

学位論文題名

Methylprednisolone 投与による創傷治癒遅延とこれに対する Transforming  
growth factor- $\beta$  の影響に関する実験的検討

学位論文内容の要旨

目的

創傷治癒過程は種々の薬剤で障害をうける可能性があり、臨床的に投与する機会の多い副腎皮質ステロイドが創傷治癒過程の遅延をひきおこす可能性のあることが指摘されている。本研究では副腎皮質ステロイドの一種である methylprednisolone が創傷治癒に与える影響につき検討を加え、また生体内に存在する成長因子の一種で創傷治癒を促進する可能性があると考えられる transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) が methylprednisolone により遅延した創傷治癒を改善させ得るかを検討した。

材料および方法

C57B/L6 マウス6から10週齢の雌を用いた。背部皮膚に創を作成、一定期間後に犠牲死させ背部皮膚創の引っ張り試験を行い創部が破断時の最大張力を創抗張力とした。Methylprednisolone (PD) は腹腔内投与、TGF- $\beta$  は創局所皮下へ投与して以下の実験を行った。

実験1) PDの創傷治癒への影響：作創4日前より犠牲死前日まで以下の量でPD投与を行った。PD100群; PD100mg/kg投与, PD10群; PD10mg/kg投与, PD1群; PD1mg/kg投与。対照群は生理食塩水(生食) 10ml/kgを投与した。

実験2) PD投与時期による影響の差：術前投与群は作創3日前より1日前までPD40mg/kgを投与した。術日投与群はPD120mg/kgを作創当日に、術後投与群は作創後1日目より3日目までPD40mg/kgを投与した。対照群は生食10ml/kgを作創1日前より1日後まで投与した。

実験3) TGF- $\beta$  の創傷治癒への影響：TGFd0群には作創当日にTGF- $\beta$  2.5 $\mu$ g/kgを投与した。TGFd3群には作創後3日目に、TGFd7群には作創後7日目に同量のTGF- $\beta$  を投与した。対照群には生食を投与した。

実験4) PD投与により遅延した創傷治癒に対するTGF- $\beta$  の効果：PD単独群には作創の11日前より犠牲死させる前日までPD10mg/kgを投与し、作創後3日目に生食0.2mlを創局所に投与した。PD+TGF群にはPD10mg/kgを投与し、作創後3日目にTGF- $\beta$  2.5 $\mu$ g/kgを投与した。対照群には生食10ml/kgを作創11日前より犠牲死させる前日まで腹腔内投与、作創後3日目に創局所に生食0.2mlを投与した。

測定結果は創抗張力を平均値(g)で表記し、検定はStudent t-検定を用いて危険率5%以下を有意とした。

結果

実験1) PD100群2週目573.60g(以下省略), 3週目781.00。PD10群2週目557.60, 3週目717.00。PD1群2週目594.20, 3週目654.00。対照群2週目745.11, 3週目805.40であった。PD投与群は3群とも対照群に比較し2, 3週目とも有意の創抗張力低下を認めしたが、投与量による差は認めなかった。

実験2) 術前投与群2週目421.78, 3週目835.11。術日投与群2週目491.56, 3週目682.00。術

後投与群2週目526.50, 3週目712.51. 対照群2週目571.11, 3週目942.22であった. 術前投与群, 術後投与群は各々2週目, 3週目のみ有意の創抗張力低下を認めた. 術日投与群は2週目は創抗張力低下の傾向にあり3週目は有意の低下を認めた.

実験3)TGFd0群7日目98.50, 11日目318.00, 14日目672.25. TGFd3群は7日目169.11, 11日目589.56, 14日目708.60. TGFd7群は11日目308.00, 14日目588.00. 対照群は7日目94.20, 11日目355.46, 14日目628.73であった. 術日あるいは術後7日目のTGF投与では対照群と創抗張力の有意差は認めなかった. 術後3日目のTGF投与では7, 11日目の創抗張力は有意に増強していたが14日目の創抗張力は有意差は認めなかった.

実験4)PD単独群2週目422.67, 3週目631.75. PD+TGF群では2週目653.33, 3週目815.11. 対照群は2週目675.78, 3週目953.20であった. PD単独群は2, 3週目ともに創抗張力は有意に減弱していた. PD+TGF群では, 2, 3週目とも創抗張力は対照群と有意差は認めなかった.

