

博士学位論文

ヒアルロン酸の量的・形質変化に着目した  
褥瘡創面のアセスメントに関する研究

2015 年 3 月

愛知県立大学大学院  
看護学研究科看護学専攻

高橋 佳子

指導教員 米田 雅彦

## 目次

|                               |    |
|-------------------------------|----|
| 序論                            | 1  |
| 本論                            | 2  |
| Ⅰ．研究の背景                       | 2  |
| 1. 褥瘡のアセスメント                  | 2  |
| 2. 肉芽組織の管理                    | 4  |
| 1) 局所管理                       | 4  |
| 2) 褥瘡ケア                       | 6  |
| 3. 褥瘡の生化学的側面                  | 8  |
| 1) 創傷治癒過程と肉芽組織                | 8  |
| 2) ヒアルロン酸                     | 11 |
| Ⅱ．研究目的                        | 14 |
| 1. 研究目的                       | 14 |
| 2. 研究の意義                      | 14 |
| Ⅲ．概念枠組み                       | 15 |
| Ⅳ．研究方法                        | 17 |
| 1. 研究デザイン                     | 17 |
| 2. 研究対象                       | 17 |
| 1) 対象者                        | 17 |
| 2) 対象者の選択基準                   | 17 |
| 3) サンプル                       | 17 |
| 3. 褥瘡および対象者のデータ               | 18 |
| 1) データの取得方法                   | 18 |
| 2) 情報収集項目                     | 18 |
| Ⅴ．実験方法                        | 19 |
| 1. 褥瘡創面に使用したガーゼおよび綿棒による試料収集方法 | 19 |

|  |    |
|--|----|
| 2. 褥瘡創面に使用したガーゼから抽出した試料を用いた実験 -----          | 19 |
| 1) 試料の調製方法 -----                             | 19 |
| 2) タンパク定量 -----                              | 19 |
| 3) 血清アルブミン定量 -----                           | 20 |
| 4) ヒアルロン酸定量 -----                            | 20 |
| 5) ヒアルロン酸ザイモグラフィ -----                       | 21 |
| 6) SHAP-HA 複合体の免疫染色 (Western blotting) ----- | 21 |
| 3. 褥瘡創面に使用した綿棒から抽出した試料を用いた実験 -----           | 22 |
| 1) 試料の調製方法 -----                             | 22 |
| 2) 抽出した試料の透析 -----                           | 22 |
| 3) タンパク定量 -----                              | 23 |
| 4) 血清アルブミン定量 -----                           | 23 |
| 5) ヒアルロン酸定量 -----                            | 23 |
| 6) ドットブロット -----                             | 23 |
| 3. データ解析方法 -----                             | 25 |
| 1) 創面評価 -----                                | 25 |
| 2) 解析方法 -----                                | 25 |
| VI. 倫理的配慮 -----                              | 26 |
| VII. 研究結果 -----                              | 29 |
| 1. 対象者および対象創面の属性・看護ケア -----                  | 29 |
| 1) 対象者および対象創面の属性 -----                       | 29 |
| 2) 対象者の看護ケア -----                            | 31 |
| 2. ガーゼサンプルより抽出した試料の分析結果と褥瘡創面所見との関連 --        | 31 |
| 1) ヒアルロン酸量と褥瘡創面所見との関連 -----                  | 32 |
| 2) ヒアルロン酸分解活性と褥瘡創面所見との関連 -----               | 34 |
| 3) SHAP-HA 複合体の有無と褥瘡創面所見との関連 -----           | 37 |
| 4) アルブミン量と褥瘡創面所見との関連 -----                   | 39 |
| 5) タンパク量と褥瘡創面所見との関連 -----                    | 40 |

|   |    |
|---|----|
| 6) ガーゼサンプルの分析結果と創面所見との関連についてのまとめ -----                | 41 |
| 7) タッチガーゼより抽出した試料を用いた実験結果 -----                       | 42 |
| 3. 綿棒より抽出した試料による実験結果 -----                            | 42 |
| 1) 肉芽組織の各形態、性状およびポケット形成による<br>各分子の量的な違い -----         | 43 |
| 2) 綿棒より抽出した試料による実験結果のまとめ -----                        | 47 |
| 4. ガーゼより抽出した試料の分析結果と経時的変化 -----                       | 48 |
| 1) ヒアルロン酸量の経時的変化と創面所見の関連 -----                        | 71 |
| 2) ヒアルロン酸分解活性の経時的変化と創面所見の関連 -----                     | 71 |
| 3) ヒアルロン酸量、ヒアルロン酸分解活性の経時的変化と<br>創面所見の関連についてのまとめ ----- | 72 |
| 5. ヒアルロン酸量と創固定方法との関連 -----                            | 73 |
| VIII. 考察 -----  | 73 |
| 1. ヒアルロン酸動態および SHAP-HA 複合体と創面所見 -----                 | 73 |
| 2. 看護ケアへの応用 -----                                     | 81 |
| 3. 今後の課題 -----  | 83 |
| IX. 結論 -----  | 83 |
| 謝辞 -----  | 85 |
| 参考文献 -----  | 86 |
| 資料 -----  | 94 |

## 序論

褥瘡は、高齢者に好発する（日本褥瘡学会実態調査委員，2011b）、慢性潰瘍の代表的な疾患である。平成 22 年の国勢調査では 65 歳以上人口は 23.0%であり（総務省統計局，2011）、今後も高齢化率は上昇していくと予測されており（国立社会保障・人口問題研究所，2012）、超高齢社会を迎えたわが国において、褥瘡対策は重要な課題である。褥瘡はひとたび発生すると、その後の治癒経過に長期間を要することがまれではなく、患者への苦痛を伴い QOL を低下させ（Essex, et al. 2009）、医療、介護、看護において大きな問題となるうえ、医療費を増大させる（関根他，2007）。

褥瘡対策として、2002 年に厚生労働省より「褥瘡対策未実施減算」施策が打ち出され、褥瘡対策チームの設置、褥瘡診療計画書の作成、褥瘡対策に必要な体圧分散マットレスの適切な使用が進められ、褥瘡有病率の低下等の効果が得られた。（日本褥瘡学会調査委員会，2006a；日本褥瘡学会調査委員会，2006b）。さらに、2004 年「褥瘡患者管理加算」、2006 年「褥瘡ハイリスク患者ケア加算」と加算方向へ転化し、これらの施策によって褥瘡管理の充実が図られてきた。

褥瘡有病率は低下してきているが、施設ごとの内訳をみると、在宅での褥瘡有病率や推定発生率は大学病院等と比較して高く（日本褥瘡学会実態調査委員，2011a）、実際に、在宅や施設等で褥瘡が発生または悪化し中小規模病院に入院する患者を経験している。在宅医療が推進される中、2012 年度の診療報酬改定では、「褥瘡患者管理加算」が入院基本料の算定要件として統合された他に、専門性の高い看護師が訪問看護ステーション等の看護師と同行訪問することが新設され、また、創傷被覆材について医師が使用した時のみ保険算定可能であったが、患者自身の使用によっても算定できるようになり、在宅での褥瘡対策の重要性が認識され強化されてきている。

今後さらに在宅医療が推進されていく中で、褥瘡を専門とする医師や看護師がいないう在宅という環境においても、適切な医療やケアの提供あるいは専門医への引き継ぎがおこなわれるためには、適切な創のアセスメントが不可欠である。病院内においても患者への適切なケアの提供のためには、専門看護師等だけでなく、常にケアにあたる看護師が適切なアセスメントをおこなうことが大切となる。

アセスメントのために、褥瘡予防のためのリスク評価表や発生後の褥瘡経過評価表が現在用いられているが、主観的判断に頼る項目が多く客観的項目が少なく、つまり評価者の経験に頼る部分が大きいという現状がある。さらに、褥瘡は均一な創面では

なく、様々な所見がひとつの創面内に混在しているためにその判断は難しく、経験の少ない評価者を悩ませる。そのため、肉眼的、主観的判断と客観的指標の両面から適切なアセスメントが可能となることが求められる。

## 本論

### I. 研究の背景

#### 1. 褥瘡のアセスメント

褥瘡対策には、まず褥瘡の発生予防が重要であり、発生した褥瘡に関しては、発生要因の除去、軽減またはコントロールおよび適切な局所治療が重要となる(Whitney, et al. 2006 ; Stechmiller, et al. 2008)。わが国においても、その予防および治療、ケアに関して「褥瘡予防・管理ガイドライン（第3版）」（以下、ガイドライ）に示されている（日本褥瘡学会，2012）。しかし、発生した褥瘡の所見は非常に多様であるため、ガイドラインにより基本方針は示されているが、実際の治療やケアにおいてそれらをどのように活用していくか、現状では臨床スタッフの経験に頼るところが大きい。

褥瘡の評価方法として、褥瘡の発生を予測するための褥瘡リスクアセスメントスケールと発生後の褥瘡の評価を目的とした評価方法がある。発生した褥瘡の評価方法としては、褥瘡の深達度の評価と治癒経過の評価を目的とした方法がある。深達度の評価として、米国褥瘡諮問委員会（National Pressure Ulcer Advisory Panel: NPUAP）のステージ分類では、ステージⅠ～Ⅳの分類と Deep Tissue Injury (DTI)、判定不能の項目に分類され(Black, et al. 2007)、また、ヨーロッパ褥瘡諮問委員会（European Pressure Ulcer Advisory Panel: EPUAP）のグレード分類では、グレードⅠ～Ⅳに分類されており（Beeckman, et al. 2007）、これらが一般的に使用されている。

治癒経過の評価としては、日本褥瘡学会の DESIGN-R（評価項目は、深さ（Depth）・浸出液（Exudate）・大きさ（Size）・炎症／感染（Inflammation/Infection）・肉芽組織（Granulation）・壊死組織（Necrotic tissue）・ポケット（Pocket）の6項目）(Matsui, et al. 2011 ; Sanada, et al. 2011)、大浦他（2000）による PUHP（Assessment of Pressure Ulcer-Healing Process from a view of wound healing）（評価項目は、浸出液の量・感染性炎症・壊死組織・深さ・肉芽組織・創辺縁・上皮形成・ポケット・潰瘍の表面積の9項目）や NPUAP による PUSH Tool (Pressure Ulcer Scale for Healing)（評価項目は、Length×Wide・Exudate amount・Tissue type の3項目）(Thomas,

et al. 2011) 等があり、褥瘡の治癒経過を数値化して評価することが可能である。

また、褥瘡の治癒過程を大きく 4 期に分けて、それぞれを 4 つの色で分類した色調分類は、治癒過程全体の流れを捉えやすい (福井, 1993)。

褥瘡は、組織障害の深達度によって真皮までの浅い褥瘡 (NPUAP 分類のステージ II まで、EPUAP 分類のグレード II まで、DESIGN-R 分類の d2 まで) と真皮を超え深部組織まで及ぶ深い褥瘡 (NPUAP 分類のステージ III、IV、EPUAP 分類のグレード III、IV、DESIGN-R 分類の D3-5) に大きく分けることができ、その治癒過程は大きく異なる。浅い褥瘡では皮膚が再生することで治癒するが、深い褥瘡では肉芽組織を形成し治癒していく。

深い褥瘡の治癒において、肉芽組織の状態は治癒に大きく影響を及ぼすため良好な肉芽組織の形成と成熟が重要となるが、肉芽組織の状態の評価方法は十分に検討されていない。先述した褥瘡の深達度の評価は、組織損傷の深達度の評価であり、肉芽組織の状態を評価することはできない。また治癒経過評価表である DESIGN-R や PUHP では、創面に対する良性肉芽組織の割合を評価し、PUSH では創底に存在する組織のタイプ、肉芽組織か壊死組織かを評価しており、治癒過程における肉芽組織の状態の変化の詳細については評価をしていない。これら治癒経過評価表は、褥瘡が前回評価日より良くなっているかどうかを各評価項目から総合的に判断することを目的としており、その目的において、点数化してその推移から治癒経過を把握できる優れたツールであるが、いずれも観察者の主観的観察による項目が多いため観察者の経験が必要である。

また、色調分類は、色によってどのような組織かを大別し褥瘡の治癒過程を概観するものであり、肉芽組織の変化を評価するものではない。

肉芽組織の評価としては記載潰瘍学 (永井他, 2009) に、肉芽組織の変化について肉芽組織の色調・形態・性状等の詳細な観察について述べられているが、褥瘡の診断や治療を目的としており、評価には評価者の経験が必要である。

褥瘡の良好な治癒過程の経過のためには良好な肉芽組織の維持や促進が重要であり、そのためには、肉芽組織の治癒経過 (成熟) に伴う変化の理解、細やかな観察とそれに応じたケアの提供が必要である。しかし、現在、深い褥瘡にみられる肉芽組織の状態とそれに応じたケアについては十分検討されておらず、ケアにあたる看護師の経験に任されている。そのため、褥瘡ケアの経験に依存せずに、肉芽組織の状態を正しく

判断するための客観的指標が必要といえる。

## 2. 肉芽組織の管理

### 1) 局所管理

褥瘡発生後、全身管理とともに局所管理として外科的・保存的治療が選択される。褥瘡をもつ患者の多くは高齢者であり、様々な基礎疾患を有している。そのため臨床では、保存的治療を選択しなければならない場合や、患者自身や家族がそれを望む場合も少なくない。そのため、褥瘡の創面の環境を治癒機転が良好に進行するように整えることが重要である。

創傷局所管理として、慢性創傷管理理論の wound bed preparation (Schultz, et al. 2003 ; Schultz & Dowsett, 2012) や湿潤環境下療法が提唱され、褥瘡の局所管理にも導入されてきた。wound bed preparation とは「TIME」(Leaper, et al. 2012) に表される 4 つの項目、つまり、「活性のない組織または組織の損傷」、「感染または炎症」、「湿潤のアンバランス」、「創辺縁の治癒遅延または潜蝕化に対する評価」に基づいて介入を行い、創傷の環境を整備することにより治癒機転が良好に進行するように考えられている。また、湿潤環境下療法とは、創面を乾燥させず、湿潤した環境に保持することであるが、これにより、それまでの褥瘡創面を消毒し乾燥させる方法から 180 度の治療、ケア方法の転換が図られた。

創面の湿潤環境を保持し創傷治癒環境を整えることを目的に、創傷被覆材（以下、ドレッシング材）が褥瘡創面の状態に合わせて選択し使用されており、近年、様々な種類のドレッシング材が開発され、臨床において大きな成果をもたらしている。

ガイドライン（日本褥瘡学会，2012）では、ドレッシング材の機能は、大きく 6 つに分類されている。「創面保護」を目的として使用するポリウレタンフィルム（商品名としては、オプサイト®（Smith & Nephew）やバイオクルーシブ®（Johnson & Johnson）等）、「創面を閉鎖し湿潤環境を形成」するハイドロコロイド（商品名、デュオアクティブ®（ConvaTec）等）、「乾燥した創を湿潤」させるハイドロジェル（商品名、イントラサイト®ジェルシステム（Smith & Nephew）等）、「滲出液を吸収し保持」するポリウレタンフォーム（商品名、ハイドロサイト®プラス（Smith & Nephew）等）やアルギン酸塩（商品名、カルスタット®（ConvaTec）等）、キチン（商品名、ベスキチン®W-A（ユニチカ株式会社）等）等があり、また、「感染抑制作用」が期待さ

れる銀含有量ドレッシング材（商品名、アクアセル®Ag (ConvaTec) 等）、そして「疼痛を緩和」する目的としてハイドロコロイド（商品名、デュオアクティブ®(ConvaTec) 等）を、創面の状態や目的に合わせて選択をする。

また、外用剤は安価であり医療経済的にも良く、創面の状態に合わせて外用剤を混合（ブレンド）して使用方法も提唱されており（古田，2009；野田他，2004）、褥瘡の保存的治療において効果が大きい（古田，2010）。

外用剤は、創面の湿潤環境を保持するために、薬効成分を含む主剤のみでなく 95% を占める軟膏基剤による作用も重要であり、基剤は以下のように分類される（古田，2009；野田，2011）。基剤は疎水性基剤と親水性基剤に大別され、さらに親水性基剤は乳剤性基剤と水溶性基剤に分類され、乳剤性基剤は水中油型（O/W 型）と油中水型（W/O 型）に分類される。疎水性基剤は油分だけでできた油脂性基剤であり、基剤の種類としてはワセリン等があり、製品としては亜鉛華軟膏等が分類される。水中油型（O/W 型）の乳剤性基剤としては親水軟膏やバニシングクリームがあり、製品としてはオルセノン®軟膏（株式会社ポーラファルマ）やゲーベン®クリーム（田辺三菱製薬株式会社）がある。油中水型（W/O 型）の乳剤性基剤には吸水軟膏やコールドクリームがあり、製品としてはリフラップ®軟膏（エーザイ株式会社）等がある。水溶性基剤ではマクロゴール軟膏を基剤とした製品としてアクトシン®軟膏（第一三共株式会社）等、マクロゴール軟膏に白糖を含む製品としてユーパスタ®コーワ軟膏（興和株式会社）、マクロゴール 600 にビーズを加えた製品としてデブリサン®ペースト（佐藤製薬株式会社）等がある（古田，2009；野田，2011；日本褥瘡学会，2012）。基剤の特性はその機能として、油脂性基剤は保湿性や創面保護、乳剤性基剤は保水性、水溶性基剤は吸水性がある（古田，2009）。さらに、この基剤の機能に関して、油中水型（W/O 型）の乳剤性基剤および油脂性基剤は、創面からの水分の蒸発を防ぎ保湿することにより湿潤環境を形成しており、一方、水中油型（O/W 型）の乳剤性基剤は、水分が軟膏の基剤から創面へと移動し水分を補い保水することにより湿潤環境が形成される（野田，2011）。また、水溶性基剤による吸水には「能動的吸水」と「受動的吸水」があるとされ、「能動的吸水」とは、例えばマクロゴールのような水溶性基剤が浸透圧により積極的に水分を吸収する方法（ユーパスタ®コーワ軟膏等）であり、「受動的吸水」とは、高分子を分散させたゲル基剤により高分子内へ水が移動し、その水分を保持する方法（デブリサン®ペーストやカデックス®軟膏（Smith & Nephew）等）であ

り過剰な滲出液を吸収するが減少させる働きはなく、ドレッシング材もこの「受動的吸水」の様式をしめす（野田，2011）。

現在、専任の医師および看護師からなる褥瘡対策チームが設置されているが、そのメンバーとして薬剤師、栄養士、理学療法士、作業療法士等、様々な職種が参加し多職種によるそれぞれの専門性を活かしたチーム医療がおこなわれている。薬剤師が参加することによる高い費用対効果を得られ（古田他，2013）、治癒期間の短縮につながっているとの報告がある（溝神，2010）。これら外用剤やドレッシング材の使用に薬剤師の専門性は重要であり、看護師もこれらの特性を理解することが必要である。

基剤の機能を理解した適切な外用剤の使用は、浸出液の管理および肉芽組織内の水分量の管理によって良好な肉芽組織の増生に寄与するが、どのような外用剤を選択するか現状においては経験によって判断しなければならず、肉芽組織の創面所見との関連が明らかにされることが求められる。

## 2) 褥瘡ケア

褥瘡発生後、局所の治療とともに、発生後のケアとしてマットレスまたはクッションの選択、体位変換、ポジショニング、スキンケア、患者教育をおこなうことが推奨されている（日本褥瘡学会，2012）。発生後のケアについてガイドライン（日本褥瘡学会，2012）では、これらのケアは褥瘡発生要因となった因子が持続し、褥瘡の正常な創傷治癒が妨げられるのを防ぐために重要となる、としている。

褥瘡の治癒過程における線維成分の少ない脆弱な組織である肉芽組織を、外力による障害から防ぐために、体位変換やポジショニングは基本的なケア方法である。しかし、ガイドライン（日本褥瘡学会，2012）の褥瘡のケアの項目において褥瘡発生後の Clinical Question（CQ：臨床上的疑問）としては、使用する体圧分散マットレスの種類に関するもののみであり、つまり体位変換間隔や方法は、褥瘡発生予防の方法に準ずるものであり、発生後の方法の違いについては言及されていない。

現在、体位変換はガイドライン（日本褥瘡学会，2012）では 2 時間毎の体位変換、また、体圧分散用具を利用する場合には体位変換間隔は 4 時間を超えない範囲での実施が推奨されている。褥瘡発生に関する体圧については、Landis(1930)は、指の毛細循環動脈血圧の測定をおこない 32 mmHg であることをしめした。Kosiak(1961)は、正常なラットと対麻痺のラットを対象に加圧実験をおこない、1 時間加圧をした場合、

155 mmHg までは変化はみられなかったが、2 時間では 70 mmHg で組織の変化がみられたことをしめた。また、犬の後肢の実験より、加圧による組織の変化について、圧力とその持続時間に負の関連、つまり、低い圧力では長時間、高い圧力では短時間で褥瘡が発生する傾向があることをしめた。さらに、Reswick & Rogers (1976)は、ヒトにおいて褥瘡発生に加圧とその継続時間の関係について研究し、Reswick & Rogers の pressure-time curve を発表した。また、圧力の管理とともに、摩擦やずれ力の重要性が指摘され、Dinsdale(1974)は、摩擦の有無と加圧の影響について、摩擦がある場合 45 mmHg で褥瘡が発生したが、加圧のみの場合 290 mmHg でも褥瘡の発生はみられなかったと報告した。高橋他(2012)は、圧力とずれ力を加えた時の血流量の減少に関する報告で、圧力のみでは深部の橈骨動脈に影響を与え、ずれ力が加わると浅部の皮膚毛細血管に影響を与えることをしめた。臨床において利用可能な、簡易的な体圧測定器が開発され、須釜他(2012)は、入院患者 46 名の仙骨部体圧を測定し、発赤の有無を分けるカットオフ値は 50 mmHg と報告している。現在においても、Landis(1930)の報告による指の毛細循環動脈血圧の 32 mmHg や、Reswick & Rogers (1976)の pressure-time curve が、体圧の危険域の指標として使用されているが、Landis のしめた圧と褥瘡発生との関連は実証されてはおらず(Brienza, et al. 2008)、また Reswick & Rogers の pressure-time curve は、近年、現実に即していないと批判されており (Gefen, 2009a ; Gefen, 2009b)、褥瘡発生の圧力の閾値については、なお明確になっていない。さらに、表皮や真皮等が欠損しているという皮膚の物理的特性の変化や、深い褥瘡にみられる肉芽組織の状態との関連については言及されていない。

スキンケアでは、発生後のケアとして弱酸性洗浄剤による創周囲の洗浄と皮膚保護クリームの塗布が推奨されている。

患者指導は、褥瘡発生や再発予防、また退院後の褥瘡ケアのために本人あるいは家族等に対しておこなわれている。体圧測定の結果を提示しながら本人や介護者に除圧やポジショニングの指導をおこなった事例や (森田他, 2011)、退院前後に住宅訪問指導や訪問看護師との連携をおこない効果的であった事例が報告されている (金子, 2010)。一方で、認知症が有意に褥瘡発生に影響を与えるとの報告もあり (Kwong, 2009)、臨床において、除圧ケアの拒否や協力が得られずに苦慮することも少なくない。

褥瘡の原因は外力であり、外力をコントロールしなければ褥瘡の治癒は望めない。外力は様々な日常生活動作あるいは臥床しているのみであっても発生し、患者の日常

生活を支える看護の担う役割は大きい。しかし、深い褥瘡の発生後のケアが確立されているとは言えず、その原因として創のアセスメントとケア方法が有機的に結びついておらず、治癒過程にみられる肉芽組織とケア方法との関連が検討されていないことが問題であると考えられる。そのため、肉芽組織の状態と看護ケアについて検討していくこととした。

### 3. 褥瘡の生化学的側面

#### 1) 創傷治癒過程と肉芽組織

褥瘡は、日本褥瘡学会(2005)により「身体に加わった外力は骨と皮膚表層間の軟部組織の血流を低下、あるいは停止させる。この状況が一定時間持続されると組織は不可逆的な阻血性障害に陥り褥瘡となる。」と定義されるように、褥瘡の直接的な要因は外力である。外力は阻血性障害だけでなく、再灌流障害、リンパ系機能障害、機械的変形をもたらし、細胞死・組織障害を起こし、褥瘡を発生させる。

