

氏 名： 松本 尚子

学位の種類：博士（看護学）

学位記番号：第3号

学位授与年月日：平成24年3月20日

学位授与の要件：学位規則第15条第1項該当

論文題目：褥瘡創面におけるフィブロネクチン分解産物の解析による褥瘡治癒過程の判断指標の開発

学位審査委員：主査 米田 雅彦 教授

副査 小松万喜子 教授

副査 古田加代子 准教授

副査 鎌倉やよい 教授

副査 越川 卓 教授

## 論文内容の要旨

### 【背景】

わが国における65歳以上の高齢者人口は、2009年で、高齢化率は22.3%となった。要介護4および5の介護認定者は2011年で124.8万人にのぼり今後も増加すると予測されている。現在の褥瘡発症年齢は75歳以上の高齢者が多く、深達度分類Ⅲ～Ⅳ度が約半数を占め重症化した褥瘡が多いのが特徴である。高齢社会を迎えて、褥瘡は医療機関や介護施設、在宅などで遭遇する機会の多い疾患であり、褥瘡ケアの質向上は患者の苦痛の予防及び緩和、QOL改善において重要である。褥瘡に関する施策として、2002年の厚生労働省による診療報酬改定で褥瘡対策未実施減算が新設され、2006年には褥瘡ハイリスク患者ケア加算と褥瘡管理者制度が策定され、医師や看護師をはじめとする医療従事者が褥瘡を管理することが強く求められている。

最近では、Wound bed preparation（創面環境調整）の概念をもとに、褥瘡創面を創傷治癒の観点からとらえ管理することが必要であると言われている。この創傷治癒過程の中で重要な役割を果たしている成分の中に細胞外マトリックス（ECM）がある。代表的なものに、フィブロネクチン（fibronectin、以下FN）、コラーゲン（collagen）、ヒアルロン酸（hyaluronan）などがある。また、ECMの損傷線維の分解処理を担う酵素としてマトリックスメタロプロテアーゼ（matrix metalloprotease、以下MMP）が知られている。研究者はこのECMに注目し、褥瘡創面とECMの関係について分析を行ってきた。これまでの分析結果から、対象によるECM分解程度の違いから褥瘡創面の状態が多様であることを明らかにした。褥瘡は、基本的な創傷治癒過程の段階を経ずに治癒が遅延し慢性化していることもあり、どの段階で治癒が遅延しているのか、肉芽形成が障害なく進行してい

るのかを明確にすることは難しい状況にある。

現在、褥瘡の創表面を評価するツールとして褥瘡スケール表がある。代表的なものに PSST、PUSH、PUHP、日本褥瘡学会が作成した DESIGN-R がある。しかし、褥瘡スケール表には判断が難しい項目（炎症・感染の判断、良性肉芽組織の識別、肉芽組織の状態など）があり、多様な治癒過程にある褥瘡創面を正確にアセスメントするには課題が多い。また、これらのスケールの観察項目には相違があり、観察項目が一般化されているとはいえない。すなわち、使用するアセスメントツールや使用者の知識・経験によって褥瘡創面の状態の判定に違いが生じる可能性があり、このことが看護ケア内容の選択に影響を与えているのではないかと考える。

そこで、褥瘡創面の滲出液の ECM タンパク質分析を詳細に行い、褥瘡創面の状態を生化学的にとらえ、その結果を褥瘡創面の肉眼的観察結果と照合して分析することにより、褥瘡創面の治癒段階を正確に判断する材料につながれたらと考えた。今回の研究では、創部の上皮化や細胞移動に関与すると言われている FN に焦点を当て分析を行う。FN に関する先行研究は、動物や患者の皮膚組織を用いて検討されているが、これらの潰瘍は急性潰瘍であり、慢性潰瘍の 1 つである褥瘡の創傷治癒過程について ECM の構築状況を明らかにしたものは少ない。さらに、慢性皮膚潰瘍は MMP3 が治癒遅延を引き起こしている可能性が報告されているり、褥瘡の治癒過程に MMP3 が影響を及ぼしていることが考えられる。しかし、褥瘡創面と MMP3 の関係を明らかにした研究はみあたらなかった。以上のことから、本研究では、創傷治癒過程において FN と MMP3 に焦点を当て分析を行いたいと考えた。FN と MMP3 の存在が明らかになれば、褥瘡創面の状態と FN の分解状況から、治癒過程の上皮化時期に影響を及ぼしている可能性や、過剰な MMP3 による治癒遅延など治癒過程に支障をきたす状態であるかの推測をすることができる。さらに、結果から褥瘡創面を評価するアセスメントの材料として活用可能か検討し、客観的な視点から褥瘡創面をアセスメントし褥瘡創面の状態に合った看護ケアの選択につなげることができるのではないかと考える。

