Prediction for wound healing of skin redness using the near-infrared rays : A rat model experimental study

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/26221

短　報

金大医保つるま保健学会誌 Vol. 34(2)
123～128　2010

近赤外線透過度による発赤の治癒過程予測
－ラットモデルを用いた実験研究－

須釜　淳子　　宮地　利明　　浅田　千恵*　　甘谷　顕一朗**　　佐野　綾香*
関谷　雅子***　　竹内　景子****　　平譯　麻菜****　　福田　汐里*****　　吉田　友美子*

Key words
動物モデル、 褥瘡、 予測妥当性
animal model, pressure ulcer, predictive validity

はじめに

褥瘡は貧血、低栄養、皮膚の湿潤などの危険要因に加え[1]、長時間の圧縮応力、せん断応力、引っ張り応力が複合してかかり、骨突出部の軟部組織血流が阻害されることにより発生する虚血性壊死と考えられている[2]。現在臨床で多く用いられているNPUAP (National Pressure Ulcer Advisory Panel：米国褥瘡諮問委員会) の分類ではStageⅠの褥瘡 (圧迫しても退色しない発赤) を、表皮は欠損していないが皮下では損傷が及んでいる状態としており、悪化する恐れがあると考えられている。臨床的にも、StageⅠはこの段階でとどまることなく、StageⅡに移行したり、なかにはStageⅢ、Ⅳと重症化することもある。その一方、StageⅠから重症化することなく治癒するものもある。つまり、NPUAPの分類では、予後が予測できないという問題があげられた。現在StageⅠの褥瘡が悪化するときの指標として、発赤部が骨突起部頂点と離れた部位であることや、2重発赤の出現、超音波上での深部組織の低輝度が示唆されている[3]。しかしこれらの指標は、数値化できないことや、アセスメントに高い技術や高度な専門知識が必要とされているため、臨床ではまだ普及しておらず、より客観的かつ簡便にStageⅠの褥瘡をアセスメントできる指標が必要とされている。近年、客観的に血流動態を測る指標として近赤外線が注目されており、この近赤外線は、実時間性、簡便性に優れており、脳活動のモニタリング、リハビリテーションにおける筋力回復診断、スポーツ科学や運動生理学への活用など、広範な応用が試みられている[4]。また、先行研究においては、近赤外線分光法で得られた血液量変化は、皮膚接触面での体圧よりも褥瘡の本質的メカニズムを反映していると考えられている[5]。そのため、近赤外線を用いて発赤を評価することは有益であり、StageⅠの褥瘡を評価する新たな指標になるのではないかと考えた。そこで本研究はラット褥瘡モデルを用いて発赤時の褥瘡に近赤外線を照射し創部の近赤外線透過度を計測、その後の治癒過程を観察し、近赤外線を用いた発赤評価の可能性を検討した。

対象と方法

1．**研究デザイン**：本研究は実験研究である。実験期間は、平成19年8月30日～11月13日であった。
2．**対象**：11～13週齢で体重300～360 gのWister系ラット（三協ラボサービス㈱）雄6匹を使用した。褥瘡作製後は創の安静を保つために、1ゲージに1匹ずつ入れ、室温26度の空調の下8時から20時までを明期とした明暗サイクルで自由運動下及び、水・えさの自由摂取として飼育した。
3．**方法**：褥瘡を作製したラットの皮膚を、治癒まで毎日定時刻に近赤外線を照射し、関心領域における近赤外線透過度を測定した。また同時に肉眼的観察を行い、比較・検討した。褥瘡作製は過去の方法[6]に準拠し、下記の方法で実施した。

金沢大学医薬保健研究域保健学
*　金沢大学附属病院看護部
**　金沢医科大学病院看護部
***　金沢市立港中学校
****　富山県立中央病院看護部
*****　九州大学病院看護部

