

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2024年1月4日(04.01.2024)



(10) 国際公開番号

WO 2024/005144 A1

(51) 国際特許分類:

A61H 23/02 (2006.01) A61B 5/00 (2006.01)
A61B 10/00 (2006.01) A61B 5/026 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2023/024188

(22) 国際出願日: 2023年6月29日(29.06.2023)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:

特願 2022-107292 2022年7月1日(01.07.2022) JP

(71) 出願人: 国立大学法人東京大学 (THE UNIVERSITY OF TOKYO) [JP/JP]; 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 Tokyo (JP).

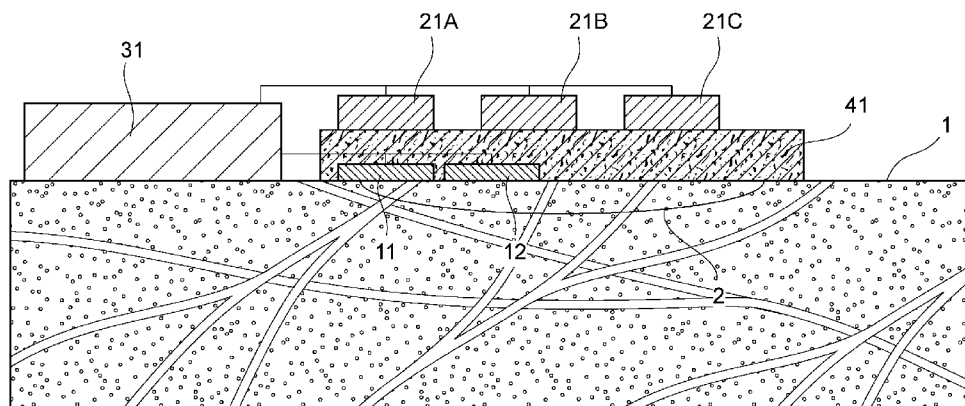
(72) 発明者: 仲上 豪二郎 (NAKAGAMI, Gojiro); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 国

立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 幅 大二郎 (HABA, Daijiro); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 関野 正樹 (SEKINO, Masaki); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 南 豪 (MINAMI, Tsuyoshi); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 真田 弘美 (SANADA, Hiromi); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 峰松 健夫 (MINEMATSU, Takeo); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 稲葉 良幸, 外 (INABA, Yoshiyuki et al.); 〒1066123 東京都港区六本木6-10-

(54) Title: BODY SURFACE ULCER HEALING PROMOTING DEVICE

(54) 発明の名称: 体表面潰瘍治癒促進装置



(57) Abstract: This body surface ulcer healing promoting device comprising: a glucose concentration sensor 11 that detects the glucose concentration in an exudate of an ulcer 2 on a body surface 1; vibrators 21A, 21B, and 21C that apply vibrations to the ulcer 2; and a control device 31 that controls vibrations of the vibrators 21A, 21B, and 21C on the basis of the glucose concentration in the exudate.

[続葉有]

1 六本木ヒルズ森タワー 2 3 階 T M I
総合法律事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

規則4. 17に規定する申立て:

- 一 不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て (規則4. 17(v))

添付公開書類:

- 一 国際調査報告 (条約第21条(3))

(57) 要約: 体表面 1 の潰瘍 2 の滲出液中のグルコース濃度を検出するグルコース濃度センサ 1 1 と、潰瘍 2 に振動を与える振動器 2 1 A、2 1 B、2 1 C と、滲出液中のグルコース濃度に基づき、振動器 2 1 A、2 1 B、2 1 C の振動を制御する制御装置 3 1 と、を備える体表面潰瘍治癒促進装置。

明 細 書

発明の名称：体表面潰瘍治癒促進装置

技術分野

[0001] 本発明は治療技術に関し、体表面潰瘍治癒促進装置に関する。

背景技術

[0002] 糖尿病及びその合併症は、下肢切断の主な非外傷的原因である。大多数において、下肢切断の手術の前に、足潰瘍が発症する。足潰瘍が発症した段階で、高血糖を是正することは困難であることが多い。足潰瘍は3分の2しか最終的に治癒せず、残りは、何らかの形の切断手術が行われる結果になると考えられている。足潰瘍及び切断手術は、患者の生活に重大な影響を及ぼしている（例えば、特許文献1から3参照。）。足潰瘍の治療方法としては、血小板由来成長因子の局所投与がある。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特許第5 7 1 5 3 2 6号公報

特許文献2：特許第5 2 5 2 5 8 5号公報

特許文献3：特許第5 5 5 8 5 7 3号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] 体表面の潰瘍の治療方法の選択肢は少なく、患者が日常生活を送りながら、潰瘍の治癒を促進する手段が望まれている。そこで、本発明は、体表面の潰瘍の治癒を促進する装置を提供することを目的の一つとする。

課題を解決するための手段

[0005] 本発明の態様に係る体表面潰瘍治癒促進装置は、体表面の潰瘍の滲出液中のグルコース濃度を検出するグルコース濃度センサと、潰瘍に振動を与える振動器と、滲出液中のグルコース濃度に基づき、振動器の振動を制御する制御装置と、を備える。

- [0006] 上記の体表面潰瘍治癒促進装置において、潰瘍が、糖尿病による潰瘍であってもよい。
- [0007] 上記の体表面潰瘍治癒促進装置において、潰瘍が、糖尿病による足潰瘍であってもよい。
- [0008] 上記の体表面潰瘍治癒促進装置が、振動器を複数備えていてもよい。
- [0009] 上記の体表面潰瘍治癒促進装置において、細胞におけるアルギニンの産生が促進されるように、制御装置が、振動器の振動を制御してもよい。
- [0010] 上記の体表面潰瘍治癒促進装置において、滲出液中のグルコース濃度が、血流を増加させる濃度以上になるように、制御装置が、振動器の振動を制御してもよい。
- [0011] 上記の体表面潰瘍治癒促進装置において、滲出液中のグルコース濃度が、細胞におけるアルギニンの産生量が閾値以上になる濃度以下になるまで、制御装置が、振動器を振動させてもよい。
- [0012] 上記の体表面潰瘍治癒促進装置が、潰瘍の近傍の血流を検出する血流センサをさらに備え、制御装置が、血流に基づき、振動器の振動を制御してもよい。
- [0013] 上記の体表面潰瘍治癒促進装置において、制御装置が、血流が増加するよう、振動器の振動を制御してもよい。

発明の効果

- [0014] 本発明によれば、体表面の潰瘍の治癒を促進する装置を提供可能である。

図面の簡単な説明

- [0015] [図1]実施形態に係る体表面潰瘍治癒促進装置を示す模式図である。
- [図2]実施形態に係る高血糖と代謝の関係を示す模式図である。
- [図3]実施形態に係る高血糖と代謝の関係を示す模式図である。
- [図4]実施例に係る2-デオキシグルコースの取り込み量を示すグラフである。
- 。
- [図5]実施例に係る2-デオキシグルコースの取り込み量を示すグラフである。
- 。

[図6]実施例に係る2-デオキシグルコースの取り込み量を示すグラフである。

[図7]実施例に係る2-デオキシグルコースの取り込み量を示すグラフである。

[図8]実施例に係るGLUT4トランスロケーションを示す模式図である。

[図9]実施例に係るGLUT4トランスロケーションを示す模式図と写真である。

[図10]実施例に係るGLUT4トランスロケーションの有無を示す写真である。

[図11]実施例に係る細胞質におけるGLUT4由来の蛍光の強度に対する、細胞膜におけるGLUT4由来の蛍光の強度の比のグラフである。

[図12]実施例に係るラットの写真である。

[図13]実施例に係るラットの創部の写真である。

[図14]実施例に係るラットの創部の写真である。

[図15]実施例に係るラットの創部の面積のグラフである。

[図16]実施例に係るラットの創部の組織の写真である。

[図17]実施例に係るラットの創部の組織の写真である。

[図18]実施例に係るラットの血液量のグラフである。

[図19]実施例に係る加振装置の回路図である。

[図20]実施例に係るラットの創部の写真である。

[図21]実施例に係るラットの創部の面積のグラフである。

[図22]実施例に係るラットの血液量のグラフである。

[図23]実施例に係るラットの創部の組織の写真である。

[図24]実施例に係るラットの遺伝子発現レベルのグラフである。

[図25]実施例に係るラットの遺伝子発現レベルのグラフである。

[図26]実施例に係るラットの遺伝子発現レベルのグラフである。

[図27]実施例に係る抗PTX3抗体を用いて染色されたラットの創部の組織の写真である。

[図28]実施例に係るC D 6 8陽性細胞数をC D 1 6 3陽性細胞数で割った値(M 1 /M 2マクロファージ比)のグラフである。

発明を実施するための形態

- [0016] 実施形態に係る体表面潰瘍治癒促進装置は、図1に示すように、体表面1の潰瘍2の滲出液中のグルコース濃度を検出するグルコース濃度センサ11と、潰瘍2に振動を与える振動器21A、21B、21Cと、滲出液中のグルコース濃度に基づき、振動器21A、21B、21Cの振動を制御する制御装置31と、を備える。
- [0017] 振動器21A、21B、21Cとしては、モーター、空気圧装置、トランスデューサー材料、圧電性ホイル、ボイルコイル、及び圧電性アクチュエータが使用可能である。実施形態に係る体表面潰瘍治癒促進装置が備える振動器21A、21B、21Cの数は特に限定されず、1個であってもよいし、複数個であってもよい。例えば、振動器21A、21B、21Cは、患者の潰瘍2を取り囲むように配置される。振動器21A、21B、21Cは、例えば、低周波の振動を発生する。
- [0018] 低周波とは、例えば、20Hz以上100Hz以下、30Hz以上90Hz以下、40Hz以上80Hz以下、40Hz以上70Hz以下、あるいは40Hz以上60Hz以下であるが、特に限定されない。振動の強度は、例えば、100mVpp以上3000mVpp以下、500mVpp以上2500mVpp以下、500mVpp以上2000mVpp以下、あるいは800mVpp以上2000mVpp以下であるが、特に限定されない。
- [0019] 振動器21A、21B、21Cは、ドレッシング材41を介して、体表面1上に配置されてもよい。ドレッシング材41の材料の例としては、シリコーン、ポリウレタン、親水性メンブレン、親水性ファイバー、ハイドロコロイド、ハイドロゲル、セルロースアセテート、及びポリビニルアルコールが挙げられる。
- [0020] グルコース濃度センサ11は、例えば、患者の潰瘍2に接して配置される。グルコース濃度センサ11がグルコースの濃度を検出する原理は特に限定

されない。例えば、グルコース濃度センサ 11 は、グルコース・オキシダーゼが固定された膜と、白金電極と、銀電極と、を備える。グルコースが、グルコース・オキシダーゼにより、グルコン酸と過酸化水素に分解されると、過酸化水素は白金電極で酸化され、銀電極で還元される。これにより電極で生じる電流は、グルコース濃度に比例する。グルコース濃度センサ 11 は、潰瘍 2 の滲出液中のグルコース濃度を検出し、制御装置 31 に潰瘍 2 の滲出液中のグルコース濃度を伝達する。

[0021] 制御装置 31 は、振動器 21A、21B、21C の振動が、細胞におけるアルギニンの産生が促進される条件を満たすよう、振動器 21A、21B、21C の振動を制御する。細胞におけるアルギニンの産生が促進される条件の例としては、振動の強度及び周波数が挙げられる。

[0022] 制御装置 31 は、予め取得された、滲出液中のグルコース濃度と、細胞内のアルギニンの産生量と、の関係を記憶していてもよい。また、制御装置 31 は、予め取得された、一酸化窒素が適正に合成されるために必要な細胞内のアルギニンの産生量の閾値を記憶していてもよい。一般的に、滲出液中のグルコース濃度と、細胞内のアルギニンの産生量と、は、負の比例の関係にある。したがって、滲出液中のグルコース濃度が高いと、細胞内のアルギニンの産生量は少なく、滲出液中のグルコース濃度が低いと、細胞内のアルギニンの産生量が多い。

[0023] 制御装置 31 は、グルコース濃度センサ 11 で検出される滲出液中のグルコース濃度が、細胞におけるアルギニンの生成量が閾値以上になる濃度以下になるように、振動器 21A、21B、21C の振動を制御する。制御装置 31 は、グルコース濃度センサ 11 で検出される滲出液中のグルコース濃度が、細胞におけるアルギニンの生成量が閾値以上になる濃度以下になるまで、振動器 21A、21B、21C を振動させてもよい。

[0024] 制御装置 31 は、予め取得された、滲出液中のグルコース濃度と、血流と、の関係を記憶していてもよい。また、制御装置 31 は、予め取得された、適切な血流の閾値を記憶していてもよい。一般的に、滲出液中のグルコース

濃度と、血流と、は、負の比例の関係にある。したがって、滲出液中のグルコース濃度が高いと、血流は少なく、滲出液中のグルコース濃度が低いと、血流は多い。

[0025] 制御装置 3 1 は、グルコース濃度センサ 1 1 で検出される滲出液中のグルコース濃度が、血流が閾値以上になる濃度以下になるように、振動器 2 1 A、2 1 B、2 1 C の振動を制御する。制御装置 3 1 は、グルコース濃度センサ 1 1 で検出される滲出液中のグルコース濃度が、血流が閾値以上になる濃度以下になるまで、振動器 2 1 A、2 1 B、2 1 C を振動させてもよい。

[0026] 実施形態に係る体表面潰瘍治癒促進装置は、潰瘍の近傍の血流を検出する血流センサ 1 2 をさらに備えていてもよい。血流センサ 1 2 が血流を検出する原理は特に限定されない。例えば、血流センサ 1 2 は、光源と、受光素子と、を備える。光源から人体に向けて発せられたレーザー光は、血管内の赤血球で散乱される。血流センサ 1 2 は、受光素子で散乱光を受光し、散乱光の周波数スペクトルから、血流を検出する。血流センサ 1 2 は、制御装置 3 1 に検出した血流を伝達する。

[0027] 制御装置 3 1 は、血流に基づき、振動器 2 1 A、2 1 B、2 1 C の振動を制御してもよい。例えば、制御装置 3 1 は、血流が増加する条件を満たすよう、振動器 2 1 A、2 1 B、2 1 C の振動を制御してもよい。血流が増加する条件の例としては、振動の強度及び周波数が挙げられる。

[0028] 潰瘍は、糖尿病による潰瘍であってもよい。潰瘍は、足潰瘍であってもよい。通常、人体において、血管から細胞に取り込まれたグルコースは、解糖系及びクエン酸回路における A T P の産生に利用される。しかし、高血糖により細胞に取り込まれるグルコースが増えると、グルコースはポリオール代謝経路に取り込まれる。

