

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：13101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23659829

研究課題名(和文) ストレスは創傷治癒を遷延させ、抗ストレス薬は治癒を促進させ得る

研究課題名(英文) The stress prolongs wound healing, and the antistress medicine can promote healing.

研究代表者

宮田 昌幸 (MIYATA, Masayuki)

新潟大学・医歯学系・講師

研究者番号：30261928

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,800,000円、(間接経費) 540,000円

研究成果の概要(和文)：難治性病変のモデルとして作成した皮膚欠損創の上皮化速度についてはストレス負荷群では非負荷群と比較して遷延しており、マクロのデジタル画像上で差を認めた。組織学的には、創傷作成2週間後には、拘束ストレス負荷群の糖尿病マウスの創傷では、肉芽形成とコレステリン結晶が多く見られ、これらは治癒が遷延していることを裏付ける事実と考えられた。ストレス負荷群では、再生皮膚の膠原繊維の再構築や新生血管の密度なども劣ることを認めている。

研究成果の概要(英文)：The epithelization speed of the wound area was prolonged as compared with non-load group, and the group of stress load showed a difference on a digital image. A granulation and cholesterol crystal are frequent in the wound of the diabetes mouse of the immobilization stress load group, and, two weeks after the wound making, these support that healing is prolonged histologically; in fact, it was thought. The group of stress load shows that diabetes mice are inferior to the rebuilding of the collagen fiber of the reproduction skin or the neovascular density.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：形成外科学

キーワード：ストレス 創傷治癒 難治性潰瘍

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 難治性潰瘍発症の一因である糖尿病において血管数の減少、血管壁の硬化、血管透過性異常、動静脈吻合の増加などの病態に、ストレスによる各種ホルモンが影響し、症状を増幅している可能性は高い。動物実験では、拘束ストレス下に、各種ホルモンや放出因子、IL-6などのサイトカイン、カテコールアミン、血糖値、中性脂肪の上昇を認めている。臨床では、糖尿病患者には、神経を栄養する血管も障害され、神経因性疼痛も見られるため、抗うつ薬が鎮痛目的に投与されている。また、静脈性下腿潰瘍ではストレスを心理的にケアすることで、治癒が促進することが確認されている。

(2) 脳由来神経栄養因子(brain-derived neurotrophic factor : BDNF)は、神経細胞の発達・生存に大きな役割を担っているが、抗うつ薬投与により BDNF 産生が増加すること、神経細胞への分化が促進されることが判明し、抗うつ薬と BDNF、そして神経回路網の修復・形成促進の相互の関連が強く示唆されている。このようにストレスと組織傷害、抗ストレス薬と組織再生との関連は深く、創傷治癒に影響しているとの着想に基づく。

(3) 慢性腰痛の増悪や遷延化にはこれまで考えられていた以上に心理的、社会的要因が深く関与しており、従来のメカニカルストレスの除去がすべてではなく、プライマリケアから心身医学的アプローチが重要との認識がなされ始めている。

「慢性化した創傷の治療にも心理・社会的アプローチは重要ではないか?」というアイデアから、「ストレスは創傷治癒を遷延させ、抗ストレス薬は治癒を促進させ得るか?」というテーマに帰着し、研究を開始した。

## 2. 研究の目的

以下の3点につき明らかにすることを当初の目的とした。

(1) 拘束ストレスは糖尿病ラットの創傷治癒を遷延させるか。

(2) 抗ストレス薬は拘束ストレスを受けた糖尿病ラットの創傷治癒を促進するか。

(3) 抗ストレス薬は拘束ストレスを受けない正常ラットの創傷治癒も促進するか。

## 3. 研究の方法

新潟大学動物実験倫理委員会の承認(新大研第323-1号)を得た後、下記の要領で実験に着手した。

(1) 実験1: 拘束ストレスにより糖尿病マウスの創傷治癒が遷延するか?

動物モデル作成

糖尿病マウスとして8週の雄のdb/dbマウス(体重約50g)を用いた。皮膚欠損創の作成:

ペントバルビタールナトリウム(60mg/kg)の腹腔内注射による麻酔下に背部の左右4箇所(直径6mm)の生検トレパンを用いて全層皮膚欠損創を作成し(図1)、創面はポリウレタン製フィルムドレッシング材にて被覆した。なお、マウスは空腹時血糖値を測定し、すべて200mg/dl以上であることを確認した。

1) ストレス負荷群(n=10): ストレスの負荷は、1日1回、4時間(ストレスに適応形成しない最小時間から決定した)、アニマルポケット内に強制拘束した。本操作は、手術後14日間、連日施行した。

2) コントロール群(n=10): ストレス負荷はせず、通常の個別ケージにて飼育、皮膚欠損創の作成と観察のみ行った。

ストレス反応の評価

術後14、28日目に麻酔下に被覆剤を剥がし、創部を露出させ、デジタルカメラにて創部をメジャーと共に撮影し記録、PC上で画像解析ソフトを用いて創部面積を算出した。また、組織標本作製し、治癒過程の所見を観察した。