1）褥瘡作製：ラットをジエチルエーテル（和光純薬工業㈱）で麻酔後、ソムノペンチル®（共立製薬㈱）30mg/kg体重を腹腔内に注入し、麻酔下において両側腹部を剃毛処理した。その後電気メスにて右側腹部に腹膜に達する2cmの切開創を2本作製し、腹膜下に金属板（幅2cm）を挿入した。その後、実験装置（金大式褥瘡実験装置㈱越屋）に固定し、8kgの圧迫を加え褥瘡を作製した。ソムノペンチルによる持続麻酔下で6時間圧迫後、実験装置を除去、側腹部の切開創を縫合し、ポピドンヨード（イソジン®：明治製薬㈱）で消毒した。褥瘡部と縫合部を覆うようにハイドロコロイドドレッシング材（テガソーブ：3 M Health Care ㈱）で被覆した。ドレッシング材は毎日の創観察後、新しいものに交換した。左側腹部は皮膚を保護するためにノンアルコール性保護膜形成剤（リモイスコート：アルケア㈱）を噴霧し、極低刺激性絆創膏（スキナゲート：ニチバン㈱）を貼付した。ハイドロコロイドドレッシング材の剥離予防のため、その上からサージカルテープ（トランスポア：3 M Health Care ㈱）で固定した。

2）肉眼的観察：褥瘡部は創作製直後から治癒まで毎日定時刻に観察し、ドレッシング材の交換、写真撮影を行った。

3）近赤外線分光法

⑴　**近赤外線**：赤外線には、一般的に近赤外線、中赤外線、遠赤外線の3つの領域があり、波長が700～2500nmのものを近赤外線と呼んでいる。本研究で用いた近赤外線の領域は700～1100nmの領域であり、この領域の光は組織透過性に優れ、物質に含まれる分子構造の特定官能基（-NH、-OH、-CH基など）により特異的に吸収されるため、よく医学応用に利用されている[7]。

⑵　**撮影装置の概要**：本装置ではプローブを用いて、皮膚からの反射光や周囲の光が直接受光部に届かないように遮断し、皮下を経由した近赤外線のみを受光する仕組みである。したがって光源から照射された近赤外線は、皮下で散乱を繰り返しながら進み、円筒状のプローブに入り受光部に到達する。この際、血管を通過した近赤外線は、血中のヘモグロビンに特異的に吸収されるので血管の信号強度が低下する。撮影した画像では皮膚や血管にコントラストがついて描写される。受光部には近赤外線に感度を持つ電荷結合素子（CCD：charge－coupled－device）（Sony XC －E 150／50 CE）、プローブには装置の光源として波長700nmと波長810nmの発光ダイオード（LED：light emitting diode）（OPTRANS VSF 706 C 1、LSF811C 1）を各々30個ずつ均等に取り付けてある。700nmの波長は還元ヘモグロビンの吸収が酸化ヘモグロビンの吸収より大きく、810nmの波長は還元ヘモグロビンと酸化ヘモグロビンの等吸収波長である[7]。

⑶　**近赤外線透過度測定**：褥瘡作製直後から治癒まで毎日定時刻に810nmの波長の近赤外線を照射し、同一部位の画像を2回撮影した。その際実験室内のブラインドを下ろし、日光が入らないよう留意した。さらに室内の電気を消し、カメラをラットの皮膚に密着させることで、皮膚からの反射光や周囲の光が直接カメラの受光部に届かないように配慮し、皮下を経由した近赤外線のみを受光するようにした。また、測定部位を固定するために近赤外線を照射する右側腹部における創部の周囲に油性マジックで印しておいた。さらに、三脚を用いて近赤外線カメラを固定することにより、測定者の手技による誤差を最小限にした（変動係数8.2%）。

⑷　**近赤外線透過度分析**：近赤外線カメラで撮影した画像を画像解析ソフト（ImageJ：National Institutes of Health）で分析した。使用する画像については、同一部位を2回撮影し得られた画像のうち、画像の鮮明度が高いものを選択した。ImageJでは、近赤外線カメラで受光した信号強度をピクセル単位で数値化することができ、さらに関心領域を選択することで複数のピクセルにおける近赤外線透過度の平均値を算出することができる。創周囲のマジック部は近赤外線透過度に影響を与える因子となっているため、ImageJでの分析時に、関心領域から除外した。810nm付近の波長は酸化、還元ヘモグロビンの吸収割合の影響を受けないという特性から、過去の先行研究[8]においても血流動態のひとつの指標として使用されている。そのため、本研究においても血中のトータルヘモグロビンを最も反映すると考えられる810nmの波長のみを用いて分析を行った。