#### 【研究方法】

1. 研究デザイン：実験研究的手法を用いた関係探索研究
2. 研究対象：褥瘡創面に使用されていたガーゼに付着した分泌物。
3. 方法
  - 1) データ収集
    - ①サンプル回収：褥瘡創面を被覆していたガーゼを経時的に回収した。
    - ②褥瘡創面の客観的観察データの収集：ガーゼ採取時に、作成したデータシートにそって、褥瘡創面の発生部位、創面の状態（大きさ、深さ、肉芽組織の状態など）の情報を収集した。肉芽組織の状態については研究協力医療機関の皮膚科医の助言を得た。
    - ③看護ケア内容の収集：対象者に実施された看護ケア（体位変換、ギャッジアップの角度、創部周囲の洗浄など）について、作成したデータシートおよび看護ケアチェック表に基づ

き情報を収集した。

## 2) 分析方法

①試料の抽出: 褥瘡創面に使用されていたガーゼを創部の大きさに合わせてカットし、PBS 溶液を注ぎ、4℃で約 17 時間静置した後、遠心機で上清液と沈殿物に分離し試料とした。

②タンパク質の検出: ウェスタンブロット法を用いて FN 分子を検出した。使用抗体は、FN の各ドメインを認識する 4 つの抗体を用いた。

③MMP3 濃度測定: 酵素免疫測定法 (ELISA 法) を用いて MMP3 濃度を測定した。

## 3) 褥瘡創面、治癒過程時期の関連についての検討:

①FN 断片の視覚化: 2) ②の分析結果をもとに、抗 FN 抗体検出の検出状態を視覚的に把握するため模式図化した。

②類似するものに分類: 3) ①で得られた FN の模式図化の結果をパターンが類似するものに分類した。

③分類後、永井らが提唱している記載潰瘍学に沿って褥瘡創面の状態、治癒過程の時期を検討した。さらに、MMP3 濃度との関連についても検討した。

## 4) 看護ケア内容の関連について検討:

3) ②、③の結果を基に、褥瘡創面の状態と治癒過程の時期に対する看護ケア内容について検討した。

## 5) 倫理的配慮:

研究計画書を本大学研究倫理審査委員会 (22 愛県大管理第 2-16 号) と研究協力施設の倫理審査委員会の承認を得て実施した。

## 【結果】

### 1. 対象者の特性

分析対象者は 25 名。年齢は平均  $77.7 \pm 8.5$  歳。対象者 25 名のうち、8 名は 2 つ以上の褥瘡を併発しており、褥瘡の総数は 35 創であった。NPUP 分類では、ステージⅢが 25 創、ステージⅣが 10 創であった。

### 2. ウェスタンブロット法による FN 分子の検出結果

回収したガーゼは、褥瘡の大きさに合わせて分割し、褥瘡の創縁部にあたる箇所を 1 箇所 に絞り分析を行ったことから、111 サンプルの分析結果を得た。結果、褥瘡創面の状態や治癒過程に沿って抗 FN 抗体の分解程度に違いがあった。

### 3. 抗 FN 抗体の検出結果の模式図化と項目分け

各抗 FN 抗体で検出した結果が、FN 分子がどのような形で存在しているのか視覚的に明らかにする目的で模式図化した後、類似するものに分類し、9 つに分類することができた。9 分類した内容を褥瘡創面の肉芽組織の特徴を記載潰瘍学の項目に沿って検討した。9 分類を褥瘡創面の肉芽組織の特徴から項目 Ia~Id (治癒良好群)、項目 IIa~II d (治癒遅延群) に分類することができた。

