

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04455

研究課題名(和文) ベッドサイドでのバイオフィーム検出に基づいた創傷感染予防ケアバンドルの開発

研究課題名(英文) Development of care bundle for preventing wound infection based on bedside biofilm detection

研究代表者

仲上 豪二郎 (Nakagami, Gojiro)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・准教授

研究者番号：70547827

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,700,000円

研究成果の概要(和文)：褥瘡感染の原因であるバイオフィームの検出法は組織生検など侵襲的かつ時間のかかる手法に限られていたため、臨床での観察が不可能であった。そこで本研究では非侵襲的にベッドサイドで実施可能なポイントオブケアバイオフィーム検出技術を開発した。これはブロットングメンブレンを創部に貼付し、極短時間でバイオフィームを染色する技術である。バイオフィーム検出法の並存妥当性および予測妥当性(動物実験、臨床研究)を検証し、ベッドサイドにおけるバイオフィーム検出の結果に基づいた創傷ケアシステムを実施することで、慢性創傷の治癒が有意に促進されることを示した。現在本システムはバイオフィーム検出ツールとして上市されている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来不可能であったバイオフィームの可視化をベッドサイドで可能としたことにより、これまで経験的に行われてきた「創の清浄化」という最も基本的な創傷ケアに変革をもたらした。これは看護技術の本質である非侵襲的、リアルタイムケアを基本とした、褥瘡感染の病態に迫る本質的で合理的なアセスメント技術といえる。これにより、創傷ケアにかかる患者の負担の軽減ならびに医療費の削減に直結するであろう。

研究成果の概要(英文)：The detection of biofilm as a cause of pressure ulcer infection has been based on invasive and time-consuming methods such as tissue biopsy. The limited availability of biofilm examinations made clinical observation impossible. In this study, we have developed a non-invasive, point-of-care bedside biofilm detection technology. We visualize the biofilm using blotting membrane applied to a wound and stained for a very short time. We have confirmed the concurrent and predictive validity of biofilm detection methods (animal studies, clinical studies). The implementation of a wound care system based on the results of biofilm detection at the bedside could significantly accelerate wound healing in chronic wounds. The system is currently on the market as a biofilm detection tool.

研究分野：看護理工学

キーワード：バイオフィーム プロットング デブリードマン 緑膿菌 褥瘡 糖尿病足潰瘍 異分野融合 ポイントオブケア

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

人類未踏の少子高齢社会を迎え、看護ケアの質の向上が今ほど強く求められてきた時代はない。従来の「治す医療」から「支える医療」への転換が求められており、病院の役割も変化を遂げている(日本看護協会, 2014)。すなわち、療養生活の主たる場は地域であり、急性期病院の目的は、疾病の治癒および状態のコントロールにより、患者が自宅に速やかに帰れることへの支援といえる。この療養生活の場の循環を阻害する要因として「褥瘡」が極めて重要であり、本研究課題で特に取り組む褥瘡感染の管理は最もプライオリティの高い看護ケアのターゲットである。以下に、その根拠を述べる。

(1) 褥瘡悪化は在宅への復帰を阻害する

図1は65歳以上で自宅からDPC病院に入院した34万人の医療ビッグデータを解析した結果である(Nakagami et al, 2020)。入退院時に褥瘡がない患者に比べ、褥瘡を有する患者は有意に自宅への退院する確率が低いことを初めて明らかにした。特に着目すべきは、褥瘡が悪化している患者では、在宅復帰できる確率が極めて低いことである。すなわち、褥瘡の悪化は、図2に示すように感染によって生じることが多いため(Trial et al, 2010)、感染予防を行うことが、褥瘡の治癒促進につながり、在宅復帰促進に寄与する。

