

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2013

課題番号：22591997

研究課題名(和文) 皮膚創傷治癒に及ぼす高脂血症と高血糖の影響

研究課題名(英文) Effects of hyperlipidemia and hyperglycemia to wound healing of skin

研究代表者

中西 秀樹 (NAKANISHI, Hideki)

徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究部・教授

研究者番号：90164235

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：ヒルによる皮弁の瀉血治療がどのように皮膚微小循環に影響するかを検討した。加えて、皮弁の経皮酸素分圧と経皮二酸化炭素分圧を測定することで瀉血治療に関する基礎的なデータを収集した。高脂血症と高血糖の条件下での瀉血治療の効果を検討したが、正常との違いが明確ではなかったため、さらなる検討と追加実験が必要と考えられた。

研究成果の概要(英文)：Effects of leech therapy were studied about the microcirculation of skin flap. Basic data of effect of the leech therapy were collected on the basis of transcutaneous PO<sub>2</sub> and PCO<sub>2</sub> on skin flaps. Although the effect of the leech therapy on the hyperlipidemia and hyperglycemia was studied, differences between normal condition and these conditions were not clear.

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 糖尿病 高脂血症

## 1. 研究開始当初の背景

皮弁生着や外傷性の皮膚潰瘍では皮膚の viability を決定するうえで皮膚微小循環は重要である。この皮膚微小循環に影響する要因として、感染、血腫、過圧迫、non-reflow 現象、皮弁の territory などが知られている。ほかにもさまざまな全身的な要因があるが、特に糖尿病においては動脈硬化症、末梢神経障害、易感染性に加えて、皮膚微小循環の障害が高頻度で存在し、皮弁手術の障害となる場合や、糖尿病性の難治性潰瘍ではその治療に難渋する場合が見られる。日本では近年における食生活や生活様式の変化に伴い、糖尿病や高脂血症が増加する傾向にあり、またメタボリック症候群としても注目を集めている。

糖尿病の皮膚微小循環障害では血管内皮細胞の障害や機能不全が問題となる。また血管内皮細胞の障害の機序としては、NADPH Oxidase を介した活性酸素の役割が次第と明らかになってきている。

当研究室では活性酸素による皮膚微小循環における血栓形成の観察を行い、皮膚の創傷治癒過程について血管新生を中心に観察してきた。さらに糖尿病発症家兎と家兎高脂血症モデルを用いて実験を行ってきた。家兎の高脂血症モデルでは胸部大動脈や冠動脈にアテローム性硬化症が発症することが知られているが、皮膚微小循環における影響はほとんど検討されていない。さらに糖尿病と高脂血症を合併させたモデルでの実験を行うことにより、より複雑な病態での検討を行うことも可能である。病態モデルにおける生体顕微鏡を用いた皮膚微小循環の包括的な研究は世界的にもほとんど無く、本研究は臨床的にもフィードバックが期待されるものになると考えられる。

## 2. 研究の目的

今回の一連の実験では、病態モデルとして糖尿病と高脂血症を発症した家兎を用いて皮膚微小循環への影響を解明したい。これらの病態モデルにおいて実験的な皮膚潰瘍の作製を行い、皮膚微小循環の状態を反映するさまざまな測定（経皮酸素・二酸化炭素測定装置・レーザードップラー血流装置など）を行い、病態の特殊性について検討する。つぎにこれまでの実験系を用いて、血管新生、新生血管の機能的評価、血管の薬剤に対する反応、活性酸素抑制剤による血管新生への反応などを検討する。

われわれの研究室では家兎耳介透明窓 (rabbit ear chamber) 内における血管再生の速度や形態を観察し、ステロイドなどの薬剤の反応を観察してきた。さらにこの微小循環網を用いて細動脈内と細静脈内で血

栓形成実験を行い、血栓形成成分の検討や薬剤効果の違いについて報告してきた。また病態モデルとして糖尿病家兎を用いて皮膚微小循環の動的観察を行い、血管内皮細胞由来の拡張機能障害を報告した。これらの研究は皮膚微小循環を生体顕微鏡下に動的に観察できる点、さらに血栓形成装置を装着して血栓形成過程も直視下に経時的に観察できる点は独創的な実験系である。

