

Fig. 1 Morphological changes of fibroblasts on collagen-coated coverslips (a-f) and in collagen matrix (g-l); FITC-conjugated phalloidin staining. For monolayer culture experiments, harvested cells were seeded at a density of 4×10^5 cells on collagen-coated coverslips and then incubated in DMEM containing 5 mg/ml BSA (D/B) with various concentrations of CyA and 10 ng/ml IL-6. a D/B alone; b D/B with 100 ng/ml CyA; c D/B with 0.1 ng/ml CyA; d D/B with 10 ng/ml IL-6; e D/B with 100 ng/ml CyA and 10 ng/ml IL-6; f D/B with 0.1 ng/ml CyA and 10 ng/ml IL-6. For three-dimensional experiments, polymerized matrices

were cultured for 4 h in D/B and various concentrations of CyA and 10 ng/ml IL-6. g D/B alone; h D/B with 100 ng/ml CyA; i D/B with 0.1 ng/ml CyA; j D/B with 10 ng/ml IL-6; k D/B with 100 ng/ml CyA and 10 ng/ml IL-6; l D/B with 0.1 ng/ml CyA and 10 ng/ml IL-6. In two-dimensional experiments, no significant differences were observed in cell spreading if the culture medium contained 100 and 0.1 ng/ml CyA or 10 ng/ml IL-6. However, CyA altered fibroblast morphology in a collagen matrix regardless of the presence or absence of 10 ng/ml IL-6. Bars 50 μ m

24-h stimulation (Fig. 4a). In the absence of 10 ng/ml IL-6, the level of mRNA expression of pro α 1(I) collagen decreased with CyA at 1000 ng/ml; however, in the presence of 10 ng/ml IL-6, expression decreased with CyA at 100 ng/ml but not at 1000 ng/ml after a 24-h stimulation (Fig. 4b).

Effect of CyA on MMP-1 production and mRNA expression

In the absence of 10 ng/ml IL-6, the production of MMP-1 at 24 h was suppressed in a dose-dependent manner. In contrast, the production of MMP-1 at 24 h was significantly suppressed only with CyA at 1000 ng/ml in the presence of IL-6 (Fig. 5a).

No significant change was found in the level of mRNA expression of MMP-1 in the presence or absence of 10 ng/ml IL-6 (Fig. 5b).

Effect of CyA on MMP-2 production and mRNA expression

Regardless of the presence or absence of 10 ng/ml IL-6, the production of MMP-2 decreased with CyA at 1000 and 100 ng/ml at 24 h (Fig. 6a). No significant change was present in the level of mRNA expression of MMP-2 irrespective of the presence or absence of 10 ng/ml IL-6 (Fig. 6b).

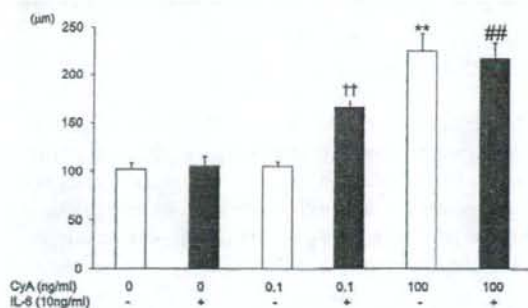


Fig. 2 Quantitative analysis of the major axis of fibroblasts in the presence or absence of 100 and 0.1 ng/ml CyA or 10 ng/ml IL-6. Bars represent means \pm SEM. ** P <0.01, significantly different from CyA 0 and 0.1 ng/ml CyA without 10 ng/ml IL-6. †† P <0.01, significantly different from 0 and 0.1 ng/ml CyA with 10 ng/ml IL-6. ††† P <0.01, significantly different from 0.1 ng/ml CyA without 10 ng/ml IL-6.

Effect of CyA on MMP-9 production and mRNA expression

Regardless of the presence or absence of 10 ng/ml IL-6, neither the production nor the mRNA expression of MMP-9 was changed at any concentration of CyA (data not shown).

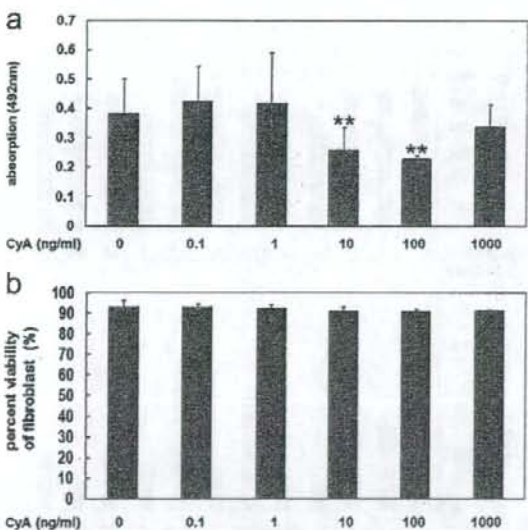


Fig. 3 Effect of CyA on fibroblast proliferation (a) and viability (b) at 24 h. Fibroblast proliferation was assessed by an MTS assay kit. Fibroblast viability was assessed by light microscopy and dye exclusion, by using trypan blue; cell numbers were evaluated by direct counting, performed with a hemocytometer. In each experiment, absorbance at 490 nm viability were calculated from triplicate wells. Bars represent means \pm SEM. ** P <0.01, significantly different from CyA at 0 ng/ml

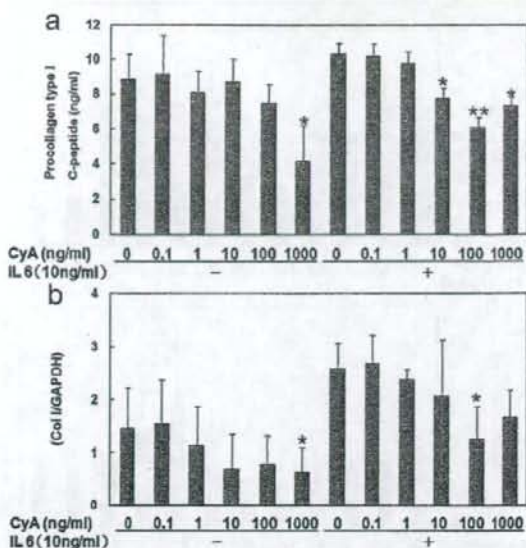


Fig. 4 Effect of CyA on type I collagen production (a) and mRNA expression (b) in the presence (+) or absence (-) of 10 ng/ml IL-6. Type I collagen production was assessed by measuring the procollagen type I C-peptide concentration. The relative intensity of type I collagen mRNA was normalized to the intensity of D-glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) mRNA. Bars represent means \pm SEM. * P <0.05, ** P <0.01, significantly different from CyA at 0 ng/ml at the same concentration of IL-6

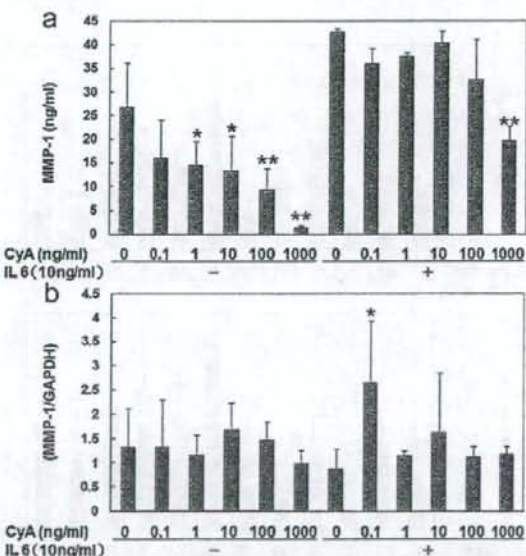


Fig. 5 Effect of CyA on MMP-1 production (a) and mRNA expression (b) in the presence (+) or absence (-) of 10 ng/ml IL-6. MMP-1 production was assessed by measuring the MMP-1 concentration. The relative intensity of MMP-1 mRNA was normalized to the intensity of GAPDH mRNA. Bars represent means \pm SEM. * P <0.05, ** P <0.01, significantly different from CyA at 0 ng/ml at the same concentration of IL-6

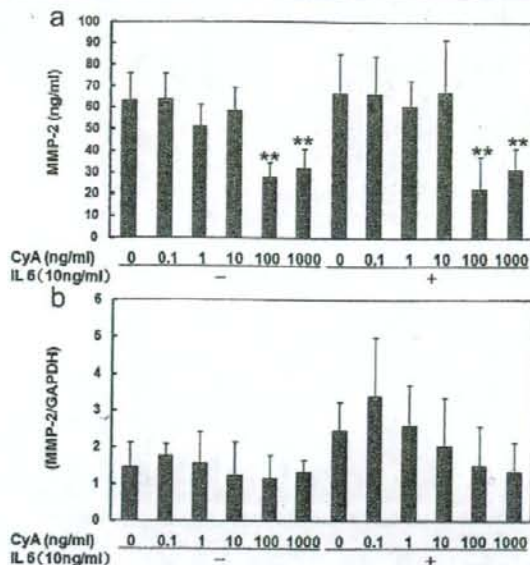


Fig. 6 Effect of CyA on MMP-2 production (a) and mRNA expression (b) in the presence (+) or absence (-) of 10 ng/ml IL-6. MMP-2 production was assessed by measuring the MMP-2 concentration. The relative intensity of MMP-2 mRNA was normalized to the intensity of GAPDH mRNA. Bars represent means \pm SEM. ** P <0.01, significantly different from CyA at 0 ng/ml at the same concentration of IL-6

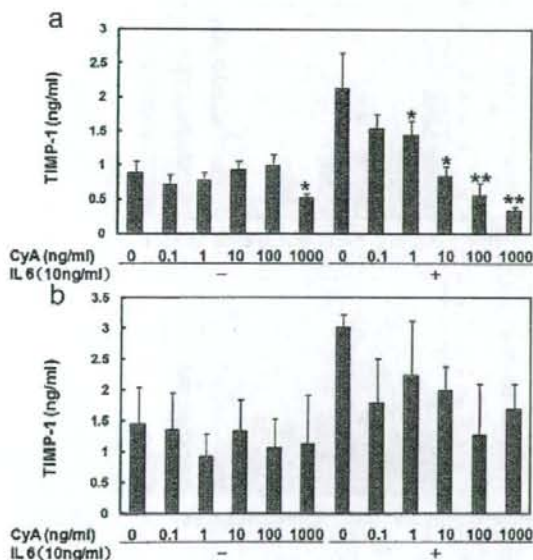


Fig. 7 Effect of CyA on TIMP-1 production (a) and mRNA expression (b) in the presence or absence of 10 ng/ml IL-6. TIMP-1 production was assessed by measuring the TIMP-1 concentration. The relative intensity of TIMP-1 mRNA was normalized to the intensity of GAPDH mRNA. Bars represent means \pm SEM. * P <0.05, ** P <0.01, significantly different from CyA at 0 ng/ml at the same concentration of IL-6

Effect of CyA on TIMP-1 production and mRNA expression

Whereas in the absence of 10 ng/ml IL-6, the production of TIMP-1 was suppressed only with CyA at 1000ng/ml, in the presence of 10 ng/ml IL-6, the production was decreased in a dose-dependent manner with increasing CyA concentrations (Fig. 7a). However, no significant change was seen in the mRNA expression of TIMP-1 (Fig. 7b).

