

200821041A

厚生労働科学研究費補助金

長寿科学総合研究事業

創傷皮膚科学の樹立による褥瘡の病態解明と
診療体系に関する研究

(H19-長寿-一般-012)

平成20年度 総括研究報告書

研究代表者 磯貝 善蔵

平成21(2009)年3月

目 次

I. 総括研究報告書

創傷皮膚科学の樹立による褥瘡の病態解明と診療体系に関する研究 (磯貝 善藏) 1
--	---------

II. 分担研究報告

記載潰瘍学の確立とその有用性 (石川 治) 7
-----------------------	---------

創傷皮膚科学を基盤にし、基剤特性を重視した褥瘡外用治療の開発 (古田 勝経) 11
--	----------

褥瘡における水分量調節分子群の解析とその意義 (米田雅彦) 17
-------------------------------	----------

褥瘡創表面蛋白解析とその意義 (渡邊 研) 23
-----------------------	----------

病理学的検討による褥瘡の病態解析 (森 将晏) 31
-------------------------	----------

褥瘡創面に応じた外用薬物療法の製剤学的基盤 (藤井 聡) 33
------------------------------	----------

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 37
---------------------	----------

IV. 研究成果の刊行物・別刷 38
-----------------	----------

創傷皮膚科学の樹立による褥瘡の病態解明と診療体系に関する研究

主任研究者 磯貝 善藏 国立長寿医療センター・先端薬物療法科・医長

研究要旨

褥瘡は急性期を経過した後も多様な臨床的病態をとる。しかしこれらの病態は既存の学問体系では解析が難しく、予防や治療の選択が困難であった。本研究では潰瘍面を皮膚科学方法で解析する記載潰瘍学と創面の蛋白解析を組み合わせた創傷皮膚科学(wound dermatology)という新しい学問分野を樹立し、褥瘡病態の多様性を解析する基盤を確立することを目的にした。石川、古田らにより創所見の多様性を記述する記載潰瘍学という診療体系が樹立され、本年度はこれを改善するとともに臨床的な有用性を示してきた。創表面の蛋白解析では渡辺、米田らによって創面からの検体を用いて複数の創傷治癒関連分子の検出をおこなった。本年度では外用治療で重要視される肉芽組織の水分量を司る分子群と肉芽形成に重要なTGF- β の活性を制御する分子群に注目し、創傷マーカーとしての有用性や病態解明となる知見を得た。藤井は古田らが提唱してきた創傷の薬理学的研究を製剤学的なアプローチからおこなった。さらに森の分担した病理学的研究においては褥瘡の臨床所見と表面蛋白解析の関連性を結びつける免疫組織化学的な知見を得るとともに、細胞分裂に注目して研究した。これらの研究を統合することで創傷皮膚科学に基づく褥瘡の病態解析に必要な基盤が整えられ、褥瘡の多様な病態解明に基づいた診療体系の確立に向けて着実に進展した。これらの本研究の概要を褥瘡に関わる医療従事者が参加する第10回日本褥瘡学会(神戸市)のワークショップで発表した。

分担研究者

石川 治(群馬大学大学院医学研究科・皮膚病態学・教授、群馬大学医学部付属病院・病院長)
古田 勝経(国立長寿医療センター・薬剤部・副薬剤部長)
米田 雅彦(愛知県立看護大学・栄養代謝学・教授)
渡辺 研(国立長寿医療センター・運動器疾患研究部骨再生研究室・室長)
森 将晏(岡山県立大学・保健福祉学部・教授)
藤井 聡(名古屋市立大学大学院薬学研究科・病態解析学分野・教授)

A. 研究目的

褥瘡は外力による虚血性皮膚潰瘍と定義されている。しかし褥瘡の悪化要因や治癒阻害要因は非常に多様で複雑である。それらの要因を明らかにし、患者さん各々に応じた対策や治療が行われるべきであ

る。しかしながら現在まで褥瘡病態の多様性を解析する診療体系の医学的基盤が未整備であった。褥瘡医療の効率化のためには褥瘡の病態を明らかにし、その多様性に着目した分類がされるべきで、褥瘡の多様性を医学的客観的に記述する学問体系が必要である。

本研究では褥瘡、皮膚潰瘍の詳細な臨床的所見を皮膚科学に基づいて新たに定義する記載潰瘍学とともに、表面から分泌される細胞外マトリックス分子やその分解酵素、血漿蛋白質断片を解析し、相互の関連性を検討することによって、褥瘡の病態の多様性を客観的に解明することを目的にした創傷皮膚科学(wound dermatology)という新しい学問分野を樹立する。それに基づいて多様性のある褥瘡を病態に基づいて分類をすることが可能であり、必要な褥瘡予防対策の評価や、外用剤などの治療の適切な選択が個々の患者さんについて可能になることが期待できる。添付資料に3年度にわたる研究計画を示し、分

担研究者のおよその担当を示した。昨年度の研究でおよその枠組みが確立してきたので、本年度の研究では計画に示したように(1) 記載潰瘍学の確立とその有用性 (2) 創傷皮膚科学を基盤にし、基剤特性を重視した褥瘡外用治療の開発 (3) 褥瘡創表面蛋白解析とその意義 (4) 褥瘡における水分量調節分子群の解析とその意義 (5) 病理学的検討による褥瘡の病態解析 (6) 創面に応じた外用薬物療法の製剤学的基盤という枠組みに各分担研究者を中心に研究班を構成した。さらに各プロジェクトに主任研究者が関与し、有機的に関連するようにした。

B. 研究方法

記載潰瘍学の樹立とその有用性では分担研究者の石川を中心にして過去の国立長寿医療センター、群馬大学病院の褥瘡臨床のデータベースを褥瘡診療経験の豊富な皮膚科専門医が検討し、記載皮膚科学に基づいた記載潰瘍学の作成をおこなった。これらの枠組みをもちいて様々な褥瘡を評価し、褥瘡部位に特徴的な所見を検討した。さらにこの枠組みは古田が提唱する外用薬剤の選択に有用であった。

創傷皮膚科学を基盤にし、基剤特性を重視した褥瘡外用治療の開発では分担研究者の古田を中心に国立長寿医療センターで実際に行われている軟膏基剤に注目した治療を創表面の記載潰瘍学的評価、水分量の測定、そして創面の蛋白解析と連動させておこない評価した。さらに物理的なドラッグデリバリーの方法を確立した。また創傷皮膚科学に基づいた外用剤の使用指針を提示した。

褥瘡における水分量調節分子群の解析とその意義では分担研究者の米田を中心に肉芽組織の水分をコントロールする分子群であるパーシカン、ヒアルロン酸とヒアルロン酸分解酵素に注目して、分子断片を免疫プロット法で創表面検出するとともに、ヒアルロン酸分解活性を生化学的に解析した。さらにヒアルロン酸活性を創の部位特異的に解析した

褥瘡創表面蛋白解析とその意義では分担研究者の渡辺を中心に褥瘡の診療体系確立に向けた創表面からの蛋白質の解析方法を検討した。特に上皮化に重要な役割をするファイブロネクチンと強力な成長因

子 TGF- β の制御分子である LTBP-1 断片を 70 以上の創表面から抽出し免疫プロット法で解析した。創傷表面蛋白質を分子篩でも分画し、急性創傷の創表面との差異を検討した。さらに複数のモノクローナル抗体を用いたドットプロットを用いて簡便に創を評価するシステムを構築した。

