



褥瘡様皮膚病変を誘発する動物実験モデルの開発： 坐骨神経切断後のラット踵部の形態学的観察

長井, 桃子
小形, 晶子
荒川, 高光
三木, 明德

(Citation)

神戸大学大学院保健学研究科紀要, 27:31-41

(Issue Date)

2011

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/81003796>



褥瘡様皮膚病変を誘発する動物実験モデルの開発

－坐骨神経切断後のラット踵部の形態学的観察－

長井桃子^{1,2}、小形晶子³、荒川高光¹、三木明德¹

神戸大学大学院 保健学研究科¹

京都民医連第二中央病院 リハビリテーション部²

神戸学院大学 総合リハビリテーション学部³

要 旨

成熟ラットの両坐骨神経を切断し、右後肢に錘負荷を加え、さらに尾を吊り上げて踵が床に接地するように尾懸垂固定を行うと、全例において踵部の皮膚に開放創を伴う褥瘡様皮膚病変が形成された。肉眼観察では、実験開始後7日まで踵を覆う有毛型皮膚に発赤と腫脹が継続し、15日後までに皮膚の肥厚と白色化が起り、20日後までに表皮欠損を伴う褥瘡様皮膚病変が認められた。その開放創周囲の皮膚を採取して組織学的に観察したところ、創部では表皮層が脱落し、真皮表層では膠原線維が減少し、好中球やマクロファージなどの炎症性の細胞が多数観察された。また深部では、小血管、線維芽細胞、炎症性の細胞が著明に増加し、慢性炎症の所見を示していた。この組織像は、ヒトの難治性褥瘡部で報告されているヒト褥瘡と非常によく似ていた。これらの結果は、本法が褥瘡の動物実験モデルとして利用できる可能性を示唆している。

Keyword： 坐骨神経、実験動物モデル、褥瘡、慢性炎症

緒 言

褥瘡は、臨床的にも社会的にも解決すべき問題が多い皮膚病変である。褥瘡が皮下組織や筋などの深部組織まで達すると治療が困難になるため、予防が重要であり、発症した場合には早期に正しく治療する必要がある。褥瘡の発症には内因性要因や外因性要因、社会的要因などが複雑に絡み合っており¹⁾、これが、有効な治療法や対処法の確立を困難にしている原因の1つである。一つの因子を改善する処置を施しても、他の因子によって症状が改善されないという現象が、褥瘡を扱う臨床の間ではよく見受けられる。理学療法士による予防的アプローチとしてポジショニングの検討、超音波刺激や電気刺激などの物理療法による治癒促進の検討がなされている²⁾。しかし、これらの効果を的確に判断するためには臨床的観察だけでは限界があり、臨床に近い状態で褥瘡を発症させることができる実験動物モデルの開発が求められている³⁾。

現在、褥瘡の研究で用いられている実験動物モデルとして、マグネットで腹部の皮膚を挟んで皮膚に圧迫を加えるもの^{4,6)}、腹部に金属塊をのせるもの⁵⁾、大転子部の皮膚をバルーンで圧迫するもの⁶⁾などが提唱されている。しかし、これらの方法では異物を体内に挿入したり、人為的に皮膚欠損部を作製するなど、ヒトの褥瘡を再現しているとは言い難い。

近年、小形ら⁷⁾はマウスの坐骨神経を切断すると、踵部に褥瘡に似た皮膚病変が高頻度に発症することを見いだした。皮膚病変が見られたマウス踵部は有毛型皮膚に覆われており、通常床には接していない。しかし、坐骨神経を切断すると踵骨隆起の底面も接地ようになる。ヒトの褥瘡は全身的に不活動状態となった患者や脊髄損傷患者だけでなく、末梢神経損傷、糖尿病による末梢神経障害を

持つ患者にもよく見られる⁸⁾。また、褥瘡の好発部位は全て、通常は長時間接地することのない有毛型の皮膚である⁹⁾。このように、小形ら⁷⁾が報告した動物モデルでは、褥瘡様皮膚病変の形態や形成環境において、臨床的にみられるヒトの褥瘡と類似する点が多く、ヒトの褥瘡の発症過程に近い可能性があると考えられる。しかし、この方法では褥瘡様皮膚病変の発症頻度や程度が不安定で、動物実験モデルとしては信頼性に欠けると言わざるを得ない。従って本研究では、小形らの方法⁷⁾に改良を加え、より確実に、かつヒトの臨床における発症機序に近い形で皮膚に開放創を形成させる方法を確認しようと試みた。また、開放創に至るまでの経過を形態学的に観察し、開放創皮膚の組織像を報告されているヒトの褥瘡所見と比較した。

材料と方法

1 実験動物と飼育方法

本実験は神戸大学における動物実験に関する指針に従って行った。12週齢のWistar系雄ラット（体重220～280g）21匹を用いた。ラットは1ケージに1匹ずつ飼育し、室温25℃の空調のもと、6時から18時までを明期とした明暗サイクルで、水と餌を自由に摂取させた。