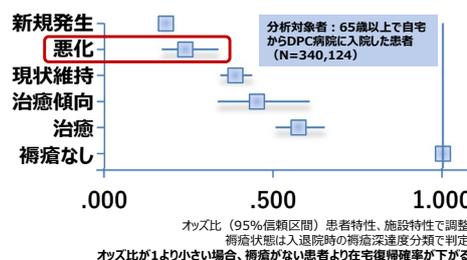


図1: 褥瘡の状態は在宅復帰と有意に関連する



図2: 感染により悪化した褥瘡 図3: 肉眼上は感染していないが、治癒過程が進まない

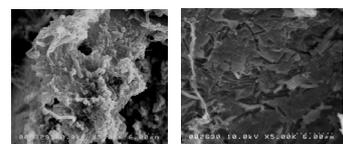
(2) 感染褥瘡の同定方法は確立していない

褥瘡は、その予防が最も重要であることはいままでの間でもないが、不幸にして発生した場合、便・尿汚染などにより創傷感染を起こすリスクが高く、生活を支援する看護師がその管理の多くを担う。しかしながら、高齢者は典型的な臨床徴候が出ないために適切なアセスメント指標がない。また、開放創であるため外部に曝露されていることから、細菌数は診断の指標となりえない(日本褥瘡学会, 2014)。そのため、経験的な感染制御のためのケアが行われており、結果として、創傷治癒遅延や敗血症などの致死性合併症の発生、入院期間の延長など重大な問題を惹き起こしている(Braga et al, 2013)。治癒が進まないことが唯一の臨床所見であり(図3)、2週間経ってから抗菌薬を投与することで創傷治癒が進むクリティカルコロナイゼーションという病態が、臨床的に問題となっている。看護師はこの間を無策で過ごさざるを得ず、大きなジレンマとなっており、本研究課題ではこの問題を明確に定義し、かつその解決策を提示することを目標とした。

(3) 褥瘡感染に対するアプローチ

褥瘡感染やクリティカルコロナイゼーションを客観的に同定するためには、その病態を明確にする必要がある。

バイオフィームとは菌体外多糖類 (Extracellular Polymeric Substances: EPS)に取り囲まれて生息し、宿主免疫や抗菌薬へ抵抗性を示す状態であり、褥瘡の慢性感染はバイオフィーム状態の細菌によって引き起こされる (James et al, 2008)。申請者はラット褥瘡感染モデル (Sugama et al, 2004) を応用し、緑膿菌によるバイオフィーム形成が褥瘡感染に及ぼす影響を検討した。その結果、バイオフィーム形成能を実験的に破壊した緑膿菌では、図4の



緑膿菌標準株 緑膿菌遺伝子改変株 (Nakagami et al, 2012)

図4: バイオフィーム形成能は褥瘡感染に寄与する

走査電子顕微鏡写真で示すように、バイオフィーム感染が引き起こされないことを明らかにした(Nakagami et al, 2008, 2012)。つまり、バイオフィームの有無を観察することで細菌の病原因子発現をとらえることが可能であり、感染同定に有用であることを示唆した。

(4) バイオフィームの非侵襲的可視化技術の提唱

バイオフィームの同定には、生検組織を用いた走査型電子顕微鏡での直接的観察など、侵襲的な方法しかなく、かつそのための高額な実験機器ならびに専門的なスキルが必要であったため、臨床で常時バイオフィームの有無を観察することは不可能であった。そこで、申請者らが開発した、創部表面にある微量なたんぱく質・糖タンパクなどの物質を非侵襲的に採取し、特異的に同定する「ウンドブロッティング法 (Minematsu et al, 2013)」を応用し、バイオフィームの有無を簡便に同定する手法を考案した。図 5 に示す通り、褥瘡表面にあるバイオフィーム成分をメンブレンに吸着させ、ルテニウムレッド染色によりバイオフィームを可視化する。工程にかかる時間はわずか 2 分であるためベッドサイドで実施可能である。

