

- Gerontology 32(3) : 158 - 166, 1986.
- 3) Denis Colin, Pierre Abraham et al: Comparison of 90° and 30° Laterally Inclined Position in the Prevention of Pressure Ulcers Using Transcutaneous Oxygen and Carbon Dioxide Pressures. Adv Wound Care : 35 - 38, 1996.
 - 4) Defloor T: The effect of position and mattress on interface pressure. Applied Nursing Research 13 (1) : 2 - 11, 2000.
 - 5) 真田弘美 : 褥瘡の予防・治療のガイドライン (厚生省老人福祉局老人保健課監修). 第1版, 褥瘡の予防・治療指針査定のための研究報告書 12-17. 照林社, 東京, 2002.
 - 6) 須釜淳子ほか (日本褥瘡学会実態調査委員会) : 療養場所別褥瘡有病者の特徴およびケアと局所管理. 日本褥瘡学会誌 10(4) : 573 ~ 585, 2008
 - 7) 長野信子 : ポジショニング技術. 看護技術 50(1) : 5 - 8, 2004
 - 8) 塚田貴子ほか : 仰臥位と30度側臥位における体接触圧の検討. 宮城大学看護学部紀要 5(1) : 102 - 107, 2002
 - 9) Bryant RA : Acute and chronic wounds, nursing management, 110 - 114, Mosby-Year Book, Inc, 1992
 - 10) Reuler JB : The pressure sore; Patho-physiology and principles of Management. Annuals of Internal Medicine, 94(45) : 661 - 666, 1981