病理学的検討による褥瘡の病態解析では分担研究者の森を中心に褥瘡病理組織標本を用いて加齢と細胞増殖の制御因子について免疫組織学的解析をおこなった。

創面に応じた外用薬物療法の製剤学的基盤においては分担研究者の藤井らを中心に古田らの提唱する創面に対する薬物療法の基盤となる知見を得るために褥瘡に用いられる代表的なヨウ素製剤の薬剤学的実験をおこなった。

本年度は平成 20 年 6 月 22 日 (日曜日) と平成 20 年 11 月 9 日 (日曜日) に国立長寿医療センター第 1 会議室においてすべての班員 (代理も含む) による班会議を行い各プロジェクト研究の報告をおこない、相互の関連を討議した。

C. 研究結果

2 年度目の本研究では、褥瘡創面の多様性を解析し、病態に応じた医療と介護を提供するための学問的基盤を樹立し、応用し、さらに褥瘡に関わる医療者に向けて発表した。

石川らは褥瘡の創面を客観的、科学的に記述する体系を樹立し、さらにそれを用いて褥瘡の臨床的所見の系統的記述を可能にした。実際の症例においてこれらの有用性を示すことができた。

古田らは外用療法軟膏基剤を変更することでこれらの臨床的指標が変化するとともに、創表面蛋白分析においても他の分担研究者との研究で変化することが明らかになった。吸水性の基剤を用いることで浮腫性の肉芽組織が改善した。

米田らは古田の提唱する肉芽組織水分量に注目した薬物療法の標的になる水に注目し、ヒアルロン酸とその結合分子に注目した。浮腫性で肉芽組織の増生が旺盛な創ではヒアルロン酸結合分子の機能喪失とことがわかった。

渡辺らはファイブロネクチンとLTBP-1の多数創面からの解析にて創所見に関連した結果を見出し、統計的にも有意差を見出した。さらに褥瘡表面の蛋白質分子篩でも分画し、急性創傷とは異なったパターンであることを見出した。また簡便な創評価のためのドットプロット法を確立した。

森らは加齢関連蛋白(p16)について検討し、褥瘡組織の線維化層ではこれらの発現が増加していることを見出した。

藤井らは現在臨床で使用されている外用ヨウ素製剤の反応特性を明らかにした。実際の創面由来の褥瘡滲出液も用いて検討した結果、殺菌作用の点から創面でも持続して効果を発揮できるカデックス軟膏が有利であると考えられた。一方細胞傷害性の点からは創面に対して強く反応しすぎないユーバスタの方が有利であると考えられた。

主任研究者の磯貝は一部の研究を共同で行うとともに、研究班全体の調整をおこなった。班員間で必然的に相互に共同研究が発展したため、分担研究が有機的な関連を持ち、全体の研究が前進した。

D. 考察

本研究事業において現在まで解明されていなかった疾患としての褥瘡を多角的、多面的に解析することができた。臨床所見、創表面の生化学、創傷の病理学、創面への薬理学などは本来相互に関連するものである。また臨床の場でもチーム医療とは本来疾患に対する相互理解と多角的なアプローチであるはずである。その面においても背景の異なる研究者がこのように病態の複雑な疾患について複数のアプローチを行ったことは大きな意義がある。

本年度は記載皮膚科学に基づいた記載潰瘍学を樹立したものを修正し、日本褥瘡学会のワークショップで発表し、日本褥瘡学会誌に投稿し受理されている。創面蛋白解析も進展し、一部を論文として発表した。本研究の認知度の高まりは本来疾患の基本であるよく診て対応するという医療の基本を再認識させている。医療者に褥瘡は多様であるという概念を伝えることが可能であり、反響も多く頂いた。

E. 結論

本年度の厚生労働科学研究においては現在まで科学的に多様性の解析が不十分であった褥瘡の病態を皮膚科的なアプローチである記載潰瘍学と生化学的なアプローチである創表面蛋白解析を用いて解析し、有機的にリンクさせることができた。このことは我々が提唱してきた創傷皮膚科学の樹立に値するものである。病理学的、薬剤学的な研究とも関連性をもって疾患としての褥瘡研究を進展させた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Ohno-Jinno A, Isogai Z, Yoneda M, Kasai K, Miyaishi O, Inoue Y, Kataoka T, Zhao JS, Li H, Takeyama M, Keene DR, Sakai LY, Kimata K, Iwaki M, Zako M. Versican and Fibrillin-1 Form a Major Hyaluronan-Binding Complex in the Ciliary Body. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49:2870-7.
- Mizuno K, Wachi H, Isogai Z, Yoneda M, Fujii S, Watanabe K, Seyama Y. Availability of Latent TGF- β binding protein-1 (LTBP-1) in Wound Healing. *J Health Sci*. 2009;in press.
- 磯貝善蔵: 高齢者医療の中での褥瘡: 皮膚病診. 2008;30 Supple. 108
- 磯貝善蔵: 褥瘡 高齢者を診療する医師のための研修カリキュラム. 2008;93-6, 財団法人長寿科学振興財団.
- 磯貝善蔵: 褥瘡 実地医家のための高齢者診療ガイド. 2008;72-4, 同人社.
- 磯貝善蔵: 褥瘡対策チームの薬剤師-医師の観点から 月刊薬事. 2009;51:187-90.

2. 学会発表

- 水野晃治, 米田雅彦, 輪千浩史, 瀬山義幸, 磯貝善蔵, 創傷治療過程におけるTGF- β 活性の細胞外マトリックスによる制御機構. 第40回日本結合組織学会・第55回マトリックス研究会合

同学術集会. 2008. 5. 29-31, 東京

- Isogai Z., Murasawa Y, Mizuno K, Watanabe K, Yoneda Y. Wound dermatology: Analyzing ECM fragments in pressure ulcer wound. 4th National Meeting of American Society for Matrix Biology. 2008. 12. 7-11, San Diego, CA, U. S. A.
- 村澤裕介, 折居千賀, 米田雅彦, 渡辺 研, 篠村多摩之, 木全弘治, 磯貝善蔵. 褥瘡創面におけるパーシカンの状態とその意味: マイクロファイブリンとヒアルロン酸をめぐる水のマトリックス. 第40回日本結合組織学会・第55回マトリックス研究会合同学術集会 2008. 5. 29-31, 東京
- 磯貝善蔵. 褥瘡患者退院後の地域医療, 看護, 介護との連携. 第4回加齢皮膚医学研究会 2008. 7. 19-20, 京都
- 水野晃治, 米田雅彦, 輪千浩史, 瀬山義幸, 藤井 聡, 磯貝善蔵. 創傷治癒を例とした TGF- β 活性の細胞外マトリックスによる制御機構. 第8回 Cardiovascular Medicine 21. 2008. 8. 2, 東京
- 磯貝善蔵. 褥瘡の多様な病態の多面的解析: 必要性とアプローチ (ワークショップ褥瘡病態の多面的解析). 第10回日本褥瘡学会. 2008. 8. 29-30, 神戸
- 藤井 聡, 磯貝善蔵. 創傷モデル動物と褥瘡の病態との関連性 (ワークショップ褥瘡病態の多面的解析). 第10回日本褥瘡学会. 2008. 8. 29-30, 神戸
- 森 将晏, 押本由美, 小山恵美子, 磯貝善蔵. 褥瘡潰瘍における各種細胞外マトリックス蛋白の局在について. 第10回日本褥瘡学会. 2008. 8. 29-30, 神戸
- 松本尚子, 磯貝善蔵, 古田勝経, 大島弓子, 米田雅彦. 褥瘡創面部位におけるヒアルロン酸の存在様式の違いについて. 第10回日本褥瘡学会 2008. 8. 29-30, 神戸
- 磯貝善蔵, 古田勝経, 村澤裕介, 永井弥生, 石川 治, 松本尚子, 米田雅彦. いわゆる創傷皮

膚科学の樹立による褥瘡の病態解析. 第59回日本皮膚科学会中部支部学術大会.

