

# ゼラチンハイドロゲルと組織修復性因子を用いた犬の褥瘡治療のパイロット的研究

Use of gelatin hydrogel and tissue repair factors to treat the pressure ulcer of a dog; a pilot study

○藤本洋平<sup>1)</sup> 横関健昭<sup>1)</sup> 田畑泰彦<sup>2)</sup> 横山篤司<sup>1)</sup>

1) さくら動物病院/併設長野どうぶつ再生医療センター (長野県)

2) 京都大学ウイルス再生医科学研究所 生体材料学分野 (京都府)

## 要約

褥瘡は日常的に遭遇する疾患であり、またそのほとんどの症例が高齢で、その難治性と管理の煩雑さから動物の生活の質(QOL)はもちろんのこと、ご家族のQOLにも大きな影響を及ぼす。

近年、組織修復性因子を含む多血小板血漿(PRP)や塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)製剤を小動物臨床の現場において使用するケースが増加している。しかしながら、bFGF製剤を頻繁に使用することは、ご家族にとって日々の管理はもちろんのこと経済的にも大きな負担となる。そこで当院では、これら組織修復性因子の効果を最大限効率的に生かす方法として、ゼラチンハイドロゲルシート(GHS)を用いることにした。

症例はトイ・プードル(8歳齢、避妊雌、2.0kg)、既往歴として関節リウマチがあり、両前肢肘部、両後肢足根部に褥瘡が形成された(褥瘡面積 右前肢:167.8mm<sup>2</sup>、左前肢:72.8mm<sup>2</sup>、右後肢:51.6mm<sup>2</sup>、左後肢:22.7mm<sup>2</sup>)。各部に対しPRPを含浸したGHS、bFGFを含浸したGHS、bFGF溶液の噴霧のみの3パターンの治療を複合的に行った。

結果、治療開始から9日で両後肢の創が治癒し、19日で両前肢の創の90%以上の縮小を確認した。GHSを用いることで液性薬剤を用いた創傷治療において最も課題となる薬剤の創面からの消失を防ぐことができ、加えてGHSで創を覆うことで湿潤を保つことが出来たことが本治療成績に反映されたと考えている。

キーワード 再生医療 PRP bFGF  
ゼラチンハイドロゲル 褥瘡

## はじめに

犬の褥瘡は日常的に遭遇する疾患であるが、その多くは高齢による自己治癒能力の低下、創部の血行障害、感染などの複合的な要因により治療が困難である。また、この疾患は小動物臨床だけの問題ではなく、高齢化社会を迎えた人医療においても重大な問題として存在している。

近年、人医療では褥瘡治療にbFGF製剤を用いることにより治療成績は大きく向上している<sup>1)</sup>。また、小動物臨床においてもbFGF製剤を難治性潰瘍の治療に取り入れている病院がある。しかし、小動物臨床においてbFGF製剤を難治性潰瘍に適応する際にはいくつかの課題がある。

その1つはいかに薬剤を創面に留まらせるかという問題である。現在、臨床使用可能な市販bFGF製剤として販売名:フィブラストスプレー(科研製薬株式会社)が唯一あるが、本製品は創面に薬剤を噴霧して30秒薬剤を浸透させた後にドレッシング材で覆うものとなっている。この場合、治癒に関与するのは30秒で浸透したbFGFであり、残りのほとん

どは容易に創面から流出してしまう恐れがある。

もう1つは創面の湿潤性保持の問題である。創の治癒には創面の乾燥を極力抑える必要があり、ウェットドレッシングが推奨されるが<sup>2)</sup>、小動物臨床では被毛の関係でドレッシング材と創面の間に隙間が出来やすく、これにより創面の湿潤性を保ちにくい。また、創の感染を助長させる要因となることがある。

これらの問題点を解決すべく、当院はGHSの使用を試みた。GHSはゼラチンハイドロゲルをシート状に成形したもので、特徴として高い生体親和性、体内での分解性、水分の保持能、bFGFをはじめとした組織修復性因子の吸着とその徐放性能などが挙げられる<sup>3)</sup>。