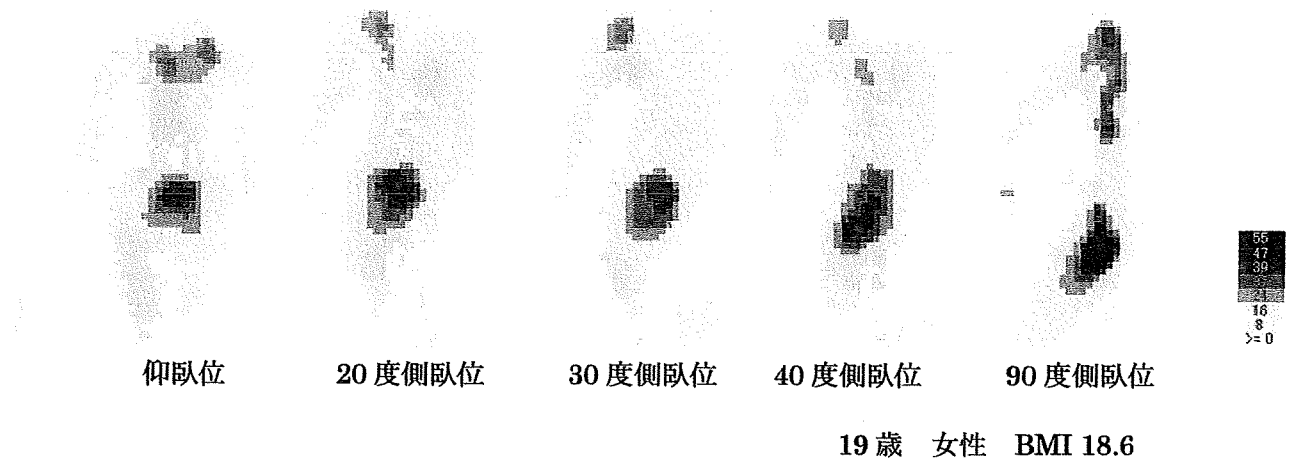


図1. 標準マットレスにおける体圧分布

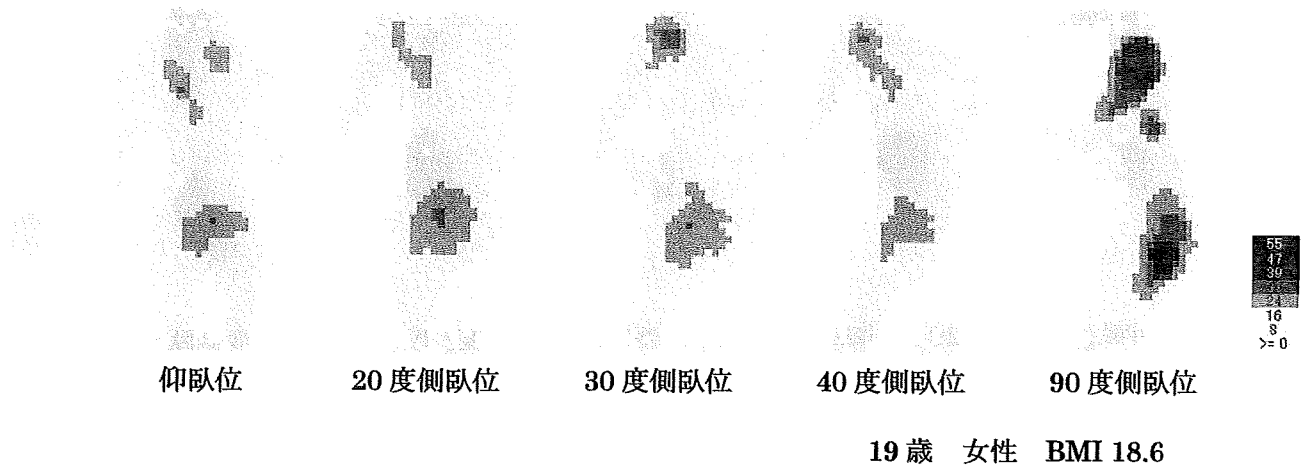


図2. フォームマットレスにおける体圧分布

表1. 被験者の身体的特徴

	全体 (n=32) Mean ± SD	男性 (n=16) Mean ± SD	女性 (n=16) Mean ± SD
年齢(歳)	20.5±1.4	20.7±1.4	20.4±1.5
身長(cm)	160±0.1	171.4±5.8	158±6.2
体重(kg)	56.3±15.5	64.6±12.7	50.3±7.2
BMI	20.5±4.4	21.9±3.4	20.2±1.8

表2. 標準マットレスにおける角度ごとの各部位のピーク圧力 (mmHg) n=32

部位	背部	臀部	仙骨部
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
仰臥位	40.1 ± 7.7	61.2 ± 10.2	39.8 ± 28.6
20度	41.4 ± 7.7	67.0 ± 9.9	15.0 ± 12.9
30度	42.1 ± 8.3	64.0 ± 10.3	7.5 ± 6.1
40度	42.6 ± 11.1	62.8 ± 10.9	5.2 ± 6.0
90度	63.7 ± 9.4	76.8 ± 3.6	2.7 ± 2.8

***P < 0.001

表3.フォームマットレスにおける角度ごとの各部位のピーク圧力(mmHg) n=32

部位	背部		臀部		仙骨部	
	Mean	± SD	Mean	± SD	Mean	± SD
仰臥位	23.1	±4.1	24.6	±4.9	24.0	±12.8
20度	25.3	±4.7	31.3	±6.0	11.7	±7.4
30度	26.8	±5.9	30.3	±5.3	9.0	±7.2
40度	26.4	±5.6	30.1	±5.1	6.4	±7.0
90度	36.9	±8.4	44.9	±10.2	1.7	±1.4

***P<0.001

表4. マットレス別10分後の骨盤角度の差(度)

	標準マットレス Mean	フォーム マットレス Mean
仰臥位	-1.4	-0.9
20度側臥位	-1	-0.8
30度側臥位	-1.5	-0.4
40度側臥位	-0.8	-1.2
90度側臥位	±0	±0