創傷の治癒は、一般的に、一次治癒と二次治癒に分けられ、一次治癒は手術後創にみられる治癒であり少しの瘢痕形成にとどまり、二次治癒は大きな組織欠損を伴う創にみられ、この組織欠損部を埋めて上皮再生の足場となる骨組みを提供するために、より大量の肉芽組織が形成され、一次治癒にくらべ大きな瘢痕を形成し治癒する(Kumar, et al. 2007)。深い褥瘡は二次治癒となる。

褥瘡の治癒過程を含むすべての創傷治癒過程は、3つの主要な段階、つまり、炎症、肉芽組織の形成、細胞外マトリックス（以下、ECM）の沈着とリモデリングの段階があり（成書等によっては4つの段階、出血凝固期、炎症期、増殖期、成熟期に分ける場合もある（Velnar, et al. 2009；日本褥瘡学会，2012））、これらの時期が重なりながら進行し治癒に至る（Kumar, et al. 2007）。まず、損傷部位にフィブリン凝血塊が形成され欠損部が補填される（Kumar, et al. 2007）。フィブロネクチンは、接着性糖タンパクであり肝臓由来の可溶型は血漿中に存在し、血管外に滲出しフィブリン等と架橋を形成し損傷部位の機械的な安定に寄与し、さらに、その後損傷部位に遊走したマクロファージの貪食を促進する機能ももつ（Rubin, et al. 2004）。フィブリン凝血塊に向けて好中球が遊走し、最初の6～24時間は好中球が炎症細胞のほとんどを占めることになるが、その後24～48時間後には単球と入れ替わり、マクロファージやリンパ球が占めるようになる（Kumar, et al. 2007）。これら炎症細胞等はプラスミン等とともに

に組織の清浄化に寄与する一方、様々な成長因子やサイトカイン等を分泌し白血球や線維芽細胞の走化性を高め、血管新生を誘導する。この炎症および肉芽組織形成期には多くの血管新生がおこなわれるが、幼若な血管は血管透過性が高く肉芽組織がしばしば浮腫性であることの原因であり、急性炎症が消失した後にも創傷部位で浮腫が長く続く原因の一つでもある (Kumar, et al. 2007)。また、間質液の排出にリンパ管が関わるが、褥瘡初期にはリンパ管新生が血管新生より遅れて起こること、また不良肉芽組織では良好な肉芽組織に対してリンパ管の形成が少ないとの報告があり、肉芽組織の浮腫との関連が示唆されている (森他, 2008)。ECM 成分の分解にはマトリックスメタロプロテアーゼ (以下、MMP) が大きく寄与する。MMP ファミリーは、線維性コラーゲンを切断する間質コラゲナーゼ (MMP-1、-2、-3)、無定形コラーゲンとフィブロネクチンを分解するゼラチナーゼ (MMP-2、-9)、プロテオグリカン等多様な ECM 成分を分解するストロメライシン (MMP-3、-10、-11) 等を含み、MMP は線維芽細胞やマクロファージ等多様な細胞によって産生され、組織メタロプロテアーゼ阻害物質 (TIMP) により制御されている (Yatabe & Okada, 2004 ; Kumar, et al. 2007)。さらに、ADAMTS (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs) も分解酵素のファミリーであり、コラーゲンの前駆体の切断やプロテオグリカンであるバーシカンやアグリカンの切断等様々な機能をもち、組織の炎症に関わっている (Yatabe & Okada, 2004 ; Porter, 2005)。損傷部位で線維芽細胞の増殖や活性化がすすむことにより、線維芽細胞はしだいに ECM を合成する表現型をしめすようになり、ECM の沈着が増していく (Kumar, et al. 2007)。創傷部位の強度を作るためにコラーゲンは重要な成分であり、早期には ECM にはⅢ型コラーゲンが多く含まれるが、これは一過性であり、引き続きより大きな抗張力をあらわすⅠ型コラーゲンが合成され、その量を増していく (Rubin, et al. 2004)。デコリンは、コアタンパクに 1 本のデルマトン硫酸鎖を持つ小型のプロテオグリカンであり、Ⅰ型コラーゲンと結合しコラーゲン線維の形態の制御をおこなう他に、形質転換増殖因子  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) と結合するため、その活性を抑え炎症を促進すると考えられている (Alberts, et al. 2008 ; Merline, et al. 2011)。

肉芽組織の成熟に伴い、やがて血管が退縮し、血管のほとんどない蒼白な瘢痕を形成していく。また、二次治癒の特徴として、線維芽細胞が分化転換し、平滑筋細胞と同じ収縮能を持つ筋線維芽細胞となり、これにより肉芽組織が収縮される (Kumar, et

al. 2007 ; Rubin, et al. 2004 ; 森他, 2001)。大きな皮膚欠損を伴う深い褥瘡では、表皮の上皮化よりも創傷の収縮により治癒していく。

しかし、深い褥瘡は治癒が遷延する場合も多く、これらは治癒過程が停滞、逆行した状態と考えられる。特に、炎症の遷延による炎症期から肉芽組織の形成、増殖期への移行に問題が生じる場合が多い（日本褥瘡学会, 2012）。本来、急性炎症反応の終息は、さまざまな化学的メディエーターの中和や崩壊、酵素による分解がおこなわれ、血管透過性の正常化、遊出好中球のアポトーシス等がすすみ炎症反応は抑制され、リンパ管を介する排水とマクロファージによる貪食により消炎する（Kumar, et al. 2007）。しかし褥瘡の場合、残存する壊死組織や圧迫等様々な要因が存在し、正常な治癒機転を得られず難治化する場合も少なくないが、その詳細は不明である。創傷治癒過程は、多種多様な細胞や構造タンパク、成長因子、サイトカイン等が相互作用しながら進んでいく（Stadelmann, et al. 1998 ; Schultz, et al. 2011）。治癒が進まない褥瘡の浸出液の分析では MMP の亢進が報告されており（Muller, et al. 2008 ; Ladwig, et al. 2002）、MMP による過剰な ECM や成長因子等の破壊が原因の一つと考えられている。しかし一方で、MMP が過剰な炎症を抑制しているとの報告もある（Hattori, et al. 2009）。肉芽組織は、これら創傷治癒過程の様々な相互作用の上に形成され、それらを反映した結果として肉眼的に観察可能であり、これら治癒過程と肉眼的所見とがさらに明確に結び付けられることが必要である。

肉芽組織とは、治癒過程において特徴的にみられる一時的に形成される組織である。その所見は、ピンク色で軟らかく顆粒状の肉眼所見を呈し、その組織所見は、疎な ECM 中で線維芽細胞と壁が薄く繊細な新生毛細血管が増生している（Kumar, et al. 2007）。慢性褥瘡潰瘍の代表的な組織像は、創底に血管拡張層があり、その上にコラーゲンに富んだ層と、さらに筋線維芽細胞が配列した層の上に肉芽層と壊死層がある（森他, 2001）。徐々に結合組織のマトリックスを蓄積し、つまり、成熟コラーゲンが沈着し、瘢痕を形成していくこととなる（Kumar, et al. 2007）。肉芽組織は、細菌感染に対して非常に抵抗性が高い組織である（Rubin, et al. 2004）。しかし、表皮に覆われていない疎な組織のため容易に乾燥状態に陥り、外力に対する抵抗性も低い。また、未熟な新生血管に富む炎症状態である肉芽組織は血管の透過性が亢進しており前述のようにしばしば浮腫性をしめし、成熟コラーゲン等の強固な線維分子の少ない肉芽組織は、浮腫性の亢進によってさらに脆弱な組織となる。乾燥や浮腫性の状態は組織を脆弱に

するのみでなく、治癒に必要な細胞や分子の動きを阻害し治癒遅延をきたす。そのため、ドレッシング材や外用剤の選択、ケア方法が重要となるが、肉芽組織の浮腫性の状態のアセスメントは難しく、また、そのメカニズムもすべて解明されているとはいえない。

## 2) ヒアルロン酸

細胞の形態や機能は ECM により調節されているため、組織の修復と再構築には、ECM の合成と分解のバランスが制御されながら、ECM が再構築されていくことが必要である (Evanco, et al. 2007 ; Jiang, et al. 2007)。ECM をおもに形成するのは、グリコサミノグリカン類とよばれる多糖類と線維性タンパクであり、それぞれ様々な形と大きさをもつ多くの種類があり、グリコサミノグリカン（多くはタンパク質と結合したプロテオグリカンの形で存在する）は、多量の水を保持してゲル様の基質を作り、ECM への圧縮力に対抗すると同時に、栄養分等の迅速な拡散に寄与しており、さらに、線維性タンパクであるコラーゲンが ECM の強化をおこない、エラスチン等が弾性を与え、また、様々なタンパクが細胞の移動、分化等に貢献している (Alberts, et al. 2008)。

ヒアルロン酸（以下、HA）は、その物性による保水作用のため水分調整に関与し (Laurent, et al. 1996)、また、レセプターを介したシグナル伝達により、細胞増殖、細胞遊走、細胞分化の調節をおこなうことで、発生や組織構築に関与し (Toole, 1991)、炎症や創傷治癒に対しても重要な役割を担っている (Jiang, et al. 2007)。

HA はグリコサミノグリカンの一つであり、その構造は枝分かれのない線上のポリマーであり単純な 2 糖の繰り返し、つまり D-グルクロン酸と D-N-アセチルグルコサミンが  $\beta$ -1, 4 と  $\beta$ -1, 3 のグリコシド結合で交互に繋がる高分子多糖である (Meyer & Palmer, 1934)。2 糖の繰り返しは 25000 回にもおよび、その分子量は  $10^5 \sim 10^7$  ダルトン（以下、Da）にもなる (Alberts, et al. 2008)。

HA は、ヒトにおいて全身に広く分布しているが、特に、皮膚、臍帯、関節液、硝子体等に多く存在している (Fraser, et al. 1997)。合成と分解のバランスが厳密に制御され、組織の中で一定の濃度が保たれており (Tammi, et al. 2002)、ヒトの体における全 HA 量のほぼ 1/3 量が、平均 1 日の間に代謝的に除去され置き換えられ、表皮では、HA の半減期は 1 日以下である (Tammi, et al. 1991)。

HA は、細胞膜の内側表面にある膜結合型の HA 合成酵素（以下、HAS）により合成され、合成されるに伴い細胞の外側へ押し出されていく。HAS には、HAS1、HAS2、HAS3 と 3 種類のあり、HAS1 と HAS2 は  $2 \times 10^5 \sim 2 \times 10^6 \text{Da}$  の高分子 HA を産生し、一方、HAS3 は  $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6 \text{Da}$  の短めの HA を産生し、さらに、HAS1 と HAS3 は  $2 \times 10^5 \sim 2 \times 10^6 \text{Da}$  の幅広いサイズの HA を産生する（Itano, et al. 1999）。

また、HA が ECM から代謝し除去されるのは、局所で起こる限定的な分解作用の後、大部分は循環中に流れ出し、短時間の内にリンパ腺と肝臓の網内系細胞で分解されることによる（Jackson, 2009）。HA 分解酵素（以下、HYAL）は、HA の  $\beta$ -1、4 結合を加水分解するが、ヒトでは HYAL1、HYAL2、HYAL3、HYAL4、PH-20、HYALP1 の 6 種類が同定されている（Csoka, et al. 2001 ; Stern & Jedrzejewski, 2006）。HYAL1 は細胞内のライソゾームにあり、HA を 2 糖に分解する酵素として酸性条件下で活性を持ち、HYAL2 は細胞表面に glycosylphosphatidylinositol (GPI) 結合にて繋がれ、高分子 HA を約 20 kDa に分解する（Stern & Jedrzejewski, 2006）。HYAL3 は HA 分解に関して不明であり（Jiang, et al. 2007）、HYAL4 は、コンドロイチンと硫酸コンドロイチンに対して優位に活性を持つと考えられており、PH-20 は受精に必須であり、偽遺伝子 HYALP1 はヒトでは活性型には翻訳されない（Stern & Jedrzejewski, 2006）。さらに、UV や好中球により誘導される活性酸素種、様々な糖鎖分解酵素によっても分解される。

創傷治癒の各過程において、HA は様々な役割を担っている（Frenkel, 2014 ; Jiang, et al. 2007 ; Chen & Abetangelo, 1999）。

まず受傷後から炎症期では、組織の損傷が起こると、高分子 HA の新生と血流から HA が補充される（Frenkel, 2014）。HA はフィブリノーゲンと結合し（Frost & Weigel, 1990）、フィブリン凝血塊の形成に寄与する。さらに、白血球の浸潤に関して、血管内皮細胞上の HA と白血球表面のレセプターである CD44 が相互作用し、その際 HA 同士がアニール（会合）して形成されるケーブル構造が足場となり、白血球の接着・移動に関与する（de la Motte, et al. 2003 ; 西田・嶋田, 2011）。また、炎症初期において HA 濃度が高い状態で、炎症性サイトカインの Interleukin-1  $\beta$  (IL-1  $\beta$ )、Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、and Interleukin-8 (IL-8) が促進される（Kobayashi & Terao, 1997）。しかし一方で、HA は活性酸素種のスキャベンジャーとしての機能をもち（Foschi, et al. 1990）、さらに、HA や HA と結合する inter- $\alpha$ -trypsin inhibitor (ITI)

は、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  といった炎症性サイトカイン等によって発現が促進される Tumor necrosis factor (TNF) -stimulated gene 6 (TSG-6) と結合し炎症反応を緩和する (Milner & Day, 2003)。

また、HA は肝臓で合成され血中へ分泌される ITI との結合により、Serum-derived-Hyaluronan-Associated Proteins (以下、SHAP) -HA 複合体を形成するが、この ITI は、ビクニン短鎖、コンドロイチン硫酸鎖と 2 本の長鎖から構成されており、このビクニン短鎖とコンドロイチン硫酸鎖が放出され、HA と置き換わり共有結合することで SHAP-HA 複合体が形成される (Yoneda, et al. 1990 ; Huang, et al. 1993)。この複合体は、前述した HA ケーブルの形成にも関与している (de la Motte, et al. 2003)。また、SHAP-HA 複体量はリウマチ性関節炎の患者に多く検出され、炎症との関連が示唆されている (Kida, et al. 1990 ; Yingsung, et al. 2003)。

増殖期では、線維芽細胞、血管内皮細胞、角化細胞の遊走と増殖により、肉芽組織の増殖や血管新生がすすむ。これら細胞の遊走や増殖に、HA が提供する水和環境は重要であるとともに、HA とこれら細胞表面の CD44 や RHAMM 等 HA 受容体を通じたシグナルによって調整される (Noble, 2011 ; Turley, 2002)。

治癒過程の初期には HA が豊富な肉芽組織が形成され柔軟な吸湿性に富むネットワークの中に血管が新生されるが、低分子 HA はこの血管新生を促進する。HA は、その分子量によって様々な生理活性を持つが、高分子 HA では炎症性サイトカインの減少、免疫反応の緩徐、抗血管新生作用等が報告されており、一方、低分子またはオリゴ HA では炎症反応の促進、強い血管新生作用や、8 kDa (4 糖) のオリゴ HA ではヒートショックプロテインの誘導やアポトーシスの抑制作用が報告されており (Aya & Stern, 2014)、250 kDa では、Ⅲ型コラーゲンの新生の促進が報告されている (Damodarasamy, et al. 2014)。

ECM において、HA はリンクモジュールという構造を介して、細胞表面のレセプターである CD44 や LYVE-1 と、あるいはリンクモジュールを持つプロテオグリカン等と結合し存在している。コンドロイチン硫酸鎖を持つプロテオグリカンであるバーシカンも HA に結合することが知られている (Wight, 2002)。また、バーシカンは HA 結合部位とは別の部位でマイクロフィブリルと結合することができる。このマイクロフィブリルは、皮膚や血管、肺等の ECM に多く存在し、組織に弾性を与える弾性線維であるエラスチンの形成に関与しており (Alberts, et al. 2008)、バーシカンの HA

結合部位を含むフラグメントによって、エラスチン形成部位の HA-バーシカン-マイクロフィブリルの相互作用において HA の補給が促進されている (Murasawa, et al. 2013)。また、HA は CD44 を通してケラチノサイトの活性化に関与している (Bourguignon, 2014 ; Oksala, 1995)。

肉芽組織の成熟、つまりコラーゲン等の線維成分の増加と沈着がすすみ、リモデリングの段階になるに伴い、HA は減少しほぼ通常状態に戻る (Jiang, et al. 2007)。

創傷治癒過程を通して、HA は上述のように、水和環境を提供すると同時にシグナル伝達を通して様々な役割を担っている。HA は褥瘡の治癒過程においても重要であり、順調な治癒過程を経る良好な肉芽組織は、HA がその一因を担う水和環境のバランスの良い状態であり、この状態は良好な肉芽組織として肉眼的所見に反映され则认为られる。浮腫や乾燥した状態の肉芽組織に対して、ドレッシング材や外用剤による吸水や保水による水分調整を行うことは、バランスの崩れた状態の ECM を補正し治癒の促進に繋がると考えられる。しかし、現在、HA の褥瘡の治癒過程における量的変化については十分検討されていない。そのため、褥瘡の治癒過程における HA の量的変化および形質的变化、つまり炎症との関連が示唆されている SHAP-HA 複合体について分析をおこなうことにより、介入への指標となる可能性がある。

## II. 研究目的

### 1. 研究目的

本研究において、HA 量、HA 分解活性および SHAP-HA 複合体の分析結果と、記載潰瘍学を基にした肉眼的な褥瘡創面所見との関連を明らかにする。これにより、HA 量、HA 分解活性および SHAP-HA 複合体の分析結果から肉芽組織における組織の状態を考察し、HA 量、HA 分解活性および SHAP-HA 複合体の分析が、肉芽組織の状態をしめす客観的指標となる可能性を検討する。また、客観的に肉芽組織の状態を判断することによる、適切な介入時期や介入方法の選択の可能性について考察する。

### 2. 研究の意義

深い褥瘡の治癒過程において、良好な肉芽組織の増殖と成熟は重要な課題である。この過程を経なければ、褥瘡は治癒に至らない。HA は、肉芽組織の構成に大きく関与しているため、その動態の知見を得ることは褥瘡の治癒促進のために有用であると

考えられる。

wound bed preparation や湿潤環境下療法が褥瘡管理に取り入れられ、水分コントロールの重要性が理解され、臨床において大きな成果をあげている。しかし今まで、肉芽組織の水分を多く含むと同時に線維分子の少ないことからもたらされる肉芽組織の脆弱性の状態に対して、それをどのようにとらえるかということに関しては十分検討されてきていなかった。そのため本研究では、褥瘡創面の浸出液を生化学的に検討することにより、肉芽組織の状態を客観的にとらえる可能性を検討した。

さらに、今後、在宅医療が推進されるなか、多職種の継続的介入の際の情報共有のために使用されているアセスメントツールや創面写真に、客観的指標が加わることは有用であると考えられる。

また、褥瘡の治癒過程を支える看護として、褥瘡の発生部位は患者の ADL や行動に大きく影響を受けるため、患者の日常生活を支える看護の果たす役割は大きく、良好な肉芽組織の保持や促進のために、肉芽組織の状態を認識した看護が必要であり、本研究が看護において有用であると考えられる。例えば、HA が多く含まれる創面が浮腫性の肉芽組織の状態であることが明らかとなった場合、HA が多い時期には創面の保護を強化した看護ケアが必要であると考えられる。すなわち、創面の状態を適切にとらえることによって、どの時期にどのようなケアが必要か選択できる可能性がある。現在の褥瘡ケアでは、創面の状態に合わせたドレッシング材の工夫等が行われているが、褥瘡の治癒経過に合わせたケアについては十分考慮されていないため、肉芽組織形成の初期および成熟後においても同様の体位変換等のケアをおこない、看護師にとって効率が悪く、患者にとっても負担となっている可能性がある。治癒過程における肉芽組織の状態をとらえることが出来れば、効果的な介入に繋がると考えられる。

褥瘡を持つ患者の看護として、多様な創面の状態を正しく判断できる方法をもつことは有用であると考えられる。

### Ⅲ．概念枠組み

褥瘡発生後、HA が新生され（図 1 ①）、高分子 HA（図 1 ②）は創面組織内において細胞増殖、遊走、分化、および、組織の水分調整に関与する（図 1 ③、④）。また、低分子 HA が（図 1 ⑤）、高分子 HA（図 1 ②）のヒアルロニダーゼ等による分解（図 1 ⑥）により形成され、炎症性サイトカインの発現促進等に関与する（図 1 ⑦）。HA

の形質的变化として、浸出液より供給される ITI(図 1 ⑧)との結合によって SHAP-HA 複合体が形成され (図 1 ⑨)、組織の治癒過程に関与している可能性がある。これらのバランスが維持されている場合、良好な肉芽組織が再生され (図 1 ⑩)、逆にバランスの崩れた状態が浮腫性、摩擦性肉芽組織の所見として観察されることが考えられる (図 1 ⑪)。

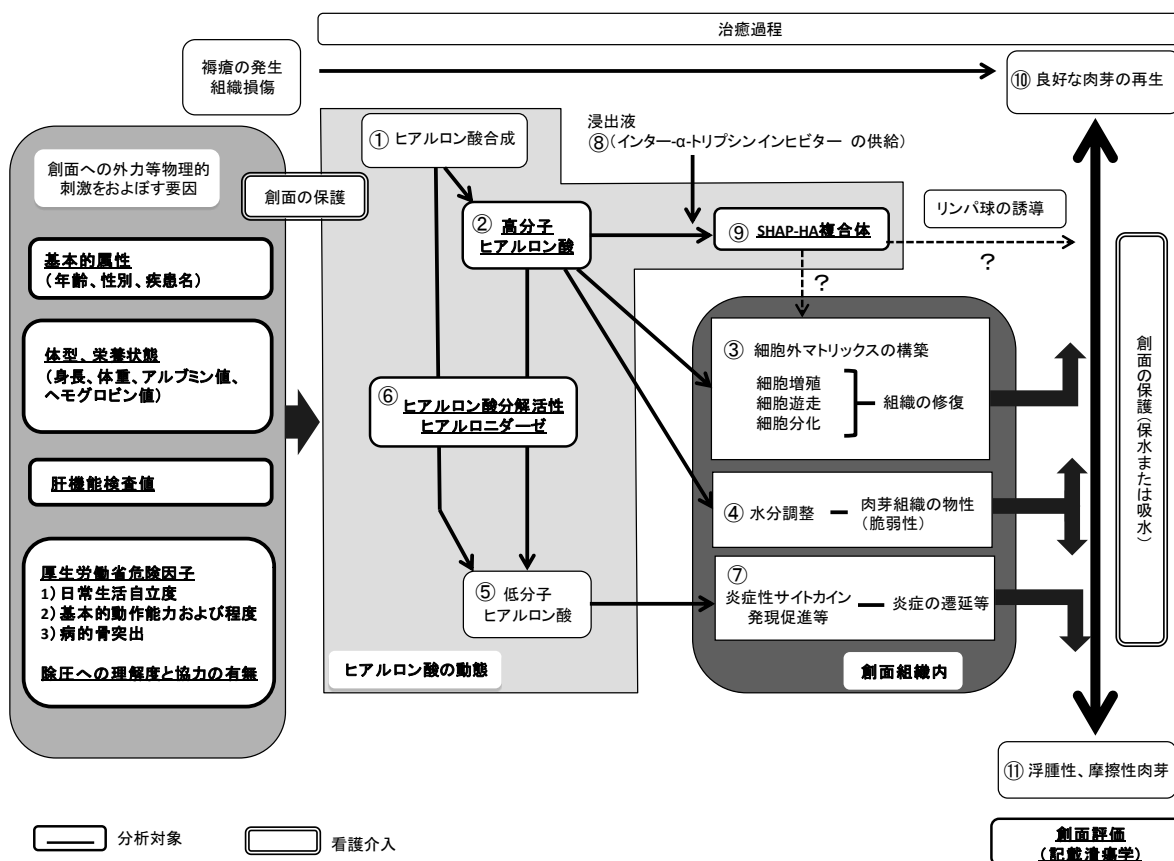


図 1 概念図

この肉眼的な創面評価は記載潰瘍学を基におこない、HA の動態との関連を探索し、肉芽組織の状態を考察する。HA の動態から肉芽組織の状態を客観的に判断することができれば、肉芽組織の状態に合わせた効果的な介入時期および介入方法を検討することが可能になると考えられる。そのため、HA の動態の分析が、肉芽組織の変化に合わせた適切な介入時期をしめす客観的指標としての可能性を考察する。

