

# 健康成人女性を対象とした会陰部局所温罨法による 血清 HSP70 の変化 ～会陰裂傷予防のためのパイロットスタディ～

神徳 備子<sup>1</sup>・江藤 宏美<sup>2</sup>

## 要 旨

**目的：**会陰裂傷予防方法の一つである会陰部温罨法について、その効果の指標として温熱刺激で誘導されるHSP70値をバイオマーカーに用いることが可能であるかを検証することを目的とした。

**方法：**20～39歳の健康女性10名を対象とし、一群で非介入期間と介入期間を設定した前後比較研究とした。22日間のうち最初6日目までをベースラインを設定するための非介入期間、非介入6日目の採血後より介入を開始し（介入0日目）、16日目までを介入期間とし3日毎に計6回、最大温度40℃の温熱シートで40分間会陰部を加温した。血清HSP70値は非介入・介入期間に各2回ずつ採血しELISA法により定量した。

**結果：**血清HSP70値は、介入前1日目と6日目の間に有意な差を認めなかった（ $p = 0.24$ ）。ベースラインである介入前6日目と介入後7日目及び16日目との間にもそれぞれ有意な差は認めなかった（ $p = 0.37$ ,  $p = 0.07$ ）。

**結論：**本研究では会陰部温罨法と血清HSP70値との間に有意な関連は認められなかった。これは、会陰部温罨法によってHSP70が血清には反映されなかった可能性が考えられる。現在、局所温罨法が当該部位の細胞にどのような影響を与えるのかは明らかになっていない。会陰裂傷予防に用いられる温罨法のメカニズムを明らかにする上で、HSPとの関連について検討していくことは重要であろう。

保健学研究 35 : 01-10, 2022

**Key Words** : 会陰裂傷, ヒートショックプロテイン, HSP70, 局所温罨法

(2021年10月12日受付)  
(2021年12月28日受理)

## I. 緒言

会陰裂傷は、分娩時に児頭が膣壁や会陰部の組織を圧迫し伸展することによって生じる裂傷である。日本産科婦人科学会の定義によると、第Ⅰ度会陰裂傷は会陰皮膚、膣壁粘膜のみに限局し筋層には達しない裂傷、第Ⅱ度会陰裂傷は球海綿体筋や浅会陰横筋などの会陰筋層に及ぶが、外肛門括約筋には達しない裂傷、第Ⅲ度会陰裂傷は外肛門括約筋や直腸膈中隔に達する裂傷、第Ⅳ度会陰裂傷は第Ⅲ度会陰裂傷に加え、肛門粘膜や直腸粘膜の損傷を伴う裂傷とされている<sup>1)</sup>。そのうち第Ⅰ度、第Ⅱ度会陰裂傷は67～80%見られることが報告されており、発生頻度の高い分娩時損傷である<sup>2,3)</sup>。

会陰裂傷や会陰切開によって、産後の女性は、会陰部の疼痛や違和感、日常生活動作や性生活への悪影響など、さまざまな問題を抱えることが多い<sup>4)</sup>。会陰裂傷・会陰切開の予防に関して、Cochrane Database Systematic Review<sup>5)</sup>では、妊娠期からの会陰マッサージが有効であることが明らかとなっている。その他の方法として、分娩第2期の会陰部温罨法が第Ⅲ度・第Ⅳ度会陰裂傷を

約半数減少させるという結果が報告されている<sup>6)</sup>。温罨法による生理学的な反応として、皮膚の伸張性が向上すること<sup>7)</sup>、循環血液量が増加すること<sup>8)</sup>、筋緊張が低下することから<sup>9)</sup>、温罨法による第Ⅰ度・第Ⅱ度会陰裂傷の予防効果についても検討されたが、分娩第2期の会陰部温罨法が第Ⅰ度・第Ⅱ度会陰裂傷の予防に有効であるという結果はみられていない<sup>10)</sup>。この研究では温罨法と会陰裂傷出現の直接的な関連を明らかにすることを目的としているが、温罨法自体が会陰部の細胞にどのような影響を与えるのか、また温罨法の実施時期や実施時間・温度については検討されていない。

今回、発生頻度の高い第Ⅰ度・第Ⅱ度裂傷である皮膚や膣壁粘膜、会陰筋層の損傷に対し、温罨法における細胞レベルでの損傷予防や治癒促進といった効果の指標について検討した。その結果、様々なストレス刺激に対して発現量が増加するheat shock protein（熱ショックタンパク質、以下HSP）が温罨法の効果の指標のひとつとなり得るのではないかと考えた。HSPは、ストレス下で発現量が増加するが、ストレスのない状態でも細胞内に

1 長崎大学生命医科学域（前八重山病院）

2 長崎大学生命医科学域

存在し、タンパク質のフォールディングや集合体の形成に分子シャペロンとして関与している<sup>11-14)</sup>。ストレス下では、そのタンパク量を増加させ、通常状態での機能を最大限に発揮することによって細胞保護に働いている。そのストレス刺激は様々であり、発熱や炎症、エタノール、重金属、虚血などによってHSPは増加することが明らかになっている<sup>15-20)</sup>。ストレス下で合成されたHSPは、変性したタンパク質を元の形に戻したり（リフォールディング）、異常なタンパク質の凝集を抑制することによって、アポトーシスやネクローシスによる細胞死を防御することが示唆されている<sup>21)</sup>。さらに、Robertら<sup>22)</sup>は、ラット胃粘膜においてあらかじめ弱いストレスを加えることによってストレス耐性を獲得する適応現象（アダプティブサイトプロテクション）を発見し、後の研究によってその現象の本態がHSPであることが明らかとなってきた。特に分子量70kDaのストレスタンパク質であるHSP70は細胞保護作用が強く、ラットやマウスにおいて、口腔粘膜、結腸粘膜、胃粘膜であらかじめ細胞内のHSP70を誘導した結果、粘膜障害が軽減し粘膜細胞が保護されたことが報告されている<sup>23)</sup>。また、ラットやマウスにおける筋層（心筋やヒラメ筋、骨格筋）でも同様に、細胞内のHSP70の誘導によって筋損傷が軽減することが示唆されている<sup>24,25)</sup>。これらの先行研究から、会陰裂傷の予防や治癒促進においてもHSP70の誘導を検討していく必要があると考えた。さらにHSP70は、温熱刺激で最も多く誘導されるといわれており、ウサギの膝関節への温熱刺激によって関節液のHSP70が増加することや<sup>26)</sup>、ラット表皮や頬部の温熱刺激によって当該部位細胞のHSP70が増加することが報告されている<sup>27)</sup>。これらのことから、温熱法の効果の指標のひとつとしてHSP70を用いることができるのではないかと考えた。