全ての動物の両坐骨神経を切断した後、1) 右後肢の錘負荷、2) 行動範囲の制限、3) 尾懸垂固定という3種類の介入を組み合わせ、20日間飼育した。

両坐骨神経の切断：ペントバルビタール水溶液（50mg/kg）を腹腔内に投与して動物を麻酔した後、両大腿部外側面を剃毛し、同部位にハサミで約1cmの皮膚切開創を加え、両坐骨神経を露出し、大腿中央部より少し近位で坐骨神経を切断した。さらに切断部より遠位の坐骨神経を約1cm切除して連続性を完全に断った。その後、周囲の筋や結合組織を復元して、4-0の縫合糸で皮膚切開創を縫合した。

1) 右後肢の錘負荷

坐骨神経切断後の動物は、正常では接地しない踵骨隆起底面部を接地して歩行し、同部を軸にして方向転換するようになる。同部位にさらに負荷をかける目的で、坐骨神経切断後に、右後肢に体重の約5%（13～14g）の重錘を巻きつけて飼育した。

2) 行動範囲の制限

狭いケージで行動範囲を制限すると、動物の移動距離と後肢の踵骨隆起底面部への負荷時間が短くなるため、褥瘡発生の頻度や程度が抑えられると推定される。そこで、床面積600cm²と床面積300cm²の飼育ゲージを使用した場合を比較した。

3) 尾懸垂固定

両側の坐骨神経を切断された動物の行動や姿勢を観察すると、安静時に側臥位になることが多い。側臥位になって踵部への接地を避けてしまうと、踵部の接地時間は短くなってしまふ。そこで、踵部の接地を確実にするために、ケージの天井から垂らした紐で尾を結紮し、少し吊り上げるという尾懸垂固定を行い、安静時も可能な限り踵部を接地させるよう試みた。

上記3種類の介入を組み合わせることで、開放創を形成させ得る飼育方法を検討した。尾懸垂固定を行うと、尾は紐でケージの天井に固定されるので、必然的に行動範囲が制限される。従って尾懸垂固定を行う群では行動制限の介入は行わなかった。これらをふまえて下記の6群を設定した。

1. 両側坐骨神経を切断後、いずれの介入も行わずに飼育:対照群
2. 両側坐骨神経の切断+右後肢錘負荷:W (weight) 群
3. 両側坐骨神経の切断+行動範囲の制限:L (limitation) 群

4. 両側坐骨神経の切断+尾懸垂固定:S (suspension) 群
5. 両側坐骨神経の切断+錘負荷+行動範囲の制限:WL 群
6. 両側坐骨神経の切断+錘負荷+尾懸垂固定:WS群、(図1-①)

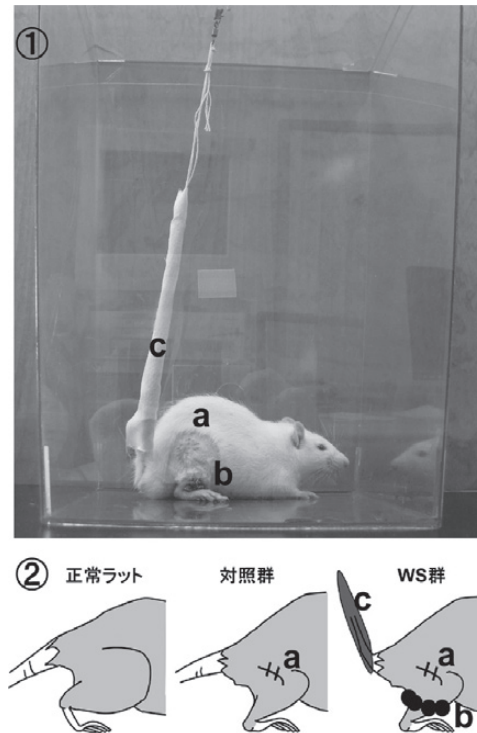


図1 WS群飼育時の様子(餌・床敷きを除く)と他群の比較

- ①WS群の飼育写真
a.坐骨神経切断後のラット b.重錘 c.尾懸垂固定
- ②他群との比較模式図

各群でそれぞれ2匹ずつラットを飼育し、褥瘡様皮膚変化が最も高度であったWS群ではさらに4匹追加して計6匹とした。また、行動観察や組織像を比較するため、同一週齢の正常ラット3匹を通常どおり飼育し、20日間の飼育終了後に行動観察と踵骨隆起底面部皮膚組織の検索を実施した。

全群において、床敷きの量は最小限にし、かつ頻繁に交換した。床敷きを少なくすることで踵部と床面の接地を確実にし、頻繁に床敷きを交換することで糞尿などの皮膚バリアを脅かす化学的因子の排除を試みた。

2 足底部の変化および歩容の観察

坐骨神経切断後、飼育期間中は毎日ほぼ同時刻にジエチルエーテルで吸入麻酔し、足底面、特に踵部の皮膚変化(腫脹・発赤)を観察し、デジタルカメラ(CASIO EX-V7)で撮影した。また、坐骨神経切断後6日目にラット後肢足底の接地状況や歩容を観察し、Walking track analysis¹⁰⁾によって歩行の際に踵部の接地が行われているかどうかを調べた。