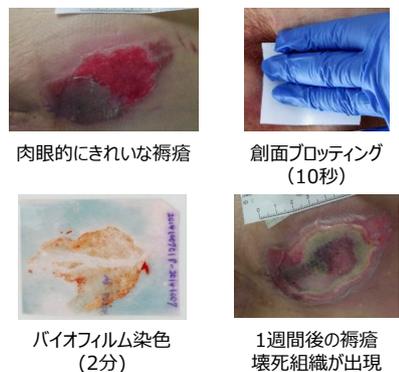


図5：創面ブロッティングによるバイオフィームの可視化

2. 研究の目的

本研究の目的は以下のリサーチクエスチョンに答えることで、バイオフィーム検出に基づいた創傷感染予防ケアバンドルを確立する事である。(1) バイオフィーム検出の基準関連妥当性 (バイオフィーム成分解析がゴールドスタンダード) はあるのか、(2) バイオフィーム検出の結果に基づいた創傷ケアシステムは褥瘡治癒を促進するのか。

3. 研究の方法

ウンドブロッティング法によるベッドサイドでのバイオフィーム検出に基づいた創傷感染予防ケアバンドルの開発のために、異分野融合研究として、以下の研究に取り組んだ。

- (1) 動物実験並びに観察研究による基準関連妥当性の検証：新規バイオフィーム検出法とゴールドスタンダードとの比較 (ラット全層欠損創モデル、臨床の褥瘡壊死組織のサンプル)
- (2) 臨床における実証研究：ベッドサイドでのバイオフィーム検出結果に応じた創傷ケアバンドルの実施は感染を予防し、創傷治癒を促進するのかどうかの検証

本研究は動物実験委員会及び倫理委員会により承認を受けて実施した。

4. 研究成果

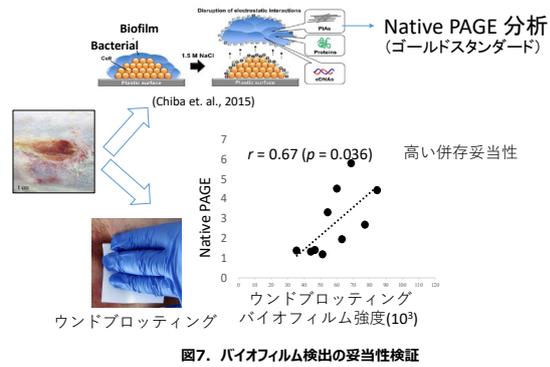
図 6 に示すように、わずか 2 分で創傷バイオフィームを検出するツールを産学連携により開発した (Nakagami et al, 2017)。本技術は上市されており、2020 年現在、誰でも利用可能な技術となっている。この技術について、以下の通り研究成果を得た。

- (1) バイオフィーム検出法の基準関連妥当性：動物モデルおよび褥瘡の壊死組織からバイオフィームを

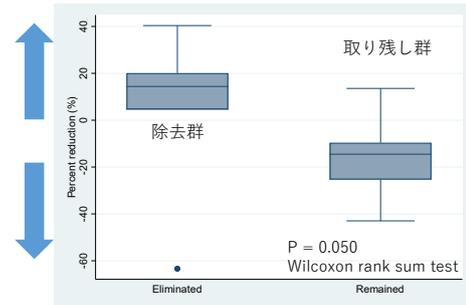


図6. バイオフィーム検出ツールによる創傷バイオフィームの可視化

抽出し Native PAGE により定量したバイオフィルム量と、Wound blotting 法により定量したバイオフィルム量の間に関連があり、バイオフィルム検出法として併存妥当性があることが示された(Astrada et al., in press) (図 7)。すでに創傷治癒を予測する妥当性が示されており、これらから、Wound blotting 法によるバイオフィルム検出の基準関連妥当性が示された。



(2) バイオフィルム陽性の褥瘡に対してデブリドマンを行った後に、バイオフィルムが完全に除去されたかどうかを Wound blotting により判定し、除去群と取り残し群の 2 群に分けた際の創傷治癒を比較したところ、バイオフィルム除去群において創傷面積が取り残し群よりも有意に減少していた(Nakagami et al., 2020) (図 8)。