ヒトにおけるHSP70誘導においては、伊藤ら<sup>28)</sup>は、健康人を対象とした40～42℃の全身加温を20～30分間行うことによって血中リンパ球のHSP70が2日後をピークに1～4日で増加し、その後徐々に減少していくことを報告している。しかし、毎日全身加温といった連続した温熱刺激では、一定のストレス刺激による馴化によりHSP70値の上昇がみられないことも報告されている<sup>29,30)</sup>。HSP70は4日目以降で減少し、減少している時に再度温熱刺激を行い細胞に弱いストレスを与えることで、ストレス刺激に反応できるHSP70をあらかじめ誘導しておくことができる。そして、あらかじめHSPを誘導させておくことによって、次に強いストレスを受けた時の防御作用が強化されるともいわれている<sup>30)</sup>。さらに、ヒトにおける局所加温でもその値は増加する可能性が示唆されており、温熱刺激によって骨格筋の細胞内HSP70が誘導されることが報告されている<sup>31)</sup>。また、熱傷やリウマチ患者においては血清HSP70の上昇も報告されていることから<sup>32,33)</sup>、局所のストレスが血液中に反

映する可能性も考えられる。

これらのことから、温熱法とHSP70との関連を考慮し、損傷が予測される会陰部にあらかじめ温熱刺激を与えることで、会陰皮膚や陰壁粘膜、会陰筋層におけるHSP70が活性化し、会陰裂傷の減少及び会陰損傷部位の早期治癒が見込めるのではないかと考えた。よって本研究では、分娩期ではなくより早い時期の妊娠期から温熱法を行うことによる会陰裂傷低減の関連を明らかにする前段階として、温熱法の効果の指標としてHSP70値を用いることができるかどうかを検討したいと考えた。

会陰部局所温熱法がHSP70の増加を促進するという研究は今まで行われておらず、また、妊娠期より会陰部局所温熱法が行われた研究はない。さらに、ヒトの場合は局所組織の細胞内HSP70値測定が難しく、先行研究の多くが採取可能な血液中のHSP70値を測定している。そのため、局所温熱法と血中HSP70値との関連も不明である。本研究の目的は、会陰裂傷予防方法の一つである会陰部温熱法について、その効果の指標として温熱刺激で誘導されるHSP70値をバイオマーカーに用いることが可能であるかを検証することである。そのために、今回はパイロットスタディとして、健康成人女性を対象とし、会陰部局所温熱法を行った場合と行わない場合において、血清中のHSP70値に変化が見られるかどうかを明らかにする。

## II. 研究方法

### 1. 研究デザイン

一群において非介入時期と介入時期を設定した前後比較研究とした。

### 2. 対象者とリクルート方法

対象は、A大学医療系に所属する20～30代の健康な大学生・大学院生の女性10名とした。除外基準は、妊娠している女性及びHSP70値に影響を与える可能性の高い既往（悪性腫瘍、感染症、胃薬の常用）、また、温熱刺激による皮膚損傷の危険性を考慮し、接触性皮膚炎の既往、循環障害、皮膚脆弱、刺激過敏、神経障害、易感染状態の女性とした。

リクルートの際には、対象者へ研究方法について文書と口頭にて説明を行い、同意を得た。同意が得られた場合には、事前問診票にて除外基準となる既往項目を確認し、該当項目がある場合には研究対象から除外とした。なお、介入期間は月経を避けるため、月経終了後もしくは月経と重ならない日程に調整した。

### 3. 研究方法

#### 1) 研究の手順

研究のプロトコールは図1に示す。研究期間は22日間とし、研究期間中は温熱刺激をシャワー浴のみに制限した。最初の6日間を非介入期間とし、温熱刺激の制限下における血清HSP70値のベースラインを測定した。続く6日目からの16日間を介入期間とし、温熱法を実施して

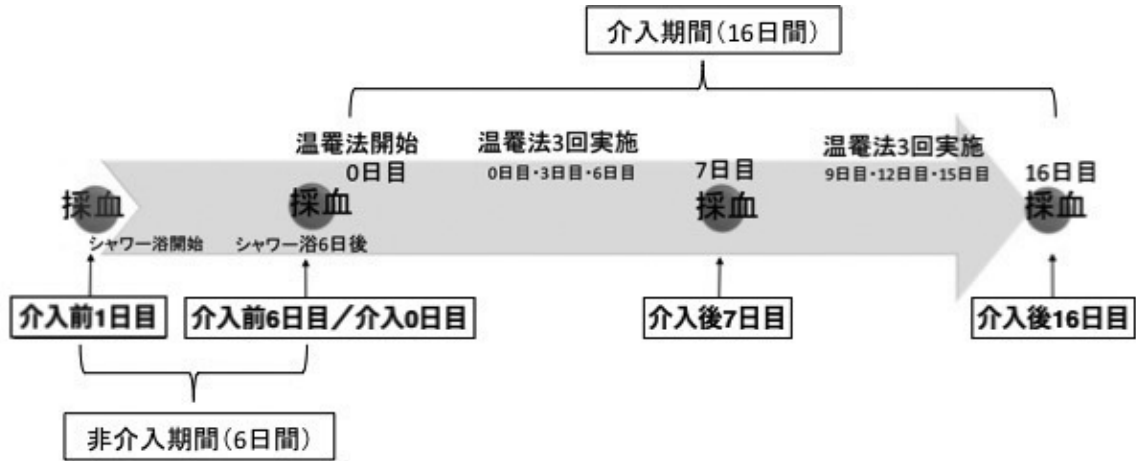


図1. 研究のプロトコール

いる期間の血清HSP70値を測定した。なお、介入期間については、今後妊娠している女性で行うことを想定し、安全に温罨法を継続できる時期として、正期産となる37週からの2～3週間を目安として16日間に設定した。

