

令和元年6月18日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05852

研究課題名(和文) インドネシア伝統的糖尿病足潰瘍管理法の感染制御と治癒効果に関する海外調査

研究課題名(英文) Effect on infection control and wound healing of diabetic foot ulcer with Indonesia complementary therapy

研究代表者

須釜 淳子 (SUGAMA, JUNKO)

金沢大学・新学術創成研究機構・教授

研究者番号：00203307

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 8,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、糖尿病足潰瘍の治癒を遷延化させる要因の一つである感染を制御する新たな方策を求めて、従来の外用薬や抗菌作用を有する銀含有創傷被覆材剤とは異なる創傷管理が普及しているインドネシアにおいて調査した。カリマンタン島にある創傷クリニックにて調査を実施した。糖尿病足潰瘍に蜂蜜、ナマコ抽出物、ナツメヤシのいずれかを使用した患者を対象に創傷治癒過程、創傷感染状況、バイオマーカを前向きに調査した。その結果、蜂蜜、ナマコは創滲出液中の炎症性マーカーが減少した。どの局所管理法においても、創傷治癒は進んだ。創周囲が浸軟する糖尿病足潰瘍には、ナマコ抽出物による管理法が蜂蜜管理法より創傷治癒過程が早かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病足潰瘍は容易に感染を併発し、治癒が遷延するだけでなく、重症化すると下肢切断や敗血症による生命危機をもたらす。さらに、日常生活制限をもたらし、患者の生活の質を低下させる創傷でもある。このため局所管理において、いかに感染制御を行うかが鍵となる。欧米や本邦においては、ヨウ素外用薬、銀含有創傷被覆材を使用することが推奨されている。しかしこれらの管理法は、組織障害性、緩徐な抗菌効果などの問題点があった。本調査結果により、蜂蜜、ナマコ、ナツメヤシ等の補完代替療法が糖尿足潰瘍の感染管理に有用であることが示唆された。今後これらの成分解析、創傷治癒促進の機序解明が行われ、創傷被覆材の開発に寄与する。

研究成果の概要(英文)：This study goal is to explore the new local wound infection control therapy.

We conducted the prospective studies at the wound care clinic in Pontianak, West Borneo, Indonesia.

At this clinic, the complementary therapies are used to manage the severe infected DFU.

The DFU wound healing, bacterial control status and biomarkers were examined every 2 weeks. Total number of this study participants was 168. Inflammatory cytokine, such as Tumor necrosis factor (TNF- α) decreased with time in sea cucumber group. Also sea cucumber showed the significant effectiveness on DFU with macerated peri-wound. However, there was no significant differences in wound healing without maceration between the sea cucumber and Apis dorsata honey. Moreover, there was no significant differences in recurrent DFU healing between Torigona honey and date. These results indicated that effect on infection control and wound healing of diabetic foot ulcer with Indonesia complementary therapy.

研究分野：創傷看護学

キーワード：糖尿病性足病変 感染管理 バイオフィルム 補完代替療法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

世界的に急増する糖尿病患者の 15 - 25% に足潰瘍が発症する (Prompers 2008, Lavery 2008, Magolis 1999, 2002)。糖尿病足潰瘍 (diabetic foot ulcer: DFU) は容易に感染を併発し、治癒が遅延するだけでなく、重症化すると下肢切断や敗血症による生命危機をもたらす創傷である。さらに、感染創からの滲出液は多量で悪臭を伴い、心理抑制、日常生活制限をもたらす、患者の生活の質を著しく低下させる創傷でもある。このため DFU の局所管理において、いかに感染制御をうまく行うかが鍵となる。多量の滲出液と悪臭を伴う DFU の感染制御には抗菌、抗炎症、プロテアーゼ抑制が必要であり (Sibbald 2000) 欧米や本邦においては、ヨウ素外用薬、銀含有創傷被覆材を使用することが推奨されている。しかしこれらの管理法は、組織障害性、緩徐な抗菌効果、菌膜に対する効果小、滲出液漏れなどの問題点があり、未だに DFU の感染制御に難渋する症例も多く、新たな感染制御法の必要性が高まっている。

