

機関番号：12401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24792379

研究課題名(和文)細胞と動物実験を用いた褥瘡発生に至る酸素濃度と時間の解明

研究課題名(英文)Elucidation of time to lead to the onset of pressure ulcers using the cells and animal experiment

研究代表者

三木 将仁(MIKI, Masahito)

埼玉大学・研究機構総合技術支援センター・専門技術員

研究者番号：90515066

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円、(間接経費) 660,000円

研究成果の概要(和文)：皮膚は膠原弾性線維で構成される固相と膠原線維組織に含まれる血液および体液成分の液相に大別され、いわゆる固・液2相系の多孔質粘弾性材料とみなすことができる。皮膚組織の経皮的圧力の増加による多孔性の低下と血流障害の関係を調査することは重要である。ウサギ耳介のクリープ変形挙動と皮膚組織内の血流変化を実測した。組織内の血液流動能CSは $CS=345.3P-2.68$ (相関係数 $R^2=0.999$ )としての多孔性Pの指数関数として示される。組織内血流量は20mm Hg以上の経皮的圧力下で速く低下することが確認された。褥瘡の安全性と生体適合性を高めるためには、皮膚組織に十分な血流を確保することが重要である。

研究成果の概要(英文)：Skin tissue can be regarded as a solid-liquid biphasic visco-elastic porous material constructed by with the blood flowing in tissues as the liquid phase and collagen fibers as the solid phase. As skin tissues are consolidated by percutaneous pressure, it is important to quantitatively study the relationship between decline in porosity and blood circulation disorder. Consolidation of tissues due to creep deformation of rabbit ears and subsequent changes in blood flow were measured. Blood flow compliance CS inside tissues is expressed as an exponential function of porosity P as  $CS=345.3P-2.68$  (correlation coefficient  $R^2=0.999$ ), and it came to light that blood flow inside tissues rapidly decline under the percutaneous pressure of 20 mm Hg or more. In order to give a high level of safety and biocompatibility to pressure ulcers, it is necessary to ensure that adequate blood flows to the skin tissue, where pressure ulcers is mounted.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：看護学・基礎看護学

キーワード：褥瘡 血流

1. 研究開始当初の背景

いわゆる“寝たきり”状態の高齢者や麻痺患者の支持用具接触面で過度の接触圧力が長時間持続して加わると高い頻度で褥瘡が発症することが知られている。皮膚組織は虚血状態に陥り、皮膚組織で代謝に必要な酸素量と栄養の供給が閉ざされ、虚血状態が長時間継続すると組織破壊に至ると考えられる。そのため、褥瘡好発部位は骨を取り巻く軟部組織層が比較的薄く、高い圧力の生じる部位であることが生体工学的にも実証されている。また、経験的な褥瘡予防手段として、圧力分散用具の使用と定期的な体位の変更が効果的であるとされている。このように褥瘡や創傷の発症は加圧の大きさと持続時間に密接に関連するので、褥瘡発生機序に関する力学的研究には、皮膚組織の粘弾性特性について検証することが適切である。過去の皮膚粘弾性測定は老化に伴う皮膚の物性変化や美容成形、皮膚ケアの定量などに散見される。根本らは皮膚の動的粘弾性試験を実施し、褥瘡発生および予防は、応力の時間的散逸（損失弾性率）が外力に対する抵抗性を増大させるものとして評価している。しかし、これらの試みはいずれも単相 Voigt モデルを想定した評価であるため、血流と組織破壊の関係を言及するには至っていない。

2. 研究の目的

体表面の持続的加圧による血行不良に着目し、褥瘡および創傷発生の力学的条件をレオロジーの視点から究明することを試みた。そのために皮膚組織内を血液が流動することができる固・液2相系多孔質粘弾性モデルを考案し、変形挙動と組織内液体成分量の関係を理論的に解析した。また、動物の皮膚を用いて加圧による皮膚組織のクリープ変形挙動（一定負荷を持続的に加えた際に生じる変形量の時間的変化のこと）から皮膚組織内の血流変化を実測して、粘弾性モデル化に必要な各種パラメータを定量した。更に、同粘弾性モデルから組織壊死を回避するための力学的環境について検討した。