2) 介入方法

温罨法は、1回あたり40分とし、夕食後～就寝前までの時間帯に行った。温罨法のスケジュールについては、3日毎（中2日：72時間毎）で、介入期間中に計6回実施した。このスケジュールについては、これまでの研究において、仰臥位で腹部に40分、40～42℃で遠赤外線照射加温した際に、加温2日目（48時間）をピークに4日目（96時間）までリンパ球中のHSP70値が増加していること<sup>28)</sup>、また、HSP70が減少している時に再度加温することでHSP70の活性化を維持できること<sup>30)</sup>を参考に設定した。

温罨法で使用使用するホットパックは、使用方法が簡易で誰でも使用可能であり、温度が使用者によって異なるようにするため、最大温度40℃で30分持続し肌に直接貼るタイプの蒸気温熱シート（花王株式会社製、めぐりズム、蒸気でGood-Night、無香料<sup>®</sup>）を選択し、会陰部が温められるよう下着に貼付して使用した。事前に複数の協力者に対し会陰部温罨法を行い、実施に際して使用方法、温度、知覚に問題のないことを確認した。同時に、ホットパックを貼付中に会陰部の皮膚温を温熱プローブを用いて測定し、開始10分で39℃まで上昇し、その後30分間は40℃前後の温度が持続することを確認した。

採血については、非介入期間の開始時と終了時（介入前1日目と6日目）に各1回、介入期間は温罨法第3回目実施後である介入後7日目、および第6回目実施から約12時間経過した後である介入後16日目に1回ずつの計4回実施した。採血時間は午前中（9:00～11:00）に設定し、研究開始6日目は非介入期間終了日であると同時に介入期間初日としたため、その日の午前に採血をして就寝前に温罨法1回目を実施することとした。血液は、ペノジェクトII真空採血管 VP-AS 076KM（TERUMO）

にて採取し、対象者全員の試験が終了するまでは-80℃で凍結保存した。血清HSP70値の検出は、大学病院検査部に依頼した。

研究期間は、研究結果に影響を及ぼす可能性のある暖房器具の使用や、温罨法による刺激を回避するため、初春から初夏となる2016年3月から7月に設定した。その他の温熱刺激の排除として、研究期間中の入浴や温泉、岩盤浴、サウナなどの利用はしないこととし、暖房器具などに関しては、その使用を極力避けることとした。さらに、その他のHSP70上昇因子として発熱や炎症、怪我、悪性腫瘍、一部内服薬、運動、飲酒などの関連が示唆されていることから、発熱に関しては採血時に体調を確認し必要時は体温測定を実施し、その他については事前や研究期間中に申告してもらうこととした。

4. データ収集項目

HSP70は、対象者の肘静脈から採血した血清中のHSP70値を測定した。検査方法は、対象者全員の試験が終了した時点で全ての検体を解凍し、Enzyme-linked immunosorbent assay（ELISA法）により定量した。使用キットは、HSP70 high sensitivity ELISA kit, Enzo Life Sciences, ADI-EKS-715を用いた。

対象者情報に関しては、事前の問診票において、年齢と産科既往（出産歴）、温熱刺激やHSP70上昇に影響を及ぼす可能性のある疾患（心臓・血管疾患、アレルギー、皮膚疾患、運動障害、神経障害、感染症）についてデータ収集を行った。

研究期間中は、温罨法を開始した時刻と終了した時刻、温熱刺激となるものの使用状況（コタツ、電気毛布、あんかななどの暖房器具）や飲酒・運動状況について対象者自身が記録をした。対象者の安全性の情報として、温罨法による低温熱傷や不快感、痒み等の皮膚トラブルの有無について記入をしてもらい、採血時にトラブルの有無を確認した。採血前には体調の確認を行い、必要時は体温測定を行った。温罨法実施前後の体温変動に関しては、全6回中1回の温罨法において、開始直前と終了直後の



舌下温の測定を全ての対象者に実施した。

温罨法での知覚に関しては、温かく感じた部位を「会陰部」「臀部周囲」「下半身」「上半身」「手先・足先」「全身」「その他」「感じなかった」に分類し、皮膚トラブルの有無に関しては「熱すぎた」「痛み」「ヒリヒリ感」「不快感」「掻痒感」「湿疹・蕁麻疹」「その他」に分類し温罨法実施毎に回答を依頼した。

### 5. データ分析方法

分析に関しては、介入開始直前の測定値である介入前6日目をベースラインとして用いるために非介入期間の開始時と終了日（介入前1日目と6日目）のHSP70値の差を検討することと、ベースラインと介入期間2回（介入後7日目と16日目）のHSP70値の差を検討するために、記述統計で示し、Wilcoxonの符号付き順位検定にて分析を行い、数値の表記は、中央値と四分位（25%-75%）で示した。解析ソフトは、Statistical Package for Social Sciences (SPSS) Ver.22を使用し、有意水準は5%とした。

### 6. 倫理的配慮

本研究は、長崎大学大学院医歯薬学総合研究科倫理委員会の審査を受け承認を得て実施した（承認番号：15121069）。健康障害等有害事象発生に関しては、会陰

部局所温罨法に伴う皮膚障害（低温熱傷を含む）や不快感、採血に伴う迷走神経反射や神経損傷及び感染のリスクを説明し、リスクを伴う可能性がある判断された場合にはすぐに中止し医療機関の受診を検討するといった配慮を行った。

## III. 結果

### 1. 対象者の特性

研究参加の同意が得られた対象者は、 $23.6 \pm 2.9$ 歳の健康な女性11名であった。このうち、研究期間中にウイルス感染症にて対象者基準から逸脱した1名を対象者から除外した。対象者の特性については表1に示した。全ての対象者において、分娩歴、悪性腫瘍や心臓血管系疾患の罹患や入院通院歴、胃薬の常用、温熱刺激や発汗その他刺激による皮膚症状の既往、麻痺や知覚鈍麻などの運動障害や神経障害、免疫系脆弱・易感染状態であるものに該当するものはいなかった。

研究期間中の温罨法実施状況に関しては、平均開始時刻は22時15分、平均終了時刻は23時47分であった。温罨法前後の舌下温については、実施前 $36.71 \pm 0.47^\circ\text{C}$ 、実施後 $36.76 \pm 0.28^\circ\text{C}$ 、実施前後の温度差は $0.046 \pm 0.34$ （ $-0.2 \sim +0.9$ ） $^\circ\text{C}$ であり、有意な上昇はみられなかった（ $t =$

