

平成 22年 5月 28日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20791307

研究課題名 (和文) ベッドサイドで簡単に行える創傷チェッカーの開発

研究課題名 (英文) The development of wound checker based on biological analysis of wound exudates

研究代表者

榊原 俊介 (SAKAKIBARA SHUNSUKE)

神戸大学・医学研究科・特命助教

研究者番号：50444592

研究成果の概要 (和文)：

皮膚損傷では、創の状態に応じて急性創傷と慢性創傷とに便宜上、分類され、それぞれに適切と考えられる治療法が異なる。本研究においては創傷の浸出液に注目し、検討を行った。まず、二元電気泳動法により浸出液中に含まれるタンパク質の解析を行った。浸出液中には多くのアルブミンの漏出を認め、また、IgG も多く含まれていた。詳細な解析にはこれらの濃度による影響を加味する必要があった。また、浸出液が過剰な症例において持続的に創傷被覆を行っているドレッシングに早期を行う事で蒸散を促し、良好な創傷治癒を行う事ができ、新しい創傷治療法の確立を目指した。

研究成果の概要 (英文)：

The wound is divided to acute wound and chronic wound. The treatment is totally different in between these two types of wound. We focused on the exudates of wound and try to analyze and control it. First, exudates were analyzed with two-dimensional gel electrophoresis and it was cleared that a lots of amount of albumin and IgG were contained in the exudates. To more extensive analysis, we had to eliminate the effect of these proteins. Second, we established a new method of wound treatment which showed a lot of exudates. We continuously supplied the air in to the dressing and brew up the moisture. Under this method, the exudates were well controlled and guided to the cure of intractable chronic wound.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・形成外科学

キーワード：創傷治癒学、慢性創傷

### 1. 研究開始当初の背景

近年、高齢化や糖尿病人口の増加を背景に、褥瘡や難治性皮膚潰瘍などの疾患が社会問題となっている。創傷治療を行う上で、近年、漸く生物学的な検討がなされるようになってきた。しかしながら現状ではまだ臨床面に反映されるに至っていない。特に本邦ではラップ療法に代表されるような安易な閉鎖型療法が広く浸透しており、一部では創傷の悪化を招くことがある。われわれ形成外科医はより科学的に創傷を検討し、それに基づく治療法を広く伝える必要がある。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、急性・慢性創傷に対して、これまで経験則に頼った様々な治療法が広く行われてきたが、民間療法のようなものも含まれる。近年になり漸く生物学的視点から創傷が考察されるようになってきた。特に細胞外マトリクスと細胞の定着・増殖とのバランスが重要であることが示されてきており、浸出液中に含まれるコラゲナーゼである MMP や、TIMP の影響が大きいことが報告され始めている。一方で、急性創傷・慢性創傷というそれぞれの創傷の明確な定義はなく、やはりこれも経験則に従っている。創の状態を生物学的観点から考察し、それに適した治療を行う事が良好な wound bed preparation や wound healing に繋がることは明確である。

これらを踏まえ、われわれは、次の二つの研究目標を立てた。

①生化学的手法を用いた創傷浸出液の考察

②新しい創傷治療法の開発

### 3. 研究の方法

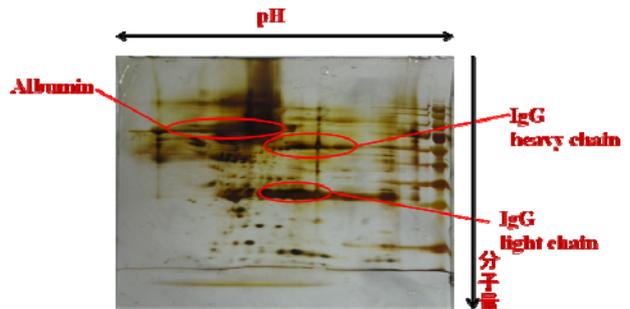
本研究を行うにあたり、神戸大学医学倫理委員会の承認を得た。

①多量の浸出液を認める患者より浸出液を回収した。浸出液中に含まれるタンパク質量を定量したのち、pH レンジ 3-10 のストリップを用いて1次元目の等電点電気泳動を行った。次に SDS ゲルを用い、2次元目の電気泳動を行った。

②ガーゼ交換を1日に複数回必要とするような多量の浸出液を認める患者に対し、酸素投与に用いられる経鼻カニューレを加工したものを創部を被覆するガーゼの中に留置し、ベッドサイドより1～2L/分で酸素を送気した。ガーゼの交換は1日1回とした。

