

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2014～2016

課題番号：26713058

研究課題名（和文）超高齢者における、褥瘡発生メカニズムに着目した褥瘡の超早期発見システムの構築

研究課題名（英文）Establishment of pressure ulcer prediction method based on its pathophysiology in super-aged population

研究代表者

仲上 豪二郎 (Nakagami, Gojiro)

東京大学・医学（系）研究科（研究院）・講師

研究者番号：70547827

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 14,200,000円

研究成果の概要（和文）：褥瘡の発生予測は予防ケア開始のために必須である。本研究では褥瘡発生メカニズム（低酸素・再灌流障害・リンパ灌流障害・細胞変形）に基づく新しいアセスメント方法に着目した。本研究の目的はこれらの病態を分子生物学的手法により皮膚局所で捉える新たな褥瘡発生予測技術を提案することである。本研究により新たに確立したモデルマウスを用いて、スキンプロットング法により検出可能な褥瘡発生予測のバイオマーカーを複数種類発見した。

研究成果の概要（英文）：Predicting pressure ulcer development is important to prevent pressure ulcers. This study focused on a new assessment method based on pressure ulcer pathophysiology which includes hypoxia, ischemia-reperfusion injury, lymphatic disorder, and cell deformation. The purpose of this study was to establish a new pressure ulcer prediction method by detecting local responses against the pressure using molecular biological methods. We discovered several biomarkers that can be detected using skin blotting by the aid of our newly developed mouse model.

研究分野：創傷看護学

キーワード：褥瘡 バイオマーカー スキンプロットング 非侵襲 皮膚

1. 研究開始当初の背景

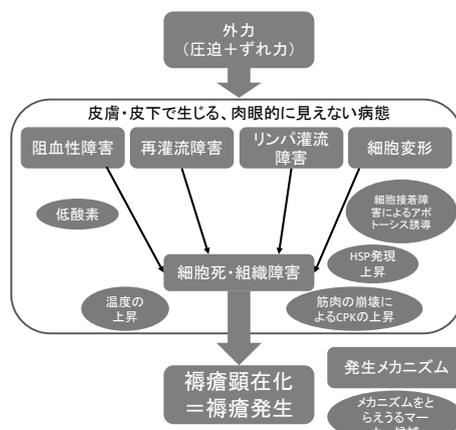
褥瘡は高齢者のウェルビーイングを阻害する病態として認識されており (Gorecki, 2009)、その発生予測方法や予防対策が発展してきた結果、病院・施設での有病率は低下の一途をたどってきた (Sanada, 2008)。一方で、在宅療養者の褥瘡有病率は依然として高く、訪問看護ステーション利用者の実に5.45%が褥瘡を有しており、その39.6%が重症褥瘡である (日本褥瘡学会, 2010)。在宅で発生する褥瘡の中には急速に重症化し、患者の生命を危機的状況に陥らせるほどの重篤な病態が含まれており、その予防策の構築が喫緊の課題となっている。このような病態は、患者のウェルビーイングを著しく低下させるばかりでなく、急速な悪化を目の当たりにすることから、日々のケアにあたる看護師の心理的負担は極めて高く、対策の重要性は高い (Searle, 2008)。

在宅での高い褥瘡有病率の根本的な理由は、病院と異なり在宅は個々の生活が多様であり、褥瘡発生リスクに応じた個別的な対応が必要であるが、看護師が利用者を24時間常に観察できないために、体動、栄養、清潔度などから褥瘡発生リスクをアセスメントするブレデンスケールでは予測が不可能である点である (Bergstrom, 1987)。また、高齢者では極めて軽微な外力が加わるだけでも褥瘡が発生することがあり、体圧測定のみに基づくリスクアセスメントは過小評価につながる危険性が高い (Nanjo, 2011)。この現状を打開すべく、本応募課題において、応募者は褥瘡発生メカニズムに基づいた、全く新しい発想の予測方法を提案する。褥瘡発生メカニズムは、従来から提唱されている古典的な虚血説から、低酸素・再灌流障害・リンパ灌流障害・細胞変形が複合的に関与していることが解明されつつある (Stekelenburg, 2008)。したがって、ブレデンスケールに代表される間接的なパラメータを外部からアセスメントする手法ではなく、褥瘡発生メカニズムの発生を表すパラメータを直接的に、それも皮膚から非侵襲的にアセスメントする手法が開発されれば、個別性が極めて高い在宅療養者においても褥瘡発生が正確に予測できるのではないかと考えた。これら褥瘡発生を引き起こす現象は、褥瘡が顕在化する前に皮膚内部で生じていると考えられることから、その変化を皮膚局所で検出することができれば、褥瘡の発生予測技術の確立につながり、早期介入による褥瘡発生の予防が可能となるといえる。応募者はこの不顕性変化を工学的・分子生物学的技術により同定することで、正確な発生予測をベッドサイドでリアルタイムに実現できると考えた。