図1 ウサギ耳介のクリープ変形に伴う血流量変化の測定

3. 研究の方法

(1) *In vivo* クリープ試験に伴う皮膚組織毛細血管内の血流量測定

皮膚（真皮および皮下組織）は膠原弾性線維で構成される固相と膠原線維組織に含まれる毛細血管を流れる組織内血液および組織内に含まれる流動可能な体液成分の液相に大別され、いわゆる固・液2相系の多孔質粘弾性材料とみなすことができる。成熟日本白色ウサギ3羽（週令18-20W, ♀, 体重2.7-3.1kg）を麻酔（ミダゾラム：ペトルフェール：ドミトール=1：1：3）を0.05mL/100gの割合で筋注に投与し、図1のようにウサギの耳介先端部に荷重0~66g（0~66.0mmHgに相当）を30分間加え、皮膚組織のクリープ試験を行ない、組織の圧密化に伴う血流量変化を、レーザードップラー血流計を用いて測定した。また、耳介厚さ方向の変位をレーザ変位計で継時的に測定した。同組織に含まれる全ての流動可能な体液の流動をダルシー流れと仮定して組織内液相成分の流れを測定した。

図2は実験に使用した血流計のプローブ先端の構造を示す。右下の圧子拡大写真底面の黒色円盤の裏面に直径0.1mmのレーザ光入射、受光用ガラスファイバー2本を1mmの間隔で並走させて血流計測用プローブを構成した。このように2本のガラスファイバーの間隔を調整することで皮下0~2mmの範囲で

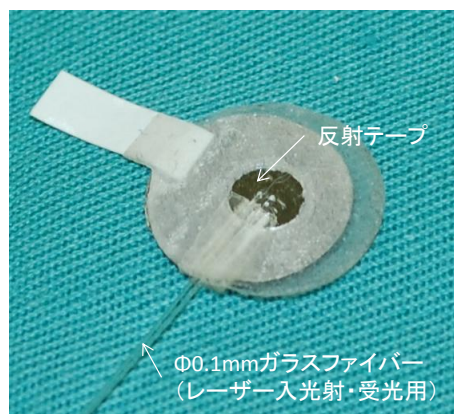
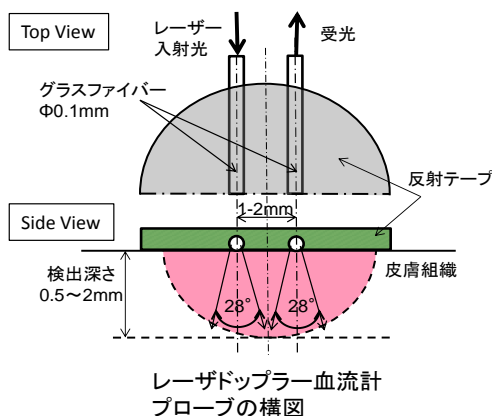


図2 近赤外レーザ血流計プローブ先端の構造

組織内血流を測定することができる。

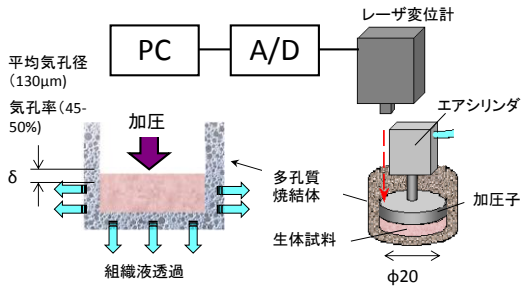
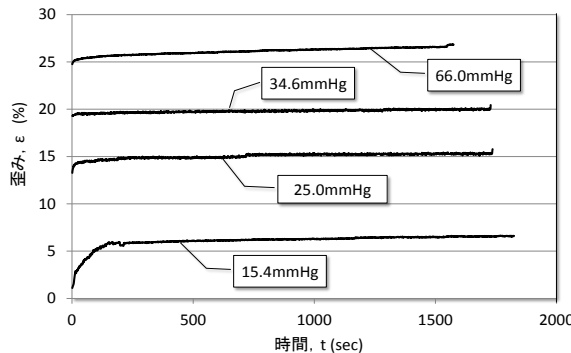


