

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

褥瘡における組織水分量調節分子群の解析とその意義

研究分担者 米田 雅彦 愛知県立大学看護学部・教授

研究要旨

記載潰瘍学で示された褥瘡肉芽組織の臨床的多様性は肉芽組織を形成する細胞外マトリックス分子の特性に依存している。また肉芽組織内の水分は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。いっぽう組織の主要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から得られる細胞外マトリックス分子に注目し、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 Derived-Hyaluronan Associate Protein) に注目した。慢性期褥瘡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機能を推定した。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。このことは研究分担者の古田が提唱している肉芽組織の水分量に注目した薬物療法を理解する上で重要である。

A. 研究目的

褥瘡の治癒過程はしばしば複雑で遅延する。故に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。これらの褥瘡の多様性を司るものは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とその制御過程での上皮化に焦点をあて、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、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、褥瘡病態を理解できるように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 S H A P (Serum Derived-Hyaluronan Associated Protein) を多角的に分析し、相互の関連を検討した。前年度と同様に創表面蛋白質を緩衝液にて抽出して以下の分析に用いた。ビオチン化リンクプロテインを用いた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ヒアルロン酸標品を創表面蛋白とインキュベートし、ゲルろ

過にて解析するアッセイを開発し、ヒアルロン酸分解活性を褥瘡の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に関しては免疫ブロット法にてその断片を検出した。パーシカンについてはビオチン化ヒアルロン酸を用いて結合能を調べた。さらに創面の部位に特異的にヒアルロン酸量の定量をおこなった。臨床像との関連を検討し、研究分担者の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た。

C. 研究結果

創表面のヒアルロン酸分解酵素の検出と解析では図3に示すように標品を用いたアッセイにおいてヒアルロン酸分解酵素が部位に特異的に検出されることが示された。特に記載潰瘍学的に浮腫性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。

褥瘡面からのSHAPの検出は炎症状態を示していると考えられる。褥瘡の中央部にSHAPが検出されたが、特に浮腫性肉芽組織において顕著であった(図2B)。SHAPは血漿成分のインター α トリプシンインヒビターのペプチドに由来するが、その存在は必ずしも血漿成分の共存を意味せず、浮腫性肉芽では褥瘡表面に血漿成分は少ないことが分かった。

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のヒアルロン酸結合分子が検出できたが、ヒアルロン酸結合能を認めなかった。ヒアルロン酸の定量では表1に示すように一定の傾向をみいだせなかった。

D. 考察

褥瘡創面の水分調節は治療方針を策定する重要因子のひとつである。そこで組織にリンクされた水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。また、同様に炎症時にあるSHAPのヒアルロン酸への結合はヒアルロン酸の組織への保持を阻害している可能性がある。つまり、肉芽組織はヒアルロン酸を過剰にとりこまないことによって一定の可塑性を保持していると考えられた。

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、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、SHAPの結合したヒアルロン酸の組織からの遊離を認めた。つまり組織にリンクされ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

- 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; 55; 468-472
- 松本尚子、大島弓子、米田雅彦：ヒト培養組織における加圧が細胞外マトリックスに及ぼす影響—褥瘡との関連。日本看護科学会誌 29(3), 3-12, 2009.
- 松本尚子、大島弓子、米田雅彦：褥瘡創面における細胞外マトリックス分解産物の解析。日本看護科学会誌 29(3), 13-23, 2009.

3. 学会発表

- 松本尚子、磯貝善蔵、古田勝経、折居千賀、

村澤裕介、大島弓子、米田雅彦：褥瘡の創表面に存在するフィブロネクチン分子の検出と病態との関連：第11回日本褥瘡学会。

2009. 9. 4-5、大阪

- 折居千賀、村澤裕介、松本尚子、米田雅彦、磯貝善蔵：褥瘡創面細胞外マトリックスを用いた病態解析：第11回日本褥瘡学会。

2009. 9. 4-5、大阪

- 磯貝善蔵、村澤裕介、折居千賀、古田勝経、加納宏行、米田雅彦：褥瘡の多様性を解析する創表面マトリックス分子マーカーの開発と意義：第60回日本皮膚科学会中部支部学術大会。2009. 10. 10-11、京都

- 松本尚子、高橋佳子、磯貝善蔵、古田勝経、米田雅彦：褥瘡創面における血清ヒアルロン酸結合タンパク質SHAPの存在について：第5回日本褥瘡学会中部地方会。2010. 2. 21、大府

H. 知的財産権の出願・登録状況

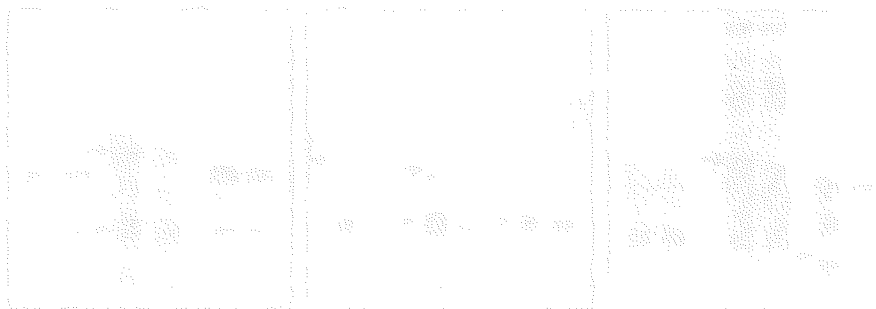
なし

研究協力者

松本 尚子（愛知県立大学看護学部）

高橋 佳子（愛知県立大学看護学部）

折居 千賀（愛知医科大学）



分担研究報告

褥瘡における組織水分量調節分子群の解析とその意義（担当：米田雅彦）

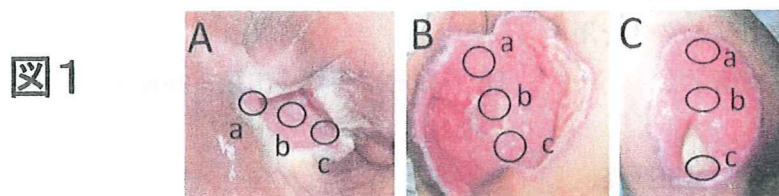


図1

図1 褥瘡創面と創面部位

対象者A、B、Cの褥瘡創面の画像である。画像内に示すa、b、cは9分割したガーゼの内、3箇所を選択し試料として用いた場所を示している。

図2 褥瘡創面におけるSHAP-HAの局在

対象者のガーゼから回収された試料を用いて褥瘡面でのSHAP-HA複合体形成をウェスタンブロット法と免疫抗体反応で調べた。使用した抗体は1/2000希釈した抗ITI抗体であり、HAase処理しないもの（-）と処理したもの（+）で反応を調べた。SHAP-HA複合体由来のバンドは未分解（矢印）、分解産物（アローヘッド）で示した。a、b、cは図1に示す3カ所を選択し試料として用いた場所を示している。