[0029] 図 2 に示すように、ポリオール代謝経路で、グルコースは、アルドース還元酵素により、ソルビトールへ変換される。ポリオール代謝経路でアルドース還元酵素の活性が上昇すると、補酵素である N A D P H（還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド燐酸）が消費される。N A D P H は、血管内

皮細胞において、アルギニンを利用する一酸化窒素（NO）の合成にも利用されるが、ポリオール代謝経路でNADPHが消費されると、一酸化窒素の合成が低下する。また、グルコースの濃度が高いと、アルギニンの産生が阻害される。アルギニンの産生が阻害されると、一酸化窒素の合成が低下する。一酸化窒素の低下は、血流の低下及び虚血をもたらす。

[0030] 理論に拘束されるものではないが、実施形態に係る体表面潰瘍治癒促進装置が潰瘍2に振動を与えることにより、図3に示すように、潰瘍2の近傍の脂肪細胞におけるAMPK（AMP活性化プロテインキナーゼ）が活性化され、脂肪細胞のインスリン抵抗性が改善されと考えられる。また、脂肪細胞のインスリン抵抗性が改善されることにより、脂肪細胞近傍のグルコース濃度が適正化され、血管内皮細胞で一酸化窒素が適正に合成され、血流が促進されと考えられる。なお、糖尿病足潰瘍は、中足骨や踵などの筋肉の乏しい部位に形成されやすい。また、糖尿病患者は、末梢神経障害から筋萎縮も進み、筋肉の作用が乏しい。そのため、実施形態に係る体表面潰瘍治癒促進装置は、潰瘍2の近傍の脂肪細胞におけるAMPKを活性化すると考えられる。

[0031] また、理論に拘束されるものではないが、血管内皮細胞のメカノセンサーが、実施形態に係る体表面潰瘍治癒促進装置によるメカニカルストレスに応答して、血管内皮細胞内の一酸化窒素合成酵素（NOS）の合成を促進すると考えられる。また、脂肪細胞におけるAMPKの活性化は、血管内皮細胞内の一酸化窒素合成酵素の活性化をもたらすと考えられる。一酸化窒素合成酵素の合成が促進され、活性化されることにより、血管内皮細胞で一酸化窒素が適正に合成され、血流が促進されと考えられる。

[0032] 実施形態に係る体表面潰瘍治癒促進装置は、小型化が可能であるため、患者が自立した日常生活を送りながら、患者の体表面に常時固定することが可能である。また、患者のインスリン抵抗性は、一定ではなく、変動し得る。実施形態に係る体表面潰瘍治癒促進装置は、インスリン抵抗性によって変動する滲出液中のグルコース濃度を検出して、振動器21A、21B、21C

の振動を制御するため、患者に不要な負荷を与えることを抑制可能である。

[0033] 潰瘍治癒の段階は、炎症期と増殖期に分けられる。炎症期においては、潰瘍に好中球及びM1炎症性マクロファージが浸潤し、浮腫が生じる。増殖期においては、線維芽細胞が潰瘍の周辺から遊走して細胞外マトリックスを再構築し、血管新生が起こり、肉芽組織が形成される。慢性高血糖の糖尿病患者では、炎症が遷延し増殖期に移行できないことが、足潰瘍が難治性となる原因となっている。実施形態に係る体表面潰瘍治癒促進装置は、潰瘍の近傍を局所的に振動して、早期に創収縮を促進することで、炎症を遷延させることなく潰瘍を増殖期に早期に移行させる。

[0034] (実施例1)

脂肪細胞に分化して8日経過した3T3-L1脂肪細胞を用意した。脂肪細胞を、振動を与える群と、振動を与えない群に分けて、それぞれ培養した。振動を与える群には、毎日40分、強度が600mVpp、800mVpp、1000mVpp、1500mVpp、又は2000mVppである、50Hzの振動を与えた。

[0035] 7日経過後、図4に示すように、振動を与えない群より、振動を与えた群の方が、脂肪細胞による2-デオキシグルコースの取り込み量が多かった。また、7日間、脂肪細胞による2-デオキシグルコースの取り込みを検査した。その結果、図5に示すように、振動を与えると、脂肪細胞による2-デオキシグルコースの取り込み量は、経時的に上昇した。

[0036] 脂肪細胞に、インスリン依存性糖取り込み経路阻害剤であるウォルトマンニンを与えたところ、図6に示すように、ウォルトマンニンは、振動による2-デオキシグルコースの取り込み促進効果を、有意に阻害しなかった。一方、脂肪細胞に、AMPK阻害剤であるコンパウンドCを与えたところ、図7に示すように、コンパウンドCは、振動による2-デオキシグルコースの取り込み促進効果を、有意に阻害した。この結果は、振動による2-デオキシグルコースの取り込み促進効果は、振動によるAMPKの活性化によることを示唆している。

[0037] (実施例2)

インスリンや運動によって促進される血糖の細胞内取り込みは、糖輸送体であるタンパク質GLUT4が担っている。図8及び図9に示すように、GLUT4は、通常、細胞質内のGLUT4ストレージコンパートメントに貯蔵されている。細胞にインスリンや運動の刺激が加わると、GLUT4はストレージコンパートメントから細胞膜へと輸送される。GLUT4トランスポケーションと呼ばれるこの現象は、2型糖尿病によるインスリン抵抗性により阻害されることが知られている。GLUT4を免疫蛍光染色することにより、GLUT4トランスポケーションを観察することが可能である。

[0038] 50Hz、1000から1500mVpp、40分/日、5日間の振動により、3T3-L1脂肪細胞において、GLUT4トランスポケーションが生じるか、観察した。図10に示すように、インスリン及び阻害剤を与えなかった細胞においては、振動を与えなかった細胞ではGLUT4は細胞質に存在したが、振動を与えた細胞ではGLUT4は細胞膜に偏在した。インスリンを与え、阻害剤を与えなかった細胞においては、振動を与えなかった細胞及び振動を与えた細胞の両方でGLUT4は細胞膜に偏在した。ウォルトマンニンを与えた細胞では、振動を与えなかった細胞ではGLUT4は細胞質に存在したが、振動を与えた細胞ではGLUT4は細胞膜に偏在した。コンパウンドCを与えた細胞では、振動を与えなかった細胞ではGLUT4は細胞質に存在し、振動を与えた細胞でもGLUT4は細胞質に存在した。

[0039] 細胞質における蛍光の強度に対する、細胞膜における蛍光の強度の比のグラフを図11に示す。コンパウンドCを与えた細胞においては、振動を与えなかった細胞と振動を与えた細胞との間に有意差は認められなかった。ウォルトマンニンを与えた細胞においては、振動を与えなかった細胞と振動を与えた細胞との間に有意差が認められた。この結果も、振動による2-デオキシグルコースの取り込み促進効果は、振動によるAMPKの活性化によることを示唆している。

[0040] (実施例3)

7週齢、オスのSDラットを用意した。ラットに55mg/kgのストレプトゾチンを腹腔内投与し、7日後及び14日後の血糖値が300mg/dL以上のラットを、糖尿病のモデルラットとして選択した。

[0041] 図12に示すように、直径2cmの全層欠損創を麻酔下の糖尿病のモデルラットの側腹部に形成し、創部にドレッシング材（Foamlite、Convatec）を貼り付けし、ガーゼで体幹を固定した。ドレッシング材は毎日交換した。

[0042] その後、14日間、毎日、振動器を創部上のガーゼ上に配置し、糖尿病のモデルラットにイソフルラン吸入麻酔を与えて眠らせている間、創部に局所的に低周波振動を40分与えた。振動の周期は50Hzであり、振動の強度は、0mVpp、300mVpp、600mVpp、又は1000mVppであった。

[0043] 創部の外観を経時的に観察したところ、図13、図14、及び図15に示すように、振動を与えた糖尿病のモデルラットのほうが、振動を与えられなかった糖尿病のモデルラットよりも、創部の収縮が早かった。創部を形成してから7日後、図16に示すように、ヘマトキシリン・エオジン染色により、創部の組織を観察したところ、振動を与えられなかった糖尿病のモデルラットより、1000mVppの振動を与えた糖尿病のモデルラットのほうが、血管の拡張が認められた。創部を形成してから14日後においても、図17に示すように、振動を与えられなかった糖尿病のモデルラットより、1000mVppの振動を与えた糖尿病のモデルラットのほうが、血管の拡張が認められた。

[0044] （実施例4）

糖尿病でないラット、及び糖尿病のモデルラットのそれぞれについて、実施例3と同様に麻酔をして創部を形成し、麻酔時の組織全血液量、麻酔下創部形成時の組織全血液量、及び麻酔から覚醒した後の組織全血液量をレーザー組織血液酸素モニター（OMEGAMONITOR、BOM-L1 TRSF、OMEGAWAVE, INC.）で測定した。その結果、図18に

示すように、糖尿病でないラット、及び糖尿病のモデルラットのいずれにおいても、覚醒時のほうが、麻酔時よりも組織全血液量が多かった。この結果は、麻酔時よりも、覚醒時のほうが、組織全血液量の変化を正確に計測できることを示唆している。

[0045] (実施例5)

C1034 小型振動モーター（新思考電機株式会社）を用い、図19に示す回路図と等価な回路を有する加振装置を作製した。実施例3と同様に、直径2cmの全層欠損創を麻酔下の糖尿病のモデルラットの側腹部に形成し、麻酔下の糖尿病のモデルラットの創部にドレッシング材を貼り付けし、ドレッシング材の上に加振装置を貼りつけた。7日間、1日40分間、加振装置から50Hz、600から1000mVppの振動をラットに与えた。振動を与える際に、ラットを麻酔せず、ラットは覚醒状態であった。コントロール群においては、ラットに加振装置を貼りつけたものの、加振装置を作動させなかった。

[0046] その結果、図20及び図21に示すように、振動を与えたラットのほうが、創部の収縮が早かった。また、創部を形成して0日目のコントロールのラットの血液量を1とした場合の、ラットの血液量のグラフを図22に示す。振動を与えられたラットの血液量は、日々上昇していた。したがって、振動は血管を一時的に拡張するだけでなく、ラットの定常的な血液量を上昇させたことが示された。

[0047] また、創部を形成してから7日後、図23に示すように、ヘマトキシリン・エオジン染色により、創部の組織を観察したところ、振動を与えられなかった糖尿病のモデルラットより、振動を与えた糖尿病のモデルラットのほうが、血管の拡張が認められ、新生血管も無数に確認された。この結果は、血管の拡張と血管の新生が、ラットの定常的な血液量の増加をもたらしたことを示している。

[0048] (実施例6)

実施例3で振動を与えたラットにおいて、4日目に遺伝子発現を検査した

ところ、図24に示すように、血管拡張に関するNOの合成酵素eNOSの遺伝子マーカーNOS3、及び血管新生マーカーのVegfaが、1000mVppの振動で上昇していた。また、Tnf-aが減少していることから炎症が抑えられ、血管動態が改善されていることが示唆される。

[0049] 実施例3で振動を与えたラットにおいて、14日目においては、創傷治癒が進み、図25に示すように、振動を加えたラットでは炎症性マーカー（Tnf-a、Ptx、Ccl2）は、振動を加えなかったラットと比較して優位に減弱していた。また、300mVppから1000mVppの振動を加えたラットでは、血管拡張に関するNOS3が有意に増加していた。

[0050] 実施例5で振動を与えたラットにおいて、7日目に遺伝子発現を検査したところ、図26に示すように、振動を加えなかったコントロールよりも、炎症性マーカーが減少していることが確認された。

[0051] （実施例7）

実施例3と同様に糖尿病のモデルラットを用意し、直径2cmの全層欠損創を麻酔下の糖尿病のモデルラットの側腹部に形成し、創部にドレッシング材（Foamlite、Convatec）を貼り付けし、ガーゼで体幹を固定した。ドレッシング材は毎日交換した。その後、14日間、毎日、振動器を創部上のガーゼ上に配置し、糖尿病のモデルラットにイソフルラン吸入麻酔を与えて眠らせている間、創部に局所的に低周波振動を40分与えた。振動の周期は50Hzであり、振動の強度は、0mVpp又は1000mVppであった。

[0052] 創部を形成してから14日後、創部の組織を採取し、採取した組織を10%ホルマリン溶液に一晩室温で浸漬し、組織を固定した。その後、エタノールとキシレンの代替品であるG-Nox（Genostaff）を使用して組織を脱水した後、組織をパラフィンに埋め込み、組織のパラフィンブロックを作成した。さらに、パラフィン包埋組織を3μmの厚さで薄切し、組織切片を作製した。

[0053] 組織切片をG-Nox中に5分×3回浸漬し、組織切片からパラフィンを

除去した。次に、組織切片をエタノール中に5分×3回浸漬し、組織切片からG-Noxを除去した。その後、組織切片を精製水で5分×2回洗浄した。さらに、組織切片をメタノールで希釈した3%過酸化水素に30分間インキュベートし、組織切片の内因性ペルオキシダーゼを不活化した。また、組織切片を0.01mol/Lのクエン酸緩衝液(pH6.0)に入れ、121℃、15分間のオートクレーブ処理により、組織切片の抗原を賦活化した。

[0054] 次に、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)で組織切片を洗浄し、ウシ血清アルブミン/リン酸緩衝生理食塩水にて100倍希釈した抗Pentraxin3(PTX3)抗体(rabbit-polyclonal, 13797-1-AP, Novus Biological)と組織切片とを一晩反応させた。その後、組織切片から抗原と結合していない抗PTX3抗体を除去し、組織切片をPBSで5分間×3回洗浄した。

[0055] さらに、組織切片と1000倍希釈したホースラディッシュ・ペルオキシダーゼ(HRP)標識抗ラビット免疫グロブリン抗体(Jackson ImmunoResearch)を1時間室温でインキュベートした。次に、2%過酸化水素を添加した0.05mol/Lのトリス-塩酸緩衝液(pH7.4)中で、組織切片と0.2mg/mLの3,3'-diaminobenzidine[DAB](和光純薬)を反応させ、HRPを可視化し、精製水にて反応を止めた。その後、ヘマトキシリンによる対比染色を実施した。エタノールで組織切片を脱水し、G-Noxで組織切片を透徹した後、封入剤で組織切片を封入した。

[0056] 染色された組織切片を顕微鏡(BZ-X800、キーエンス)で観察した。その結果、図27に示すように、振動を加えなかったラットと比較して、振動を加えられたラットにおいては、炎症性マーカーであるPTX3が著しく減少していることが確認された。

