

# インスリン・エアロゾル療法投与に関する基礎的研究

三重大学 耳鼻咽喉科

原 田 輝 彦

エアロゾル療法は種々の気道疾患に対する局所薬物療法として、耳鼻咽喉科で最も繁用されている治療法の一つである。このエアロゾル療法により鼻粘膜に投与された薬剤の吸収については、私達はすでに本研究会で報告してきた。今回は、鼻腔内へのエアロゾルによる薬剤の投与ではあるが、局所治療としてのものではなくて、全身投与の一投与経路としてのエアロゾル療法について検討した。

現在、私達がエアロゾル療法として用いている薬剤は、主に抗生剤であり、ステロイドであるが、耳鼻咽喉科以外の領域においてもある種の薬剤の鼻腔内投与が試みられている。その多くが下垂体ホルモンであり、臨床応用の報告も散見される。中でも合成 LH-RH の鼻腔内投与を検査および治療に用いる方法が注目されている。その他、ACTH、Vasopressin Oxytocin も鼻粘膜より吸収されるといわれ、その実用化が検討されている。中枢性尿崩症治療剤としてデスモプレッシン点鼻液<sup>®</sup>が既に市販されてきている。下垂体ホルモン以外では、インスリン投与が一部で検討されている。下垂体ホルモンは分子量 4,000 までであり、鼻粘膜より比較的容易に吸収されると報告されている。一方、インスリンは分子量 6,000 であるが、ポリマーを作ることも多く、吸収は下垂体ホルモンに比べてやや悪いことが予想される。しかし、このインスリンが鼻粘膜より吸収されるなら糖尿病治療に大きな進歩を与えることになる。特に、不安定糖尿病に対しては注射による疼痛をさけることが出来、頻回投与が可能となりコントロールしやすくなることが期待される。そこで私達は、インスリンをウサギ鼻腔内にネビュライザー投与し、その吸収性について検討した。

## 実験材料および方法

一晩絶食させたウサギ(2.0~2.5 kg)の鼻入口部にジェット・ネビュライザーの導管を挿入固定し、気管切開部より後鼻孔に向いチューブを挿入して気管内への流入を防止した。また、このチューブと咽頭の間にはガーゼで密栓し、食道入口部は結紮した。この鼻粘膜吸収モデルを用い、血中インスリン及び血糖値の変動を経時的に調べるとともに、免疫組織学的にインスリンの吸収経路をも検討した。投与したインスリンはブタ結晶インスリン(Sigma社製)およびアクトラピッド・インスリンを100U/kgで用いた。溶媒による吸収能の差をみる目的としてはpH7.6と3.0の0.9%生理食塩水、2% Serrapeptase、2% Lysozyme chloride、1% Triethanolamine および1% sodium glycocholateを用いた。

### ① 血中インスリンの測定

Enzyme immunoassay を用いてウサギ血清中の Immunoreactive insulin (IRI) を測定した。

### ② 血糖値の測定

Somogyi-Nelson 法にて測定した。

### ③ 免疫組織学による吸収経路の検討

Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) 法を用いた。インスリン・ネビュライザー15分後のウサギ鼻粘膜を4%中性ホルマリンにて固定し、パラフィン包埋後に薄切し、脱パラフィン処理を行った。内因性ペルオキシダーゼ活性を除去するために0.3%過酸化水素加メタノールにて処理後、正常ヤギ血清処理し、ブタ・インスリンに対する一次抗体(モルモットにて作成: Polyscience Inc.)を反応させて、ビオチン化二次抗体(抗モルモット IgG抗体: Vector Laboratories, Inc.)を加えた後、ABCと反

応させた。これにペルオキシダーゼ基質を加えて発色させた。

## 結 果

### 1) IRIおよび血糖値

① pH 7.6 の生理食塩水を溶媒とした場合  
投与後 5 分で IRI の上昇をわずかに認めるが、以後もあまり上昇せず、血糖値もむしろ一時的に増加するものもあった。