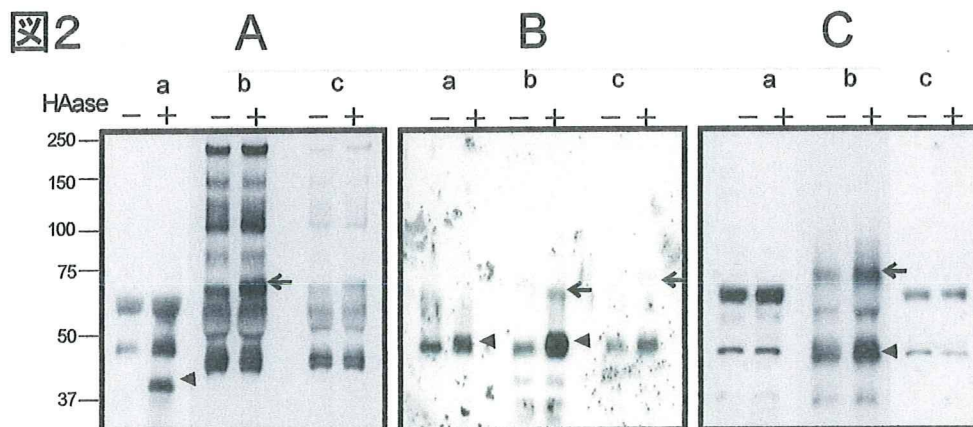


表1

対象者	部位	HA量(μg/ml)/タンパク量(μg/μl)
A	a	1.71
	b	5.89
	c	2.35
B	a	0.01
	b	0.01
	c	0.01
C	a	0.05
	b	1.15
	c	0.13

表1 ヒアルロン酸量測定結果

図3

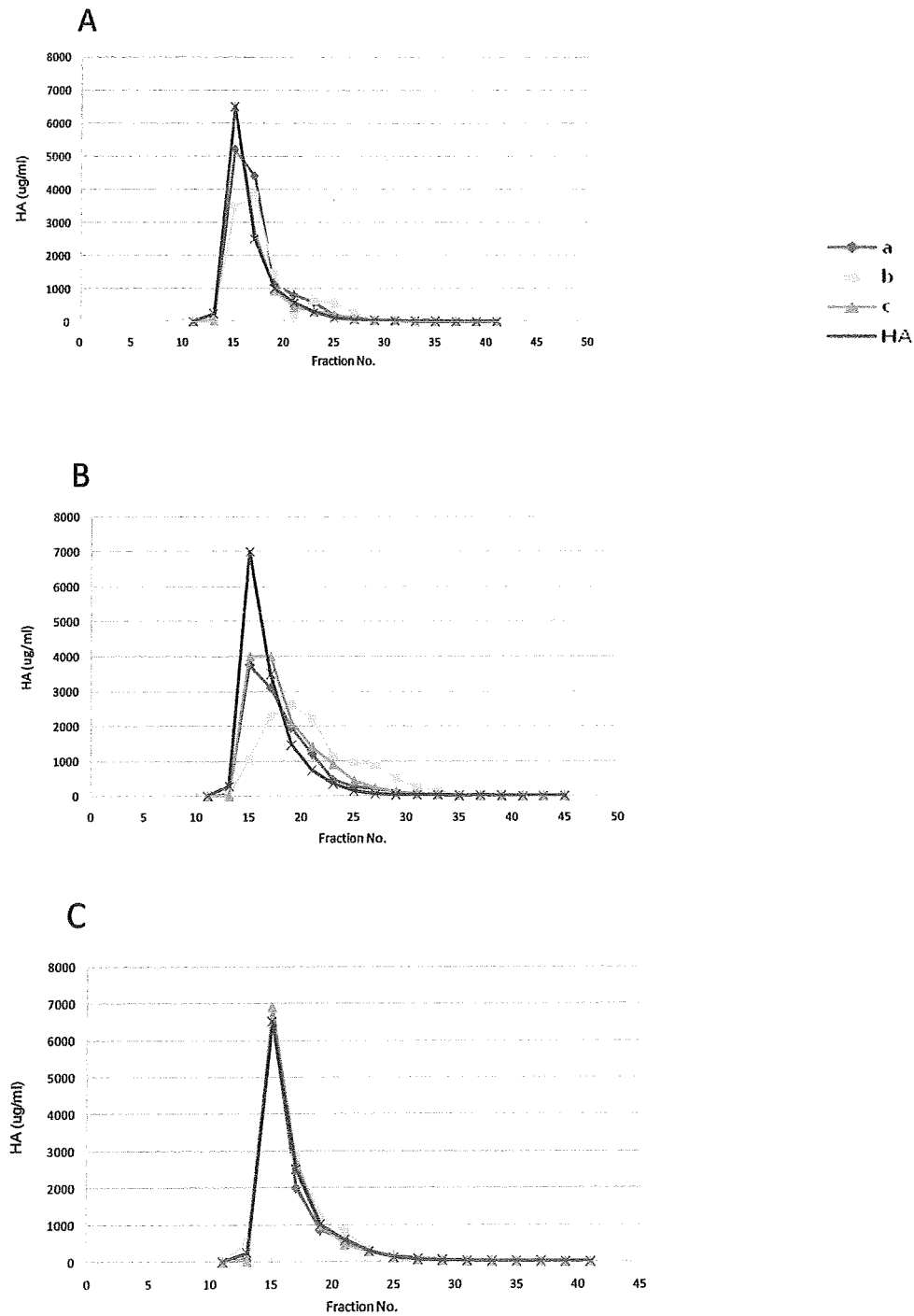


図3 褥瘡創面部位別のHA分解活性

対象者のガーゼから回収した試料に高分子HAを添加し、反応後ゲル濾過クロマトグラフィー (Superose 6) で、高分子HAの低分子化を調べた。A、B、Cおよびa、b、cは資料として用いた図1に示している各褥瘡の創面3カ所を示している。コントロールとして添加した高分子HAのみを使用した。