[0057] (実施例8)

実施例7と同様に組織切片を作製した。ただし、本実施例では、組織切片の内因性ペルオキシダーゼを不活化しなかった。リン酸緩衝生理食塩水(P

B S) で組織切片を洗浄し、ウシ血清アルブミン／リン酸緩衝生理食塩水にて 100 倍希釈した抗 CD 68 抗体 (CD68/SR-D1 antibody (ED1)、マウスモノクローナル、NB600-985-0.025、Novus Biological) 及び抗 CD 163 抗体 (CD163、EPR19518、ウサギモノクローナル、ab182422、Abcam) と組織切片とを一晩反応させた。CD 68 は、炎症反応を促進する M1 型マクロファージのマーカーである。CD 163 は、炎症反応を抑制する M2 型マクロファージのマーカーである。

[0058] その後、組織切片から抗原と結合していない抗 CD 68 抗体及び抗 CD 163 抗体を除去し、組織切片を PBS で 5 分間×3 回洗浄した。さらに、組織切片と 1000 倍希釈した緑色蛍光色素標識抗ウサギ IgG 抗体 (Alexa Fluor 488、登録商標、donkey, #711-545-152, Jackson ImmunoResearch) 及び赤色蛍光色素標識抗マウス IgG 抗体 (Alexa Fluor 594、登録商標、donkey, #715-585-151, Jackson ImmunoResearch) を 1 時間室温でインキュベートした。次に、PBS で組織切片を洗浄し、DAPI で核を青色の蛍光色素で染色し、組織切片を封入した。

[0059] 染色された組織切片を顕微鏡 (BZ-X800、キーエンス) で観察した。緑色の蛍光を発する細胞は、CD 163 陽性細胞である。赤色の蛍光を発する細胞は、CD 68 陽性細胞である。CD 68 陽性細胞数と CD 163 陽性細胞数を計測した。さらに、CD 68 陽性細胞数を CD 163 陽性細胞数で割った値 (M1/M2 マクロファージ比) を算出した。M1/M2 が小さいほど、炎症が改善されていることを示している。その結果、図 28 に示すように、振動を加えなかったラットと比較して、振動を加えられたラットにおいては、M1/M2 が著しく減少していた。

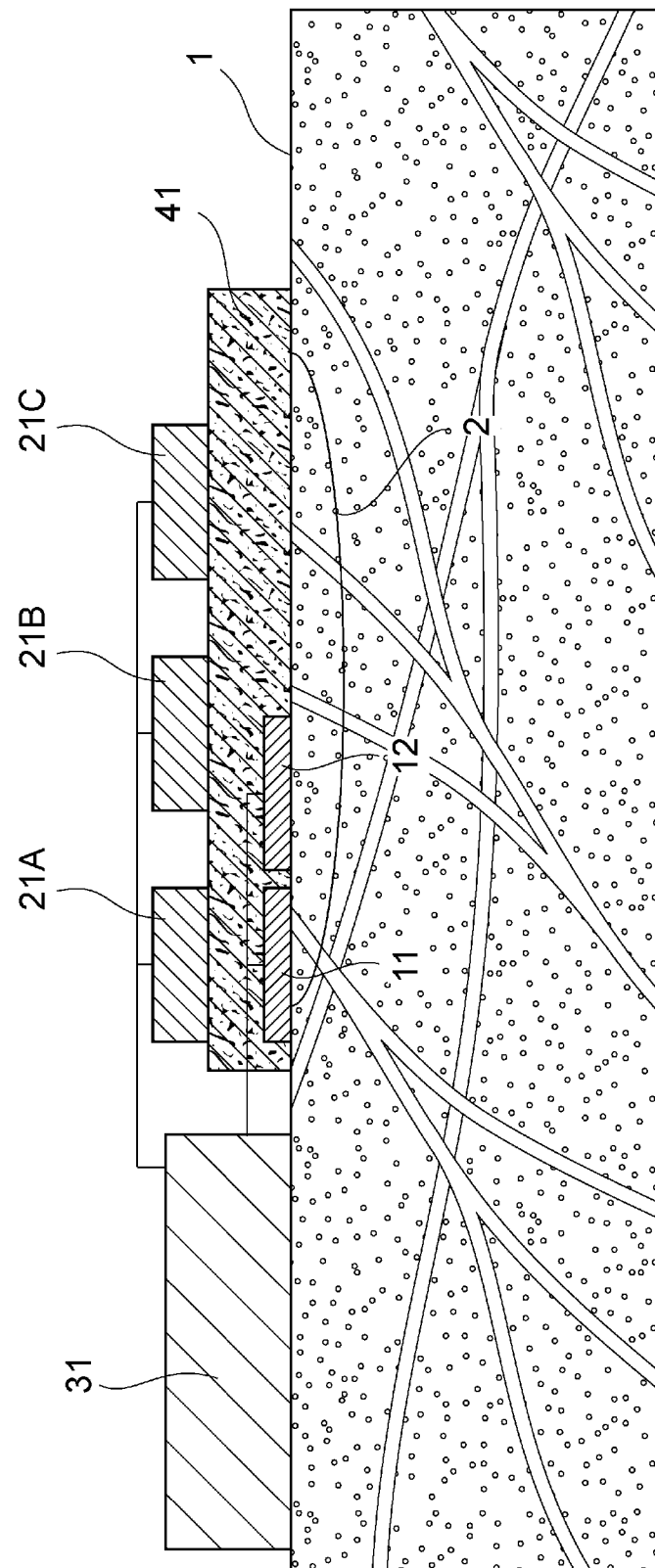
符号の説明

[0060] 11・・・グルコース濃度センサ、12・・・血流センサ、21・・・振動器、31・・・制御装置、41・・・ドレッシング材

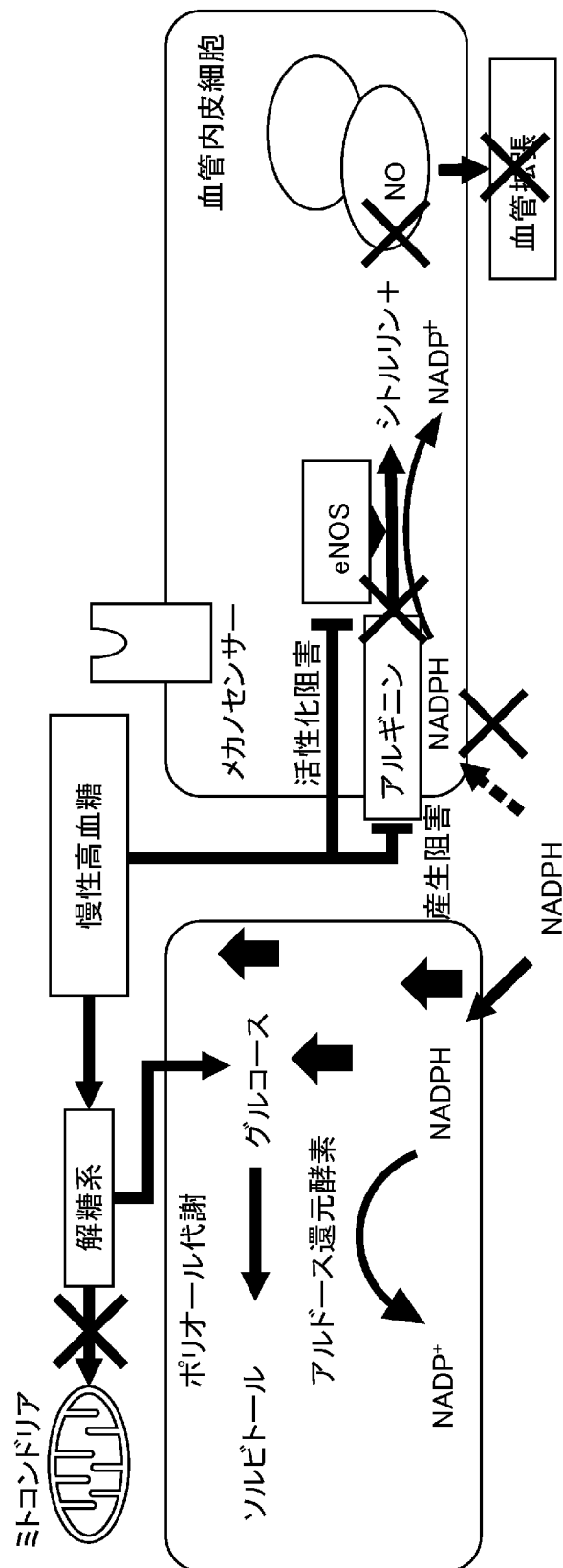
請求の範囲

- [請求項1] 体表面の潰瘍の滲出液中のグルコース濃度を検出するグルコース濃度センサと、
 前記潰瘍に振動を与える振動器と、
 前記滲出液中のグルコース濃度に基づき、前記振動器の振動を制御する制御装置と、
 を備える、体表面潰瘍治癒促進装置。
- [請求項2] 前記潰瘍が、糖尿病による潰瘍である、請求項1に記載の体表面潰瘍治癒促進装置。
- [請求項3] 前記潰瘍が、糖尿病による足潰瘍である、請求項1に記載の体表面潰瘍治癒促進装置。
- [請求項4] 前記振動器を複数備える、請求項1に記載の体表面潰瘍治癒促進装置。
- [請求項5] 細胞におけるアルギニンの産生が促進されるように、前記制御装置が、前記振動器の振動を制御する、請求項1に記載の体表面潰瘍治癒促進装置。
- [請求項6] 前記グルコース濃度が、血流を増加させる濃度以上になるように、前記制御装置が、前記振動器の振動を制御する、請求項1に記載の体表面潰瘍治癒促進装置。
- [請求項7] 前記グルコース濃度が、細胞におけるアルギニンの産生量が閾値以上になる濃度以下になるまで、前記制御装置が、前記振動器を振動させる、請求項1に記載の体表面潰瘍治癒促進装置。
- [請求項8] 前記潰瘍の近傍の血流を検出する血流センサをさらに備え、
 前記制御装置が、前記血流に基づき、前記振動器の振動を制御する、
 請求項1に記載の体表面潰瘍治癒促進装置。
- [請求項9] 前記制御装置が、前記血流が増加するよう、前記振動器の振動を制御する、請求項8に記載の体表面潰瘍治癒促進装置。

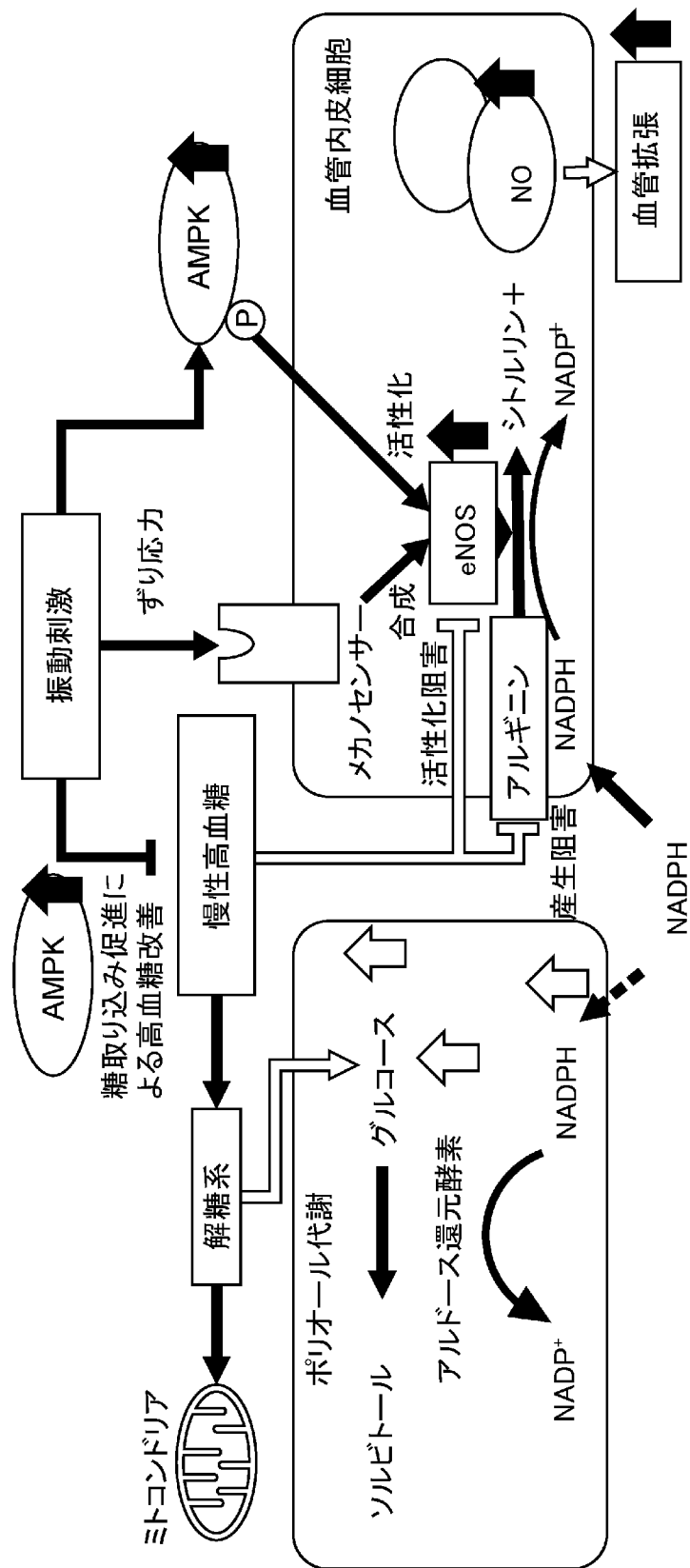
[図1]