2008. 10. 11-12, 名古屋

- 磯貝善蔵, 古田勝経, 根本哲也. 皮膚, 軟部組織の物性を考慮した高齢者褥瘡診療体系. 第5回日本褥瘡学会中部地方会. 2009. 3. 15, 津
- 根本哲也, 伊藤安海, 小井手一晴, 磯貝善蔵, 古田勝経, 松浦弘幸. ひずみゲージを用いたポケット周辺部のひずみ分布解析. 第5回日本褥瘡学会中部地方会. 2009. 3. 15, 津

II. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究協力者

水野 晃治 (星薬科大学)

村澤 裕介 (国立長寿医療センター)

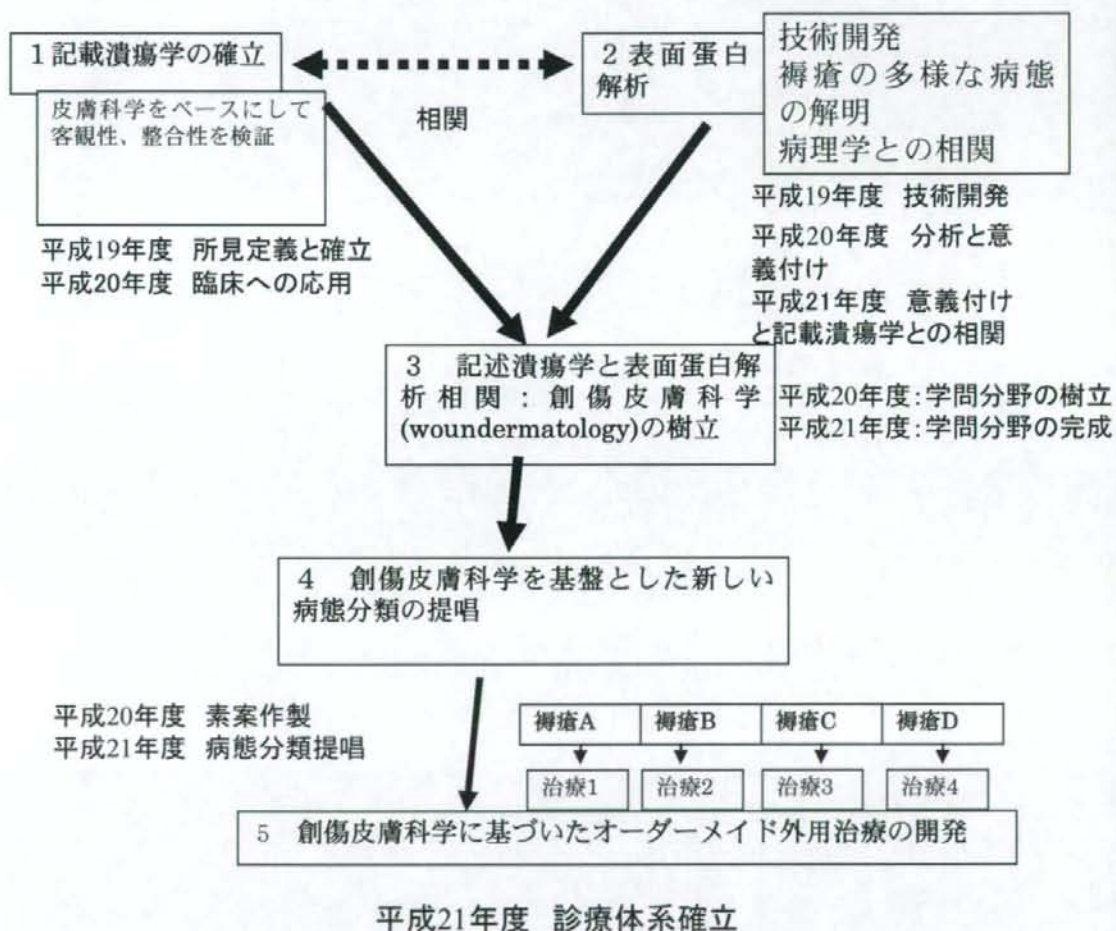
折居 千賀 (国立長寿医療センター)

桑原 宏子 (大阪医科大学)

松本 尚子 (中部大学)

輪千 浩史 (星薬科大学)

本研究全体のロードマップ



疾患としての医学的基盤の確立

記載潰瘍学の確立とその有用性

分担研究者 石川 治 群馬大学大学院医学研究科・皮膚病態学・教授、群馬大学医学部付属病院・病院長

研究要旨

昨年度、皮膚潰瘍を詳細に評価する学問体系として記載潰瘍学を提唱したが、さらに症例を重ね検討し、修正を加えて完成に至った。記載潰瘍学は、個々の潰瘍を皮膚科専門医の視点から、皮疹の現症をとると同様に詳細に記載する学問体系である。具体的には、残存組織、肉芽の色調・形態・性状、創縁の状態、周囲の皮膚所見について順に体系化するとともに、各々の所見が意味するところにつき解説を加えた。さらには、部位による違いを明らかにした。記載潰瘍学は、皮膚潰瘍治療に共通の言語と解釈を提供するものであり、これを理解することにより理論的に導かれた治療へと到達することが可能となる。

A. 研究目的

肉芽の色調、形態、性状は個々の症例によって多様であるが、このような多様性を詳細に記載する学問体系がこれまで確立されていなかった。経験に基づいて判断してきた肉芽の所見を詳細に観察し、統一された用語で「記載」する、そしてその所見が「何を意味する」かを理解する、こういった学問体系を確立することは皮膚科医の責務である。そこで、昨年より記載皮膚科学に基づいた記載潰瘍学という臨床的学問体系の作成を開始し、褥瘡に対する応用を試みた。

B. 研究方法

昨年度より、国立長寿医療センター、群馬大学の褥瘡臨床写真を褥瘡診療に経験の豊富な皮膚科専門医が検討し、有用な所見を作成するとともに、創面がその所見を用いて創面の記述が可能であるかを検討した。昨年作成した枠組みをもとに、さらに用語および内容、解説に検討を加えて修正し、完成させた。

C. 研究結果

褥瘡の局所所見を最終的に以下のように整理した。さらに、個々の所見にその意味するところを加え、記述した。項目は「残存組織」「肉芽の色調・形態・

性状」「創縁の状態」、「周囲の皮膚所見」とし、創の形態と物理的要因については別に検討することとした。

1. 残存組織

壊死組織が固着した褥瘡では深さの判断ができないので、厚い壊死組織が除去された状態において残存する組織が何かを評価した。すなわち、壊死した脂肪織、筋膜、腱、骨等の記載となる。浅い褥瘡においては、残存するのは壊死していない真皮ということになる。