本症例は在宅治療で長期にわたり褥瘡の改善がみられず、関節リウマチの治療のために低容量のステロイド剤の併用が不可避となり、さらに右後肢の頸骨端が露出したという早期の創の閉鎖を望む状況において、PRPまたはbFGFとGHSを併用した新規の治療を実施した。

## 症例

### プロフィール

8歳齢 不妊手術済み雌 トイ・プードル

### 主訴

両前肢肘部、両後肢足根部の創。右頸骨端の露出。

### ヒストリー

○現病歴:2年前から四肢褥瘡の改善と増悪を繰り返す。

○既往歴:4年前に関節リウマチと診断。以後症状に応じてプレドニゾン0.25-0.5mg/kg sid or bidを内服。2年前に左足根関節部に褥瘡形成。

## 身体検査所見

体重(kg) 2.0 BCS 2/5 体温(℃) 38.4

## 材料と方法

### GHSの作製

GHSは京都大学ウイルス・再生医科学研究所 生体材料学分野の田畑研究室にて作製した。GHSの作製には牛骨由来コラーゲンをアルカリ処理することで得られたゼラチン(MW100 000, PI5.0)(新田ゼラチン株式会社)を用いた。まず、ゼラチン粉末を37℃で蒸留水に溶解して5%ゼラチン溶液とした後、塩酸でpHを5.0に調整した。30μlの25%グルタルアルデヒド溶液(GA)(和光純薬株式会社)を加えてすばやく混和した後、厚さが1mmとなるようにバランスディッシュ上に薄く広げ、4℃で12時間静置し、ゼラチン分子を架橋した。ゲル化したGHS中のGAを中和するため0.1mol/lグリシン溶液で1時間洗浄した後、Milli-Q水で1時間洗浄を2回行った。洗浄したGHSを-80℃

で凍結した後、凍結乾燥処理を72時間行った。乾燥させたGHSはEOG滅菌され、使用まで4°Cで保管した。

### PRPの調製とGHSへの含浸

PRPの作製には自家末梢血を用いた。症例より末梢血9mlを採血し、1mlのACD-A液(テルモ株式会社)で抗凝固処理したものを200xg、10分間遠心分離した。パフィーコートを含む全血漿を回収し、これを1200xg、5分間遠心分離して血小板を全て沈降させた。上清の2/3量を捨て、残り1/3量の上清で血小板を再懸濁した。この血小板濃縮血漿(すなわちPRP)に対し7:1(v/v)となるよう2%塩化カルシウム溶液(大塚製薬)を加え、37°Cで1時間インキュベートし、血小板を活性化させ、細胞増殖因子やサイトカインなどの組織修復性因子を放出させた。活性化処理したPRPを1200xg、5分間遠心分離した後、上清を回収し、厚さ約1mmの乾燥GHSに37°Cで1時間膨潤、含浸させた。

### bFGFのGHSへの含浸

bFGFはフィブラストスプレー250のものを使用した。凍結乾燥bFGF(250μg)は滅菌精製水(日興製薬株式会社)2.5mlで溶解し、100μg/ml bFGF溶液とした。厚さ約1mmの乾燥GHS 1cm<sup>2</sup>片に対しbFGF溶液100μlを加え、37°Cで1時間膨潤、含浸させた。

### 創の処置

創部は生理食塩水でよく洗浄し、創部周辺の被毛を除去した。デブリードメントなどの侵襲性のある処置は一切行わなかった。創部は処置(PRP含浸GHSもしくはbFGF含浸GHSを創面に被覆、またはbFGF溶液の創面への噴霧のいずれか)を行い、非固着性吸収性被覆材で覆った。創の処置は2-4日に1回行った。