この DFU の治癒過程、慢性創傷の治癒と感染について、申請者らは動物モデルを用いて、高血糖ラットの創傷治癒過程において真皮膠原線維が脆弱であること (Huang, Nakagami, Sugama, Sanada 2010)、慢性創傷の治癒遅延には菌膜が関与していること (Nakagami, Sugama, Sanada 2008, 2011) さらに局所感染によってもたらされる創部の炎症状態を計測する wound blotting 法を確立してきた (Minematsu, Nakagami, Sanada 2013)。最近では、臨床における DFU の治癒過程を詳細に記述し、その結果から DFU に特化した創傷状態アセスメントスケールを開発した (大江、真田 2014)。以上の研究過程を通して、申請者らは DFU の感染制御について論じてきた。

近年われわれの研究室ではインドネシアから毎年留学生を受け入れるようになった。彼らは DFU の創傷ケアを専門的に実施しており、インドネシアでは感染を有する場合の創傷局所管理として、欧米や本邦と全く異なる方法で行っていることを知った。具体的には、インドネシアにおける DFU の治療は蜂蜜をはじめ、ハーブ、ナマコなどのインドネシアの伝統的療法 (いわゆる代替医療) であった。さらに、申請者らは 3 年前よりインドネシアの最大面積を有するカリマンタン島にある創傷ケアクリニックを毎年訪問し、現代西洋医学による保存的治療では治癒困難な感染創をインドネシアの伝統的療法によって保存的に治癒する症例も数多くみた。これらの体験から、インドネシアの伝統的療法の中に DFU の感染制御の新たな戦略の可能性を見出した。しかし、インドネシアの伝統的療法については症例報告のみで、創部の感染所見と伝統的療法との関係、療法の種類ごとの感染制御効果の差異やその後の治癒過程の差異について明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究は、DFU の治癒を遅延させる要因の一つである感染を制御する新たな方策を求めて、日本や欧米で行われている薬剤や創傷被覆材とは異なる創傷管理が普及しているインドネシアにおいて調査を行い、その創傷治癒効果を検証した。

3. 研究の方法

1) 調査施設および研究対象者

調査はインドネシア・ポンティアナック市にある創傷を専門とするクリニックで行った。本施設では伝統的局所管理による DFU 局所管理を通常の診療として実施している。調査期間中に DFU 治療のため創傷ケア専門クリニックを受診した患者を対象とした。包含基準は、以下全てを満たす患者とした。

DFU をもつ 21 歳以上の患者で、本人からの同意を得ることが可能で、研究の参加に同意した者

Wagner scale 1-4 点であり、感染兆候がなく、Ankle Brachial Index (以下 ABI) 0.7-1.2 点である者

調査施設において、伝統的局所管理を受ける者

初回と 2 週間後の創部観察が最低可能な者

除外基準は、以下の 4 点である。

研究参加を拒否した者

医師より全身状態が悪く研究参加が困難と判断された者

足首よりも上にある全層欠損創を有する者

伝統的局所管理法以外で局所管理を行う患者

2) 研究方法

研究デザインは前向き観察研究である。

前向きに 2 週ごと追跡し、創傷状態、感染制御状況、治癒に影響する因子に関する情報を収集した。金沢大学医学倫理審査委員会ならびに調査施設から承認を得て行った。

本調査で調査した局所管理法は 4 種類である。一つ目は、蜂蜜 A : 西カリマンタン州に流通する蜂蜜 (Apis dorsata) である。二つ目は、西カリマンタン州カブアス・フル県で流通する蜂蜜 (trigona honey) である。三つ目は、ナマコ抽出物である。インドネシア サクダナ地区で採取されたものである。室温にて 2 週間乾燥させた後、薬局で粉状にし、さらに 96% エタノールに 48 時間浸け、その後、濾過し、蒸発乾燥したものをゲルに混ぜ使用していた。四つ目は、