慢性褥瘡潰瘍における加齢関連蛋白(p16)の発現に
ついて

森 将晏¹⁾、押本由美²⁾、小山恵美子³⁾

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科

3) 倉敷平成病院

Expression of senescence-associated protein p16
in chronic pressure ulcer

Masaharu Mori¹⁾, MD, Yumi Oshimoto²⁾ MSN, RN,
and Emiko Koyama³⁾, MSN, RN,

1) Faculty of Health and Welfare science, Okayama
Prefectural University

2) Graduate School of Health and Welfare science,
Okayama Prefectural University

3) Kurashiki Heisei Hospital

Key words : 褥瘡潰瘍、老化、p16、免疫組織化学

Key words : pressure ulcer, senescence, p16,
immunohistochemistry

要旨

慢性褥瘡における細胞の老化現象について、老化関連蛋白である p16 および、増殖細胞の指標である Ki-67 に対する抗体 (MIB-1) を用いて免疫組織化学的に検討した。検索した 18 症例の平均年齢は 85.5 ± 9.1 歳、平均罹病期間は 7.2 ± 6.3 ヶ月であった。潰瘍辺縁の表皮では 9/16 症例で一部に p16 の発現が観察された。潰瘍底の肉芽層では 12/18 例の一部に p16 の発現が観察され、線維化層では 16/18 例で一部に p16 の発現が観察された。増殖の盛んな表皮および肉芽層では p16 陽性細胞スコアと MIB-1 陽性細胞スコアの間には負の相関が見られた。一方、ほとんど増殖のない線維化層においては両者の間に相関は見られなかった。また、どの部位においても両スコア共に年齢および罹病期間との相関は見られなかった。褥瘡のような慢性創傷では細胞増殖が長期に亘って亢進し続けているため、細胞の老化が起きていると考えられる。

Abstract

To examine the cellular senescence of chronic pressure ulcer, expression of senescence-related protein p16 and proliferating cell marker Ki-67 were detected immunohistochemically with anti-p16 antibody and anti-Ki67 antibody (MIB-1) respectively. Mean age and duration of illness of 18 samples examined were 85.5 ± 9.1 years old and 7.2 ± 6.3 months respectively. Epidermis at the ulcer margin partially expresses p16 in 9/16 samples. Granulation tissue layer and fibrotic layer at the ulcer floor also express p16 partially in 12/18 and 16/18 samples respectively. P16 positive score and MIB-1 positive score of the epidermis and granulation tissue layer were inversely correlated. This suggests that in these actively proliferating areas under commonly occurring conditions, senescence causes a decrease in proliferation capacity. However, correlation between p16 positive score and MIB-1 positive score was not observed at fibrotic layer; this area is usually not proliferative. There was no correlation of the p16 positive score with either age or duration of illness. Since in chronic wounds such as pressure ulcers, cell proliferation is stimulated over a long period of time, cellular senescence may be induced.

【 緒 言 】

褥瘡の治癒は線維芽細胞や血管内皮細胞の増殖による肉芽の形成に続く表皮細胞の増殖による上皮化が必須であり、これらの細胞の増殖無しでは褥瘡は治癒することが出来ない。このため、褥瘡の治療ではこれらの細胞の増殖を助ける目的で、除圧、ずれ予防、壊死組織の除去、栄養補給などを行って増殖環境を整備すると共に、積極的に線維芽細胞や血管内皮細胞の増殖を促進する目的で線維芽細胞増殖因子を使用する場合もある。しかしながら、慢性期の褥瘡（以下慢性褥瘡と略する）ではこれらの細胞の増殖が阻害され、なかなか治癒しない症例が存在する。褥瘡における細胞増殖能について Vande Berg ら¹⁾は褥瘡病変の線維芽細胞の培養を行ない、潰瘍部の線維芽細胞は正常皮膚のそれに比べ早期に老化することを示している。我々²⁾も慢性褥瘡では潰瘍底線維芽細胞の増殖能が低下していることを報告した。このように慢性褥瘡では線維芽細胞が老化していることが示されたが、このような老化した細胞が潰瘍組織のどの様な部位に見られるのか、表皮細胞にも老化がみられるのかなどについての報告はない。

近年細胞老化の指標として、テロメラーゼ長の短縮とともに p16 の発現が報告されている^{3,4)}。p16 はサイクリン依存性キナーゼを阻害することにより細胞増殖を抑制する⁵⁾。

今回、加齢関連蛋白である p16 の慢性褥瘡潰瘍における発現を増殖細胞の指標である Ki-67⁶⁾ の発現と共に免疫組織学的に検索し、慢性褥瘡における細胞の老化現象について検討したので報告する。

