

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：32658

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K21731

研究課題名（和文）滲出液の成分変化に着目した新たな栄養状態評価法の確立

研究課題名（英文）The establishing a novel technical measure of nutritional status using a biomarker in the wound fluid.

研究代表者

山根 拓実（Yamane, Takumi）

東京農業大学・応用生物科学部・准教授

研究者番号：80637314

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：タンパク質摂取量は創傷治癒と密接な関連があるため、創部の滲出液を用いてタンパク質栄養のマーカーとなる分子の同定を行った。その結果、低タンパク質栄養状態の創傷モデルラットでは滲出液におけるAdiponectin濃度の増加が認められた。低タンパク質栄養状態のラットにタンパク質を再給餌すると体重及び血中のタンパク質栄養マーカーであるRetinol-binding protein(RBP)4に変化は認められなかったが、滲出液中のAdiponectin濃度は低下傾向を認めた。このことから、体重及び血中RBP4に比べ、滲出液中のAdiponectinは鋭敏な栄養マーカーとなり得る可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題は、これまでの創傷ケアでは単に廃棄されてきた滲出液を合目的に変化させ、タンパク質栄養の評価ツールとして利用するという、全く新しいコンセプトの管理手段の提案となり、患者だけでなく看護の者にもたらす恩恵は極めて大きいといえる。この方法を用いれば、在宅において簡易かつ安全で患者に負担をかけることなく、医師や看護師などの医療従事者でなくとも栄養状態の把握が可能である。将来的にこの評価方法が臨床現場や在宅で導入されれば、寝たきり高齢者の低タンパク質栄養状態の早期発見につながり、効果的な栄養ケアの介入を行うことが可能となることが考えられる。

研究成果の概要（英文）：It is necessary to establish a brief and simplified method for evaluation of nutritional status during the wound healing process because malnutrition is closely associated with protracted wound healing. In the present study, we used an animal model to examine effects of a low protein (LP) diet on wound fluid component changes in rats. The concentrations of adiponectin in the wound fluid from rats fed a PF diet markedly changed, but this abnormality was reversed by refeeding a control diet. These results show that adiponectin in the wound fluid is available as a nutritional biomarker. This study would contribute to the establishing a novel technical measure of nutritional status during the wound healing process.

研究分野：分子栄養学

キーワード：創傷治癒 褥瘡 滲出液 Adiponectin

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

近年の高齢化に伴い寝たきり高齢者の増加が問題となっている。特に在宅での寝たきり高齢者の褥瘡保有率は高い。褥瘡管理で最も重要なことはその予防であることは言うまでもないが、高齢者や複雑な病体を有する患者ではその発症を防ぎきれない例も多くあることから、創傷に対する看護ケアの重要性は相対的に増加している。褥瘡の発生と治癒遅延には栄養障害が根底にあり（*J. Am. Geriatr. Soc.*, 34, 435-440, 1986）、食の改善が必要不可欠である。褥瘡の治癒はタンパク質栄養と密接な関係があるため（*昭和学士会誌*, 74, 120-127, 2014）、摂食によって体内の栄養状態がどのような状態であるか常時把握する必要がある。現在の方法は、血液を採取し、血液中の様々な因子の変動から栄養状態を検討することが行われている。しかし、採血は高齢者にとっては、体力的に非常に負担であり、また医師、看護師及び検査技師等にしかできない方法である。さらに、血液からの感染リスク、医療廃棄物など様々な問題も抱えている。そこで、申請者は簡便で誰にもでき、さらに痛みの少ない栄養状態の診断方法を開発すべく、滲出液中のタンパク質に着目した。

### 2. 研究の目的

本研究では創傷時の簡便な栄養状態の評価技術の確立を目的に、タンパク質栄養の悪化した全層欠損創モデルラットを用いて滲出液の成分変化を検討した。

### 3. 研究の方法

コントロール食（CO群；タンパク質含量20%）または低タンパク質食（LP群；タンパク質含量2%）を14日間摂取させたラット（6週齢、Wistar系、雄性）の背部に2か所全層欠損創を作製し、創傷被覆材を貼付した。毎日、創傷被覆材を交換時に滲出液を回収した。解剖時に採血を行い、血中のタンパク質栄養マーカーである Retinol-binding protein (RBP) 4 の濃度を ELISA 法で測定した。また、群ごとにプールした滲出液を用いてサイトカインアレイによりタンパク質の相対量を網羅的に解析した。変動の認められた分子に関しては ELISA 法で再現性を確認した。