Effect of CyA on TGF- β production and mRNA expression

As noted above, our results on the production of MMP-1, MMP-2, and TIMP-1 did not correspond with the mRNA expression. These results suggested that the effects of CyA on dermal fibroblast might be indirect. TGF- β is a well-known growth factor that strongly regulates ECM metabolism by fibroblasts. We hypothesized that TGF- β might be involved in the effects of CyA on ECM metabolism. Experiments were therefore carried out to determine the production and mRNA expression of TGF- β after CyA stimulation. Regardless of the presence or absence of 10 ng/ml IL-6, both the production and level of mRNA expression of TGF- β decreased with CyA at 100 ng/ml (Fig. 8).

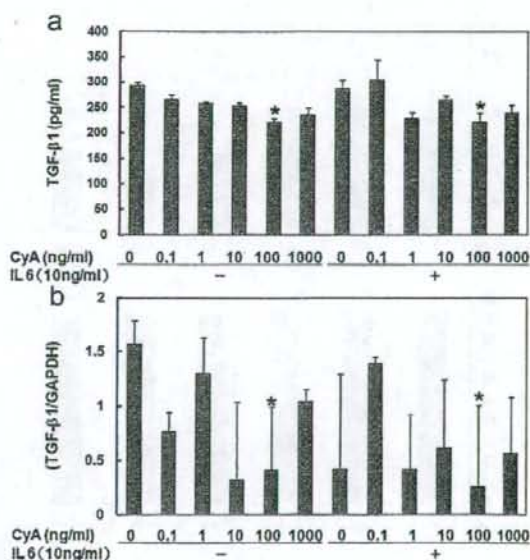


Fig. 8 Effect of CyA on TGF- β production (a) and mRNA expression (b) in the presence or absence of 10 ng/ml IL-6. TGF- β production was assessed by measuring the TGF- β 1 concentration. The relative intensity of TGF- β 1 mRNA was normalized to the intensity of GAPDH mRNA. Bars represent means \pm SEM. * P <0.05, significantly different from CyA 0 ng/ml at the same concentration of IL-6

The clinical usefulness of CyA has been widely recognized for the systemic treatment of psoriasis vulgaris, despite its potential toxicity (Abe et al. 1997; Ho et al. 2001). CyA influences the early phase of immune responses by blocking the synthesis and release of IL-2 from T cells and, to a lesser extent, of IL-1 from monocytes (Haydon and Hayes 1994). Pharmacodynamically, CyA is considered to inhibit the actions of IL-2, which is thought to trigger psoriatic lesions (Borel et al. 1976; Mueller and Herrmann 1971; Finzi et al. 1989; Ho et al. 1990; Borel 1990; Abe et al. 1997). However, CyA has also been reported to inhibit the DNA synthesis of keratinocytes and their subsequent proliferation (Fu et al. 1999; Fornoni et al. 2001). Therefore, CyA might bring about an improvement not only by immune suppression, but also by suppressive effects on keratinocyte proliferation. The finding that CyA monotherapy without topical treatment can improve skin lesions suggests that CyA may be also involved in ECM remodeling via a direct effect on the cutaneous fibroblasts in the psoriatic lesions.

Although the pathogenesis of psoriasis vulgaris is not fully understood, a Th1 cascade may play a pivotal role (Abe et al. 1997). IL-6 and IL-8, which are synthesized by keratinocytes, may affect ECM metabolism by fibroblasts (Nickoloff 1991). We have found few reports concerning the effect of IL-8 on ECM synthesis and degradation, but several accounts of the effects of IL-6 on the progression of psoriatic dermatopathy (Bodo et al. 1994; Solis-Herruzo et al. 1999). We have therefore focused on IL-6 as the key cytokine in experiments carried out *in vitro* in order to investigate the effects of CyA on dermal fibroblasts.

Our experiments have clearly demonstrated that CyA affected the morphology of fibroblasts in a collagen matrix but not on collagen-coated coverslips. In three-dimensional environments, 100 ng/ml CyA induces bipolar extension of fibroblasts. This change in morphology is dose-dependent (a representative result at 0.1 ng/ml CyA is shown in Fig. 1g-l). Since 100 ng/ml CyA can be considered as a clinically relevant concentration, similar to the identical trough serum level of CyA in psoriasis patients undergoing treatment, CyA may exert specific effects on fibroblasts in the dermis. Furthermore, 1000 ng/ml CyA cannot be considered an impractical concentration, because pharmacokinetic studies of CyA have previously shown that the blood concentration of CyA reaches almost 1000 ng/ml at 1 or 2 h after CyA administration and then return to the initial value before treatment (the trough serum level; Erkkö et al. 1997; Umezawa and Ozawa 2007).

Fibroblast proliferation was suppressed by CyA. CyA also suppressed MMP-1 production by fibroblasts, and these effects were partially restored by IL-6. In contrast, CyA suppressed both type I collagen and TIMP-1 production by fibroblasts, and these effects could be partially enhanced by

IL-6. CyA suppressed both MMP-2 and TGF- β production by fibroblasts, and these changes were not modulated by IL-6. CyA had no effect on the production of MMP-9. We presume that CyA accelerates collagen degradation in the lesional dermis because the production of type I collagen and TIMP-1 is significantly suppressed, and the production of MMP-1 does not decrease at around therapeutic concentrations of CyA when fibroblasts are pretreated with IL-6. Furthermore, TGF- β may not be involved in these effects. These results can be considered as reasonable behavior of CyA on the pharmacodynamics of patients with psoriasis vulgaris, because CyA can bring a significant clearance of psoriatic lesions without significant influence on unaffected skin, where IL-6 is absent.

IL-6 is well known as being involved in the pathogenesis of many immune-mediated diseases and plays an important role in the initiation and promotion of fibrosis (Sfrent-Comateanu et al. 2006). Our results indicate that IL-6 may counteract the collagenolytic effects of CyA on ECM metabolism of lesional dermis. Although CyA is a potent inhibitor of IL-6 production by CD4+T lymphocytes stimulated via the T cell antigen receptor pathway (Thomson 1992), we have aimed at investigating the direct effects of CyA on human dermal fibroblasts. The present study has clearly demonstrated that the collagenolytic effects of CyA can be modified by IL-6. The reason that CyA has no effect on the production of MMP-2, MMP-9, and TGF- β remains unclear. Taking these findings into consideration, CyA might bring about a lesional improvement not only by immune suppression, but also by suppressive effects on collagen accumulation in the presence of IL-6, which has an important role in the progression of psoriatic dermal changes.

We have found few reports on the effects of CyA on human dermal fibroblasts. Nickoloff et al. (1988) have reported that CyA suppresses fibroblast proliferation. Ono et al. (1991) have shown that CyA inhibits fibroblast proliferation, but not the production of collagenous protein by fibroblasts. Lohi et al. (1994) have demonstrated that CyA enhances MMP-1 mRNA expression by fibroblasts when they are stimulated with phorbol 12-myristate 13-acetate, IL-1 β , tumor necrosis factor α , or calcium ionophore A23187. Our data regarding the inhibitory effect of CyA on fibroblast proliferation is in agreement with previous reports, whereas the results of ECM synthesis by dermal fibroblasts are not. We consider that our findings are not in conflict with previous reports because CyA can bring about an improvement only on the psoriatic lesions but not affect uninvolved skin. Lago et al. (2007) have reported that CyA affects dermal dendrocytes and keratinocytes in psoriatic lesions, but that its main action is on T lymphocytes.

CyA alters ECM synthesis and degradation in MC3T3-E1 osteoblasts by decreasing type I collagen production and increasing MMP-9 activity (Fornoni et al. 2001), stimulates

the production of MMP-2 and vascular endothelial growth factor production in the rat heart (Bianchi et al. 2003), upregulates type I collagen and TGF- β mRNA expression and type I collagen production in gingival fibroblasts (Gagliano et al. 2005), and inhibits MMP-1, -2, and -3 production in gingival fibroblasts (Bolzani et al. 2000). Thus, the action of CyA seems variable depending on cell types.

In conclusion, CyA influences ECM metabolism and the proliferation of human dermal fibroblasts. Of note, the effects are partially restored by IL-6. This preliminary study raises the possibility that CyA may improve psoriatic skin by regulating ECM remodeling and by effects on inflammatory cells.