2. 肉芽の観察

記載潰瘍学で最も詳細な記述を必要とするのは「肉芽」の所見である。肉芽については「色調」「形態」「性状」について観察し、表現する必要があると考えた。各項目の所見を逐一記載することにより、一つの肉芽の記載が完成する。

(1) 色調

色調はその所見をそのまま表現する。紅色調、黄色調、黄白色調、紫紅色調、黒色調等である。紅色調であれば良好な肉芽の可能性はあるが、これだけで決定できるものではない。黄白色、黄色調は壊死組織の残存、膿苔の固着などの可能性がある。紫紅色調や黒色調であれば圧迫による壊死、すなわち褥瘡の中の褥瘡発生と推測しうる。一つの肉芽が複数の色調を呈する場合には、肉芽内の部位とともに色

調をそれぞれ記載する。

(2) 形態

肉芽の形態は、「細顆粒状」、「粗大顆粒状」、「平坦」、「茸状ないし舌状」と分類する。通常、良好肉芽は細顆粒状だが時に平坦なこともある。

粗大顆粒状を呈するときは、性状のところで述べる「浮腫性」を呈していることが多い。すなわち水分過剰な肉芽である。これは滲出液過剰、水分の多い外用剤の使用により生じうる。

平坦肉芽の多くは肉芽の乾燥、線維化によるが、圧迫が除去しきれていない場合にも起こる。時に良好肉芽でもみられることがある。

舌状ないし茸状肉芽は周囲の肉芽組織と密着せず、孤立ないし突出した肉芽である。長期間一方からの圧迫が加わり続けると有茎性で扁平な舌状肉芽となる。また、粗大顆粒状の肉芽が周囲の肉芽と密着せず独立して大きくなると茸状肉芽を呈する。

(3) 性状

肉芽の性状は「浮腫性」、「硬化性」、「乾燥性」に分類し、さらに光沢、肉芽内紫斑、表面の偽膜の有無について記載する。粗大顆粒状を呈する肉芽は通常浮腫性であるが、扁平な肉芽であっても浮腫を呈することがある。浮腫性であるということは水分の多い肉芽であることを意味する。水分含有量の多い外用剤の使用や、細菌増殖による滲出液増加の際に生じる。

硬化性肉芽は通常扁平な形態を呈し、容易には出血せず触診により硬く触れる。すなわち、線維化した肉芽、あるいは水分の不足した肉芽と言える。吸水作用の強い外用剤の使用時などにみられる。また、光沢のある肉芽は良好な肉芽、水分過剰な肉芽ともみられる。

肉芽内紫斑はいわゆる「褥瘡の中の褥瘡」であり、肉芽に局所的圧迫が加わっていることを意味する。黒色調に近くなれば、肉芽が壊死しつつある所見である。

偽膜とは肉芽表面に黄色白色調の薄い被膜が付着した状態である。これは滲出液が過剰で付着したものの、あるいは細菌増殖の徴候、バイオフィーム形成による場合などがあり、鋭匙で除去可能である。

3. 創縁の状態

創縁の記載は潰瘍底との段差がないならかなもの、段差があるもの、段差および創縁の巻き込みがあるものに分類して記載する。なだらかでないものは創縁へ圧迫が加わりやすく、上皮化を妨げる要因となる。

4. 周囲の皮膚所見

皮膚周囲の所見は瘻痕、硬化、色素沈着、浸軟、発赤、腫脹、熱感等の有無について記載する。瘻痕は周囲から上皮化が進んでいる所見である。硬化は周囲皮下の硬結を意味し、潰瘍周囲の深部において炎症が改善した後の所見である。色素沈着は慢性的な外力や反復した炎症所見を示す。創縁の浸軟は段差や巻き込みのある創縁に認められ、持続する圧迫や細菌増殖による滲出液の増加による。発赤、腫脹、熱感は壊死組織が残り、感染を起こしている褥瘡にみられる。これらが生じた際には深部感染を考える。肉芽形成後にみられることは稀である。

5. 良好肉芽を定義する

形態や性状からみた良好肉芽とは、紅色細顆粒状ないし細かい疣状、時に光沢や細かい出血を伴うが、浮腫・硬化・乾燥・偽膜の付着などは伴わない。そして、粗大顆粒状、平坦、舌状・茸状などの所見を呈さないものをいう。

6. 発生部位との関係

部位による形態・性状の違い、外力やずれの関係についても、褥瘡の所見と関連づけて考えるべきである。例えば、腸骨部、特に腸骨稜上部では通常、褥瘡が骨の上縁に位置し、ここで上下に動くためにポケット形成や壊死が起こりやすい。大転子部は通常、緊張が強いうえに、筋肉の動きによるずれが生じて治癒しにくい。坐骨部についても同様である。なお、ずれの力がかかりやすい部位では平坦な肉芽となりやすい。それぞれの所見についてこの順で診療することによって褥瘡診療に必要な所見を理論的に記載することが可能となった。

D. 考察

「不良肉芽」という言葉は、良好肉芽と対比して記載していく必要があり、これを体系化したものが

「記載潰瘍学」の本質である。創の詳細な観察は適切な局所治療を選択して褥瘡の早期治癒を目指すためには不可欠である。例えば、乾燥した水分の足りない肉芽であれば水分含有量の多い外用薬に変更すべきである。逆に、過度の湿潤環境により浮腫状となった肉芽であれば、吸水作用のある外用薬やドレッシング材を選択しなければならない。隆起、浸軟した創縁は圧迫の除去とともに、細菌増殖のコントロール、滲出液の制御が必要となる。この際、吸水作用の高いドレッシング材は有用であり、さらに吸水・抗菌作用の両者を有する製剤（材）も選択しうる。

E. 結論

潰瘍を注意深く観察し、詳細に記述することにより、初めてその所見の意味するところを理解できるようになる。また、部位による違いも客観的な記述をもって表現することが可能となる。褥瘡医療に携わるすべての人がこのような見方を習得すれば、理論的に導かれた治療へと到達できるようになるであろう。記載潰瘍学は皮膚潰瘍治療に共通の言語と解釈を提供するものと考えらる。

以上の内容は第10回日本褥瘡学会のワークショップにて発表した。また、来年度の日本褥瘡学会誌に掲載予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Abe M, Yokoyama Y, Syuto T, Ishibuchi H, Ishikawa O. Interleukin-6 counteracts effects of cyclosporin A on extracellular matrix metabolism by human dermal fibroblasts. *Cell Tissue Res*. 2008;333:281-8.
- Hattori T, Obinata H, Ogawa A, Kishi M, Tatei K, Ishikawa O, Izumi T. G2A plays

proinflammatory roles in human keratinocytes under oxidative stress as a receptor for 9-hydroxyoctadecadienoic acid. *J Invest Dermatol*. 2008;128:1123-32.