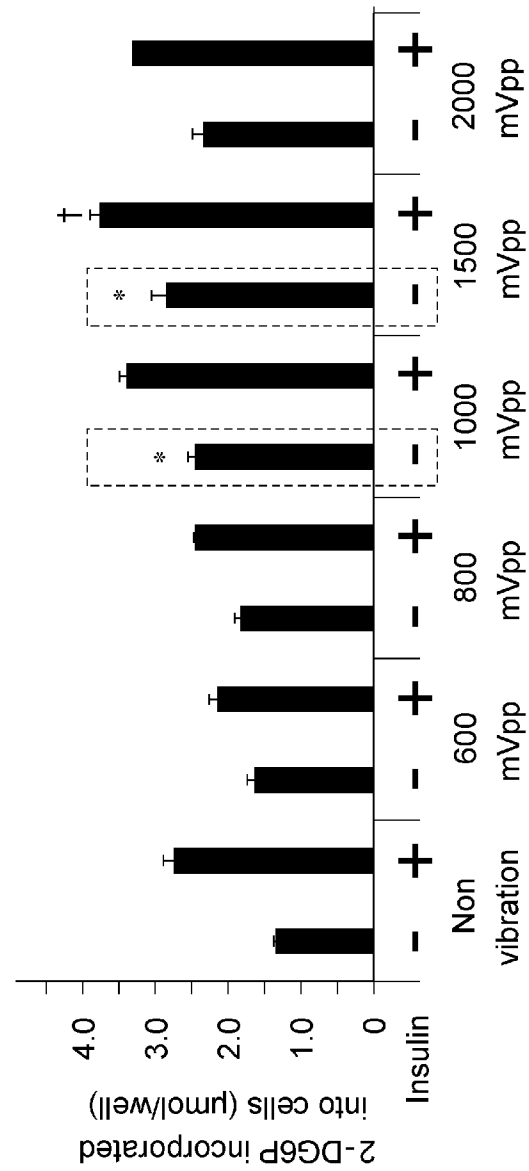
[図2]



[図3]



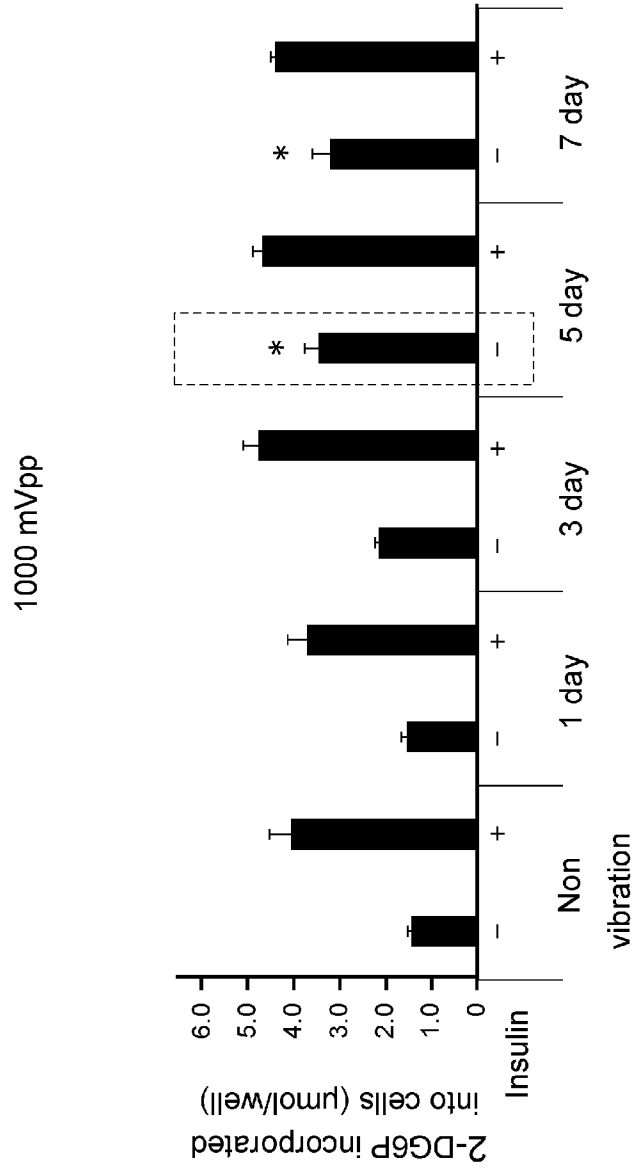
[図4]



*p < 0.05 compared to the control without insulin treatment;

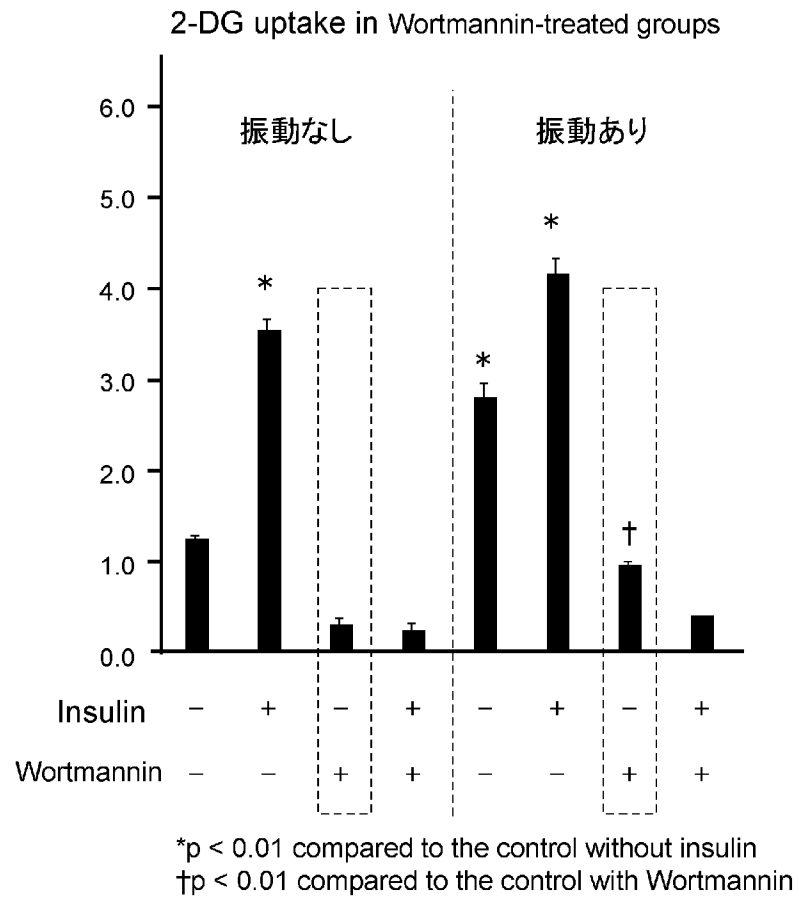
†p < 0.01 compared to the control with insulin treatment; Error bars represent standard error

[図5]

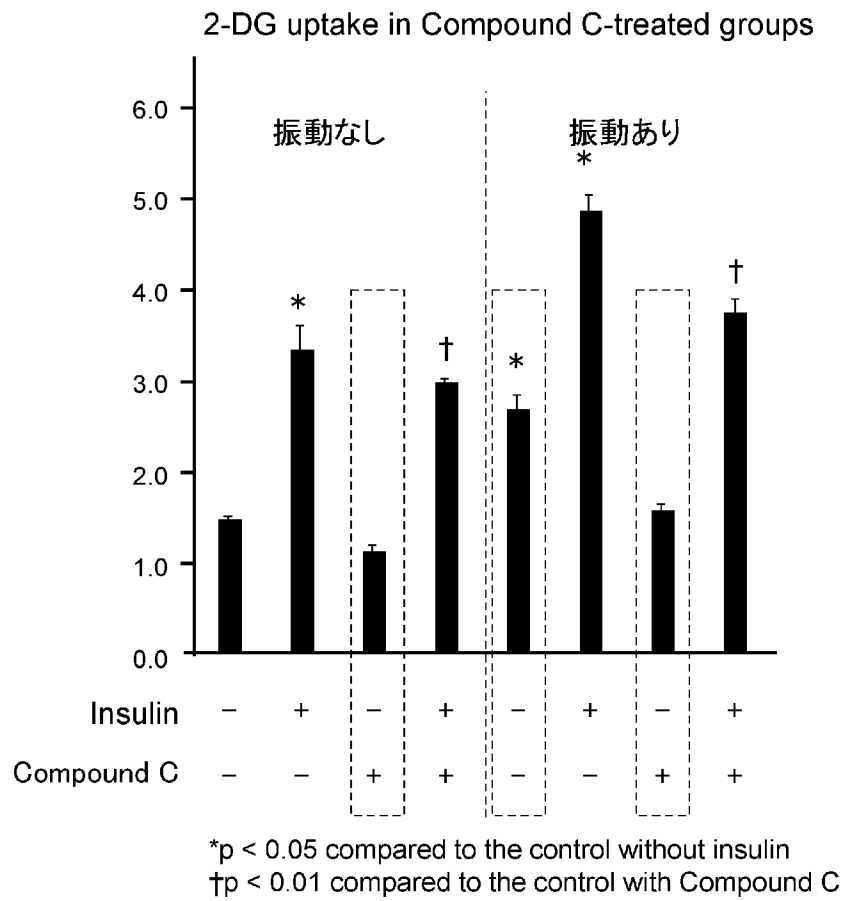


*p < 0.05 compared to the control without insulin treatment; Error bars represent standard error

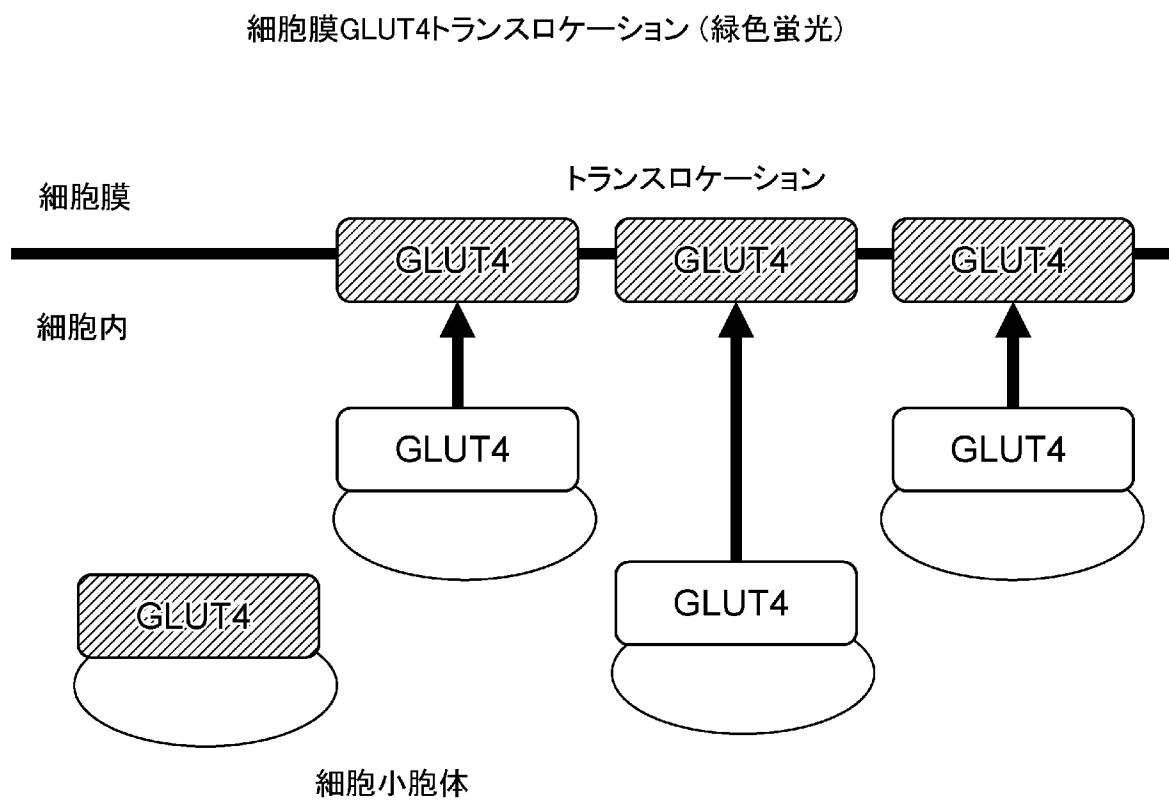
[図6]



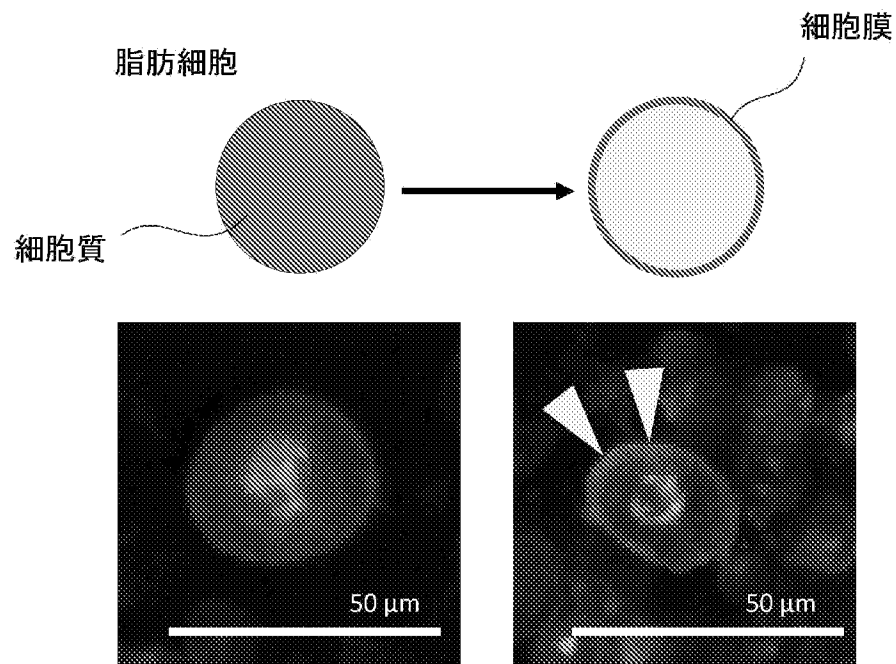
[図7]



[図8]