表：PRP・bFGF・GHSの使用状況と創長・面積の推移

	Days	短径(mm)	長径(mm)	面積(mm <sup>2</sup> )	PRP	bFGF	GHS
右肘部	0	12.6	16.3	167.8	○	-	○
	3	9.6	15.8	118.8	-	○	-
	5	10.0	14.4	105.0	-	○	○
	7	8.7	11.5	80.0	-	○	-
	9	7.9	9.5	58.1	-	○	-
	12	8.4	9.9	61.9	-	○	○
	14	6.9	8.3	47.7	-	○	○
	19	4.1	4.9	14.9	-	-	-
左肘部	0	10.0	11.2	72.8	○	-	○
	3	7.5	10.9	62.7	-	○	-
	5	6.3	10.5	50.6	-	○	○
	9	5.0	7.6	31.1	-	○	-
	12	4.3	6.0	22.4	-	○	-
	14	4.8	6.3	23.3	-	○	○
	19	2.2	3.1	5.2	-	-	-
右足根部	0	7.1	9.5	51.6	○	-	○
	3	3.1	5.8	15.3	-	-	-
	5	1.4	6.3	7.1	-	○	○
	9	0.0	0.0	0.0	-	-	-
左足根部	0	4.8	6.4	22.7	○	-	○
	3	3.8	7.6	24.3	-	-	-
	5	2.5	4.6	10.2	-	○	○
	9	0.0	0.0	0.0	-	-	-

### 創面の評価

創面を正面から撮影した画像から、創面の長径、短径、面積をimage J(アメリカ国立衛生研究所)で解析した。

### 結果

ゼラチンハイドロゲルと組織修復性因子を用いた治療により、四肢の全創において顕著な創の収縮を確認した。PRP含浸GHSでは一定の創の収縮をみたが、GHSを使用せずbFGF溶液の噴霧のみ行った場合、創の収縮が遅いかもしくは拡張がみられた。bFGF含浸GHSでは顕著に創が収縮し、さらに褥瘡ポケットの消失も確認した。

### 考察

褥瘡は創部の自己治癒能力の低下、血行障害、感染などの要因により治癒が難しい創傷であるが、本研究ではPRPもしくはbFGFといった組織修復性因子を含浸させたGHSを創面に被覆することで治癒を認めた。GSHから創面に組織修復性因子の徐放を行うことにより、上皮細胞の創部への遊走や創部への血管の誘導がなされ、創の著しい改善につながったものと考えられる<sup>4)</sup>。また、GHSで創を覆うことで湿潤を保つことが出来たことも本治療成績に貢献したと考えている。

フィブラストスプレーの噴霧は毎日の実施が推奨されており、集中的な創の処置を行うにはご家族の負担の増加や、入院などの対応が必須となる。加えて、創の修復を目的として使用するには些か高価であることが本薬剤の使用に容易に踏み切れない要因であった。しかし、本薬剤を創面に長く留める事が出来れば3-7日に1度の創の処置で済ませることができ、また使用製剤量を減量できる。結果、ご家族の創処置の負担や経済的負担の軽減に繋がり、症例とご家族双方のQOLの向上に繋がるものと期待される。

本研究から褥瘡に対する組織修復性因子とGHSを用いた新規治療は大変有効であると考えられた。今後は本症例のような難治性の褥瘡をはじめとした様々な難治性潰瘍(腫瘍性は除く)に適用していきたいと考えている。

### 利益相反状態の開示

今回の発表について、著者あるいは共著者に開示すべき利益相反関係にある企業等はありません。

### 参考文献

- 1) Ohura T, Nakajo T, Moriguchi T, et al. Clinical efficacy of basic fibroblast growth factor on pressure ulcers: case-control pairing study using a new evaluation method. *Wound Repair Regen.* 19: 542-551, 2011.
- 2) 門野岳史, 吉田勝経, 永井弥生, ほか. 褥瘡予防・ガイドライン(第4版). 褥瘡会誌. 17: 487-557, 2015.
- 3) Tabata Y. Significance of release technology in tissue engineering. *Drug Discov Today* 10: 1639-1646, 2005.
- 4) Tanaka E, Ase K, Okuda T, et al. Mechanism of acceleration of wound healing by basic fibroblast growth factor in genetically diabetic mice. *Biol Pharm Bull.* 19: 1141-1148, 1996.