4．分　　析

発赤の近赤外線透過度にてその後の治癒過程の予測は可能かを次のように分析した。このため、分析には圧迫負荷除去直後に観察された発赤の近赤外線画像のみを用いた。異なる治癒過程を辿った部位それぞれの関心領域をとり、近赤外線透過度を算出した。さらに、各画像の均一化を測るため基準部位を設け、基準近赤外線透過度に対する各関心領域の近赤外線透過度の割合を算出し（この値を近赤外線透

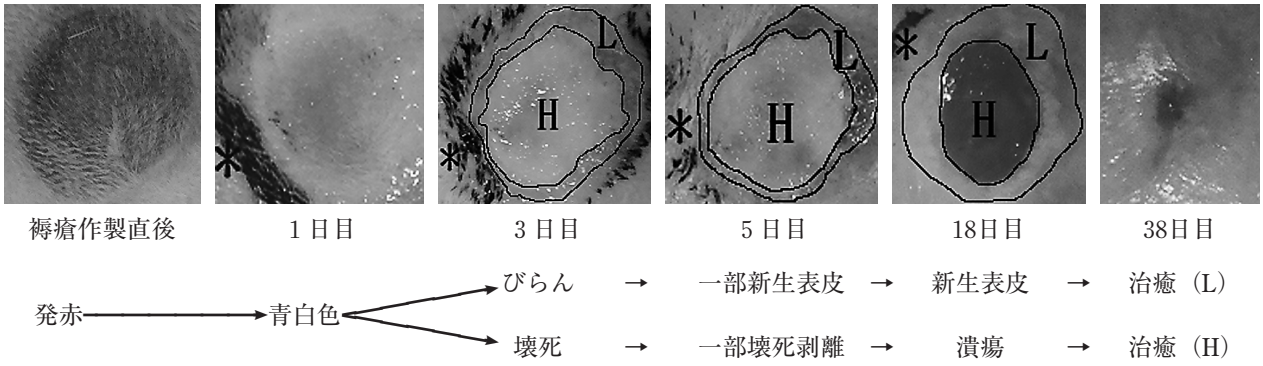


図1．肉眼的所見と治癒過程
L：Lightly Wounded　　H：Heavily Wounded　　＊：マジック

過度相対値とし、以下相対値とする）、分布図に表し比較した。基準部位とは、近赤外線画像において、創の影響を受けておらず光のコントラストを考慮した部位から得られた発赤創縁に近接した皮膚を指す。

$$相対値(\%)=\frac{各部位における近赤外線透過度}{基準近赤外線透過度}\times 100$$

創対値によって治癒過程予測可能かを検討するために、分布図から抽出された分離値と各個体の治癒過程との一致度を算出した。

$$一致度(\%)=\frac{予測が一致した部位のピクセル数}{予測される治癒過程部位のピクセル数}\times 100$$

5．倫理的配慮：この研究は金沢大学動物実験委員会にて承認された（AP－070860）。褥瘡を作製する際は、疼痛除去のためソムノペンチル®による持続麻酔とした。また、褥瘡作製後の治癒過程において、ラットに安楽死が必要と判断された場合には、致死量のソムノペンチル®を投与した。

結　　果

1．肉眼的所見

圧迫負荷除去直後、圧迫部に円形の発赤（暗赤色）が見られた。1日目には創全体に青白い色調変化が見られた。2～4日目には創中央に壊死、創周縁にびらんが出現し始め、5～10日目には壊死は一部が剥離し、びらんは一部が新生表皮となった。10～23日目には壊死が消失し、潰瘍が形成された。その後徐々に縮小し、表皮が形成され20～43日目に治癒となった。