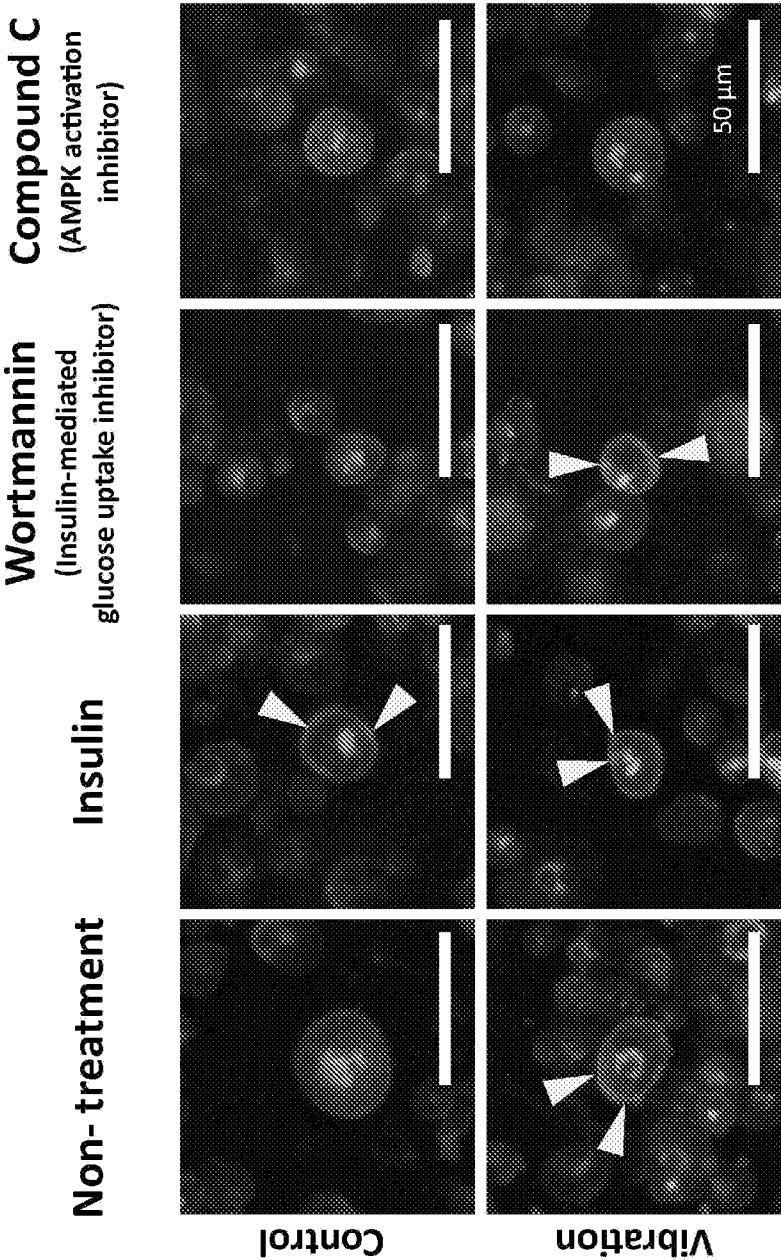


[図9]



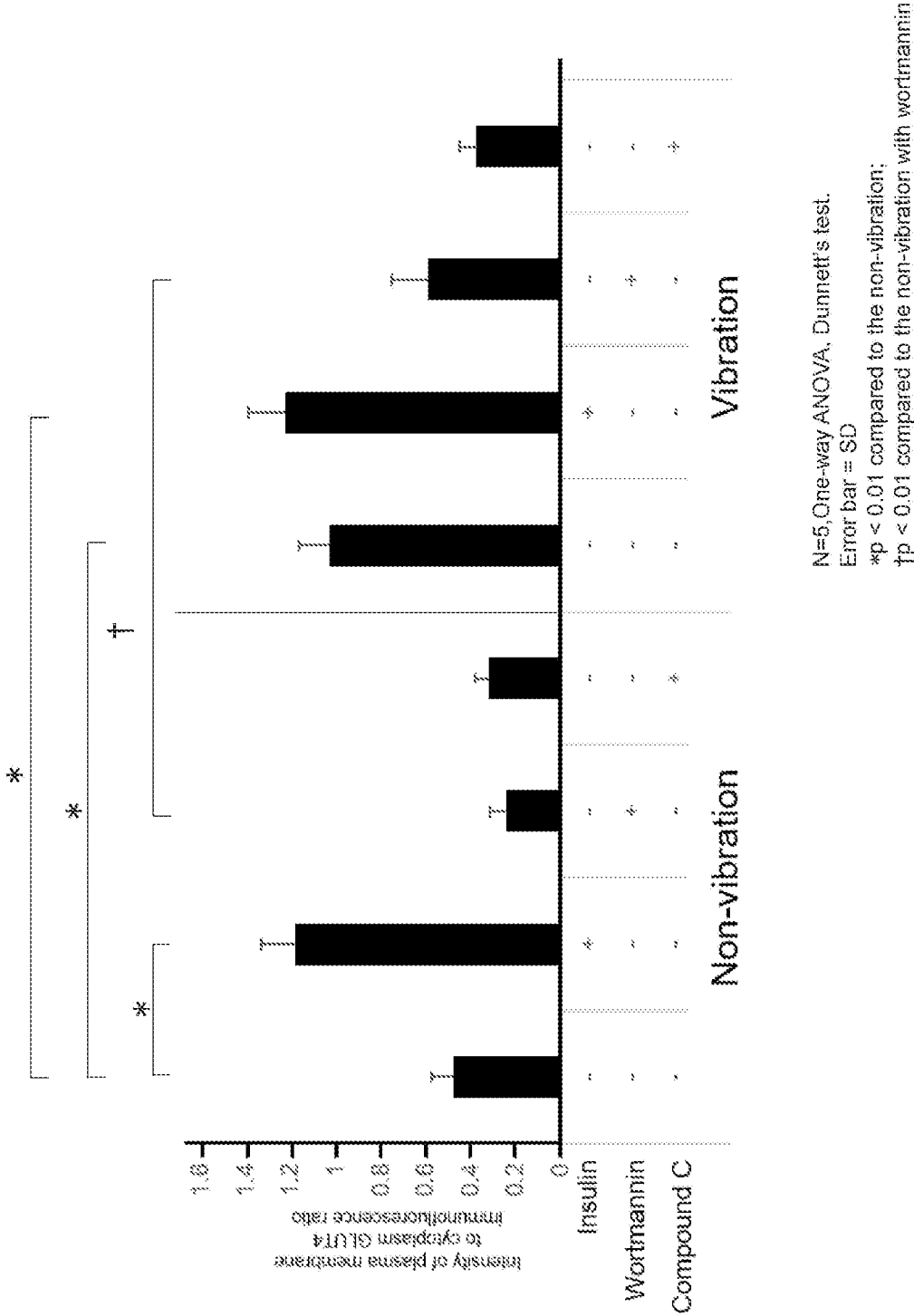
GLUT4トランスロケーション

[図10]

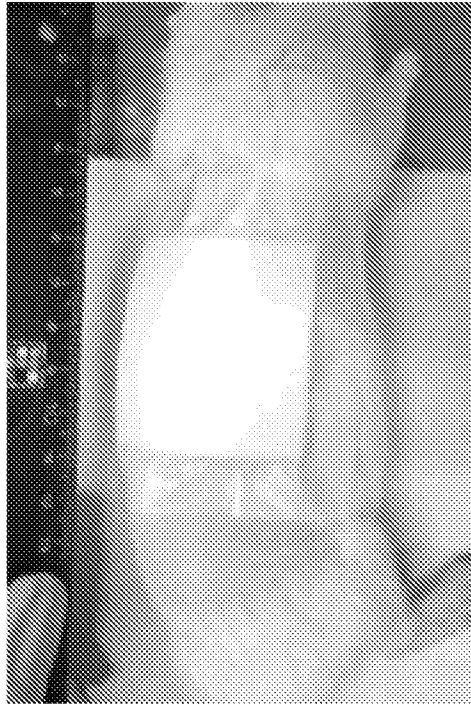


矢印は細胞膜GLUT4を示す

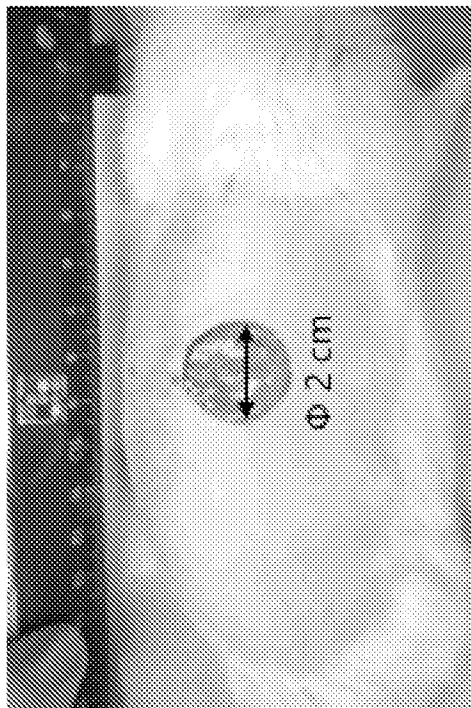
[図11]



[図12]

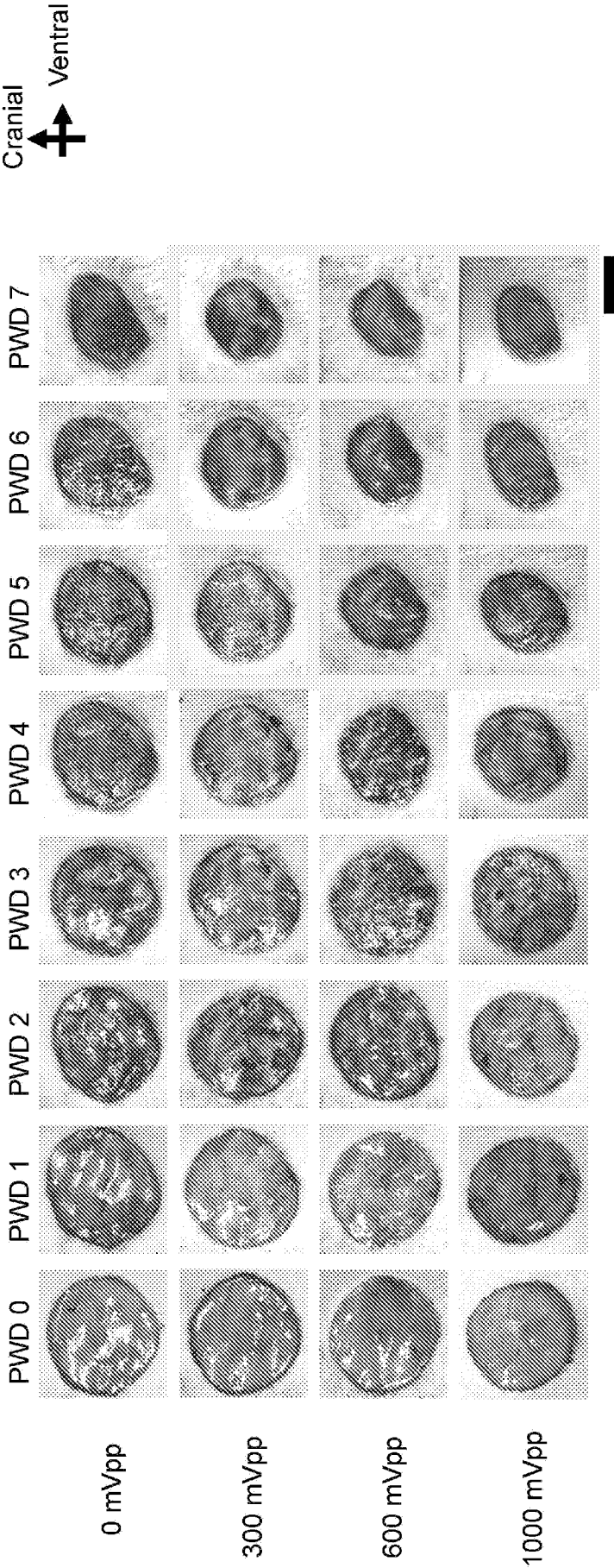


(b)

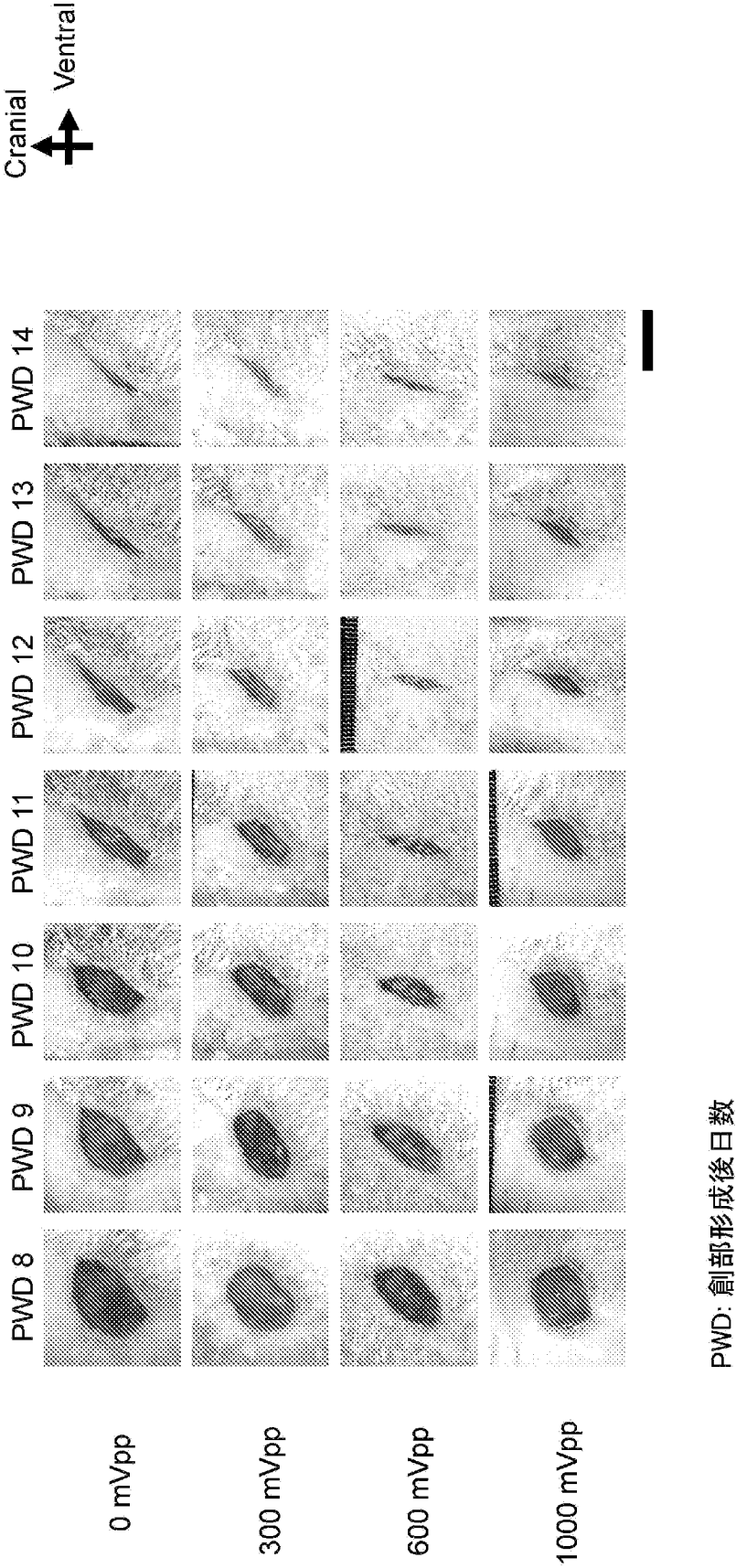


(a)