バイオフィルムの除去は治癒を促進する

(3) ベッドサイドにおけるバイオフィルム検出の結果に基づいた創傷ケアシステム (Biofilm-based wound care system: BWCS) を提案 (図 9) し、その治療効果について、褥瘡、糖尿病性足潰瘍、静脈性下腿潰瘍、動脈性潰瘍を含む慢性創傷を対象に観察研究により検討したところ、標準治療に比較して 90 日以内の創閉鎖の調整済みハザード比は 4.5 であり、高い治療効果が認められた(Mori et al., 2019)。



図9. バイオフィルムに基づく創傷ケアシステム

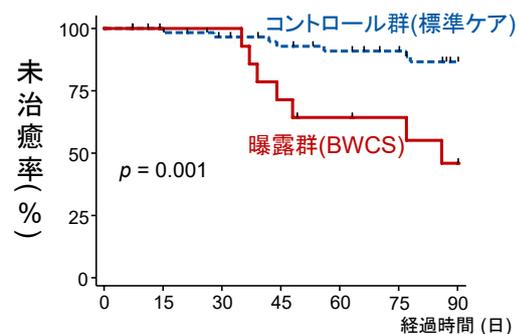


図10. バイオフィルムに基づく創傷ケアシステムによる創傷治癒促進効果

以上より、バイオフィルム検出をベッドサイドで迅速かつ非侵襲に実現する方法を確立した。創傷バイオフィルムを可視化することによって、適切なバイオフィルム除去を実施すると、慢性創傷の創傷治癒を促進させたことから、本手法によるバイオフィルム検出に基づく創傷ケアシステムの臨床的有効性が確認された。本ツールの広まりとともにバイオフィルムに基づく創傷ケアが一般的になり、創傷感染に苦しむ患者が減少することが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 仲上豪二郎, 真田弘美	4. 巻 17
2. 論文標題 バイオフィルムを可視化する (Part2. 皮膚科医も知りたい! 創傷・スキンケアの新常識)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Visual Dermatology	6. 最初と最後の頁 156-159
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 無
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 仲上豪二郎, 真田弘美	4. 巻 16
2. 論文標題 バイオフィルムの可視化による創傷ケアの変革	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 フットケア学会雑誌	6. 最初と最後の頁 1-6
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 無
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 Nakagami G, Schultz G, Gibson JD, Phillips P, Kitamura A, Minematsu T, Miyagaki T, Hayashi A, Sasaki S, Sugama J, Sanada H	4. 巻 25
2. 論文標題 Biofilm detection by wound blotting can predict slough development in pressure ulcers: A prospective observational study	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Wound Repair and Regeneration	6. 最初と最後の頁 131-138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1111/wrr.12505	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 該当する
1. 著者名 仲上豪二郎, 真田弘美	4. 巻 17
2. 論文標題 バイオフィルムを可視化する (Part2. 皮膚科医も知りたい! 創傷・スキンケアの新常識)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Visual Dermatology	6. 最初と最後の頁 156-159
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 無
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 仲上豪二郎, 真田弘美	4. 巻 16
2. 論文標題 特集: ビジュアル化への挑戦 糖尿病足潰瘍教育への応用を目指して バイオフィルムの可視化による創傷ケアの変革	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本フットケア学会雑誌	6. 最初と最後の頁 1-6
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 無
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 Mori Yukie, Nakagami Gojiro, Kitamura Aya, Minematsu Takeo, Kinoshita Mikio, Suga Hiraku, Kurita Masakazu, Hayashi Chieko, Kawasaki Akiko, Sanada Hiromi	4. 巻 27
2. 論文標題 Effectiveness of biofilm based wound care system on wound healing in chronic wounds	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Wound Repair and Regeneration	6. 最初と最後の頁 540 ~ 547
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/wrr.12738	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 Nakagami Gojiro, Schultz Gregory, Kitamura Aya, Minematsu Takeo, Akamata Kaname, Suga Hiraku, Kurita Masakazu, Hayashi Chieko, Sanada Hiromi	4. 巻 17
2. 論文標題 Rapid detection of biofilm by wound blotting following sharp debridement of chronic pressure ulcers predicts wound healing: A preliminary study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Wound Journal	6. 最初と最後の頁 191 ~ 196
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/iwj.13256	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 該当する