【研究方法】

対象：1999年から2001年の間に皮弁術等の外科的治療のため切除され、病理検体として提出された18名の慢性褥瘡18病変の潰瘍組織についてHE染色で組織学的に検討すると共に、老化の指標として抗p16抗体（CINtec p16^{INK4a} Histology Kit、ダコ・ジャパン、東京）および増殖細胞のマーカーとしてKi-67に対する抗体（MIB-1、ダコ・ジャパン、東京）にて免疫染色を行い検討した。評価は表皮、および褥瘡潰瘍底の肉芽層、線維化層⁷⁾のそれぞれにおけるp16陽性細胞が最も多い部位についてMIB-1陽性細胞、年齢、罹病期間と比較検討した。p16陽性細胞およびMIB-1陽性細胞は表1に示すスコアリングにより検討した。統計解析にはSPSS14.0を用いた。病理検体の取り扱いについては日本病理学会の「症例報告における患者情報保護に関する指針」に従った。

表 1

【結果】

18症例の平均年齢は 85.5 ± 9.1 歳、平均罹病期間は 7.2 ± 6.3 ヶ月であった。症例毎のp16およびMIB-1陽性細胞スコアを表2に示す。表皮では9/16例の潰瘍辺縁の一部にp16の発現が見られたが、潰瘍から離れた部にはp16陽性細胞は見られなかった。潰瘍辺縁のp16陰性部位(図1a)ではMIB-1陽性細胞が多数見られた(図1b)が、p16陽性部位(図2a)ではMIB-1陽性細胞は少なかった(図2b)。肉芽層では12/18例において一部にp16陽性細胞が見られた。p16陰性部位(図3a)では新生血管が発達し、線維芽細胞や炎症細胞も多く、MIB-1陽性細胞が多数見られた(図3b)症例が多かったが、p16陽性部位(図4a)では新生血管や炎症細胞浸潤は少なく、細胞は大型で数も少なく、線維化気味で、MIB-1陽性細胞も減少している(図4b)症例が多かった。潰瘍底の線維化層においても16/18例において一部にp16陽性細胞が見られた。p16陰性部位(図5a)では線維化層に炎症細胞浸潤は見られず、MIB-1陽性細胞もほとんど見られなかった(図5b)が、p16陽性部位(図6a)では軽度の炎症細胞浸潤とともに、MIB-1陽性細胞が少数(図6b)見られた。

p16陽性細胞スコアとMIB-1陽性細胞スコア、年齢および罹病期間との相関を見ると、表皮および肉芽層でp16陽性細胞スコアとMIB-1陽性細胞スコアに有意な逆相関が見られたが、線維化層においては相関が見られなかった。また、年齢および罹病期間とp16陽性細胞スコア、MIB-1陽性細胞スコアとの間には有意な相関は見られなかった(表3)。

表 2

図 1, 2

図 3, 4

図 5, 6

表 3

【 考 察 】

人間の線維芽細胞は分裂寿命を有しており、加齢と共に細胞分裂能は減少し、新生児で50-60回、高齢者では30回程度しか分裂できないと言われている^{8,9)}。褥瘡は高齢者に多く、高齢者では正常組織でも分裂能が低下していると考えられる。我々²⁾は以前、褥瘡切除断端のほぼ正常な部位の線維芽細胞の細胞集団倍加数(PDL)は30.1回と高齢者の分裂回数範囲であったが、潰瘍底の線維芽細胞のPDLは14.6回と減少しており、潰瘍底の線維芽細胞が老化していることを報告した。これは肉芽形成のために線維芽細胞が増殖を続けたことにより老化したと考えられるが、本研究においてもすべての症例の潰瘍底の一部にp16陽性細胞が見られ、潰瘍底の線維芽細胞が老化していることが裏付けられた。

また、表皮細胞においては半数以上の症例の一部にp16の発現が見られた。Impolaら¹⁰⁾は慢性創傷の半数において表皮細胞にp16の発現が見られたと報告しており、Chaturvediら¹¹⁾も乾癬から分離した表皮細胞においてp16の発現が亢進していることを報告している。我々¹²⁾も以前報告したが、褥瘡潰瘍では辺縁の表皮は肥厚し、MIB-1陽性細胞が多数見られ、増殖が亢進している状態にある。このような慢性創傷において、表皮細胞は長期に亘る増殖の亢進により老化をきたし、一部の細胞がp16を発現するようになったと考えられる。