3 組織学的観察

踵部周辺皮膚に開放創が確認された時点で、動物をペントバルビタール水溶液の腹腔内過剰投与にて屠殺し、10%ホルマリンで灌流固定した。その1時間後、創部を含む踵の皮膚を約1cm角で採取し、

10%ホルマリンで2日間浸漬固定した。次いでこれらの組織をパラフィンに包埋し、厚さ3 μ mの踵部縦断切片を作製した。脱パラフィン後、ヘマトキシリン・エオジン (H-E) 染色を行って組織変化を観察した。

結 果

1 肉眼観察による足底部皮膚の変化

すべての群において、両踵部の後内側に位置する踵骨隆起底面あるいは外側楔状骨の骨性隆起底面を覆う有毛部皮膚に腫脹・発赤が見られた。各群における、飼育期間中の踵部の肉眼変化は以下のとおりである。

対照群 (両坐骨神経切断のみ)：左右の踵骨隆起底面で、皮膚の腫脹・発赤が飼育開始から平均16日目まで継続して観察され、飼育開始から平均17日目～20日目までに左右両側の踵骨隆起底面に皮膚肥厚が観察された。外側楔状骨の隆起底面に軽度の腫脹・発赤が見られた例が1例あった。

W群 (両坐骨神経切断+右後肢錘負荷)：左右の踵骨隆起底面や外側楔状骨隆起底面で、飼育開始から平均12日目まで皮膚の腫脹・発赤が継続して見られ、飼育開始から平均13日目に同部の皮膚の白色化や肥厚が見られた。そして皮膚の白色化や肥厚は経時的に強くなった。飼育した2匹とも、特に錘負荷反対側である左踵骨隆起底面で皮膚肥厚が強かったが、飼育20日間を経過しても開放創には至らなかった。飼育開始から20日目時点での腫脹・皮膚肥厚の程度は後述するWS群に次いで強かった。

L群 (両坐骨神経切断+行動範囲の制限)：左右両側の踵骨隆起底面で、飼育開始から継続した腫脹・発赤がみられた。2例とも右踵骨隆起底面に20日目までに軽度の皮膚肥厚が観察された。外側楔状骨隆起底面では、1例のみ軽度の腫脹・発赤が見られた。

S群 (両坐骨神経切断+尾懸垂固定)：左右の踵骨隆起底面で、飼育開始から平均11日目まで継続した軽度の腫脹・発赤が見られた。また踵骨隆起底面の腫脹・発赤は経時的に強くなった。飼育開始平均12日目で錘負荷反対側の踵骨隆起底面に表皮の白色化が観察され、白色化は20日目に至るまで経時的に強くなった。踵骨隆起底面では踵骨隆起を頂点とした周囲の円形の領域において、皮膚の白色化と軽度の肥厚が進行した。錘負荷側である右側でも飼育開始14日目から白色化が見られた例があった。左右を問わず、白色化の観察された時点、もしくはその翌日から皮膚肥厚が観察された。外側楔状骨隆起底面では、著明な変化は見られなかった。

WL群 (両坐骨神経切断+錘負荷+行動範囲の制限)：両側踵骨隆起底面で、飼育開始から平均15日目まで継続した腫脹・発赤が見られ、その後、腫脹・発赤は経時的に強くなった。飼育開始から平均17日目～20日目にかけて同部が白色化し、飼育開始20日目に、左右両側踵骨隆起底面の頂点において円形の腫脹が見られた。外側楔状骨隆起底面では、踵骨隆起底面に比べて腫脹・発赤は軽度であった。

WS群 (両坐骨神経切断+錘負荷+尾懸垂固定)：全例で開放創の形成が確認された。坐骨神経切断後20日以内に8例中2例は錘負荷側(右)、6例は錘負荷反対側(左)の踵骨隆起底面もしくは外側楔状骨隆起底面に開放創が形成された(平均17日目)。坐骨神経切断後平均7日目まで有毛部皮膚の腫脹・発赤が継続した(図2)。平均8～10日目の間には皮膚表面の発赤範囲内に表皮の白色化と皮膚肥厚が観察された(図2)。踵骨隆起底面ではその頂点を囲む円形の周囲において、白色化と皮膚肥厚の進行が見られた。外側楔状骨隆起底面でも骨突出部に対し、踵骨隆起底面の頂点部周囲と同様の皮膚変化が見られた。平均15日目(11～20日目)までに、白色化した表皮表面の角質層が黄色化し、その後、滲出液が観察された。同時期に、肥厚し乾燥した痂皮が観察され、滲出液により浸軟した痂皮が部分的に剥離して、開放創が形成された(図2)。