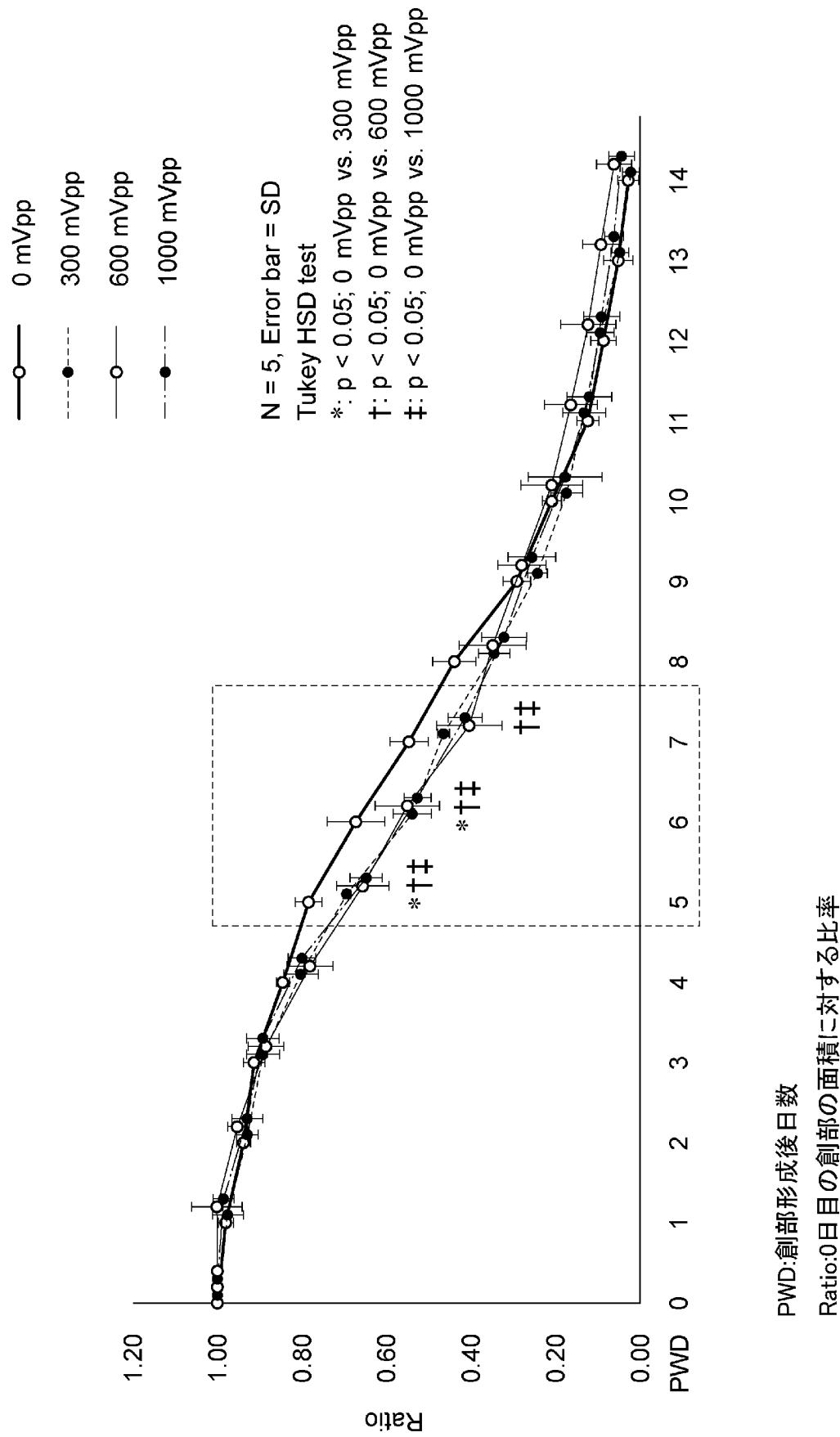
[図13]



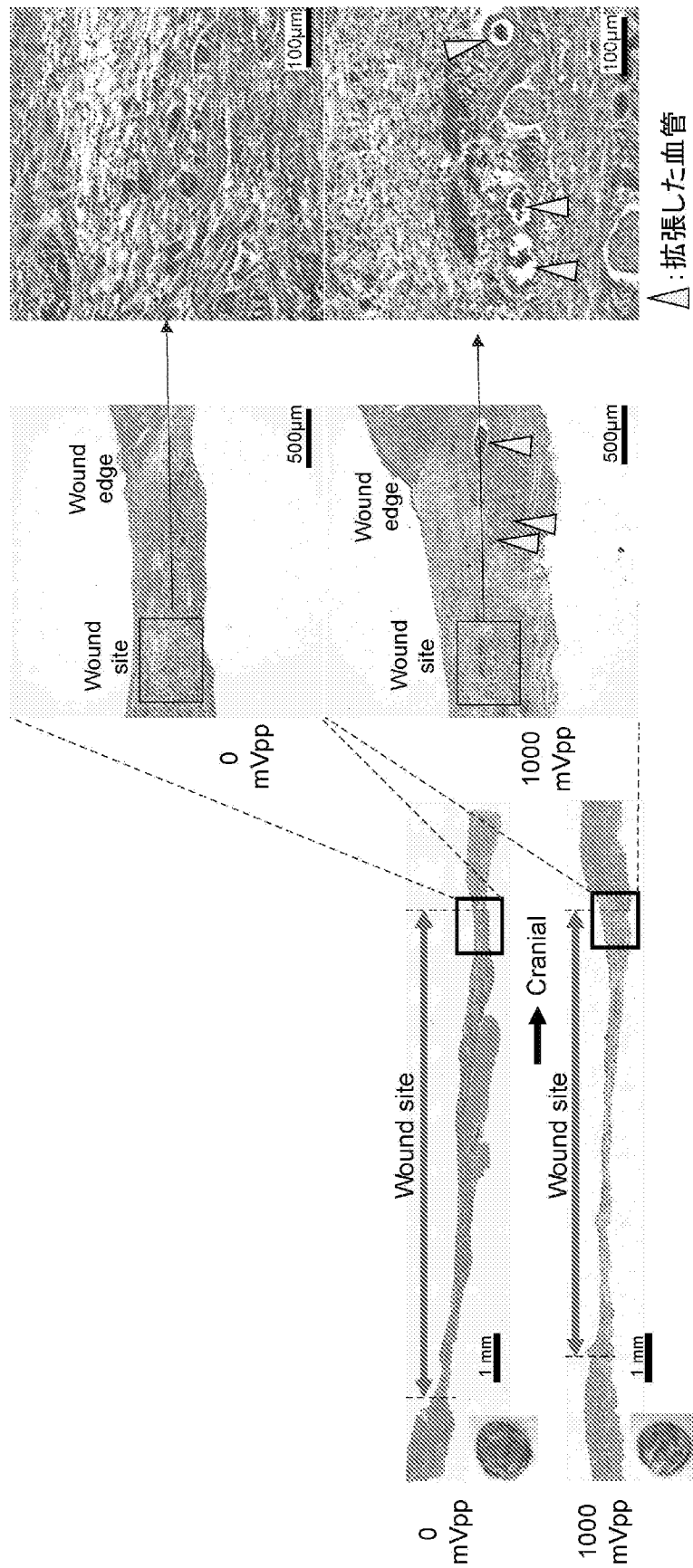
[図14]



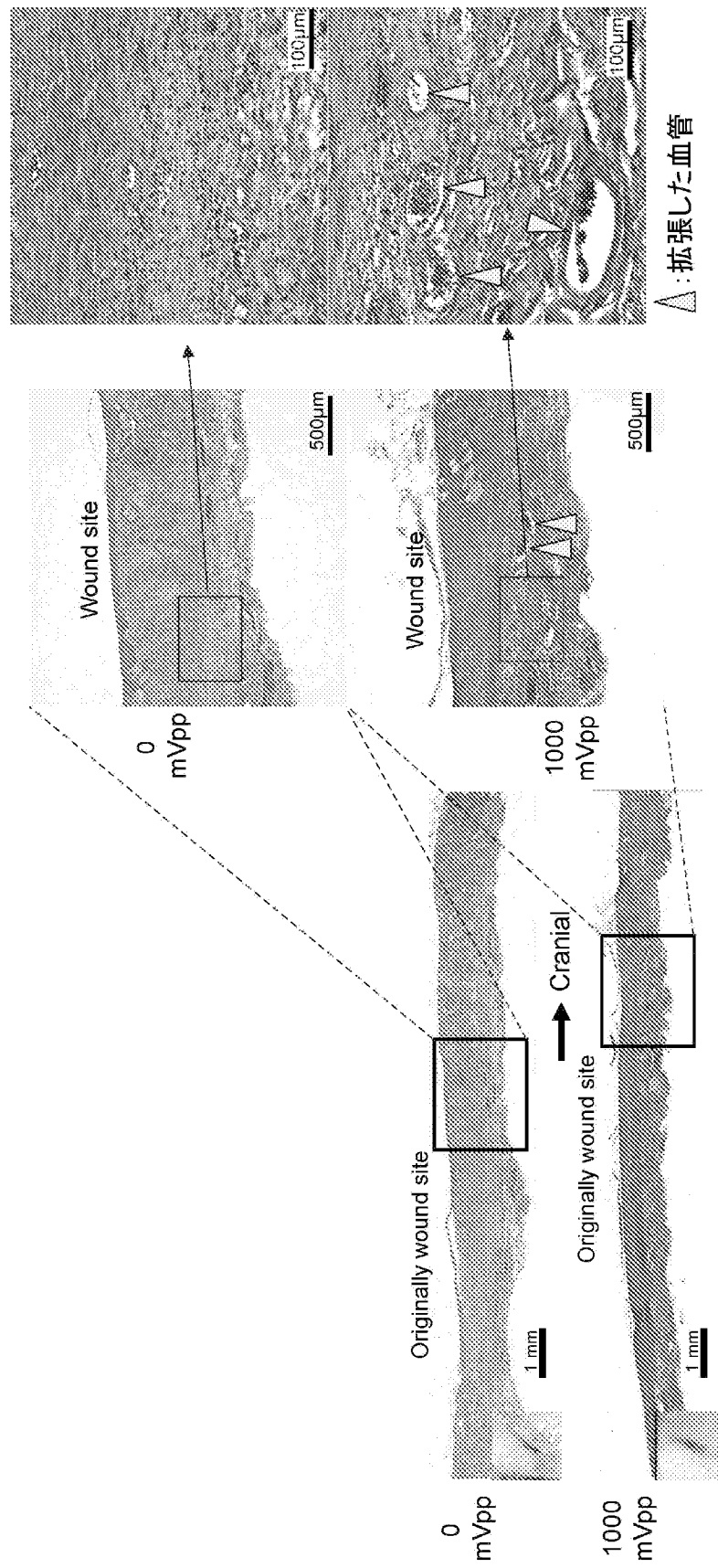
[図15]



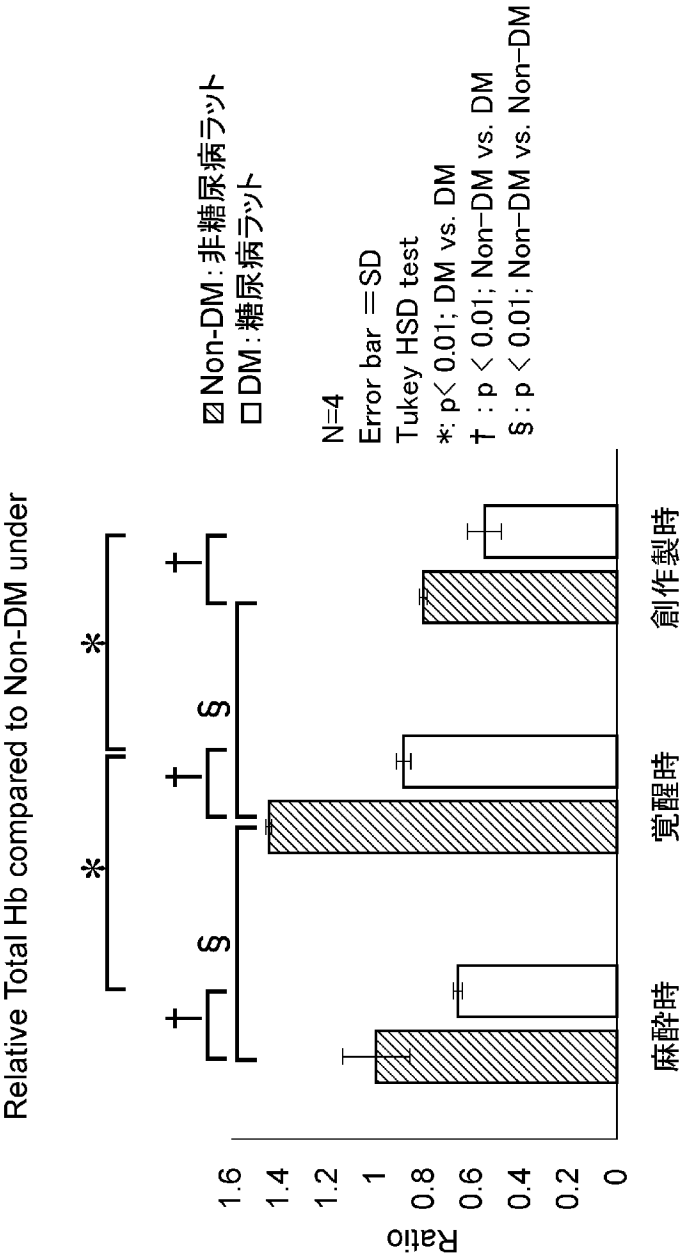
[図16]