References

- Abe M, Ishikawa O, Miyachi Y (1997) Changes in peripheral blood lymphocyte subsets during cyclosporin administration in patients with psoriasis vulgaris. *Eur J Dermatol* 7:417-420
- Abe M, Kan C, Zaw KK, Ishikawa O (2001) Induction of matrix metalloproteinase-1 in vitro experimental wound model using a novel three-dimensional culture system. *Eur J Dermatol* 11:111-116
- Abe M, Ho CH, Kamm KE, Grinnell F (2003) Different molecular motors mediate platelet-derived growth factor and lysophosphatidic acid-stimulated floating collagen matrix contraction. *J Biol Chem* 278:47707-47712
- Bianchi R, Rodella L, Rezzani R (2003) Cyclosporin A up-regulates expression of matrix metalloproteinase 2 and vascular endothelial growth factor in rat heart. *Int Immunopharmacol* 3:427-433
- Bodo M, Becchetti E, Giammarioni M, Baroni T, Bellucci C, Pezzetti F, Calviti M, Carinci P (1994) Interleukin-1 and interleukin-6 differentially regulate the accumulation of newly synthesized extracellular matrix components and the cytokine release by developing chick embryo skin fibroblasts. *Int J Dev Biol* 38:535-542
- Boltchi FE, Rees TE, Iacopino AM (1999) Cyclosporine A-induced gingival overgrowth: a comprehensive review. *Quintessence Int* 30:775-783
- Bolzani G, Della Coletta R, Martelli Junlor H, Graner E (2000) Cyclosporin A inhibits production and activity of matrix metalloproteinases by gingival fibroblasts. *J Periodontol Res* 35:51-58
- Borel JF (1990) Mechanism of action and rationale for cyclosporin A in psoriasis. *Br J Dermatol* 122 (Suppl 36):5-12
- Borel JF, Feurer C, Gubler HU, Stahelin H (1976) Biological effects of cyclosporin A: a new antilymphocytic agent. *Agents Actions* 6:468-475
- Bostorm A, Bharath H, Saulewicz A, Narayanan AS (2005) Cyclosporin A affects signaling events differentially in human gingival fibroblasts. *J Dent Res* 84:532-536
- Bullon P, Gallardo I, Goteri G, Rubini C, Battino M, Ribas J, Newman HN (2007) Nifedipine and cyclosporin affect fibroblast calcium and gingival. *J Dent Res* 86:357-362
- Erkko P, Granlund H, Nuutinen M, Reitano S (1997) Comparison of cyclosporin A pharmacokinetics of a new microemulsion formulation and standard oral preparation in patients with psoriasis. *Br J Dermatol* 136:82-88
- Finzi AF, Mozzanica N, Cattaneo A, Chiappino G, Pigatto PD (1989) Effectiveness of cyclosporin treatment in severe psoriasis: a clinical and immunologic study. *J Am Acad Dermatol* 21:91-97
- Fornoni A, Cornacchia F, Howard GA, Roos BA, Striker GE, Striker LJ (2001) Cyclosporin A affects extracellular matrix synthesis and degradation by mouse MC3T3-E1 osteoblasts in vitro. *Nephrol Dial Transplant* 16:500-505
- Fu E, Hsieh YD, Shen EC, Nieh S, Mao TK, Chiang CY (1999) Effects of cyclosporin A on alveolar bone: an experimental study in the rat. *J Periodontol* 70:189-194
- Gagliano N, Moscheni C, Dellavia C, Stabellini G, Ferrario VF, Gioia M (2005) Immunosuppression and gingival overgrowth: gene and protein expression profiles of collagen turnover in FK506-treated human gingival fibroblasts. *J Clin Periodontol* 32:167-173
- Griffiths CEM, Powles AV, Leonard JN, Fry L, Baker BS, Valdimarsson H (1986) Clearance of psoriasis with low dose cyclosporin. *BMJ* 293:731-732
- Grinnell F (2003) Fibroblast biology in three-dimensional collagen matrices. *Trends Cell Biol* 13:264-269
- Haydon GH, Hayes PC (1994) New immunosuppressive treatment in transplantation medicine. *Baillieres Clin Gastroenterol* 8:455-464
- Ho VC, Griffiths CEM, Ellis CN, Gupta AK, McCuaig CC, Nickoloff BJ, Cooper KD, Hamilton TA, Voorhees JJ (1990) Intralesional cyclosporin in the treatment of psoriasis. A clinical, immunologic, and pharmacokinetic study. *J Am Acad Dermatol* 22:94-100
- Ho VC, Griffiths CE, Berth-Jones J, Papp KA, Vanaclocha F, Dauden E, Beard A, Puvanarajan L, Paul C (2001) Interim short courses of cyclosporine microemulsion for the long-term management of psoriasis: a 2-year cohort study. *J Am Acad Dermatol* 44:643-651
- Kato N, Halprin KM, Taylor JR (1987) Cyclosporin A does not inhibit epidermal cell growth at therapeutic levels. *J Invest Dermatol* 88:52-54
- Lago E, Carneiro S, Cuzzi T, Magalhaes G, Gassia F, Pessanha F, Ramos-Silva M (2007) Clinical and immunohistochemical assessment of the effect of cyclosporin in keratinocytes and dermal dendrocytes in psoriasis. *J Cutan Pathol* 34:15-21
- Lohi J, Kahari VM, Keski-Oja J (1994) Cyclosporin A enhances cytokine and phorbol ester-induced fibroblast collagenase expression. *J Invest Dermatol* 102:938-944
- Mueller W, Herrmann B (1971) Cyclosporin A for psoriasis. *N Engl J Med* 301:555
- Nickoloff BJ (1991) The cytokine network in psoriasis. *Arch Dermatol* 127:871-884
- Nickoloff BJ, Fisher GJ, Mitra RS, Voorhees JJ (1988) Direct cytopathic effects of cyclosporin A on rapidly proliferating cultured keratinocytes and dermal fibroblasts. *Transplant Proc* 20 (Suppl):85-90
- Ono M, Hatamochi A, Arakawa M, Ueki H (1991) Effects of cyclosporin A on cell proliferation and collagen production by human skin fibroblasts. *J Dermatol Sci* 2:273-280
- Picascia DD, Garden JM, Freinkel RK, Roenigk HH Jr (1987) Treatment of resistant severe psoriasis with systemic cyclosporin. *J Am Acad Dermatol* 17:408-414
- Priqano F, Domenici-Lombardo L, Gerlini G, Pimpinelli N, Romagnoli P (1996) Cyclosporin-A affects the organization of cytoskeleton of normal human keratinocytes in culture. *Histol Histopathol* 11: 889-894
- Sasaki T, Ikezawa Z, Nakajima H (1988) Treatment of severe psoriasis with low dose cyclosporin A and effect on the helper-suppressor T cell ratio in peripheral blood. *J Dermatol* 15:480-486
- Sfrent-Comateanu R, Mihai C, Balan S, Ionescu R, Moldoveanu E (2006) The IL-6 promoter polymorphism is associated with disease activity and disability in systemic sclerosis. *J Cell Mol Med* 10:955-959
- Solis-Hernandez JA, Rippe RA, Schrum LW, La Torre P de, Garcia J, Jeffrey JJ, Munoz-Yague T, Brenner DR (1999) Interleukin-6 increases rat metalloproteinase-13 gene expression through stimulation of activator protein 1 transcription factor in cultured fibroblasts. *J Biol Chem* 274:30919-30926
- Thomson AW (1992) The effects of cyclosporin A on non-T cell components of the immune system. *J Autoimmun* 5(Suppl):167-176
- Umezawa Y, Ozawa A (2007) Pharmacology and therapeutics optimal time for therapeutic drug monitoring of cyclosporine microemulsion in patients with psoriasis. *Int J Dermatol* 36:763-766



原著

褥瘡潰瘍におけるリンパ管分布の組織学的検討

森 將晏¹⁾・小山恵美子²⁾

Distribution of lymphatic vessels in pressure ulcer

Masaharu Mori, MD¹⁾ and Emiko Koyama, MSN, RN²⁾¹⁾ Faculty of Health and Welfare Science, Okayama Prefectural University²⁾ Kurashiki Heisei Hospital

Abstract

Distribution of lymphatic vessels in pressure ulcers was investigated in 30 surgically resected pressure ulcers and the findings were compared with the distribution of blood vessels by immunohistochemical staining with monoclonal antibody D2-40 for lymphatic vessels and anti-CD31 antibody for blood vessels. In granulation tissue covered with macerated necrotic tissue, many newly formed blood vessels grew toward the ulcer floor under necrotic tissue, but only a few dilated lymphatic vessels were observed in the basal area of newly formed blood vessels. In well-developed granulation tissue, newly formed lymphatic vessels reached the ulcer floor along with blood vessels, but the number of lymphatic vessels was less than 1/10 of that of blood vessels. These lymphatic vessels were dilated, which suggested abundant lymphatic flow. These data suggest that a large amount of exudate in the early phase of pressure ulcer was related to delayed lymphatic vessel development and the decrease of exudate in well-developed granulation tissue depends on the development of lymphatic vessels. In contrast, poor quality granulation tissues such as edematous granulation tissue had no or few lymphatic vessels, suggesting disturbance of lymphatic flow.

Key words : pressure ulcer, lymphatic vessel, distribution, immunohistochemistry

要 旨

外科的治療目的で切除されたⅢ度～Ⅳ度の褥瘡30病巣について組織をモノクローナル抗体D2-40および抗CD31抗体を用いて染色し、リンパ管の分布を血管の分布と比較して検討した。浸軟した壊死組織を伴った部位では壊死組織の下に多数の新生血管が潰瘍底に向かって増殖しているが、リンパ管は腔が拡張したものが肉芽の基底部付近に数個みられるにすぎなかった。肉芽が良好な病変では肉芽内には多数の血管とともにリンパ管も肉芽表層部までみられたが、リンパ管数は血管数の1/10以下と少なかった。これらのリンパ管は拡張しており、リンパ流が多いことがうかがわれた。褥瘡初期には滲出液が多いが、これはリンパ管の発達が遅れていることも関係があると思われる。肉芽の発達とともにリンパ管も増殖し、滲出液が減少するものと考えられる。浮腫の強い肉芽など、不良肉芽においてはリンパ管がみられない症例が多く、リンパ循環が阻害されていると考えられた。

キーワード：褥瘡潰瘍，リンパ管，分布，免疫組織化学

¹⁾ 岡山県立大学保健福祉学部 ²⁾ 倉敷平成病院

原稿受領日 2007年8月14日

別刷請求先：森 將晏

岡山県立大学保健福祉学部 〒719-1197 岡山県総社市窪木111

E-mail : mmori@fhw.oka-pu.ac.jp

はじめに

リンパ循環は間質液が細胞間質から静脈系へ流れるルートであり、組織の微小循環では毛細血管から漏出した間質液はほとんどが細静脈で再吸収されるが、約1/10はリンパ毛細管に流入してリンパ循環に入り、やがて静脈系に還流する¹⁾。創傷の治癒に際しては滲出液のみならず、壊死組織の分解産物、老廃物などを除去し、創傷の治癒には重要な役割を演じている²⁾。炎症がある場合には毛細血管内圧の上昇や透過性の亢進によりリンパ流量は平常時の10～50倍にも増加することも知られている^{1,3)}。褥瘡は炎症性病変であり、炎症に伴う血管の拡張、血管透過性の亢進により創部に充血、浮腫がみられ、創表面からは大量の滲出液が流出する。この滲出液は毛細血管から浸出した組織液のうち細静脈およびリンパ管で再吸収できなかった間質液と考えられる。臨床的には褥瘡潰瘍形成初期には多量の滲出液がみられるが、肉芽の成熟にしたがって滲出液は減少してくる。このような褥瘡の病態を理解するうえでリンパ管の分布を知ることは重要なことと考えられる。しかしながらリンパ管は壁が薄いため通常の組織染色では認識することがむずかしく、特異的に標識する方法がなかった。近年リンパ管に血管内皮細胞増殖因子受容体(VEGFR-3)が発現していることが報告され、創傷におけるリンパ管新生についての報告もみられるようになった^{4,5)}。また、パラフィン切片においてもリンパ管を特異的に染色する抗体^{6,7)}が開発され、ガンにおけるリンパ管浸潤の検索などに盛んに用いられるようになった。われわれは以前褥瘡組織における血管の分布について報告したが⁸⁾、本研究では褥瘡の治癒過程に重要な役割を果たすと考えられるリンパ管の分布を血管の分布と比較検討したので報告する。

材料と方法

1. 対象

外科的治療目的で切除された慢性褥瘡潰瘍組織30病巣について免疫組織化学的検討を行った。病変はすべてⅢ度～Ⅳ度で切除までの期間は2ヵ月から21ヵ月であった。

2. 組織染色

検体は20%ホルマリンで固定後、1病巣に対し肉眼的に異なる部位を1～5個切り出し、通常の方法でパラフィンに包埋、4 μmの薄切切片を作成した。切片は脱パラフィン後、通常の方法でヘマトキシリン-エオジン染色(HE染色)を行って観察した。

3. 抗体

血管内皮細胞の指標として抗CD31抗体^{9,10)}(mono-

clonal mouse anti-human CD31 antibody, DAKO, USA)、リンパ管の指標としてマウス抗ヒトリンパ管内皮抗原モノクローナル抗体:D2-40^{6,7)}(ニチレイ)を使用した。

4. 免疫染色

連続切片を脱パラフィン、親水化したあと、0.3%過酸化水素メタノール溶液にて20分間1次ブロッキングを行った。水洗後抗原性の賦活化と増感効果を目的とし、クエン酸緩衝液(pH6.0)に浸し、オートクレーブにて121℃、15分間加熱した。その後、室温で冷却後水洗し、3%牛血清アルブミン(BSA)を含む燐酸緩衝液(PBS, pH7.2)で20分間2次ブロッキングを行った。つぎに各抗体を用い4℃で一晩孵置した。PBSで2回洗浄したあと、EnVision+TM Peroxidase, Mouse(DAKO)にて30分間インキュベートした。発色は3.3'ジアミノベンチジンをういへマトキシリンで核染色した。