2 歩行観察

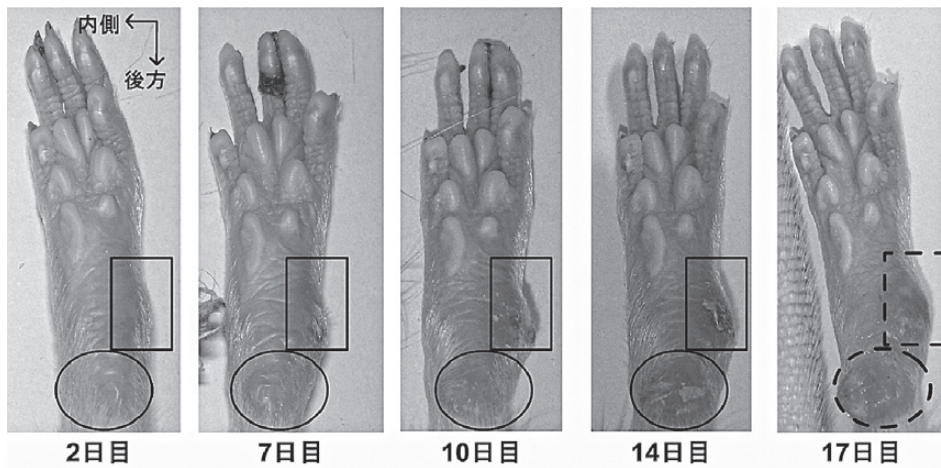


図2 WS群 (錘負荷+尾懸垂固定) ラットの左足底の経時的変化

踵骨隆起部 (丸)、外側楔状骨 (四角)

点線丸、点線四角: 平均17日目には部分的に表皮が剥離して開放創が形成されていた。

正常ラットでは、全歩行周期において、前足部約3分の1の肉球だけを接地して体を前方へ進めており、踵骨隆起底面部の接地は全く観察されない (図3-上段)。坐骨神経を切断したラットでは前進に伴い、踵骨隆起底面部を軸とした後肢の踏み込みと足関節の内反・外旋が観察された (図3-下段①・②)。また、立脚相の初期において踵骨隆起底面部から接地していた (図3-下段③)。



図3 坐骨神経切断6日後のラットの歩行分析

上: 正常ラット

下: 坐骨神経切断後のラット (対照群)

対照群で踵骨隆起底面部を軸とした後肢の踏み込みと足関節の内反・外旋 (下段①から②) と立脚期初期に踵骨隆起足底面からの接地 (下段③) が見られる。

3 Walking track analysisによる歩容分析

WS群では正常ラットと比較し、後肢において踵骨隆起底面部の接地が観察された (図4-WS群、丸)。

4 組織学的所見

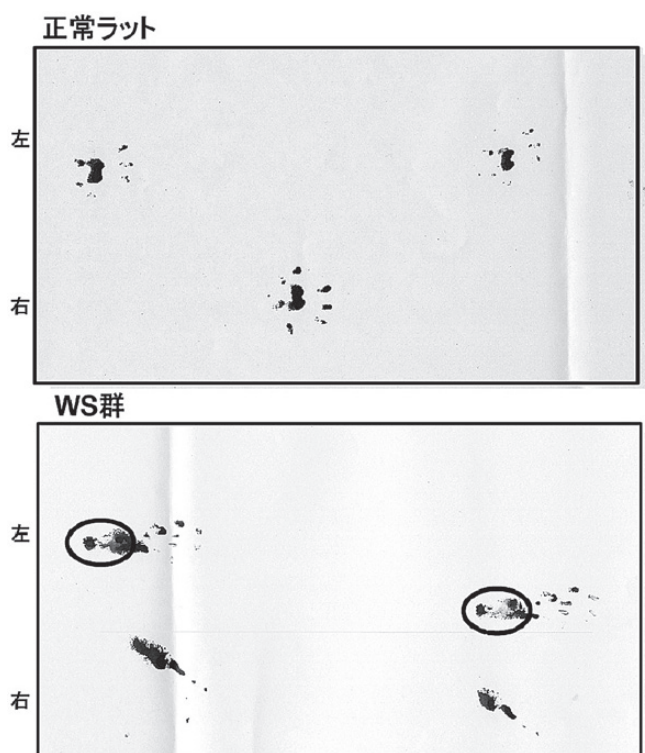


図4 Walking track analysis(後肢のみ)

上段(正常ラット)：踵部の底面接地は見られない。

下段(17日目に開放創が形成されたWS群の1例)：正常ラットでは見られない踵部底面の明らかな接地が見られる(下段一丸)。

WS群の踵骨隆起底面部皮膚に形成された開放創の組織学的観察を行い、正常ラットの同部組織と比較した。WS群の踵骨隆起底面部の皮膚は表皮の脱落もしくは剥離状態が観察され、表皮欠損部直下には壊死組織が認められた(図5-A)。壊死像を呈した部位では、正常ラット同部位(図5-D)と比較し、膠原線維の減少が認められた(図5-A)。また正常ラット(図5-D,E)と比較して、表皮欠損部周辺から踵部後方にかけて表皮が肥厚し、真皮乳頭層が過剰に形成されていた(図5-A,B)。肥厚した真皮乳頭層の下層には、拡張した小血管が増加していた(図5-B)。真皮網状層には散在性に線維芽細胞が観察され、その核は卵円形や紡錘形であった。リンパ球や分葉核を有する好中球も観察された(図5-C)。すなわち、WS群の踵部有毛型皮膚の開放創では、リンパ球や好中球という炎症性の細胞が、正常ラットと比較して著明に増加していた(図5-C,F)。同部位には、正常ラット(図5-F)と比較して、多数の小血管が散在性に観察され、拡張した血管も観察された(図5-C)。表皮欠損部の周辺から後方に向けて、皮膚は薄い有毛型に移行した。