外力等物理的な刺激は、HA の動態および治癒に影響を与える可能性があるため、対象者の基本的属性や体型、栄養状態とともに日常生活自立度、基本的動作能力等、理解度や協力有無に関するデータも抽出する。

肝機能検査値は、ITI が肝臓で合成されるため肝機能異常によって ITI の供給低下が

影響する可能性があるためデータを抽出し確認する。

## IV. 研究方法

### 1. 研究デザイン

実験手法を用いた関係探索研究

本研究では、褥瘡創面浸出液等を生化学的実験手法による分析をおこない、褥瘡創面の創面所見との関連を検討した。

### 2. 研究対象

#### 1) 対象者

皮膚潰瘍を伴う褥瘡（NPUAP 分類Ⅲ度以上の褥瘡）を発症し加療目的にて入院した患者で、かつ、独立行政法人国立長寿医療研究センター、先端診療部皮膚科医長、磯貝善蔵氏（以下、磯貝氏）が研究代表者となる「創面蛋白を用いた褥瘡、皮膚潰瘍に対する評価方法と創傷薬理学の樹立」の研究参加者で、磯貝氏より紹介を受け、本研究への参加に対して、本人から書面により本研究参加の同意を得られた人。ただし、本人の承諾出来る能力に障害がある場合には、家族を代諾者として同意を得られた人とした。

#### 2) 対象者の選択基準

磯貝氏の研究の対象者は、「真皮以上に達する褥瘡や様々な皮膚潰瘍を有する入院及び外来患者」であり、本研究の対象者を含む。その対象者の中より、Ⅲ度以上の褥瘡を保有する対象者を本研究の対象者とした。ただし、以下の条件に該当する対象者は除外した。創傷治癒の遅延に影響するためコントロール不良な糖尿病患者、および、2週間以上経過を観察することが不可能と判断される患者、褥瘡の状態が急性期の状態にある患者、療養環境やケアが均一でなくなるため外来患者は除外した。

#### 3) サンプル

対象者の褥瘡治療のために約 24 時間創面に貼付され、創処置後、廃棄予定のガーゼ（ガーゼサンプル）に吸収された創面浸出液、および、生理食塩水による創面洗浄後に水分除去のため創面に使用した滅菌ガーゼ（タッチガーゼ）および滅菌綿棒に付着

した浸出液と創表面タンパク質を分析対象とし、これらから浸出液および創表面タンパク質を抽出し試料とした。また、創処置時に撮影された創面画像を分析対象とした。

処置に使用したガーゼおよび綿棒の回収ならびに使用に関しては、愛知県立大学研究倫理審査委員会の承認を得ておこなった。

### 3. 褥瘡および対象者のデータ

#### 1) データの取得方法

褥瘡所見のデータについては、褥瘡処置時に同席した際に毎回取得した。

また、対象者のデータについては、情報収集を行う日時等について磯貝氏と調整のうえ、研究者が、電子カルテ端末の利用について磯貝氏より了承を得た後、独立行政法人国立長寿医療研究センター病院の電子カルテ端末を使用し情報収集をおこなった。基本的動作能力や自力体位変換能力の程度と対象者の除圧への理解度と協力の有無、除圧ケアについては、褥瘡処置時の対象者の動きや言動について毎回観察をおこなった。

また、対象者のデータについては、本学および独立行政法人国立長寿医療研究センター倫理委員会審査承認後、許可の得られた範囲内で、プライバシーの保全に留意し、電子カルテ端末より取得した。褥瘡所見および対象者のデータは、コード化し、コード化した情報のみを独立行政法人国立長寿医療研究センター病院外に持ち出し分析に使用した。

#### 2) 情報収集項目

##### (1) 褥瘡状態のデータ

深さ、大きさ、形状、炎症／感染、浸出液量／性状、ポケット形成、肉芽組織の状態、治療方法（外用薬剤名等）

##### (2) 対象者のデータ

- ①基本的属性：年齢、性別、疾患名
- ②体型、栄養状態に関するデータ：身長、体重、アルブミン値、ヘモグロビン値、総タンパク値
- ③肝機能検査値（AST、ALT）
- ④厚生労働省危険因子（i.日常生活自立度、ii.基本的動作能力（ベッド上自力体

位変換、椅子上坐位姿勢の保持、除圧)、iii.病的骨突出) および対象者の除圧への理解度と協力の有無についても情報収集をおこなった。

- ⑤除圧および清潔ケア等：体圧分散寝具の使用／種類、エアマット時の底付きの確認、体位変換時間間隔、ギャッチアップの角度、皮膚の清潔（入浴、清拭、陰部洗浄）、その他個別ケアの有無と内容

## V. 実験方法

### 1. 褥瘡創面に使用したガーゼおよび綿棒による試料収集方法

試料収集は、褥瘡の通常の処置において使用されるガーゼを、対象者の治療におけるガーゼ交換時に、研究者が磯貝氏と同席し、使用済み破棄予定のガーゼを採取した。さらに、磯貝氏により生理食塩水による創面洗浄後、通常の処置で使用する創面の水分除去のために創面にあてた滅菌ガーゼおよび水分除去のための滅菌綿棒を使用後に採取した。磯貝氏が褥瘡創面の写真撮影をおこない、その画像データを処置後いただいた。

採取したガーゼと綿棒は、ビニール袋に密閉し保冷庫に入れた状態で本学実験室へ運び、試料の調製をおこなった。

### 2. 褥瘡創面に使用したガーゼから抽出した試料を用いた実験

#### 1) 試料の調製方法

試料の調製方法は、採取したガーゼ（ガーゼサンプル・タッチガーゼ）を滅菌スピッツに入れ、phosphate buffered saline（以下、PBS）に浸し、タンパク質の分解を防ぐ為 1/10～1/100 量の protease inhibitor cocktail（Sigma）を加え、4 度にて約 18 時間静置し、タンパク質および HA 画分を抽出した。Ultrafree-CL Centrifugal Filter Units（Millipore）を使用し、遠心分離を 3,000 rpm にて 1 分間おこない、ガーゼと液体成分に分離後ガーゼを除去し、さらに液体は 12,000 rpm にて 30 分間遠心分離をおこない、上清と沈殿成分に分離し、上清を試料とした。

#### 2) タンパク定量

試料とする上清のタンパク量の測定を、Micro BCA™ Protein Assay Reagent Kit（Pierce Biotechnology）を使用し、その推奨プロトコールに従いおこなった。試料を

H<sub>2</sub>O にて適宜希釈後、調製した BCA 試薬を等量添加し、60 度で 30 分間反応後、WPA S1000 diode array spectrophotometer (Biochrom) を用いて、562 nm にて吸光度を測定した。ウシ血清アルブミンを用いた標準曲線を使用し、各試料の吸光度値から読みとった数値からタンパク量を換算した。

### 3) 血清アルブミン定量

試料の血清アルブミン（以下、アルブミン）量の測定を、Human Albumin ELIZA Quantitation Set (Bethyl Laboratories) を使用し、その推奨プロトコールに従いおこなった。マイクロプレートに、Coating Buffer で 100 倍に希釈した抗体を、マイクロプレートの各ウェルに 100  $\mu$ l 添加し、室温で 60 分間静置した。各ウェルを洗浄後、Blocking Solution を 200  $\mu$ l 添加し、室温にて 30 分間静置した。全てのウェルを洗浄後、標準溶液と適宜希釈した試料を各ウェルに 100  $\mu$ l 添加後、室温にて 1 時間静置した。全てのウェルを洗浄後、100,000 倍に希釈した HRP 標識抗体を各ウェル 100  $\mu$ l 添加後、室温にて 1 時間静置した。全てのウェルを洗浄後、TMB (3,3', 5,5' tetramethylbenzidine) Substrate Solution を各ウェルに 100  $\mu$ l 添加後、遮光し、20 分間発色反応させた。1 M 硫酸を各ウェルに 100  $\mu$ l 加え、発色反応を停止させた後、マイクロプレートリーダー（モデル 680 装置 (Bio-Rad)）を用いて、吸光度を 450 nm にて測定した。標準溶液の濃度と吸光度値より標準曲線を作成し、標準曲線を用いて各試料の吸光度値から読みとった数値に、希釈倍率を乗じた値をアルブミン量とした。

### 4) ヒアルロン酸定量

試料中の HA 量を定量する為に、ヒアルロン酸測定キット（生化学バイオビジネス株式会社）を使用し、推奨プロトコールに従いおこなった。HA 固相化マイクロプレートを洗浄後、HA 標準溶液と、反応緩衝液にて適宜希釈した試料をマイクロプレートの各ウェルに 50  $\mu$ l 添加し、さらに、ビオチン標識 HABP（ビオチン化ヒアルロン酸結合タンパク質）溶液を各ウェル 50  $\mu$ l 添加した。マイクロプレート内の溶液をプレートミキサーにて 1 分間混和後、37 度で 60 分間静置した。全てのウェルを洗浄後、HRP 標識ストレプトアビジン溶液を 100  $\mu$ l 添加し、37 度で 60 分間静置した。全てのウェルを洗浄後、酵素基質溶液を 100  $\mu$ l 添加した。全てのウェルを遮光し、常温で 30 分間静置し発色反応させた後、反応停止液を 100  $\mu$ l 添加し、マイクロプレートリー

ダーを用いて、吸光度を 490 nm にて測定した。HA 標準溶液の濃度と吸光度値より標準曲線を作成し、標準曲線を用いて各試料の吸光度値から読みとった数値に、希釈倍率を乗じた値を HA 量とした。さらに、得られた HA 濃度を、タンパク量を用いてタンパク量 1  $\mu\text{g}$  あたりの HA 量を算出した。

#### 5) ヒアルロン酸ザイモグラフィ

褥瘡創部における HA 分解活性を調べるために、HA ザイモグラフィをおこなった。ガーゼサンプルより抽出した浸出液の上清 10  $\mu\text{l}$  と等量の Laemmli's sample buffer (Bio-Rad) を非還元条件にて混和後、170  $\mu\text{g}/\text{ml}$  濃度の HA (Sigma) を添加して作成をした 12.5%ポリアクリルアミドゲルの各ウェルに添加し、25 mA 固定にてポリアクリルアミド電気泳動をおこなった。泳動後のポリアクリルアミドゲルを 2.5% TritonX-100 (和光純薬工業株式会社) に浸し、2 時間、室温にて振盪した。その後、中性条件下では 10  $\times$  PBS (pH 7.4)、酸性条件下では 0.1 M sodium formate、0.15 M NaCl (pH 3.5) の incubation buffer を使用し、ポリアクリルアミドゲルを incubation buffer に浸し、incubation buffer を 24 時間毎に交換しながら、37 度で振盪した状態にて 3 日間反応させた。反応後、ポリアクリルアミドゲルを  $\text{H}_2\text{O}$  にて洗浄後、0.1  $\text{mg}/\text{ml}$  pronase (Calbiochem)、20 mM TrisHCl (pH 8.0) に浸し、37 度にて 1 時間振盪した。20% ethanol、10% acetic acid に浸し、室温にて 10 分間振盪後、ポリアクリルアミドゲルを染色するため、0.5% alcian blue、20% ethanol、10% acetic acid 染色液にて室温で 1 時間振盪し、その後、20% ethanol、10% acetic acid 溶液にて脱色した。ポリアクリルアミドゲルの HA 分解活性のある部分は、ブルーの背景に透明なバンドとして検出された。ポリアクリルアミドゲルは Gel Dry Solution (テフコ株式会社) に浸した後、セロファンに挟み乾燥させ、解析プログラム image J (NIH) を使用し、検出されたバンド部分の光学密度を測定した。タンパク量を用いて、タンパク量 1  $\mu\text{g}$  あたりの HA 分解活性を算出した。

#### 6) SHAP-HA 複合体の免疫染色 (Western blotting)

ガーゼサンプルより抽出した試料に対して、SHAP-HA 複合体の存在を分析するためにおこなった。各サンプルの最終的な HA 量を 3  $\mu\text{g}$  になるように計算し、サンプル量と等量の 50% DEAE を加え、4 度にてロータリーシェーカーを使用し 3 時間攪拌した。

全量を Micro Bio-Spin Chromatography Columns (Bio-Rad) に移し、6,000 rpm にて 3 分間遠心分離をおこない、その後、50 mM TrisHCl pH 8.0、0.15 M NaCl にて 2 回洗い、HA 分解酵素での消化をおこなった。HA 分解酵素で消化するサンプルには、緩衝液 (0.5 M NaOAc pH 5.0、2 mM PMSF、10 mM EDTA、10 mM NEM、0.1 M 6-アミノヘキサン酸) 45  $\mu$ l および HA 分解酵素 (生化学工業株式会社) 5  $\mu$ l (0.5TRU) を加え、消化しない試料には、緩衝液のみを 50  $\mu$ l 加え、50 度で 60 分間反応させた。反応させた各サンプルに Laemmli's sample buffer 還元 5  $\mu$ l を混和後、7.5% ポリアクリルアミドゲル (Mini-PROTEAN® TGX™ Precast Gels (Bio-Rad)) を使用し、200 V 定電圧にて電気泳動をおこなった。ポリアクリルアミドゲルからニトロセルロースメンブレン (以下、メンブレン) に転写 (Trans-Blot® Turbo™ Transfer System (Bio-Rad)) 後、PBS-tween (0.1% (v/v) tween 20) 20 ml にスキムミルク 2 g を溶解し、メンブレンをその溶液に浸し、42 度の保温槽内で 60 分間振盪しメンブレンのブロッキングをおこなった。一次抗体には、polyclonal rabbit anti-human inter-alpha-trypsin inhibitor (Dako) を 2,000 倍希釈にて使用し、室温で 1 時間メンブレンを振盪後、PBS-tween にてメンブレンを洗浄した。二次抗体は、polyclonal swine anti-rabbit immunoglobulins/horseradish peroxidase (Dako) を 10,000 倍希釈にて使用、室温で 1 時間メンブレンを振盪後、PBS-tween にてメンブレンを洗浄し、免疫染色をしたバンドを化学発光 (western lightning chemiluminescence reagent plus (PerikinElmer Life Sciences)) にて検出した。

### 3. 褥瘡創面に使用した綿棒から抽出した試料を用いた実験

#### 1) 試料の調製方法

採取した綿棒は、滅菌チューブに入れ、抽出液 (50 mM TrisHCl pH 7.5、1 mM PMSF、1% protease inhibitor cocktail (Sigma)、6 M GuHCl) に浸し、4 度にてロータリーシェーカーで攪拌しながら 48 時間抽出をおこなった。新しい滅菌チューブに抽出液を移し、さらに 12,000 rpm にて 20 分間遠心分離をおこない、上清と沈殿成分に分離し、その上清を試料とした。

#### 2) 抽出した試料の透析

綿棒から抽出した試料の一部に、透析をおこなった。Slide-A-Lyzer MINI Dialysis

Units (Thermo) を使用し、透析液 (50 mM TrisHCl pH 8.0、0.15 M NaCl) をスターラーバーで攪拌しながら、試料の入った容器を浸し、4 度にて 24 時間透析をおこない、透析後試料を回収した。

### 3) タンパク定量

透析未実施および透析実施後の試料のタンパク量の測定を、Micro BCA™ Protein Assay Reagent Kit (Pierce Biotechnology) を使用し、その推奨プロトコールに従いおこなった。プロトコールは、「V. 実験方法、2. 褥瘡創面に使用したガーゼから抽出した試料を用いた実験、2) タンパク定量」の記載方法と同様の方法である。同様に標準曲線を使用し、各試料の吸光度値から読みとった数値からタンパク量を換算した。

### 4) 血清アルブミン定量

透析後の試料のアルブミン量の測定を、Human Albumin ELIZA Quantitation Set (Bethyl Laboratories) を使用し、その推奨プロトコールに従いおこなった。詳細は、「V. 実験方法、2. 褥瘡創面に使用したガーゼから抽出した試料を用いた実験、3) 血清アルブミン定量」の記載方法と同様の方法であり、標準曲線を用いて各試料の吸光度値から読みとった数値に、希釈倍率を乗じた値を血清アルブミン量とした。

### 5) ヒアルロン酸定量

透析後の試料の HA 量の測定を、ヒアルロン酸測定キット (生化学バイオビジネス株式会社) を使用し、推奨プロトコールに従いおこなった。詳細は、「V. 実験方法、2. 褥瘡創面に使用したガーゼから抽出した試料を用いた実験、4) ヒアルロン酸定量」の記載方法と同様の方法であり、タンパク量 1  $\mu\text{g}$  あたりの HA 量を算出した。

### 6) ドットブロット

綿棒より抽出した試料に対して、inter-alpha-trypsin inhibitor (ITI)、ビクニン、バーシカンの HA 結合部位である G1 domain (Wight, 2002) および ADAMTS (Sandy, et al. 2001) による切断部位、フィブロネクチン、デコリンの存在を分析するためにドットブロットをおこなった。試料のタンパク量を 0.2  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  に合わせて、1 スポット各 1~2  $\mu\text{l}$  をニトロセルロースメンブレンにスポットし、室温にて乾燥剤入りタッパーに

入れて 60 分間乾燥させた。PBS-tween 20 ml にスキムミルク 2 g を溶解しその溶液を用いて、メンブレンのブロッキングを 42 度で 60 分間おこなった。免疫染色のための一次抗体および二次抗体は、ITI の検出に対して polyclonal rabbit anti human inter alpha trypsin inhibitor (Dako) を 5,000 倍希釈および polyclonal swine anti rabbit immunoglobulins/horseradish peroxidase (Dako) を 10,000 倍希釈で使用し、ビクニンに対しては、抗ヒト urinary trypsin inhibitor (rabbit) を 2,000 倍希釈および polyclonal swine anti rabbit immunoglobulins/horseradish peroxidase (Dako) を 10,000 倍希釈、バーシカン G1 domain に対して、polyclonal 6084 anti rabbit antibody を 2,000 倍希釈および polyclonal swine anti rabbit immunoglobulins/horseradish peroxidase (Dako) を 10,000 倍希釈、バーシカンの ADAMTS 切断部位に対して、polyclonal 8531 anti rabbit antibody を 2000 倍希釈および polyclonal swine anti rabbit immunoglobulins/horseradish peroxidase (Dako) を 10,000 倍希釈、フィブロネクチンに対して、抗ヒト plasma fibronectin 抗体 (LSL) 4,000 倍希釈および polyclonal swine anti rabbit immunoglobulins/horseradish peroxidase (Dako) を 30,000 倍希釈、デコリンに対して、Human decorin antibody (monoclonal/polyclonal) (R&D system) 各 2,000 倍希釈および monoclonal 抗体には polyclonal goat anti mouse immunoglobulins/horseradish peroxidase (Dako) を 20,000 倍希釈、polyclonal 抗体には polyclonal rabbit anti goat immunoglobulins/horseradish peroxidase (Dako) 20,000 倍希釈を用いた。抗ヒト urinary trypsin inhibitor (rabbit) は、本学研究室で確立したものを使用し、polyclonal 6084 anti rabbit antibody および polyclonal 8531 anti rabbit antibody は他研究室より寄贈を受け使用した。メンブレンのブロッキング後、各一次抗体に室温で 1 時間メンブレンを振盪した後、PBS-tween にてメンブレンを洗浄した。各二次抗体に室温で 1 時間メンブレンを振盪した後、PBS-tween にてメンブレンを洗浄し、免疫染色をしたバンドを化学発光 (western lightning chemiluminescence reagent plus) にて検出した。解析プログラム image J を使用し、検出されたスポット部分の光学密度を測定した。各ポジティブコントロールより標準曲線を作成し、試料に含まれる各分子のタンパク量 1  $\mu$ g あたりの濃度を算出した。ただし、バーシカンの検出に対して polyclonal 6084 anti rabbit antibody および polyclonal 8531 anti rabbit antibody を使用しているが、化学発光による両者の検出において同程度の輝度が得られず比較が困難なため、polyclonal 6084 anti rabbit

antibody による検出結果はポジティブコントロール 2.5 ng を 3,000 density として補正し、polyclonal 8531 anti rabbit antibody の検出結果はポジティブコントロール 10 µg を 4,000 density として補正した。SHAP-HA 複合体量について、SHAP-HA 複合体の形成は前述のように、ビクニンと HA が置き換わり、HA と ITI が結合することで形成され組織に蓄積され、一方でビクニンは代謝される。そのため、ドットブロットより得られた ITI とビクニンの濃度を ITI の平均分子量 80 kDa、ビクニンの分子量 40 kDa を用いてモル濃度に換算し、ITI のモル濃度からビクニンのモル濃度を減じ、再度、質量に換算したものを SHAP-HA 複合体量とした。

### 3. データ解析方法

#### 1) 創面評価

創面所見の評価については、記載潰瘍学（永井他，2009）に従った。記載潰瘍学では、局所所見を「残存組織」「肉芽の色調・形態・性状」「創縁の状態」「周囲の皮膚所見」を体系的に観察し記載し治療へと繋げることを目的としている。本研究では、肉芽組織に着目しているため、特に「肉芽の形態・性状」について分類をおこなった。肉芽組織の形態としては細顆粒状、粗大顆粒状、平坦、舌状・茸状等に評価し、性状については浮腫状、硬化性、乾燥性に評価する。これら分類については、分析結果はしめさない状態で記載潰瘍学の著者でもある磯貝氏の協力を得ておこなった。

#### 2) 解析方法

実験から得られたデータについて、創面からの浸出液の全体量を明確にできないため、各創面を比較検討するためにタンパク量を基準とすることとし、各データについて、各タンパク量で除した値を用いた。

創面所見と実験から得られたデータについて、2 群間の比較には t 検定をおこない、1 つの群が 25 例に満たない場合は、Mann-Whitney の U 検定をおこなった。3 群以上の比較では一元配置分散分析をおこない、1 つの群が 25 例に満たない場合は、Mann-Whitney の U 検定後、Bonferroni の p 値補正下で多重比較をおこなった。これらの結果は平均値±標準偏差値でしめた。検定の結果について有意水準を 5%とした。検定には、IBM SPSS Statistics Version 22 を使用した。

## VI. 倫理的配慮

### 1. 研究の対象とする個人の人權の擁護

#### 1) 自由な意思決定の尊重

(1) 本研究の対象者は、皮膚潰瘍を伴う褥瘡を発症し加療目的にて入院した患者で、かつ、独立行政法人国立長寿医療研究センター、先端診療部皮膚科医長、磯貝氏が研究代表者となる「創面蛋白を用いた褥瘡、皮膚潰瘍に対する評価方法と創傷薬理学の樹立」の研究参加者で、磯貝氏より紹介を受け、本研究への参加に対して、本人から書面により本研究参加の同意を得られた対象者を対象とし研究をおこなった。ただし、本人の承諾出来る能力に障害がある場合には、家族を代諾者として同意を得ることとした。

(2) 担当医からの紹介となるため研究参加に対して強制力が働くおそれが考えられた。そのため、説明時には、研究の参加不参加にかかわらず不利益は生じないこと、治療や看護が変わらず受けられることを説明した。また、同意書は、説明後に本人または代諾者にお渡しし、検討後、独立行政法人国立長寿医療研究センター事務担当に渡していただくようにすることで、断りにくい状況を排除するようにした。