新規の褥瘡創表面蛋白解析方法とその意義

研究分担者 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

褥瘡の多様性を反映した診療体系確立に向けて創表面蛋白質を解析した。過年度の本研究の結果をもとに検体を採取し、蛋白質を抽出して解析に供した。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複数の手法を用いて多角的に解析した。さらに本年度は記載潰瘍学において見出された同一褥瘡創面内における多様性を解析するために潰瘍内での位置情報を保持した方法を新規に開発した。Wound Blotting と名づけた方法では臨床所見と分子情報を有機的にリンクさせることができた。さらにこの方法で得られる蛋白質パターンの由来を明らかにするために代表的な創組織における免疫染色をおこなった。褥瘡の多様な病態に関する客観的な情報が得られ、創面バイオマーカーの開発とそれを用いた診療体系の構築に役立った。

A. 研究目的

褥瘡の創評価は多様な病態診断と治療の選択に非常に重要である。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。そこで本分担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。またその位置情報を保持したまま解析する手法を開発した。

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。蛋白採取は主に研究代表者である磯貝がおこなった。また一部の検体採取に土岐総合病院皮膚科部長である、加納宏行氏から提供をうけた。加納氏の検体においては土岐総合病院倫理委員会にて承認を得た。また一部は研究分担者と共同研究をおこなった。

創面からの蛋白採取は従来どおりガーゼによ

る方法と滅菌綿棒による方法を用いた。創面蛋白を含むガーゼを6モル塩酸グアニジンを含む変性溶媒で抽出した。抽出した蛋白質はゲルろ過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。

さらに本年度は創内での多様性を解析する目的において Wound Blotting と名づけた新技術を開発した。まず処置後にガーゼで創面を軽く圧して創表面の蛋白質をガーゼ表面に採取する。その後、創縁をマーキングしたあとにウェット法での電気プロットに準じてニトロセルロース膜に転写する。ポンソーによる総蛋白染色によって転写を確認したあと、抗体によって染色した。ヒアルロン酸と弾性線維に結合するパーシカン分子のエピトープ特異的な抗体を用いて二重染色をおこない蛍光標識された2次抗体を用いて異なった分布を確認した。さらに蛋白質採取時の創臨床所見と重ね合わせた。

また得られた分子シグナルの意義を検討するために、創組織切片をパーシカンのヒアルロン酸

に結合するドメインと弾性線維に結合するドメインに対する抗体にて2重染色した。

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てその意義を検討し、特定の記載潰瘍学的な所見と関連づけた。

1) 分子篩クロマトをもちいた解析：

褥瘡肉芽組織において表面蛋白質を抽出し、変性溶媒下でセファロースCL2Bを用いた分子篩によって分画した。得られた各フラクションを種々の抗体を用いたドットプロットにて解析するとともに、ヒアルロン酸への結合アッセイをおこなった。褥瘡では予想されたように急性創傷とは異なった蛋白パターンを呈し、またボイド分画のパーシカン[®]はヒアルロン酸に結合しなかった。しかしこのボイド分画はパーシカンのヒアルロン酸結合ドメインG1に合し、新規にヒアルロン酸結合活性を獲得することが明らかになった。さらにボイド分画をロータリーシャドウイング電子顕微鏡にて解析した。

2) Wound Blotting と名づけた新技術の開発と有用性：

添付の図のように創の形にほぼ一致して転写した蛋白質を検出できた。すなわちこの方法において転写が確実に行われていることを示した。さらにパーシカンのヒアルロン酸に結合するドメインと弾性線維に結合するドメインに対する抗体にて2重染色すると図のように異なった分子の分布を示した(図1)。このことから、褥瘡の同一創内における多様性が示された。

3) 代表的な創組織における免疫染色結果：

病理組織標本をパーシカンのヒアルロン酸に結合するドメインと弾性線維に結合するドメインに対する抗体にて2重染色をおこうと図2に示すように創の肉芽組織の部位によってまったく異なる分布を呈した。特に2B1で染色される弾性線維結合ドメインでは肉芽組織の表層に比較的乏しかった(図2)。

D. 考察

本分担研究では創表面細胞外マトリックス蛋白解析を用いた褥瘡病態の分子診断をすすめ、慢性創傷の病態の多様性を解析していった。創表面から検出される細胞外マトリックス分子は創傷治癒過程において肉芽組織から遊離してきた分子であり、その意義と検出をすることで創の病態が類推可能になる。昨年度に引き続いて分子篩クロマトグラフィを用いた解析では高分子のマトリックス凝集体の存在も示された。さらに我々が新規に開発したWound Blottingによる解析においては創内での位置情報による違いを客観的に示すことができた。また代表的なこれらの解析を発信していくことで、診療に重要な「創をよく観察する」ことが理解されやすくなると考えられた。

E. 結論

褥瘡創表面細胞外マトリックス蛋白解析において急性創傷との違いが示された。さらに成長因子や接着蛋白質の機能を説明しうる分子断片の検出と、創所見との関連性を見出した。また新技術の開発によって創内での多様性を客観的に示すことができた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 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 55; 468-472

2. 学会発表

- 村澤裕介、折居千賀、渡辺研、磯貝善蔵：褥瘡病態把握の為の「創面蛋白の電気魚拓」技術とその有用性：第11回日本褥瘡学会。2009.9.4-5、大阪
- Yusuke Murasawa, Orii Chika, Ken Watanabe,

