

令和 6 年 5 月 8 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K10898

研究課題名（和文）褥瘡に対する細胞療法の確立と創治癒メカニズムの解明に関する基礎研究

研究課題名（英文）Basic study of cell therapy development and wound-healing mechanism for pressure ulcer

研究代表者

齋藤 貴史（Saito, Takafumi）

山形大学・医学部・教授

研究者番号：80250918

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：褥瘡の悪化と虚血再灌流障害および生体の酸化ストレス状態の惹起の関与を動物モデルで検討した。褥瘡の進行には、創部における一酸化窒素産生量の低下や生体のアスコルビン酸の欠乏が影響することが示唆された。褥瘡の治癒にはハイドロコロイドドレッシング材の貼付が筋線維芽細胞の退縮を促し創の修復と再生に有効であることが示された。また、アスコルビン酸の投与は褥瘡の炎症反応の改善に有用であ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

褥瘡の発生・進行に係わる虚血再灌流障害や酸化ストレス亢進について、動物モデルを用いて創部における一酸化窒素産生量の低下と生体のアスコルビン酸欠乏の視点から示した。また褥瘡の治癒にハイドロコロイドドレッシング材貼付の有用性を示した。これらは褥瘡の創治癒機序の解明と新規治療法の開発に学術的意義がある。褥瘡の予防法や治療法の進歩に関連する研究は、褥瘡を患う人々のQOLの改善を目指す上で社会的意義がある。

研究成果の概要（英文）：This study showed the relationship between the exacerbation of pressure ulcers, and ischemia-reperfusion injury or the initiation of oxidative stress in vivo using animal models. It was suggested that the progression of pressure ulcers is affected by a decrease in nitric oxide production at the wound site and a deficiency of ascorbic acid in the body. For the healing of pressure ulcers, application of hydrocolloid dressings was shown to be effective in promoting wound repair and regeneration with regression of myofibroblasts. In addition, it was suggested that administration of ascorbic acid may be useful in improving the inflammatory reaction of pressure ulcers.

研究分野：医歯薬学

キーワード：褥瘡 炎症

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会の到来のなかで、長期間の入院や介護施設への入所、在宅療養などを要し長期間の臥床を要する高齢者医療の充実が喫緊の課題である。なかでも疾病や栄養状態の不良から長期間の臥床を余儀なくされる対象者においては、褥瘡の発病は基礎疾患に対する治療へ悪影響を及ぼし、併せて患者の Quality of Life (QOL) を大きく損なう一要因であり、その予防法や治療法を進展させることは看護の重要な課題である。褥瘡対策には予防と治療の両面からの取り組みが必要である。予防については減圧を目的として体位変換ロボットの導入など斬新的な方法が開発されてきているが、出来てしまった創についての積極的治療法の開発については不十分である。臓器再生に係わる再生療法の開発が長足の進歩を遂げている中で、褥瘡に対する治療法を進展させ、さらには新規治療法を開発するためには、様々な視点から褥瘡の創傷発生メカニズムの解明と創傷治癒に向けた基礎研究が重要となる。褥瘡組織の修復には、創部組織の炎症の制御、並びに創部組織の創傷軽減と再生が必要である。以上のような点を踏まえ、褥瘡に対して、創傷発生から創の進展と重症化に至る機序の一端とその予防および回復に係わる生体側の反応に着目し検討を行った。

2. 研究の目的

褥瘡対策には予防と治療の両面からの取り組みが必要であるが、出来てしまった褥瘡についての有効な積極的治療法の開発は不十分である。褥瘡に対する既存の治療法の発展や新規治療法の開発を促すためには、臨床的発展性に繋がる視点から褥瘡の創傷発生・修復メカニズムを解明する基礎研究が必要である。本研究の目的は、褥瘡の基礎研究に使用可能となる動物モデルの作成を安定化させ、それらを用いて褥瘡の創部組織における炎症の制御と創部組織の創傷軽減や再生に係わる生体メカニズムの一端を明らかにして、将来の褥瘡治療の臨床応用に資する基礎データを集積することである。

3. 研究の方法

(1) モデル動物における褥瘡の作成

マウスを用いた褥瘡モデルに加えて、ラットを用いた褥瘡モデルを作成するためにラットの圧迫創を作成するための条件を検討した。7週齢雄性SDラットを用いて、ネオジム磁石により皮膚を挟んで圧迫し、実験に適切な圧迫創が作成可能となる圧迫時間と解放時間を検討した。

(2) 虚血再灌流障害の褥瘡の発生に与える影響の検討

褥瘡の発生には、虚血再灌流障害およびそれによって発生する一酸化窒素(NO)が関与していると考えられている。糖尿病においては虚血再灌流障害の悪化から褥瘡の難治化が生ずる。糖尿病における褥瘡の進行と一酸化窒素(NO)によって受ける影響の関連性については不明である。糖尿病モデルは雄性SDラットを用いて、膵島細胞に選択毒性を有するストレプトゾトシンの腹腔内投与によって作成した。糖尿病モデルは、ストレプトゾトシンの腹腔内投与一週間後の血糖値が300mg/dl以上となったラットとした。7週齢雄性SDラットを対照群(n=4)、糖尿病群(n=4)の2群に分け、対照群、糖尿病群の各々について、圧迫創としての褥瘡の組織学的変化ならびに虚血再灌流障害と関連性を有する一酸化窒素(NO)の関与について検討した。