#### 2) プライバシーの保全のための配慮（データの管理を含む）

(1) 対象者のプライバシーを尊重し、電子カルテ端末からの情報収集に際しては、上記、「IV. 研究方法、3. 褥瘡および対象者のデータ、2) 情報収集項目」に記載した項目のみ閲覧および情報収集をおこない、それ以外のデータについては一切閲覧しない。個人情報については秘密厳守し、研究の結果から得られるいかなる情報も研究の目的以外に使用しないこととした。

(2) 褥瘡創面を撮影した写真は、創面状態の評価をするために使用し、浸出液等の分析結果の変化と創面状態の変化との関連および対象者のデータとの関連について検討するために使用する。画像データは、個人が特定されないように、独立行政法人長寿医療研究センターにて、コード番号のみ表示したデータにした後、本学に持ち込んだ。

(3) 研究結果は学会発表、学術論文として発表するが、その場合も対象者のプライバシーは守秘することとした。

(4) 対象者の氏名はコード化し、全てのデータおよびサンプルはコード番号にて整理した。またコード表については、コード番号と対象者名が連結しているため、磯貝氏に

よって独立行政法人長寿医療研究センターにて保管され、研究者はコード番号のついたサンプルとデータシート（別紙 2）のみを本学に持ち込んだ。

(5) 対象者に関するデータ収集は研究に必要となる範囲のみとし、その内容は「Ⅳ. 研究方法、3. 褥瘡および対象者のデータ、2) 情報収集項目」の通りである。転記したデータについては、コード番号により管理し、個人が特定されないようにした。

(6) 画像データを含むすべてのデータは認証機能付きフラッシュメモリーを使用し、フラッシュメモリーは院生室内鍵付きロッカーにて保管した。また、分析作業に使用するパソコンは外部と接続していないパソコンを使用した。

(7) 研究終了後、磯貝氏が保管しているコード番号表（別紙 1）はシュレッダーにて廃棄し、個人とデータの連結を遮断し対象者の匿名性を保持する。画像データを含むすべてのデータは、すべての研究終了後に、データシート（別紙 2）はシュレッダーにかけ、フラッシュメモリー内の画像データを含むすべてのデータは消去を行い、適切な方法で削除する。

### 3) 研究方法等の安全性の確保

(1) サンプルとするガーゼと綿棒からの浸出液採取は、磯貝氏の治療における処置時に研究者が同席し採取するため、対象者への不利益は生じない。処置の同席に際して、あらかじめガーゼや綿棒を入れるビニール袋やカメラを手元に準備し、サンプル収集に時間をかけないように配慮し、対象者の負担とならないようにした。また、本研究では、処置に使用されたガーゼと綿棒を対象とし、本研究のためにガーゼを使用するのではなく、通常の治療において被覆材として使用されたガーゼと、処置時に水分除去のために使用されたガーゼおよび綿棒であり、研究のために処置方法を変更すること、および、サンプル採取のために侵襲を加えることは無い。

(2) ガーゼおよび綿棒より抽出したサンプルはタンパク質の一部であり、遺伝情報を手に入れることはない。

(3) 採取したガーゼと綿棒、ガーゼと綿棒からの抽出物、抽出時に使用したディスプレイ器具の処理は医療廃棄物として本学内で処理した。

## 2. 研究等の対象者へ理解を求め同意を得る方法

### 1) 対象者

## **(1)研究についての説明内容と方法**

本研究の対象者は、皮膚潰瘍を伴う褥瘡を発症し加療目的にて入院した患者で、かつ、磯貝氏が研究代表者となる「創面蛋白を用いた褥瘡、皮膚潰瘍に対する評価方法と創傷薬理学の樹立」の研究参加者で、磯貝氏より紹介を受け、磯貝氏と別席で、本研究への参加に対して、対象者本人または代諾者に説明文を用いて本研究において研究者が何を実施するのかを文書と口頭で説明をおこなった。

以下の条件に該当する対象者は除外する。創傷治癒の遅延に影響するためコントロール不良な糖尿病患者、および、2 週間以上経過を観察することが不可能と判断される患者、褥瘡の状態が急性期の状態にある患者、療養環境やケアが均一でなくなるため外来患者は除外した。

研究協力依頼書（別紙 5）では、研究目的、研究方法、個人情報保護、研究参加による利益、不利益について、研究への参加、不参加、中断の自由、研究成果の公表および研究者連絡先について記載し、これを用いて対象者または代諾者に、研究者が説明をおこなった。

## **(2)同意を得る方法**

本研究への参加の同意を、本人から、了解を著した同意書への署名をもって確認した。ただし、本人の承諾出来る能力に障害がある場合には、家族を代諾者として了解を著した同意書への署名をもって確認した。説明後に同意書を本人または代諾者にお渡しし、同意書への署名が得られたかは、独立行政法人国立長寿医療研究センター事務担当から連絡を受けることにより確認した。また、同意書は独立行政法人国立長寿医療研究センター総長宛とし、得られた同意書は独立行政法人国立長寿医療研究センターにて診療録に保管し、研究者は保持しない。

## **2) 研究実施施設長**

### **(1)研究についての説明内容と方法**

独立行政法人国立長寿医療研究センター総長へ研究協力依頼文、研究計画書および別紙を提出し、文書および口頭で、研究目的、研究方法、依頼内容（研究対象者の褥瘡処置に同席し、ガーゼおよび綿棒での浸出液の採取を行うこと、医療データの閲覧と情報収集）、研究実施に際しての倫理的配慮について説明し、病院での研究実施について承諾を依頼した。

## (2)承諾を得る方法

承諾書に署名をいただくことにより確認した。

## VII. 研究結果

### 1. 対象者および対象創面の属性・看護ケア

#### 1) 対象者および対象創面の属性

ガーゼ採取の対象者は 15 名であり、男性 9 名、女性 6 名であった。年齢は、36 歳から 92 歳、平均年齢 71.2 歳（標準偏差 $\pm$ 16.5 歳）であった（表 1）。BMI（Body Mass Index）は、18.5 以上 25 未満の「普通」が 7 名と最も多く、日常生活自立度は C2 が 6 名で多かった（表 1）。主な原疾患について表 1 にしめた。認知症を合併していた対象者が 8 名いた。対象者 15 名の内、3 部位に褥瘡が発生していた対象者が 2 名、2 部位に発生していた対象者が 4 名、1 部位に発生していた対象者が 9 名であり、この内 NPUAP 分類Ⅲ度以上の 21 創面から経時的にサンプルを採取した。経時的サンプル採取回数は、1 回から 18 回まで、対象者の全身状態の変化や入院期間によって異なった。21 創面の褥瘡発生部位は、仙骨部が最も多く 8 創面であり、深達度は NPUAP 分類のステージⅣが 14 創面であった（表 2）。表 3 では、基本的動作能力として自力体位変換能力等についてしめた。15 名中 14 名が自身での効果的な除圧ができない状態であった。

また、本研究内で分析予定の SHAP-HA 複合体の形成に関して血漿成分から供給される ITI が肝臓で合成されることより肝機能について情報収集したが、異常値が継続した対象者はいなかった。

栄養状態について血清アルブミン値をしめた（図 2）。15 名中 3 名がサンプル採取期間内に血液検査をおこなっていないため不明であったが、残り 12 名中 3 名が血清アルブミン値 2 g/dl 台を推移しており、残り 9 名は 2.6～3.7 g/dl の間を推移していた。褥瘡の栄養指標として 3～3.5 g/dl 以上を推奨されているが、高齢の対象者が多く推奨値を維持することは難しい状況であった。しかし、以下に DESIGN-R 点数の推移をしめすように、すべての創において改善傾向がみられた。

21 創面（W（wound）1～21）の DESIGN-R 点数の経時的推移を図 3 にしめた。すべての創面で点数の減少がみられており、創の状態は改善されていた。

| 表 1 対象者の属性 |          | n = 15 |
|------------|----------|--------|
|            |          | (人)    |
| 性別         | 男性       | 9      |
|            | 女性       | 6      |
| 年齢         | 平均年齢 (歳) | 71.2   |
|            | 標準偏差値    | 16.5   |
|            | 最高年齢 (歳) | 92     |
|            | 最小年齢 (歳) | 36     |
| BMI        | L        | 3      |
|            | M        | 7      |
|            | H        | 2      |
|            | 不明       | 3      |
| 日常生活自立度    | B1       | 2      |
|            | B2       | 3      |
|            | C1       | 4      |
|            | C2       | 6      |
| 疾患         | 基礎疾患     |        |
|            | 脊髄損傷     | 4      |
|            | 廃用症候群    | 3      |
|            | パーキンソン病  | 3      |
|            | 脳梗塞      | 2      |
|            | 心疾患      | 1      |
|            | 慢性閉塞性肺疾患 | 1      |
|            | ウェルニッケ脳症 | 1      |
| 認知症の合併     | 合併あり     | 8      |
|            | 合併なし     | 7      |

BMI (Body Mass Index) ;  
L: 18.5>, M: 18.5 ≤ >25, H: 25 ≤

日常生活自立度: 障害老人の日常生活自立度判定  
基準 (厚生労働省) に準ずる

| 表 2 褥瘡創面         |      | n = 21 |
|------------------|------|--------|
|                  |      | (創面)   |
| 発生部位             | 仙骨   | 8      |
|                  | 大転子  | 4      |
|                  | 腸骨   | 3      |
|                  | 尾骨   | 2      |
|                  | 坐骨   | 2      |
|                  | 外顆   | 1      |
| 踵                |      | 1      |
|                  |      |        |
| 深達度<br>(NPUAP分類) | IV度  | 14     |
|                  | III度 | 7      |

| 表 3 基本的動作能力等 |  | n = 15 |      |
|--------------|--|--------|------|
|              |  | できる    | できない |
| ベッド上         |  |        |      |
| 自力体位変換       |  | 3      | 12   |
| イス上          |  |        |      |
| 坐位姿勢の保持      |  | 4      | 11   |
| 荷重部の除圧       |  | 1      | 14   |
|              |  | ある     | ない   |
| 病的骨突出        |  | 4      | 11   |

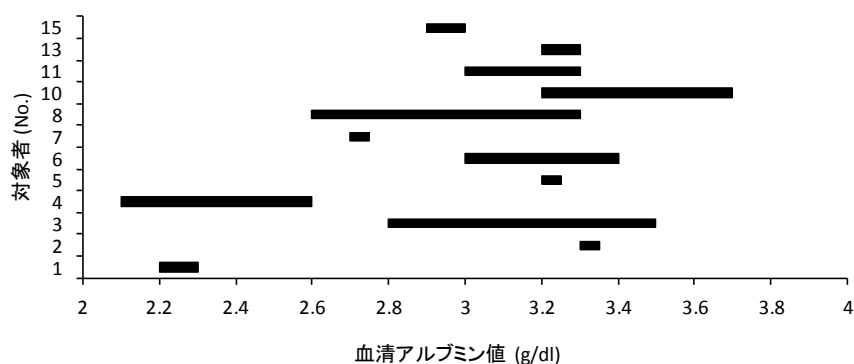


図 2 対象者の血清アルブミン値

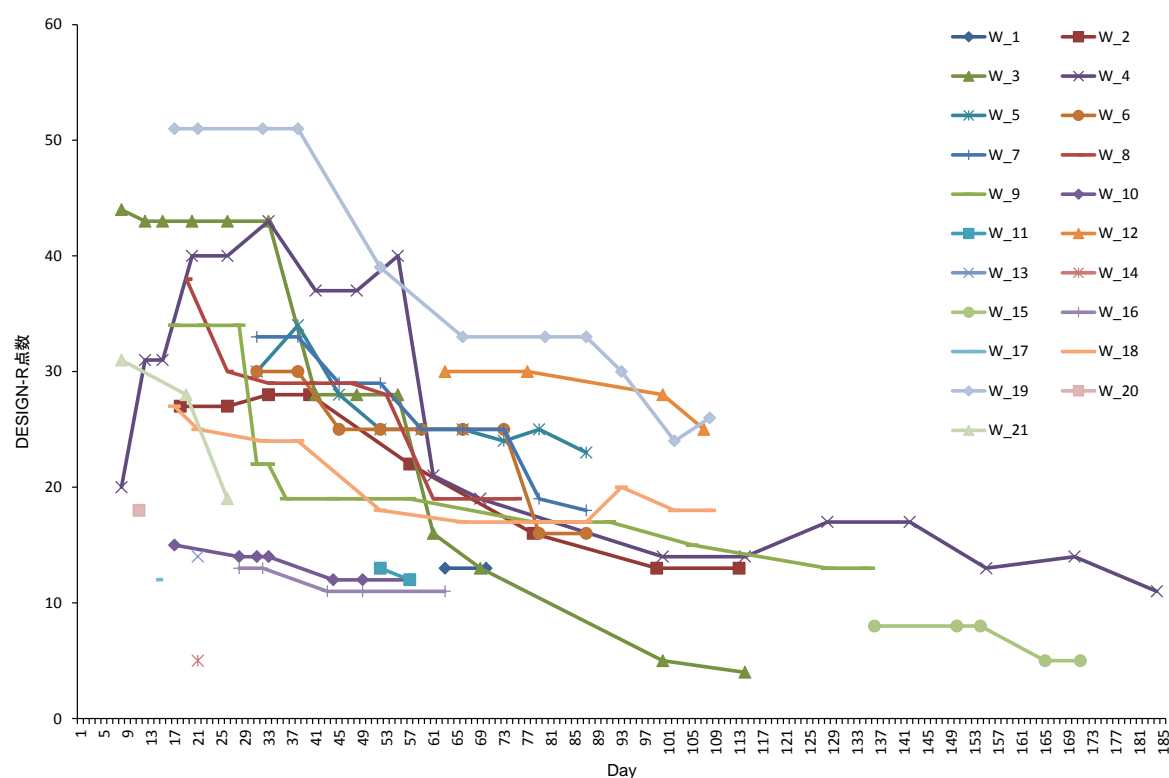


図3 各創面の DESIGN-R 点数の経時的推移

## 2) 対象者の看護ケア

体位変換は、自力体位変換不可能な対象者に対しては昼間 2 時間毎、夜間 3 時間毎におこなっていた。エアマット使用時は、1 日 3 回底付き確認がおこなわれていた。皮膚の清潔に関しては、週 2 回、対象者の全身状態に合わせて入浴または清拭と陰部洗浄がおこなわれていた。褥瘡創面の洗浄は、1 日 1 回、医師により処置時に生理食塩水 100 ml と綿棒を使用しておこなわれていた。入院期間中、これらのケアは共通して継続されており、標準的な看護がおこなわれていた。

## 2. ガーゼサンプルより抽出した試料の分析結果と褥瘡創面所見との関連

ガーゼサンプルとして 143 創面からガーゼを採取し、分析対象とした。各創面は、経時的に採取したサンプルにおいても、それぞれの治癒過程の中で固有の状態をしめしており、治癒過程における組織の状態を反映していると考えられるため、独立したサンプルとして扱い、分析をおこった。また、各創面の肉眼的所見による分類および創面数は表 4 のとおりである。

表 4 ガーゼサンプルの分類と創面数

|                               |                  | (創面) |
|-------------------------------|------------------|------|
| (A) 肉芽組織の形態                   | 細顆粒状             | 15   |
|                               | 粗大顆粒状            | 80   |
|                               | 平坦               | 34   |
| (B) 肉芽組織の性状                   | 良好               | 13   |
|                               | 浮腫性              | 64   |
|                               | 摩擦性              | 44   |
| (C) 壊死組織                      | あり               | 70   |
|                               | なし               | 73   |
| (D) 偽膜                        | あり               | 19   |
|                               | なし               | 124  |
| (E) 創縁と創底との段差                 | あり               | 101  |
|                               | なし               | 42   |
| (F) 創縁と創底との段差のあり創面内<br>ポケット有無 |                  |      |
|                               | あり               | 88   |
|                               | なし               | 13   |
| (G) ポケットがある創面内<br>ポケット深さ      | 浅い (深さが1 cm未満程度) | 58   |
|                               | 深い (深さが1 cm以上)   | 47   |

A、B については肉芽組織の肉眼的所見であり、C～G については褥瘡創面によく観察される所見であり肉芽組織に影響があると考えられる。また、肉芽組織の形態と性状の分類について、褥瘡の創面は通常ひとつの創面内において多用な所見が混在するため、分析対象とした浸出液の分析結果を最も代表すると考えられる、その創面において最も大きな範囲を占める部分を用いて分類し、壊死組織が多量に付着するなど評価不可能な創面は除外した。ガーゼより抽出した試料の分析結果と創面の各所見との関連を検討した。

#### 1) ヒアルロン酸量と褥瘡創面所見との関連

HA 量／タンパク量 (以下、HA 量) と創面所見との関連を図 4A～G にしめた。  
(A) 形態と (B) 性状については各所見に対して有意な差はみられなかった。有意な差がみられたのは (C) 壊死組織の有無、(F) ポケットの有無、(G) ポケットの深さ

の浅深の項目で、深いポケットを有する創面に HA 量が多かった（図 4A～G）。

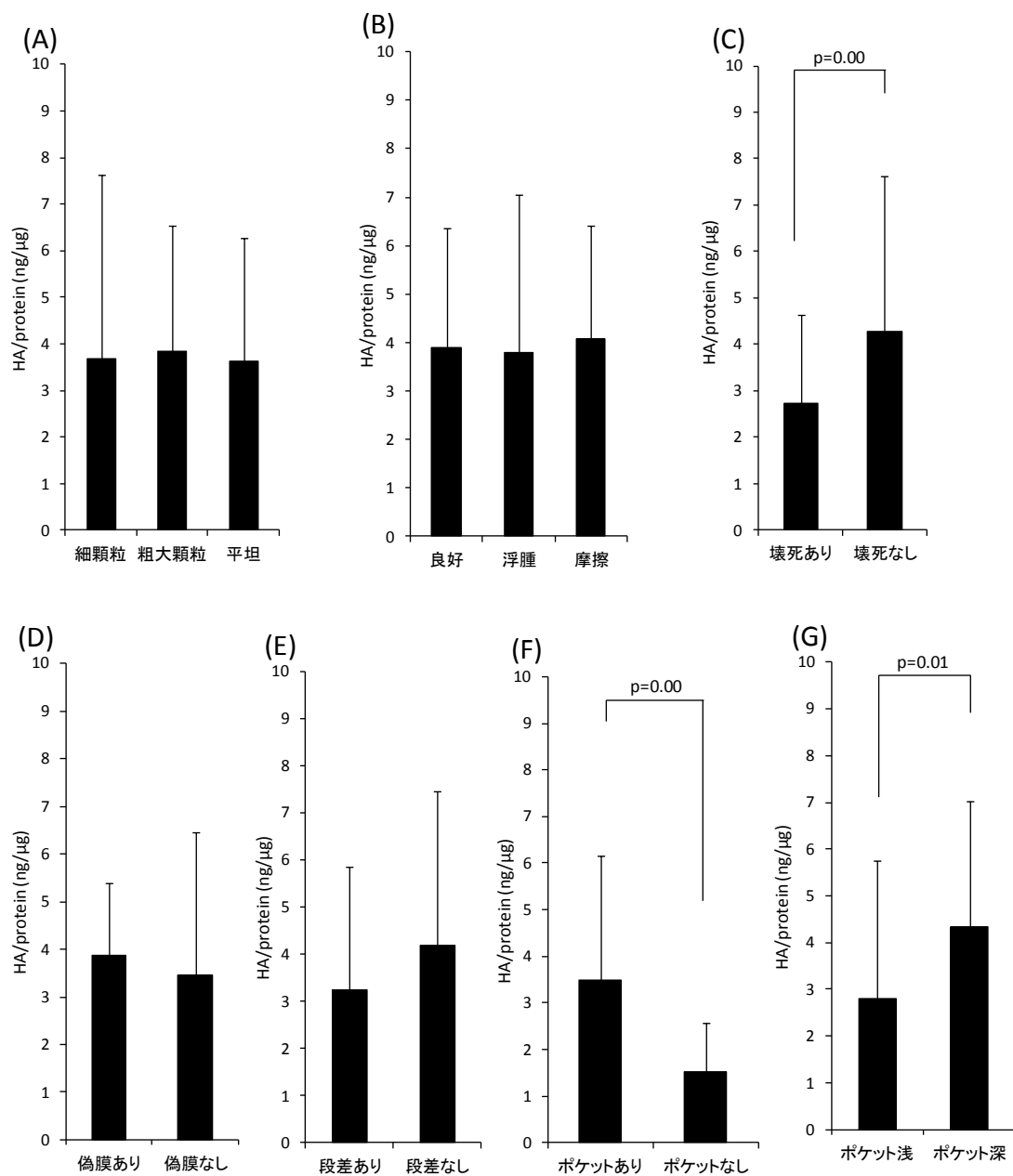


図 4 HA 量／タンパク量と創面所見の関連

(A)肉芽組織の形態（細顆粒 15 創面、粗大顆粒 80 創面、平坦 34 創面）、  
 (B)性状（良好 13 創面、浮腫 64 創面、摩擦 44 創面）、(C)壊死組織（あり 70 創面、なし 73 創面）、(D)偽膜（あり 19 創面、なし 124 創面）、(E)創縁と創底との段差（あり 101 創面、なし 42 創面）、(F)ポケット（あり 88 創面、なし 13 創面）、(G)ポケット形成がある創面のポケットの深さの浅深（浅 58 創面、深 47 創面）

## 2) ヒアルロン酸分解活性と褥瘡創面所見との関連

HA 分解活性は、(a) 中性領域での 200 kDa の大きさでの分解活性、酸性領域での (b) 200 kDa および (c) 75 kDa の大きさでの分解活性が検出できた。図 5 に HA 分解活性の検出のためにおこなった HA ザイモグラフィのポリアクリルアミドゲルの検出結果の一例をしめした。