5. 肉芽内の血管およびリンパ管数の計測

CD31およびD2-40染色標本の潰瘍底10病変(肉芽部)を対象に、デジタルカメラを用いて300 μm×400 μmの区画を1検体につき2～4ヵ所ずつ撮影した。それぞれの区画内のCD31陽性管腔数、およびD2-40陽性管腔数をカウントした。リンパ管もCD31陽性¹⁰⁾となるので、血管数はCD31陽性管腔数からD2-40陽性管腔数を引いた数とし、リンパ管数はD2-40陽性管腔数として計測した。検体ごとにそれぞれの脈管数の平均をもとめ分析した。

6. 倫理的配慮

病理組織標本ならびに臨床データは記号化し、個人情報漏れがないように厳重に管理した。

結 果

図1は浸軟した壊死組織を伴った部位で、表層に壊死組織が認められ、健常組織との境界部からは肉芽が形成され始めていた。肉芽部位には多数の新生血管が潰瘍底に向かって増殖していた(図1b)が、リンパ管は腔が拡張したものが肉芽の基底部付近に数個みられるにすぎなかった(図1c)。肉芽が発達した良好肉芽部(図2)では肉芽内には多数の血管(図2b)とともにリンパ管(図2c)も肉芽表層部までみられた。図2d, eは図2b, cの拡大像で、リンパ管は拡張したものが多く、数は血管より少なかった。図3は浮腫の強い肉芽部で、血管は多数みられた(図3b)が、リンパ管はほとんどみられなかった(図3c)。線維化が進行し、肉芽の退縮した部位(図4)では血管も減少気味(図4b)で、リンパ管(図4c)も表層までみられたが、管腔はあまり拡張していなかった。10症例の潰瘍底肉芽部の血管数およびリンパ管数を表1に示



図1 浸軟した壊死組織を伴った部位 (a:肉眼, b: CD31, c: D2-40) ○組織写真撮影部, 矢印:リンパ管



図2 良好肉芽部 症例4 (a:肉眼, b: CD31, c: D2-40, d: bの拡大, e: cの拡大) ○組織写真撮影部, 矢印:リンパ管

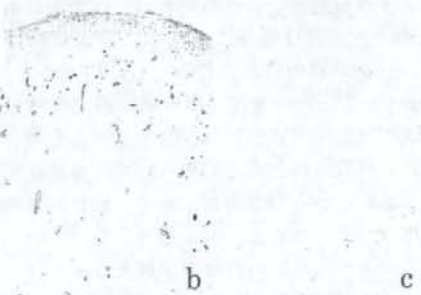


図3 浮腫の強い肉芽部 症例7 (a:肉眼, b: CD31, c: D2-40) ○組織写真撮影部

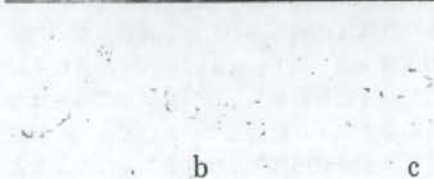
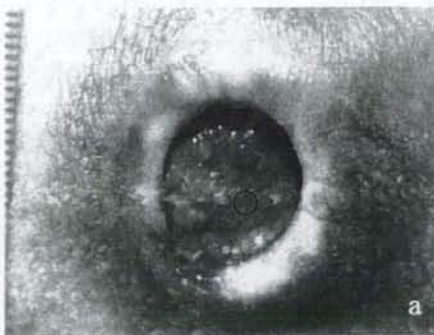
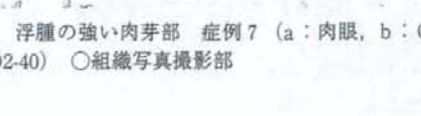


図4 線維化が進行し、肉芽の退縮した部位 (a:肉眼, b: CD31, c: D2-40) ○組織写真撮影部



表1 肉芽組織内の血管数とリンパ管数

症例	肉芽の状態	血管数	リンパ管数
1	不良肉芽部	9.8	0.2
2	良好肉芽部	36.8	5.8
3	良好肉芽部	62.2	6.7
4	良好肉芽部	53.0	5.7
5	不良肉芽部	21.4	3.0
6	不良肉芽部	12.0	0.0
7	浮腫の強い肉芽部	38.0	0.0
8	浮腫の強い肉芽部	61.0	0.0
9	不良肉芽部	31.5	1.3
10	不良肉芽部	13.7	1.0
平均		33.9	2.4
標準偏差		19.9	2.7

*300 μ m \times 400 μ m内の管腔数

す。血管数の平均が33.9本であるのに対しリンパ管数の平均は2.4本とリンパ管数は血管数の1/10以下と少なく、浮腫の強い肉芽部位では血管は多数みられたにもかかわらず、肉芽内にリンパ管がほとんどみられない部位も存在した。

考 察

創傷治療には線維芽細胞とともに血管内皮細胞が重要な役割を演じていることが報告されており、近年これらの細胞の増殖因子である塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) も治療に使われ始めている¹³⁾。しかしながら創傷治療に対するリンパ管の役割についての検討は近年まで行われてこなかった。本研究では①リンパ管新生は血管新生より遅れて起こること、②新生リンパ管は拡張しており、数は血管の1/10程度と少ないこと、③よく発達した肉芽では新生リンパ管が潰瘍表面近くまでみられるが、不良肉芽ではリンパ管がみられない症例があること、などが明らかにされた。VEGFR-3の発現を指標とした創傷治療過程におけるリンパ管新生の実験的研究ではマウスの角膜を使ったCursiefenら¹²⁾の研究で血管新生とリンパ管新生が受傷2日後に同時にみられたと報告している。一方ブタの皮膚を使ったPaavonenら⁴⁾は血管新生は切開後4日目以降に観察されるが、リンパ管新生は5日目以降に観察されると報告している。そして、新生リンパ管の数は本研究同様新生血管より少なかったとも報告している。これら容易に治療する急性創傷による実験モデルによる報告ではリンパ管新生は血管新生とほぼ同時か、またはやや遅れて開始されると考えられるが、

今回観察した褥瘡病変では浸軟した壊死組織を伴った部位にみられたごとく、初期の肉芽でも血管は肉芽の表層まで多数みられるにもかかわらず、リンパ管は肉芽の表層まで達せず、途中までしかみられない組織が多くみられた。これらの組織ではリンパ管新生は血管新生に遅れていると考えられるが、褥瘡は上記のような急性の創傷と異なり、傷害を受けてから壊死が進行し、肉芽が形成され始めるまでに数日を要することに関係しているのかもしれない。Trengeveら¹⁴⁾は滲出液中のMatrix Metalloproteinase (MMPs) は慢性創傷では急性創傷の30倍も上昇していると述べている。また、Ladwigら¹⁵⁾はこのような蛋白分解酵素が細胞外マトリックスを分解するとともにさまざまな増殖因子や受容体などを分解することにより創傷の治療を遅らせているのではないかと述べており、リンパ管の発達もこのような理由で抑えられている可能性がある。彼らはまた、慢性褥瘡潰瘍滲出液中のMMPsとそのインヒビターであるTIMPsとの比MMPs/TIMPsは治療するに従って低下すると述べている。このように滲出液には壊死組織を分解するMMPsが多量に含まれており、褥瘡初期に多量にみられる壊死組織を除去するには血管から滲出した液をリンパ管経由で血管内に還流するより、リンパ管新生が遅れることにより滲出液として創面に排出したほうが壊死物質の除去に都合がよいのかもしれない。よく発達した肉芽ではリンパ管が肉芽表面まで増殖していたが、これは創面の壊死組織が減少し、良好な肉芽が発達するとともに滲出液が減少していくことと関係があると考えられる。線維化が進行し、肉芽の退縮した部位では滲出液も少なく、このためリンパ管はみられるが、管腔はあまり拡張していなかったと考えられる。

また、慢性褥瘡では浮腫や壊死などを伴う不良肉芽がよくみられる。これらの組織では表1にも示したごとくリンパ管は血管にくらべて数が少ないだけでなく、リンパ管のほとんどみられない肉芽もみられた。Paavonenら⁴⁾は慢性褥瘡潰瘍、糖尿病性足潰瘍、非糖尿病性足潰瘍について検討を行い、これらの病変ではリンパ管はほとんど認められず、慢性創傷の深部に観察されるのみだと述べており、われわれのデータとはほぼ一致している。

このようにリンパ管は滲出液をコントロールすることにより壊死組織の除去や肉芽の発達に関与していると考えられる。リンパ管の発達が悪いと、MMPsのドレナージ不全や、浮腫が起こり、肉芽の発達を妨げると考えられる。

創傷治療過程におけるリンパ管新生に関しては既成のリンパ管から出芽するという報告⁴⁾が多いが、近年Maruyamaら¹⁶⁾はCD11b陽性のマクロファージから

リンパ管が形成される可能性を示唆しており、またマクロファージの機能が低下するとリンパ管形成が低下し、創傷治癒も低下する¹⁰⁾と述べている。本研究ではマクロファージについて検討していないが、一部管腔を形成していない細胞にもD2-40が陽性のものが見られ、これらの細胞はマクロファージに属するのかもしれない。今後褥瘡病変におけるマクロファージの役割についての検討が必要と思われる。