表1. 対象者の特性

	年齢 (歳)	期間中の飲酒の 有無	アレルギー疾患	温罨法前後の深部温変化 ( $^\circ\text{C}$ )		
				前	後	後-前
A	23	無	花粉症	37.50	37.30	-0.20
B	30	無		36.55	36.58	+0.03
C	22	無		36.33	36.38	+0.05
D	22	無		36.31	36.33	+0.02
E	24	有		36.44	36.91	+0.47
F	22	無	アトピー性皮膚炎	36.51	37.00	+0.49
G	21	有		36.88	36.88	0
H	24	有		35.61	36.51	+0.90
I	22	有		37.13	36.89	-0.23
J	21	有		37.10	37.00	-0.10

表2. 2時点での血清HSP70値の比較

	n	血清HSP70値 (ng/ml)		Z	p
		前	後		
介入前1日目 vs 介入前6日目	10	0.69 [0.56-0.83]	0.78 [0.67-0.83]	-1.17	0.24
介入前6日目 vs 介入後7日目	10	0.78 [0.67-0.83]	0.60 [0.59-0.63]	-0.89	0.37
介入前6日目 vs 介入後16日目	9 <sup>a</sup>	0.78 [0.67-0.83]	0.60 [0.56-0.72]	-1.84	0.07
介入後7日目 vs 介入後16日目	9 <sup>a</sup>	0.60 [0.59-0.63]	0.60 [0.56-0.72]	-0.14	0.89

Wilcoxon signed-rank test

Median [IQR, 25th-75th percentile]

a: 採血後の分離不良（溶血）の影響が疑われたため1名除外。

0.50,  $p = 0.63$ ).

また、研究期間中のアルコール摂取に関しては、血清HSP70値に影響を与える可能性の高い採血前2～3日以内に摂取しているものはみられなかった。研究期間中に激しい運動をしたものはみられず、研究期間中にシャワー浴以外の温熱刺激を受けていたものもみられなかった。なお、本研究において温罨法実施に伴い皮膚障害が生じた者はいなかった。

2. 血清HSP70値の変化

4時点の血清HSP70値の表記については、非介入1日目を「介入前1日目」、非介入6日目は、同時に介

入期間の初日であることから「介入前6日目」あるいは「介入0日目」、介入期間7日目を「介入後7日目」、16日目を「介入後16日目」と表すこととした。

血清HSP70値が測定範囲(0.1～15.0ng/ml)を逸脱したものは、「介入後7日目」と「介入後16日目」に各1回ずつであった。このデータは、採血後の検体分離不良(溶血)の影響が疑われたため除外とした。

血清HSP70値の4時点での分布は図2に示した。血清HSP70値は表2より、「介入前1日目」の中央値(25-75パーセンタイル)は0.69(0.56-0.83)ng/ml、「介入前6日目(介入0日目)」は0.78(0.67-0.83)ng/ml「介入

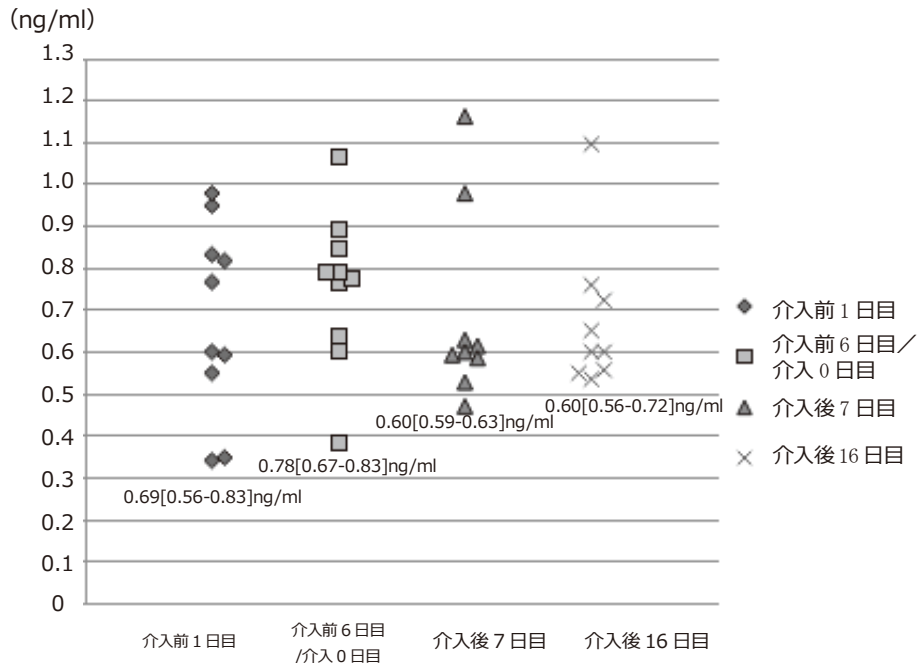


図2. 血清HSP70値の各測定日における分布 Median [IQR, 25th-75th percentile]