1. 著者名 Kunimitsu Mao, Nakagami Gojiro, Kitamura Aya, Mugita Yuko, Akamata Kaname, Sasaki Sanae, Hayashi Chieko, Mori Yukie, Sanada Hiromi	4. 巻 Volume 6
2. 論文標題 <p>The combination of high bacterial count and positive biofilm formation is associated with the inflammation of pressure ulcers</p>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chronic Wound Care Management and Research	6. 最初と最後の頁 1 ~ 7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2147/CWCMR.S187733	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 5件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Nakagami G
2. 発表標題 Innovative biofilm detection system for realizing biofilm-based wound management in chronic wounds
3. 学会等名 International Summer Program for Skin Integrity in Japan (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakagami G, Astrada A, Kitamura A, Minematsu T, Sanada H
2. 発表標題 Innovative biofilm detection system for realizing biofilm-based wound management
3. 学会等名 20th Annual Meeting of the European Pressure Ulcer Advisory Panel (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 仲上 豪二郎, 北村 言, 峰松 健夫, 真田 弘美
2. 発表標題 フットケアを深める臨床研究 ポイントオブケアバイオフィルム検出に基づく創傷管理
3. 学会等名 第16回日本フットケア学会年次学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 國光 真生, 仲上 豪二郎, 赤股 要, 佐々木 早苗, 林 千恵子, 森 友紀恵, 真田 弘美.
2. 発表標題 細菌数定量システムおよびバイオフィルム検出ツールを用いた創部細菌負荷評価と創部炎症発症との関連
3. 学会等名 第27回日本創傷・オストミー・失禁管理学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森 友紀恵, 仲上 豪二郎, 北村 言, 赤股 要, 佐々木 早苗, 林 千恵子, 國光 真生, 真田 弘美.
2. 発表標題 デブリードマンの種類による褥瘡創面上バイオフィルム除去能の差
3. 学会等名 第27回日本創傷・オストミー・失禁管理学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 仲上豪二郎
2. 発表標題 ポイントオブケア: バイオフィルム検出を活用した創傷管理
3. 学会等名 第20回日本褥瘡学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 仲上豪二郎
2. 発表標題 ウントプロットティングを用いたバイオフィルム管理の最前線
3. 学会等名 第 48 回日本創傷治癒学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakagami G
2. 発表標題 Novel biofilm detection technology for pressure ulcer management
3. 学会等名 2017 Annual Meeting of Taiwan Society for Wound Care (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 仲上豪二郎
2. 発表標題 創傷感染管理の最前線: Biofilm-based wound therapy S4-2 バイオフィルムのベッドサイド・アセスメント
3. 学会等名 第47回日本創傷治癒学会(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Nakagami G, Kitamura A, Astrada A, Noyori S, Nakai A, Minematsu T, Miyagaki T, Sasaki S, Hayashi C, Sanada H
2. 発表標題 A new approach for performing biofilm detection-based wound care: A preliminary observational study
3. 学会等名 The 26th Japanese Society of Wound, Ostomy and Continence Management
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 仲上 豪二郎, 北村 言, 峰松 健夫, 真田 弘美
2. 発表標題 フットケアを深める臨床研究 ポイントオブケアバイオフィルム検出に基づく創傷管理
3. 学会等名 第16回日本フットケア学会年次学術集会(招待講演)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>東京大学大学院医学系研究科老年看護学 / 創傷看護学分野 http://www.rounenkango.m.u-tokyo.ac.jp/ 東京大学大学院医学系研究科附属グローバルナースングリサーチセンター http://gnrc.m.u-tokyo.ac.jp/</p>
--

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
研究分担者	真田 弘美 (Sanada Hiromi) (50143920)	東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・教授 (12601)	
研究分担者	峰松 健夫 (Minematsu Takeo) (00398752)	東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・特任准教授 (12601)	
研究分担者	須釜 淳子 (Sugama Junko) (00203307)	金沢大学・新学術創成研究機構・教授 (13301)	