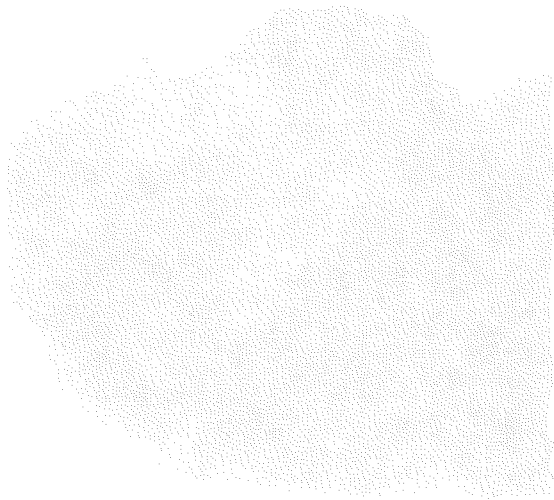
Zenzo Isogai: G1 domain of versican in transitional granulation tissue in pressure ulcer. 8th Pan Pacific Connective Tissue Societies Symposium., 2009. 6. 4-7., Yokosuka, Japan

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

研究協力者

村澤 裕介 (国立長寿医療センター)

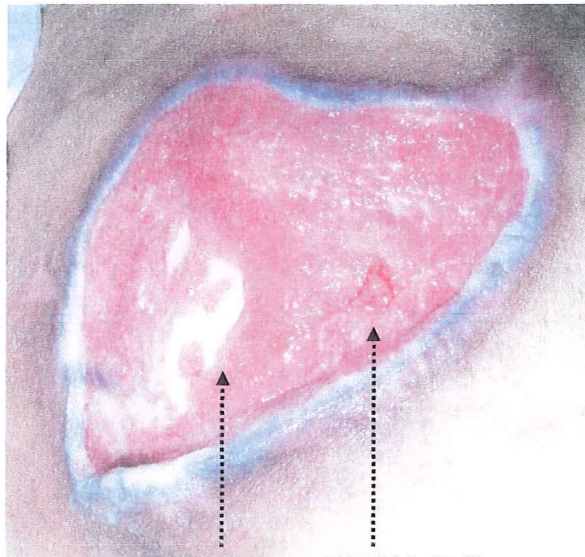
加納 宏行 (土岐総合病院、岐阜大学)



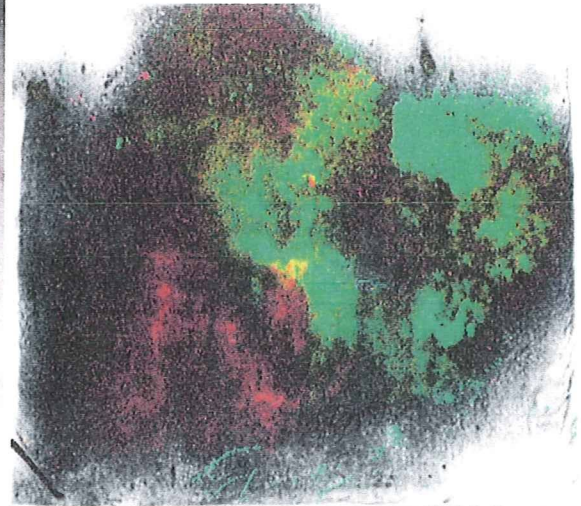
この論文は、
2009年6月4-7日、
Yokosuka, Japan
で開催された
8th Pan Pacific
Connective Tissue
Societies Symposium.
にて発表された。
発表の場では、
この論文の内容を
詳しく説明した。
また、この論文
の内容を、
2009年6月4-7日、
Yokosuka, Japan
で開催された
8th Pan Pacific
Connective Tissue
Societies Symposium.
にて発表された。
発表の場では、
この論文の内容を
詳しく説明した。
また、この論文
の内容を、

この論文は、
2009年6月4-7日、
Yokosuka, Japan
で開催された
8th Pan Pacific
Connective Tissue
Societies Symposium.
にて発表された。
発表の場では、
この論文の内容を
詳しく説明した。
また、この論文
の内容を、
2009年6月4-7日、
Yokosuka, Japan
で開催された
8th Pan Pacific
Connective Tissue
Societies Symposium.
にて発表された。
発表の場では、
この論文の内容を
詳しく説明した。
また、この論文
の内容を、

分担研究報告
新規の褥瘡創表面蛋白解析方法とその意義
(担当：渡辺 研)



摩擦性肉芽 浮腫性肉芽



異なる抗体で2重染色
臨床所見と対比できる

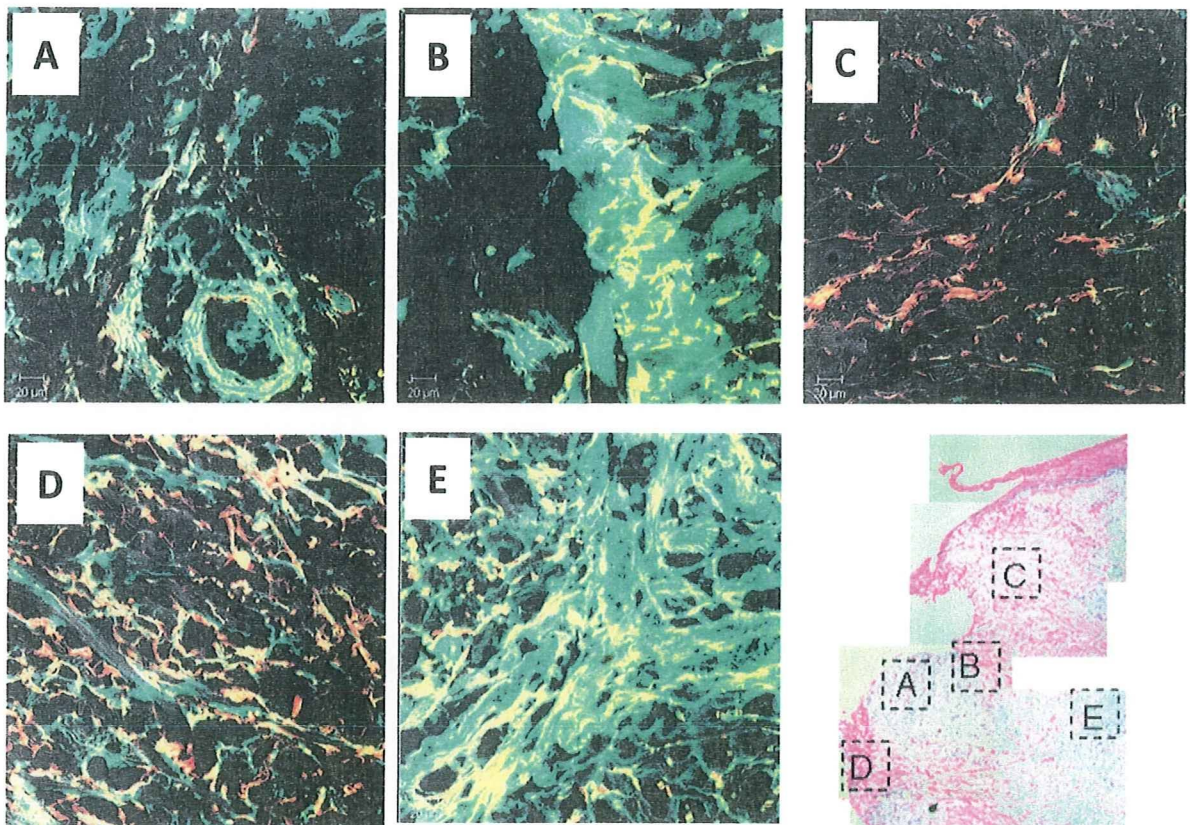
Red= anti G3 versican
Green=anti G1 versican
Black=(total proteins)