※18.02ng/ml (介入後7日目), 0.16ng/ml (介入後16日目) は採血後の分離不良(溶血)の影響が疑われたため除外。

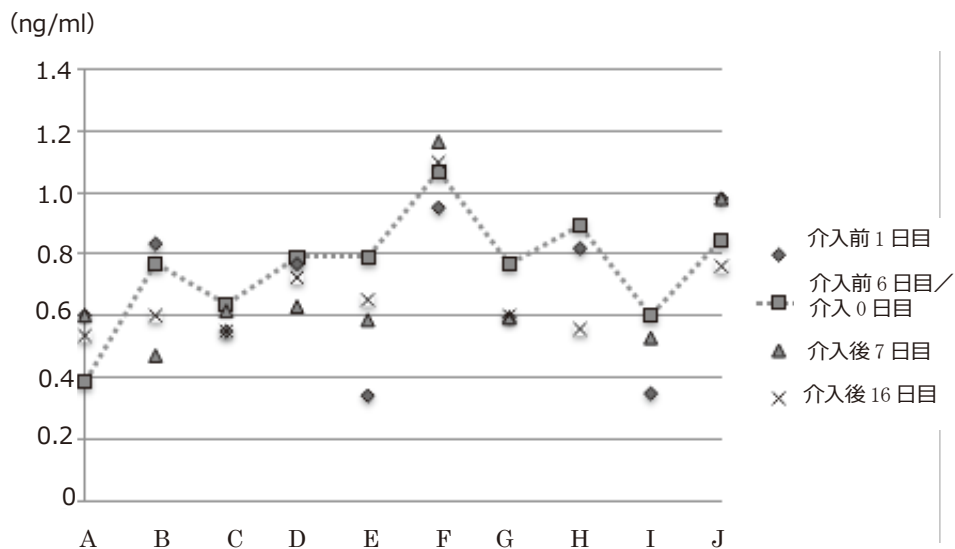


図3. 対象者(A～J)ごとの4時点での血清HSP70値

※1の介入後7日目(18.02ng/ml)と、Jの介入後16日目(0.16ng/ml)は採血後の分離不良(溶血)の影響が疑われたため除外。

後7日目]は0.60 (0.59-0.63) ng/ml, [介入後16日目]は0.60 (0.56-0.72) ng/mlであり, 介入前2時点及び介入後2時点のHSP70値に, それぞれ有意な差を認めなかった ( $p=0.24, p=0.89$ ). 介入前の6日間において有意な差が認められなかったことから [介入前6日目]をベースラインと設定し, ベースラインである [介入前6日目 (介入0日目)]と [介入後7日目]及び [介入後16日目]においても, それぞれ有意な差を認めなかった ( $p=0.37, p=0.07$ ).

[介入前1日目]～ [介入前6日目]の変動は $0.08 \pm 0.19$  ( $-0.22 \sim +0.45$ ) ng/ml, [介入0日目]～ [介入後7日目]の変動は $-0.05 \pm 0.17$  ( $-0.30 \sim +0.22$ ) ng/ml, [介入0日目]～ [介入後16日目]の変動は $-0.10 \pm 0.14$  ( $-0.33 \sim +0.15$ ) ng/ml, [介入後7日目]～ [介入後16日目]の変動は $-0.01 \pm 0.11$  ( $-0.22 \sim +0.13$ ) ng/mlであり, [介入0日目]～ [介入後7日目]と [介入0日目]～ [介入後16日目]の差の比較において有意な差はみられなかった.

対象者ごとの4時点の血清HSP70値については図3に示した. 介入後の血清HSP70値の変化をみると, [介入0日目]と比べて [介入後7日目]に上昇したのは3名, [介入後16日目]に上昇したものが2名であった. また, [介入後7日目]と比べて [介入後16日目]で上昇しているのは4名であった. [介入0日目]と比べて [介入後7日目]も [介入後16日目]も上昇しているのは, 2名であった. [介入0日目]から [介入後7日目]で上昇し, [介入後7日目]から [介入後16日目]でも上昇しているものはみられなかった.

### 3. 温罨法における知覚

温罨法実施1～2回は, 最初の5～10分が「熱すぎた」と感じたものが3名, 温罨法全6回のうち2回以上「熱すぎた」と感じたものが5名, 「搔痒感」が2名に1～2回, 「ヒリヒリ感」が1名に1回みられたが, いずれも温罨法5～6回目で知覚しているものはいなかった. また, 対象者の中で「熱すぎる」ことや「不快に感じた」ことによって, 温罨法実施中に途中でホットパックを外したものはみられなかった.

温罨法によって温かく感じた部位は, 全例で「会陰部」, 3名が「下半身」, 2名が「臀部周囲」, 2名が「手先・足先」であった. 知覚に関しては個人差があり, 温かいと感じる部位は, 温罨法実施毎に同一部位を感じる傾向があった. しかし, 「手先・足先」や「下半身」と回答した対象者の中で, 温罨法実施前後の舌下温が上昇しているものはみられなかった.

## IV. 考察

ベースラインと介入後7日目及びベースラインと介入後16日目それぞれの血清HSP70において, 統計的な有意差はみられなかった. さらに, 介入後7日目と16日目の2時点間においても, 有意差が認められなかったこと

から, 本研究のプロトコールである3日毎に40℃, 40分の会陰部局所温罨法を行うことが, 血清HSP70値を上昇させる因子とはならなかったことが推測される.

また, 非介入期間である介入前1日目と介入前6日目において有意差が認められなかったことは, 日常生活上の入浴や温泉などといった温熱刺激を制限する前と制限した後で血清HSP70値の変動がみられなかったことを意味する. 対象者は健康であり内服もしていなかったことから, 日常生活上の温熱刺激では血清HSP70値は変動しないことが推測される.

HSP70は通常核と細胞質の両方に分布するが, ストレス刺激によって核に移行し, さらに核小体に濃縮され, 核の損傷を防ぐことが分かっている<sup>34-36</sup>. HSP70は変性したタンパク質と結合することによって, 異常なタンパク質同士が凝集することを防いでいる. そのため, あらかじめHSP70を増加させておくことで, ストレス刺激によって生じた異常タンパク質と早期に結合することができ, 細胞死を防ぐことができるのではないかと考えられている<sup>37</sup>. Otaniら<sup>38</sup>は, ラットの結腸粘膜において, 加温によってHSPをあらかじめ増加させておくことによって, 細胞の障害が軽減され, 粘膜細胞が保護されたことを明らかにした. 一方, 熱傷などの過度なストレス刺激によって細胞が壊れると, HSP70が細胞外に流出し, 危険信号として免疫系を活性化するといわれている<sup>39</sup>. ヒトにおける血清HSP70値の研究では, リウマチ性疾患や悪性腫瘍, 子宮内膜症などの局所の炎症や疾患によって血清HSP値は上昇することが指摘されており, 発熱や運動といった全身性のストレス反応がある時にも血清HSP70値は上昇することが示唆されている<sup>40,41</sup>. また, 妊婦を対象としたHSP70の研究については, バイオマーカーとして血清HSP70との関連を示しているものが多い. 例えば, 早産や妊娠高血圧症候群において血清HSP70値が上昇したり<sup>42,43</sup>, HELLP (Hemolytic Elevated Liver enzymes Low Platelet) 症候群の患者において血清HSP70が上昇し, その重症度と正の相関を示している研究結果などが報告されている<sup>44,46</sup>. さらに妊娠前・中・後期の3期間における横断的研究においては, 妊娠中の血清HSP70値は0.29 (0.20～0.35) ng/mlであり健康女性と比べると全体的なレベルは低下し, 妊娠週数が進むにつれて非妊娠女性よりも低い値で上昇することが示唆されている<sup>47</sup>. これらの先行研究より, 本研究のプロトコールは血清HSP70値を上昇させる因子とはならなかったこと, 会陰部局所温罨法と血清HSP70増加の関連は低いことが推測される. また, 会陰部局所温罨法が全身性のストレス反応ではなかったことから血清HSP70が上昇しなかった可能性も推測される.