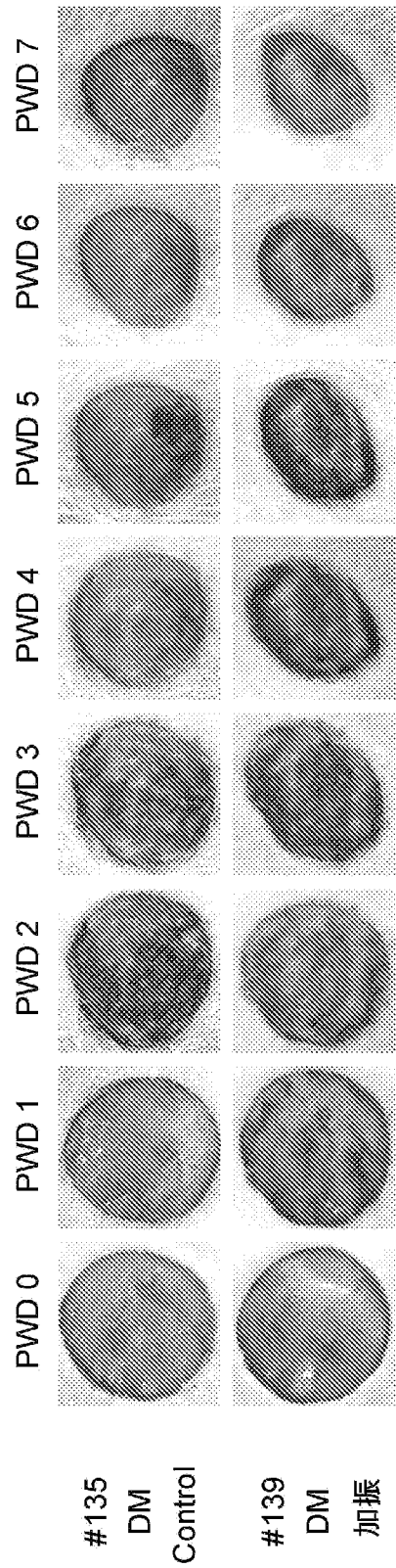
[図17]



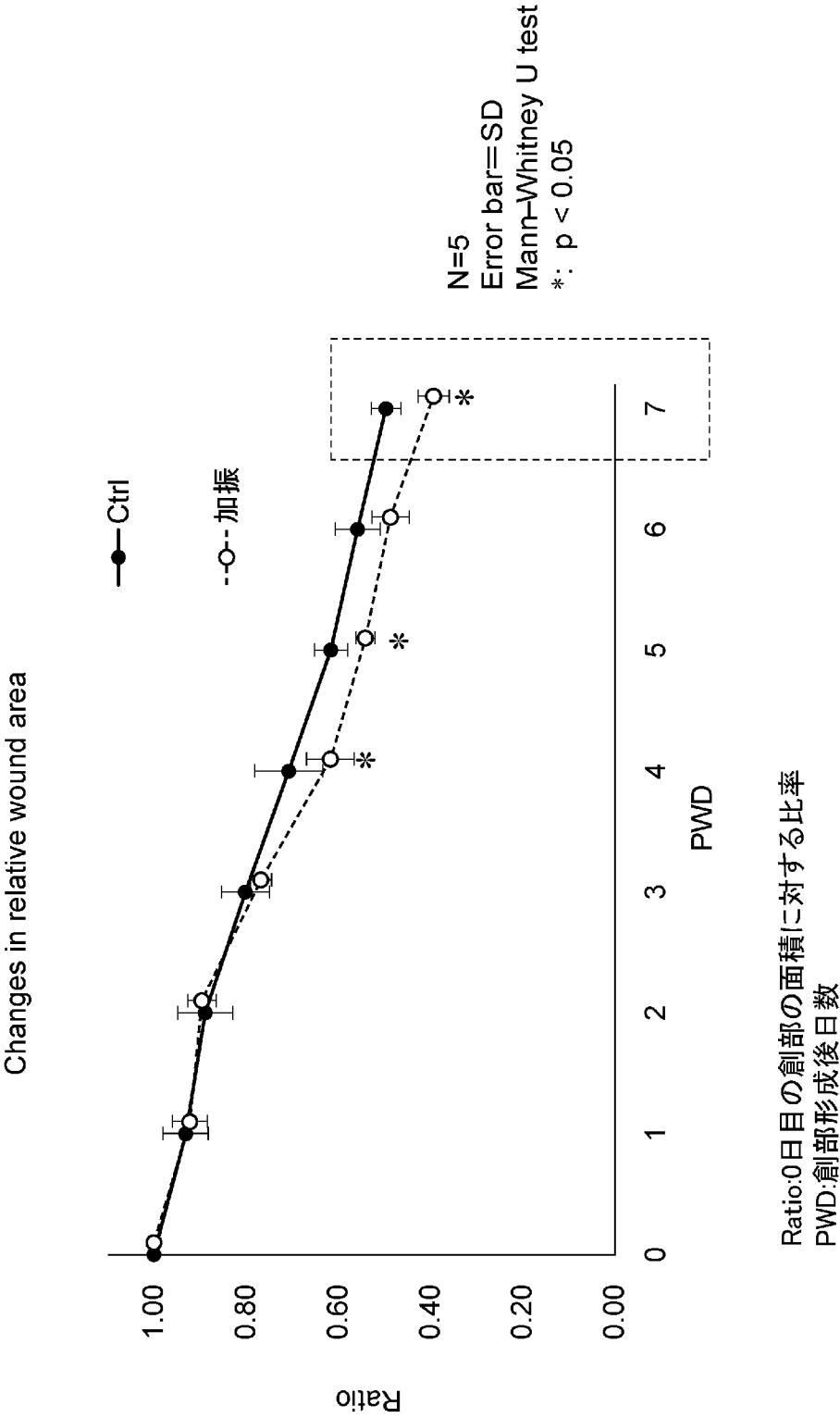
[図18]



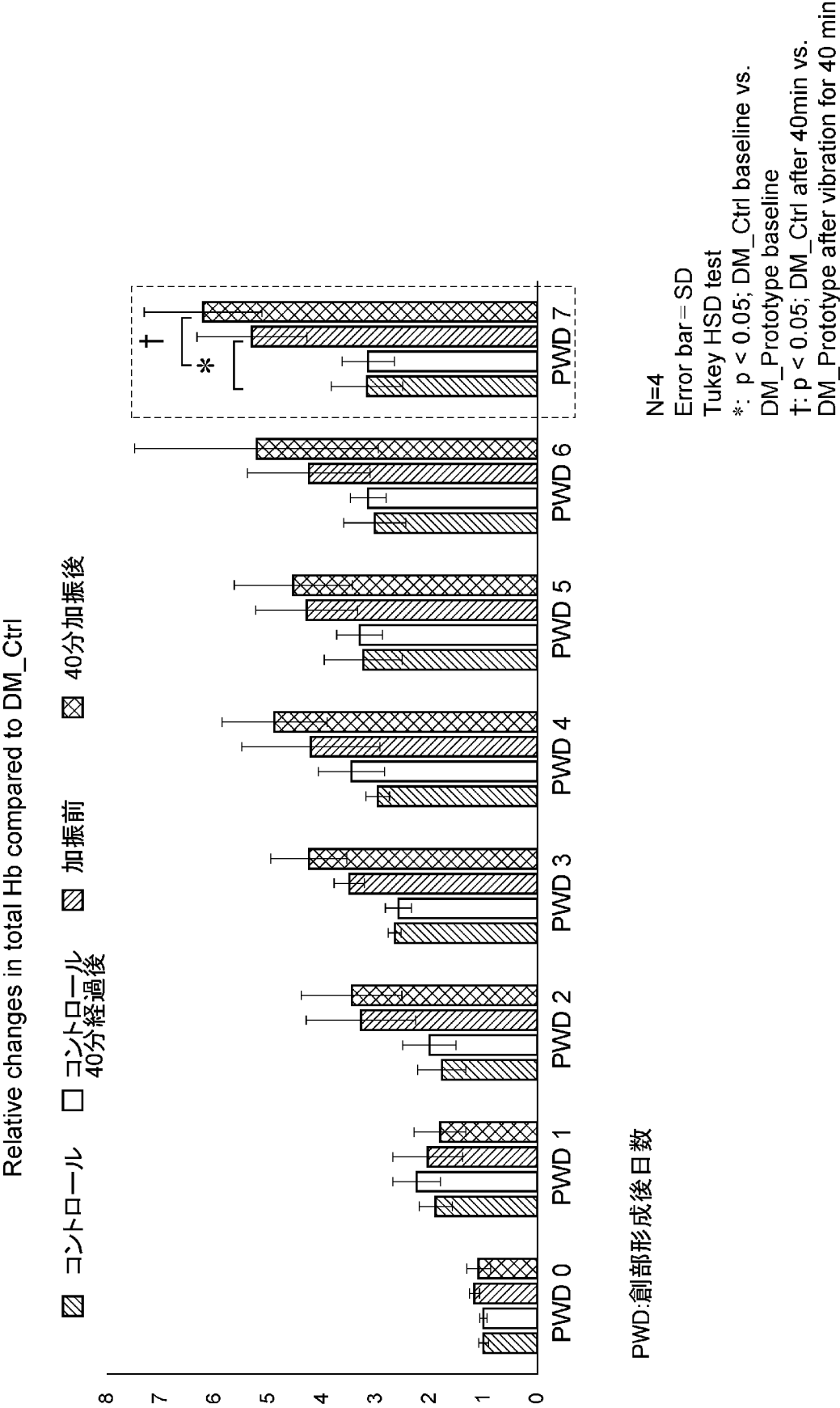
[図20]



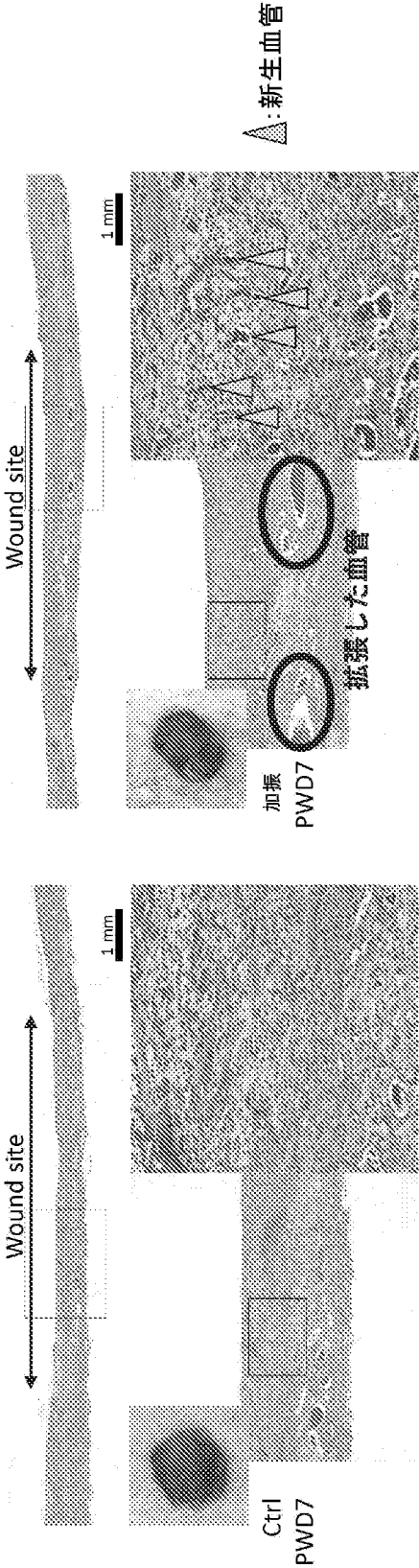
[図21]



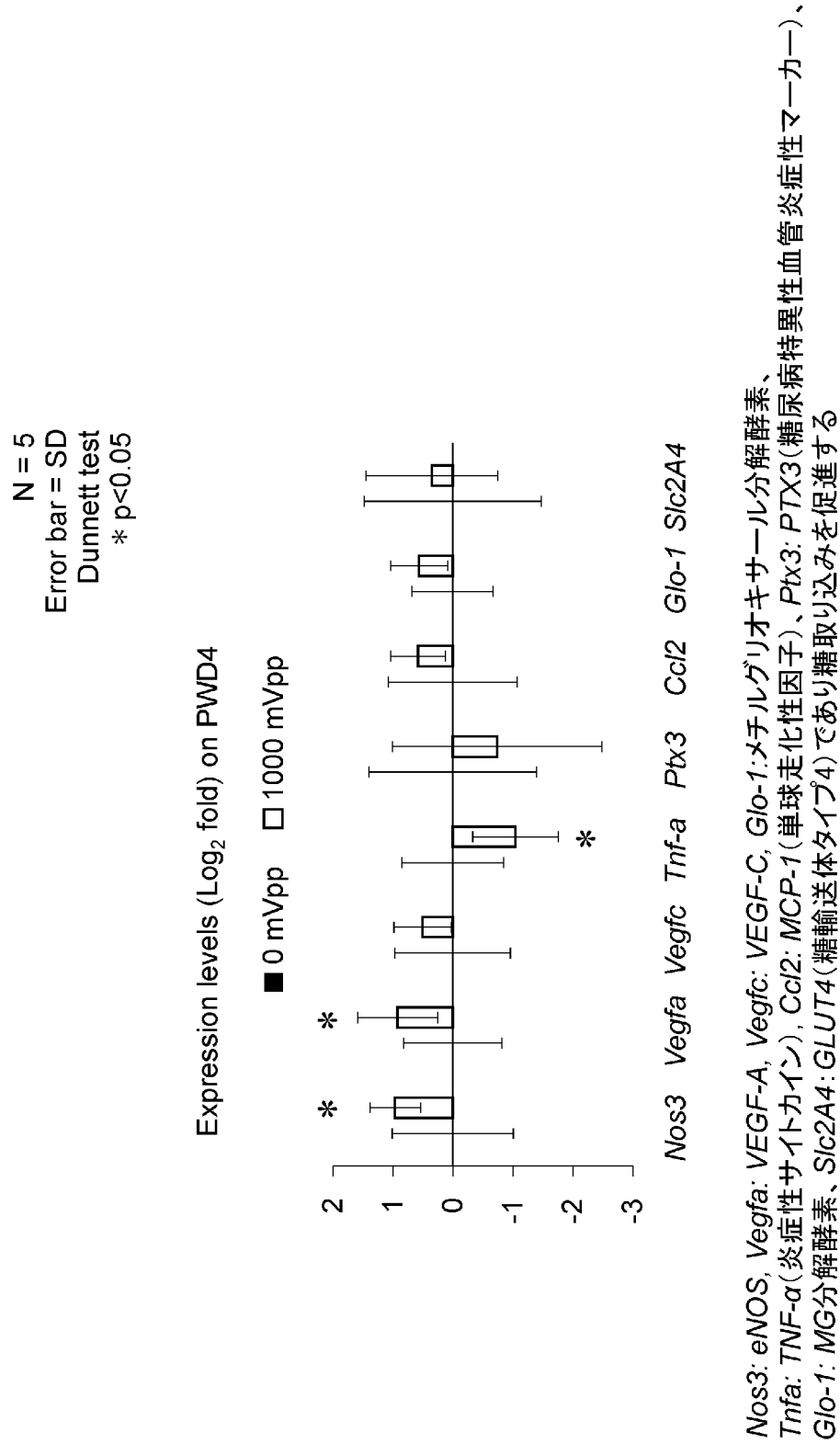
[図22]