② pH 3.0 の生理食塩水を溶媒とした場合  
鼻粘膜よりの吸収は pH 7.6 に比べ増加していたが、血糖値を下げるまでには至らなかった。

③ 2% Serrapeptase, 2% Lysozyme chloride を溶媒とした場合

インスリン吸収には変化はなかった。

④ 1% Triethanolamine を溶媒とした場合  
個体差はあるもののインスリンの吸収は明ら

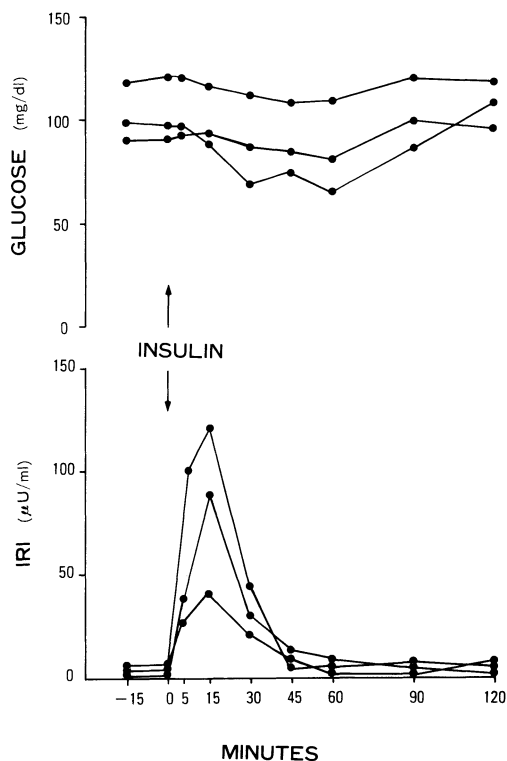


図 1 1% Sodium glycocholate を溶媒としてインスリンをネブライザー投与した場合(インスリン量 100 U/kg) の血清中のインスリン量と血糖値の変動

かに増加し、血糖値を低下させるものもあった。

⑤ 1% Sodium glycocholate を溶媒とした場合

インスリンの吸収は良好で、15 分後にピークを示した。また、インスリンの上昇にやや遅れて血糖値の低下を確認することが出来た(図 1)。

### 2) 鼻粘膜よりのインスリン吸収経路

鼻粘膜繊毛上皮細胞の細胞質内へインスリンが取り込まれているのが観察できた。また、細胞間隙からも吸収が盛んで、特に深部では細胞間隙を中心にペルオキシダーゼ活性を認めた(図 2)。

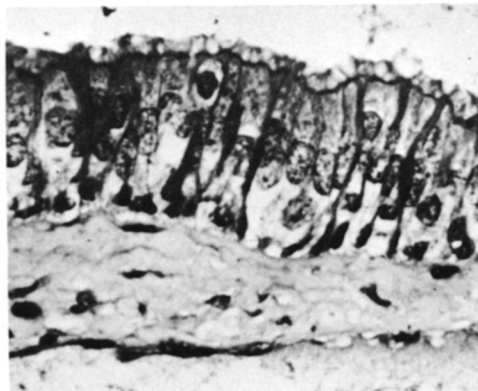


図 2 ウサギ鼻粘膜における酵素抗体法によるインスリンの局在

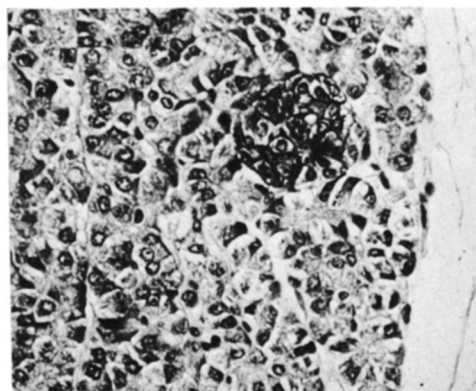


図 3 ウサギ膵臓を用いた酵素抗体法による特異性の証明(ランゲルハンス島のβ細胞にのみ特異的に反応している)

なお、インスリン結晶はアクトラピッド・インスリンに比べ、細胞間隙により多くの吸収像が観察できた。

なお、本実験系の特異性を検討するため、ウサギの膵臓を染色してみた。図3のように、ランゲルハンス島の $\beta$ 細胞にのみ特異的に反応しているのが観察された。

## 考 察

本実験より、インスリンの鼻腔内エアロゾル投与で、明らかに鼻粘膜より吸収され、そのままでは吸収能は悪いものの、溶媒を工夫することで吸収能を高め、血糖値を下げることがわかった。その吸収経路は鼻粘膜繊毛上皮細胞質を経るものと細胞間隙より吸収されるものがあると思われた。亜鉛存在下の中性溶液中ではインスリンは6量体をとることから考えると、粘膜上皮細胞質を経て吸収されるものは、こうしたより高分子のものが考えられ、細胞間隙より吸収されるものは、より低分子のものではなからうか。

以上のように、インスリンの鼻腔内エアロゾル投与により、明らかに鼻粘膜より吸収されることが証明されたが、これらはあくまでも基礎実験であり、臨床応用という面からみると今後解決すべき問題が多数残されている。インスリン投与量と血糖下降程度をより確実に把握する必要があるのは勿論、長期に使用した場合の鼻粘膜障害の可能性なども十分考えられる。また、界面活性剤などを用いることで、インスリンの吸収が促進されても、インスリン以外の物質を吸収しやすくするという可能性があり、生体防御機能を低下させる恐れもある。こうした問題を今後一つずつ解決してゆかなければならないが、全身投与薬剤の新しい投与ルートとしてのエアロゾル療法の可能性が考えられ、更に検討するに値する分野であると確信する。