### 4. 研究成果

①一次元目には pH3-10 のレンジ幅のゲルを用い、網羅的解析を試みた。含まれるタンパク質の大半はアルブミンおよび IgG であった。等電点電気泳動を行うに当たり、サンプル中に含まれる電解質や脂質、またある種の過剰なタンパク質の混在がある場合、干渉してしまい良好な分離が得られない。ゲルろ過カラム、IgG/Alb 吸着カラムなどによりこれらの除去を試みたところ、非特異的なタンパク質の吸着が著しく、パターンニングを比較した定量的解析が困難と考えられた。最終的に適当な濃度まで希釈することでこれらの分子間の相互作用を改善することができ、図のような泳動像を得るにいたった。

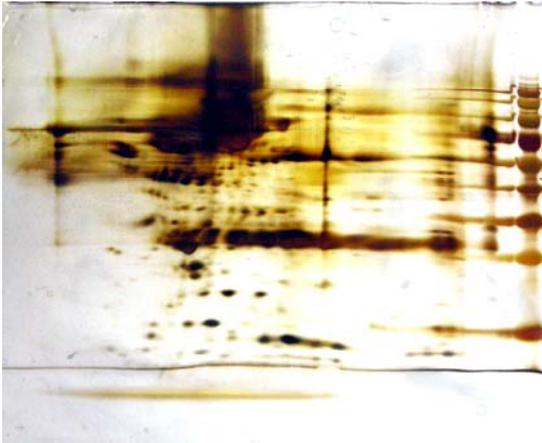


次に急性創傷と慢性創傷の浸出液の間で発現タンパク質を比較した。

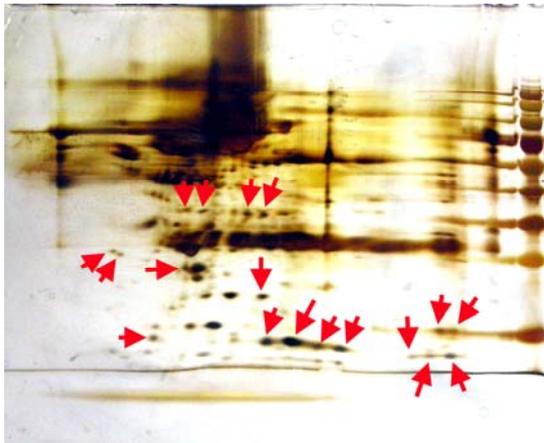
《急性創傷の浸出液パターン》



《慢性創傷の浸出液パターン》



これらを比較した結果、急性創傷の浸出液では発現しておらず、慢性創傷の浸出液に含まれるタンパク質が認められた（下図赤矢印）。



今後、ウェスタンブロッティングを行い、目的とするタンパク質の泳動パターンを解析し、さらには異なった時期での創傷浸出液を同様に解析し、プロファイルの作成を行う。

- ②持続送気を行うことでガーゼに吸収された滲出液中の水分の蒸散を促進することができ、ガーゼ交換の頻度が減少した。本方法が原因と考えられる感染症例はなく、良好な wound bed preparation を行えた。  
本治療法では、慢性皮膚潰瘍の難治化が浸出液に含まれる種々のネガティブファクターによるものと考え、これらを医療経済的にも有利な方法で効率よく取り除くといった利点を持つ、新しい治療法である。

今後、治療効果の判定には臨床所見のみならず、①のような生化学的検討を経時的に行い、治療法としての確立を目指す。



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3件)

- ①榊原俊介 他、  
褥瘡浸出液中に含まれるタンパク質を  
考えるー慢性創傷のモデルとしてー  
第11回日本褥瘡学会学術集会  
2009年9月4-5日 大阪国際会議場
- ②時吉貴宏、榊原俊介 他、持続送気によ  
るwound moisture balance control、  
第52回日本形成外科学会総会・学術集  
会  
2009年4月22-24日 パシフィコ横浜
- ③榊原俊介 他、Wound moisture balance  
controlの工夫～経鼻カニュラを用いて  
～  
第一回日本創傷外科学会総会・学術集会  
2009年1月16-17日 霞山会館

[図書] (計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

榊原 俊介 (SAKAKIBARA SHUNSUKE)  
神戸大学・医学研究科・特命助教  
研究者番号：50444592