### 考察

副腎皮質ステロイド投与が創傷治癒を遅延させる可能性について, また遅延した創傷治癒過程の促進についても種々の研究がなされているが両者ともいまだ不明の点も多い. 本研究では副腎皮質ステロイドの一種であるMethylprednisoloneと, 創傷治癒に促進的に作用すると言われる成長因子TGF- $\beta$ の創傷治癒に対する作用を実証し, さらにTGF- $\beta$ がMethylprednisoloneにより遅延した創傷治癒を改善させ得るかを検討した.

Methylprednisoloneの臨床的投与量は2-40mg/kgであるが, 今回の実験では1mg/kgの投与でも創傷治癒遅延を認めた. しかし1, 10, 100mg/kgの各投与量での創抗張力の有意差はなく, methylprednisoloneの創傷治癒に対する影響は大であるが用量依存性ではない可能性が示唆された. またmethylprednisoloneの投与時期を変えた比較では, 術前または術後に投与した場合投与から約14日後の創抗張力が減弱したのに対し, 受傷当日の投与では14日, 21日後の創抗張力が減弱しており受傷当日にmethylprednisoloneの投与をうけた場合に最も著しい障害を受ける可能性が高いと考えられた. しかしmethylprednisolone短期投与の場合は投与中止後には正常と同等にまで回復しており周術期の一時的な投与の場合はmethylprednisoloneの代謝とともに創傷治癒過程への影響も減弱するものと考えられた. これに対してmethylprednisoloneの投与を継続している場合は創抗張力は回復せず, 投与中は正常と同等の創傷治癒過程の進行は望めないと考えられた.

創傷治癒過程を促進するとされるTGF- $\beta$ は時間依存性に異なった多くの効果をもち, 投与時期によっては創傷治癒過程への影響は大きく異なる可能性があると考えられている. 本実験ではまず正常創傷治癒過程に対する影響を受傷後0, 3, 7日目のTGF- $\beta$  2.5 $\mu$ g/kg (500ng/wound) 局所投与により検討した. 受傷後0, 7日目の投与群では受傷後の創抗張力は対照群と変わらず, 受傷後3日目投与群でのみ受傷後14日目で対照群に対し有意に創抗張力が増強していた. これより遅延した創傷治癒を促進させる目的でTGF- $\beta$ を投与する場合, 受傷後3日目の投与が有効であると思われる. この結果からmethylprednisolone投与による創傷治癒遅延群に対し, 術後3日目のTGF- $\beta$ 投与の有効性につき検討を行った. Methylprednisolone投与のみの場合は受傷後14, 21日とも対照群に比較し有意に創抗張力減弱が認められたが, さらに術後3日目のTGF- $\beta$ 局所投与を行った場合には創抗張力は対照群と同等にまで回復していた. これらの結果はステロイド投与により遅延した創傷治癒過程の促進にTGF- $\beta$ が有効であることを示唆している.

### 結語

- 1) Methylprednisolone投与により創傷治癒は遅延するが, その作用は用量非依存性である可能性が示唆された.
- 2) Methylprednisoloneを術当日に投与した場合に最も創傷治癒に与える影響が大であった.
- 3) 正常創傷治癒群へのTransforming growth factor- $\beta$ の術後3日目の投与で創傷治癒過程の促進が認められた.
- 4) Methylprednisoloneによる創傷治癒遅延はTransforming growth factor- $\beta$ 投与で回復し, 副腎皮質ステロイド投与を受けている症例の創傷治癒遅延の改善にはTGF- $\beta$ が有用である可能性が示唆された.