本研究において, 会陰部温罨法の効果の指標として, 温熱刺激で誘導されるHSP70値をバイオマーカーとして用いることは難しいという結果だった. 会陰部局所温罨法の効果としては, 本来であれば会陰部の組織内

HSP70を直接測定することが必要であるが、実際には困難である。これは本研究の限界である。しかし組織内HSP70を誘導することによって当該部位の細胞損傷を予防したり治癒を促進したりするため、会陰部の組織内HSP70を予め増加させておくことは今後も重要な視点として検討していく必要がある。

次に、HSP70上昇以外の温罨法の効果について改めて検討していく必要がある。皮膚の構造から温罨法の効果について考察すると、正常な皮膚は表皮と真皮の2層構造からなり、その境界は基底膜で構成されている。表皮は表皮角化細胞やメラニン細胞などが存在する。真皮は線維性結合組織で構成されており、約70%を線維芽細胞から分泌されるコラーゲンが占めている<sup>48,49)</sup>。これらの表皮角化細胞や線維芽細胞において、加温によるHSP70発現と細胞保護作用を示した研究結果が報告されている<sup>50)</sup>。一方、Lehmannら<sup>51)</sup>は、ラット尾部の腱組織を45°Cで温めた結果、温熱刺激によってコラーゲン線維の伸張性が向上することを示唆している。最近の研究によって、コラーゲンの構造を維持したり、産生を促進しているのは同じ熱ショックタンパク質であるHSP47であることが明らかとなっており、温熱刺激によってHSP47が活性化したことも示唆されている<sup>52,53)</sup>。会陰裂傷は児頭の圧迫に伴う皮膚の伸展によって生じることから、このように局所温熱刺激によって皮膚の伸張性が向上することや、細胞を維持している細胞外器質がHSPによって産生促進されることも会陰裂傷の軽減につながる可能性が考えられる。さらにその他の局所温熱効果として、皮膚温上昇によって疼痛閾値が上昇するといった鎮痛効果や、筋血流量増加・筋緊張低下作用などが報告されており<sup>54,55)</sup>、これらの作用によっても会陰裂傷の予防や軽減に繋がるのが考えられる。

現在、分娩時損傷として最も多くみられる会陰裂傷に関して、その予防や治癒効果について明確なメカニズムは特定できていない。しかし、温熱刺激によって発現量が増加する細胞内HSP70は、あらかじめ弱いストレス刺激を加えることによるアダプティブサイトプロテクション現象を期待した温罨法の効果の客観的指標となり得るのではないかと考える。実際に妊娠期や分娩直後、産褥期の細胞内・細胞外HSP70を測定することで、会陰裂傷部位の回復過程と、細胞レベルでの回復過程つまりHSP70値の変化をモニタリングでき、産後の回復過程のメカニズムにHSP70が関与しているかどうかを検証することができるのではないかと考える。

## V. 結論

本研究では、会陰部局所温罨法が血清HSP70値を変化させる結果にはならなかった。つまり、会陰部温罨法の効果として、血清HSP70値をバイオマーカーに用いることが可能であるかを明確に示すには至らなかった。今後は会陰部局所温罨法と白血球中のHSP70の関連を

みていくことで、温罨法と細胞内HSP70の活性化との間の関連を検討することができるのではないかと考える。局所の温罨法部位にどのような影響を及ぼすのか、生体反応や皮膚・細胞レベルでの効果についてはほとんど明らかになっていない。温熱刺激によって活性化される細胞内HSP70の存在を検討することは、ケアの中で行われる温罨法のメカニズムの解明に役立つのではないかと考える。

## 引用文献

- 1) 小林隆夫：分娩時母体損傷。日本産科婦人科学会雑誌, 60 (4) : 65-72, 2008.
- 2) 大野明子, 本田真実：【会陰保護技術を習得しよう】妊娠中の妊婦の指導。ペリネイタルケア, 22 (4) : 288-291, 2003.
- 3) 芳中シゲ子：【会陰保護技術を習得しよう】私の施設での初めての会陰保護の実際。ペリネイタルケア, 22 (4) : 313-318, 2003.
- 4) 大久保功子, 三橋恭子, 斎藤京子：会陰部の損傷による産後の日常生活への支障－会陰裂傷対会陰切開－。日本助産学会誌, 14 : 35-44, 2000.
- 5) Beckmann MM, Garrett AJ: Antenatal perineal massage for reducing perineal trauma. Cochrane Database of Systematic Reviews 2006, Issue 1. Art. No.: CD005123. DOI: 10.1002/14651858.CD005123.pub2.
- 6) Aasheim V, Nilsen ABV, Lukasse M, Reinar LM: Perineal techniques during the second stage of labour for reducing perineal trauma. Cochrane Database of Systematic Reviews 2011, Issue 12. Art. No.: CD006672. DOI: 10.1002/14651858.CD006672.pub2.
- 7) Lehmann JF, Masock AJ, Warren CG, Koblanski JN: Effect of therapeutic temperatures on tendon extensibility. Archives of Physical Medicine and Rehabilitation, 51: 481-487, 1970.
- 8) 仲村匡平, 村田伸, 村田潤, 古後晴基, 松尾奈々：ホットパックの湿熱法と乾熱法との違いが筋血流量に及ぼす効果。ヘルスフプロモーション理学療法研究, 2 : 23-26, 2012.
- 9) 古後晴基, 村田伸, 村田潤, 仲村匡平：ホットパックの乾熱法と湿熱法の違いが筋硬度に及ぼす効果。理学療法科学, 25 : 631-634, 2010.
- 10) 柴山知子, 江藤宏美：分娩時に会陰部に温罨法を行うことによる会陰裂傷の低減の効果。日本助産学会誌, 29 : 267-276, 2015.
- 11) Pasrell DA, Lindquist S: The function of heat-shock proteins in stress tolerance: Degradation and reactivation of damaged proteins. The Annual Review of Genetics, 27: 437-496, 1993.



