

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 27 日現在

機関番号：33930

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26463216

研究課題名(和文)褥瘡の治癒過程時期を看護師が正確に判断できる指標の同定と臨床的有用性の実証研究

研究課題名(英文) Empirical research on the identification and clinical utility of markers for clinical nurses to accurately assess the period for the healing of pressure ulcers

研究代表者

松本 尚子 (Matsumoto, Hisako)

豊橋創造大学・保健医療学部・准教授

研究者番号：40454376

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：褥瘡スケールの中には判断が難しい項目が含まれており、使用者の知識・経験によって褥瘡状態の判定に違いが生じる可能性があり、看護ケア内容の選択に影響を与える。申請者は、創傷治癒に関与しているフィブロネクチン(FN)に着目し、褥瘡状態を判断できる材料とし継続して分析を行なっている。今回は、褥瘡の治癒過程を特異的に反映する抗FN抗体をデザインし、この抗FN抗体を用いて褥瘡の評価を行なった。結果から、FNが褥瘡の治癒過程に関係していることが明らかになり、褥瘡の治癒過程を判断するマーカーとしての可能性が証明され、看護師が正確に褥瘡の治癒過程を判断できる材料になることの有用性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：There are items in the scale of pressure ulcers that are difficult to assess and there is a possibility for differences to emerge in the assessment of the condition of pressure ulcers depending on the knowledge/experience of users. This affects the choice of the contents of nursing care, which is concerned with healing wounds, and she is continuing to analyze it as evidence that can be used to assess the condition of pressure ulcers. This time, an evaluation of pressure ulcers was carried out using anti-FN antibodies that were designed to specifically reflect the process of healing of pressure ulcers. The results clarified that FN is related to the healing of pressure ulcers, proved its potential as a marker to assess the treatment of pressure ulcers, and indicated its utility as evidence that clinical nurses can use to accurately assess the healing of pressure ulcers.

研究分野：医歯薬学

キーワード：褥瘡 創傷治癒 看護 判断指標

1. 研究開始当初の背景

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、現在の褥瘡発生年齢は75歳以上の高齢者が多く、深達度分類ではステージⅢ～Ⅳと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などで遭遇する機会が多く、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をはじめ、2006年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、専門性のある看護師が褥瘡を評価し、医師をはじめとする医療従事者と連携し褥瘡を管理することが求められていることから、褥瘡の適切な評価に続く管理は、医療機関においても極めて重要で、これにはその評価法の開発は喫緊の研究課題である。

褥瘡の特徴として、創縁部が浮腫をきたしているものや創面が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とがあげられる。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。最近では、Wound bed preparation (創面環境調整) の概念をもとに、重症化した褥瘡を創傷治癒の観点からとらえ褥瘡創面の環境を整えること、褥瘡の湿潤環境を整えることが必要であると言われている。一般的な創傷治癒過程は、止血機序から始まり、炎症反応が起こり次に、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・蓄積され再構築が始まる。新しいECMの重合・架橋とともに損傷繊維の分解処理も行われ、組織の構造上の整備とともに修復に向かう。しかし、褥瘡の場合この一般的な治癒過程を経ずに治癒遅延を引き起こしている場合が多い。創傷治癒過程の中でECMは重要な役割をしており、その代表的なものとしてFNが上げられる。これまでに、急性創傷の治癒過程とFNの関係については、FNの産生に続いて創傷部が治癒していくことが検証されているが、慢性潰瘍の1つである褥瘡の治癒過程とFNの関係については不明な点が多い。

一方、褥瘡創面をアセスメントする際には、様々なスケール表が使用されており、そのうち代表的なものに日本褥瘡学会が作成したDESIGN-Rがあり、臨床で広く使用されている。しかしながら、DESIGN-R中の褥瘡スケールの各種項目の中には、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)が含まれており、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く、さらに、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ることは必至で、その判定の誤りは褥瘡の治癒に大きく影響することから、褥瘡の状態の普遍的判定法の確立は、臨床現場における喫緊の課題である。このような背景の基、申請者は、これまでに代表的なECMの1つであるこのFNに着目し、継続してFNと褥瘡創面との関係について分析を行い、褥瘡悪化と褥瘡創面上のFN分解度が関連すること、さらには創面におけるFNの分解には、マトリックスメタロプロテアーゼの1つであるマトリックスメタロプロテアーゼ3 (Matrix metalloproteinase3、以下MMP3) が関わることを明らかにしている。