このように通常は増殖の盛んな肉芽部や潰瘍辺縁部表皮において、老化を起こしp16を発現している部位では細胞老化により増殖能が低下した為に、p16陽性細胞スコアとMIB-1陽性細胞スコアの間に逆相関の関係が見られたと考えられる。一方、線維化層におい

ては p16 陽性細胞スコアと MIB-1 陽性細胞スコアに相関は見られず、炎症細胞浸潤が見られる部位に両者とも陽性になる傾向が見られた。線維化層は肉芽層と異なり、細胞増殖の場ではなく、コラーゲンを産生し、癒痕を形成する場である。このため炎症の治まった線維化層では細胞増殖は見られないが、炎症が残存すると細胞分裂が続くため老化して p16 陽性細胞が出現するのではないかと考えられる。また、p16 陽性細胞スコアおよび MIB-1 陽性細胞スコアと年齢および罹病期間とは相関が見られなかったが、これは、今回の研究では p16 陽性部位が褥瘡の一部にしか見られなかったことから、褥瘡全体を反映していなかったことも原因と考えられる。

以上述べてきたように、褥瘡が長引くと線維芽細胞と共に表皮細胞も老化を来してくるので、早期の適切なケアにより、細胞が老化する前に治癒に導く必要がある。

【参考文献】

- 1) Vande Berg JS, Rudolph R, Hollan C, et al:
Fibroblast senescence in pressure ulcers.
Wound Rep Reg, 6:38-49, 1998.
- 2) 小山恵美子、森 将晏：褥瘡潰瘍部線維芽細胞の増殖能とbFGFに対する反応性。日本褥瘡学会誌，5:543-547, 2003.
- 3) Alcorta DA, Xiong Y, Phelps D, et al:
Involvement of the cyclin-dependent kinase inhibitor p16 (INK4a) in replicative senescence of normal human fibroblasts. Proc Natl Acad Sci USA, 93(24):13742-13747, 1996.
- 4) Yang DG, Liu L, Zheng XY: Cyclin-dependent kinase inhibitor p16(INK4a) and telomerase may co-modulate endothelial progenitor cells senescence. Ageing Res Rev, 7(2):137-46 2008.
- 5) Aprelikova O, Xiong Y, Liu ET: Both p16 and p21 families of cyclin-dependent kinase (CDK) inhibitors block the phosphorylation of cyclin-dependent kinases by the CDK-activating kinase. J Biol Chem, 270(31):18195-18197, 1995.
- 6) Cattoretti G, Becker MHG, Key G, et al:
Monoclonal antibodies against recombinant

parts of the ki-67 antigen (MIB1 and MIB3)
detect proliferating cells in
microwave-processed formalin-fixed paraffin
section. J Pathol, 168 : 357-363, 1992.

- 7) 森 將晏、掛橋千賀子、小山恵美子ほか:慢性褥瘡の
組織像と筋線維芽細胞の局在. 日本褥瘡学会誌,
3:315-319, 2001.
- 8) Hayflick L: The limited in vitro lifespan of
human diploid cell strains. Exp Cell Res,
37:614-636, 1965.
- 9) Martin GM, Sprague CA, Epstein CJ:
Replicative life-span of cultivated human cells.
Effects of donor's age, tissue, and genotype.
Lab Invest, 23(1):86-92, 1970.
- 10) Impola U, Jeskanen L, Ravanti L, et al:
Expression of matrix metalloproteinase
(MMP)-7 and MMP-13 and loss of MMP-19 and
p16 are associated with malignant progression
in chronic wounds. Br J Dermatol,
152(4):720-726, 2005.
- 11) Chaturvedi V, Cesnjaj M, Bacon P, et al:
Role of INK4a/Arf locus-encoded senescent
checkpoints activated in normal and psoriatic
keratinocytes. Am J Pathol, 162(1):161-170,
2003.