- 12) Hartl FU, Hartl MH: Molecular chaperones in the cytosol: From nascent chain to folded protein. *Science*, 295: 1852-1858, 2002.
- 13) Ohtsuka K, Suzuki T: Roles of molecular chaperones in the nervous system, *Brain Research Bulletin*, 53 (2): 141-146, 2000.
- 14) 増田正之, 田中昌子: HSP70ファミリーの新たな機能. *日本薬理学雑誌*, 143: 310-312, 2014.
- 15) Oehler R, Pusch E, Zellner M, Dungal P, Hergovics N, Homoncik M, Eliassen MM et al.: Cell type-specific variations in the induction of hsp70 in human leukocytes by feverlike whole body hyperthermia. *Cell Stress & Chaperones*, 6: 306-315, 2001.
- 16) Muralidharan S, Ambade A, Fulham MA, Deshpande J, Catalano D, Mandrekar P: Moderate alcohol induces stress proteins HSF1 and hsp70 and inhibits proinflammatory cytokines resulting in endotoxin tolerance. *The Journal of Immunology*, 193: 1975-1987, 1987.
- 17) Levinson W, Oppermann H, Jackson J: Transition series metals and sulfhydryl reagents induce the synthesis of four proteins in eukaryotic cells, *Biochimica et Biophysica Acta*, 606: 170-180, 1980.
- 18) Genth-Zotz S, Bolger AP, Kalra PR, von Hachling S, Doehner W, Coats AJS, Volk HD, Anker SD: Heat shock protein 70 in patients with chronic heart failure: Relation to disease severity and survival. *International Journal of Cardiology*, 96: 397-401, 2004.
- 19) Rokutan K, Hirakawa T, Teshima S, Nakano Y, Miyoshi M, Kawai T, Konda E et al.: Implications of heat shock/stress proteins for medicine and disease. *The Journal of Medical Investigation*, 44: 137-147, 1998.
- 20) 畑山巧, 山岸伸行, 齊藤洋平: HSP105ファミリータンパク質の構造と機能. *生化学*, 84 (4): 249-260, 2012.
- 21) 養田清次: 熱ショック蛋白の臨床. *炎症*, 14: 9-19, 1994.
- 22) Robert A, Nezamis JE, Lancaster C, Davis JP, Field SO, Hanchar AJ: Mild irritants prevent gastric necrosis through "adaptive cytoprotection" mediated by prostaglandins. *American Journal of Physiology*, 245: 113-121, 1983.
- 23) 伊藤要子, 一本木真也, 中野雅則, 倉部輝久, 風岡宜暁, 石口恒男: マウス局所および全身予備加温による生体防御効果-口腔局所予備加温による舌熱傷の防御と全身予備加温による放射線障害の防御-. *日本医学放射線学会雑誌*, 65: 255-262, 2005.
- 24) 渡部由香, 吉川紗智, 片岡英樹, 片岡紀香, 坂本淳哉, 中野治郎, 沖田実: 温熱負荷方法の違いがラットヒラメ筋の廃用性筋萎縮の進行抑制におよぼす影響, 温水浴と電気熱プレートの比較. *理学療法学*, 33: 355-362, 2006.
- 25) 田野中浩一, 都賀雅香, 竹尾聰: 心不全時のHsp70の誘導. *日本薬理学雑誌*, 123: 71-76, 2004.
- 26) Tonomura H, Takahashi KA, Mazda O, Arai Y, Shin-Ya M, Inoue A, Honjo K, et al.: Effects of heat stimulation via microwave applicator on cartilage matrix gene and HSP70 expression in the rabbit knee joint. *Journal of Orthopaedic Research*, 26: 34-4, 2008.
- 27) 田中郁夫: 熱傷創の局所におけるHSP27およびHSP70の発現と分布-ラット表皮において-. *埼玉医科大学雑誌*, 28 (2): 25-32, 2001.
- 28) 伊藤要子, 田澤賢次, 和田重人, 古谷由香里, 八塚美樹, 安田智美, 吉井美穂: 遠赤外線温熱治療によるリンパ球におけるHSP70の誘導. *日本ハイパーサーミア学会誌*, 21: 209-220, 2005.
- 29) Shastry S, Toft DO, Joyner MJ: HSP70 and HSP90 expression in leucocytes after exercise in moderately trained humans. *Acta Physiol Scand*, 175: 139-146, 2002.
- 30) 伊藤要子: 加温生活「ヒートショックプロテイン」があなたを健康にする, *マガジンハウス*, 東京, 96, 2010.
- 31) Touchberry C, Le T, Richmond S, Prewitt M, Beck D, Carr D, Vardiman P, Gallagher P: Diathermy treatment increases heat shock protein expression in female, but not male skeletal muscle. *The European Journal of Applied Physiology*, 102: 319-323, 2008.
- 32) 國保昌紀: 熱傷症例血清中の熱ショック蛋白70に対する抗体の検出. *日本救急医学会雑誌*, 10: 279-90, 1999.
- 33) 石本強, 佐藤和人, 野間口博子, 柏崎禎夫: 慢性関節リウマチ患者における熱ショック蛋白. *Japanese Journal of Inflammation*, 13: 553-559, 1993.
- 34) Welch WJ, Suhan JP: Cellular and biochemical events in mammalian cells during and after recovery from physiological stress, *Journal of Cell Biology*, 103: 2035-2052, 1986.
- 35) Pelham HR: Hsp70 accelerates the recovery of nucleolar morphology after heat shock. *The EMBO Journal*, 3: 3095-3100, 1984.
- 36) Kose S, Furuta M, Imamoto N: Hikeshi, a nuclear import carrier for Hsp70s, protects cells from heat shock-induced nuclear damage. *Cell*, 149 (3): 578-89, 2012.