### 4. 酵素免疫測定法による MMP3 濃度の分析

分析対象となったサンプル数は 98 サンプルであった。結果、MMP3 が治癒経過に沿って変化し、治癒とともに減少傾向にあった。また、記載潰瘍学で示す 26 項目との関連を確認し、独立サンプルの平均値の差の検定 (T 検定) により検討した結果、「浮腫状」に有意差を認め「浮腫状あり」が「浮腫状なし」に比較し有意に MMP3 濃度が低かった。

#### 5. FN、MMP3 値と褥瘡創面との関連についての検討

FN の模式図化と MMP3 濃度を褥瘡創面の状態と合わせて検討したが、関連は見出せなかった。

#### 6. FN の分析結果と褥瘡創面の状態と看護ケアの関係について

看護ケア内容の情報を収集できた対象者は 10 名であった。対象者に実施されていた看護ケア (体位変換、ギャッジベッドの背上げ、入浴、陰部洗浄、マットレスの選択) は、対象者に共通して実施されていた。また、看護ケア内容は、褥瘡創面の状態に関係なく、初回のガーゼ回収時期から退院または最終ガーゼ回収まで一貫して実施される傾向にあった。

#### 【考察】

FN 項目 I a～I c の検出は、FN の C 末端ドメイン～細胞接着ドメイン 1 が褥瘡創面に浮遊し、N 末ドメイン～細胞ドメイン 1 が組織の取り込まれている状態で、コラーゲンやプロテオグリカンといった他の ECM と結合し、組織の構築時期と考えられる。つまり、項目 I a～I d は、良好な肉芽組織の状態では治癒経過は構築期または上皮化時期であると考えられる。項目 II d は、N 末端ドメイン～C 末端ドメインが検出されていた。これは、FN が組織に取り込まれにくい状態を示しており、組織の構築に働きかけることができず、治癒遅延の可能性が考えられる。よって、FN 項目 I a～I c が検出された時は、肉芽組織の状態が良好で治癒経過は構築期または上皮時期と予測できるため、褥瘡創面の状態と合わせて治癒過程時期を判断し、患者の褥瘡創面に応じた看護ケア、例えば圧迫よりもずれに対する影響を優先に考えることや体位変換の回数を減らすことなどに結びつけることができる。また、項目 II d が検出された時は、治癒遅延の可能性が高いため、看護ケアを検討するだけでなく、医師や薬剤師などの専門領域の医療者と協議し検討していく必要があると考える。

良好な肉芽組織であっても褥瘡が治癒遅延していることや、偽膜などの炎症症状があっても治癒経過がよいことなどを肉眼的に観察し把握することは非常に困難である。FN 項目 I a～II d を用いることで、褥瘡創面の状態と治癒段階を把握し正確に判断する材料となり、看護ケアの選択につなげることができることが示唆された。

### 論文審査結果の要旨

#### 【審査経過】

予備審査合格の承認を得た松本氏の研究題目に対して、1 月 30 日に博士学位

請求論文を審査委員会は受理し、各委員は精読の上、愛知県立大学大学院看護学研究科学位審査規程第 13 条および愛知県立大学大学院看護学研究科博士後期課程の学位に関する内規 14 条と 16 条に基づき論文審査を行った。副論文として「ヒト培養組織における加圧が細胞外マトリックスに及ぼす影響-褥瘡発生時の体圧との関連」日本看護科学会誌（2009）29 巻 3 号 3-12 と「褥瘡創面における細胞外マトリックス分解産物の解析」日本看護科学会誌（2009）29 巻 3 号 13-23 の 2 報を確認した。その後、愛知県立大学大学院看護学研究科博士後期課程の学位に関する内規 17 条に基づき口頭発表および口述試験の最終試験を公開で 2 月 29 日に約 1 時間行った。論文審査および最終試験の結果を持って 2 月 29 日に博士(看護学)学位を授与するに適格かどうかの判定を行った。