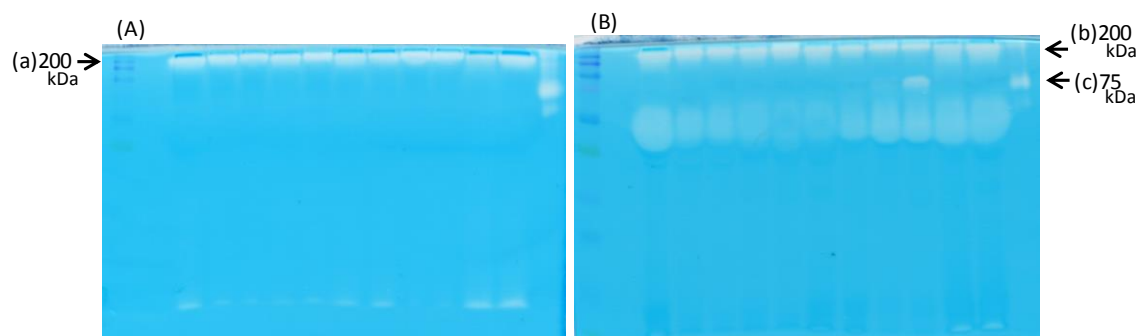
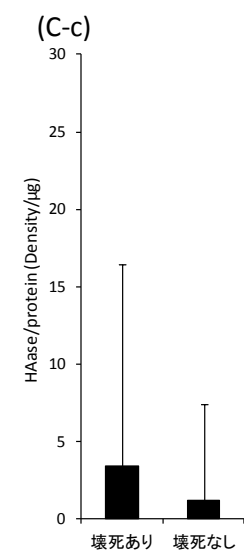
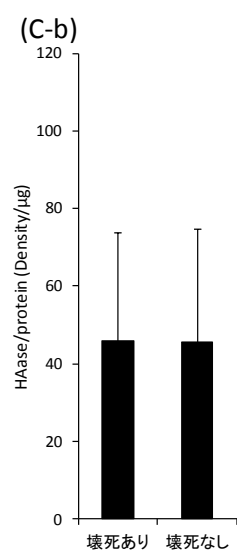
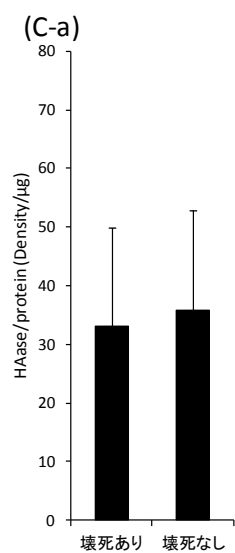
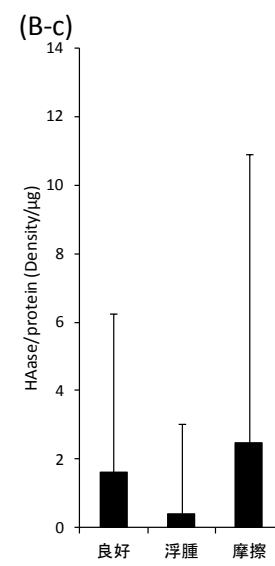
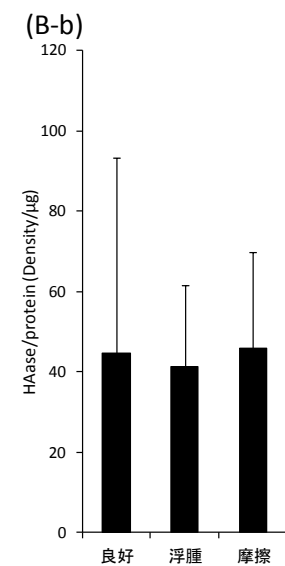
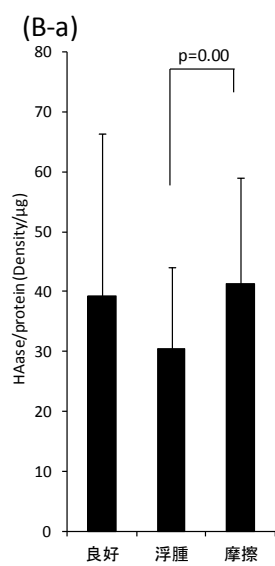
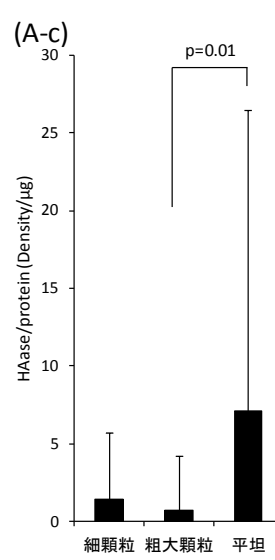
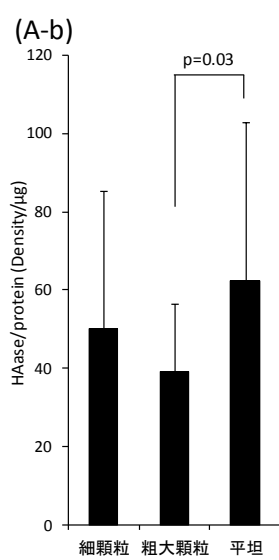
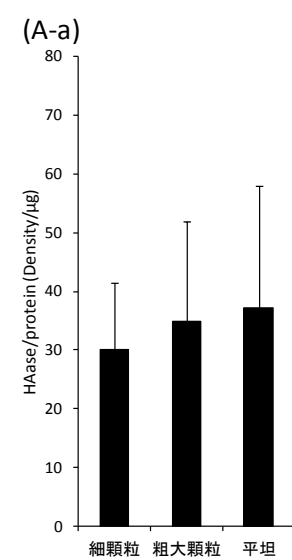
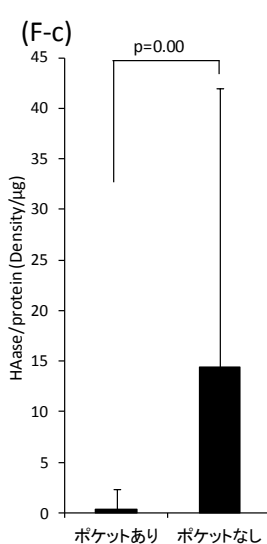
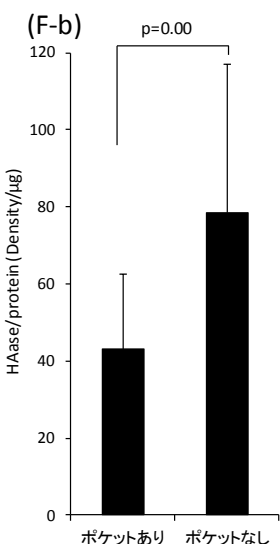
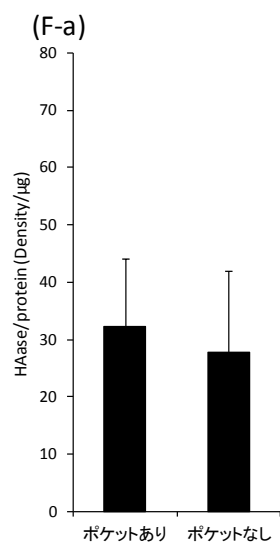
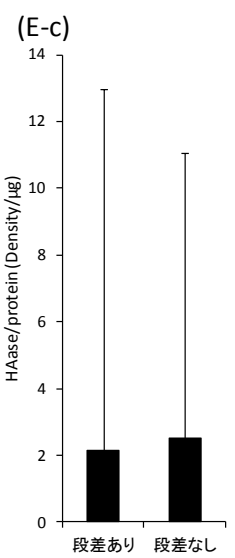
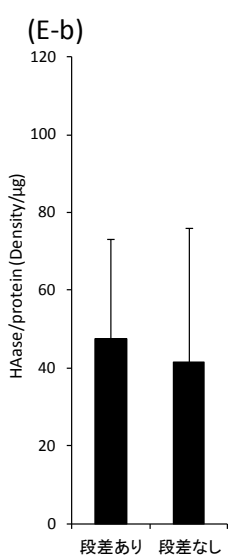
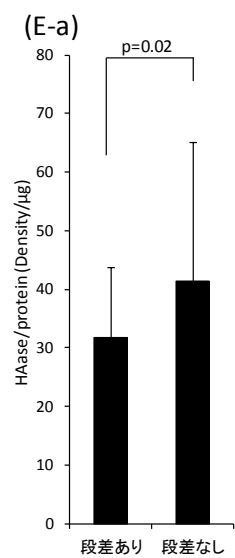
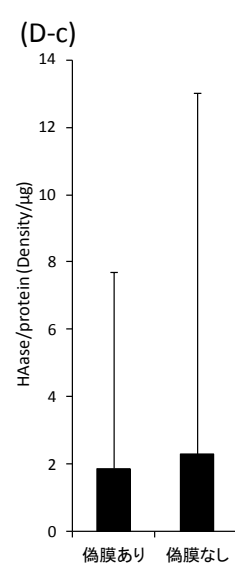
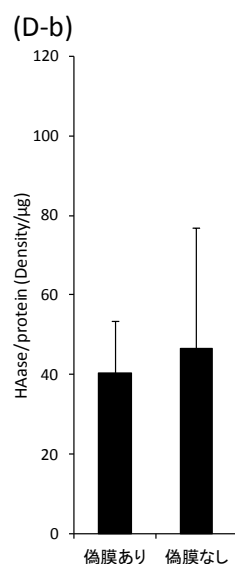
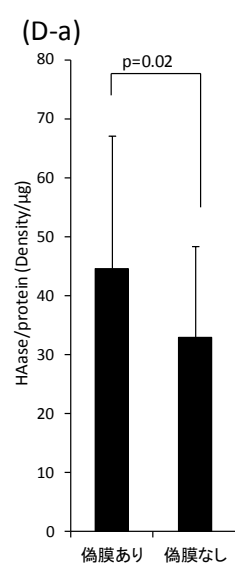


図 5 HA ザイモグラフィの検出結果の一例

(A)は HA 分解反応を中性溶液中でおこない、(B)は HA 分解反応を酸性溶液中でおこなったポリアクリルアミドゲルである。向かって左側に分子量をしめすマーカー、右側に HA 分解酵素のポジティブコントロール (75 kDa) が見える。青色の部分 HA の存在する部分であり、白色の部分 HA 分解活性のみられた部分である。(B)には、200 kDa と 75 kDa 部分に HA 分解活性がみられた。

それぞれの分解活性について創面所見との関連を検討した。HA 分解活性／タンパク量（以下、HA 分解活性）の結果を図 6 にしめした。形態については、粗大顆粒状に対して平坦な創面で酸性領域での HA 分解活性が有意に高く（図 6A－b、c）、酸性領域での HA 分解活性について細顆粒と比較すると、有意な差はなかったが粗大顆粒では低く、平坦では高い傾向がみられた。また、性状では中性領域での HA 分解活性が摩擦性創面で高く（図 6B－a）、良好と比較した場合、3 つの所見の中で浮腫性に低い傾向がみられた。壊死組織や偽膜の有無については、偽膜のある創面で中性領域での HA 分解活性に関連がみられたのみであった（図 6D－a）。また、創縁との段差の有無やポケットの有無については、段差のある創面で中性領域での HA 分解活性が低く（図 6E－a）、ポケットのある創面で酸性領域の HA 分解活性が低かった（図 6F－b、c）が、ポケットの深さについては有意な差はなかった（図 6G－a～c）。





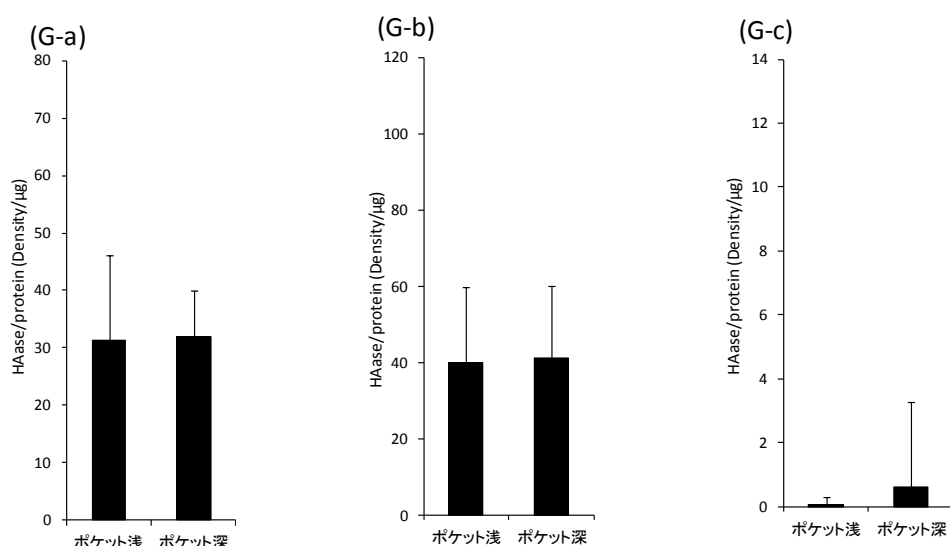


図 6 HA 分解活性／タンパク量と創面所見

(A)肉芽組織の形態（細顆粒 15 創面、粗大顆粒 80 創面、平坦 34 創面）、(B)性状（良好 13 創面、浮腫 64 創面、摩擦 44 創面）、(C)壊死組織（あり 70 創面、なし 73 創面）、(D)偽膜（あり 19 創面、なし 124 創面）、(E)創縁と創底との段差（あり 101 創面、なし 42 創面）、(F)ポケット（あり 88 創面、なし 13 創面）、(G)ポケット形成がある創面のポケットの深さの浅深（浅 58 創面、深 47 創面）をしめた。各項目において(a) HA 分解活性（中性領域）200 kDa、(b) HA 分解活性（酸性領域）200 kDa、(c) HA 分解活性（酸性領域）75 kDa をしめた。

### 3) SHAP-HA 複合体の有無と褥瘡創面所見との関連

SHAP-HA 複合体の存在と創面所見との関連について分析をおこなった。SHAP-HA 複合体は、HA 量が少ない部位には存在しないため、HA 含有量の多かったガーゼサンプル 56 創面に対して分析をおこない、29 創面に SHAP-HA 複合体が検出された。

図 7 に検出結果の例をしめた。HA 分解酵素（HAase）による消化あり（+）と消化なし（-）の 2 種類を各サンプルに対しておこない、（+）と（-）を比較している。この例では、3 つのサンプルをしめているが、3 サンプルとも（+）の 75 kDa に、（-）と比較して太いバンドが見られており（白色矢印）、HA 分解酵素により SHAP-HA 複体の HA が分解されたことによって、結合していた ITI が遊離し、その分解物が太いバンドとして検出されている。SHAP-HA 複体の存在しないサンプルで

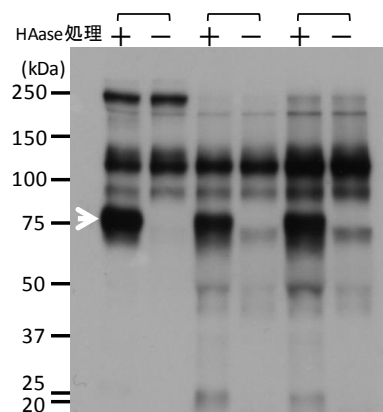


図 7 SHAP-HA 複体の検出例

は、(+) と (−) は全く同様のバンドが見られるのみであり、この図に見られるような差はない。

SHAP-HA 複合体と創面所見の関連について、SHAP-HA 複合体がどのような創面に存在していたかが問題であるため、SHAP-HA 複合体の検出された創面 29 創面を対象に、各創面所見に対して出現していたかを検討した。

創面所見の形態については粗大顆粒状形態に多く、性状は浮腫性と摩擦性の創面に多かった。また、ポケットを形成している創面に検出されており、さらに深いポケット形成のみられた創面で多く検出されていた (図 8A~G)。

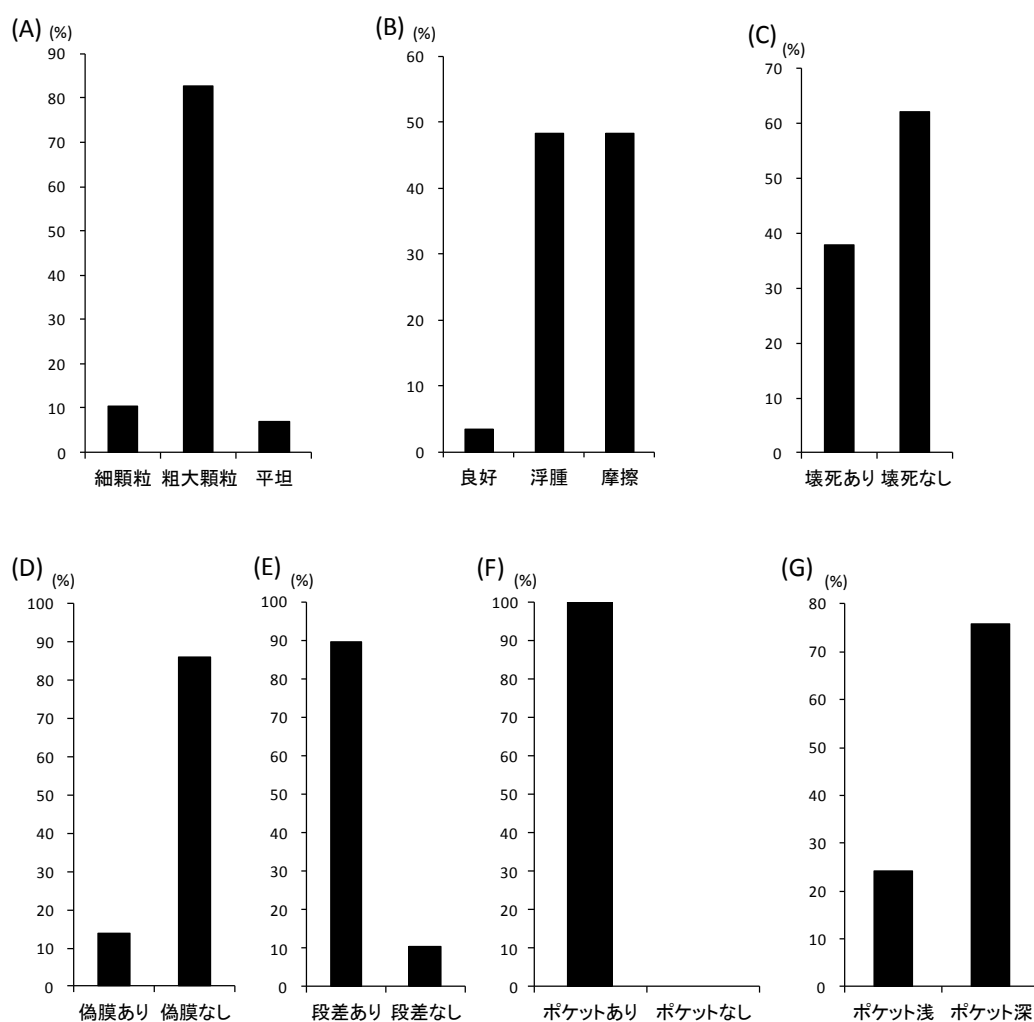


図 8 SHAP-HA 複合体が検出された 29 創面における創面所見との関連

(A)肉芽組織の形態 (細顆粒 3 創面、粗大顆粒 24 創面、平坦 2 創面)、(B)性状 (良好 1 創面、浮腫 14 創面、摩擦 14 創面)、(C)壊死組織 (あり 11 創面、なし 18 創面)、(D)偽膜 (あり 4 創面、なし 25 創面)、(E)創縁と創底との段差、(あり 26 創面、なし 3 創面)、(F)ポケット (あり 29 創面、なし 0 創面)、(G)ポケット形成がある創面のポケットの深さの浅深 (浅 7 創面、深 22 創面)

#### 4) アルブミン量と褥瘡創面所見との関連

アルブミン量は創部への血漿成分の流入を表しており、これは浮腫や炎症状態と関連していると考えられる。そのため、アルブミン量と創面所見との関連について検討した。粗大顆粒状の創面が平坦な創面に対して有意にアルブミン量が高かったが（図 9A）、浮腫性の創面については有意な差はみられなかった。また、創縁との段差のある創面、深いポケットのある創面に多かったが（図 9E、G）、ポケットについてはポケットのない創面の方にアルブミン量が多かった（図 9F）。

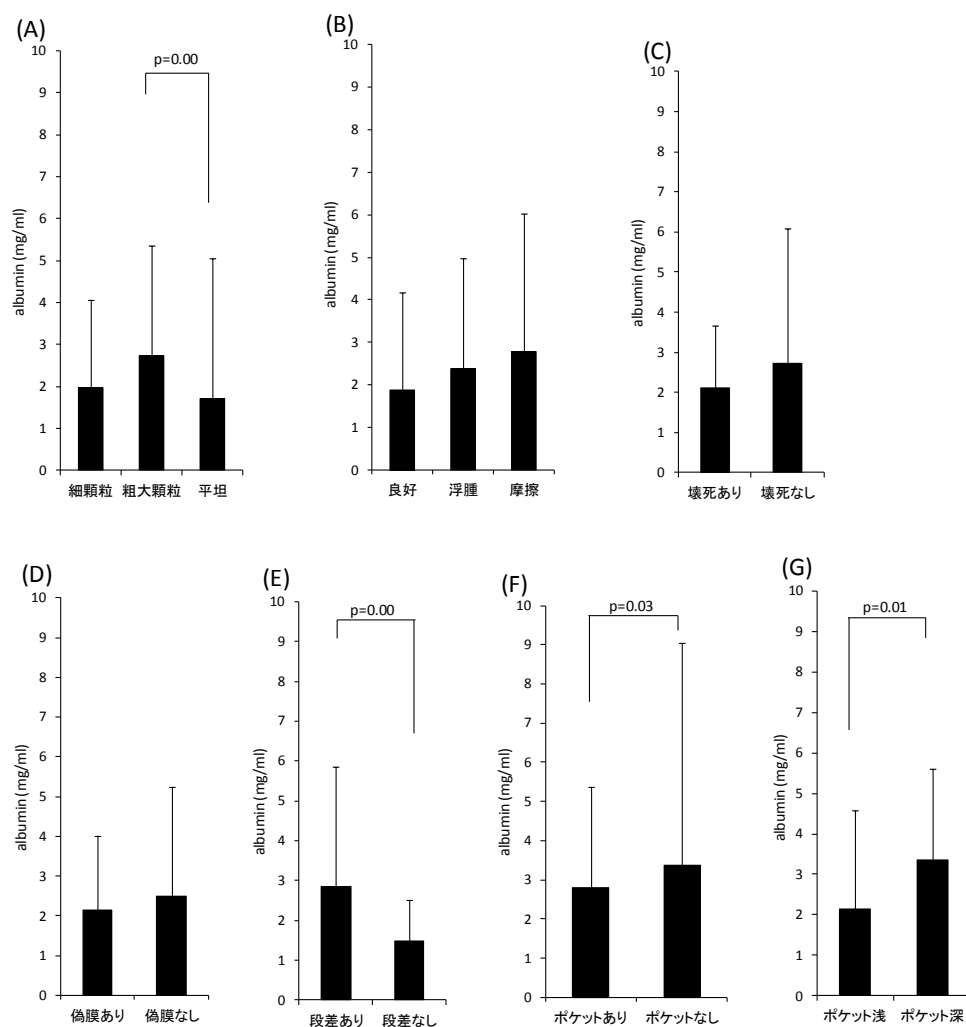


図 9 アルブミン量と創面所見との関連

(A)肉芽組織の形態（細顆粒 15 創面、粗大顆粒 80 創面、平坦 34 創面）、(B)性状（良好 13 創面、浮腫 64 創面、摩擦 44 創面）、(C)壊死組織（あり 70 創面、なし 73 創面）、(D)偽膜（あり 19 創面、なし 124 創面）、(E)創縁と創底との段差（あり 101 創面、なし 42 創面）、(F)ポケット（あり 88 創面、なし 13 創面）、(G)ポケット形成がある創面のポケットの深さの浅深（浅 58 創面、深 47 創面）