考 察

褥瘡実験動物モデル作製について

WS群(両坐骨神経切断+右後肢錘負荷+尾懸垂固定)のラットの足底踵骨隆起底面部で、飼育開始から7日目にかけて皮膚の発赤や腫脹が観察された。その後、同部有毛型皮膚の表皮は白色化し、さらに肥厚したのちに開放創を形成するに至った(図2)。

坐骨神経を切断した動物では、移動する際に足底部踵骨隆起底面部が接地していた(図3-下段)。坐

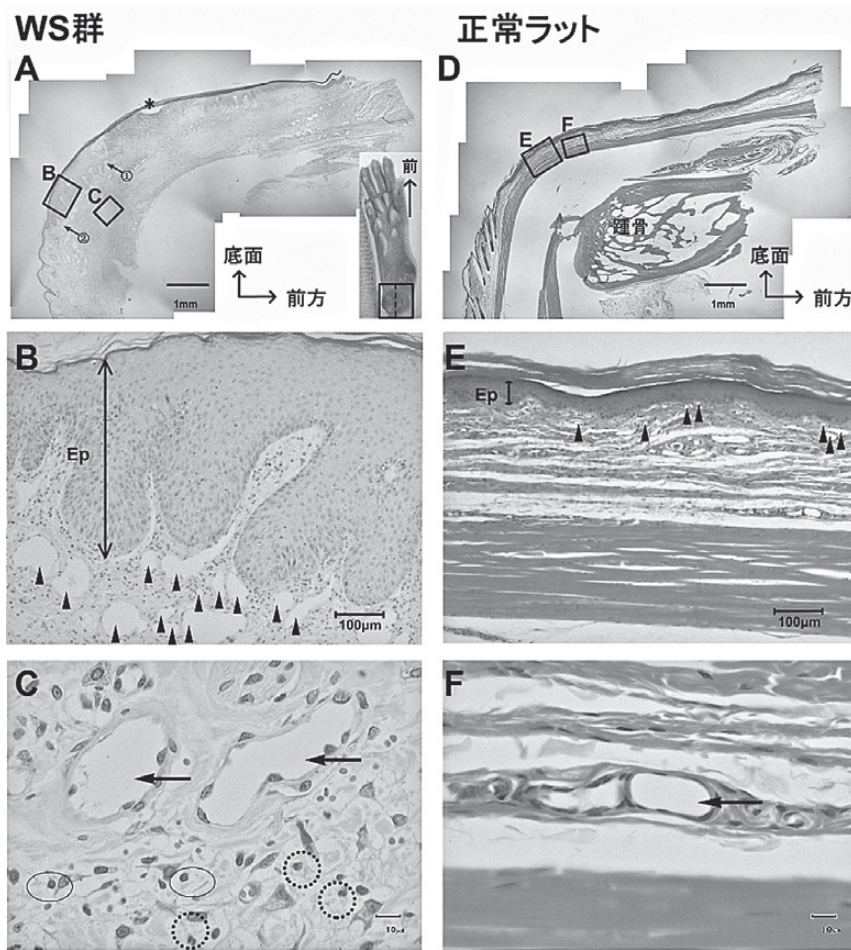


図5 WS群の開放創形成部と正常ラット同部におけるH-E染色所見

組織摘出(A右下実線)における踵部皮膚縦断(A右下点線)像。左列(A,B,C):WS群、右列(D,E,F):正常ラット。

A,D: 踵部皮膚縦断切片。

A: WS群の踵部に形成された表皮欠損部(*)周辺の皮膚をBにて拡大。その深部をCにて拡大する。D: Aと同様の部位の正常ラット像。拡大図をE,Fにて示す。表皮欠損部から踵部後方にかけて表皮の肥厚(A矢印①から②)が見られる。スケールバー 1mm。

B,E: WS群表皮欠損部周囲の皮膚の拡大像(B)において、正常ラットの同部位(E)と比較し、表皮(Ep)が肥厚している。また、表皮直下の小血管(▲)もWS群(B)のほうが正常ラット(E)よりも増加している。スケールバー 100 μ m。

C,F: WS群の表皮欠損の起こった深部の拡大像(C)において、好中球(点線丸)、リンパ球(実線丸)が観察される。正常ラットの同部位(F)ではほとんど観察されない。WS群(C)では血管内腔(矢印)の拡張が観察される。スケールバー 10 μ m。

骨神経の切断により、下腿や足部の骨格筋は全て麻痺する。そのため、足関節が背屈位になって踵骨隆起底面部が接地するようになったと考えられる。今回の実験において皮膚の発赤や腫脹が観察された踵骨隆起底面部や外側楔状骨隆起底面部は有毛型皮膚で覆われており⁷⁾、正常ラットでは接地しない部位である。また、坐骨神経を切断したラットの歩行分析では、足底踵骨隆起底面部からの接地と前進運動に伴う足関節の内反・外旋が確認されている(図3-下段②)。坐骨神経切断後のラットでは、歩行時に足関節が内反・外旋すると足底面においては後方と外側面に荷重負荷がかかり、足底部後方と外側の皮膚に大きなずれや圧迫が加わると考えられる。よって図3の下段で示す歩容は、坐骨神経

