

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：24102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012～2013

課題番号：24890192

研究課題名(和文)褥瘡創面におけるフィブロネクチン分解産物による褥瘡治癒過程の判断指標の開発

研究課題名(英文)Development of an index for evaluating the pressure ulcer healing process via fibronectin degradation products in the pressure ulcer wound surface

研究代表者

松本 尚子(matsumoto, hisako)

三重県立看護大学・看護学部・講師

研究者番号：40454376

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円、(間接経費) 600,000円

研究成果の概要(和文)：褥瘡は多様な病態を呈するが客観的に判断する材料に乏しい。創傷治癒過程において細胞外マトリックス(ECM)は重要な要因となる。ECMの1つであるフィブロネクチン(FN)に焦点をあて、褥瘡創面の分析を行った。その結果、肉芽組織の状態が良好な場合、FNのN末領域の断片は減少し、創面が乾燥傾向の場合、N末領域の断片の量に変動しない傾向にあることが考えられた。このことは、FNが褥瘡の治癒過程に影響を及ぼしている可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：The diversity of pressure ulcers makes it difficult to determine what stage they are at during the healing process. In this study, protein was extracted from gauze that had been applied to the wound surface of pressure ulcers, and the analysis was focused on fibronectin (FN) molecules, which play an important role in the wound-healing process. Results indicated that, when granulation tissue is in a favorable state, FN and N-terminal domain segments decrease, and when the wound surface has a tendency to dry, the amount of N-terminal domain segments does not have a tendency to be affected. This suggested that FN may affect the healing process of pressure ulcers.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎看護学

キーワード：褥瘡 フィブロネクチン 創傷治癒過程

科学研究費助成事業 研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

褥瘡の特徴として、創縁部が浮腫をきたしているものや、良性肉芽組織と不良肉芽が混在しているものなど創面が均一な状態ではなく、多様性に富んでいる。このため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があり、治癒過程がどの段階で遅延しているのか、肉芽形成が障害なく進行しているのか明確にすることは難しい状況である。創傷治癒の過程として、血小板凝集を基盤とした止血機序から始まり、好中球、マクロファージなどの炎症細胞による炎症反応が起こる。次に、細胞が増殖・移動しやすいように細胞外マトリックス (Extra Cellular Matrix、以下 ECM) が産生亢進、蓄積され再構築が始まる。この一連の過程の中で ECM は重要な役割をしている 1)。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。申請者は、この ECM に注目し、継続して褥瘡創面との関係について分析を行っており、これまでの分析結果から、対象による分解程度の違いと褥瘡創面の各部位による分解程度の違いがあり、褥瘡創面の状態が多様であることを明らかにしている 2)。

現在、褥瘡に対して臨床の多くは褥瘡スケール表を用いて褥瘡の創面の状態をアセスメントし看護ケアにつなげている。代表的なものに日本褥瘡学会が作成した DESIGN - R がある。褥瘡スケールの項目には、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、多様性に富む褥瘡を正確にアセスメントするには課題が多い。また、アセスメントツールに用いられるスケールの観察項目は一般化されていない。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。

今回の研究では、ECM の中でも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、動物に潰瘍を形成し損傷を受けた皮膚組織と創傷治癒過程の関係について検討しているもの 3) や皮膚疾患患者の皮膚組織を用いて FN が創傷治癒に関係していることについて検討されている 4)。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視点を置き ECM の構築状況を明らかにしたものは少ない。褥瘡創面の FN 状態が、創傷治癒過程の状態や褥瘡創面の状態に関係していることが明らかになれば、看護師が褥瘡の創面をアセスメントする際、治癒過程のどの段階にあるのかを推測す

ることにつながるのではないかと考えた。

(参考文献)

- 1) Schultz GS, Sibbald RG, Falanga V, et al. (2003): Wound Repair Regen, 11 (1), S1-28.
- 2) 松本尚子, 大島弓子, 米田雅彦 (2009): 褥瘡創面における細胞外マトリックス分解産物の解析, 日本看護科学学会誌, 29(3), 13-23.
- 3) Tominaga K., Higuchi K., Watanabe T., et al. (2001): Expression of gene for EIIIA and EIIIB fibronectin, fetal types of fibronectin, during gastric ulcer healing in rats, Digestive Diseases and Sciences, 46(2), 311-317.
- 4) Panfilis G., Ghidini A., Graifemberghi S., et al. (2000): Dexamethasone-induced healing of chronic leg ulcers in a patient with defective organization of the extracellular matrix of fibronectin, British Journal of Dermatology, 142, 166-170.