- 12) 小山恵美子、掛橋千賀子、杉本幸枝ほか：慢性褥瘡潰瘍における細胞増殖動態の検討．日本褥瘡学会誌，4:42-49，2002．

図譜

図 1,2 潰瘍辺縁部表皮 (a:p16, b:MIB-1 x10)

図 3,4 肉芽層 (a:p16, b:MIB-1 x10)

図 5,6 線維化層 (a:p16, b:MIB-1 x10)

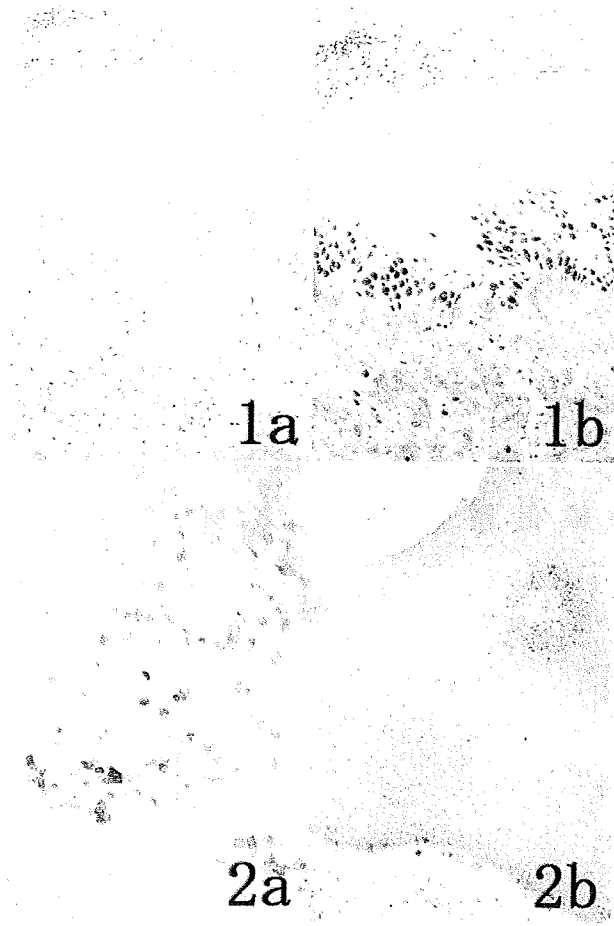


图 1,2 潰瘍辺縁部表皮 (a:p16, b:MIB-1 x10)

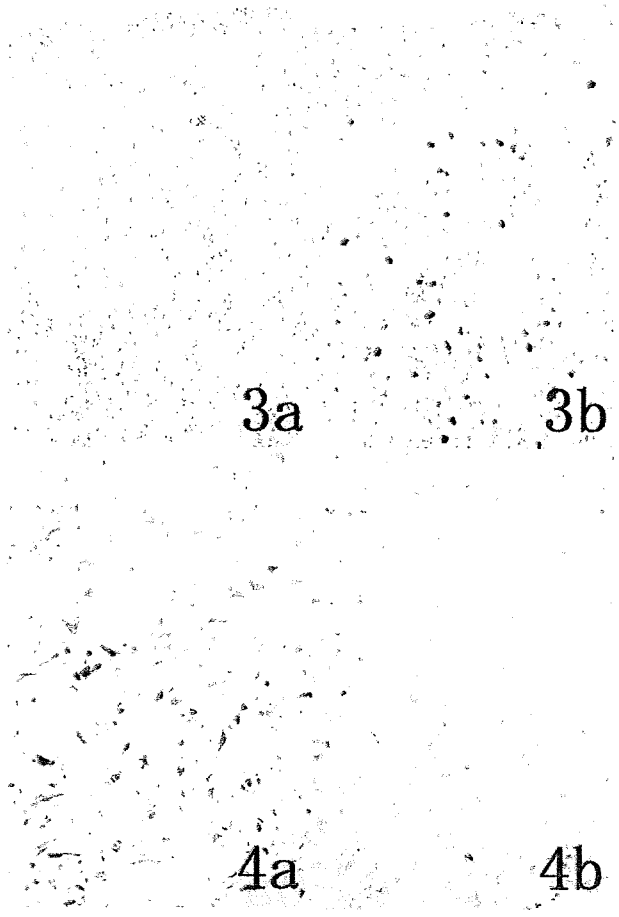


图 3,4 肉芽層 (a:p16, b:MIB-1 x10)