これらの治癒過程から、肉眼的所見として褥瘡作製直後、圧迫部には一様に発赤が見られたが、一様と思われていた発赤の中でも部位によって異なる治癒経過を辿っていた。発赤の後に青白色の色調変化からびらんを呈し治癒する（LightlyWounded以下Lと記す）部位と、青白色の色調変化から壊死・潰瘍を呈し治癒する（HeavilyWounded以下Hと記す）部位の大きく2種類に分けられた（図1）。L、Hの分布は全て周辺がLであり、HはLに囲まれるように存在した。

表1．一致度（%）

個体ID / 治癒過程	1	2	3	4	5	平均
L	70.8	63.8	89.2	51.6	48.8	64.8
H	79.8	80.5	50.9	65.5	80.6	71.5

2．近赤外線透過度相対値

図2より、全てのラットにおいてLを辿った部位の相対値は90～122%、Hを辿った部位の相対値は31～69%となっていた。Hを辿った部位はLを辿った部位に比べ相対値が低かった。

3．予測妥当性の検討

結果2を基に相対値90%を壊死になるか否かの分離値とし、相対値90%以上であればL、相対値90%未満であればHを辿ると推測した。

Lを辿ると予測される部位における一致度の平均値は、64.8%、Hを辿ると予測される部位における一致度の平均値は71.5%であった（表1）。

考　　察

同一の加圧装置を用い8kg－6時間の負荷を行った先行研究では、潰瘍は形成されず治癒した[6]。しかし、本研究では治癒過程において壊死と潰瘍が形成された。その理由として、先行研究[6]では、圧迫除去後は発赤部に負荷を加える操作は行われていないが、本研究においては、毎日行われた近赤外線カメラの撮影が創部への繰り返し圧迫という侵襲をもたらしたと考えられる。繰り返し圧迫の侵襲が大

きいことは、マウス微小循環可視化モデルにおいても指摘されている[9]。創部の皮膚は脆弱化しており、この圧迫が影響を及ぼしたため、圧壊死が形成されたのではないかと考えられる。

先行研究[5]では、近赤外線分光法を用いて体圧と血流動態の関係を比較・検討したものはあったが、実際に褥瘡の血流動態と近赤外線の関係を比較・検討したものはなかった。さらに、近赤外線分光法で得られた血液量変化は皮膚接触面での体圧よりも褥瘡の本質的メカニズムを反映していると考えられる[5]。そのため血液量変化をとらえることができる近赤外線分光法を用いて発赤部の血流動態を数値化し、そこから得られる近赤外線透過度と治癒過程の関連性を検討することが有益であると考えた。

1．肉眼的所見

肉眼的所見として、褥瘡作製直後、圧迫していた部位には一様に発赤が見られたが、一様と思われていた発赤の中でも部位によってＬ・Ｈという異なる２種類の治癒過程を辿っていた。このことから圧迫を除去した時点で、すでに組織内には異なる治癒過程を辿る要因があったのではないかと考えた。その要因として、皮膚は軟部組織であることから、褥瘡作製時に、加圧器の圧迫部周縁に及ぼす外力が中心部よりも分散され、その差により圧迫部周縁の損傷が比較的浅くなったことが考えられる。

2．近赤外線透過度相対値

図２より、全てのラットにおいてＬを辿った部位の相対値は90～122%を示し、Ｈを辿った部位の相対値は31～69%を示していた。前者は後者に比べて相対値が高いといえる。近赤外線は肉眼的に観察できない血中のヘモグロビンに特異的に吸収されることで、血管の信号強度が低下する仕組みとなっているため、血流動態を反映しているといわれている。つまり、Ｈを辿った部位は相対値が低いため血流が多く、Ｌを辿った部位は相対値が高いため血流が少ないといえる。褥瘡作製直後の発赤とは血管の拡張、または出血した状態を示している。Ｈを辿った部位は重症化していった部位であり、Ｌを辿った部位に比べ血管拡張度が高いことや出血が多いことが考えられる。