- Shibusawa Y, Negishi I, Tabata Y, Ishikawa O. Mouse model of dermal fibrosis induced by one-time injection of bleomycin-poly (L-lactic acid) microspheres. *Rheumatology*. 2008;47:454-7.
 - 永井弥生, 石川 治. 褥瘡がみえる—褥瘡アセスメントに苦慮しているあなたのために. 2008. 4. 南江堂（東京）.
 - 石川 治. 急性期褥瘡と慢性期褥瘡（経過による分類）は？ 現場の疑問に答える褥瘡診療 Q&A. 2008;132-3, 中外医学社（東京）.
 - 石川 治. 褥瘡（日本老年医学会編）老年医学テキスト. 2008;116-21. メディカルレビュー社（東京）.
- #### 2. 学会発表
- 石川 治. 褥瘡の声に耳を傾けよう（特別講演）. 第5回日本褥瘡学会関東甲信越地方会学術集会. 2008. 6. 7. 宇都宮
 - 石川 治. 加齢と皮膚 基礎と臨床:真皮の老化線維芽細胞（教育講演）. 平成20年度日本皮膚科医学会教育講習会. 2008. 4. 20. 京都
 - 石川 治. 加齢と皮膚:真皮 生理的加齢変化と光老化の比較（教育講演）. 第107回日本皮膚科学会総会・学術大会. 2008. 4. 18-20. 京都

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究協力者

永井 弥生（群馬大学）

創傷皮膚科学を基盤にし、基剤特性を重視した褥瘡外用治療の開発

分担研究者 古田 勝経 国立長寿医療センター・薬剤部・副薬剤部長

研究要旨

褥瘡の外用薬物療法の選択においては主たる薬効成分だけでなく、軟膏基剤の選択が非常に重要である。しかし基剤の選択の根拠とする褥瘡の創面評価の方法が確立されておらず、経験に頼る部分が多かった。さらに基剤選択の褥瘡治療への重要性についての生物学的な知見も不足していた。本分担研究では基剤に注目した薬物療法の評価として従来の水分量に基づいた方法に加えて本研究班で開発された記載潰瘍学と創面蛋白解析との関連を検討するとともに、創面の所見に基づいた薬物療法の指針を作成した。さらに褥瘡外用療法によって創面蛋白解析パターンの変化をモニターする解析系を作成した。また外力を受ける創面への外用薬剤の安定した投与法を考案し、効果を確認した。基剤に注目した薬物療法によって記載潰瘍学を用いた所見が変化することが判明すると同時に、創面の水分量を記載潰瘍学で評価することで、基剤特性を生かした適切な外用療法の選択が可能であることを示した。

A. 研究目的

褥瘡の薬物療法は病態を適切に評価したうえで行われるべきである。皮膚面に対する外用剤の選択では、主たる薬効成分とその成分の浸透性に係わる基剤の両面で選択されているが、潰瘍面における外用剤の選択指標としては主たる薬効成分のみが考慮されてきた。そのことは前述したような病態の改善との関連性が乏しく、主薬の薬理作用だけではなく、軟膏基剤の特性が大きく関与している。また、軟膏剤の開発における軟膏基剤の選定は、主薬の安定性や放出に基づいて行われているが、その薬効を必要とされる創の状態を想定した選定はされていない。褥瘡の外用療法における軟膏剤の特性を活かすため軟膏剤を適正に使用し、十分な効果が得られるように病態解析と対比した薬物療法の選択指標が必要となる。これらのことから軟膏基剤自体の特性は単なる効果ではなく、薬理作用とすることが適切と考える。しかしながら基剤の選択の根拠とする褥瘡の創面評価の方法が確立されておらず、経験に頼る部分が多かった。

そこで我々が現在まで提唱してきた、基剤に注目

した薬物療法の評価系として本研究班で開発された記載潰瘍学と創面蛋白解析との関連を検討することを目的とした。さらに外力を受けやすい褥瘡に関して組織の成熟化をはかることも目的とした。

B. 研究方法

本研究に先立って国立長寿医療センター倫理委員会にて承認を得た。詳細は昨年度の実験報告書を参考にされたい。

国立長寿医療センター入院中の褥瘡患者を主任研究者とともに毎週回診を行い種々の外用剤による薬物療法と記載潰瘍学的所見、創表面蛋白解析との関連を記録し、解析した。薬物療法は基剤特性を活かしておこない、後発医薬品は原則的に使用せずに治療した。褥瘡入院患者の経過を週に1度写真撮影し、記載潰瘍学的評価を行った。さらに水分測定装置（モイスターチェッカー）を用いて水分量のモニタリングと所見との相関を調べた。また同意の得られた患者さんに関して薬物療法による創表面蛋白解析の変化を経時的に解析した。

C. 研究結果

吸水性の基剤をもつ外用剤であるユーバスタ軟膏では浮腫性肉芽の所見が軽減し、平坦でより乾燥した創に変化した。さらに添付書類に示したようによりデブリサンを加えたより吸水性の強い外用剤を用いたときは高度浮腫性の肉芽所見が改善した。さらに創の物理学的な安定性も高まり、創の変形を緩和していった。すなわち新たに定義した創の物性的所見では浮腫性肉芽を抑制した場合、創の変形も制御できる例が認められ、創の病理学的変化を誘導することが示唆された。一方水分含有率の高い基剤をもつ外用剤（ゲーベンクリーム、オルセノン軟膏など）では逆に粗大顆粒状の肉芽をもつ創がしばしば観察された。また吸水性の外用剤を用いることで、ヒアルロン酸結合分子であるパーシカン(米田の項参照)の発現パターンが変化した。

D. 考察

記載潰瘍学と創面蛋白解析からなる創傷皮膚科学を用いることで、基剤選択に関する情報が得られるとともに、その効果も判定できることが示唆された。さらに創の水分測定も病態解析に有用であることが示された。適切な外用薬物療法にて創の物理的性質もコントロール可能な症例を集積した。

適当な水分を多く含む肉芽組織は我々のデータからでは蛋白分解酵素の活性化を伴う創のリモデリング過程である。この状態を常に創傷皮膚科学で評価しながら薬物療法を行うことは一方、ゆえに創の状態を創傷皮膚科学で評価することは、褥瘡治療において軟膏剤の基剤特性に基づいた薬物療法をすすめるうえで重要である。

E. 結論

基剤に注目した薬物療法により記載潰瘍学的な所見と同様に表面の蛋白解析パターンも変化した。創傷皮膚科学に基づいた基剤特性をいかした外用療法の選択を提唱した。さらに高齢者への薬物療法によって創全体の物理的な特定もコントロールできることを示した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- ・ 古田勝経. 褥瘡対策チームの薬剤師－褥瘡回診の実際. 月刊薬事. 2009;51:187-90.
- ・ 永田 実, 古田勝経. 褥瘡局所治療ガイドラインを読み解く. 月刊薬事. 2009;51:191-7.
- ・ 古田勝経. 日本褥瘡学会認定師制度. 月刊薬事. 2009;51:223-6.
- ・ 立花隆夫, 松井優子, 須釜淳子, 中山健夫, 古田勝経 他. 学術委員会報告－DESIGN 改訂について. 褥瘡会誌. 2008;10:586-96.
- ・ 古田勝経. 褥瘡対策の実際. (森口隆彦 他 編) 褥瘡ポケットマニュアル. 2008;158. 医歯薬出版社(東京).
- ・ 古田勝経. 抗潰瘍治療薬－どの外用剤がどの程度水を吸うの? (宮地良樹 他 編) 皮膚病治療薬 Q&A. 2008;123-4. 中外医学社(東京).
- ・ 古田勝経. 褥瘡の外用療法は? どんな外用剤があるの? (宮地良樹 他 編) 褥瘡診療 Q&A. 2008;168-77. 中外医学社(東京).
- ・ 森口隆彦, 真田弘美, 古田勝経 他. 在宅褥瘡予防・治療ガイドブック. (日本褥瘡学会編) 2008. 照林社.
- ・ 古田勝経. 褥瘡 (池田宇一 他 編) 病気と薬パーフェクトガイド 2008. 2008;1203-6. : 南山堂(東京).