ポンソー染色

Wound Blotting:
創表面蛋白質をガーゼから直接ニトロセルロースに転写して抗体で解析

摩擦性肉芽にG3が部位特異的に検出され、肉芽組織の損傷をモニターできた。



Red=2B1; G3ドメイン
green=6084; G1ドメイン

創組織におけるパーシカンG1とG3の分布

成熟した部位D、Cにおいては同じ分布であるが、未熟な部位A、EではG1が有意で線維形成が少ない。摩擦性の肉芽組織ではより成熟した部分に局在するG3ドメインが表面に露出されることが示唆された。

褥瘡の肉芽組織における記載潰瘍学所見と病理組織学的所見との相関

研究分担者 森 将晏 岡山県立大学・保健福祉学部・教授

研究要旨

記載潰瘍学に基づいた褥瘡肉芽組織の分類を病理組織学的に検討した。褥瘡の肉芽組織を5パターンに分類した。細顆粒状の良好な肉芽は、薄い壊死層の下に多くの新生血管、線維芽細胞および炎症細胞浸潤のある肉芽層、最下層に線維化した層がみられる3層構造パターンを示した。浮腫性の粗大顆粒状の肉芽は組織学的には血管やリンパ管が疎で、間質の浮腫が強いパターンを示した。乾燥した平坦な肉芽、茸状や舌状の肉芽、硬化した卵状の肉芽は肉芽層が薄く、肉芽内の血管や炎症細胞が減少し、軽い線維化が見られるか、肉芽層がほとんどない硝子化したパターンがみられた。各パターンが記載潰瘍学に基づいた肉眼的所見と同様な病態を示しており、褥瘡の肉芽の病態理解に貢献できるものと考えられた。

A. 研究目的

褥瘡は肉眼的に多彩な像を示しており、その病態は多様である。本研究班においては褥瘡病態の多様性を記載潰瘍学という臨床的なアプローチならびに創面蛋白質解析という生化学的なアプローチの両面から研究してきた。皮下脂肪組織、筋肉、腱および骨に達する重度の褥瘡では肉芽形成を経て癒合治癒する。その過程においては肉芽組織の増生から収縮とともに上皮化のプロセスが時間、空間的に一定の過程を経ておこる。これら重度の褥瘡は創面の色調変化に着目した色調分類が治癒過程を把握するものとして使用されている。本邦で使用されている褥瘡の状態を評価するツールのDESIGN、PUSH、PSSTは良性肉芽組織の創からみた面積が重要視されている。しかし、理論的には赤色の良好な肉芽組織が増生した後に上皮化に向かうが、実際の褥瘡肉芽組織の病態は多様で複雑である。現状では褥瘡の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る。

本研究班においては褥瘡の病態の多様性を明らかにするために、今まで漠然と良好肉芽または不良肉芽と定義されていた肉芽組織の所見に着

目し、皮膚科学的手法を用いて、褥瘡の肉芽組織を詳細に記載できるよう定義（記載潰瘍学）し、その臨床的な意義を述べた。しかしながら、この記載潰瘍学に基づいた褥瘡の肉芽組織分類に合わせた病理組織学的な検討はされていない。

そこで本研究は、褥瘡の肉芽組織の病態を記載潰瘍学に基づいた肉眼的所見と合わせて病理組織学的な検討をおこない、褥瘡の肉芽組織の分類を試みた。

B. 研究方法

1999年から2001年の間に皮弁術や不良肉芽切除などの外科的治療を施行した患者30名から切除した44病変の褥瘡潰瘍組織（岡山県立大学にて保管）と2004年から2009年の間に外科的に切除した褥瘡切除組織（国立長寿医療センターにて保管）を病理組織学的に検討した。

肉眼的所見は研究分担者である皮膚科医によって、本研究班で開発した記載潰瘍学に基づき、肉芽の形態を評価した。

倫理的配慮

指針に従い、病理組織標本ならびに臨床データ

は記号化し、個人情報保護をおこなった。

C. 研究結果

記載潰瘍学的(肉眼的)所見

記載潰瘍学的所見に基づいて肉眼的に褥瘡の肉芽組織の形態を細顆粒状、粗大顆粒状、平坦、茸状、舌状、卵状に分類し、肉芽の性状をそれぞれ良好、浮腫性、乾燥、混合、硬化、壊死に大別した(図1)。一つの創内でも記載潰瘍学的所見が混在している部位があり、それに対応する所見を得た。

病理組織学的所見

森らの慢性褥瘡潰瘍組織の分類を参考に、褥瘡の肉芽組織を病理組織学的に5パターンに分類した(図2)。

パターン1は薄い壊死層の下に多くの新生血管、線維芽細胞および炎症細胞浸潤のある肉芽層、最下層にコラーゲンが豊富な線維化した層がみられる。この組織像は記載潰瘍学での細顆粒状の良好な肉芽にみられた。

パターン1'はパターン1の像に類似しているが、肉芽層が浸出液で腫大化し、拡張した血管がみられた。この組織像は記載潰瘍学での浮腫性の粗大顆粒状の肉芽、茸状や舌状の肉芽の一部にみられた。

パターン1''は薄い肉芽層内に線維芽細胞、炎症細胞がわずかにみられ、肉芽部に軽い線維化が見られる。この組織像は記載潰瘍学での乾燥した平坦な肉芽、茸状や舌状の肉芽、硬化した卵状の肉芽の一部にみられた。