2. 研究の目的

本研究では、これまでに得られた結果をさらに発展させ、褥瘡創面の治癒とFNさらにはMMP3活性との関連を明らかにすることにより、これらの褥瘡の治癒過程を判断するマーカーとして可能を証明し、さらには、基礎研究で得られた結果を基に褥瘡の治癒過程を特異的に反映する抗FN抗体をデザインし、この抗体によるFN分解の評価の正確に褥瘡の治癒過程を判断できる方法としての有用性を実証することを目的とする。

3. 研究の方法

<対象>褥瘡と診断され同意の得られた対象者に使用されたガーゼに付着した分泌物。
<方法>採取したガーゼを9領域に分け、各領域に付着した分泌物からタンパク質を抽出し試料とした。抗体作成は、これまでの分析結果から、褥瘡の治癒過程と関係が強いFNのペプチド構造の箇所を推定した(図1)。推定したペプチド構造を基に、抗体作成を会社に依頼した。作成した抗体は2種(抗体FNA、抗体FNB)である。

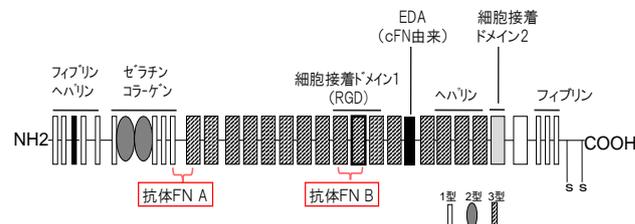


図1 FNの構造と各ドメイン、抗体認識部位

<分析①>抽出した試料をウェスタンブロット法を用いて分析を行い、抗体FNA、Bを用いて抗原抗体反応によりFN存在の確認を行った。

<分析②>MMP-3の存在を確認する目的でMMP-3の濃度は酵素免疫測定法(ELISA)を用い、活性についてはザイモグラフィー法を用いて分析を行った。また、褥瘡の肉芽色調、肉芽の性状などの関連を確認するため、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。

<分析③>褥瘡の肉芽組織の状態、治癒過程

時期の所見は、皮膚科専門医の助言を受け、肉芽組織の状態と治癒過程時期、分析結果が関連しているか検討を行なった。

倫理的配慮

倫理的配慮は、対象者に承諾を得た上でガーゼ、創部の画像をコード化し、一切対象者と結びつくことはないことを明確にし、協力の得られた医療施設の倫理審査委員の承認を得た。

4. 研究成果

分析対象者は6名(男性2名、女性4名)。発症部位は、仙骨2、大転子部6。褥瘡の深さはステージⅢ～Ⅳであった(表1)。

酵素免疫測定法では、褥瘡の肉芽組織の状態が浮腫傾向にあるものにMMP-3濃度が高く検出さ、乾燥傾向にあるものにはMMP-3濃度は低い傾向にあった(表2)。

ザイモグラフィ法ではMMP-3は一部のみに検出され活性は低い傾向にあり、褥瘡の肉芽組織の状態との関係性は低かった。その他MMPsが関与していないか確認するために、MMP-2活性についてザイモグラフィを用いて検討した。その結果、MMP-2の活性が確認され、治癒過程との関係性がMMP-3より高いことが明らかになった(図2, 3, 4, 5)。ウェスタンブロット法の結果から、作成した抗体FNA、抗体FNBは検出可能であることが明らかになった。さらに、抗体FNAは、肉芽組織が良好な時期に高分子の断片が検出されるが、抗体FNBは検出されなかった。褥瘡の治癒過程時期は構築期であった(図6, 7, 8, 9)。紙面の関係上結果の一部を示す。

表1 対象者の属性

No	年齢	性別	発症部位	深さ(NPUAP分類)
1	70後半	男	仙骨	ステージⅢ
2	80後半	女	右大転子	ステージⅣ
			仙骨	ステージⅣ
3	70前半	男	右大転子	ステージⅢ～Ⅳ
			左大転子	ステージⅢ～Ⅳ
4	80前半	女	左大転子	ステージⅢ
5	70前後	女	左大転子	ステージⅢ
6	70前後	女	右大転子	ステージⅢ

表2 浮腫の有無とMMP3濃度の差の検定(T検定)

MMP3(ng/ml)	浮腫状	n	平均値	標準偏差
Albumin 1μg当たり	なし	42	1.67	2.82**
	あり	26	0.58	1.01

**p < .01

症例 NO.1 (仙骨)