2. 学会発表

- ・ 古田勝経. 薬剤師が変える褥瘡治療 (シンポジウム). 第 118 回日本薬理学会関東支部会. 2008. 6. 7-8. 東京.
- ・ 古田勝経. 褥瘡治療薬・外用薬の選び方・使い方 (教育講演). 第 10 回日本褥瘡学会. 2008. 8. 29-30. 神戸.
- ・ 古田勝経. 病態解析に基づく薬物療法 (ワークショップ). 第 10 回日本褥瘡学会. 2008. 8. 29-30. 神戸.

- ・ 立花隆夫、古田勝経他. 褥瘡予防・管理ガイドラインについて（コンセンサスシンポジウム）. 第10回日本褥瘡学会, 2008. 8. 29-30, 神戸.
- ・ 松本尚子、磯貝善蔵、古田勝経、大島弓子、米田雅彦. 褥瘡創面部位におけるヒアルロン酸の存在様式の違いについて. 第10回日本褥瘡学会, 2008. 8. 29-30, 神戸.
- ・ 磯貝善蔵、古田勝経、村澤裕介、永井弥生、石川 治、松本尚子、米田雅彦. いわゆる創傷皮膚科学の樹立による褥瘡の病態解析. 第59回日本皮膚科学会中部支部学術大会, 2008. 10. 11-12, 名古屋.
- ・ 古田勝経. 緩和医療の周辺領域における褥瘡対策－褥瘡医療における薬剤師の役割－（シンポジウム）. 第2回日本緩和医療薬学会, 2008. 10. 18-19, 横浜.
- ・ 磯貝善蔵、古田勝経、根本哲也. 皮膚、軟部組織の物性を考慮した高齢者褥瘡診療体系. 第5回日本褥瘡学会中部地方会, 2009. 3. 15, 津.
- ・ 根本哲也、伊藤安海、小井手一晴、磯貝善蔵、古田勝経、松浦弘幸. ひずみゲージを用いたポケット周辺部のひずみ分布解析. 第5回日本褥瘡学会中部地方会, 2009. 3. 15, 津.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究協力者

野田 康弘（名古屋市立大学・薬学部）

分担研究報告

創傷皮膚科学を基盤にし、基剤特性を重視した褥瘡外用治療の開発
 (担当：古田勝経)

記載潰瘍学を用いた薬剤治療選択アルゴリズム

創面水分量 肉芽の性状 肉芽の形態 基剤特性 外用剤名

多い	浮腫状肉芽	粗大顆粒状	水溶性基剤	ユーパスタ+デブリサン カデックス軟膏 ユーパスタ デブリサンペースト アクトシン軟膏 マクロゴール軟膏
	偽膜 光沢	舌状 茸状	油分の多い 乳剤性基剤 油脂性基剤	プロスタンディン軟膏 リフラップ軟膏 ソロクセルル軟膏 吸水軟膏 白色ワセリン プラスチベース
少ない	肉芽の乾燥	平坦	水分の多い 乳剤性基剤	オルセノン軟膏 親水軟膏

褥瘡における水分量調節分子群の解析とその意義

分担研究者 米田 雅彦 愛知県立看護大学・栄養代謝学・教授

研究要旨

創傷治癒は様々な要素が複雑に制御される合目的な生体の修復である。記載潰瘍学で示された褥瘡肉芽組織の臨床的な多様性は、組織を形成する構造蛋白質である細胞外マトリックス分子とそれらを制御する分解酵素や成長因子に依存する。創の水分は病態の多様性を司る重要な因子であるとともに、当研究班で実践している基剤を重視した外用治療の標的になる。組織の主要な水分調節因子であるヒアルロン酸に富む細胞外マトリックスはダイナミックな組織改変を伴う創傷治癒過程での機能が重要視されている。本分担研究では褥瘡表面蛋白解析では細胞外マトリックス分子と成長因子に注目し、生化学的、酵素学的、免疫組織学的に解析を試みた。特に肉芽組織の水分をコントロールする分子群であるヒアルロン酸とヒアルロン酸分解酵素、そして結合分子であるパーシカン、SHAP (Serum Hyaluronan Associate Protein) とに注目した。創表面からパーシカン、SHAP の分子断片とヒアルロン酸分解酵素活性を検出し、その機能を解析した。また肉芽組織におけるこれらの分子局在も検討した。記載潰瘍学の所見との相関では創面による差異を認めた。浮腫性の肉芽組織では水分量が多いにも関わらず、ヒアルロン酸分解酵素活性の上昇やヒアルロン酸結合分子の活性低下がみられ、肉芽組織にリンクされていない水分の存在が示唆された。このような創面は臨床的に吸水性外用剤の適応となる事実と合致した。

A. 研究目的

褥瘡の創傷治癒過程は急性創傷と異なり、複雑な過程をとることが多い。それ故、褥瘡治療の標準化を難しくする大きな要因になっている。褥瘡の創評価は疾患の多様な病態診断と治療の選択に重要なものである。

褥瘡の多様性を司るものは、褥瘡肉芽組織の多様性であるともいえる。肉芽組織の生物学的多様性は褥瘡肉芽組織を形成する構造蛋白に依存する静的な性質と、増殖、修復などに関連する動的な性質がある。細胞外マトリックスは通常重合体を形成し、組織の形態や物理的性質の基礎となる構造蛋白質分子であるとともに、成長因子の制御や細胞に対する直接的な関与をする。つまりマトリックス分子は肉芽組織の物理的性質と生物学的のいずれにも重要な働きをする。そこで創表面から検出可能な細胞外マトリックス分子とその分解酵素に注目し、なかでも経験的に行われてきた褥瘡創面の水分に焦点をあて、

その制御因子としてのヒアルロン酸に富む細胞外マトリックスが重要であると考えた。そこでヒアルロン酸とヒアルロン酸分解酵素、そしてパーシカンなどの結合蛋白質に関して多角的に解析するとともに、褥瘡病態との関連を検討することを目的にした。

B. 研究方法

本研究に先立って国立長寿医療センター倫理委員会と愛知県立看護大学研究倫理審査委員会で承認を得た。詳細は平成19年度分担研究報告「創面からの蛋白採取法、解析技術の開発」を参照とされたい。

本分担研究では肉芽組織の水分をコントロールする分子群であるヒアルロン酸、ヒアルロン酸分解酵素、ヒアルロン酸結合蛋白質であるパーシカンとSHAP (Serum Hyaluronan Associated Protein) を多角的に分析し、相互の関連を検討した。分担研究者の森との共同研究でヒアルロン酸に結合するピオチン結合リンク蛋白質を用いた免疫組織化学による局在

を検討した。創表面蛋白質を用いてヒアルロン酸の同定、定量をおこなった。創面でのヒアルロン酸分解酵素の存在と活性を調べるためにゲルに架橋化したヒアルロン酸を用い、創面蛋白質のヒアルロン酸分解活性をザイモグラフィーによって検出し、定量化した。またヒアルロン酸標品を創表面蛋白インキュベートし、ゲルろ過にて解析するアッセイを開発し褥瘡においてヒアルロン酸が分解活性を部位特異的に検出した。ヒアルロン酸結合分子であるパーシカンと SHAP に関しては免疫プロット法にてその断片を検出、解析した。さらにビオチン化ヒアルロン酸を用いてその結合能を調べた。パーシカン断片の解析には組替え蛋白を用いた抗体作成とエピトープの解析、生物学的機能の解析も並行しておこなった。さらに臨床像との関連を検討し、石川らの提唱する記載潰瘍学的な所見との関連を検討し、薬物療法との関連も検討した。