2. 研究の目的

褥瘡創面に存在する FN の状態を明らかにし、褥瘡創面が治癒過程のどの段階にあるのか明らかにする。さらに、これらの結果を看護師が褥瘡創面の治癒状態を判断する材料として活用可能か検討する。

3. 研究の方法

(1) 研究対象

対象者は 10 名。同意の得られた対象者の褥瘡創面に被覆していたガーゼを回収し、ガーゼに付着した分泌物からタンパク質を抽出し試料とした。

(2) データ収集・データ分析場所

ガーゼの回収及び褥瘡に関する情報は、研究協力の得られた医療機関で収集し、データの分析は、本学の実験室で実施した。

(3) データ収集方法

サンプル回収

申請者が対象者の褥瘡ガーゼ交換時に同席し、使用済みで破棄予定のガーゼを採取した。採取したガーゼは袋に入れ密閉し、サンプルに番号をつけた。

研究者は番号のついたサンプルをドライアイスの入った保冷ボックスに入れ、ボックス内が - 20 度の条件下のもと、密閉し実験室へ運び冷凍保存した。

(4) 褥瘡創面に関するデータ収集

サンプルの採取時に褥瘡創面の状態を観察し、肉芽組織の状態については皮膚科医の所見を得て記載した。褥瘡創面の状態の重症度と治癒経過を数値化し表すために、日本褥瘡学会が作成したツール DESIGN-R を用い、褥瘡創面とガーゼとの関連をみるために写真を撮影した。また、対象者の年齢、性別、発症部位に加え、分析を行う試料に影響を与える可能性のあるタンパク質分解酵素剤・線維芽細胞促進剤の使用の有無について情報

を得た。

(5) 分析方法

ガーゼからのタンパク抽出

回収したガーゼは、創面の状態に応じて分割(6~9分割)して分析を行なった。

分割したガーゼに、PBS 溶液(リン酸緩衝塩溶液)を注ぎ、4 で約 17 時間~18 時間静置しタンパク質を抽出した後、タンパク質が抽出された溶液を遠心機にかけ上清液と沈殿物に分離し、上清液を試料とした。

ウェスタブロット法によるタンパク質の検出

試料に含まれるタンパク質の存在を分析するために SDS-PAGE(ポリアクリルアミド電気泳動法)後、ニトロセルロース膜へ転写し抗 FN 抗体を用いて検出を行った。数種類の抗 FN 抗体から、検出結果を確認し、FN の特性と褥瘡の治癒過程に関与する可能性の高い抗 FN 抗体を 4 種類に絞り決定した。抗体名は、MAB1936(N 末端領域を認識) MAB1935(C 末端領域を認識) MAB1926(cell bind domain を認識) MAB1940(細胞性 FN を認識) である。

褥瘡創面の状態とタンパク質分析結果の検討

褥瘡創面の各部位から得られた試料が、FN の各ドメインのどの部分で分解されているのかを、ウェスタブロット法で得られた結果と合わせて確認した。

分析結果と褥瘡創面の治癒過程を照合し、治癒過程と関連しているかを検討した。検討においては、皮膚科医のスーパーバイズを得た。

治療内容が、FN の分解状況や治癒過程と関連しているか確認し、創傷治癒過程の時期に応じた判断指標に活用可能か検討した。

(6) 倫理的配慮

褥瘡と診断された対象者に、研究の目的、方法について口頭および文書で説明し、同意の得られた方から得られた処置後のガーゼを分析対象とした。個人情報保護のために対象者は ID 管理し、自由意志の尊重等を明確にして、研究協力機関の倫理審査委員会の承認を得た。

4. 研究成果

分析対象者は 10 名(男性 7 名、女性 3 名)であった。平均年齢は 77.2 歳、日常生活自立度は、B1 1 名、C1 6 名、C2 3 名であった(表 1)。褥瘡の発症部位は仙骨部 6 部位、大転子部 4 部位、腸骨部 2 部位の計 12 部位であり、内 2 名は 2 つの褥瘡を発症していた。治療として、タンパク質分解酵素剤・線維芽細胞促

進剤は使用されていなかった。対象者 10 名の抗 FN 抗体の検出結果を示すには紙面の関係上難しいため、ここでは、代表的な検出結果を示した対象者 2 名の結果について報告する。