文 献

- 1) 清野精彦訳：微循環系とリンパ系。ガイドン臨床生理学。早川弘一監訳。189-201。医学書院。東京。2002。
- 2) Ji RC : Characteristics of lymphatic endothelial cells in physiological and pathological conditions. *Histol Histopathol* 20(1) : 155-175, 2005.
- 3) 飯野靖彦訳：体液分画。ガイドン臨床生理学。早川弘一監訳。303-318。医学書院。東京。2002。
- 4) Paavonen K, Puolakkainen P, Jussila L, et al : Vascular endothelial growth factor receptor-3 in lymphangiogenesis in wound healing. *Am J Pathol*, 156(5) : 1499-1504, 2000.
- 5) Ji RC, Miura M, Qu P, et al : Expression of VEGFR-3 and 5-nase in regenerating lymphatic vessels of the cutaneous wound healing. *Microsc Res Tech*, 64(3) : 279-286, 2004.
- 6) Fukunaga M : Expression of D2-40 in lymphatic endothelium of normal tissues and in vascular tumors. *Histopathology*, 46(4) : 396-402, 2005.
- 7) Yonemura Y, Endou Y, Tabuchi K, et al : Evaluation of lymphatic invasion in primary gastric cancer by a new monoclonal antibody D2-40. *Hum Pathol*, 37(9) : 1193-1199, 2006.
- 8) 森 将晏, 小山恵美子, 遠藤明美, ほか：慢性褥瘡潰瘍に見られる血管病変の組織学的研究。褥瘡会誌, 7(4) : 833-837, 2005.
- 9) Pusztaszeri MP, Seelentag W, Bosman FT : Immunohistochemical expression of endothelial markers CD31, CD34, von Willebrand factor, and Fli-1 in normal human tissues. *J Histochem Cytochem*, 54(4) : 385-395, 2005.
- 10) Sauter B, Foedinger D, Sterniczky B, et al : Immunoelectron microscopic characterization of human dermal lymphatic microvascular endothelial cells. Differential expression of CD31, CD34, and type IV-collagen with lymphatic endothelial cells vs blood capillary endothelial cells in normal human skin, lymphangioma, and hemangioma in situ. *J Histochem Cytochem*, 46(2) : 165-176, 1998.
- 11) Robson MC, Phillips LG, Lawrence WT, et al : The safety and effect of topically applied recombinant basic fibroblast growth factor on the healing of chronic pressure sores. *Ann Surg*, 216(4) : 401-408, 1992.
- 12) Cursiefen C, Maruyama K, Jackson DG, et al : Time course of angiogenesis and lymphangiogenesis after brief corneal inflammation. *Cornea* 25(4) : 443-447, 2006.
- 13) Trengove NJ, Stacey MC, MacAuley S, et al : Analysis of the acute and chronic wound environments : the role of proteases and their inhibitors. *Wound Repair Regen*, 7(6) : 442-452, 1999.
- 14) Ladwig GP, Robson MC, Liu R, et al : Ratios of activated matrix metalloproteinase-9 to tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in wound fluids are inversely correlated with healing of pressure ulcers. *Wound Repair Regen*, 10(1) : 26-37, 2002.
- 15) Maruyama K, Ii M, Cursiefen C, et al : Inflammation-induced lymphangiogenesis in the cornea arises from CD11b-positive macrophages. *J Clin Invest*, 115(9) : 2363-2372, 2005.
- 16) Maruyama K, Asai J, Ii M, et al : Decreased macrophage number and activation lead to reduced lymphatic vessel formation and contribute to impaired diabetic wound healing. *Am J Pathol*, 170(4) : 1178-1191, 2007.

原 著

背上げ時における殿部の圧迫を軽減するクッションの作製と
その効果の検討森 將晏¹⁾・遠藤明美²⁾・押本由美²⁾The effects of a newly formed cushion on buttock pressure
with backrest elevationMasaharu Mori, MD¹⁾; Akemi Endo, MSN, RN²⁾ and Yumi Oshimoto, MSN, RN²⁾¹⁾ Faculty of Health and Welfare science Okayama Prefectural University²⁾ Graduate School of Health and Welfare science Okayama Prefectural University

Abstract

The effects of a newly developed low-elastic urethane cushion on buttock pressure and on pressure and shear force in the coccygeal area during 30-degree backrest elevation were examined. First, 10 healthy adults were examined with 30-degree backrest elevation for 40 min. During backrest elevation, the mechanism group (with knees elevated by the bed mechanism) showed slightly increased buttock pressure compared to that without knee elevation (no-elevation group). However, elevation of the knees with a low-elastic urethane cushion under the thighs (cushion group) significantly decreased pressure and pain in the buttock compared to that in the other two groups. Slipping of the body after 40 min of backrest elevation was minimized in the cushion group. Although mean values for pressure and shear force in the coccygeal area during backrest elevation were slightly decreased by elevating the knees using the bed mechanism or cushion, there were no significant differences among the 3 groups. Thereafter, 12 aged persons were examined as described above except that the trial duration time was limited to 5 min. The cushion group showed a significant decrease in buttock pressure. An appropriate cushion under the thigh can decrease buttock pressure and shear force during backrest elevation.

Key words : backrest elevation, cushion, buttock pressure

要 旨

寝たきり患者の経鼻経管栄養などによりベッド上で長時間にわたり背上げをしていると殿部に圧迫やずれ力がかかり苦痛であるとともに、褥瘡の発生リスクが高くなる。本研究では30度背上げ持続時、殿部にかかる圧迫やずれを軽減する目的で低反発ウレタンを用いて作製したクッションの効果について検討を行った。まず、10名の健康成人において30度の背上げを40分間行った。その際にベッドの膝上げ機構を用いて10度膝上げたあとと背上げする(機構群)と膝上げしないで背上げをした場合(なし群)より殿部ピーク圧はやや高くなる傾向にあったが、低反発ウレタンを用いて作製したクッションを大腿後面に挿入して膝上げたあとに背上げする(クッション群)と背上げ後の殿部ピーク圧力はほかの両群より有意に低く、殿部の苦痛も軽減した。40分間背上げ後の身体のずれ下がりもクッション群が最低であった。尾骨部の圧力やずれ力はばらつきが大きく3群間に有意差はみられなかった。つぎに、12名の高齢者において30度の背

¹⁾ 岡山県立大学保健福祉学部 ²⁾ 岡山県立大学大学院保健福祉学研究所

原稿受領日 2008年7月10日

別刷請求先: 森 將晏

岡山県立大学保健福祉学部 〒719-1197 岡山県総社市龍木111

E-mail: mmori@fhw.oka-pu.ac.jp

上げを5分間行い、その際の膝上げの効果について同様に検討した結果、背上げ後の殿部ピーク圧はクッション群においてほかの2群より有意に低い値を示した。背上げを行う際には殿部の圧力を大腿後面に分散させるクッションを身体に合わせて使用して膝上げをすることにより殿部の圧迫やずれを予防することが大切である。

キーワード：背上げ、クッション、殿部圧力

緒 言

今日、高度な医療技術や医療機器の進歩により延命が可能となったが、それに伴って寝たきりの患者が増加している。臨床では患者の寝たきり防止、ADLの拡大、および食事介助・経鼻経管栄養・胃瘻などのケア時などさまざまな目的で半座位や座位への援助(背上げ)が行われている。背上げをしていると身体がしだいに足のほうへずれ落ちていくが、このとき身体とベッドの接触面にずれ力が働く。特に尾骨部においては圧迫にずれ力が加わり、褥瘡が発生しやすくなるといわれている¹⁾。通常このような背上げを行う際には、背部、膝部を挙上できるギャッチベッドが広く用いられており、ギャッチベッドによる背上げ過程における身体接触部への圧迫やずれの影響を考慮した研究が行われてきた²⁾³⁾。これらの研究から、背上げ機能付きベッドの屈曲点が身体の屈曲点と合わないため背上げ時には圧迫とともにずれが生じ苦痛であること、臥床位置によりずれや圧迫の程度が異なること、背上げ後に「背抜き」をすると圧迫やずれが軽減されることなどが報告されている。

背上げが関与していると考えられている尾骨部周辺の褥瘡発生には背上げ過程の一時的な圧迫やずれよりも背上げ後の長時間にわたる座位または半座位姿勢保持時の身体接触部への圧迫やずれのほうが大きく関与しているのではないかと考えられる。背上げ後の姿勢保持時の身体接触部への圧迫やずれに関する研究はGoossensら⁴⁾、小長谷ら⁵⁾、Haradaら⁶⁾の報告などがみられるが、どのような介助をすれば圧迫やずれを軽減できるかという詳細な研究は少ない。また、看護の現場ではさまざまなクッションを用いて体位を保持し、圧迫やずれを防ぐ工夫をしているが、それらの効果についての詳細な研究はない。そこで、長時間にわたる背上げの際に、殿部や褥瘡が起こりやすいとされている尾骨部にどのくらいの圧迫やずれが生じているのかという現状を把握するとともに、背上げ時にお

ける殿部の圧迫やずれを軽減することを目的にクッションを作製し、その効果について検討を行ったので報告する。

方 法

1. 被験者

実験1：特別な基礎疾患や運動機能上の問題をもっていない健康成人10名。

実験2：重篤な基礎疾患がなく、日常生活に支障のない65歳以上の高齢者12名。

2. 測定環境

湿潤による皮膚表面の変化を考え、発汗がみられないよう室温 $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 10\%$ に空調にてコントロールし、被験者に寒暖と発汗の有無を確認しながら実施した。ベッドは背上げ機能を有するパラマウントKA5240ベッド(ボトムは4分割、頭側より78 cm, 29 cm, 39 cm, 49 cm)を使用し、マットレス(パラマウントKE601)、標準マットレスパッドに綿平織りシートでベッドメイキングした。さらに、寝衣は病衣として広く用いられている綿平織りの寝衣を使用した。掛け物にはタオルケットを使用した。

3. クッションの作製

市販の低反発ウレタンマットレス(厚さ7 cm, HYOTOC製)を使用して図1に示すクッションを作製した。クッションAを大腿近位部に、クッションBを下腿に挿入した(図2)。

4. 臥床位置と背上げ法

実験1：速藤ら⁷⁾の報告をもとに上前腸骨棘を背板の屈曲点に合わせて臥床させた。被験者には麻痺患者を想定して極力全身の力を抜き、なるべく動かないように臥床し、ベッドで30度の背上げを行ったあともそのまま40分間臥床するよう依頼した。臥床時間の設定は、経管栄養患者の背上げ時間についてわれわれが調査を行った結果⁸⁾、ほとんどの施設で30分以上持続しており、平均値は120分であったこと、予備実験で30分以降では体圧はほとんど変化しなかつたこ

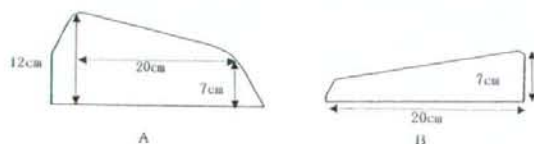


図1 クッション模式図(側面)



図2 クッション挿入図

表1 苦痛得点表

部位	苦痛得点				
	1	2	3	4	5
全身	非常に楽	楽	普通	つらい	非常に つらい
殿部	まったく 痛みはない	少し痛く なってきた	痛い	非常に 痛い	我慢できない くらい痛い

とを参考に決定した。40分間臥床するという精神的苦痛による身体への影響を最小限にするため、臥床中はDVD鑑賞などの配慮を行った。それぞれの被験者に対し以下に示す3種類の 방법으로背上げを行った。実施順序は無作為に行い、それぞれの実験間には十分に休養を取った。

①なし群：膝上げを行わず背上げのみ行う。

②機構群：ベッドの膝上げ機構を使用して膝上げ10度のあと、背上げを行う。

③クッション群：図1で示す自作のクッションAを大腿後面に、クッションBを下腿に挿入して膝上げ後、背上げを行う。

実験2：ベッドを介護用ベッド（パラマウントKQ-603）に変更したこと、膝上げ機構による膝上げ角度を15度にしたこと、背上げ後の時間を5分に短縮したこと以外は実験1と同様に行った。

5. 測定部位および方法

1) 殿部ピーク圧力

圧力分布測定システムClin-Seat（ニッタ）を使用。センサーシート（HUGE-MAT）を背部から大腿部にかけてシートの下に敷き、経時的に1秒ごと測定（クッションによる膝上げの場合はクッションをセンサーシートの下に挿入）。センサーシートは滑りやすいため滑り止めシート（ずれ防止シートジャストップNo.2：明和グラビア株式会社）でセンサーシートの上面を覆った。殿部ピーク圧力は殿部に相当する部位で一番高い圧力とした。

