

褥瘡におけるb-FGF測定結果 とDESIGN評価

NPO法人床ずれ研究会
エビハラ病院薬剤師久保忠一
千葉科学大学薬学部准教授岡本能弘

目的

- 褥瘡では、b-FGFなどのサイトカインが不足していると言われているが、定量的な測定はほとんど行われておらず、また、創の治癒との相関関係も不明である。そこで、実際に褥瘡罹患患者の創から滲出液を採取し、b-FGFを測定してみた。
- 尚b-FGFは血管内皮細胞、繊維芽細胞等に存在する受容体に結合して、血管新生、肉芽形成促進作用等を示す。



方法及び倫理的配慮

- エビハラ病院褥瘡罹患入院患者10名(平均76.8歳、全員要介護5寝たきり)15部位から承諾を得て採取。
- 測定は、千葉科学大学薬学部免疫微生物学教室に依頼した。
- 病院と大学双方の承諾を得た。
- 写真を撮って、b-FGF値と平行して評価した。
- フィラスタスプレイ使用事例や尿・血液混入のサンプルは除外した。

測定法

- b-FGFは酵素免疫測定法で測定
- タンパク質をBRADFORD法で測定して、液体1ml中または、タンパク質1mg中のb-FGFを測定した。
- 特定のサイトカインのみを感知する抗体を活性部の標的に吸着させ測定。



(実験協力千葉科学大学薬学部免疫微生物学教室岡本能弘准教授)

採取の仕方

- 採取の仕方は、スポイトで滲出液採取する方法と



- 創の大きさに合わせて切った不織布を創に付着させて数秒間指で押さえ採取する方法のいずれかを採った。



試料調整の仕方

実験方法は滲出液をPBS(リン酸緩衝液)にて希釈混和したものを測定試料とした。

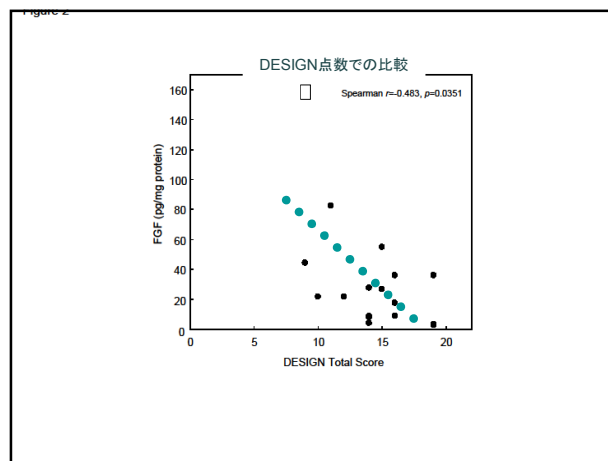
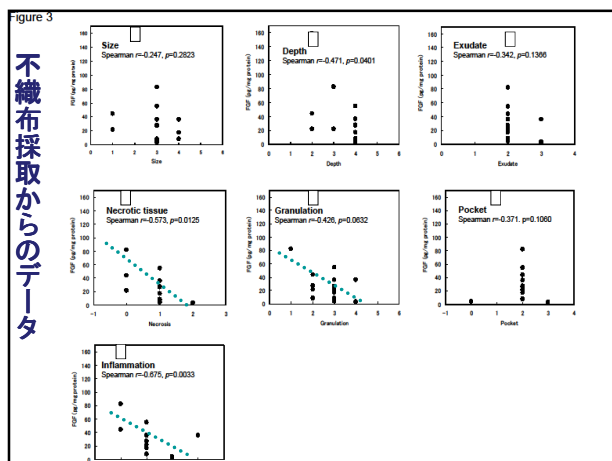
- 不織布には、PBSを 8mL添加し、他の検体に関してはPBSを 5mL添加し、混合後、一晚冷蔵保存した。
- 組織、薬剤の付着した不織布等の不要部位を除き、PBSが浸りやすいようにした。
- 不要物をとらないようにしながら、2.0mLチューブに溶液を回収した。
- 不織布には13000rpm 3min 4°Cで遠心し、上清を回収sampleとした。
- 検体番号をlabelしたチューブに検体とmilliQ(高純度精製水)を加え、よく混ぜた
- 各々の全量が800μLになったら、CBB溶液(たん白質のアミノ基等に結合すると推測されている)を200μL添加し、混合、10分間静置。
- standardにて検量線作成後、吸光度を測定した

測定結果からわかる問題点

b-FGF pg/ml	不織布	スポイト	b-FGF pg/mg	不織布	スポイト
平均	388.5	2232.8	平均	33.4	39.6
最大	1147.4	5468.2	最大	118.2	136.0
最小	73.2	217	最小	24.4	5.4
n	32	22	n	41	22

採取法と、b-FGFを滲出液ml中かたんぱく質mg中に見るかの検討

- スポイト採取の場合、不織布採取と比べ、滲出液ml中の量が極めて高い事例があったが、創全体から採るのではなく、採りやすい一部分から採取する傾向が高いゆえのバラつきと考えられる。
- 同様に、たんぱく質mg中の量が極めて低いものがあったが、これも、創全体から採るのではなく、採りやすい一部分から採取する傾向が高いため、壊死組織などの混入の度合が高くなることによるバラツキと考えられる。



改善事例と停滞事例の比較

不織布採取の場合のb-FGF濃度

改善事例

停滞事例

b-FGF pg/mg protein 64.2	b-FGF pg/mg protein 18.3
--------------------------	--------------------------

n8

n16

必ずしも改善事例で高い値になるということまでは結論付けられないが

反省点と今後

- 褥瘡浸出液サンプルの採取について
- これまでの方法は、採取方法としては簡便であるが、定量性に欠けると考える。今後は以下の方法について検討する。
 - 1) コイン程度の大きさの滅菌濾紙を患部に数分あて、液を吸収させ、濾紙から抽出して定量する。
 - 2) 浸出液の採取条件について: 前回の患部処置からサンプル採取時までのインターバルを患者ごとに一定にする。すなわち浸出液のたまる期間を一定にする。
- より定量的に測定が可能になれば、治療法を別の角度から評価することができる。