3．予測妥当性の検討

1）分離値

結果２では褥瘡作製直後において、Ｌを辿った部位に比べＨを辿った部位は相対値が低いという関係性が見られた。この関係性を基に、発赤の時点で治癒過程を予測することができるのではないかと考えた。本研究では治癒過程をＬ・Ｈの２種類に分類しているため、治癒過程の予測指標としてＬを辿った部位とＨを辿った部位の分離値を設定した。分離値は図２におけるＬを辿った部位の相対値の最小値である90%とし、90%以上であればＬを辿ると予測される部位、90%未満であればＨを辿ると予測される部位と仮定した。この分離値をＬを辿った部位の相対値を用いて設定した理由として、Ｈを辿った部位はＬを辿った部位より面積が広く、壊死内においても治癒期間が異なることから、損傷の程度が均一ではないと考えられる。そのため、関心領域選択部位の違いが相対値に影響を及ぼすと考えられ、Ｌを辿った部位の相対値がとり得る最小値を分離値に設定することが適切であると判断した。

2）一致度

この分離値の妥当性を検討するために一致度を算出した（表１）。本研究では一致度70.0%以上を妥当性があると判断した。Ｌを辿ると予測された部位の一致度の平均値は64.8%、Ｈを辿ると予測された部位の一致度の平均値は71.5%であった。まずＬの一致度について述べると、平均値が64.8%と低くなっていた。この理由として、毎日行われた近赤外線カ

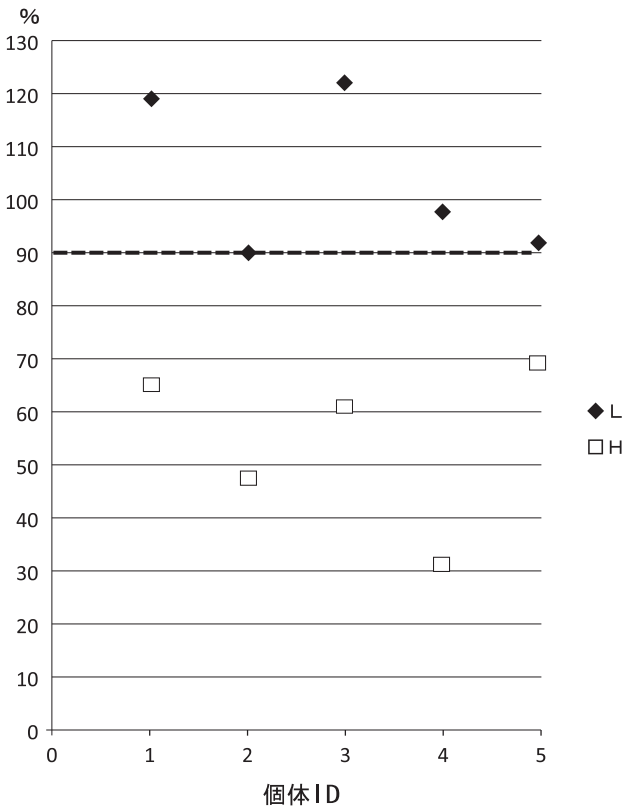


図２．相対値の分布
◆：Ｌを辿った部位　□：Ｈを辿った部位
点線は分離値を示す

メラの撮影による創部への圧迫が考えられ、それによって発赤時にＬと予測された部位の中でも壊死が形成されたことが考えられる。Ｈの一致度においてはラット３が50.9％と70％を下回った。その理由としては、肉眼的観察において壊死剥離後の潰瘍が他のラットより浅かったことから、Ｈを辿った部位とＬを辿った部位の損傷程度には大差がなかったのではないかということが挙げられる。また一致度が65.5％であったラット４に関しては、治癒が遷延していたことからも感染の疑いがあり、この感染が褥瘡作製直後の発赤時におけるＨを辿ると予測される部位の一致度に影響したと考えられる。これらのことを考慮してもＨを辿ると予測される部位の一致度の平均値が71.5％であることから、予測妥当性があると考えた。