2) 尾骨部体圧およびずれ力

簡易式体圧・ずれ力同時測定器ブレディア（モルテン）を尾骨部に貼付し、データはコンパクトサーモロガー（AM-8050E：安立）に接続して経時的に記録した。

3) ずれ量

背上げ直後に踵部のマットレス接地面にテープを貼付。40分経過後にも同様に踵部のベッド接地面にテープを貼付し移動量をメジャーで測定した。

4) 苦痛の評価

実験1において臥床中の苦痛を計測することを目的に、表1に示す自作の表を用いて、背上げ直後、10

分後、20分後、30分後、および40分後に全身および殿部について被験者に苦痛度を聞き、苦痛得点とした。

6. 統計処理

平均値と標準偏差を算出するとともに、群間の比較にはSPSS14.0を用い、Bonferroniの方法で多重比較を行った。p<0.05をもって有意とした。

7. 倫理的配慮

研究協力の依頼は、研究の目的・意義・方法、さらに参加・中断の自由、プライバシー保護およびデータの匿名性と保管について明記した文章を配布し、研究に対する疑問・質問等の確認を行ったあと、同意書をもって承諾を得た。実施にあたっては、再度、研究に対する疑問・質問等の確認と実験中断の自由を伝え、更衣や実施中の寝衣・寝具への配慮をはじめプライバシーの保護には十分な配慮のもと行った。

結果

1. 実験1

被験者は男性4名、女性6名の計10名、年齢：21.0±1.3歳、身長：166.1±11.0cm、体重：52.8±8.1kg、BMI：19.0±1.1であった。

図3に10名の殿部ピーク圧力の平均値の推移を示す。殿部ピーク圧力は背上げ前は、なし群と機構群はほぼ同様な値を示したが、クッション群はほかの2群より低値を示した。背上げによりいずれの群においても初期にいったん低下したあと、背上げとともに上昇し、背上げ終了後にはなし群および機構群では背上げ前より高値となったが、クッション群は背上げ前と同程度にとどまり、その後3群ともにわずかに上昇傾向をみせた。図4に背上げ40分後の殿部体圧分布の1例を示す。クッション群はほかの2群とくらべ殿部とともに大腿部にも広く体圧が分散されており、殿部ピーク圧力はなし群および機構群にくらべクッション群は低値を示している。統計的には表2に示すごとく、背上げ前なし群と機構群はほぼ同値を示し、クッション群はほかの2群より10mmHg以上低値を示していたが、有意差はみられなかった。背上げ40分後の殿部ピーク圧力は機構群がなし群よりやや高値を示していたが有意差はみられなかった一方、クッション群は

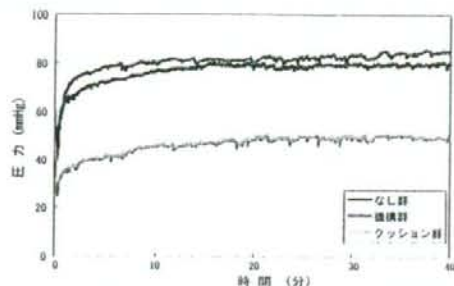


図3 殿部ピーク圧力の推移

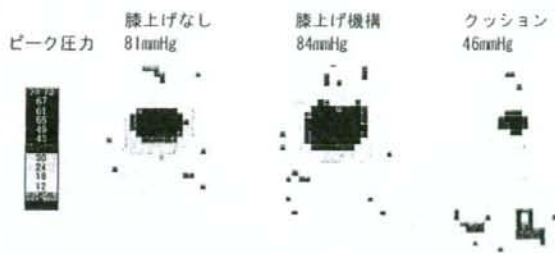


図4 背上げ40分後の殿部体圧分布図

表2 30度背上げ時の殿部ピーク圧力およびずれ量

	臀部ピーク圧力 (mmHg)		40分後 ずれ量 (cm)
	背上げ前	40分後	
なし群	58.8 ± 12.2	80.2 ± 11.3	2.1 ± 1.5
機構群	58.1 ± 16.2	85.2 ± 17.6	1.3 ± 0.8
クッション群	47.6 ± 18.1	50.0 ± 14.9	0.8 ± 1.2

** ; p<0.01

表3 30度背上げ時の尾骨部圧および尾骨部ずれ力

	尾骨部圧 (mmHg)		尾骨部ずれ力 (N)	
	背上げ前	40分後	背上げ前	40分後
なし群	51.6 ± 49.4	36.2 ± 48.7	0.98 ± 2.34	1.93 ± 2.20
機構群	25.7 ± 34.1	20.6 ± 36.9	-0.21 ± 0.43	0.61 ± 3.16
クッション群	24.1 ± 43.4	15.0 ± 24.8	0.55 ± 0.96	-0.86 ± 1.68

ほかの2群とくらべて30 mmHg以上低く、他の2群よりも有意に低かった。背上げ40分後のずれ量(表2)は、なし群でも2.1 cmとわずかであったがほかの2群より大きく、クッション群とは有意差がみられた。

表3に尾骨部圧および尾骨部ずれ力を示す。尾骨部圧は背上げ前には51.6 mmHgとなし群が一番高く、機構群とクッション群は25 mmHg程度と低かったがいずれの群でもばらつきが大きく有意差はみられなかった。背上げ後、いずれの群においても尾骨部圧はやや低下したが40分後でもなし群が一番高く、機構群、クッション群の順に低くなっていた。しかしいずれの群も背上げ前同様ばらつきが大きく有意差はみられなかった。尾骨部ずれ力は3群ともに背上げ前および背上げ40分後ともにあまり小さくなく、またばらつきが大きく有意差はみられなかった。

全身の苦痛得点(図5)は背上げ直後から3群間に差がみられ、クッション群が低値を示していたが有意差はみられなかった。40分の経過でなし群と機構群は徐々に苦痛得点が上昇し、クッション群よりは有意

に高値となり、クッション使用により全身の苦痛が軽減されていた。また、殿部苦痛得点(図6)においても40分臥床後の苦痛得点はクッション群が他の2群より有意に低く、殿部の苦痛もクッション使用により軽減されていた。

以上の結果と身長、体重など被験者の体格との間に相関はみられなかった。

2. 実験2

被験者は男性1名、女性11名の計12名、年齢: 71.8 ± 5.4歳、身長: 153.1 ± 6.3 cm、体重: 57.0 ± 10.1 kg、BMI: 24.3 ± 3.5。肥満の人が5名、亀背の人が5名いた。計測は圧力分布測定のみを行った。背上げによる体圧の推移は実験1と同様であった。表4に背上げ前および背上げ5分後の殿部ピーク圧と殿部ピーク圧の背上げ前後比を示す。殿部ピーク圧は背上げ前からクッション群において低く、背上げ後においてもクッション群は有意に低かった。また、背上げ前後の殿部ピーク圧比をみると、なし群、機構群では1.4倍に増加しているにもかかわらず、クッション群

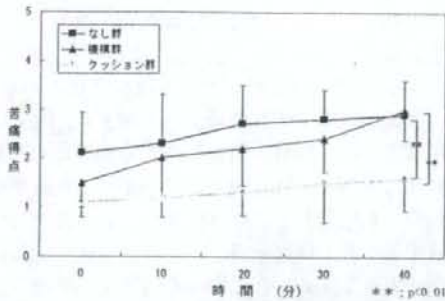


図5 全身苦痛得点の推移

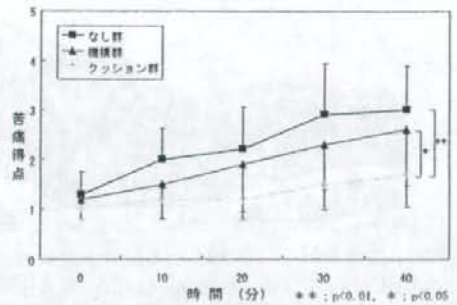


図6 殿部苦痛得点の推移

表4 高齢者30度背上げ時の殿部ピーク圧力および前後比

	殿部ピーク圧力 (mmHg)		背上げ前後比
	背上げ前	5分後	
なし群	50.1 ± 10.3	66.8 ± 8.6	1.4 ± 0.3
機構群	52.0 ± 9.2	72.5 ± 11.4	1.4 ± 0.1
クッション群	41.3 ± 9.5	48.3 ± 8.0	1.2 ± 0.2

** : p<0.01, *p<0.05

では1.2倍と増加が軽度であった。被験者の感想でも、クッション群が楽であったという感想が聞かれた。

考 察

背上げ機能付きベッドによる背上げにより、仙骨部、背部、大腿部などベッドに接触する部位に大きなずれ力が働き、背部が圧迫されることが報告されている³⁻⁵⁾。このような背上げ時にみられるずれ力や圧迫はベッドと身体の屈曲点の位置が異なっていることが原因と考えられているが、ベッドの背上げ後の半座位や座位時にどれくらいのずれ力や圧迫が働くかについての詳細な研究はあまりなされていない⁶⁻⁸⁾。物理学的に考えれば、斜面に置かれた物体(上半身)は下方にずり落ちようとするため、斜面との摩擦によりずれ力が生じる。しかしながら、上半身の荷重を力の働く方向と垂直な面で支えると、理論的にはずれ力はゼロとなり、支える部位の圧力の上昇に変換される。小長谷ら⁷⁾は45度の背上げを行い、殿部に設置したフォースセンサーで計測した結果、背上げにより殿部の水平力(ずれ力に相当)および垂直力(圧力に相当)は上昇するが、膝上げにより水平力は減少し、垂直力は上昇することを報告しており、このことを裏付けている。一方Haradaら⁸⁾は30度の背上げをしたままで、10分ごとの仰臥位と側臥位の体位変換を2時間にわたって行い、膝上げにより身体のずれ下がり量は減少するが、仙骨部の圧力には差がなかったと述べている。われわれの研究でも30度背上げにより殿部ピーク圧力は上昇

し、膝上げすることにより殿部ピーク圧力がさらに上昇しており、小長谷ら⁷⁾の報告と同様の結果を得た。一方、尾骨部圧は膝上げにより減少傾向を示していたが圧が高い被験者では100 mmHg以上を示す反面、低い被験者では10 mmHg以下を示すなどばらつきが非常に大きく有意差はみられなかった。これはHaradaら⁸⁾の仙骨部についての報告と似ており、小長谷ら⁷⁾の殿部全体の水平力と垂直力を計測した報告と異なっていた。この違いはHaradaらの仙骨部圧や本研究の尾骨部圧は狭い範囲の圧力を計測しているものであるため、仙骨部から尾骨部にかけては体表面が彎曲していることに加え、殿筋の発達程度など体型の違いにより30度背上げにより圧の加わる部位が異なり、ばらつきが大きかったのが原因と考えられる。本研究の尾骨部ずれ力についても同様に体型の違いによるものと考えられるばらつきが大きく、小長谷ら⁷⁾の研究のような膝上げによる減少はみられなかった。ずれ量についてHaradaら⁸⁾は2時間の背上げ中に膝上げなしで29.34 cm、膝上げ時で18.41 cmと膝上げにより有意にずれ下がり量が減少したと述べている。本研究では膝上げのあるなしにかかわらず、ずれ量はわずかである。この違いは、Haradaら⁸⁾もずれ下がり量は10分間の臥床中に起こったのではなく、体位交換時に起こったと述べているように、被験者が動かない限り臥床中にはあまりずれ下がり量と考えられる。以上述べてきたように、30度または45度の背上げに対して膝を上げることにより殿部のずれ力や体のずれ下がり量は軽