ナツメヤシ抽出物である。西カリマンタン州で採取されたものである。室温にて2週間乾燥させた後、薬局で粉状にし、さらに96%エタノールに48時間浸け、その後、濾過し、蒸発乾燥したものを蜂蜜Bに混ぜ使用していた。

3) 調査項目

創傷状態

創部の写真を撮り、New Diabetic Foot Ulcer Assessment scale version 1.0 (DFUAS)を採点した。治癒までもしくは最大12週間後まで、2週間ごとに研究者又は研究チームメンバーによって評価した。得点が高いほど重症度が高いことを示す。

感染制御状況

Biofilm blottingによる収集を、治癒までもしくは最大12週間後まで、2週間ごとに行った。創傷を洗浄し拭き取った後に、ニトロセルロースメンブレンを創部に10秒間密着させることで、創傷表面のたんぱく質または他の基質をメンブレン上に回収する。サンプリング後のメンブレンは解析まで4で保存した。その後検査室にて洗浄液(Saraya Co., LTD., Tokyo, Japan)によりメンブレンを30秒洗浄した。次に細菌のバイオフィームの中のムコ多糖類を同定するために、alcian blue solution (Saraya Co., LTD., Tokyo, Japan)にて60秒間染色した。その後脱色のため洗浄液(Saraya Co., LTD., Tokyo, Japan)によりメンブレンを30秒洗浄した。脱色後のメンブレンはスキャンし、デジタル画像として解析を行った。

創滲出液中のバイオマーカー

ニトロセルロースメンブレンを創部に10秒間密着させサンプリングし、その後免疫染色を行った。メンブレンを免疫染色するために、TNF- α 、MMP-2、MMP-9の一次抗体を使用した。その後PBSによりメンブレンを水和させ、化学発光基質 endogenous alkaline phosphate (DuoLux; Vector, Burlingame, CA) および endogenous peroxidase (Luminata Forte; Millipore)により染色した。目標タンパク質であるTNF- α 、MMP-2、MMP-9を検出するために、二次抗体を使用した。その後LumiCube (Liponics, Tokyo, Japan)により化学発光による免疫反応性をとらえ、その後染色の強度を定量化した。

治癒に影響する因子に関する情報

デモグラフィックデータおよび臨床データを収集した。また、足部フィジカルアセスメントを行い神経障害、下肢血行障害に関する情報を得た。

デモグラフィックデータおよび臨床データは以下のとおりである。年齢、性別、民族、職業、病歴、身長、BMI、ウエスト-ヒップ周囲径、血糖値、血圧、体温、喫煙歴、受診した理由、糖尿病治療の種類、糖尿病発症年齢を患者および診療録から収集した。糖尿病の状態を評価するために、HbA1C値の測定データを収集した。

足部フィジカルアセスメントは、モノフィラメントテスト、ドップラー評価、ABI (Ankle Brachial Index) およびTBI (Toe Brachial Index)を行った。

4) グループ間の創治癒率の分析にはKaplan-Meier生存曲線を描き比較した。バイオフィームについては、バイオフィームの変化パターンを両群間で比較した。創部TNF- α 、MMP-2、MMP-9については、2元分散分析(時間×治療法)を行い、その後、多重比較検定を行った。データはIBM SPSS version22.0により解析し、有意水準は $p < 0.05$ とした。