## 5) タンパク量と褥瘡創面所見との関連

創面の形態としては、平坦な創面でタンパク量が有意に低く、また、性状では良好な創面でタンパク量が有意に低かった（図 10A、B）。

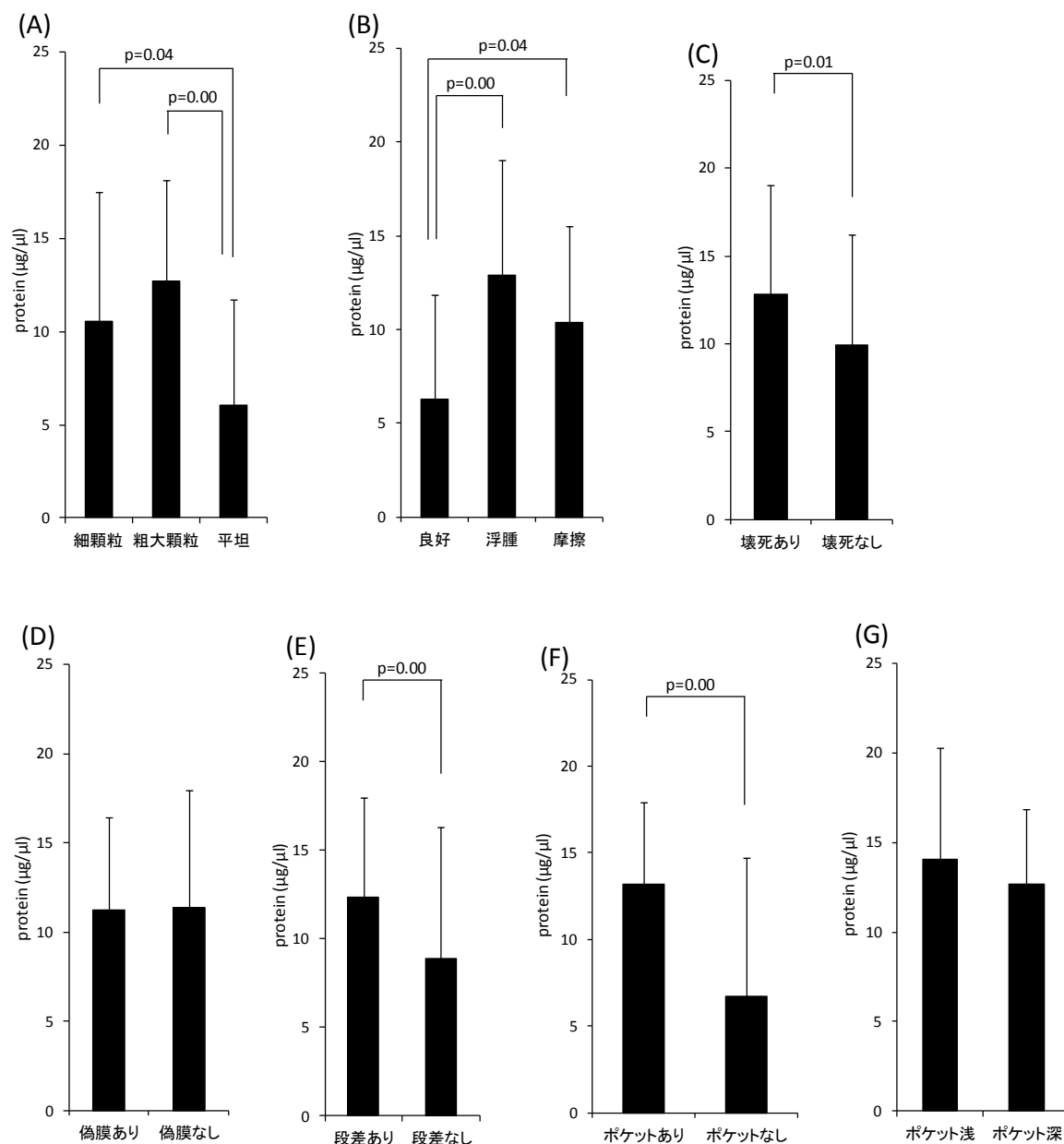


図 10 タンパク量と創面所見との関連

(A)肉芽組織の形態（細顆粒 15 創面、粗大顆粒 80 創面、平坦 34 創面）、(B)性状（良好 13 創面、浮腫 64 創面、摩擦 44 創面）、(C)壊死組織（あり 70 創面、なし 73 創面）、(D)偽膜（あり 19 創面、なし 124 創面）、(E)創縁と創底との段差（あり 101 創面、なし 42 創面）、(F)ポケット（あり 88 創面、なし 13 創面）、(G)ポケット形成がある創面のポケットの深さの浅深（浅 58 創面、深 47 創面）

## 6) ガーゼサンプルの分析結果と創面所見との関連についてのまとめ

褥瘡創面所見の形態および性状と、HA 量、HA 分解活性との関連をまとめた(表 5)。

表 5 ガーゼサンプルと創面所見（形態・性状）の関連

| 創面所見<br>形態・性状 | HA量<br>／タンパク量 | HA分解活性／タンパク量 |          |
|---------------|---------------|--------------|----------|
|               |               | 中性領域         | 酸性領域     |
| 細顆粒           | 有意な差なし        | (低い傾向)       | (中程度の傾向) |
| 粗大顆粒          | 有意な差なし        | (中程度の傾向)     | 低い       |
| 平坦            | 有意な差なし        | (高い傾向)       | 高い       |
| 良好            | 有意な差なし        | (中程度の傾向)     | (中程度の傾向) |
| 浮腫            | 有意な差なし        | 低い           | (低い傾向)   |
| 摩擦            | 有意な差なし        | 高い           | (高い傾向)   |

( ) は有意な差はなし

肉芽組織の形態については、HA 量に有意な差はみられなかったが、粗大顆粒状の創面より平坦な創面に HA 分解活性の酸性領域 200 kDa および 75 kDa が有意に高かった。

肉芽組織の性状については、形態と同様に HA 量に有意な差はなかったが、HA 分解活性の中性領域での分解活性が、浮腫性の創面で有意に低く、摩擦性の創面で HA 分解活性が高かった。

また、壊死組織や偽膜の有無、創縁との段差の有無についても、表 6 にまとめたように違いがみられた。

表 6 ガーゼサンプルと創面所見の関連

| 創面所見    | HA量<br>／タンパク量 | HA分解活性／タンパク量 |        |
|---------|---------------|--------------|--------|
|         |               | 中性領域         | 酸性領域   |
| 壊死 有    | 少ない           | 有意な差なし       | 有意な差なし |
| 偽膜 有    | 有意な差なし        | 高い           | 有意な差なし |
| 段差 有    | 有意な差なし        | 低い           | 有意な差なし |
| ポケット 有  | 多い            | 有意な差なし       | 低い     |
| ポケット 深い | 多い            | 有意な差なし       | 有意な差なし |

特にポケットについて、ポケットが形成されている創面で HA 量は多く、さらに、ポケットが形成されている創面の中で深いポケットが形成されている創面の方が、HA 量が多かった。HA 分解活性は、ポケットの形成されている創面で酸性領域での HA 分解活性が低かった。

浮腫性や摩擦性の所見、また、ポケット形成は褥瘡治療やケアにおいて大きな問題

となるが、HA 量や HA 分解活性がそれぞれ異なる特徴がしめされた（表 5、6）。

SHAP-HA 複合体の有無に関しては、粗大顆粒状の形態がみられる創面や浮腫性および摩擦性の性状の創面に多く検出されていた。また、SHAP-HA 複合体が検出された創面はすべてポケットを形成しており、特に深いポケットを形成している創面で多く検出されていた。

### 7) タッチガーゼより抽出した試料を用いた実験結果

ガーゼサンプルは、創部に 24 時間貼付していたものを回収し、ガーゼに含まれる浸出液から HA 等を抽出しサンプルとして使用しているため、貼付中にそれら成分が分解されている可能性もある。そのため、サンプル採取当日に使用したガーゼ（タッチガーゼ）からの分析を検討した。しかし、タッチガーゼの HA 等のサンプルの抽出量が少なく、例えば、HA 分解活性を得るための HA ザイモグラフィでは 5～10 倍の濃縮が必要であった（Centrifugal filter units amicon (Millipore)）。そのため、サンプルの抽出量が少ないことによってその結果が保証できないと考え、本研究の分析には使用出来なかった。

### 3. 綿棒より抽出した試料による実験結果

綿棒サンプルは、ガーゼサンプルを採取した創面の内の 7 創面（wound 1～7）（仙骨 4 創面、大転子 2 創面、腸骨 1 創面）から採取しており、創面の大きさによって各創面 3～5 本の綿棒サンプルを採取し、綿棒サンプル 255 個を分析対象とした。

綿棒によるサンプルは、サンプル採取当日に採取できるため成分の分解がなく、多様な所見が混在する褥瘡創面において採取部位の所見を特定しやすい。ガーゼでは、創面の全体像として HA 量や HA 分解活性、SHAP-HA 複合体の有無について分析をおこなった。さらに、綿棒サンプルの分析によって、それら創面所見の詳細を HA の形質変化を含め、明らかにしたいと考えた。

検出結果の例を図 11 にしめた。この検出例の場合、白×印部分を除く縦 6 横 6 のマス目に各

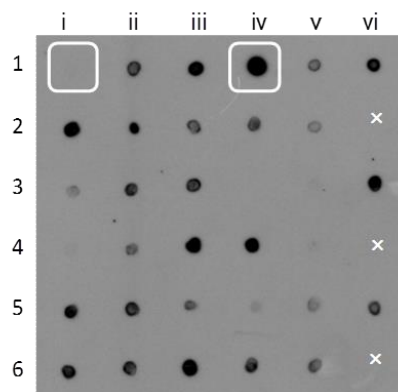


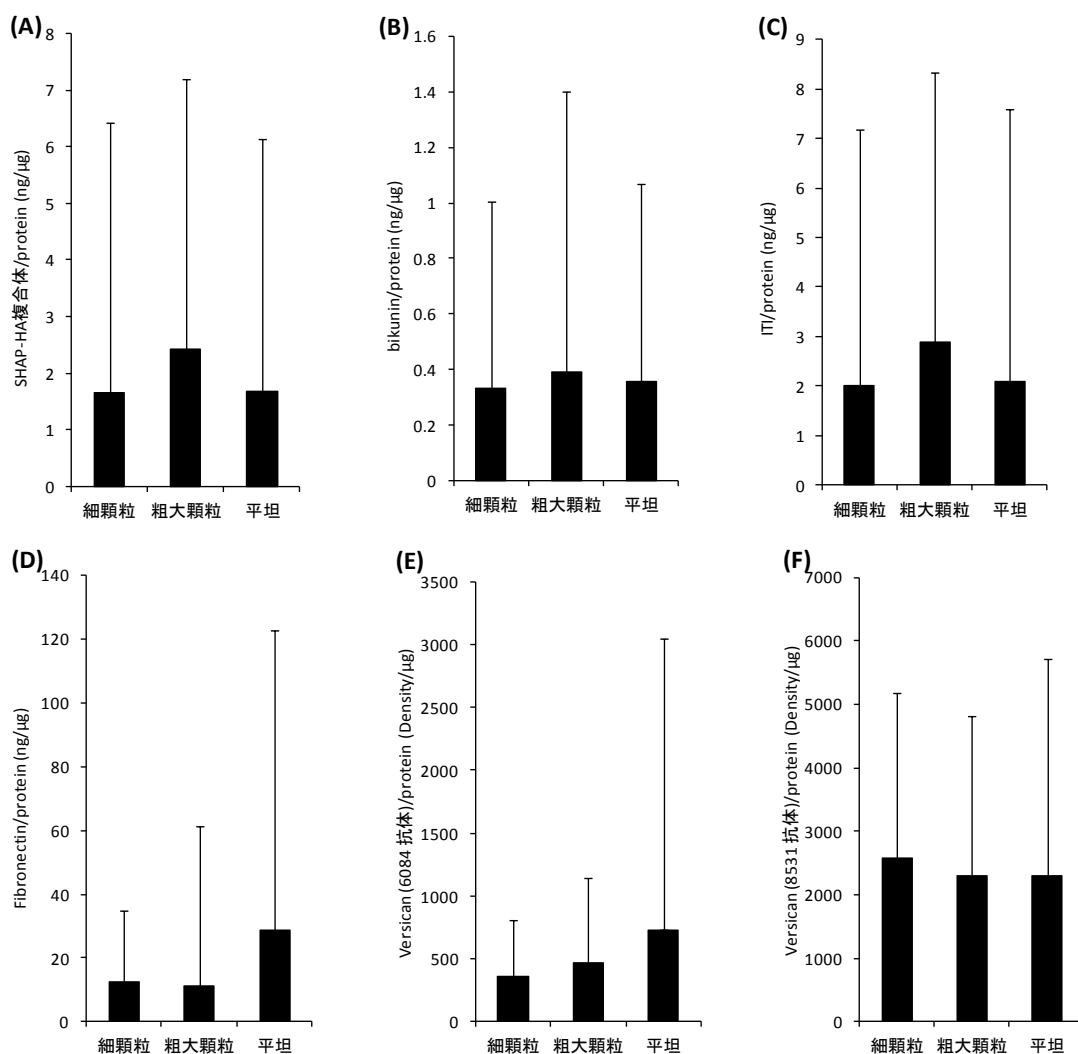
図 11 ドットプロットの検出例

サンプルをスポットしてあり、そのサンプルに含まれる各成分の量により、抗体と反応し黒色のドットとして検出できている。例えば 1-i 部分は黒色のドットがなく、使用した抗体に反応する分子が含まれていないことを意味する。同様に 1-iv は、大きな黒色のドットが見られており、この使用した抗体に反応する分子がサンプル内に多く含まれていることを意味している。

## 1) 肉芽組織の各形態、性状およびポケット形成による各分子の量的な違い

綿棒サンプルを採取部位の創面所見により分類し、各タンパク成分の量的な違いを比較した。

まず形態については、細顆粒状 56 個、粗大顆粒状 123 個、平坦 47 個 ((I)、(J)) については透析後のサンプルを使用しており細顆粒状 36 個、粗大顆粒状 57 個、平坦 24 個) に分類することができ、これらに有意な差はなかった (図 12A~J)。



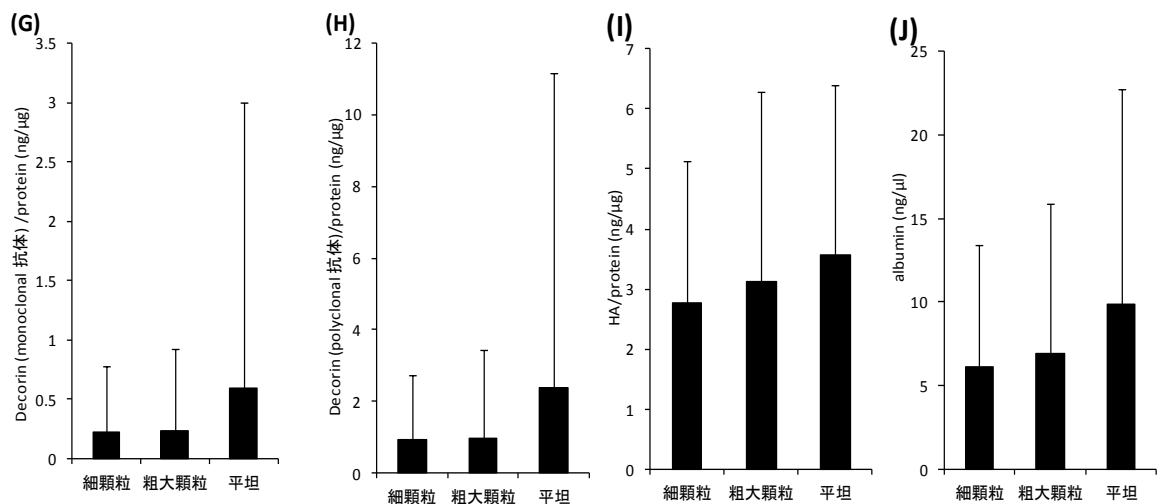


図 12 創面の形態と各分子の量的な違い

(A) SHAP-HA 複合体、(B)ビクニン、(C) ITI、(D)フィブロネクチン、(E)バーシカン (6084 抗体)、(F)バーシカン (8531 抗体)、(G)デコリン (モノクローナル抗体)、(H)デコリン (ポリクローナル抗体)、(I) HA 量 (透析後)、(J)アルブミン量 (透析後)

サンプル数は、細顆粒 56 個、粗大顆粒 123 個、平坦 47 個であり、(I) および (J) については透析後のサンプルを使用しており細顆粒 36 個、粗大顆粒 57 個、平坦 24 個を分析に使用した。

性状については、良好 51 個、浮腫性 117 個、摩擦性 55 個 ((I)、(J) については透析後のサンプルを使用しており良好 32 個、浮腫性 66 個、摩擦性 19 個) に分類でき、摩擦性部分で、SHAP-HA 複合体量、ビクニン、ITI が有意に高く、浮腫性の部分との違いがみられた (図 13A、B、C)。同時に、摩擦性の部分でバーシカンが多い傾向がみられた (図 13E、F)。また、ビクニンや ITI は血漿成分であり創部へ流入した分子と考えられ、摩擦性の部分に多かったが、同様に血漿成分であるアルブミンも摩擦性部分で多かった。アルブミンは浮腫性の部分においても、良好な部分と比較して多い傾向がみられた (図 13J)。

デコリンとバーシカンについては分子構造のそれぞれ別の部分を認識する抗体を 2 種類使用したが、どちらも同じ傾向の結果が得られており、平坦な形態および摩擦性の性状に多い傾向がみられた。

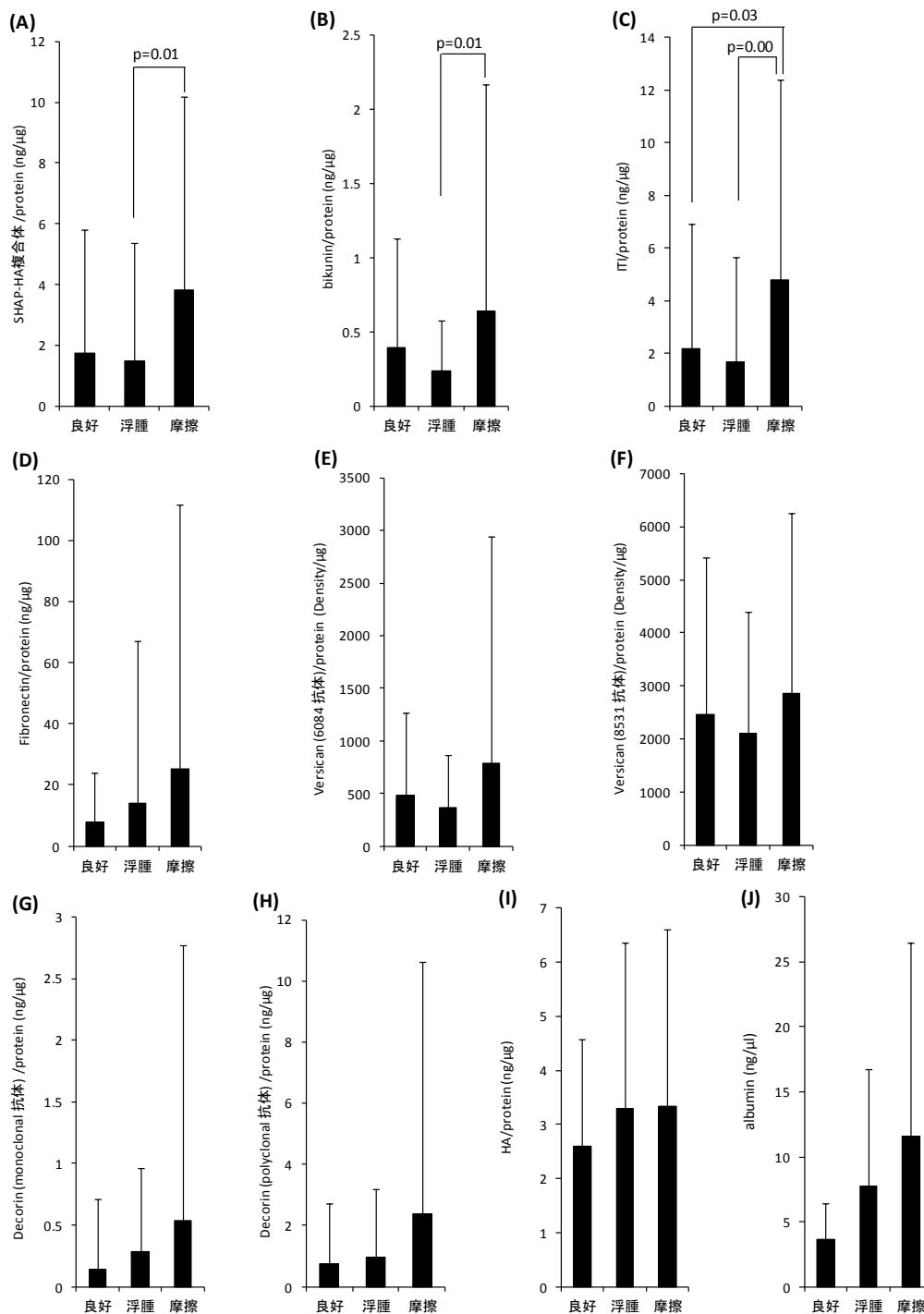
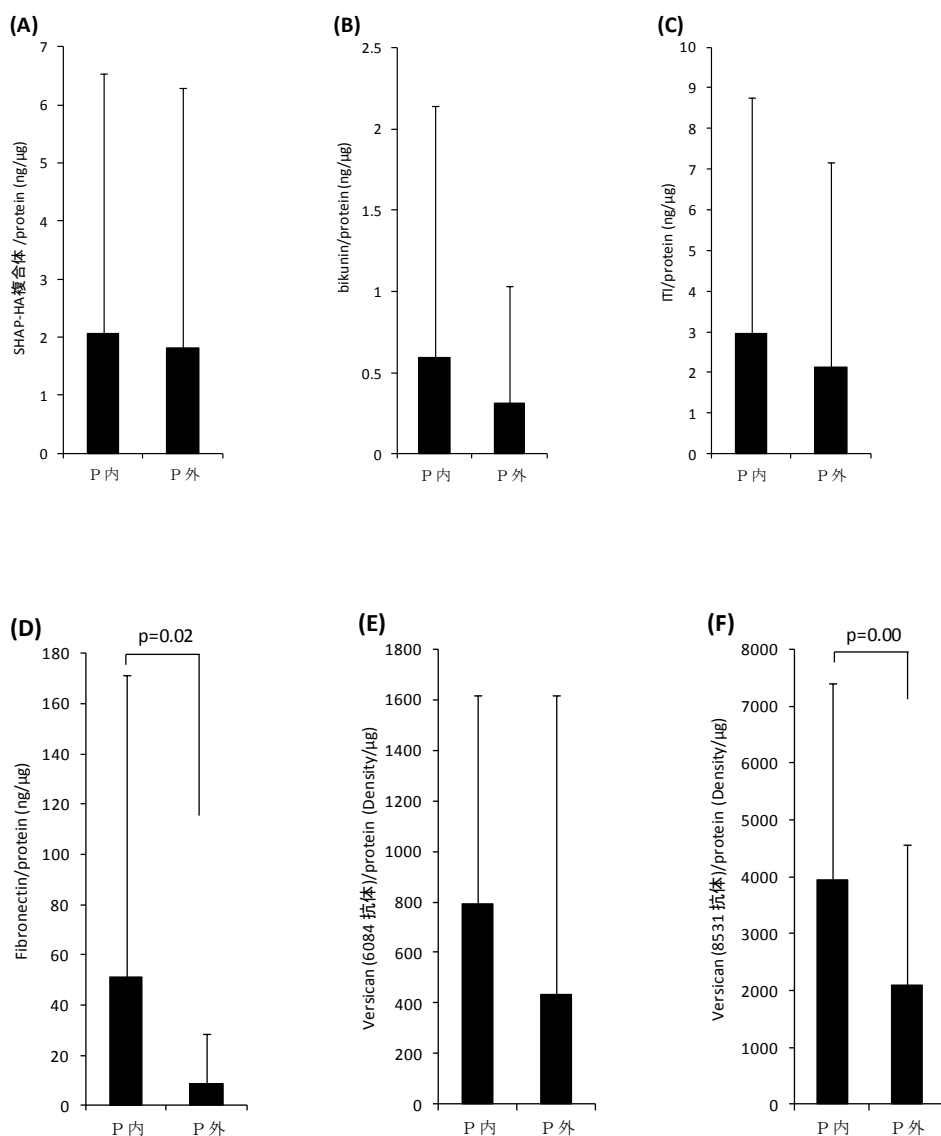


図 13 創面の性状と各分子の量的な違い

(A) SHAP-HA 複合体、(B)ビクニン、(C) ITI、(D)フィブロネクチン、(E) バージカン (6084 抗体)、(F)バージカン (8531 抗体)、(G)デコリン (モノクローナル抗体)、(H)デコリン (ポリクローナル抗体)、(I) HA 量 (透析後)、(J)アルブミン量 (透析後)

サンプル数は、良好 51 個、浮腫 117 個、摩擦 55 個であり、(I) および (J) については透析後のサンプルを使用しており良好 32 個、浮腫性 66 個、摩擦性 19 個を分析に使用した。

綿棒サンプルの採取部位がポケット内部、またはポケット外部であったかを分類し、ポケット内部 46 個、ポケット外部 209 個（(I) および (J) については透析後のサンプルを使用しておりポケット内部 26 個、ポケット外部 109 個）について分析したところ、SHAP-HA 複合体量に有意な差はなかったが、フィブロネクチン、バーシカン、デコリン、HA 量、アルブミンに差がみられ、ポケット内部に血漿成分が多かった。（図 14A～J）