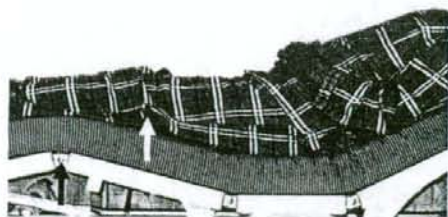


図7 機構を使った膝上げ・30度背上げ時の膝の位置
(黒矢印：ベッド天板の屈曲点，白矢印：膝の位置)

減されているようであるが、われわれ⁵⁾が先に報告したように背上げ機能付きベッドの膝上げ機構が身体のサイズと合っていない場合、背上げ時に膝上げを行うとかえってずれ力や圧迫が増加することがある。実際、ベッドの背板の屈曲点と身体の屈曲点を合わせて臥床して背上げすると、膝上げ時のベッドの膝屈曲位置は膝よりも足側に位置し、大腿後面がベッドから少し浮いた状態になることが多い(図7)。本研究においても30度背上げにおいて膝上げ機構を使用して膝上げた場合、殿部ピーク圧力はやや上昇したにもかかわらず、尾骨部圧やずれ力は膝上げによりやや減少しているが有意差はみられなかった。殿部の体圧分布(図4)を見ても、膝上げしても殿部の体圧分散にはほとんど変化がみられなかった。このような膝上げによる殿部ピーク圧力の上昇や尾骨部圧などを軽減するには殿部の荷重を大腿後面に分散させる必要があると考えられたので、本研究ではおもに座骨部から大腿近位を支える目的でクッションを作製し、被験者に合わせて適切な位置にクッションを置いて計測した。その結果図4に示すように殿部の荷重が大腿部にも分散されており、殿部ピーク圧力のみならず、ずれ量も有意に低下した。また、被験者の感想でも全身や殿部の苦痛が軽減されていた。

臨床現場においてもずれ下がりなどを軽減する目的でさまざまなクッションを用いて膝上げしている光景を眼にするが、クッションを用いたときのずれ下がりの軽減や減圧効果などについての詳細な検討はあまりなされていなかった。成書にはクッションを使用して膝を45度程度上げている図¹⁰⁾も掲載されているが、Goossens⁶⁾らはシミュレーションと健常成人についての実測により、30度背上げでは約15度、45度背上げでも20度以下の膝上げ時にずれが少ないと報告しており、あまり膝を上げ過ぎるのはよくないと考えられる。われわれもさまざまなクッションを作製し検討した結果、図1に示すクッションを作製したわけであるが、被験者によってはもっと高さの低いクッションのほうが殿部の苦痛が少ないと答えており、体格や背上げ角度に合わせたクッション等を用いて膝上げる

ことにより、背上げによる殿部の圧迫やずれを軽減できると考えられる。

本研究では殿部ピーク圧力は高いにもかかわらず、尾骨部の圧力やずれ力は低い人が多く、背上げにより尾骨部付近に褥瘡が発生しやすくなることと矛盾した結果となった。Haradaら⁸⁾の研究でも仙骨部圧は低値を示しており、これは健常者において適切な位置に臥床して背上げた場合には殿部の荷重はおもに座骨部によって支えられているため尾骨部や仙骨部の圧力は低値を示しているが、臨床においては骨突出があったり、背上げ中にずれ下がることによって骨盤の後傾が強くなって殿部の荷重が座骨部から尾骨部に移動することにより尾骨部付近に褥瘡が発生しやすくなるのではないかと考えられる。

結 語

ベッド上での30度背上げ時に行うベッドの機構を利用した膝上げは膝を上げる位置が体格と合っていない場合が多く、かえって殿部の圧力が増加する。クッションなどを用いて身体に合わせた膝上げをすることにより、殿部の荷重を座骨部から大腿部に分散し、背上げ時の殿部の圧迫を軽減するとともにずれを防止、苦痛や褥瘡の発生を防ぐことが重要と考えられる。

謝 辞

この研究の実施に際し手伝っていただいた浅井優子氏、冠野真弓氏、高橋弥山氏、堀野千里氏、および渡邊洋子氏に深謝いたします。また、統計に関してご指導いただきました三好弘人先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Reichel SM : Shearing force as a factor in decubitus ulcers in paraplegics. JAMA, 166(7) : 762-763, 1958.
- 2) Bennett L, Kavner D, Lee BK, et al : Shear vs pressure as causative factors in skin blood flow occlusion. Arch Phys Med Rehabil, 60(7) : 309-314, 1979.
- 3) 大久保祐子, 小長谷百絵, 小川謙一 : ベッドの背を上げ下げする時の身体への影響. 褥瘡会誌, 2(1) : 45-50, 2000.
- 4) 森 將晏, 遠藤明美, 小山恵美子, ほか : ベッドの背上げ時に働く力の臥床位置による差異について. 褥瘡会誌, 6(4) : 587-592, 2004.
- 5) 遠藤明美, 奥山真由美, 村上生美, ほか : キャッチベッドの背上げにおける援助方法の検討—臥床位置と膝上げ方法から考える—. 日看研会誌, 28(5) : 47-54, 2005.
- 6) Goossens RHM, Snijders CJ : Design criteria for the

- reduction of shear forces in beds and seats. *J Biomech*, 28(2) : 225-230, 1995.
- 7) 小長谷百絵, 大久保祐子, 小川鐵一, ほか: ファーラー位におけるずれの力に関する研究-フォースセンサーによる測定結果より-. *日WOCN会誌*, 2(1) : 24-30, 1998.
 - 8) Harada C, Shigematsu T, Hagiwara S : The effect of 10-degree leg elevation and 30-degree head elevation on body displacement and sacral interface pressure over 2-hour period. *J Wound Ostomy Continence Nurs*, 29(3) : 143-148, 2002.
 - 9) 萩あや子, 押本由美, 遠藤明美, ほか: ギャッチベッドによる背上げ行為に関する実態調査. *岡山県立大保健福祉紀*, 13(1) : 1-11, 2006.
 - 10) 真田弘美: 褥瘡の予防. 褥瘡の予防・治療ガイドライン (厚生省老人保健福祉局老人保健課監修, 宮地良樹編集), 8-36, 照林社, 東京, 1998.



Critical evaluation of cadexomer-iodine ointment and povidone-iodine sugar ointment[☆]

Yasuhiro Noda^{a,b}, Kiori Fujii^a, Satoshi Fujii^{a,*}

^a Department of Molecular and Cellular Pathobiology and Therapeutics, Nagoya City University Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Nagoya, Japan

^b Department of Pharmacy, College of Pharmacy, Kinjogakuin University, Nagoya, Japan

ARTICLE INFO

Article history:

Received 26 October 2008
Received in revised form 7 January 2009
Accepted 8 January 2009
Available online xxx

Keywords:

Cadexomer-iodine
Povidone-iodine
Pressure ulcer
Wound exudates

ABSTRACT

Topical iodine forms are used for infected and necrotic pressure ulcers. Despite antimicrobial advantages several potential disadvantages were observed with controversial results. To clarify the controversy, the reactivity of povidone-iodine (PI) sugar ointment and cadexomer-iodine (CI) ointment toward biological components was investigated. L-Tyrosine as a component of proteins and egg lecithin as a component of lipid membranes were reacted with forms of iodine. Furthermore, water absorption abilities of ointments were investigated. The reactions of PI sugar ointment and CI ointment with L-tyrosine were reversely dependent on iodine concentrations. CI ointment reacted with lecithin in an iodine concentration dependent manner, while PI sugar ointment reacted with lecithin in an iodine concentration independent steady manner. However, at the clinically relevant iodine concentration (0.1, w/v%) PI sugar ointment reacted efficiently with L-tyrosine and less efficiently with lecithin, while CI ointment reacted efficiently with lecithin and less efficiently with L-tyrosine. Water absorption rate constant was 29.9 mg/cm²/min^{0.5} for PI sugar ointment and 15.3 for CI ointment. Water absorption capacity per weight over 24 h was 76% for PI sugar ointment and 26% for CI ointment. These results suggest that PI sugar ointment and CI ointment have different characteristics for iodine reactivity and water absorption.

© 2009 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

For more than a century iodine has been regarded as one of the most efficacious antiseptics to reduce infectious complications and topical iodine forms have been used for wound treatment. The simplest form of iodine is Lugol's solution, which has irritating and caustic properties. The iodine complexes such as povidone-iodine (PI) and cadexomer-iodine (CI) are exploited to conquer the disadvantage (Fig. 1). PI is a complex of triiodide and polyvinylpyrrolidone, and a paste consisting of 70% sugar and 3% PI is commercially available in Japan (U-PASTATM, Kowa, Nagoya, Japan). The paste dissolved in wound exudates releases triiodide keeping the equilibrium between triiodide and PI complex. CI is a hydrophilic modified-starch polymer bead where molecules of

iodine are immobilized. In Europe, North America and Japan a macrogol ointment consisting of CI is available (Bianchi, 2001) (CadexTM Ointment, Smith & Nephew, Tokyo, Japan). Upon application the polymer beads in CI are swollen by wound exudates and gradually release incorporated iodine (Lamme et al., 1998; Zhou et al., 2002).

These ointments are recommended by the Japanese Society of Pressure Ulcers to treat the pressure ulcers carrying an infection or a necrotic tissue (Ohura, 2005). Though the iodine contained in these ointments has different chemical structures, the effects of these ointments are assumed to be equivalent. Despite the antimicrobial advantages obtained through its use, several potential disadvantages were observed in its clinical application for wound treatment with different and controversial results, so that practitioners are concerned with forms of iodine (Balin and Pratt, 2002; Oliveira and Santos, 2007).

In this study the equivalence of PI and CI was evaluated by conducting the reaction of these ointments toward L-tyrosine as a component of proteins and toward egg lecithin as a component of lipid membranes, and toward wound exudates. In pressure ulcer treatment appropriately controlling the moist environment is vitally important for promoting healing processes (Ohura, 2005). Ointment base could exhibit different water-absorbing properties and potentially affect the healing processes of pressure ulcers. Thus, the water absorption properties of these ointments

Abbreviations: CI, Cadexomer-iodine; PI, Povidone-iodine; PBS, Phosphate buffered saline.

[☆] This study was supported by Grants-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Culture, Sport, Science and Technology of Japan and by Grants-in-Aid from the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan.

* Corresponding author at: Department of Molecular and Cellular Pathobiology and Therapeutics, Nagoya City University Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tanabe-dori 3-1, Mizuho-ku, Nagoya 467-8603, Japan. Tel.: +81 52 836 3451; fax: +81 52 836 3454.

E-mail address: sfujii@phar.nagoya-cu.ac.jp (S. Fujii).