パターン3は表層に壊死は無く、肉芽層もほとんど見られず。炎症細胞や血管が消失し、線維芽細胞などの細胞成分も非常に少なく、全体が硝子化している。この像は記載潰瘍学での硬化した卵状の肉芽や乾燥した平坦な肉芽の一部、茸状や舌状の肉芽の一部にみられた。

パターン2は肉芽層がほとんどみられず、厚い壊死組織層の下に線維化した層がみられた。この像は記載潰瘍学での残存した壊死組織がある肉芽にみられた。

D. 考察

適切な診療をおこなうためにもこのような多様な病態を理解することが必要である。実際の褥瘡診療において、いわゆる「不良肉芽」は、様々な要因で

図1 記載潰瘍学に基づいた肉眼的肉芽組織の分類

肉芽の形態	肉芽の性状	所見
細顆粒状	良好	小型で均一な顆粒状。規則的な出血点が見られる。紅色調。
粗大顆粒状	浮腫	肉芽が粗大顆粒状。不規則な大きさで、いぼ状に形状変化したもの。
平坦	乾燥	肉芽が平面状なもの。
茸状・舌状	混合	周期的肉芽と密着せず、孤立性に有茎状、舌状の形状をとるもの。
卵状	硬化	通常白色、硬くなった肉芽。出血しにくい。
残存した壊死組織		壊死組織が附着している肉眼的にデブリートマンが必要な肉芽

図2 肉芽組織の病理組織学的分類

分類	全体	筋線維芽細胞 (α -SMA)	新生血管 リンパ管 (CD31, D2-40)
パターン1	薄い壊死層の下に多数の新生血管、線維芽細胞、炎症細胞浸潤のある肉芽層、最下層に線維化層がある	主に肉芽層に接する線維化層に多数見られる。	多数の血管とリンパ管が肉芽表層までみられる 血管数>リンパ管数
パターン1'	肉芽層が浸出液で腫大化し、拡張した血管がみられる。	主に肉芽層に接する線維化層に多数見られる。	血管の密度は減少、リンパ管はほとんどみられない
パターン1''	肉芽は薄く、肉芽内に軽い線維化がみられる。	肉芽下部および線維化層上部に見られるが、減少している	血管は減少傾向を示し、リンパ管は表層までみられるが、管腔は拡張気味
パターン3	表面に壊死は無く、肉芽もほとんど見られず。炎症細胞や血管が消失し、線維芽細胞などの細胞成分も非常に少なく、全体が硝子化している。	消失	血管、リンパ管は著明に減少し、リンパ管は表層までみられるが、管腔は拡張気味
パターン2	肉芽は消失し、厚い壊死組織の下に直接線維化層が接している。	壊死組織に接して見られ、一部壊死に陥りつつある。	壊死に陥り、一部に痕跡が見られる

良好な肉芽組織が悪化した状態や、浮腫性の肉芽や乾燥した肉芽などの良好でない肉芽の総称であつたりすることが多い。これでは、病態を正しく捉えて診療をしていくことは困難であると考えられる。このため、多様な病態をもち、一つの創内でも様々な肉芽所見が混在してみられる褥瘡において、本研究班で開発した記載潰瘍学に基づいた肉芽組織の分類は有用であると考えられる。

本研究においては、この記載潰瘍学に基づいた肉芽組織の分類が病理組織学的にどのような形態を示すかを検討した。浮腫性の粗大顆粒状の肉芽は病理組織学的にも浸出液で肉芽層が腫大化しており、過度な浸出液の吸水をする必要があると考えられる。

一方、乾燥傾向にある平坦な肉芽、茸状や舌状の肉芽、硬化した卵状の肉芽の一部は肉芽組織を増殖させる線維芽細胞や炎症細胞が少ない肉芽であり、肉芽層も薄く、創の湿潤環境が不適切であることが考えられる。さらに、肉芽組織の増殖がうまくいかない状況が繰返されることで、肉芽組織が線維化、硝子化を起し、難治性となつていく過程が考えられる。壊死組織がある肉芽は、肉芽層が壊死に陥っていることから、肉芽が壊死に陥らないように除圧やずれの予防等のケアに注意し、肉芽の発達を促す必要がある。

E. 結論

記載潰瘍学的所見と病理組織学的所見の関連を理解することで褥瘡の創所見を系統的に理解することが可能であると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- ・ 森 将晏、遠藤明美、押本由美：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成とその効果の検討. 日本褥瘡学会誌 10(1):23-27 2009
- ・ 森 将晏、遠藤明美、押本由美、道繁祐紀恵、小山恵美子：ずれや圧迫の少ない背上げ機構を持つベッドの開発その効果の検討. 人間工学 45(3):163-139 2009
- ・ 押本由美、森 将晏：繰り返しの圧迫およびずれ負荷が褥瘡形成に与える影響：日本褥瘡学会誌 11(2):118-124 2009
- ・ 遠藤明美、森 将晏：上敷型体圧分散ウレタンマット使用時の背上げ方法の検討：日本褥瘡学会誌 12(1)掲載予定
- ・ 道繁祐紀恵、森 将晏：除圧を考慮した側臥位角度の検証—標準マットレスとフォームマットレスを用いて—：日本褥瘡学会誌 12(1)掲載予定
- ・ 森 将晏、押本由美、小山恵美子：慢性褥瘡潰瘍における加齢関連蛋白(p16)の発現について. 日本褥瘡学会誌 12(2)掲載予定

2. 学会発表

- ・ 森 将晏、小山恵美子：慢性褥瘡潰瘍における加齢関連蛋白(p16)の発現について. 第11回日本褥瘡学会学術集会. 2009.9.4-5, 大阪
- ・ 森 将晏：わかりやすい褥瘡の病理学. 第6回日本褥瘡学会中部地方会学術集会：ランチョンセミナー. 2010.2.21, 大府

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究協力者

押本 由美 (国立長寿医療センター)

小山 恵美子 (倉敷平成病院)