## 3. 研究の方法

食事を高コレステロールにすることで作成する食事性高脂血症家兎と、生下時から高コレステロール血症が発症している本態性の遺伝性高脂血症家兎の両者について、血中コレステロール値の測定や耳介血管における粥状変化について組織学的な解析を行う。血管壁の障害を観察するために膠原繊維、弾性線維、脂肪を染色する。これらの染色を組み合わせるにより血管内膜、中膜、平滑筋細胞などの変性や障害が皮膚微小循環のどの部分にまで及んでいるかを検討できる。これらの高脂血症、高血糖症を発症した家兎において耳介潰瘍モデルを作製する。難治性潰瘍を実験的に作製し、治癒過程で経皮酸素・二酸化炭素の測定やカラードップラーイメージによる血流測定装置による血流測定を行い、組織学的な検討も行う。

### (1) 家兎耳介に透明窓モデルによる血管新生実験

疾患モデルの家兎耳介に透明窓を装着し新生血管の形態や進展速度についての解析を行う。正常家兎の血管新生と比較することにより高脂血症と高血糖の血管新生に及ぼす影響を検討する予定である。これらの設備については、現有の生体顕微鏡で行う。

皮膚微小循環に関して血管の機能的な反応を観察する実験も行う。内皮依存性血管拡張剤と内皮非依存性血管拡張剤を投与することにより内皮細胞の機能を観察でき、高脂血症と高血糖症における血管の生理的特徴の研究が可能と考えられる。

### (2) 家兎耳介に透明窓モデルによる血栓実験

つぎに皮膚微小循環障害がある高脂血症家兎モデルにおいて血栓実験を行う。血栓実験では生体顕微鏡下に標的とする細動脈あるいは細静脈を選択し、対側耳介から静脈内注射したフルオレッセイン溶液が血管内に現れたところで励起光を照射することで血栓作成を行い動的な観察が可能である。血栓形成に影響する薬剤の投与を行い、その反応を比較することで高脂血症と高血糖症の皮膚微小循環障害についても考察する。これらの血栓実験は前項で述べた通り、生体顕微鏡に励起光発生装置を取り付けた現有のものでも可能である。

### (3) ラット背部潰瘍モデル

ラット高血糖モデルにおいて、難治性潰瘍の作製にも挑戦する予定である。ラットにおいては活性酸素を発生する NADPH Oxidase 抑制剤(Ebselen, Apocynin)の皮膚潰瘍に対する効果を検討する。

### 4. 研究成果

皮弁生着や外傷性の皮膚潰瘍では皮膚の viability を決定するうえで皮膚微小循環は重要である。この皮膚微小循環に影響する要因として、感染、血腫、過圧迫、non-reflow 現象、皮弁の territory などが知られている。ほかにもさまざまな全身的な要因があるが、特に糖尿病においては動脈硬化症、末梢神経障害、易感染性に加えて、皮膚微小循環の障害が高頻度で存在し、皮弁手術の障害となる場合や、糖尿病性の難治性潰瘍ではその治療に難渋する場合が見られる。日本では近年における食生活や生活様式の変化に伴い、糖尿病や高脂血症が増加する傾向にあり、またメタボリック症候群としても注目を集めている。糖尿病の皮膚微小循環障害では血管内皮細胞の障害や機能不全が問題となる。また血管内皮細胞の障害の機序としては、NADPH Oxidase を介した活性酸素の役割が次第と明らかになってきている。

食事を高コレステロールにすることで作成する食事性高脂血症家兎と、生下時から高コレステロール血症が発症している本態性の遺伝性高脂血症家兎の両者について、血中コレステロール値の測定や耳介血管における粥状変化について組織学的な解析を行った。血管壁の障害を観察するために膠原繊維、弾性線維、脂肪を染色する。これらの染色を組み合わせることにより血管内膜、中膜、平滑筋細胞などの変性や障害が皮膚微小循環のどの部分にまで及んでいるかを検討したが、個体によるバラツキがあり、明確な結論が得られなかったため引き続き実験を行った。