の切断により、骨隆起部の皮膚に荷重による負荷がかかり、皮膚が圧迫されていたことを示している。また、錘負荷反対側の踵骨隆起底面部が著明に接地していたWalking track analysisによる分析結果も同様の機序により起こった結果であると考えられる(図4)。

両坐骨神経切断に加え、右後肢に錘負荷を行ったW群には、両坐骨神経切断のみで錘負荷を行わなかった対照群や両坐骨神経切断に加え行動範囲の制限を行ったL群、両坐骨神経切断に加え尾部の軽度懸垂を行ったS群よりも、踵骨隆起底面部や外側楔状骨隆起底面部の発赤・腫脹の程度が強かった。WS群の経過では、皮膚の発赤・腫脹の後にその部の皮膚が開放創となる。よって、両坐骨神経の切断に加えて錘負荷を行うことが褥瘡を発症させるために必要な一つの要因であると考えられる。

行動範囲の制限について、両坐骨神経切断後に錘負荷を行ったW群、WL群、WS群の3群間で比較した。行動範囲を制限したWL群では、踵骨隆起底面部の皮膚に腫脹・発赤がある程度継続するものの、皮膚肥厚にまで至らなかった。しかし、行動範囲を制限しなかったW群では、WS群に次いで強い踵骨隆起底面部の白色化や皮膚肥厚が観察された。次に、両坐骨神経切断後に錘負荷を行わなかった群の群間比較を試みた。行動範囲を制限したL群では踵骨隆起底面部の皮膚肥厚があまり見られなかったのに対し、両坐骨神経を切断した後に、行動範囲の制限なく通常飼育を行った対照群では、飼育開始20日目に踵骨隆起底面部の皮膚肥厚が観察された。これらの結果から、両坐骨神経切断後、錘負荷に関係なく、行動範囲を制限しない群の方がより強い皮膚変化を起こすことがわかった。行動範囲を制限しない方がより強く皮膚を変化させたのは、坐骨神経切断によって歩容が変化したことが関係すると考えられた。すなわち、両坐骨神経を切断した後に、行動範囲を制限しない対照群の動物は踵を接地して移動する機会があるが、行動範囲を制限してしまうと、動物は安静時に側臥位になることが多く、踵骨隆起底面部の接地頻度が低い。このような実験動物の日常の行動が、踵部皮膚への圧迫頻度を変化させたと考えられる。よって、本実験で用いた、両坐骨神経を切断した後に行動範囲を制限して狭い飼育ケージで飼育するのは、踵部への皮膚圧迫の機会を減少させてしまうため、適当ではないと考えられた。

尾懸垂固定の有無について、両坐骨神経切断後に通常飼育する対照群と、両坐骨神経切断後に尾部を軽度懸垂して踵部を持続的に接地させたS群を比較すると、対照群の踵骨隆起底面部では、腫脹・発赤は軽度であったのに対しS群では経時的に強くなる腫脹・発赤が見られ、同部は白色化した。さらに、両坐骨神経切断後、右下肢に錘負荷を加え、尾懸垂固定も施したWS群では踵骨隆起底面部の皮膚が全例で開放創にまで至った。よって尾懸垂固定も足底部に褥瘡様変化をもたらすために必要な因子であることがわかる。尾懸垂固定は飼育時に坐骨神経を切断したラットの尾を軽度懸垂することで、安静時にも確実に足底面を接地させるように設定している。よってWS群では、踵骨隆起底面部の皮膚圧迫時間がW群よりも長くなったため皮膚病変像が強くなったと考えられる。

本研究では坐骨神経を完全に切断する方法を試みた。末梢神経を切断すると、その支配領域となる皮膚の創傷治癒を遅延させると報告されている¹¹⁾。また、臨床においても脊髄損傷患者や血行障害も有する糖尿病による末梢神経障害を持つ患者の褥瘡発生頻度が高いという報告がある¹¹⁾。末梢神経の切断そのものが褥瘡形成に与える影響はいまだ解明されていないが、坐骨神経の切断が皮膚に何らかの影響を与えている可能性は否定できない。Huangら¹²⁾は、坐骨神経を切断すると、マウスの後肢肉球においてケラチノサイトの分裂能が低下し、表皮の厚みが30～40%減少すると報告している。従って、本実験でも踵骨隆起底面部の皮膚に同様の変化が起こっていると考えの方が妥当であろう。しかし、坐骨神経の切断だけの対照群では開放創が形成されることはなかった。よって、坐骨神経切断により足部の皮膚のケラチノサイトの分裂能の低下が起こり、表皮の厚みが減少していたことに加えて、錘負荷や尾懸垂固定によって、長期間にわたる圧迫が皮膚に頻回加わり、開放創の形成につながったと考えられる。