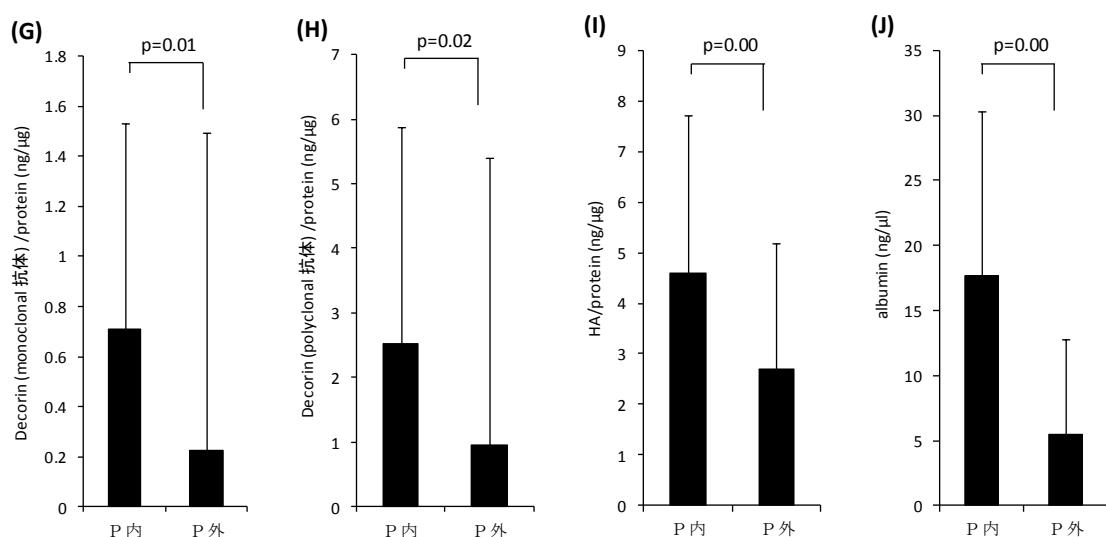


図 14 採取部位のポケット内外と各分子の量的な違い

(P 内：ポケット内部からのサンプル採取、P 外：ポケット外部からの採取)  
 (A) SHAP-HA 複合体、(B)ビクニン、(C) ITI、(D)フィブロネクチン、(E)バーシカン (6084 抗体)、(F)バーシカン (8531 抗体)、(G)デコリン (モノクローナル抗体)、(H)デコリン (ポリクローナル抗体)、(I) HA 量 (透析後)、(J)アルブミン量 (透析後)

サンプル数は、ポケット内部 46 個、ポケット外部 209 個であり、(I) および (J) については透析後のサンプルを使用しておりポケット内部 26 個、ポケット外部 109 個を分析に使用した。

## 2) 綿棒より抽出した試料による実験結果のまとめ

綿棒サンプルの分析結果と綿棒サンプル採取部位の創面所見との関連について、創面の性状について有意な差がみられており、それらを表 7 にまとめた。

表 7 綿棒サンプルと採取部位創面所見の関連

| 採取部位<br>性状 | SHAP-HA<br>複合体量 | HA量     | 血漿成分     |          |          | バーシカン    | デコリン     |
|------------|-----------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|
|            |                 |         | ITI・ビクニン | フィブロネクチン | アルブミン    |          |          |
| 良好         | (中程度の傾向)        | (少ない傾向) | (中程度の傾向) | (少ない傾向)  | (少ない傾向)  | (中程度の傾向) | (少ない傾向)  |
| 浮腫性        | 少               | (多い傾向)  | 少        | (中程度の傾向) | (中程度の傾向) | (少ない傾向)  | (中程度の傾向) |
| 摩擦性        | 多               | (多い傾向)  | 多        | (多い傾向)   | (多い傾向)   | (多い傾向)   | (多い傾向)   |

( ) は有意な差はなし

浮腫性所見の部分では、摩擦性所見の部分に対して SHAP-HA 複合体量が低かった。また、血漿成分であるビクニンや ITI は、良好な部分より少ない傾向がみられたが、

フィブロネクチンやアルブミン量は有意な差ではないが、良好な部分に比較して浮腫性所見の部分に多い傾向がみられた。

摩擦性所見の部分は SHAP・HA 複合体量が多く、血漿成分であるビクニンや ITI、さらにフィブロネクチンやアルブミン、デコリンも多い傾向がみられ、また、HA との結合能をもつバーシカンも多い傾向がみられた。浮腫性所見、摩擦性所見や良好な所見の部分で、それぞれ分子的にも異なっていた。

また、綿棒サンプル採取部位のポケット内外によっても分子の局在が異なっており、ポケット内部の方が、HA 量やアルブミン等血漿成分が有意に多かった。

#### 4. ガーゼより抽出した試料の分析結果と経時的変化

各創面や創面内の各部分についてそれぞれ独立したサンプルとして、各創面評価と HA 等成分との関連について経時的に検討するため、サンプル採取できた各創面（21 創面：W（wound）1～21）の経時的変化を図に示した（図 15～35）。図中のグラフと表の表示項目は表 8、9 のとおりである。

表 8 創面の経時的変化を示した図 15～35 のグラフにおける各表記の説明

| グラフ 折れ線・棒の表記                | 説明   |
|-----------------------------|--|
| (A) DESIGN-R 点数             | 治癒経過評価ツールであり、点数の減少が創の改善を意味す                        |
| 創面の大きさ (cm)                 | 潰瘍面の長径×長径と直交する最大径の大きさ<br>(DESIGN-R 評価方法による計測方法と同様) |
| 図中の黄色の矢印                    | ポケット切開の施術  |
| (B) HA/protein              | HA 量／タンパク量、棒グラフ（目盛線は左側）                            |
| Albumin                     | アルブミン量、折れ線グラフ（目盛線は右側）                              |
| protein                     | タンパク量、折れ線グラフ（目盛線は右側）                               |
| (C) HAase（中性領域）/protein     | HA 分解活性(中性領域)/タンパク量                                |
| HAase（酸性領域 200 kDa）/protein | HA 分解活性(酸性領域 200 kDa)／タンパク量                        |
| HAase（酸性領域 75 kDa）/protein  | HA 分解活性(酸性領域 75 kDa)／タンパク量                         |

表 9 創面の経時的变化をしめした図 15～35 の表における各表記の説明

| 項目                          | 表中の表記                     | 補足説明  |
|-----------------------------|---------------------------|---|
| 経過日数                        |                           | 入院初日あるいは皮膚科初診時を1日目とした経過日数   |
| 外用剤 軟膏等 <sup>1)</sup>       | ユーバスタ                     | ユーバスタ®コーワ軟膏   |
|                             | ユーバスタDまたはUD               | ユーバスタ®コーワ軟膏とデブリサン®ペーストのブレンド軟膏 [ユーバスタ®コーワ軟膏に高分子吸収体を含有するデブリサン®ペーストを混合しており吸水能が高い]                                    |
|                             | リフラップテラジアバスタ              | リフラップ®軟膏 (乳剤性基剤) とテラジア®バスタ (水溶性基剤) (第一三共株式会社) のブレンド軟膏 [ブレンドすることにより吸水性を抑え、保湿効果も期待される]                              |
|                             | ベスキチン                     | ベスキチン®W-A [キチン製剤であり吸水性が高い]  |
|                             | ヨードホルムG                   | ヨードホルムガーゼ (玉川衛材株式会社) [ガーゼにヨードホルムが添加されており消毒、殺菌作用がある]   |
|                             | ゲーベンクリーム<br>デュオアクティブ      | ゲーベン®クリーム [乳剤性基剤]<br>デュオアクティブ® [湿润環境を形成する]  |
| 固定 <sup>2)</sup><br>(創固定方法) | トラクション                    | 弾性テープ等を用いて牽引し、創の変形を軽減する   |
|                             | アンカー                      | スポンジ等を用いて外力を軽減し、創の変形を軽減する   |
|                             | インサージョン                   | 創内部からの固定し、創の変形を軽減する   |
|                             | 絹糸による牽引                   | 絹糸と弾性テープを用いて牽引し、創の変形を軽減する   |
| 体位                          | 側臥位G-up                   | 側臥位の状態でギャッチアップをおこない、ギャッチアップ後に体位を整える。(サンプル採取をおこなった病院で提唱されておこなわれている方法) ギャッチアップ時の注意であり、創の発生部位や状態によって、車いす許可や体位制限がされる。 |
|                             | 車いす(食事)等                  | (食事) は、食事摂取時の体位をしめす。例) 「車いす (食事)」は、車いすに乗車して食事を取っていることをしめす。  |
|                             | 禁止または不可                   | その記載内容の体位の禁止をしめす。   |
|                             | 許可                        | その記載内容の体位等の許可をしめす。例) 「車いす許可」は、車いす乗車の許可をしめし、実際には患者の全身状態や創の状態に合わせて短時間から開始していた。                                      |
| 肉芽組織 形態                     | 細顆粒, 粗大顆粒, 平坦             | それぞれ、細顆粒状形態, 粗大顆粒状形態, 平坦をしめす  |
| 肉芽組織 性状                     | 良好, 浮腫, 摩擦                | それぞれ、良好, 浮腫性, 摩擦性をしめす   |
| 肉芽組織<br>SHAP-HA複合体<br>の分析   | (G) SHAP-HA               | ガーゼサンプルでSHAP-HA複合体の検出の有無  |
|                             | (s) SHAP-HA <sup>3)</sup> | 綿棒サンプルでSHAP-HA複合体の検出の有無   |
|                             | +                         | SHAP-HA複合体の検出あり   |
|                             | -                         | SHAP-HA複合体の検出なし   |

1) 外用剤の用い方: 軟膏はガーゼ塗布後に創部にあて、ベスキチンやヨードホルムガーゼはそのまま創部に用いる。いずれもフィルムドレッシング材を使用して固定。

2) サンプル採取をおこなった病院で提唱されておこなわれている方法 (Mizokami, et al. 2015)