これまでの研究代表者らの先行研究において、I度褥瘡の発生を予測するための手法を確立するため、臨床でのI度褥瘡の発生に至るプロセスや発生後の転帰を詳細に記述

する臨床研究を行ってきた。詳細に褥瘡を記述することで発生・悪化要因を明らかにすることが可能となり、結果として、循環動態の不安定な患者では非常に軽微な外力によっても褥瘡が発生および悪化しており、従来の方法では同定しえない褥瘡リスクが存在することが明らかとなり、本研究の臨床的課題の明確化につながった。

さらに、動物実験を含む過去の研究により、下図のごとく、発生予測マーカーとなりうる分子や細胞の特異的な応答をいくつか報告してきている。しかし、それらは想定されている褥瘡発生メカニズムを網羅しておらず、現状では十分な感度を持ったアセスメント技術は開発できない。そこで本研究課題では、1. 発赤・紫斑動物モデルを作成すること、2. 動物実験によりマーカー候補を提案することを目的とした。



新しい褥瘡発生コンセプトに基づいたマーカー探索

本研究は、褥瘡の病態を臨床記述研究および動物実験から明らかにし、病態に基づいた予測パラメータが臨床で使用可能なものであるかどうか検討する、という「バイオエンジニアリング・ナーシング」の研究フレームに基づいた研究である。褥瘡の病態に迫ることで、本質的でより合理的なアセスメント技術を開発できる可能性が高い。本研究課題が完成した際には、褥瘡発生を極めて正確に予測することにより、適切なケアを早期に提供することが可能となる。また褥瘡の重症化が抑制され、軽症のままに治癒することが期待される。これらは、重症褥瘡によってもたらされる患者のウェルビーイングの著しい低下を予防することのみならず、ケアにかかる看護負担の軽減ならびに医療費の削減に直結するため、その社会的意義は大きい。将来的には、本研究によって明らかになったパラメータ測定を一般的に利用されるようにするべく新たなドレッシング材の開発に着手し、それを製品化することで、ひいては在宅など医療者のマンパワーが不足しているようなケアの場においても介護者や患者自身、もしくは自動で褥瘡予測が可能となることが期待される。

本研究では、褥瘡のマーカーの検出手法と

して、「スキンプロットティング」に着目した。本手法は皮膚表層の蛋白質を分子吸着メンブレンに写し取り、免疫学的手法を用いることで各種蛋白質の有無・局在を解析できる手法であり、研究代表者らが独自に開発したものである (Minematsu, 2014)。