図3 皮膚組織のクリープ試験装置

(2) *In vitro* クリープ試験による皮膚組織内の血液透過率の測定

Wister rat (10-15 週令, ♀, 体重 250~300g) 3 匹を麻酔薬 (ソムノペンチル) の過剰投与により安楽死させ後, 速やかに大腿部皮膚組織及び筋組織を採取し, 厚さを 2mm, 直径 20mm の円形にトリミングしたものを試験片とした. 一定加圧下で沈み込み挙動を測定するクリープ試験を実施した. 組織からの体液流出を妨げないために, 測定は多孔質焼結体容器を用いて行なった. 容器内に皮膚組織を設置し, エアシリンダを利用して加圧装置にて加圧, 加圧装置の加圧子上面をレーザ変位計にて照射することで変位を経時的に測定した. 試験前に試験片の質量と厚みを電子天秤およびノギスで測定し, 図 3 に示す円筒型プラスチック焼結多孔質体容器 (富士ケミカル株式会社, 内径 20mm, 厚さ 10mm, 平均気孔径 130 μm, 気孔率 45~50%) に設置した. エアシリンダを介して加圧子 (φ 20mm アルミ製円盤) で試験片に静的負荷を加え, 組織片の厚み変化  $\delta$  を可視光レーザ式変位計 LB-1000 (KEYENCE 社製) にて測定した. レーザ変位計の照射位置を加圧子上面に調整し, その位置を基準位置とした. 測定終了後, 加圧後の皮膚組織重量を再び計測し, 荷重前の重量差を組織内体液の排除された量とした. 得られたクリープ変形挙動から皮膚組織の体液流動性を推定した.

尚, 本研究は北里大学医学部動物実験委員会の承認を得て同大学動物実験等に関する規程に従って実施した.



(a)ウサギ耳介のクリープ変形

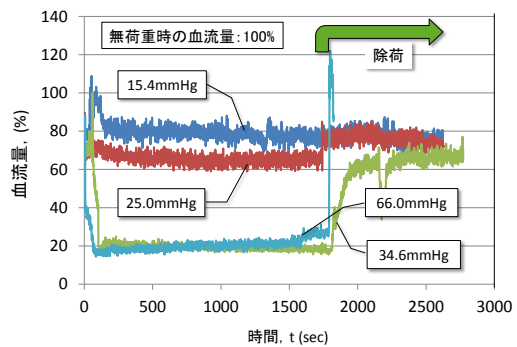
#### 4. 研究成果

##### (1) ウサギ耳介のクリープ変形

ウサギは耳介が大きく発達しているため, しばしば褥瘡モデル実験に用いられる. しかし, 軟骨層が中間に位置するため, 負荷に伴う軟骨層の変形も考慮する必要がある. 厳密には耳介軟骨も粘弾性体であるが, 図 4 (a) のクリープ変形挙動から判断して, 耳介軟骨の変形は同部の皮膚組織に比べて変形挙動の時間依存性が低いので, 時間遅れを伴わない変形挙動と見做せる. 更に, 高負荷 (34.6 および 66.0mmHg) であるほど初期弾性変形が顕著に現れるためである. もし, 耳介軟骨が皮膚と同様に粘性を顕著に示すのであれば, 図 4 (a) のクリープ変形挙動において初期弾性変形は現れないはずである. 以上の理由から, 耳介皮膚組織のクリープ変形は耳介軟骨による初期弾性項を排除した等価 Voigt モデルに等しく, 指数関数的変形挙動は皮膚組織に依るものと考えるのが自然であると判断される. 我々が注目するのは皮膚組織内膠原繊維の弾性と組織内を流動する血液を含む体液の流動による粘性の関係であるので, ここでは初期弾性変形を取り除いて議論する. 34.6mmHg 以上で加圧した場合は加圧後 120-150 秒程度の比較的早い時間で血流が遮断されることが図 4 (b) の血流量の測定結果から見てとれる. 皮膚組織は前述の如く, 膠原繊維束の間隙を血液その他の液体成分が流動し, 組織細胞に必要な栄養と酸素を供給する. 皮膚表面に過剰な圧縮力が作用すると, 組織内血液は本来の血流が維持されなくなり, 組織は虚血状態になることが予想される. しかし, 本実験からは組織に何らかの損傷が生じるまでの加圧量, 加圧時間については明確に断言することはできない.

##### (2) ラット皮膚組織のクリープ試験

図 5 は屠殺したラットから採取した皮膚組織片によるクリープ試験の結果の一例である. ラット皮膚組織はウサギ耳介の軟骨の影響が無いので初期弾性変形は現れない. 従って, 等価 Voigt モデルが適応可能である. 図 5 のグラフは荷重履歴が影響して歪み  $\epsilon$  は暫増傾向にある. これは, 試験片のクリープ変形に対する乾燥に因る影響を排除するため