[図23]



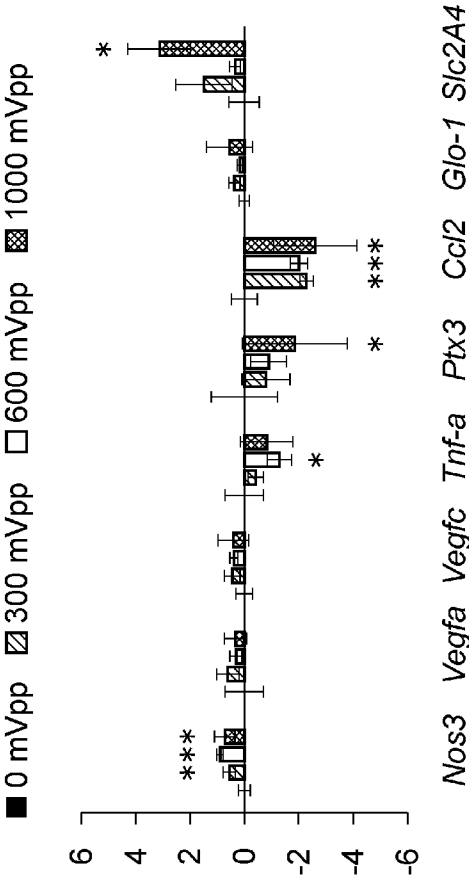
[図24]



[図25]

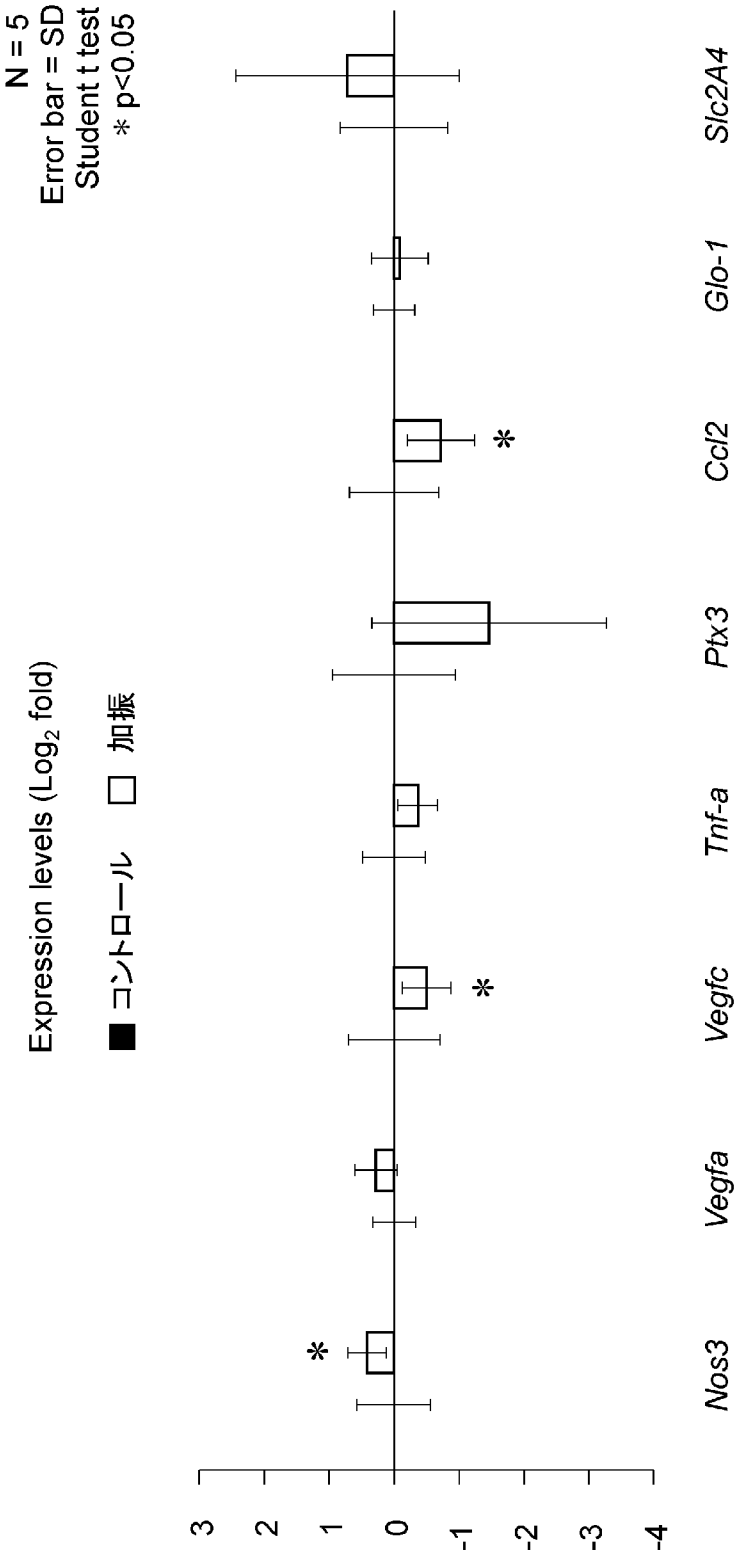
N = 5
Error bar = SD
Dunnett test
* p<0.05

Expression levels (Log₂ fold) on PWD14



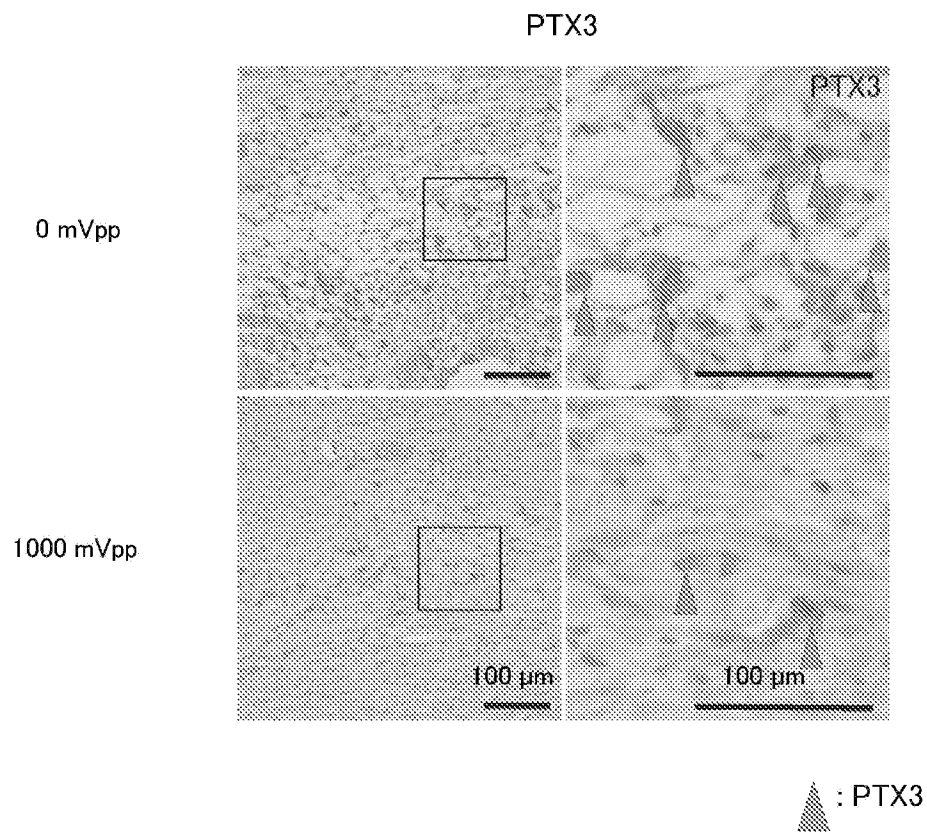
Nos3: eNOS, Vegfa: VEGF-A, Vegfc: VEGF-C, Glo-1:メチルグリオキサール分解酵素、
Tnfa: TNF- α (炎症性サイトカイン), Ccl2: MCP-1(単球走化性因子)、Ptx3: Ptx3(糖尿病特異性血管炎症性マーカー)、
Glo-1: MG分解酵素、Slc2A4: GLUT4(糖輸送体タイプ4)であり糖取り込みを促進する

[図26]



Nos3: eNOS, Vegfa: VEGF-A, Vegfc: VEGF-C, Glo-1: メチルグリオキサール分解酵素、
Tnf-a: TNF- α (炎症性サイトカイン), Ccl2: MCP-1 (単球走化性因子), Ptx3: PTX3 (糖尿病特異性血管炎症性マーカー)、
Glo-1: MG分解酵素、Slc2A4: GLUT4 (糖輸送体タイプ4) であり糖取り込みを促進する

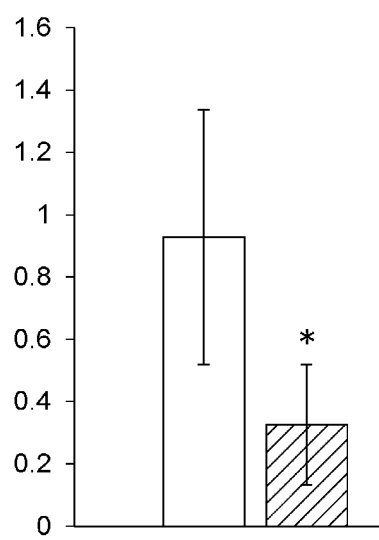
[図27]



[図28]

M1/M2 ratio

□ 0 mVpp ▨ 1000 mVpp



N = 5, Error bar =SD

Dunnett's test

*p < 0.05: vs. 0mVpp

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2023/024188

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**A61H 23/02**(2006.01)i; **A61B 10/00**(2006.01)i; **A61B 5/00**(2006.01)i; **A61B 5/026**(2006.01)i

FI: A61H23/02 330; A61B10/00 U; A61B5/026 120; A61B5/00 N

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61H23/02; A61B10/00; A61B5/00; A61B5/026

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996

Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2023

Registered utility model specifications of Japan 1996-2023

Published registered utility model applications of Japan 1994-2023

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2012-517324 A (PERFUZIA MEDICAL, INC.) 02 August 2012 (2012-08-02) paragraphs [0036], [0039]	1-9
A	WO 2008/059810 A1 (KAGOSHIMA UNIVERSITY) 22 May 2008 (2008-05-22) paragraphs [0069], [0071]	1-9
A	WO 2022/137756 A1 (WILLSTAGE CO LTD) 30 June 2022 (2022-06-30) paragraphs [0118]-[0120]	1-9



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 July 2023

Date of mailing of the international search report

08 August 2023

Name and mailing address of the ISA/JP

Japan Patent Office (ISA/JP)

3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915

Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2023/024188

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP	2012-517324	A	02 August 2012	US 2012/0059294 A1 paragraphs [0053], [0056] WO 2010/093753 A1 CA 2752229 A1	
WO	2008/059810	A1	22 May 2008	US 2010/0049118 A1 paragraphs [0074], [0076] EP 2103324 A1 CN 101534895 A KR 10-2009-0084867 A	
WO	2022/137756	A1	30 June 2022	JP 2022-100209 A	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A61H 23/02(2006.01)i; A61B 10/00(2006.01)i; A61B 5/00(2006.01)i; A61B 5/026(2006.01)i FI: A61H23/02 330; A61B10/00 U; A61B5/026 120; A61B5/00 N														
B. 調査を行った分野														
調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） A61H23/02; A61B10/00; A61B5/00; A61B5/026														
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922 - 1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971 - 2023年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996 - 2023年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994 - 2023年</td> </tr> </table>			日本国実用新案公報	1922 - 1996年	日本国公開実用新案公報	1971 - 2023年	日本国実用新案登録公報	1996 - 2023年	日本国登録実用新案公報	1994 - 2023年				
日本国実用新案公報	1922 - 1996年													
日本国公開実用新案公報	1971 - 2023年													
日本国実用新案登録公報	1996 - 2023年													
日本国登録実用新案公報	1994 - 2023年													
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）														
C. 関連すると認められる文献														
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号												
A	JP 2012-517324 A（パーフュジア メディカル インコーポレーテッド）02.08.2012 （2012 - 08 - 02） 段落[0036], [0039]	1-9												
A	WO 2008/059810 A1（国立大学法人鹿児島大学）22.05.2008（2008 - 05 - 22） 段落[0069], [0071]	1-9												
A	WO 2022/137756 A1（株式会社ウイルステージ）30.06.2022（2022 - 06 - 30） 段落[0118]-[0120]	1-9												
☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。														
<table border="0"> <tr> <td>* 引用文献のカテゴリー</td> <td>“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</td> </tr> <tr> <td>“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技术水準を示すもの</td> <td>“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</td> </tr> <tr> <td>“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの</td> <td>“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</td> </tr> <tr> <td>“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）</td> <td>“&” 同一パテントファミリー文献</td> </tr> <tr> <td>“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</td> <td></td> </tr> <tr> <td>“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献</td> <td></td> </tr> </table>			* 引用文献のカテゴリー	“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの	“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技术水準を示すもの	“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの	“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの	“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの	“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）	“&” 同一パテントファミリー文献	“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献	
* 引用文献のカテゴリー	“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの													
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技术水準を示すもの	“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの													
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの	“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの													
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）	“&” 同一パテントファミリー文献													
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献														
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献														
国際調査を完了した日 25.07.2023	国際調査報告の発送日 08.08.2023													
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 佐藤 智弥 3E 3735 電話番号 03-3581-1101 内線 3346													

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2023/024188

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
JP	2012-517324	A	02.08.2012	US	2012/0059294	A1	
				段落[0053], [0056]			
				WO	2010/093753	A1	
				CA	2752229	A1	
WO	2008/059810	A1	22.05.2008	US	2010/0049118	A1	
				段落[0074], [0076]			
				EP	2103324	A1	
				CN	101534895	A	
				KR	10-2009-0084867	A	
WO	2022/137756	A1	30.06.2022	JP	2022-100209	A	