症例 1 は、初期の頃、炎症反応を示す段階であったが、2 週目移行より肉芽形成され、56 日目には上皮化の段階に移行した。MAB1936(N 末を認識)で検出した結果、37 kDa の断片が検出され治癒経過とともに減少した。MAB1926(cell bind domain を認識)で検出した結果、14 日目移行より約 100kDa の高分子が検出された(図 1)。症例 2 は、肉眼的には肉芽組織が紅色調で良好にみえたが、両大転子ともに褥瘡創面が乾燥傾向で創縁は段差があり治癒が遅延していた。MAB1936 で検出した結果、初回~92 日目まで約 65kDa の断片が検出され、MAB1926 が検出した結果、約 150~250kDa の高分子が検出された(図 2)。

表1 対象者の属性

項目	n=10	
	人	
性別	男	7
	女	3
年齢	平均	77.2
日常生活自立度	B1	1
	C1	6
	C2	3

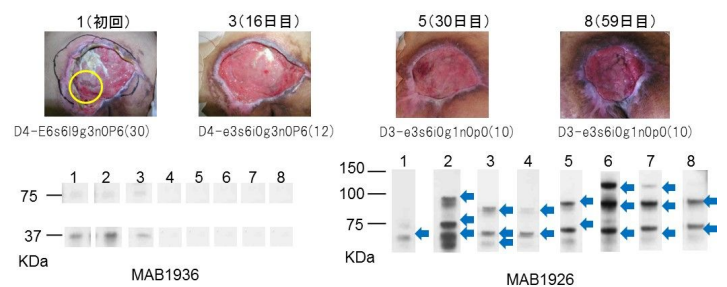


図1 症例1(仙骨部)の検出結果

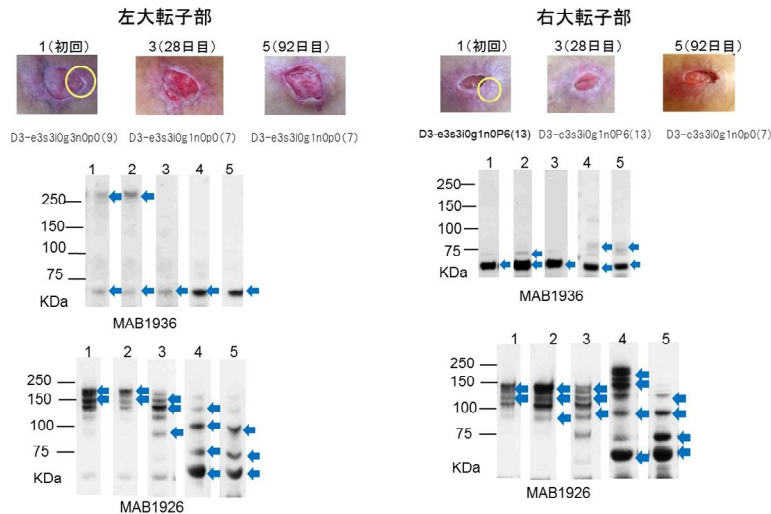


図2 症例2(両大転子部)の検出結果

症例1は、褥瘡創面の初回の肉芽組織と比べて、3週目移行は肉芽組織の状態が良好となり、肉芽形成の段階になるとN末領域の断片は減少傾向にあった。症例2は、褥瘡創面が初回から紅色調で肉眼的には良好な状態に見える状態であったが、乾燥傾向で治癒が遅延している段階であり、N末領域の断片が検出され変動しない傾向にあった。つまり、FNが分解または線維から遊離し、その結果細胞移動などに影響を及ぼしている可能性が考えられた。以上のことから、FNの分解状態によって褥瘡の治癒段階が予測することにつながることを示唆された。このことは、褥瘡の治癒段階が予測できることで、看護ケアを行う際のアセスメントの材料の1つに活用することにつながる可以考虑。しかし、今回は分析対象者数が少ないことから、今後は一般化できるよう分析対象者数を増やし、結果を積み重ねていく必要がある。また、他のECM因子の影響を受けている可能性も考えられることから検討する必要がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

松本尚子、米田雅彦：複数の褥瘡をもつ患者の各創面の状態に合わせた看護ケアの検討、2013年8月22日～23日、秋田県民会館(秋田)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

松本尚子

(MATSUMOTO, Hisako)

研究者番号：40454376

(2)研究分担者 なし

(3)連携研究者 なし