2. 研究の目的

本研究は 1. 各褥瘡発生メカニズムを呈する動物モデルを作成すること、2. 動物実験によりマーカー候補を提案すること、を目的とした。

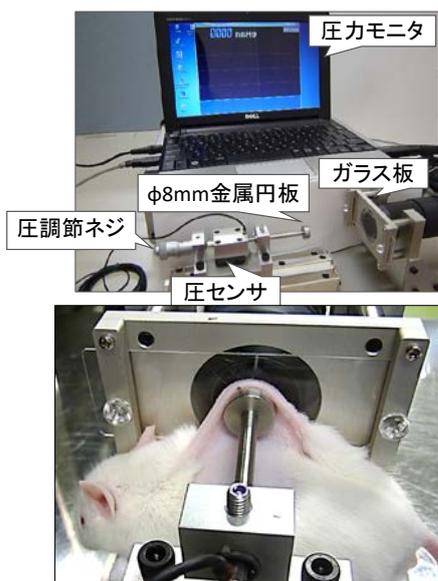
3. 研究の方法

新たな褥瘡発生予測技術を確立するために、マーカー候補探索のための動物を用いた基礎研究を実施した。

本研究は東京大学医学部動物実験委員会の承認を経て実施された。

(1) 発赤・紫斑動物モデルの作成

雄性 ICR マウス 9 週齢を用いて実験を行った。独自に開発した圧力負荷装置を用いて、麻酔下にて剃毛したマウスの背部皮膚をつまみ上げ、金属の円盤とガラス版で皮膚を挟み、1 時間又は 6 時間圧迫を負荷した。荷重圧力センサで計測され、常時モニタリングし、圧調節ねじを操作し、常に 1,000mmHg の圧力が一定にかかるようにした。健常皮膚モデルとして非荷重群、消退する発赤モデルとして 1 時間荷重群、I 度褥瘡モデルとして 6 時間荷重群を設定し、圧力荷重前と荷重直後から経時的に 48 時間後まで皮膚の肉眼所見の観察を行い、1 時間後と 48 時間後の時点においては、皮膚組織のサンプリングを行い、HE 染色に供した。



圧迫装置とマウス皮膚圧迫の様子

(2) 動物実験によるマーカー候補の提案

確立した各種モデルマウスを用いて、マーカータンパク質が組織内に発現しているか、また、どの細胞で発現しているかを確認した。

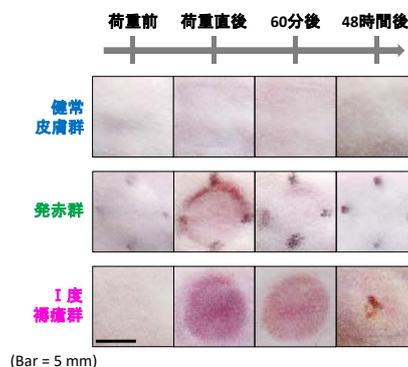
マーカータンパク質は先行研究や研究代表者らの研究知見をもとに、PAI-1 を阻血性障害マーカー、IL-1 α を再灌流障害マーカー、VEGF-C をリンパ系機能障害マーカー、HSP90 α を機械的変形のマーカーとして選定した。

まず初めに、四つの病態が生じているのかを HE 染色並びに免疫組織化学によって検証した。その後、各病態に応じたマーカータンパク質が発現し、それを皮膚から抽出できるかどうかを、スキンプロットティング法を用いて検討した。スキンプロットティング法では、皮膚表面に湿らせたプロットティングメンブレンを貼付すると、分泌タンパク質がメンブレンに吸着され、メンブレンを免疫染色することで定量することが可能である。細胞から分泌された各マーカータンパク質が経皮的に検出できるかどうかの確認と、健常皮膚群、発赤群、I 度褥瘡群での検出量の有意差を検討することで、各群を分別できる可能性を示すことを目的に行った。メンブレンは ImageJ で平均輝度を測定し、解析に使用した。各時点の平均輝度を圧迫直前の輝度で割った値である 相対平均輝度を算出し、Tukey の多重比較検定を行った。

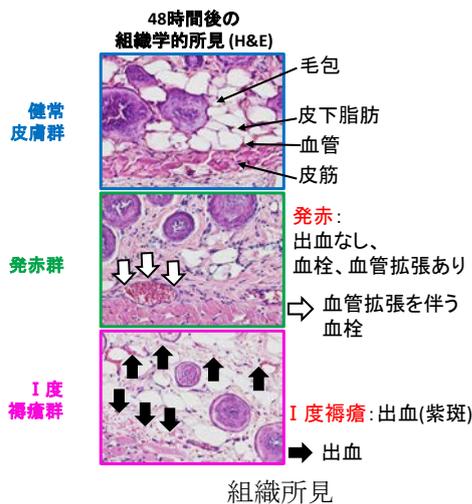
4. 研究成果

(1) 発赤・紫斑動物モデルの作成

肉眼初見として、1 時間荷重群では圧解放直後に強い発赤が認められたが、発赤は 60 分程度で消失しその後変化はなかった。6 時間荷重群では解放直後に強い発赤が認められ、少なくとも 120 分後までは残存し、48 時間後には I 度褥瘡様の紫斑が認められた。1 時間荷重群は消退する発赤の、6 時間荷重群は I 度褥瘡の、臨床所見に類似した所見であることが確認できた。48 時間後の組織学的所見では、発赤群では出血している所見はなかったが、白の矢印で示す血管拡張を伴う血栓が観察された。一方、I 度褥瘡群では、黒い矢印で示す、出血所見が確認された。このように、健常皮膚、発赤、I 度褥瘡の定義に合致したモデルを作成できた。

