

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H03068

研究課題名(和文)褥瘡ハイリスク者を同定する遺伝子検査法の開発

研究課題名(英文) Development of the examination of genetic polymorphisms to identify high risk patients for pressure ulcer occurrence

研究代表者

峰松 健夫 (Minematsu, Takeo)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・特任准教授

研究者番号：00398752

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、褥瘡発生に關与する遺伝的要因の同定を目的に、6遺伝子(HIF1A、VEGFC、MSTN、PAI1、HSP90AA1、VDR)に着目して、動物実験および臨床調査を行った。

動物実験では、各遺伝子の発現ベクターおよびsiRNAを皮膚に導入し、同部位を圧迫した。その結果、圧迫による組織損傷が遺伝子導入/抑制により重症化することが観察された。

臨床調査では、入院高齢者における6遺伝子8一塩基多型(SNPs)と褥瘡との關連を調査した。その結果、浅い褥瘡および深い褥瘡にそれぞれVEGFC(rs1485766)およびHIF1A(rs11549465)が關連することが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

褥瘡は、加齢や疾患などの全身要因で脆弱になった皮膚に外力が加わることで発生する。褥瘡対策としては、リスクアセスメントに基づいて体圧分散が行われてきたが、最も高機能なエアマットレスを用いても褥瘡発生を避けられない患者が存在するは、組織耐久性に遺伝的個人差が存在することを示唆している。

本研究では、組織耐久性の個人差を規定していると考えられる遺伝的背景としてリンパ管再生に關わるVEGFC(rs1485766)および低酸素下における組織反応を制御するHIF1A(rs11549465)を同定した。この成果は、遺伝的褥瘡リスクを考慮したテーラーメイド褥瘡予防ケアの開発に繋がるものである。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to identify the genetic factors to the pressure injury. An animal experiment and a clinical study which targeted on 6 genes (HIF1A, VEGFC, MSTN, PAI1, HSP90AA1, VDR) were conducted.

In the animal experiment, we introduced expression vector or siRNA of six genes followed by pressure loading in the skin. The results indicated that the over-expression or inhibition of these genes resulted in the severer tissue damage of the compressed skin.

In the clinical study, we analyzed the association between eight SNPs of six genes and pressure injuries in the hospitalized older patients. The multiple regression analysis indicated the significant association of VEGFC(rs1485766) and HIF1A(rs11549465) with shallow and deep pressure injuries, respectively.

研究分野：創傷看護学

キーワード：褥瘡 遺伝子多型 一塩基多型 リスクアセスメント

1. 研究開始当初の背景

(1) 社会的位置づけ

褥瘡は、細菌感染などにより患者の生命を脅かすのみならず、痛みや匂いにより患者本人、そして介護者や家族の QOL を著しく損う。急速に進展する高齢化社会では、疾患や老衰で亡くなるほぼ全ての高齢者が一定期間を寝床内で過ごすため、褥瘡は『尊厳ある最期』を阻む問題であると言える。健全な超高齢化社会を迎えるために、包括的な褥瘡対策が求められる。

(2) 学術的背景

褥瘡は、加齢や栄養状態、疾患などの全身要因で脆弱になった皮膚に外力が加わることで発生する。褥瘡対策としては、リスクアセスメントに基づいてエアマットレスなどによる除圧が行われてきたが、最も高機能なエアマットレスを用いても褥瘡発生を避けられない患者が存在することから、個々人によって異なる外力に対する組織耐久性に応じたテーラーメイド褥瘡ケアの必要性が認識されるに至った。申請者はこれまで、外力に対する前駆的組織反応を超早期に検出することでテーラーメイドケアの実現を試みてきた〔基盤研究(B) 課題番号 15H05066〕。しかし、こうした個人差を生じさせている最も主要な要因は遺伝的背景であると考えられる。そこで本研究では、そもそもの遺伝的な褥瘡リスクを評価し、ハイリスク者を同定できる遺伝子検査法の開発に取り組むこととした。この遺伝子検査法と従来のアセスメントツール、そして前駆的組織反応の超早期検出の組み合わせにより、従来よりも更に効率的な褥瘡予防が実現するものと考えられる。

(3) 研究課題の核心をなす学術的「問い」

申請者はこれまで、主に前駆的組織反応を検出するバイオマーカーの同定を目的に褥瘡発生メカニズムの解明に取り組み、HSP90、PAI-1、VEGF-C、MSTN、HIF1、HMOX1 の 6 遺伝子の発現変化が褥瘡発生に関連していることを明らかにしてきた。しかしそれぞれ因果関係は証明されていない。これらの遺伝子が褥瘡発生に寄与しているならば、その遺伝子配列あるいはプロモーター配列の多型による発現量または活性の個人差が、褥瘡の発生しやすさに関与していると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、褥瘡の遺伝的ハイリスク者を同定する遺伝子検査法の確立を目的に、

1. 6 遺伝子の発現と褥瘡発生との因果関係を証明する (動物実験)
2. それら遺伝子群の多型が褥瘡発生を予測することを証明する (臨床調査)