通常、毛細血管における血圧は30mmHgであり、それ以上の圧迫が持続して加わると虚血が起こる¹⁾。WS群においては、通常では圧迫の加わらない踵骨隆起底面部の有毛部皮膚に対する圧迫の機会が多くなったと考えられる。しかし、WS群では錘負荷を行っていない反対側にも多くの開放創が観察さ

れた。従って、踵部皮膚に加わった圧迫は、鍾負荷によって直接加わった持続的なものだけでなく、移動などの際の運動に伴って加わったものも多い、と考えるのが妥当であろう。すなわち、同部の皮膚は鍾負荷による持続的な圧迫による虚血状態が引き起こされただけでなく、とくに鍾負荷反対側においては間欠的な圧迫による虚血状態に陥っていたと考えられる。七川ら¹³⁾は、褥瘡形成のメカニズムにおいて虚血再灌流傷害の関与を述べている。虚血再灌流傷害は、血流が遮断されて虚血状態になった組織に血流を回復させると、かえって病態が増悪するという概念である。本研究においても、接地することの少ないラット踵骨隆起部に鍾負荷による直接的な持続的な圧迫に加え、歩行による頻回の皮膚圧迫が加わることにより、皮膚組織が圧迫と虚血により組織傷害をうけ、さらに虚血再灌流傷害の状態に陥っていた可能性が考えられる。

WS群は鍾負荷側、鍾負荷反対側のどちらにおいても、踵骨隆起底面部の有毛型皮膚に持続した圧迫を安定して負荷できる実験群であることが確認された。

WS群開放創の組織像について

褥瘡の重症度はNPUAP (National Pressure Ulcer Advisory Panel) 分類によってStage 1からStage 4まで段階分けされている¹⁾。Stage 1は比較的軽傷であり、Stageが進むにつれて悪化し、Stage 4は骨までその傷害が達したレベルとして褥瘡の重症度を判定する。佐藤ら¹⁴⁾は、ヒト褥瘡Stage 1のうち、発見当初における肉眼観察で骨突出部頂点上に円形や楕円形の不均一な赤色が見られ、その後経時的に赤色の退色が見られるものは、後に治癒に至ると報告している。また対照的に、Stage 1のヒト褥瘡のうち、腫脹し、不均一な赤色内に茶色・白色など、赤色とは異なる色が観察されるものは、経時的に赤みが強まり、2重発赤の後に表皮が剥離し、Stage 2に至ると報告している¹⁴⁾。本研究において、WS群の皮膚変化は同様の経過を経て表皮の剥離に至っている(図2)。すなわち、WS群における開放創に至る過程はヒト褥瘡Stage 1もしくはStage 2の変化と類似していると言えよう。

Sheal⁵⁾はヒトの臨床における褥瘡には壊死、炎症性細胞の浸潤と線維化という変化があると述べている。Sheaの報告にあるヒト褥瘡の組織像は、本研究のWS群で見られた組織像と類似した所見である。Robertら¹⁶⁾によると、ヒト慢性褥瘡の組織像では好中球が多数観察され、組織深部において小血管の増加や、褥瘡周囲の好中球・線維芽細胞の増加が観察されると述べている。また笠城ら¹⁷⁾は、ヒト褥瘡の肉芽組織を観察し、表層は壊死層に覆われていること、および肉芽組織には散在性に毛細血管が観察され、その周囲の血管は拡張していること、また肉芽組織内に膠原線維は少なく、散在性に卵円形の核をもつ線維芽細胞様の細胞が存在し、好中球や小型の円形の細胞の浸潤が観察されたと報告している。本研究においてWS群の開放創組織では、表皮欠損部直下で真皮の壊死像を認め、その深部では膠原線維が減少していた(図5-A)。表皮欠損部の真皮深層においては、卵円形の核を有する線維芽細胞様の細胞が散在性に分布し、リンパ球や分葉核を有する好中球など、炎症に関与する細胞の増加像が観察された(図5-C)。また表皮欠損部周囲の真皮では多数の毛細血管が散在性に観察され、その中には拡張しているものも確認された(図5-B,C)。よって本研究におけるWS群の組織像は、ヒト褥瘡の肉芽組織で報告されている組織像に酷似している。

本研究におけるWS群で高頻度に形成された開放創は、形成部位・形成過程ともにヒト褥瘡との類似点が多く、NPUAP分類でいうヒト褥瘡Stage 1もしくはStage 2と同様の所見を呈している。またその組織学的観察所見は、ヒトの難治性褥瘡部において報告されている組織像¹⁴⁻¹⁷⁾と酷似している。先行研究では褥瘡のモデル動物として、褥瘡を惹起させたい部位の皮膚に人為的に皮膚切開を加えるものがある⁴⁶⁾。しかし、本研究のWS群に形成された開放創の皮膚には、切開を加えることで創傷を発生させるという、直接的かつ人為的な処置を加えていない。よって本研究におけるWS群は、神経損傷や末梢神経麻痺の患者に起こり得るヒト褥瘡の発症プロセスに近い実験動物モデルとして有用であると思われる。今回、褥瘡をヒトの臨床状態に近いかたちで確実に発症させる動物実験モデルとして、本研究におけるWS群(両坐骨神経切断+鍾負荷+尾懸垂固定)を提唱したい。