４．本研究の限界と今後の展望

今回の実験において、全てのラット褥瘡モデルで壊死が形成され、損傷が重度のラットの近赤外線透過度しか得られなかった。その要因として、毎日行った近赤外線透過度測定時の圧迫が脆弱化した創部の皮膚に影響を及ぼした可能性があることが考えられた。そのため、本研究の限界として、創内に壊死を形成せずに治癒する褥瘡に対して近赤外線透過度と治癒過程の関連性を検討することができなかったことが挙げられる。本研究における今後の展望としては、今回の結果を基に組織学的検討を加え、褥瘡における組織内の変化・損傷を近赤外線が反映しているかを証明する必要がある。また、近赤外線透過度の非侵襲的測定が可能になることが挙げられ、そのためには、近赤外線カメラを皮膚に密着させることなく光の散乱変化を最小限にできる機械の開発が必要である。さらに、本研究では分離値を相対値90％のみで設定し一致度を測定したが、今後は異なる相対値で分離値を設定し、検討していくことで、ＬまたはＨを辿ると予測される部位のより正確な分離値を特定していけるのではないかと考えられる。上記を検討することにより、将来的に近赤外線を臨床における褥瘡の客観的なアセスメントツールの１つとして確立できると考えられる。

結　論

褥瘡作製直後の発赤部に近赤外線を照射し、撮影した画像を ImageＪで分析し得られた近赤外線透過度相対値と治癒過程の関係を比較、検討した。この実験により以下の結果が得られた。

１．肉眼的観察において、褥瘡作製直後一様と思われる発赤の中でも部位によって異なる治癒過程を辿っていた。同じ創内であっても、壊死を呈する部位と呈さない部位の２種類があった。

２．褥瘡作製直後における、発赤部の近赤外線透過度相対値を算出したところ、壊死を呈さない部位では相対値は90～122％、壊死を呈する部位では相対値は31～69％と二分化していた。

３．相対値90％を壊死を呈するか否かの分離値としたところ、壊死を呈すると予測された部位において、一致度が平均71.5％であり、予測妥当性があったと判断した。

以上のことから、近赤外線透過度を用いることにより、発赤の段階で壊死を呈する部位を予測できることが示唆された。

文　献

１）宮地良樹：褥瘡はなぜできる．よくわかって役に立つ新褥瘡のすべて（宮地良樹，真田弘美編），永井書店，pp 1－11，2006

２）高橋誠：力学みた褥瘡の発症機序褥瘡はなぜできる．よくわかって役に立つ新褥瘡のすべて（宮地良樹，真田弘美編），永井書店，pp 12－16，2006

３）Sato M, Sanada H, Konya C, et al: Prognosis of stage I pressure ulcers and related factors. Int Wound J 3, 355－362, 2006

４）山本克之：生体計測への近赤外分光法の応用，BME, 17, 55－60，2003

５）佐川節子，池田レミ，東照正，他：仰臥位時の仙骨部血液量からみた褥瘡予防マットレスの評価，日本脈管学会誌，45，101－104，2004

６）Sugama J, Sanada H, Nakatani T, et al: Pressure-induced ischemic wound healing with bacterial inoculation in the rat. WOUNDS 17, 157－168, 2005

７）Matsushita T, Miyati T, Nakayama K, et al: Development of qualitative near infrared vascular imaging system with tuned aperture computed tomography, Progress in biomedical optics and imaging, Proceedings of SPIE 6510, 65103G, 2007

８）小澤利行，浅野薫，沼田成弘，他：近赤外分光画像計測法による血中ヘモグロビン濃度の無侵襲測定，生体医工学，43，93－102，2005

９）Tsuji S, Ichioka S, Sekiya N, et al: Analysis of ischemia-reperfusion injury in-a microcirculatory model of pressure ulcers. Wound Repair Regen 13, 209－217, 2005

Prediction for wound healing of skin redness using the near-infrared rays －A rat model experimental study－

Junko Sugama, Tosiaki Miyati, Chie Asada*, Kenichiro Amaya**,
Ayaka Sano*, Masako Sekiya***, Keiko Takeuchi****, Mana Hirawake****,
Shiori Fukuda*****, Yumiko Yoshida*