(b)血流量の変化

図4 ウサギ耳介のクリープ変形に伴う血流量の変化

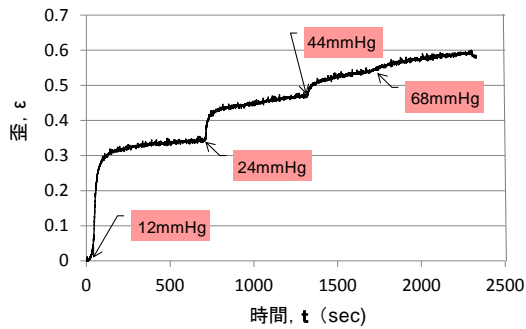


図5 ラット皮膚組織のクリープ曲線の一例

に十分な平衡状態に達していない過渡的状态で追加荷重したことによるものである。血液透過率  $k$  および組織内血液流動能(コンプライアンス)の推定は、図5の矢印点における歪み速度(傾き)から算出するので、乾燥による変形に対する影響さえ排除できれば算出結果の信頼性は損なわれない。

### (3) 圧密化と血液流動能(コンプライアンス)

図5にラット大腿部皮膚組織の圧縮変形挙動を示す。加圧量を12, 24, 44, 68mmHgで段階的に増加させ、それぞれの圧密化度に対応した歪み量  $\epsilon$  に対する血流コンプライアンス  $C$  を算出した。基質部および血液は非圧縮性であることから、圧縮変形量  $\epsilon$  はすべて組織内に含まれていた血液(体液)の絞り出し量と等しいとみなした。図6は圧力  $P$  による血流コンプライアンス  $C$  を算出した結果である。皮膚組織は前述のように固・液複合型多孔質粘弾性体とみなせる。皮膚組織の変形は孔の変形に因ることからポアソン比(軸荷重を受ける試験片の荷重軸方向の歪みに対する直角軸方向の歪みの比)は極めて低く、 $\nu \approx 0$  であることが推定される。しかし、組織の圧密化度が増加すると孔が閉塞されて基質部が直接接触するのでポアソン比( $\nu$ )は急激に上昇し、 $\nu \approx 0.5$  に近い値を示すと推察される。その臨界圧密化度(歪み,  $\epsilon$ )は、図6の血流コンプライアンス、 $C_s=0$  になる加圧量  $P=50\text{mmHg}$  であると推定される。また、図4(b)の組織内血流計測の結果に見られるように、15.4, 25.0mmHgの比較的低い加圧では血流量(%)曲線は約80%, 65%を維持す

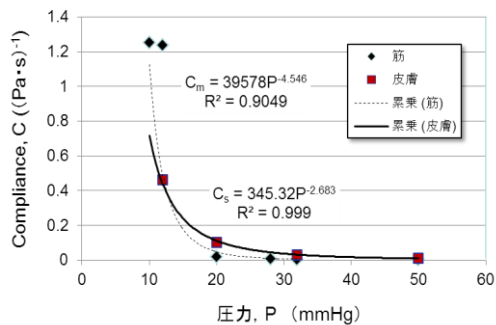


図6 クリープ試験から求めた組織内血液流動能(コンプライアンス)

るが、34.6, 66.0mmHgの高圧における血流量はいずれも20%に低減した。血流の減少は、低圧負荷では緩慢で200~1000秒で平衡状態に達する。高圧では、血流量は急激に低下し、いずれも100秒程度で平衡状態になる。これらの血流量の減少傾向は図4(a)のクリープ試験の結果と良く対応する。15.4, 25.0mmHgの加圧では荷重直後から800秒あたりまで過渡状態が続き、その後は平衡状態になる。34.6, 66.0mmHgの加圧ではほとんど過渡状態は観察されない。ただし、66.0mmHgの場合は平衡状態でも暫時歪みが増加しているのは血液以外の組織内体液の流動も生じるためであると推察される。本実験では、血液とその他の組織内体液の流動を区別することは難しいが、毛細管内の血液流れは主に初期のクリープ変形で支配的に生じることが伺える。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計1件)

- ① 森田真史, 三木将仁, 土井一浩, 原和彦, 固液2相系粘弾性モデルを用いた皮膚組織の圧密化挙動とそれに伴う組織内血液量の低下に関する研究, 医療機器学, 査読有, 84巻, 2014, 9-17

[学会発表] (計2件)

- ① 棚林祐一郎, 三木将仁, 森田真史, 原和彦, 土井一浩, 義足ソケットの皮膚組織の血流量に着目した生体適合性と安全性評価, 日本材料科学会, 2014. 6. 6, 工学院大学

- ② 原和彦, 豊田輝, 岡安建, 森田真史, 三木将仁他, 皮膚粘弾性評価とソケット内圧計測によるソケット適合性指標の検討, 日本義肢装具学会, 2013. 10. 26~27, 佐賀市文化会館

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

三木 将仁 (MIKI, Masahito)

埼玉大学・研究機構総合技術支援センター・専門技術員

研究者番号: 90515066