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 加 藤 紘 之  
副 査 教 授 金 田 清 志  
副 査 教 授 杉 原 平 樹

## 学位論文題名

### Methylprednisolone 投与による創傷治癒遅延とこれに対する Transforming growth factor- $\beta$ の影響に関する実験的検討

創傷治癒の解明は外科治療の基本的課題の一つである。創傷治癒には免疫系を中心とした、多くの因子が関与していることが明らかになっている。しかし免疫抑制因子による創傷治癒遅延の機序や、遅延した創傷治癒の促進方法などについてはいまだ報告は少ない。本研究は臨床で頻用されている Methylprednisolone 投与による創傷治癒への影響および、Methylprednisolone による創傷治癒遅延を Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) が促進するか検討した。

実験動物は C57BL/6 mice を用いた。背部皮膚に作創し、投薬の後犠牲死させて引っ張り試験器により創抗張力を測定しこれを創傷治癒の示標とした。以下の 4 系統の実験を行い結果を得た。

実験 1) Methylprednisolone 投与により創傷治癒遅延が惹起されるか否かを投与用量を変えた 3 群を作成し比較した。Methylprednisolone 投与群はすべて対照群と比較し、作創後 14 日及び 21 日後の創抗張力の有意な減弱を認めたが、投与用量による有意差は認めなかった。実験 2) Methylprednisolone の投与時期により創傷治癒に対する影響に変化があるか否かを術前投与、術日投与、術後投与の 3 群と対照群との間で比較した。術前投与では術後 14 日に創抗張力の有意な減弱をみたが 21 日目には回復していた。術日投与では術後 14 日及び 21 日後、術後投与では術後 21 日後の創抗張力の減弱を認めた。実験 3) TGF- $\beta$  の投与時期による創傷治癒に与える影響の差異について術日投与、術後 3 日目投与、術後 7 日目投与と対照の間で比較した。術後 3 日目投与でのみ対照群と比較し術後 7、11 日後の創抗張力の有意な増強を認めた。術日投与群、術後 7 日目投与群では創抗張力は対照群と有意差は認めなかった。実験 4) TGF- $\beta$  投与が Methylprednisolone 投与による創傷治癒遅延状態を改善させるか否かを検討した。Methylprednisolone 単独投与、Methylprednisolone および TGF- $\beta$  投与、対照との間で創抗張力を比較した。Methylprednisolone 単独投与群は対照群に比較し作創後 14、21 日後有意に創抗張力が減弱していたが、Methylprednisolone および TGF- $\beta$  投与群では対照群と有意差を認めなかった。

以上の結果より以下の結論を得た。

- 1) Methylprednisolone 投与により創傷治癒は遅延するが、この影響は用量非依存性である。
- 2) Methylprednisolone は投与時期にかかわらず創傷治癒を遅延させるが作創日に投与された場合最も影響が大きい。また Methylprednisolone 投与中止後には創傷治癒は回復する可能性がある。

3) TGF- $\beta$  は術後3日目の局所投与で創傷治癒を促進させ得る。

4) TGF- $\beta$  はMethylprednisolone投与による創傷治癒遅延を術後3日目の局所投与で回復させ得る。

以上の結果よりステロイドが創傷治癒を遅延させることおよび、ステロイドにより遅延した創傷治癒はTGF- $\beta$ により回復させ得ることが示された。臨床的には周術期にもステロイド投与ををうけている症例では、その投与中止は困難である場合が多いと考えられる。この様な症例で遅延した術後の創傷治癒回復させるためには、全身の免疫系に与える影響を最小に抑えつつ局所で創傷治癒遅延を回復させる方法が有効と考えられる。この点からTGF- $\beta$ の局所投与は有効な手段と考えられた。その投与方法・量など今後さらに検討を加える必要もあるが、創傷治癒遅延の危険のある症例に対する今後の臨床応用が期待されるものと思われる。

口頭発表において金田清志教授よりステロイドが創傷治癒に影響を与える期間について、さらにステロイドの投与量を減らした場合の影響について、TGF- $\beta$ が創傷治癒を促進させる機序についての質問があった。杉原平樹教授から一部の実験系で評価日を変えた理由について、TGF- $\beta$ の投与日により効果が異なる理由について、TGF- $\beta$ の創傷治癒過程での動態についての質問があったが、申請者はおおむね妥当な回答をしていた。

遅延した創傷治癒の回復に関する検討はいまだ少ない。今後ステロイド投与中の症例に対する手術の機会、あるいは術後にステロイド投与を続けざるを得ない症例も増加するものと考えられ、創傷治癒を回復させる方法の臨床応用が期待されることから本研究の意義は大きく、審査員一同は本論文は博士(医学)の学位授与に値するものと判定する。