluid (pH 6.8).

4. 結言

均一な膜厚を有する活性炭内包 HSBC ゲルの調製に成功した. それらがグルコースに対して活性炭粉末と同様の吸着挙動を示したため, HSBC ゲルに内包された活性炭のグルコースに対する吸着能を確認した. また *in vitro* 条件下でグルコースの吸着が見られたことから, 糖尿病の進行を遅らせる新規経口吸着剤への応用が期待される.

5. 参考文献

[1]日本糖尿病学会 編・著, 糖尿病治療の手引き 2020 改訂第 58 版 (2020)
 [2] K. Kubo, *et al.*, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **67**, 283-291 (2021)
 [3] Green J. P., McCauley W., *Can. J. Emerg. Med.*, **8**, 358-360, (2006)
 [4] T. Hoshi, *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 4919, (2019)
 [5] A. Hirai, *et al.*, *Gels*, **10**, 723, (2024)