従来の褥瘡予防では、リスク要因の排除、ならびに外力そのものの排除に主眼をおき、ケアを標準化することが重視されてきた。この方策は一定の効果を上げ、本邦の褥瘡発生率を劇的に改善してきたが、一方で標準的ケアでは予防し切れない患者には十分に対応してこなかった。これからの超高齢化社会において、こうした患者は益々増加するものと考えられる。

本研究は、そうした標準ケアが通用しない患者の褥瘡予防を実現しようとするものであり、そうした個人差に基づくテーラーメイド褥瘡ケアを新たに提唱するものである。

3. 研究の方法

《動物実験》6 遺伝子の発現と褥瘡発生との因果関係の証明

本実験では、ラットの皮膚組織において局所的にそれぞれの遺伝子を過剰発現あるいは発現抑制し、その後同部位に圧迫を加えて褥瘡を形成させる。それぞれのネガティブコントロール動物と比較して、褥瘡発生の有無、重症度(深さ、サイズ)に変化が認められた場合に、該当の遺伝子が褥瘡発生メカニズムを担っていると判断することができる。

遺伝子の過剰発現および発現抑制は、発現ベクターおよび siRNA ベクターの一過性の導入(リポフェクション法)により行う。皮膚の圧迫は、当教室で培ってきた褥瘡モデルラットの作製法に準じて行う。圧迫後 1 週間、毎日皮膚の観察を行い、最終日に皮膚組織の組織学的評価も合わせて効果を判定する。

《臨床調査》6 遺伝子の多型と褥瘡発生の関連

本調査は、長期療養施設にて行われる前向きコホート研究である。

対象者は本施設に新規入院する患者全数とし、調査期間は入院から褥瘡発生あるいは退院/死亡までとする。入院時に研究説明および同意取得を行い、綿棒を用いて口腔粘膜を採取する。基本属性(年齢、性別、身長、体重、主疾患、既往歴、服薬など)はカルテより収集する。本施設では毎週褥瘡回診が行われているため、褥瘡に関する情報および創部の写真などは回診の記録より収集する。

口腔粘膜資料は実験室に持ち帰り、DNA を抽出後、6 遺伝子の多型領域を PCR 法にて増幅し、

塩基配列を解読する。それぞれの多型単独および組み合わせについて、対象者の基本属性ならびに褥瘡リスク要因を調整したうえで、褥瘡発生との関連を解析する。

4．研究成果

《動物実験》6 遺伝子の発現と褥瘡発生との因果関係の証明

候補遺伝子と褥瘡発生との因果関係を証明するために、候補遺伝子の発現プラスミドおよび siRNA を局所的に導入する *In vivo* electroporation の各種条件設定を行った。*Mstn* および *Pai1* は発現プラスミドを、他の遺伝子については siRNA をラット側腹部皮膚組織に導入後、同部位を圧迫した。その結果、いずれの遺伝子の過剰発現/発現抑制において肉眼的には顕著な違いは認められなかったものの、組織学的に組織損傷の重症化を観察した。

《臨床調査》6 遺伝子の多型と褥瘡発生の関連

候補遺伝子多型として HIF1A、VEGFC、MSTN、PAI1、HSP90AA1、および VDR の 8 塩基多型 (SNPs) とした。これら候補遺伝子多型と褥瘡発生との関連を明らかにするために、長期療養型病院に入院する高齢患者を対象に、過去 6 ヶ月間の褥瘡発生との関連を解析した。

178 名が対象となり、その内 20 名が浅い褥瘡を、28 名が深い褥瘡を過去 6 か月間に経験していた。褥瘡部位は仙骨部、および大転子部に多かった。8 SNPs のうち、ミオスタチンの rs1805086 は全て単一の遺伝子型であった。ロジスティック回帰分析により浅い褥瘡に関連する多型としてリンパ毛細管の新生を促進する VEGFC の SNP (rs1485766) が、深い褥瘡には低酸素化における組織反応のマスターレギュレータである HIF1A の SNP (rs11549465) が同定された。これらの結果は、遺伝的背景による先天的な褥瘡リスクが存在し、これらを加味したリスクアセスメントがテーラーメイド褥瘡ケアに繋がる可能性を示している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 94)Tsukatani T, Minematsu T, Dai M, Tamai N, Nakagami G, Sugama J, Takada C, Sanada H.	4. 巻 E-pub ahead of print
2. 論文標題 Polymorphism analysis of candidate risk genes for pressure injuries in older Japanese patients: A cross-sectional study at a long-term care hospital.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Wound Repair and Regeneration	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/wrr.12912.	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Minematsu T, Tsunokuni S, Nakai A, Urai T, Tsukatani T, Sanada H.
2. 発表標題 Myostatin-regulated muscle regeneration in compressed rat skin.
3. 学会等名 SAWC Spring/WHS 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tsukatani T, Minematsu T, Tomida S, Koudounas S, Sanada H.
2. 発表標題 Pressure ulcer development in PAI1-overexpressed mice.
3. 学会等名 APETNA2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

社会連携講座スキンケアサイエンス
<http://skincare.science.m.u-tokyo.ac.jp/index.html>

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	仲上 豪二郎 (Nakagami Gojiro) (70547827)	東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・准教授 (12601)	
研究分担者	玉井 奈緒 (Tamai Nao) (80636788)	東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・特任准教授 (12601)	

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
---------	---------