次に、タンパク質の再給餌が滲出液中のマーカー候補の分子に及ぼす影響を検討した。ラット（6週齢、Wistar系、雄性）を馴化飼育後、全ての個体に低タンパク質食（タンパク質含量2%）を14日間摂取させた。その後、背部に2か所全層欠損創を作製し、創傷被覆材を貼付した。創作製後、継続して低タンパク質食を摂取する（LP群）と正常食に切り替える（RF群）に群分けを行った。毎日、創傷被覆材を交換時に滲出液を回収した。解剖時に採血を行い、血中のタンパク質栄養マーカーである RBP4 濃度及び滲出液中のマーカー候補の分子を ELISA 法で測定した。

### 4. 研究成果

14日間の低タンパク質摂取により、CO群に比してLP群で体重及び血中 RBP4 濃度が有意に減少した。また、サイトカインアレイを用いて滲出液中のタンパク質を網羅的に解析したところ、Adiponectin 及び Plasminogen activator inhibitor (PAI) -I が顕著に増加した。これらの変動の再現性を確認するために ELISA 法を用いて解析を行った結果、滲出液中の Adiponectin 及び PAI-I の濃度が有意に増加した。また、タンパク質の再摂食が滲出液中の Adiponectin 濃度に及ぼす影響を検討したところ、LP群に比してRF群で減少傾向が認められた。一方で、血中 RBP4 濃度に差は認められなかった。