滲出液吸着作用をもつ褥瘡治療用外用薬の吸水性の評価に関する研究

研究分担者 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

研究要旨

高齢者の褥瘡・皮膚潰瘍の治療の基礎となる外用薬の薬理学、薬剤学的知見が必要である。上皮組織を欠き脆弱で、血管透過性が亢進して血漿成分が漏出した肉芽組織に直接的に作用する外用薬の吸水性に関する基盤的検討を行い、褥瘡治療外用薬の物理化学的な性質の解析ではフランツのセルの系を用いて軟膏剤の吸水性を吸水速度と容量のふたつの面から評価する方法を開発した。この方法を用いることで、異なった外用剤の吸水性を客観的に評価することが可能になった。さらに吸水性の外用薬基剤であるマクロゴールを褥瘡の創面滲出液と反応させるとマトリックスメタロプロテアーゼ9の活性を低下させることを明らかにした。

A. 研究目的

軟膏の成分の約99%は基剤であり、有効成分は1%に満たない。軟膏の吸水量は軟膏基剤による。軟膏基剤の分類は疎水性基剤、乳剤性基剤、水溶性基剤、懸濁性基剤という大分類は存在するものの、同じ分類に属している基剤の吸水能力の比較などは注目されてこなかった。複数の基剤を混合している軟膏も多く、さらに臨床の場で複数の軟膏を混ぜて用いる事もある。本実験の目的は各軟膏の吸水性を簡便な系によって評価する試験法の確立である。

B. 研究方法

（基剤の吸水性の評価）

100k 分子量カットの透析膜を隔壁としたフランツセルの下側に5%BSA-Hanks 緩衝液を入れ、上側に軟膏を各々1.2g 装着させた。32℃の条件で各製剤が吸収した水の量を経時的に計測した。

（マトリックスメタロプロテアーゼ活性）
ザイモグラフィーを用いた

（倫理面への配慮）

本研究は、市販の試薬類を用いた *in vitro* の実験であるため、倫理面への配慮は必要としない。

C. 研究結果

ユーパスタとその後発品の吸水速度を比べたところ、ユーパスタの吸水速度が一番大きかった。ユーパスタ吸水速度を100%とすると、後発品の吸水速度は低下していた。ユーパスタや一部の後発品はpHが変化しても吸水速度がほとんど変わらなかった一方、pHが変化すると吸水速度が大きく変化する後発品もあった。マクロゴールが基剤であるユーパスタが一定の吸水速度を保ったままだった。水溶性軟膏はすべてマクロゴール基剤だが、吸水速度は大きく異なった。また、pHによって吸水速度が変化する軟膏もあれば、ほとんど変化しない軟膏もあった。さらに吸水性の外用薬基剤マクロゴールを褥瘡の創面滲出液と反応させるとマトリックスメタロプロテアーゼ9の活性を低下させた。

D. 考察

ユーパスタと後発品では有効成分は同じであるものの、基剤の配合や添加物が異なるため吸水速度に差が現れたと考えられる。後発医薬品は先発品と生物学的同等性があるかの試験に合格すると認可される。局所皮膚適応製剤は生物学的同等性試験の例が上げられているものの、「上述する試験法以外で適切なものがあれば、それを採用しても差し支えない」と厳密な指定がない。そのため後発医薬品として認可されても、吸水性の違いから、褥瘡治療においては同様の効果を発揮できるとは限らないと考えられた。

E. 結論

フランツのセルの系を用いて褥瘡治療外用薬の吸水性を吸水速度と容量のふたつの面から評価する方法を開発した。この方法を用いることで、異なった外用剤の吸水性を客観的に評価することが可能になった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Noda Y, Fujii K, Fujii S. Critical evaluation of cadexomer-iodine ointment and povidone-iodine sugar ointment. *International Journal of Pharmaceutics* 2009; 372:85-90
- Mizuno K, Wachi H, Isogai Z, Yoneda M, Fujii S, Watanabe K, Seyama Y. Proteolytic release of latent transforming growth factor- β (TGF- β) binding protein-1 (LTBP-1) fragment in wound healing. *J*

Health Sci. 2009; 55: 468-472

4. 学会発表

- 野田康弘, 栗田佳祐, 智谷尊史, 藤井 聡: ポビドンヨードシュガー製剤の先発品と後発品の同等性を評価する試験法の確立 平成21年度日本薬学会東海支部例会. 2009. 7. 11 名古屋
- 野田康弘, 藤井 聡: 各種ヨウ素製剤のヨウ素の放出性と吸水性 第11回日本褥瘡学会学術集会. 2009. 9. 5 大阪
- 野田康弘, 藤井 聡: 褥瘡治療用ヨウ素製剤の同等性の評価に関する研究 第29回褥瘡研究会 2010. 2. 16, 名古屋
- 野田 康弘, 藤井 聡, 鈴木 匡: 薬学部生涯教育における褥瘡実習の薬剤師に対する教育効果: 第6回日本褥瘡学会中部地方会学術集会 2010. 2. 21, 大府
- 藤井 聡, 浅井萌子, 榊原大輔, 岡田 浩美, 岩城壮一郎: SIPは低酸素下におけるHIF-1 α を介したPAI-1発現を増加させる: 創部低酸素状態の病態解明を目指して 第6回日本褥瘡学会中部地方会学術集会 2010. 2. 21, 大府
- 野田 康弘, 藤井 聡, 鈴木 匡: 薬剤師の褥瘡治療への参画を支援する生涯教育の試み 日本薬学会第130年会: 2010. 3. 28, 岡山

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究協力者

野田 康弘 (金城学院大学)

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名・ページ・出版年
永井弥生、磯貝善蔵、古田勝経、石川治	褥瘡に対する記載潰瘍学の確立とその有用性	日本褥瘡学会誌	11(2), 105-111, 2009
磯貝善蔵	褥瘡	日本医師会雑誌特別号(高齢者診療マニュアル)	138, 266-267, 2009
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	51, 187-190, 2009
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	55; 468-472, 2009
磯貝善蔵	外用薬	看護技術	56(1), 81-86, 2010
磯貝善蔵	多彩な褥瘡病変と褥瘡と間違いやすい皮膚病変	薬局	61(3), 353-357, 2010
石川 治	皮膚の傷の治療 やけど・床ずれ： (添付書類になし)	からだの科学	262:113-117, 2009
永井弥生、長谷川道子、田子修、岡田悦子、天野博雄、石川 治	十全大補湯(TJ-48)の褥瘡に対する効果の検討	漢方と最新治療	18143-149, 2009
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	21(2) 23-28, 2009
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	21(2) 35-41, 2009
古田勝経	日本褥瘡学会認定師制度	月刊薬事	21(2) 67-70, 2009
古田勝経	褥瘡治療薬；外用薬の選び方・使い方	褥瘡会誌	11(2) : 92-100, 2009
古田勝経	褥瘡薬物療法の知識と技術	都薬雑誌	31(8) : 5-15, 2009
古田勝経	褥瘡治療薬の適正な選び方・効果的な使い方の理論	薬局	34(10), 370-379, 2010
松本尚子、大島弓子、米田雅彦	ヒト培養組織における加圧が細胞外マトリックスに及ぼす影響—褥瘡との関連	日本看護科学会誌	29(3) : 3-12, 2009