C. 研究結果

免疫組織化学は肉芽組織におけるヒアルロン酸の局在は肉芽組織の特定の層に認められ、すべての層には存在しなかった。パーシカン抗体(G3ドメイン)による染色では正常では弾性線維と共局したが、肉芽組織ではびまん性に分布した。

創表面のヒアルロン酸分解酵素の検出と解析では図に示すように標品との反応およびヒアルロン酸ザイモグラフィを用いたアッセイにおいてヒアルロン酸分解酵素が病期と部位に特異的に検出されることが示された。特に浮腫性の肉芽組織から優位に検出できた。ヒアルロン酸標品を用いた研究では、創面からのヒアルロン酸分解活性を鋭敏にかつ定量的に検出することができ、ザイモグラフィの結果と一致した。

真皮におけるヒアルロン酸結合分子であるパーシカンは多くの創面で断片化されていないパーシカンの単量体は検出できなかった。浮腫性で肉芽組織形成が旺盛な創面からは、パーシカン抗体陽性であるが、ヒアルロン酸結合能のないパーシカン断片が検出された。

D. 考察

褥瘡創面の水分調節を司るヒアルロン酸関連分子群を系統的、網羅的に解析した。浮腫の強い肉芽組織ではヒアルロン酸分解活性が認められたとともに、ヒアルロン酸結合蛋白質であるパーシカンのヒアルロン酸結合能が失われており、細胞外マトリックスにリンクしていない水分が優位であることが示された。

一般に生体の水分は細胞内と細胞外に分類されるが、細胞内の水分は通常制御され、細胞外の水分の存在が組織水分として重要である。細胞外の水分は組織に取り込まれていない水分である浮腫とヒアルロン酸などの複合糖質に結合し、組織に取り込まれた水分に分けられる。肉芽組織では創の水分は炎症反応に惹起される血管の透過性に左右されるとともに、細胞外の水分をダイナミックに調節するヒアルロン酸の代謝が重要視されている。これらの代謝情報が組織の水に注目した薬物療法の補助になることが期待される。

昨年度の本研究事業において主任研究者の磯貝、分担研究者の古田は肉芽組織の臨床所見と水分量が創の病態の判断に重要であることを示している。さらに古田はその肉芽組織の水分を軟膏基剤によって適切に調節することによって適切な外用治療の基盤を提唱してきた。しかしながら、生体側、つまり肉芽組織における水分量の調節因子は不明であり、肉芽組織のいわゆる水分がどのような形で存在するかさえも明らかでなかった。本分担研究で得られた浮腫性肉芽におけるヒアルロン酸分解酵素活性の上昇とヒアルロン酸結合分子であるパーシカンのそのヒアルロン酸結合活性の低下は、そのような病態においてのマトリックスに結合していない水分の増加と考えられた。いいかえると結合蛋白質を解して組織にリンクされたヒアルロン酸とそうでない水分を使い分けることによって、創傷治癒というダイナミックな生物学的反応を制御していると予想される。さらに免疫組織学的にもヒアルロン酸の分布は肉芽組織の限られた層であり、創傷治癒には制御されたヒアルロン酸活性が必要なが示唆される。これらの基礎的データは浮腫性の肉芽組織において標準的

に使用されている吸水性の基剤の外用剤が水分量をダイナミックに制御している臨床の事実と合致すると考えられる。さらにこれらの分子情報は適切な外用療法へのひとつの判断材料になることが考えられた。

E. 結論

褥瘡でみられる浮腫性の肉芽組織では、ヒアルロン酸分解酵素の活性亢進とヒアルロン酸結合分子であるパーシカンのヒアルロン酸結合能の減少を認めた。組織にリンクされていない水分が主であるため、吸水性の基剤を用いた外用薬物療法の標的になると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Yoko I, Masahiko Y, Osamu M, Masayoshi I, Masahiro Z. Hyaluronan dynamism during retinal development and aging. Brain Res. 2009;1256:55-60.

2. 学会発表

- 米田雅彦、松本尚子、創表面の細胞外マトリックスと血漿蛋白質分析からみた病態。第10回日本褥瘡学会学術大会 ワークショップ「褥瘡病態の多面的解析」。2008. 8. 29-30, 神戸。
- 松本尚子、磯貝善蔵、古田勝経、大島弓子、米田雅彦。褥瘡創面部位によるヒアルロン酸の存在様式の違いについて。第10回日本褥瘡学会学術集会。2008. 8. 29-30, 神戸。
- 松本尚子、大島弓子、米田雅彦。褥瘡創面の滲出液中に含まれる細胞接着分子とその分解酵素の分析。第28回日本看護科学学会学術集会。2008. 12. 13-14, 福岡。
- 石光美美子、鎌倉やよい、米田雅彦、深田順子、篠田雅幸。術後譫妄症状発現に関する尿中 PGD2 排泄パターンと夜間睡眠覚醒状況による検討。第28回日本看護科学学会学術集会。

2008. 12. 13-14, 福岡。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

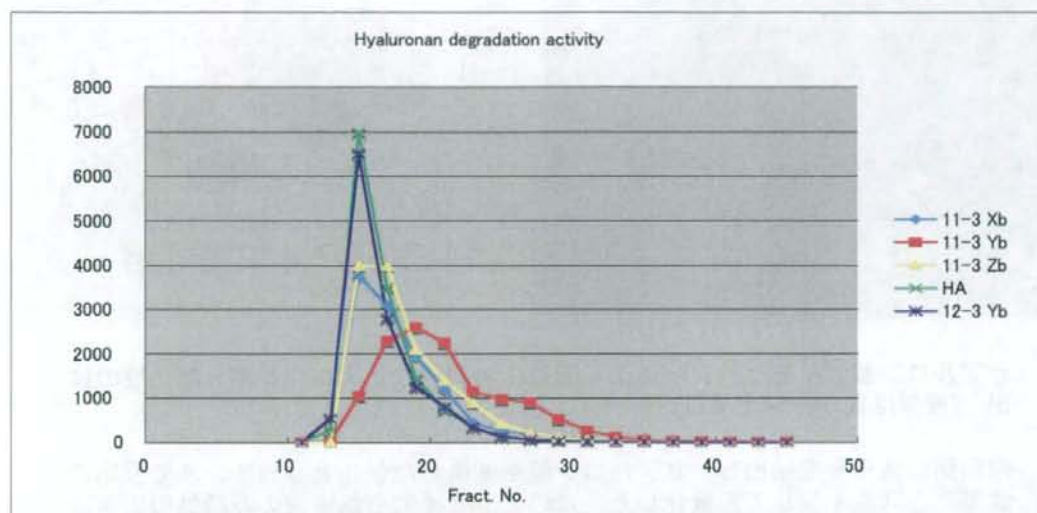
研究協力者

水野 晃治 (星薬科大学)

松本 尚子 (中部大学)

分担研究報告

褥瘡における水分量調節分子群の解析とその意義 (担当：米田雅彦)