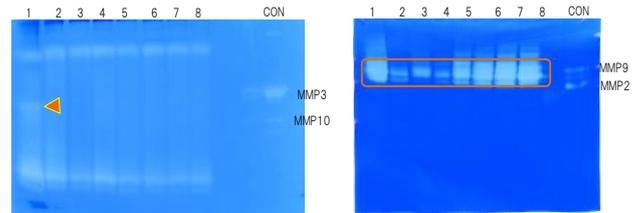


図2 ストロメリンザイモ電気泳動による検出

図3 ゼラチンザイモ電気泳動による検出

ストロメリンザイモ電気泳動では、1(Day1、矢頭部分)のみに弱く検出されたのみであった(図2)。ゼラチンザイモ電気泳動では、MMP-9、MMP-2が検出され1(Day1)、5(Day30)～8(Day59)で強く検出された(図3)。

症例 NO.2 (仙骨部)

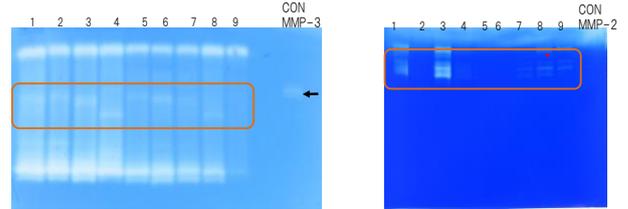


図4 ストロメリンザイモ電気泳動による検出

図5 ゼラチンザイモ電気泳動による検出

ストロメリンザイモ電気泳動では、2(Day28)～4(Day42)、6(Day61)のみに弱く検出され(図4)。ゼラチンザイモ電気泳動では1(Day21)、3(Day36)で強く検出され、7～9(Day65～Day81)で弱く検出された(図5)。



図6 No.1 抗体反応と褥瘡創面

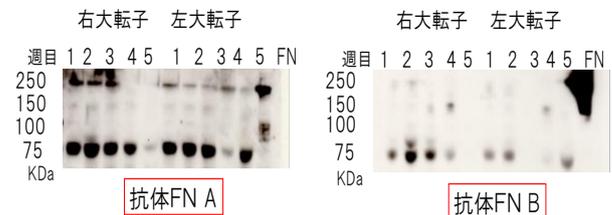


図7 No.2 抗体反応と褥瘡創面

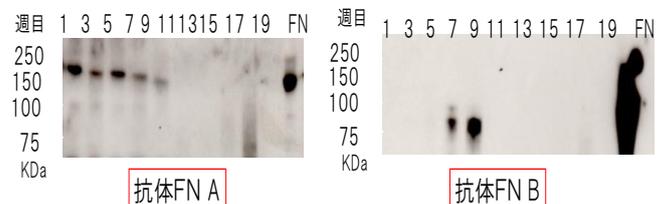


図8 No.3 抗体反応と褥瘡創面



図9 No.4 抗体反応と褥瘡創面

FN のペプチド構造から治癒に関係するドメインを推定して作成した抗体 FNA、抗体 FNB で肉芽の状態を判断可能であることが明らかになった。このことは、FN の分解物の量的な増減が褥創組織における創傷治癒過程に関与し、構造的な不備や他分子との結合阻害によって ECM の構

築状態を変化させていることが考えられる。さらには、抗体 FNA が検出された時期が褥瘡の肉芽組織が良好な時期であったことから、褥瘡の治癒過程を判断する材料の 1 つとしての可能性が示唆される。今後、抗体 FNA、B の量的な増減や分解の程度について傾向を解明し、褥瘡の状態と治癒過程を含めたアセスメントの指標につながると考える。

褥瘡創面の肉芽組織が浮腫傾向にある場合 MMP-3 濃度が高い傾向にあったが、活性は低かったことから、褥瘡創面に MMP-3 は存在するが酵素活性は低く、ECM の分解に影響を及ぼし褥瘡治癒過程に関与している可能性は低いと考えられる。また、MMP-2 の活性について検討した結果、活性を認めた。以上のことから MMP-3 を褥瘡の治癒過程の段階を判断するための材料として活用することは難しく、今後は MMP-2 濃度について検討を行い褥瘡治癒過程との関連があるか検討し、アセスメントの材料として活用可能か確認する必要がある。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 2 件)

① 松本尚子, 米田雅彦: 褥瘡創面におけるフィブロネクチン分子の解析による褥瘡治癒過程のアセスメント指標の検討, 第 43 回一般社団法人日本看護研究学会学術集会, 2017.

② 松本尚子: 褥瘡創面の滲出液中に含まれる分解酵素の分析と治癒過程に対する検討, 第 35 回日本看護科学学会学術集会, 2015.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松本 尚子 (MATSUMOTO, Hisako)
豊橋創造大学・保健医療学部・准教授
研究者番号: 40454376

(2) 研究分担者

米田 雅彦 (YONEDA, Masahiko)
愛知県立大学・看護学部・教授
研究者番号: 80201086