松本尚子、大島弓子、米田雅彦	褥瘡創面における細胞外マトリックス分解産物の解析	日本看護科学会誌	29(3) :13-23, 2009
森 将晏、遠藤明美、押本由美	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成とその効果の検討.	日本褥瘡学会誌	10(1) :23-27, 2009
森 将晏、遠藤明美、押本由美、道繁祐紀恵、小山恵美子	ずれや圧迫の少ない背上げ機構を持つベッドの開発その効果の検討	人間工学	45(3) :163-139 2009
押本由美、森 将晏	繰り返しの圧迫およびずれ負荷が褥瘡形成に与える影響	日本褥瘡学会誌	11(2) :118-124, 2009
遠藤明美、森 将晏	上敷型体圧分散ウレタンマット使用時の背上げ方法の検討	日本褥瘡学会誌	2010 (掲載予定)
道繁祐紀恵、森 将晏	除圧を考慮した側臥位角度の検証—標準マットレスとフォームマットレスを用いて	日本褥瘡学会誌	2010 (掲載予定)
森 将晏、押本由美、小山恵美子	慢性褥瘡潰瘍における加齢関連蛋白(p16)の発現について	日本褥瘡学会誌	2010 (掲載予定)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名・出版地	出版年・ページ
磯貝善蔵	高齢者の特徴と高齢期に多い疾病および障害：皮膚科 (添付書類になし)	介護支援専門員テキスト編集委員会	5訂 介護支援専門員基本テキスト 第3巻高齢者保健医療・福祉の基礎知識	長寿社会開発センター	43-45, 2009
石川 治	Q&A高齢者の皮膚疾患とケア (添付書類になし)	石川 治	Q&A 高齢者の皮膚疾患とケア	中外医学社 (東京)	2009
石川 治	褥瘡の治療と創面環境調整 (Wound bed preparation) (添付書類になし)	宮地良樹、溝上祐子	褥瘡治療・ケアトータルガイド	東京：照林社	110-111, 2009
古田勝経	局所治療における薬剤選択の考え方	宮地良樹、溝上祐子	褥瘡治療・ケアトータルガイド	東京：照林社	124-129, 2009
古田勝経	褥瘡 (添付書類になし)		病気と薬パーフェクト BOOK 薬局増刊号,	南山堂(東京)	1154-1157, 2009

IV. 研究成果の刊行物・別刷

原著

褥瘡に対する記載潰瘍学の確立とその有用性

永井 弥生¹⁾・磯貝 善蔵²⁾・古田 勝経³⁾・石川 治¹⁾

Establishment of descriptive ulcer dermatology for pressure ulcer

Yayoi Nagai, MD, PhD¹⁾; Zenzo Isogai, MD, PhD²⁾; Katsunori Furuta, BS³⁾ and Osamu Ishikawa, MD, PhD¹⁾¹⁾ Department of Dermatology, Gunma University Graduate School of Medicine²⁾ Department of Advanced Medicine, National Center for Geriatrics and Gerontology³⁾ Department of Pharmacology, National Center for Geriatrics and Gerontology

Abstract

We propose “descriptive ulcer dermatology” as a discipline in clinical practice to describe pressure ulcers in detail, with special emphasis on granulation tissue findings. Clinical descriptions of pressure ulcers are organized in the following order: “residual tissue”, “granulation tissue”, “wound edge” and “surrounding skin”. It is particularly important to describe the shape and characteristics of the granulation tissue in detail. The shape is described as “finely granular”, “coarsely granular”, “flat”, or “polypoid or tongue-like”. The characteristics are described as “edematous”, “sclerotic” or “dry”. Furthermore, each finding is etiologically explained. Good granulation tissue is also defined descriptively. Descriptive ulcer dermatology is a clinical discipline that will lead to the best choice of local treatment.

Key words : pressure ulcer, granulation tissue, descriptive ulcer dermatology

要 旨

褥瘡, 特に肉芽の所見を詳細に記載する「記載潰瘍学」の確立を試みた。局所所見を「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」の順に体系化した。特に肉芽の形態・性状については詳細な記述が必要と考え, 細顆粒状, 粗大顆粒状, 平坦, 舌状・茸状などの形態, 浮腫状, 硬化性, 乾燥性などの性状, さらに光沢, 肉芽内紫斑, 表面の偽膜の有無等の記載を整理し, 各所見の病態解釈を行った。さらに, 「良好な肉芽」を記載学的に定義した。記載潰瘍学は, 客観的に個々の潰瘍所見とその意味するところを捉え, 理論的に導かれる治療へ繋げる橋渡しの役目を果たすものである。

キーワード: 褥瘡, 肉芽組織, 記載潰瘍学

緒 言

皮膚科医は皮膚疾患を診断する際に, 皮疹の「現症」をとり, それを記載する。たとえば丘疹, 紅斑, 紫斑, 結節, 水疱, びらん, 潰瘍といった皮疹の性状を示す用語を用い, さらに, その色調, 大きさ, 形態, 分布

などを詳細に観察・記載し, 診断へいたるという手順をとっている。

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という点は否めない。経験に基づいて判断してきた肉芽の所見を仔細に

¹⁾ 群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学 ²⁾ 国立長寿医療センター先端医療部先端薬物療法科 原稿受領日 2008年10月20日

³⁾ 国立長寿医療センター薬剤部

別刷請求先: 永井 弥生

群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学 〒371-8511 群馬県前橋市昭和町3-19-22

E-mail: yanagai@showa.gunma-u.ac.jp