皮弁に静脈うっ血や動脈虚血が生じると、皮弁が部分的にあるいは全体が壊死に陥る。これらを防ぐために外科的な処置や薬剤投与が試みられるが、一度うっ血や虚血が生じるとその回復は困難なことがある。さらに、上記のように皮膚微小循環に影響がある糖尿病や高脂血症が合併する場合には回復がより困難になることが予想される。静脈うっ血の治療の一つに医療用ヒルの適応がある。23年度はヒルによる皮弁の瀉血治療がどのように皮膚微小循環に影響するかを検討した。加えて、経皮酸素分圧と経皮二酸化炭素分圧を測定することで基礎的なデータを収集した。高脂血症や高血圧などの条件下での瀉血治療の効果を検討する

必要があると考えられた。24・25年度は高血糖の条件下での瀉血治療の効果を検討したが、正常との違いが検出できなかったため、さらなる検討と追加実験が必要と考えられた。

### 5. 主な発表論文等

(雑誌論文)(計7件)

1. Ichiro Hashimoto, Yoshiro Abe, Atsushi Morimoto, Keisuke Kashiwagi, Keiichi Goishi, Hideki Nakanishi. Limb salvage and vascular augmentation by microsurgical free flap transfer on neuropathic diabetic foot ulcer. The Journal of Medical Investigation. (査読あり) 2014, in press.

2. Kunio Kotsu, Ichiro Hashimoto, Masahiro Yamano, Keisuke Kashiwagi, Yoshiro Abe, Hideki Nakanishi. Effects of neutrophil elastase inhibitor on flap survival after venous ischemia. European Journal of Plastic Surgery. (査読あり) 2013, 36, 149-154.

3. Keisuke Kashiwagi, Ichiro Hashimoto, Yoshiro Abe, Kunio Kotsu, Masahiro Yamano, Hideki Nakanishi. Quantitative analysis of hemodynamics of congested island flaps under leech therapy. Journal of Medical Investigation. (査読あり) 2013, 60, 213-220.

4. Yoshiro Abe, Ichiro Hashimoto, Keiichi Goishi, Keisuke Kashiwagi, Masahiro Yamano, Hideki Nakanishi. Transcutaneous PCO<sub>2</sub> Measurement at Low Temperature for Reliable and Continuous Free Flap Monitoring: Experimental and Clinical Study. Plastic and Reconstructive Surgery Global Open. (査読あり) 2013, 1, e16-e23. (DOI: 10.1097/GOX.0b013e3182936cd0)

5. Takuya Seike, Ichiro Hashimoto, Kazuya Matsumoto, Eiji Tanaka, Hideki Nakanishi. Early postoperative evaluation of secondary bone grafting into the alveolar cleft and its effects on subsequent orthodontic treatment. The Journal of Medical Investigation. (査読あり) 59, 2012, 152-165.

6. Ichiro Hashimoto, Hideki Nakanishi, Masahiro Yamano, and Yoshiro Abe. Usefulness in Combined Free Antero-

lateral Thigh and Vastus Lateralis Muscle Flaps. European Journal of Plastic Surgery. (査読あり) 35, 2012, 867-872.

7. Kazuya Matsumoto, Ichiro Hashimoto, Hideki Nakanishi, Yoshiaki Kubo, Kazutoshi Muraio, Seiji Arase. Resin splint as a new conservative treatment for ingrown toenails. The Journal of Medical Investigation. (査読あり) 57, 2010, 321- 325.

〔学会発表〕(計3件)

1. Ichiro Hashimoto, Hideki Nakanishi. Toe amputation with vascularised tissue coverage for preservation of longer metatarsal bone on DM neuropathic foot. The 11th Japan-Korea Congress of Plastic and Reconstructive Surgery. 2012 5/17 淡路夢舞台国際会議場, (兵庫県).

2. Ichiro Hashimoto, Hideki Nakanishi. Pudendal Artery Perforator Flap (Gluteal Fold Flap) for Perineal Reconstruction; Reliability and Versatility of the Flap. The 16th World Congress of the International Confederation for Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery. 2011 5/23, Vancouver Convention Center, (Canada).

3. 橋本一郎、中西秀樹. 経皮二酸化炭素分圧による皮弁循環不全のモニター方法. 第19回日本形成外科学会基礎学術集会シンポジウム. 2010 9/17 パシフィコ横浜(神奈川県).

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等: 該当なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

中西 秀樹 (NAKANISHI, Hideki)  
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス  
研究部・教授  
研究者番号: 90164235

(2)研究分担者

橋本 一郎 (HASHIMOTO, Ichiro)  
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス  
研究部・准教授  
研究者番号: 70314870