11-3

12-3

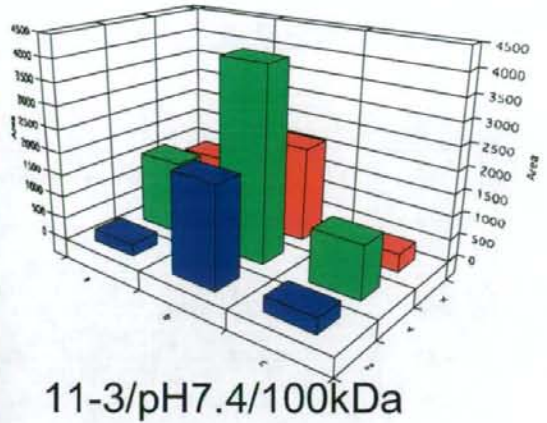
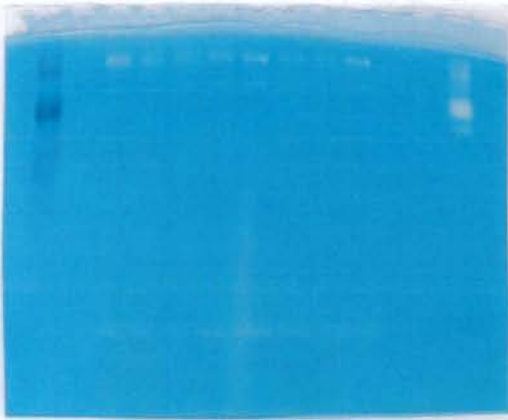
	Xb	
	Yb	
	Zb	



創表面からの部位に特異的なヒアルロン酸分解活性の検出

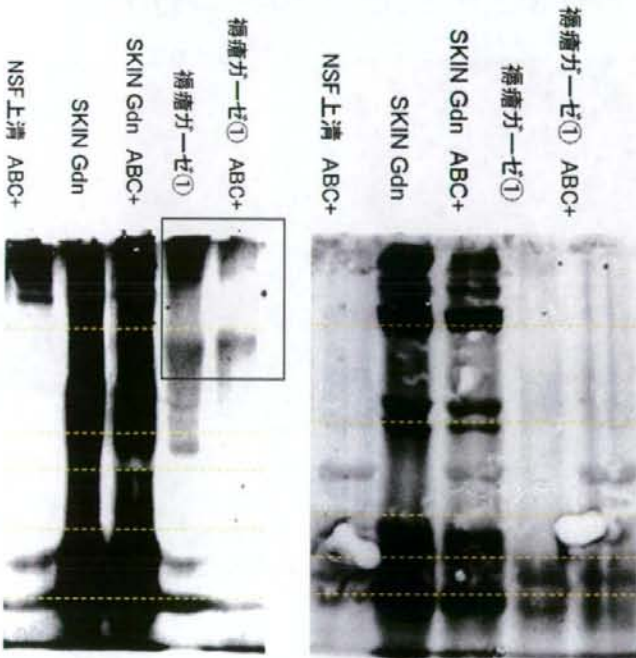
褥瘡創表面の蛋白質を抽出し、ヒアルロン酸標品とインキュベートしたのと、ゲルろ過カラムにて分離した(上図)。創中央の浮腫性の肉芽組織にヒアルロン酸分解活性が顕著に認められている。

X Y Z
a b c a b c a b c HAase



ヒアルロン酸ゼイモグラフィによる部位に特異的なヒアルロン酸分解活性の検出 (検体は前ページと同じ)

創表面の蛋白質を抽出し、ヒアルロン酸を架橋したゲルと pH 7.4 で反応させた。スキャンして定量化した。このアッセイでも創中央の浮腫性の肉芽組織にヒアルロン酸分解活性が強く認められている。



浮腫性創面におけるヒアルロン酸結合活性のないパーシカンの検出

左四角で囲った部分は抗体で陽性であるが、ビオチン化したヒアルロン酸に結合しない。

6084(パーシカン)

Biotin HA

褥瘡創表面蛋白解析とその意義

分担研究者 渡辺 研 国立長寿医療センター・運動器疾患研究部骨再生研究室・室長

研究要旨

褥瘡の多様性に基づく診療体系確立に向けて、創表面蛋白質を解析した。昨年度の本研究の結果をもとに検体を採取し変性溶媒を用いて蛋白質を抽出した。褥瘡の臨床所見と創傷治癒に密接に関連する細胞外マトリックス分子に注目してクロマトグラフィ、特異抗体を用いた免疫プロット、ザイモグラフィを用いた酵素活性の検出、結合分子とのオーバーレイアッセイなどの複数の手法を用いて多角的に解析した。創傷治癒に不可欠な接着分子で上皮化に重要な機能をするファイブロネクチンと強力な成長因子TGF- β の制御分子であるLTBP-1を70以上の創表面免疫プロット法で解析し、創の状態に応じた結果を得た。さらに創傷マーカーの実用化に向けてデコリン、パーシカンなどに対する抗体を用いたドットプロットの系を確立し、頻度は少ないが重要と思われる所見との相関を得た。これらの研究によって褥瘡の多様な病態に関する客観的な情報が得られるとともに石川らの臨床的な記載との関連を検討し、創面バイオマーカーの開発に向けて進展した。

A. 研究目的

褥瘡の創の評価は多様な病態診断と治療の選択に重要である。本研究班における臨床的な学問体系である記載潰瘍学で示されたように、褥瘡は多様な臨床像を呈することが漠然と認識されていた。しかし、病態の多様性を客観的に示す生化学的解析方法が存在しなかった。そこで本研究では褥瘡創面の多様性を明らかにするために、創傷治癒に重要な働きをする細胞外マトリックス分子を創表面から解析することを目的とした。またその断片の生物学的な意義付けも解明も必要である。多数のサンプルを解析し、記載潰瘍学で示された臨床所見との相関の検討も目とした。

B. 研究方法

本研究に先立って国立長寿医療センター倫理委員会で承認を得た。更に研究参加する患者さんには書面で同意を得た。蛋白採取は主に主任研究者である磯貝がおこなった。

創面からの蛋白採取はガーゼによる方法と滅菌綿棒による方法を用いた。創面蛋白を含むサンプルを塩酸グアニジンなどの変性溶媒で抽出し、クロマト

グラフィによる分離、電気泳動、免疫プロット法での解析に使用し、全体的な蛋白溶出プロファイルと特定の分子に注目し定性的、半定量的に検出した。さらに創傷内での部位による違いも検討した。

創傷治癒との密接な関連が報告されている接着性糖蛋白質であるファイブロネクチンとTGF- β の活性制御分子であるLatent TGF- β binding protein-1 (LTBP-1)、真皮の主要なプロテオグリカンであるパーシカンとデコリンについて免疫プロット法を用いて検出した。細胞外に蓄えられたLTBP-1からTGF- β を活性化し、組織から遊離させる酵素であるプラスミンについてもザイモグラフィを用いて検討した。さらに多数の検体を効率的に解析するために簡便なドットプロットングをおこなった。複数の創面から綿棒にて蛋白質を採取、抽出し蛋白量を揃えたのち、ニトロセルロース膜にプロットし、抗体で検出した。記載潰瘍学で得られた所見との対比をもとに解析した。

C. 研究結果

創表面から、創傷治癒に関連する細胞外マトリックス分子を検出し、その意義を検討し、さらに統計