0378-5173/\$ - see front matter © 2009 Elsevier B.V. All rights reserved.
doi:10.1016/j.ijpharm.2009.01.007

Please cite this article in press as: Noda, Y., et al., Critical evaluation of cadexomer-iodine ointment and povidone-iodine sugar ointment. *Int J Pharm* (2009), doi:10.1016/j.ijpharm.2009.01.007

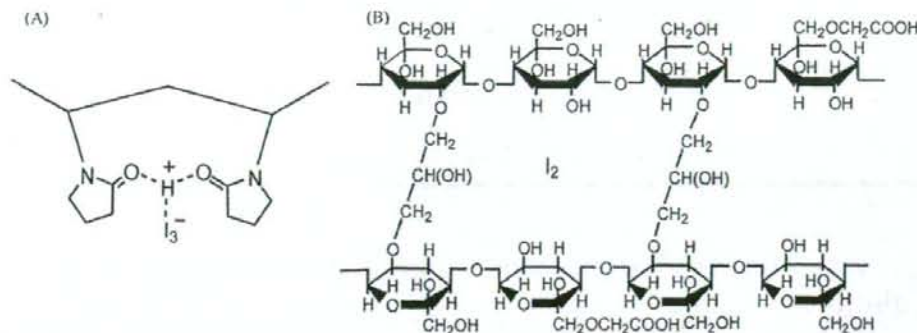


Fig. 1. The structures of povidone-iodine (PI) (A) and cadexomer-iodine (CI) (B).

were investigated to evaluate the influence on moist wound environment.

2. Materials and methods

2.1. Materials

L-Tyrosine was obtained from Wako Pure Chemical Co., Ltd. (Osaka, Japan). Egg lecithin (Coatsome NC-20) was obtained from NOF (Tokyo, Japan). U-PASTA™ was from Kowa Co., Ltd. (Nagoya, Japan). Cadex™ ointment was from Smith & Nephew Wound Management Corporation (Tokyo, Japan). By vacuum technique wound exudates were collected at Hekinan Municipal Hospital (Hekinan, Japan) from five wound parts of three patients who had been hospitalized for the treatment of pressure ulcers. The study was approved by the institutional ethical committee and the procedures were in accordance with the institutional guidelines and the principles of Declaration of Helsinki. Silicon film (thickness 0.10 mm) was from AS ONE Corporation (Osaka, Japan). Sodium iodide, sodium thiosulfate and seamless cellulose tubing as cellulose membrane were from Wako. Potassium iodide was from Nacalai Tesque, Inc. (Kyoto, Japan). Starch was from Kenei Pharmaceutical Co., Ltd. (Osaka, Japan). The phosphate buffered saline (PBS) was prepared by Mg/Ca ion free Dulbecco's prescription.

2.2. Methods

2.2.1. Assessment of the concentration of free-iodine in the aqueous solution

Apparent permeability of iodine has been found to depend on the activity of iodine in aqueous solution (Takikawa et al., 1978). For measurement of permeability of iodine through silicon membrane with a thickness of 0.1 mm, a permeation cell commercially available was employed. The permeation cell consisted of two compartments with a membrane between them. The area of membrane for permeation was 4.91 cm². Each compartment was agitated by a magnetic stirring bar. Twenty-five milliliters of a test solution and 10% NaI solution were placed in the donor and the receptor compartments, respectively. A water jacket of the permeation cell was maintained at 30 °C. One milliliter of samples was pipetted from the receptor solution, and assayed spectrophotometrically at 352 nm employing a spectrophotometer.

2.2.2. Reactivity of iodine toward L-tyrosine, lecithin and wound exudates

The L-tyrosine solution was prepared by dissolving the weight quantities with PBS at the concentration of 10 mM. The lecithin solution (10 mM) was prepared as a suspension of lipid particles.

In brief, lecithin was dissolved in chloroform and evaporated to thin lipid film on the wall of a round flask. PBS was added to the flask with ultrasonication to obtain the suspension of lipid particles. The solutions of iodine forms were prepared by dissolving the weight quantities with PBS. After diluting the iodine solution to specified concentrations 2 mL of the L-tyrosine, lecithin or wound exudates solution was added to 18 mL of an iodine solution. The mixture solution was stood in water bath at 30 °C. The time of mixing was taken as time 0: 2 mL of the solution was pipetted into 1 mL of 1% potassium iodide–0.5% starch solution. The available iodine in the solution was titrated with 0.01 M thiosulfate solution. Every reaction was run for at least three times and means of amount of iodine consumption were calculated.

2.2.3. Measurement of water absorption rate using Franz diffusion cell

The ointment sample (1.2 g) was applied to the cellulose membrane mounted on the Franz diffusion cell (Kawashima et al., 1993) and 20 mL of PBS was introduced to the bellow cell. A water jacket of the permeation cell was maintained at 30 °C. After every 15 min or 30 min the water level in the branch tube attached to the cell was checked and PBS was added to the cell from the edge of the branch tube by a syringe until the water level reached its original level. The weight change of the syringe by adding the medium was applied to the amount of absorbed water. Every test was run for at least three times and the means of the amount of water absorbed were calculated.

2.2.4. Measurement of water absorption capacity using agarose gel

The water absorption capacities were determined using the test method based upon British Standard Institute Test methods (2002) for primary wound dressings. In brief samples (1.5 g) were placed onto the surface of 10 g plugs of agar (2% prepared in PBS) and contained within the barrel of 50 mL syringes, from which the nozzle ends have been removed to form smooth-sided cylinders. Once the test materials were in place, the open ends of the cylinders were sealed with an impermeable cover. The sealed syringes were incubated for 24 h at 25 °C and the test materials were gently removed from the plugs and the cylinders were then re-weighed. Every test was run for at least three times and the percentage change in weight of each sample was calculated.

2.3. Data analysis

All experiments were conducted in triplicate at least. Data are expressed as means ± S.D.s. In experiments using wound exudates, each of the initial reaction rates of PI sugar ointment treated group

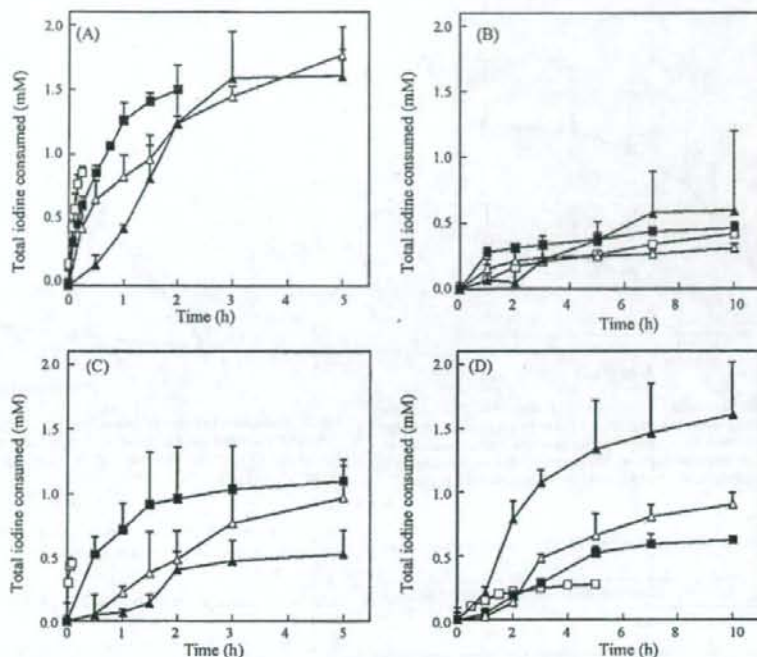


Fig. 2. (A) Reaction of PI sugar ointment with L-tyrosine. The elapsed time was plotted on the X axis and the concentration of the total iodine consumed was plotted on the Y axis. The initial iodine concentration was 0.02 (open square), 0.04 (closed square), 0.06 (open triangle), and 0.1 (closed triangle) w/v%. Results are expressed as means \pm S.D. ($n=3$). (B) Reaction of PI sugar ointment with lecithin. The elapsed time was plotted on the X axis and the concentration of the total iodine consumed was plotted on the Y axis. The initial iodine concentration was 0.02 (open square), 0.04 (closed square), 0.06 (open triangle) and 0.1 (closed triangle) w/v%. Results are expressed as means \pm S.D. ($n=3$). (C) Reaction of CI ointment with L-tyrosine. The elapsed time was plotted on the X axis and the concentration of the total iodine consumed was plotted on the Y axis. The initial iodine concentration was 0.01 (open square), 0.03 (closed square), 0.06 (open triangle), and 0.1 (closed triangle) w/v%. Results are expressed as means \pm S.D. ($n=3$). (D) Reaction of CI ointment with lecithin. The elapsed time was plotted on the X axis and the concentration of the total iodine consumed was plotted on the Y axis. The initial iodine concentration was 0.01 (open square), 0.03 (closed square), 0.06 (open triangle), and 0.1 (closed triangle) w/v%. Results are expressed as means \pm S.D. ($n=3$).

and of CI ointment treated group was obtained from a slope of the regression line calculated by least squares method. In experiments of water absorption, water absorption rate constants were obtained from a slope of the regression line in the same manner.

3. Results

3.1. Chemical properties of iodine coordinated in forms

3.1.1. Iodination of L-tyrosine and lecithin by PI sugar ointment

When PI sugar ointment was used as an iodinating reagent of L-tyrosine, iodine was rapidly consumed at relatively low iodine concentration (Fig. 2A). The amount of iodine consumption reached approximately 2 mM as the reaction toward 1 mM L-tyrosine approached its completion. In contrast the rate of the iodine consumption for lecithin was slower than that for L-tyrosine. Total amount of the iodine consumption in 10 h of reaction did not reach 1 mM. Its rate showed less dependence on the iodine concentration (Fig. 2B).

3.1.2. Iodination of L-tyrosine and lecithin by CI ointment

When CI ointment was used as an iodinating reagent of L-tyrosine, the manner of iodine consumption was similar to that of PI sugar ointment (Fig. 2C). The rate of iodine consumption was slower than that in PI sugar ointment and only 1 mM of iodine was consumed as the reaction toward 1 mM L-tyrosine approached its completion. In contrast, the manner of the iodine consumption for lecithin was markedly different from that for L-tyrosine.

Its rate increased depending on the iodine concentration (Fig. 2D). At 0.1 (w/v%) of iodine solution the amount of the iodine consumption appeared to reach approximately 2 mM as the reaction toward 1 mM lecithin approached its completion

3.1.3. Reactivity of PI sugar ointment and CI ointment toward wound exudates

The clinical characteristics of the wound exudates are shown in Table 1. PI sugar ointment or CI ointment was allowed to react with the wound exudates at the concentration of 0.1 (w/v%) iodine in PBS. Iodine in PI sugar ointment was consumed faster than that in CI ointment and reached completion of the reaction in 7 h (Fig. 3). Each of the initial reaction rates was obtained from a slope of the regression line in 3 h after time 0. The reaction rate of PI sugar ointment toward wound exudates was faster than that of CI ointment by 3.5-fold at the concentration of 0.1 (w/v%) iodine (Table 2).

3.1.4. Permeation patterns of free-iodine through the silicone membrane

Permeability of iodine through a silicone membrane was measured at 30°C. As shown in Fig. 4 only free-iodine I_2 was assumed

Table 1
Clinical characteristic of the wound exudates.

Specific gravity	1.035 \pm 0.003
Total protein (g/dL)	4.88 \pm 0.64
Cell counts (μL^{-1})	18,000 \pm 8,934

Each value represents the means \pm S.D. of values from quadruplicate.