(3) 創傷治癒過程における上皮化完了以降の応力が創部の治癒に与える影響の検討

褥瘡の創部治癒過程における創部の応力の影響を検討した。6週齢雄性ICRマウスの背部皮膚に左右2箇所切開創を作成し、3日間の創部固定による上皮化完了後、対照群(n=4)には非固着性ガーゼ、介入群(n=4)にはハイドロコロイドドレッシング材を貼付し創部にかかる引っ張り応力を緩和した。2群間において、創幅の縮小程度、創部の組織学的所見の比較検討を行った。

4) Aldehyde reductase (ALR) が褥瘡の病態形成に与える影響の検討

高度な炎症反応の亢進は創の進行および悪化に関与するが、活性酸素種(ROS)の過剰産生による生体の酸化ストレス状態の惹起は褥瘡の病態形成に重要である。Aldehyde reductase (ALR) は AKR1A がコードする NADPH 依存性の解毒酵素であり、フリーラジカル消去作用のあるアスコルビン酸の合成に関わっている。ALR 発現が欠損したマウスではカルボニル化合物の解毒が十分に行われず、臓器に障害を起こすと考えられている。ALR が褥瘡形成に与える影響について、モデルを用いて解析し褥瘡悪化に関する活性酸素種の関与について検討を行った。AKR1A ノックアウトマウス(KO群、n=4)と野生型コントロールマウス(WT群、n=4)に一定時間の磁石負荷による皮膚虚血再灌流負荷を行い、皮膚虚血再灌流障害の程度を肉眼的・組織学的に比較検討した。また、フリーラジカル消去作用を有するアスコルビン酸を投与し、WT群とKO群の皮膚虚血再灌流障害の肉眼的・組織学的変化を比較検討した。

4. 研究成果

(1) 7週齢雄性SDラットを用いて、直径10mm、厚さ10mmのネオジム磁石にて皮膚を挟んで圧迫(2時間)解放(2時間)を複数回繰り返すことにより良好な圧迫創が作成可能であった。当施設では、以前より成熟雄性マウス(C57BL/6等)にフォーレン吸入麻酔下で腹壁を切開し腹壁部の腹壁に磁石を埋込み、背側皮膚から磁石を設置し縫合して負荷をかけて作成していたが、同様の手法で新たにラットモデルが作成できたことで、今後の実験に供する研究モデルに幅ができた。

(2) 7週齢雄性SDラットを対照群、糖尿病群の2群に分け実験に供した。対照群および糖尿病群について、初回圧迫前と圧迫開放時に採血後、血中の一酸化窒素(NO)濃度を測定した。また圧迫2時間後に創部皮膚を摘出し、常法に従いヘマトキシリン・エオジン染色により組織標本を作製後、光学顕微鏡にて組織学的検討を行った。その結果、糖尿病群では対照群に比較して、組織学的変化では表皮の菲薄化が顕著となり、また血中の一酸化窒素(NO)濃度は低値であることが明らかとなった。これらのことから、虚血再灌流障害を有する糖尿病において褥瘡が重症化するメカニズムの一端として、一酸化窒素(NO)の減少が微小循環障害を増悪させ創組織傷害の進行に関与している可能性が示唆された。

(3) 褥瘡の創部治癒には、創部の応力が強く影響する。肉眼的観察により、ハイドロコロイドドレッシング材の介入群では対照群と比較して、創幅の縮小程度が大きくなることを確認した。また、ヘマトキシリン・エオジン染色による組織学的観察では、介入群において肉芽組織の面積が縮小傾向にあること、肉芽組織間の線維成分の規則的配列を確認した。また免疫組織学的に筋線維芽細胞の創部よりの早期の退縮を認めた。ドレッシング材による創部の引っ張り応力の緩和が創の修復を促したと考えられる。この結果は、創の上皮化後、一見、治癒したと認識される状態であっても、真皮の創修復が完了するまでの間、創を固定し、安静とすることが褥瘡を円滑に最終的に治癒に向かわせる方法として推奨されることを支持するものであると考えられた。