今後、皮膚損傷に至るまでの組織変化や炎症過程を経時的または長期的に観察し、更なるヒト褥瘡

像との比較検討を行うことが必要と考える。また、本研究で作製できたモデルは褥瘡発生メカニズムの解明、および褥瘡の発症予防や様々な物理刺激、薬物治療の及ぼす影響の検討に役立てられる可能性を秘めていると考える。

謝 辞

本研究を進めるにあたり、ご協力を賜った当研究室のみなさま、本学部病態解析学領域の鴨志田伸吾教授と新谷路子助教に深謝いたします。

文 献

- 1) 宮地良樹,真田弘美.褥瘡のすべて.永井書店,大阪, pp.1-35, 2003.
- 2) 杉元雅晴,寺師浩人.リハビリテーション関係者のための実践褥瘡予防・治療ガイド.MB Med Reha 75:65-75, 2007.
- 3) Richard S, Adrian P, Chulhyun A. Animal Models in Pressure Ulcer Research. J Spinal Cord Med 30:107-116, 2007.
- 4) Stadler I, Zhang RY, Oskoui P, et al. Development of sample, Noninvasive, Clinically Relevant Model of Pressure Ulcers in the Mouse. J Invest Surg 17:221-227, 2004.
- 5) Masakazu Hashimoto, Tomoyuki Kurose, Seiichi Kawashima. Comparison between a weight compression and a magnet compression for experimental pressure ulcers in the rat. Histological studies and effects of anesthesia. Arch Histo 171:303-316, 2008.
- 6) 与茂田敏.実験的褥瘡モデルに対する「アコロンDK」の褥瘡治癒促進効果.臨床栄養 110:875-880, 2007.
- 7) 小形晶子,栢原哲郎,三木明德.マウスの坐骨神経切断後に生じる足底踵部の褥瘡様皮膚損傷.神戸学院総合リハビリテーション研究 2: 59-67, 2007.
- 8) 中條俊夫.褥瘡はなぜできる?.治療 85:106-111, 2003.
- 9) 日本褥瘡学会実態調査委員会.療養型別褥瘡有病率 褥瘡の部位・重症度(深さ).日本褥瘡学会誌 10:153-161, 2008.
- 10) 遠藤照顕,安食孝士,井上泰一ほか.ラット下肢再接着モデルを用いた運動器リハビリテーションの効果.運動療法と物理療法 19:211-216, 2008
- 11) Barker AR, Rosson GD, Dellon AL. Wound Healing in Denervated Tissue. Ann Plast Surg 57:339-342, 2006.
- 12) T.Huang, M.Lin, T.Shun,et al. Influence of cutaneous nerves on keratinocyte proliferation and epidermal thicknes in mices. Neurocience 94:965-973, 1999.
- 13) 七川正一,森將晏.褥瘡発生初期段階における虚血再灌流傷害の関与.日本褥瘡学会誌 7:93-98, 2005.
- 14) 佐藤美和,村山志津子,紺家千津子ほか. Stage1の褥瘡における治癒過程の実態.日本褥瘡学会誌 6:63-67, 2004.
- 15) Shea JD. Pressure Sores. Clin Orthop 112:89-100, 1975.
- 16) Robert F. Excessive neutrophils characterize chronic pressure ulcers. Wound Rep Reg 11:490-495, 2003.
- 17) 笠城典子,深田美香,前田迪郎. 褥瘡肉芽組織での I およびⅢ型コラーゲン形成における免疫組織化学的検索.日本褥瘡学会誌 6:599-606, 2004.

Development of animal experimental model to induce pressure ulcer-like dermal lesion. -Morphological observation in the rat heels after transection of the sciatic nerve.-

Momoko Nagai^{1,2}, Akiko Ogata³, Takamitsu Arakawa², and Akinori Miki²

¹ Department of Rehabilitation Sciences, Kobe University Graduate School of Health Sciences, Kobe

² Department of Rehabilitation, Kyoto Min-iren Second Central Hospital, Kyoto

³ Department of Medical Rehabilitation Sciences, Kobe Gakuin University, Kobe

Abstract

In this paper, a method to induce pressure ulcer-like dermal lesion in adult rats was described. Besides the transection of right and left sciatic nerves, weight loading was added in the right leg and posture was controlled to make the heel to contact the floor of the cage through tail suspension. The pressure ulcer-like dermal lesion with open wound was found in the hairy skin covering the heel in all animals. Macroscopically, redness and swelling appeared and continued in the skin by 7 days, thickening and whitening of the skin occurred by 15 days, and pressure ulcer-like lesion with defect of the epidermis was formed by 20 days. Microscopically, morphological features in the dermal lesion were very similar to those of the human pressure ulcer. These findings suggest that the method described in this paper can be used as an experimental animal model for pressure ulcer.

Key Word : Sciatic nerve, Experimental animal model, Pressure ulcer, Chronic inflammation