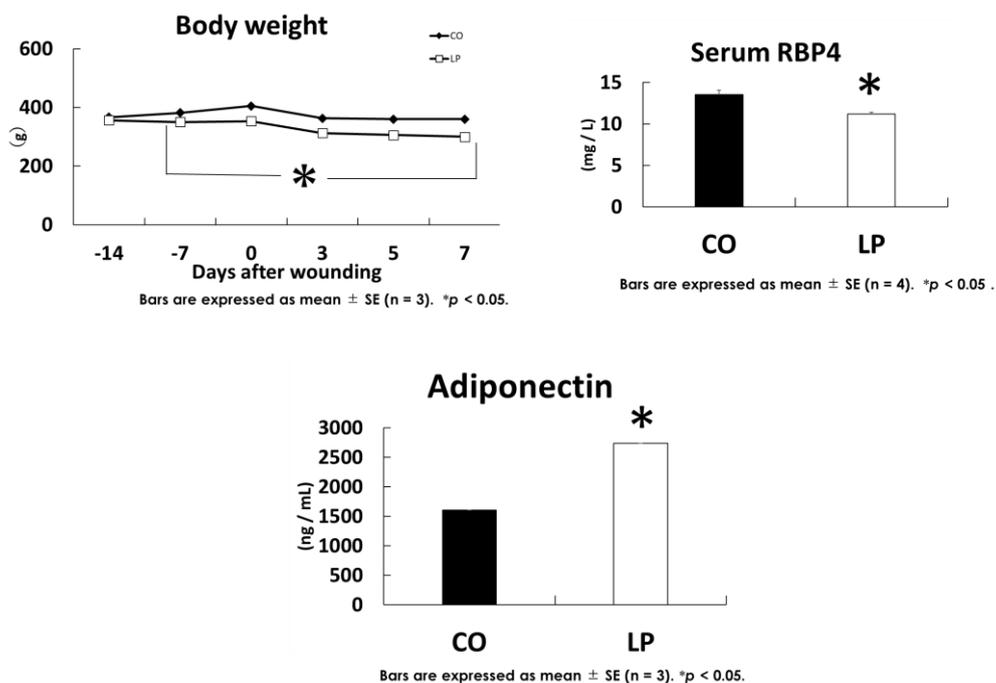


図. 14日間の低タンパク質栄養食が体重、血中 RBP4 濃度及び滲出液中 Adiponectin 濃度に及ぼす影響

以上のことから、タンパク質栄養を反映する滲出液中のマーカーとして Adiponectin が同定された。低タンパク質栄養状態のラットにタンパク質を再給餌すると体重及び血中 RBP4 に変化は認められなかったが、滲出液中の Adiponectin 濃度は低下傾向を認めた。このことから、体重及び血中 RBP4 に比べ、滲出液中の Adiponectin は鋭敏な栄養マーカーとなり得る可能性が考えられる。一方で、生体における Adiponectin 産生は肥満や糖尿病等の代謝疾患の影響を受けることが知られているので、タンパク質栄養で特異的に変動する複数の滲出液中のマーカーを同定し、臨床現場に用いる必要がある。本研究の結果より、これまで看護ケアでは単に廃棄されてきた滲出液を栄養状態の診断マーカーとして利用するという、全く新しい栄養状態の評価法の提案となり、患者にもたらす恩恵は極めて大きいといえる。

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 0件）

1. 著者名 Takumi Yamane, Gojiro Nakagami, Hiromi Sanada, Yuichi Oishi	4. 巻 23
2. 論文標題 Hydrocellular foam dressing regulates MMP1a, MMP9, MMP10, MMP12 and MMP13 gene expression in periwound skin	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Pressure Ulcers	6. 最初と最後の頁 313-317
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Takumi Yamane, Atsuko Hayashi, Aya Kitamura, Gojiro Nakagami, Hiromi Sanada, Yuichi Oishi	4. 巻 25
2. 論文標題 Hydrocellular foam dressing improves wound healing by increasing the VEGF/HIF-1 expression	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Pressure Ulcers	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 山根拓実
2. 発表標題 低タンパク質栄養状態により誘導されるFGF21が創傷治癒に及ぼす影響
3. 学会等名 日本外科代謝栄養学会第57回学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山根拓実, 岩槻健, 大石祐一
2. 発表標題 アミノ酸スコアの異なるタンパク質摂取が全層欠損創モデルラットに及ぼす影響
3. 学会等名 日本アミノ酸学会第14回学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山根拓実, 岩槻健, 大石祐一
2. 発表標題 アミノ酸スコアの異なるタンパク質摂取が創傷治癒に及ぼす影響
3. 学会等名 第50回日本創傷治癒学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山根拓実, 仲上豪二郎, 真田弘美, 大石祐一
2. 発表標題 Hydrocellular foam dressing貼付が創傷治癒関連遺伝子に及ぼす影響
3. 学会等名 第22回日本褥瘡学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山根拓実
2. 発表標題 タンパク質栄養が創傷治癒に及ぼす影響とその分子メカニズム
3. 学会等名 第75回日本栄養・食糧学会大会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takumi Yamane, Honoka Cho, Yuka Takei, Nonoka Tenjin, Ken Iwatsuki, Yuichi Oishi
2. 発表標題 Establish of nutritional markers in wound fluid as a simple and quick method that replace a blood test
3. 学会等名 The 9th Asia Pacific Enterostomal Therapy Nurse Association Conference (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 林温子, 大石祐一, 山根拓実
2. 発表標題 滲出液を用いたタンパク質栄養マーカーの同定
3. 学会等名 第24回日本褥瘡学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山根拓実, 林温子, 大石祐一
2. 発表標題 Hydrocellular foam dressing貼付が創傷治癒プロセスにおける血管新生に及ぼす影響とその分子メカニズムの解明
3. 学会等名 第24回日本褥瘡学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山根拓実
2. 発表標題 食事中のタンパク質が褥瘡に及ぼす影響とその分子メカニズムの解明
3. 学会等名 日本食品科学工学会第69回大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山根拓実
2. 発表標題 褥瘡の治癒及び予防に関する分子栄養学的研究
3. 学会等名 第77回日本栄養・食糧学会大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 後藤花梨, 山根拓実, 大石祐一
2. 発表標題 滲出液を用いた亜鉛欠乏マーカーの同定
3. 学会等名 第25回日本褥瘡学会学術集会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 大石祐一, 山根拓実	4. 発行年 2021年
2. 出版社 株式会社北隆館	5. 総ページ数 4
3. 書名 BIO Clinica	

1. 著者名 山根拓実	4. 発行年 2021年
2. 出版社 株式会社エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 4
3. 書名 進化する皮膚科学	

〔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
---------	---------