(4) AKR1Aノックアウトマウス(KO群)と野生型コントロールマウス(WT群)に一定時間の磁石負荷による皮膚虚血再灌流負荷を行い、皮膚虚血再灌流障害を作成し、皮膚創部位を肉眼的・組織学的に比較検討したところ、肉眼的に再灌流24時間後ではKO群の創傷スコアが有意に高値であった。組織学的には再灌流直後よりKO群の炎症がWT群のそれに比し有意に高度であり、KO群では再灌流24時間後には更に強い炎症が認められた。Aldehyde reductase(ALR)発現が欠損したKO群ではフリーラジカル消去作用を有するアスコルビン酸の合成阻害により活性酸素種(ROS)による創組織障害が進行することが示された。次に、アスコルビン酸を投与し、WT群とKO群の皮膚虚血再灌流障害の肉眼的・組織学的変化を比較検討したところ、アスコルビン酸は再灌流24時間後のWT群とKO群の創傷スコア及び組織傷害を有意に抑制した。本所見は、褥瘡の病態形成と進展に対して活性酸素種(ROS)の関与を示すものであり、褥瘡の進展予防にフリーラジカル消去剤の投与が有用である可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 村田恵理、石田陽子、大宮敦子、斎藤律子、佐藤幸子、齋藤貴史、櫻田 香	4. 巻 41
2. 論文標題 東北地区の感染症看護の実態と教育ニーズ調査	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 山形大学紀要. 医学 : 山形医学	6. 最初と最後の頁 49 ~ 58
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15022/0002000120	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 鈴木智子、今野亜希湖、鈴木郁也、榎 慶太、勝見智大、星川恭子、芳賀弘明、奥本和夫、上野義之、村田恵理、石田陽子、櫻田 香、齋藤貴史	4. 巻 42
2. 論文標題 山形県肝疾患診療連携拠点病院の肝臓病相談における 経年的な疾病構造および相談内容の変化に関する検討	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 山形大学紀要. 医学 : 山形医学	6. 最初と最後の頁 36 ~ 45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15022/0002000781	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sakurada K, Konta T, Murakami N, Kosugi N, Saito T, Watanabe M, Ishizawa K, Ueno Y, Kayama T	4. 巻 17
2. 論文標題 Association between lack of sexual interest and all-cause mortality in a Japanese general population: The Yamagata prospective observational study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PloS One	6. 最初と最後の頁 e0277967
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0277967	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Mizuno K, Haga H, Okumoto K, Hoshikawa K, Katsumi T, Nishina T, Saito T, Katagiri H, Ueno Y	4. 巻 16
2. 論文標題 Intrahepatic distribution of nerve fibers and alterations due to fibrosis in diseased liver	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PloS One	6. 最初と最後の頁 e0249556
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0249556	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Haga H, Sato H, Koseki A, Saito T, Okumoto K, Hoshikawa K, Katsumi T, Mizuno K, Nishina T, Ueno Y	4. 巻 15
2. 論文標題 A machine learning-based treatment prediction model using whole genome variants of hepatitis C virus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0242028
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0242028	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Okumoto K, Saito T, Nishina T, Mizuno K, Katsumi T, Hoshikawa K, Haga H, Ueno Y	4. 巻 38
2. 論文標題 Effectiveness of tolvaptan and long-term prognosis in patients with liver cirrhosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Yamagata Med J	6. 最初と最後の頁 23-34
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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 松田友美、櫻田香、佐藤慎哉、石田陽子、宇野智咲、三枝真、大竹まり子、齋藤貴史、井上栄子、嘉山孝正	4. 巻 2
2. 論文標題 A県の訪問看護ステーション利用者における傷病別に必要な看護ケアの分析	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 在宅医療連合学会誌	6. 最初と最後の頁 23-34
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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Haga H, Saito T, Okumoto K, Tomita K, Katsumi T, Mizuno K, Nishina T, Watanabe H, Ueno Y	4. 巻 26
2. 論文標題 Incidence of development of hepatocellular carcinoma in Japanese patients infected with hepatitis B virus are equivalent between genotype B and C in long term	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Viral Hepat	6. 最初と最後の頁 866-872
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jvh.1309	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大井拓巳、大沼優衣、佐竹美穂、佐藤梨花子、齋藤貴史、藤井順逸、村田恵理
2. 発表標題 Aldehyde reductase (ALR) が褥瘡の病態形成に与える影響
3. 学会等名 第30回山形分子生物学セミナー
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松田友美、櫻田香、佐藤慎哉、石田陽子、三枝真、宇野智咲、三枝真、大竹まり子、齋藤貴史、井上栄子、佐藤慎哉、嘉山孝正
2. 発表標題 A県内の訪問看護ステーション利用者の医学的状況および看護内容の実態調査
3. 学会等名 第2回日本在宅医療連合学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 水野 恵、芳賀 弘明、仁科 武人、星川 恭子、奥本 和夫、齋藤 貴史、上野 義之
2. 発表標題 慢性肝炎と肝内神経線維の変化の検討
3. 学会等名 第23回日本肝臓学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 芳賀 弘明、奥本 和夫、星川 恭子、水野 恵、仁科 武人、齋藤 貴史、上野 義之
2. 発表標題 Post-SVRにおける線維化マーカー改善症例および悪化症例でのメタボローム解析
3. 学会等名 第23回日本肝臓学会大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔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
---------	---------