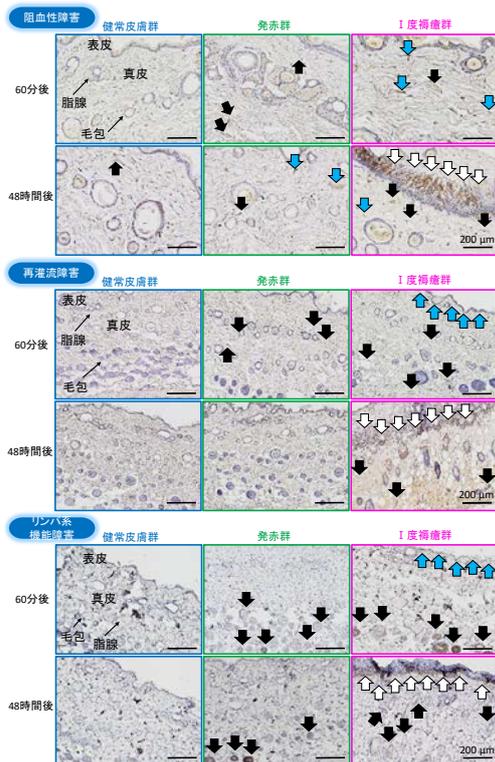


肉眼所見



(2) 動物実験によるマーカー候補の提案

阻血性障害に関連のあるマーカーとして選定した PAI-1 は、黒矢印で示す、血管内皮細胞、青印で示す線維芽細胞、白矢印で示す壊死組織に主に発現が認められ、特に I 度褥瘡群で顕著な染色性が得られた。再灌流障害マーカーとした IL-1a は、黒矢印で示す血管内皮細胞、青矢印で示す表皮、白矢印で示す炎症性細胞での発現が認められた。こちらも、I 度褥瘡群における発現が特に顕著であった。リンパ系機能障害マーカーとした VEGF-C は、黒矢印で示す毛包、青矢印で示す表皮、白矢印で示す炎症性細胞での発現が主に観察され、こちらも I 度褥瘡群で顕著な染色性が得られた。機械的変形のマーカーとした HSP90a は、先行研究で繊維芽細胞での発現分泌が報告されていたが、本実験の免疫染色ではどの時点においても発現は確認できなかった。



経皮的に検出可能なマーカータンパク質としての有用性を検証するため、スキンプロテイングによる定量結果を群間で比較した。その結果、IL-1 α は、90 分後、120 分後、24 時間後の時点で I 度褥瘡群と健全皮膚群において、120 分後と 24 時間後で I 度褥瘡群と発赤群においてそれぞれ有意差が認められた。また、VEGF-C は、30 分後の時点において、I 度褥瘡群は健全皮膚群、発赤群と比較して有意に高い値が検出された。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 2 件)

①木村 奈緒, 仲上 豪二郎, 峰松 健夫, 真田 弘美. 褥瘡発生予測のための分子マーカーに基づいた局所組織反応の検出による直接的皮膚アセスメント方法の開発. 第 46 回日本創傷治癒学会プログラム・抄録集. 2016:128. (第 46 回日本創傷治癒学会, 東京大学, 12 月 9 日)

②木村 奈緒, 仲上 豪二郎, 峰松 健夫, 真田 弘美. 褥瘡発生メカニズムに着目した褥瘡発生過程マウスモデルの開発. 第 46 回日本創傷治癒学会プログラム・抄録集. 2016:191. (第 46 回日本創傷治癒学会, 東京大学, 12 月 9 日)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 褥瘡発生予測マーカー及びその使用
発明者: 真田弘美、仲上豪二郎、峰松健夫
権利者: 同上
種類: 特許
番号: PC-22933
出願年月日: 2017 年 1 月 14 日
国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等

<http://www.rounenkango.m.u-tokyo.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

仲上 豪二郎 (NAKAGAMI, Gojiro)

東京大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号: 70547827