(2) 次の段階の「抗ストレス薬は糖尿病マウスの治癒を促進させるか」との実験2では、10匹の糖尿病マウスにストレス負荷期間中の14日間、三環系抗うつ薬を10mg/kgずつ、経口投与し、治癒を促進することができるか検証する計画であった。皮膚欠損創の作成、ストレス負荷および創傷治癒の評価法は実験1と同様に行う予定であったが、実施に至らなかった。

## 4. 研究成果

(1) 本研究では、難治性潰瘍を合併する病態を前提とし、当初は糖尿病ラットの創傷治癒過程にストレスが動物に与える影響と抗ストレス薬の効果を観察する実験を計画したが、文献や参加した関連学会での情報から、糖尿病マウスに変更した。また、当初実験設備として利用を計画していた新潟大学附属の動物実験施設が修復工事中は使用困難となったため、当科教室内の一区画に実験室を作成し、実験に必要な器材を揃えた。予算内でより効率的に実験を行うことに努めた。更に、本実験に先立ち、背部に作成した皮膚欠損創の再現性のある作成法と治癒過程の評価法を再検討するなど実際の動物実験開始までに遅延が生じた。

(2) 第一段階の「拘束ストレスにより糖尿病マウスの創傷治癒が遷延するか」については実験では、傷面積の収縮(上皮化)速度についてはストレス負荷群ではコントロール群と比較して遷延していた。マクロのデジタル画像上では、より多くの皮膚欠損の残存や痂皮形成を認めた(図2a,b)。



図 1：皮膚欠損創の作成



図 2a: コントロール群では4箇所とも癒痕治癒している

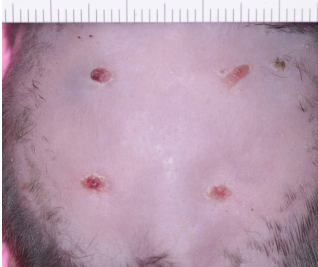


図 2b: ストレス負荷群では皮膚欠損の残存、痂皮形成を認める

組織学的には、欠損創作成2週間後には、拘束ストレス負荷群の糖尿病マウスの創傷では、肉芽形成とコレステリン結晶が多く見られた(図 3a, b) が、これらは拘束ストレスにより治癒が遅延していることを裏付ける事実と考えられた。ストレス負荷群では、再生皮膚の膠原繊維の再構築や新生血管の密度なども劣ることを認めている。また、間接的な所見として、欠損創作成部位周囲の除毛した毛の再生も遅れていた。

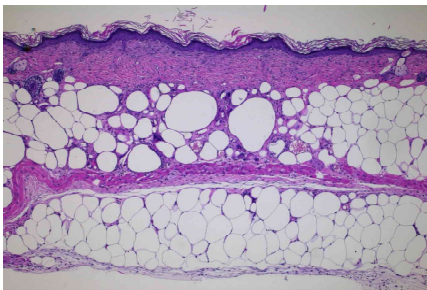


図 3a: コントロール群では皮膚再生は良好で、再構築も早い

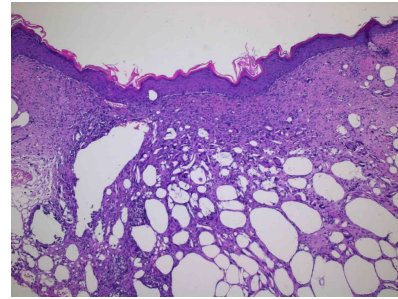


図 3b: ストレス負荷群ではより多くの部位で肉芽形成、コレステリン結晶を認める

(3) 以上、「拘束ストレスにより創傷治癒が遅延する」ことを示す実験結果をまとめ、第23回形成外科学会基礎学術集会(2014年10月10~11日、松本市内開催)で発表予定(現在演題登録中)である。今後は研究の後半テーマである「抗ストレス薬が拘束ストレスを受けた糖尿病マウスの創傷治癒を促進する」ことができるかについて、継続した実験を計画している。

(4) 臨床での難治性潰瘍の病態は単一ではなく、治癒のメカニズムにも多様な要素が関与している。疼痛自体が大きなストレスとも成り得るが、重症虚血肢の疼痛管理には、セロトニンとノルエピネフリンの再吸収を遮断する三環系抗うつ薬が導入され始めている。最終的に、本研究の継続実験の進展により「抗ストレス薬が糖尿病マウスの創傷治癒を促進する」事実を示す結果が得られれば、疾患そのものも患者にはストレスになり、抗ストレス薬に何らかの治療効果があるのではという仮説は「疾病中心の治療から、患者自身の治療へ」という病を抱える患者サイドへ、より軸足を置いた治療戦略への発想の転換を促すとともに、手術療法や高度な先進医療の導入前に試みるべき挑戦的な治療方略になりうると言え、医療費の抑制につながるとともに、もたらされる医療上の波及効果は大きいと思われる。

## 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0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕 (計0件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

宮田 昌幸 (MIYATA Masayuki)  
新潟大学・医歯学系・講師

研究者番号：30261928

(2)研究分担者

長谷川 剛 (HASEGAWA Go)  
新潟大学・医歯学系・准教授  
研究者番号：90251800