#### 【結果の要旨】

病院での褥瘡発症は予防を中心とした看護ケアにより減少傾向にあるが、高齢化が進む中で介護施設及び在宅での褥瘡発症は増加傾向にあり、重症化して病院に入院するケースもある。褥瘡が発生した場合には、創面の的確な判断がケアや入院時のアセスメントに必要かつ重要となるが、現在、主に使用されている創面の評価ツールが判断の難しい多くの項目を含むため正確に運用されているとは言い難いところがある。論文提出者は褥瘡創面の適格な判断を行うために、浸出液のフィブロネクチン分子の分析に注目した。細胞外マトリックス構成成分であるフィブロネクチンは細胞接着、細胞移動に関与しているが、褥瘡治癒には線維芽細胞増殖による肉芽組織の形成とその後の上皮化が重要であると判断したことによる。組織構築でのフィブロネクチンの重要性は認識されているが、褥瘡の浸出液中のフィブロネクチンを経時的・局所的に分析した研究は今までに無く、新規性および独創的な視点であり、研究目的に対して適切な研究方法であると審査委員会では判断した。また、炎症および組織の再生は分解と生合成であることから、フィブロネクチンの断片化の分析も重要と考え、細胞外分解酵素のひとつである MMP-3 の量的変化も研究対象とし、フィブロネクチンの分解物を対象としたところは独創性があり評価に値する。さらに対象者に対するその間の看護ケアの内容を記録して、フィブロネクチンおよび MMP-3 との関係性を明らかにして、看護ケアのアセスメントにつながる基礎的なデータ収集を行ったことは、発展的ではあるが看護学領域の研究としての価値を持つと判断した。

研究結果として、褥瘡創面滲出液中のフィブロネクチンが多様なサイズの断片に分解されていることを明確にし、その断片の分類に 4 種類のモノクローナル抗体を使用した。使用できる 4 種類の市販のモノクローナル抗体については 20 種類近い抗体の適正を調べることから選択された。その際の膨大なデータ処理の実験的な努力は価値あるものと判断した。500 枚近いイムノブロット

を詳細に解析し、抗体が反応した断片を9つのグループに分類し、そのグループの肉芽組織の特徴を群馬大学の永井博士らが提唱している記載潰瘍学（日本褥瘡学会誌、2009）の項目に基づいて、治癒過程の良好な順の Ia~Id、治癒遅延の IIa~IIId の8つに分類することに成功した。これらのデータ分析については論理的に処理されていた。褥瘡は、良好な肉芽組織であっても治癒が遅延していることや、偽膜など炎症症状があっても治癒経過がよいことなど肉眼的に把握することが非常に困難である。作成された分類の有効性については、Ia~IIId の指標を用いることで、褥瘡創面の状態と治癒段階を正確にとらえられることが示されたことから、褥瘡の予後予測に利用できる可能性が高いと判断された。ただ、その看護ケアへの利用についてはさらなる検討が必要などところがあるが、これは今後の論文提出者のさらなる研究にゆだねるべきだと判断し、逆に発展性のある研究結果と考え、現時点での研究段階としては完成度が高く、博士論文として認められるものと判断した。

またフィブロネクチンの細胞外での分解に関わると考えられた MMP-3 については、論文提出者の研究では関係性がないことが示唆された。フィブロネクチンの分解による断片化は褥瘡の状態を把握する上で重要であることが論文では示されたが、その分解に関与する MMP 系の酵素は別のものであることを自ら明確にした点は評価に値するものである。ただし、創面の状態としては浮腫との関係性を導き出しており、切り離して考えるなら浮腫という特異的な褥瘡の状態を判断できる指標の獲得につながっており、さらなる今後の発展が期待できるものと考えられた。

最後の章で、得られた結果と看護ケアの内容を照らし合わせ、看護ケアへの利用を模索しているが、調査された範囲では、創面とは比較的無関係に予防的な処置が看護ケアとして行われており、明確な示唆には至らなかった。しかし、研究で得られたフィブロネクチン断片化の分類に基づく介入はいろいろ考えられるため、論文提出者の今後の研究に期待するところが多大であり、そのための基礎的データとして適切と審査委員会は判断し、将来的な発展性を期待した。また、提出された論文は、背景、結果および考察において、論旨に一貫性があり、形式も適切であると判断した。

最終試験の口述試験については、発表は工夫されて分かりやすく、質問に対して真摯な態度で答えており、研究の全体像についても十分な理解を確認することが出来た。また、今後の研究についても妥当なものであり、看護研究として発展性も含めて期待できるものであった。

本学位審査委員会は、提出された学位請求論文が博士の学位を授与されるに値するものであり、かつ最終試験の結果から論文提出者の松本氏が褥瘡に関する看護専門領域において十分な学識と研究者としての能力を有するものである

と確認したので、博士（看護学）学位を授与するに適格であると全員一致で判断した。