4. 研究成果

1) 初発DFUにおけるナマコと蜂蜜局所管理法の比較

蜂蜜群21名、ナマコ群21名であった。平均年齢は蜂蜜群の 56.2 ± 9.2 歳、ナマコ群 52.2 ± 12.0 歳であった。性別(女性)は、蜂蜜群 女性57.1%、ナマコ群71.4%であった。HbA1C中央値は蜂蜜群の12.5%、ナマコ群13.5%であった。DFUの部位は、蜂蜜群足指23.8%、踵23.8%、ナマコ群足指33.3%、足背23.8%の順であった。創傷の状態を表すDFUAS中央値は、蜂蜜群30点、ナマコ群27点であった。

2週毎12週間まで創傷治癒過程を追跡した結果、2群間で創傷治癒に有意差はなかった(ログランク検定、 $p=0.66$)。ナマコ群においてのみ、創傷滲出液中に含まれるTNF- α が有意に8週目、10週目、12週目で有意に低下した。MMP-9、MMP-2はいずれの群においても観察期間中有意な変化を認めなかった。創傷慢性化の要因となる創面バイオフィームに対する効果については、初回陽性から4週後に陰性になった創傷、初回陰性が4週後に陽性になった創傷は両群で有意差はなかった($p=0.55$)。

2) 創周囲が浸軟するDFUにおけるナマコと蜂蜜局所管理法の比較

蜂蜜群35名、ナマコ群31名であった。平均年齢は蜂蜜群の 55.1 ± 10.3 歳、ナマコ群 56.9 ± 8.8 歳であった。性別(女性)は、蜂蜜群 女性57.1%、ナマコ群57.1%であった。HbA1C平均値は蜂蜜群の $10.4 \pm 2.0\%$ 、ナマコ群 $10.8 \pm 2.3\%$ であった。DFUの部位は、蜂蜜群足指31.4%、足底25.78%、ナマコ群足指41.9%、足底19.4%の順であった。創傷の状態を表すDFUAS平均値は、蜂蜜群 27.7 ± 6.7 点、ナマコ群 26.8 ± 7.9 点であった。

2週毎4週間まで創傷治癒過程を追跡した結果、2群間でナマコ群は創傷治癒が有意に早かった(ログランク検定、 $p=0.03$)。ナマコ群においてのみ、創傷滲出液中に含まれるTNF- α が4

週目に有意に低下した。MMP-9, MMP-2 はいずれの群においても観察期間中有意な変化を認めなかった。創傷慢性化の要因となる創周囲浸軟面積は、4 週間後にナマコ群が $-3.3 \pm 4.5 \text{ cm}^2$ 、蜂蜜群 $2.6 \pm 7.5 \text{ cm}^2$ と有意差を認めた。

3) 再発 DFU におけるナツメヤシと蜂蜜

蜂蜜群 30 名、ナツメヤシ群 30 名であった。2 週毎 8 週間まで創傷治癒過程を追跡した結果、2 群間で有意差を認めなかった (ログランク検定、 $p=0.785$)。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 1 件)

Haryanto, Ogai K, Suriadi, Nakagami G, Oe M, Nakatani T, Okutowa M, Sanada H, Sugama J. A prospective observational study using sea cucumber and honey as topical therapy for diabetic foot ulcers in Indonesia. Journal of Well Iness and Health Care, 41(2):41-56, 2017. doi/10.24517/00050122

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：真田 弘美

ローマ字氏名：(SANADA, hiromi)

所属研究機関名：東京大学

部局名：大学院医学系研究科(医学部)

職名：教授

研究者番号(8桁): 50143920

研究分担者氏名：大江 真琴

ローマ字氏名：(OE, makoto)

所属研究機関名：東京大学

部局名：大学院医学系研究科(医学部)

職名：特任准教授

研究者番号(8桁): 60389939

研究分担者氏名：仲上 豪二郎

ローマ字氏名：(NAKAGAMI, gojiro)

所属研究機関名：東京大学

部局名：大学院医学系研究科(医学部)

職名：准教授

研究者番号(8桁): 70547827

(2)研究協力者

研究協力者氏名：スリアディ

ローマ字氏名：(SURIADI)