- 37) 曾我実, 川島大介, 竹内理香, 大塚健三: 分子シャペロンのタンパク質品質管理機能と老化・寿命. 生物機能開発研究所紀要, 10: 47-55, 2010.
- 38) Otani S, Otaka M, Jin M, Okuyama A, Itoh S, Iwabuchi A, Sasahara H, et al.: Effect of preinduction of heat shock proteins on acetic acid-induced colitis in rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 42: 833-846, 1997.
- 39) Krause M, Heck G, Bittencourt A, Scorzano PS, Newsholme P, Curi R, Bittencourt PH Jr.: The chaperone balance hypothesis: The importance of the extracellular to intracellular HSP70 ratio to inflammation-driven type 2 diabetes, the effect of exercise, and the implications for clinical management. *Mediators of Inflammation*, 2015: 249205, 2015. doi.org/10.1155/2015/249205
- 40) 伊藤要子: ヒートショックプロテイン (HSP70) の魅力. 日本温泉気候物理医学会誌, 77: 222-226, 2014.
- 41) Calderwood SK, Mambula SS, Gray PJ Jr., Theriault JR: Extracellular heat shock proteins in cell signaling. *FEBS Letters*, 581: 3689-3694, 2007.
- 42) Fukushima A, Kawahara H, Isurugi C, Syoji T, Oyama R, Sugiyama T, Horiuchi S: Changes in serum levels of heat shock protein 70 in preterm delivery and pre-eclampsia. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 31: 72-77, 2005.
- 43) Molvarec A, Prohászka Z, Nagy B, Szalay J, Füst G, Karádi I, Rigó J Jr.: Association of elevated serum heat-shock protein 70 concentration with transient hypertension of pregnancy, preeclampsia and superimposed preeclampsia: A case-control study. *Journal of Human Hypertension*, 20: 780-786, 2006.
- 44) Molvarec A, Walentin SS, Beko G, Karádi I, Prohászka Z, Rigó J Jr: Serum heat shock protein 70 levels in relation to circulating cytokines, chemokines, adhesion molecules and angiogenic factors in women with preeclampsia. *Clinica Chimica Acta*, 1957-1962, 2011.
- 45) Molvarec A, Tamási L, Losonczy G, Madách K, Prohászka Z, Rigó J Jr: Circulating heat shock protein 70 (HSPA1A) in normal and pathological pregnancies. *Cell Stress and Chaperones*, 15: 237-247, 2010.
- 46) Madách K, Molvarec A, Rigó J Jr, Nagy B, Péntes I, Karádi I, Prohászka Z: Elevated serum 70 kDa heat shock protein level reflects tissue damage and disease severity in the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count. *European Journal of Obstetrics and Gynecology*, 139: 133-138, 2009.
- 47) Molvarec A, Rigó J Jr, Nagy B, Walentin S, Szalay J, Füst G, Karádi I, Prohászka Z: Serum heat shock protein 70 levels are decreased in normal human pregnancy. *Journal of Reproductive Immunology*, 74: 163-169, 2007. doi: 10.1016/j.jri.2006.12.002.
- 48) 清水宏: あたらしい皮膚科学, 中山書店, 東京, 2011, 2: 13-17.
- 49) 水野博司: 皮膚の構造の変化からみた外傷創の分類と治療概念. アトラス形成外科手術手技, 百束比古編, 中外医学社, 東京, 2011, 2-5.
- 50) 西田昌司, 野出絵里: 温熱負荷による日光老化の予防-熱ショック蛋白質 (HSP70) は, 皮膚繊維芽細胞の過酸化水素障害を軽減するか-. 神戸女学院大学論集, 62: 63-73, 2015.
- 51) Lehmann JF, Masock AJ, Warren CG, Koblanski JN: Effect of therapeutic temperatures on tendon extensibility. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 51: 481-487, 1970.
- 52) Verrico AK, Moore JV: Expression of the collagen-related heat shock protein HSP47 in fibroblasts treated with hyperthermia or photodynamic therapy. *British Journal of Cancer*, 76: 719-724, 1997.
- 53) 櫻井裕子, 奥山典子, 玉村清治, 小澤亮, 伊東博司, 山崎章: ラット上皮組織におけるコラーゲン特異的ストレスタンパク質Hsp47の発現. 奥羽大歯学誌, 34 (4), 131-136, 2007.
- 54) 仲村匡平, 村田伸, 村田潤, 古後晴基, 松尾奈々: ホットパットの湿熱法と乾熱法との違いが筋血流量に及ぼす効果. ヘルスプロモーション理学療法研究, 2: 23-26, 2012.
- 55) 古後晴基, 村田伸, 村田潤, 仲村匡平: ホットパットの乾熱法と湿熱法の違いが筋硬度に及ぼす効果. 理学療法科学, 25: 631-634, 2010. HEALTH, 52: 185-187, 2015.

# Pilot study for prevention of perineal laceration: Changes of HSP70 in serum among healthy women by the use of a perineal hot compress

Yoriko KOTOKU<sup>1</sup>, Hiromi ETO<sup>2</sup>

1 Nagasaki University, Institute of Biomedical Sciences (Former Yaeyama Hospital)

2 Nagasaki University, Institute of Biomedical Sciences

Received 12 October 2021

Accepted 28 December 2021

## Abstract

**Objective:** Perineal laceration is a frequent occurrence in vaginal deliveries, and it has been shown that the perineal warming methods are effective as a preventive method. In this study, we focused on heat shock protein (HSP) which promotes the prevention of cell damage and a decreased chance of perineal laceration. The purpose of this study was to examine whether the levels of HSP70 in serum in healthy female participants change upon the use of a perineal warm compress method and to verify whether HSP70 can be used as a biomarker to indicate the effectiveness of a perineal warm compress.

**Methods:** This study used a pre-post design with a group of participants who received no intervention for a period of time before receiving intervention for a perineal laceration. The participants were 10 healthy women aged 20-39 years. The study period was 22 days; the first 6 days was the non-intervention period, and the baseline of the levels of HSP70 in serum was measured on day 1 and day 6. After the first 6 days, there was the intervention period. The levels of HSP70 in serum were measured on day 7 and day 16 after the start of the intervention. A hot compress method uses a steam thermal sheet at a maximum temperature of 40°C; this is applied for 40 min at one time, every 3 days for a total of 6 times.

**Results:** The levels of HSP70 in serum were not significantly different between day 1 and day 6 of the non-intervention period ( $p = 0.24$ ). There was no significant difference in the levels of HSP70 in serum between day 6 of the non-intervention period and on day 7 and day 16 of the intervention period ( $p = 0.37$ ,  $p = 0.07$ , respectively).

**Conclusions:** There was no significant fluctuation in serum HSP70 levels before and after the use of a perineal hot compress method. It is possible that HSP70 was not reflected in the serum as a result of the use of the perineal hot compress method. Currently, little is known about how a localized hot compress method affects the perineal at a cellular level. Evaluating the association of HSP70 as a factor should be useful for clarifying the mechanism of a thermal method applied for perineal care during birth.

Health Science Research 35 : 01-10, 2022

**Key words** : perineal laceration, Heat Shock Protein, HSP70, hot compress method