3) (s) SHAP-HAは、綿棒でのサンプル採取をおこなったwound 1～7の7創面のみ分析した。

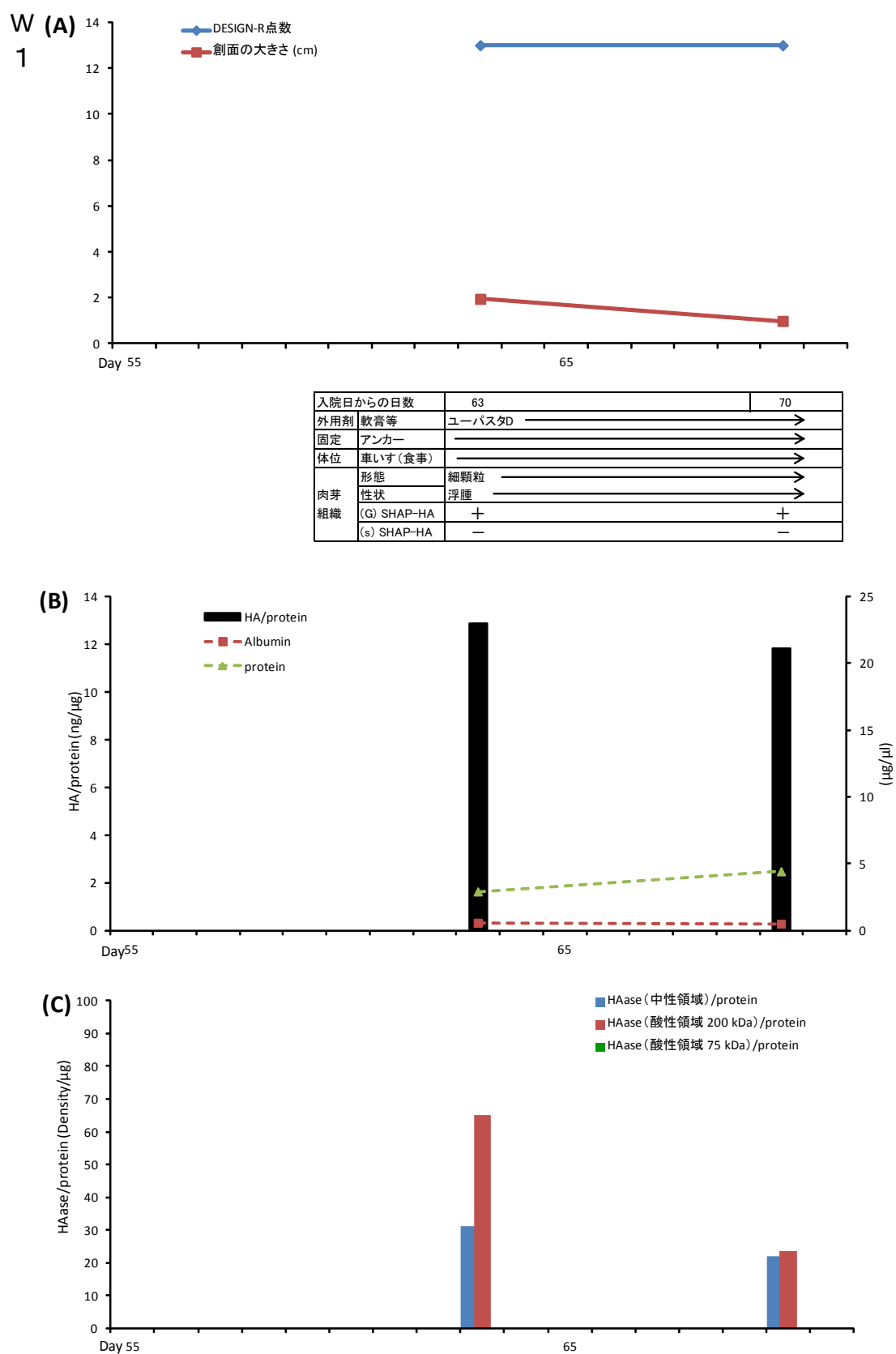


図 15 Wound 1 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化

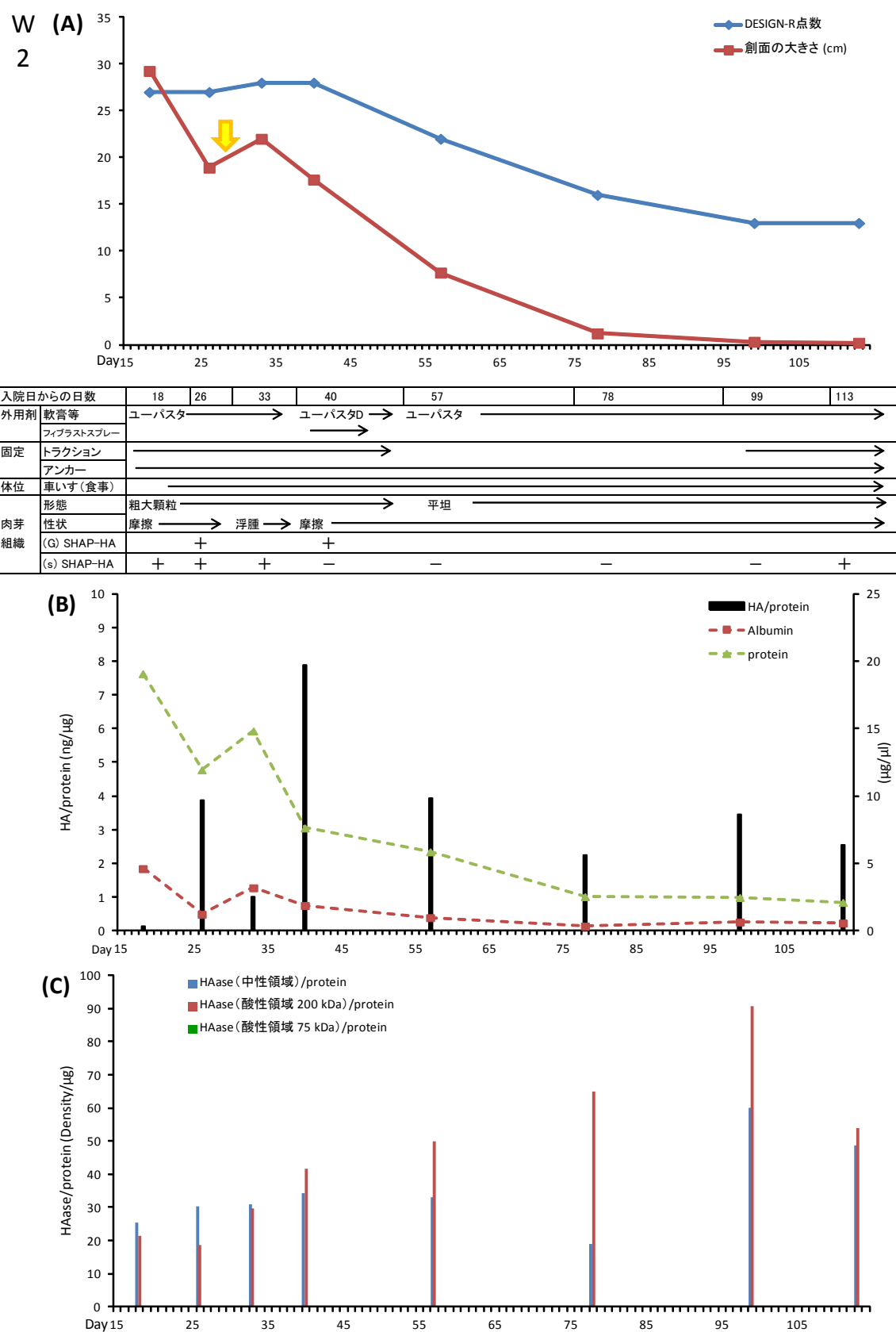


図 16 Wound 2 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化

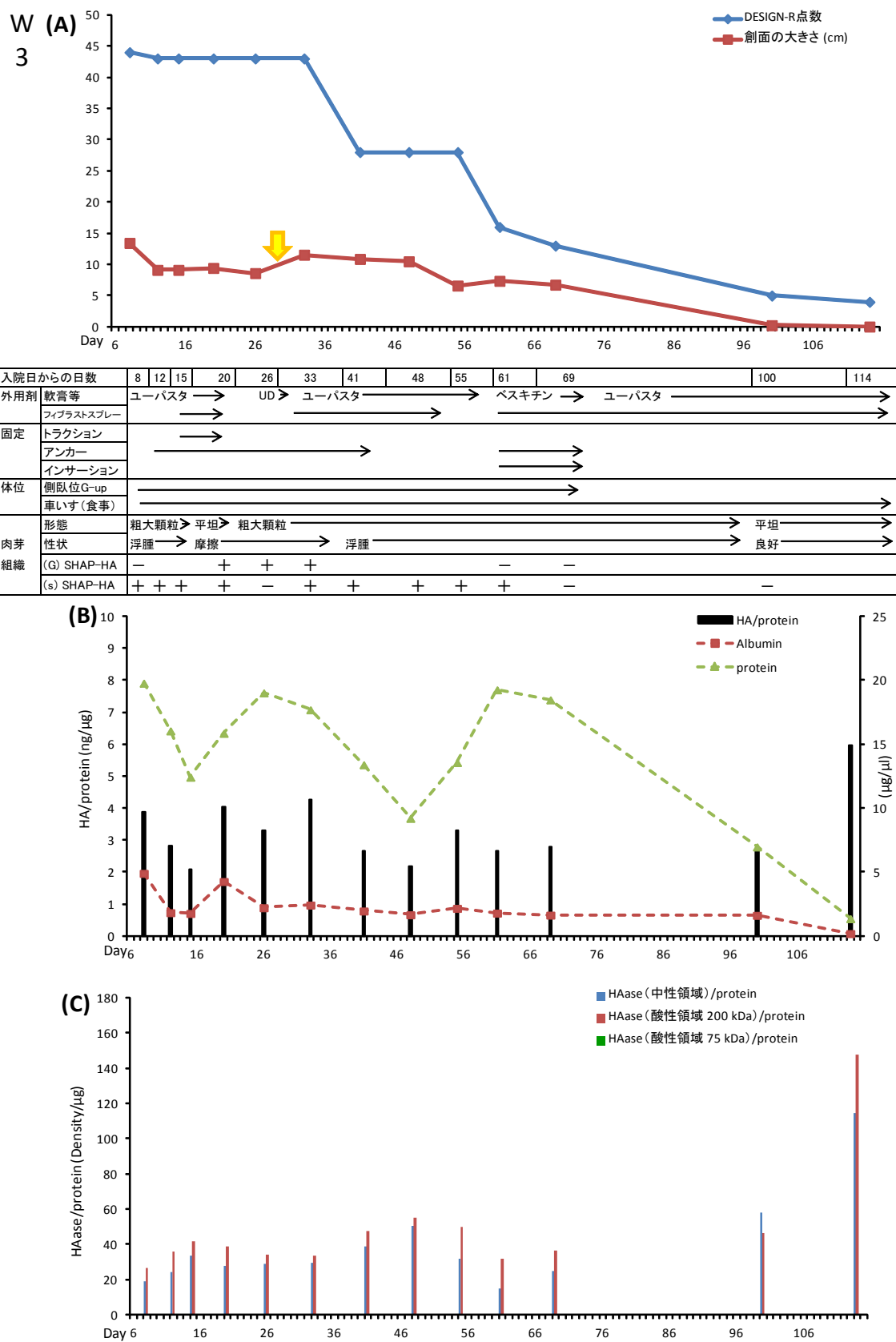


図 17 Wound 3 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化

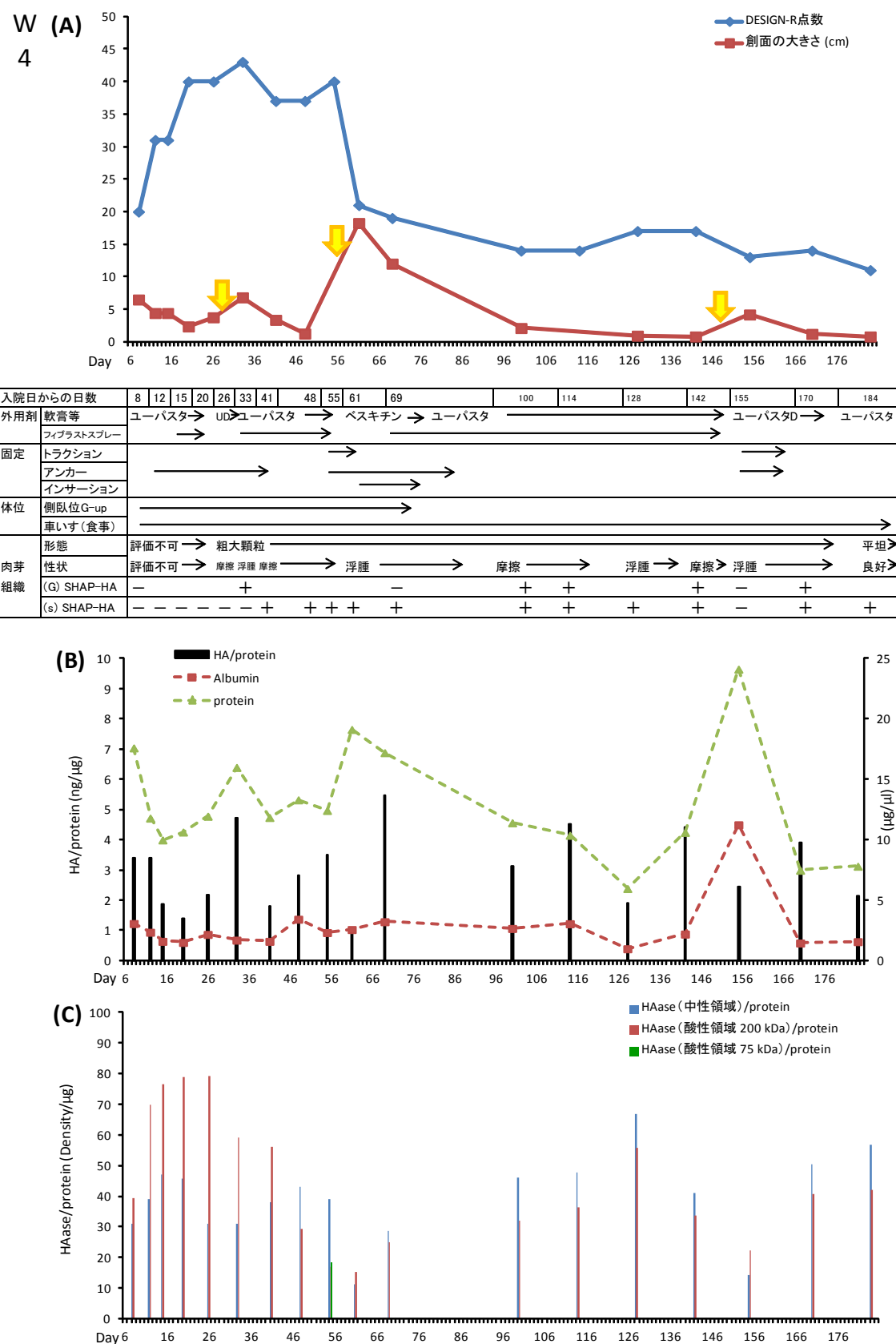


図 18 Wound 4 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化

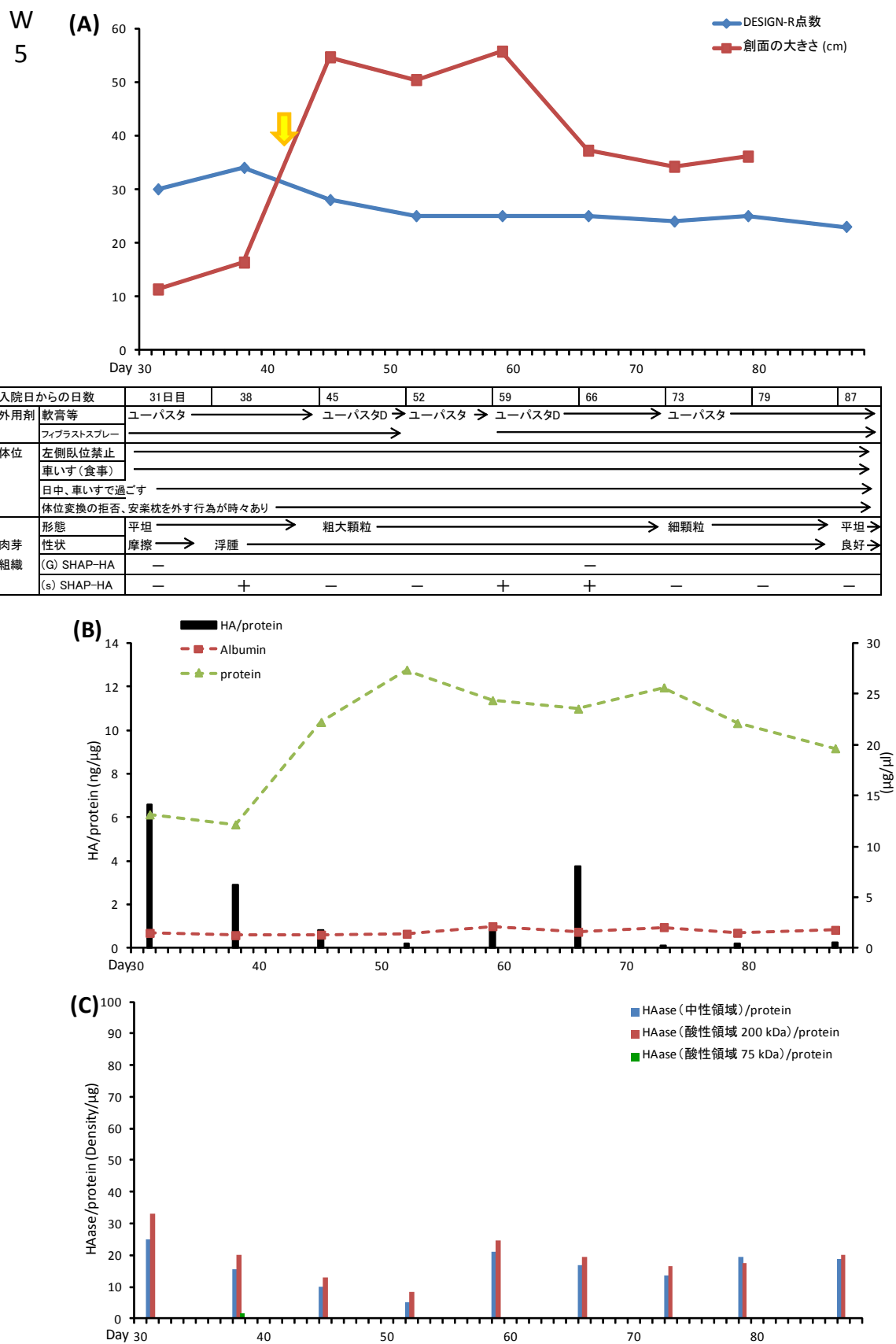


図 19 Wound 5 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化

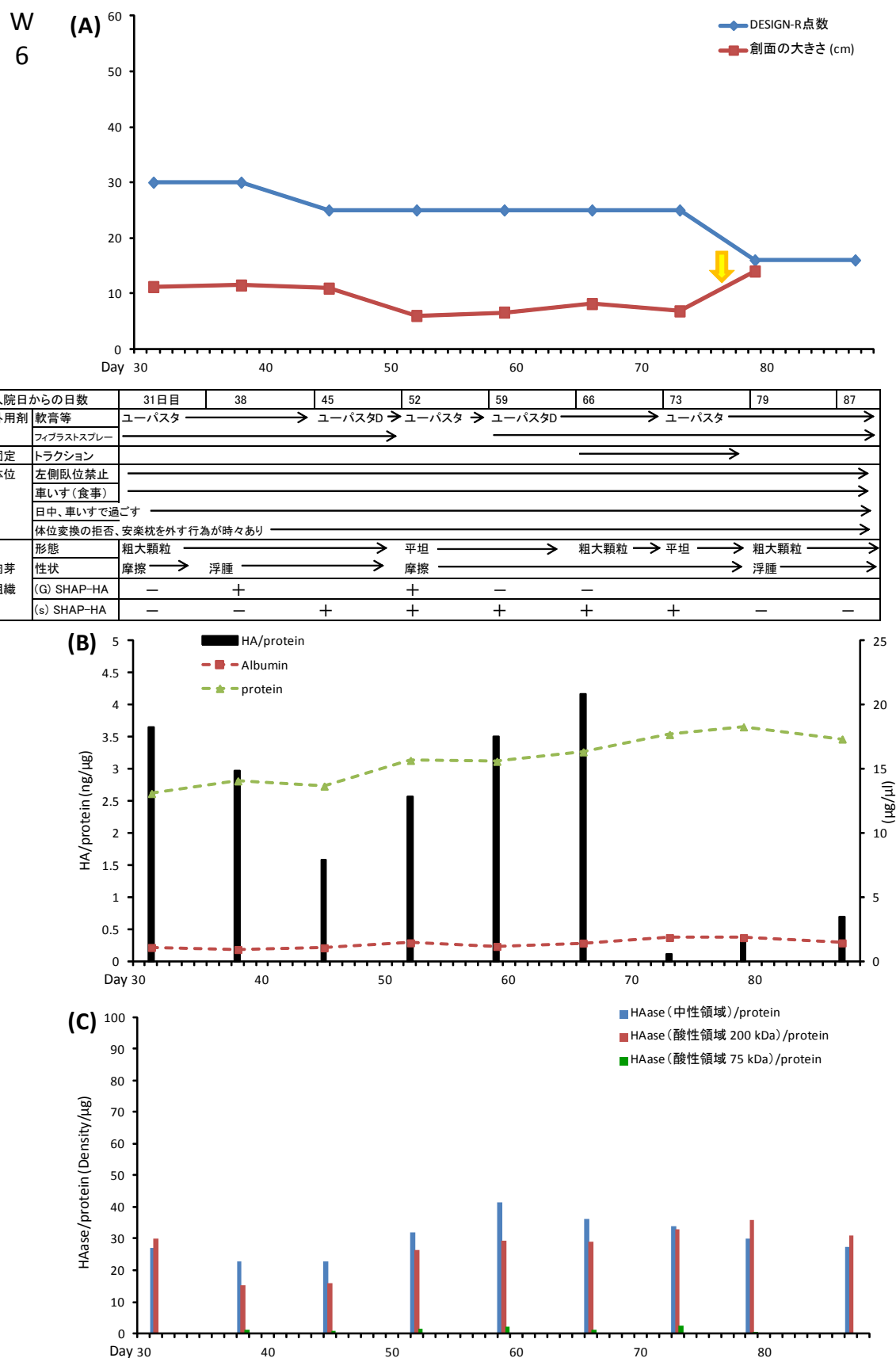
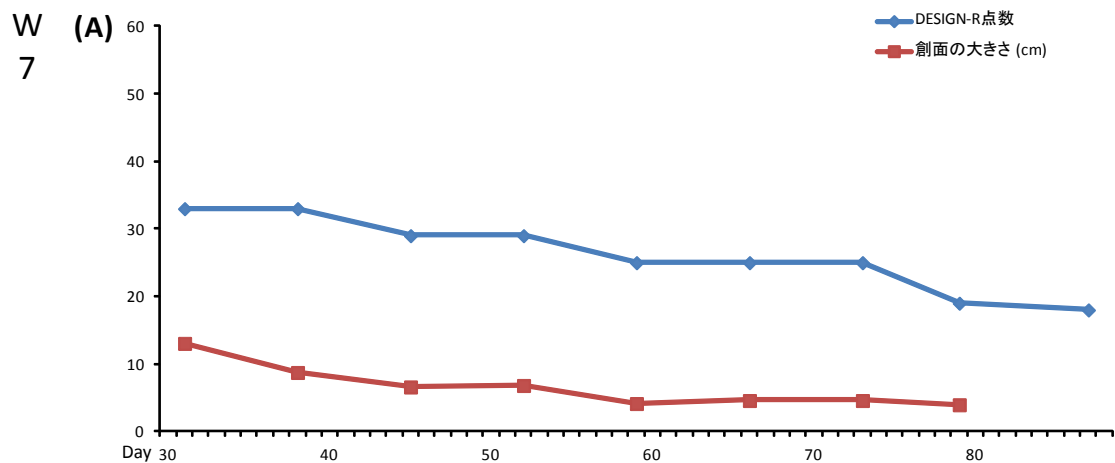


図 20 Wound 6 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化



| 入院日からの日数 | 31日目                  | 38    | 45   | 52     | 59  | 66 | 73 | 79 | 87 |
|----------|-----------------------|-------|------|--------|-----|----|----|----|----|
| 外用剤      | 軟膏等                   | ユーバスタ |      | ユーバスタD |     |    |    |    |    |
|          | フィブラストスプレー            |       |      |        |     |    |    |    |    |
| 体位       | 左側臥位禁止                |       |      |        |     |    |    |    |    |
|          | 車いす（食事）               |       |      |        |     |    |    |    |    |
|          | 日中、車いすで過ごす            |       |      |        |     |    |    |    |    |
|          | 体位変換の拒否、安楽枕を外す行為が時々あり |       |      |        |     |    |    |    |    |
| 肉芽       | 形態                    | 肉芽なし  | 粗大顆粒 |        | 細顆粒 |    |    |    |    |
|          | 性状                    | 肉芽なし  | 浮腫   |        |     |    |    |    |    |
| 組織       | (G) SHAP-HA           | —     | —    | —      | —   | —  | —  | —  | —  |
|          | (s) SHAP-HA           | —     | +    | +      | —   | +  | —  | —  | +  |

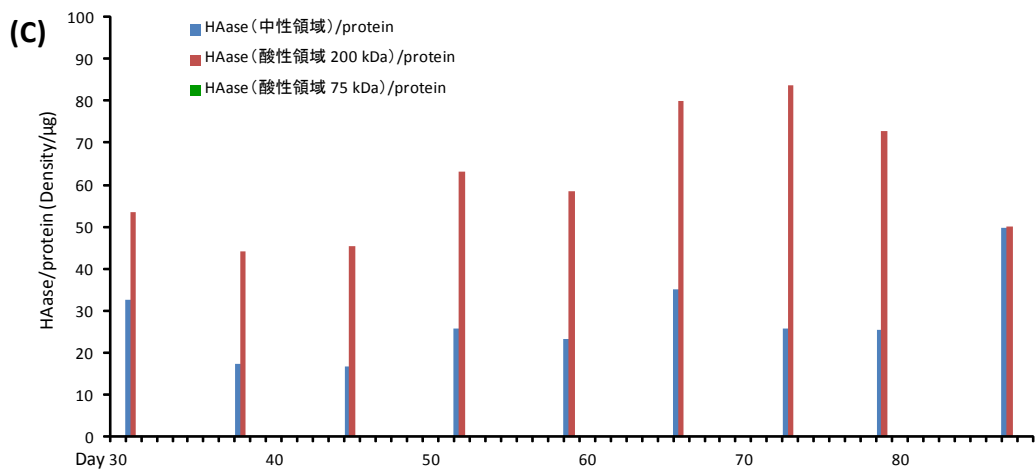
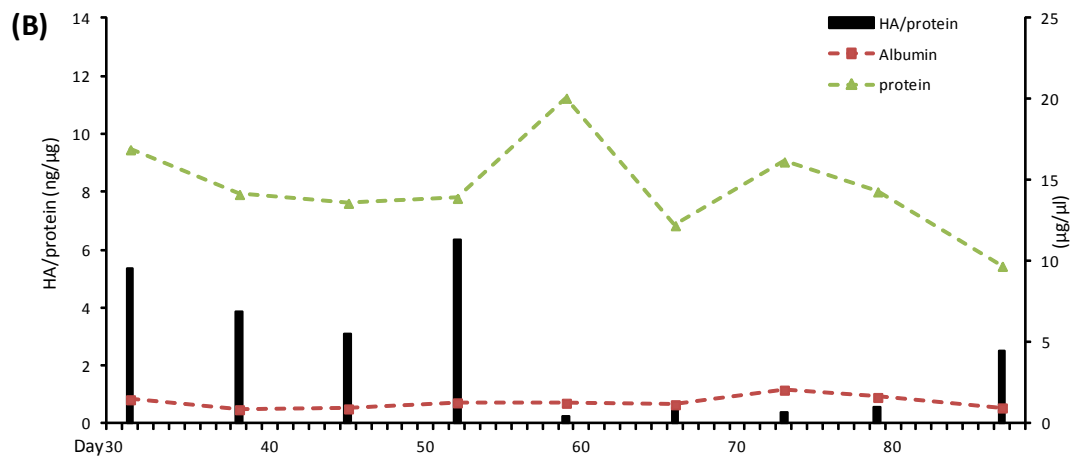


図 21 Wound 7 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化

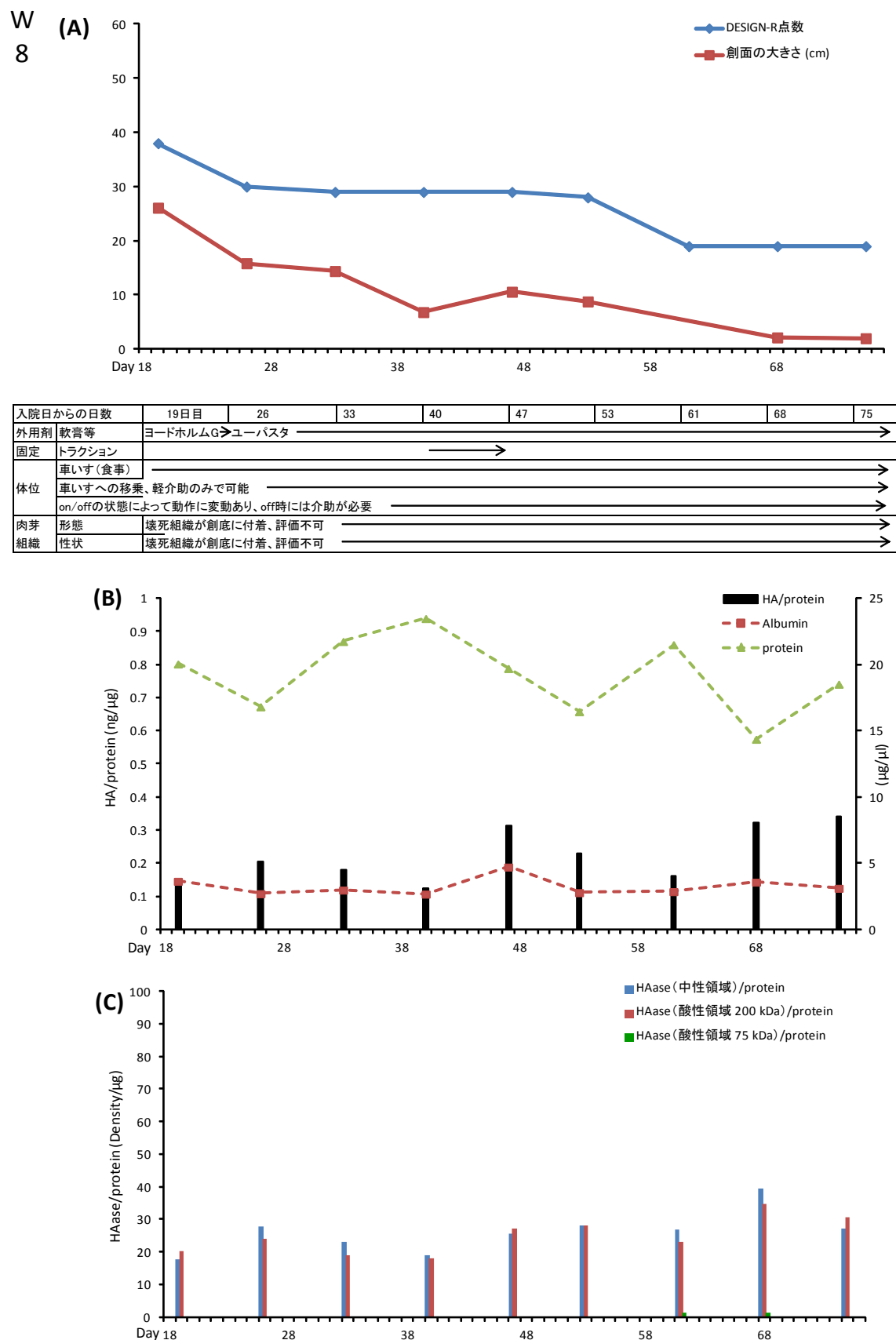
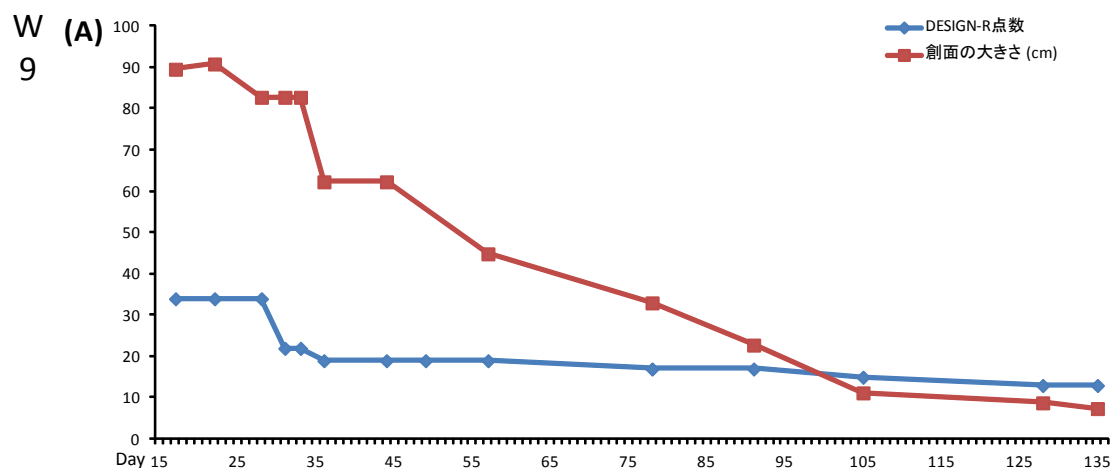


図 22 Wound 8 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化



| 入院日からの日数 | 17          | 22                          | 28 | 31 | 33 | 36 | 44 | 49 | 57 | 78 | 91 | 105 | 128 | 135 |
|----------|-------------|-----------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|
| 外用剤      | 軟膏等         | ユーバスタD → ユーバスタ              |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |     |     |
|          | フィブラストスプレー  | →                           |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |     |     |
| 固定       | トラクション      | →                           |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |     |     |
| 体位       | 車いす許可       | →                           |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |     |     |
|          | 側臥位G-up     | →                           |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |     |     |
|          | 70度G-up(食事) | → 車いす(食事) →                 |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |     |     |
| 肉芽       | 形態          | 粗大顆粒 → 細顆粒                  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |     |     |
| 組織       | 性状          | 浮腫 → 摩擦 → 浮腫 → 摩擦 → 浮腫 → 良好 |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |     |     |
|          | (G) SHAP-HA | - - + - -                   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |     |     |

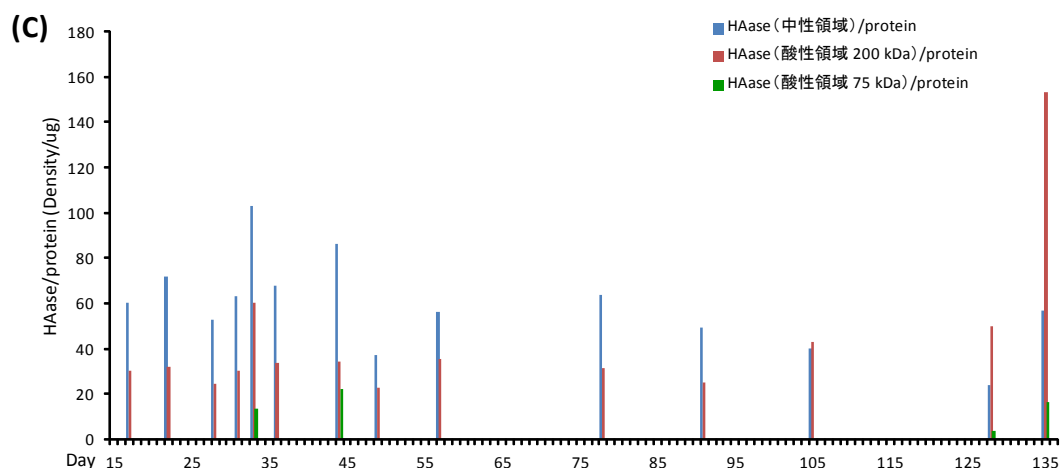
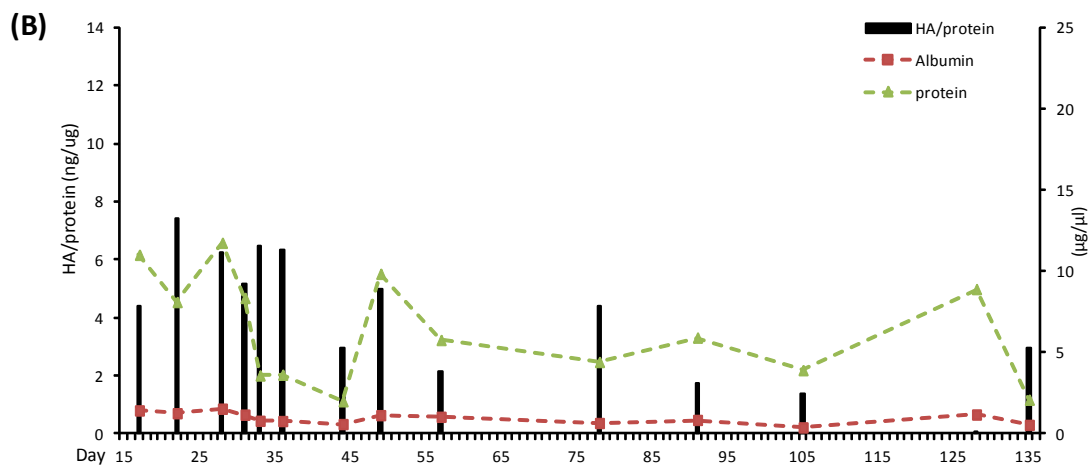


図 23 Wound 9 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化

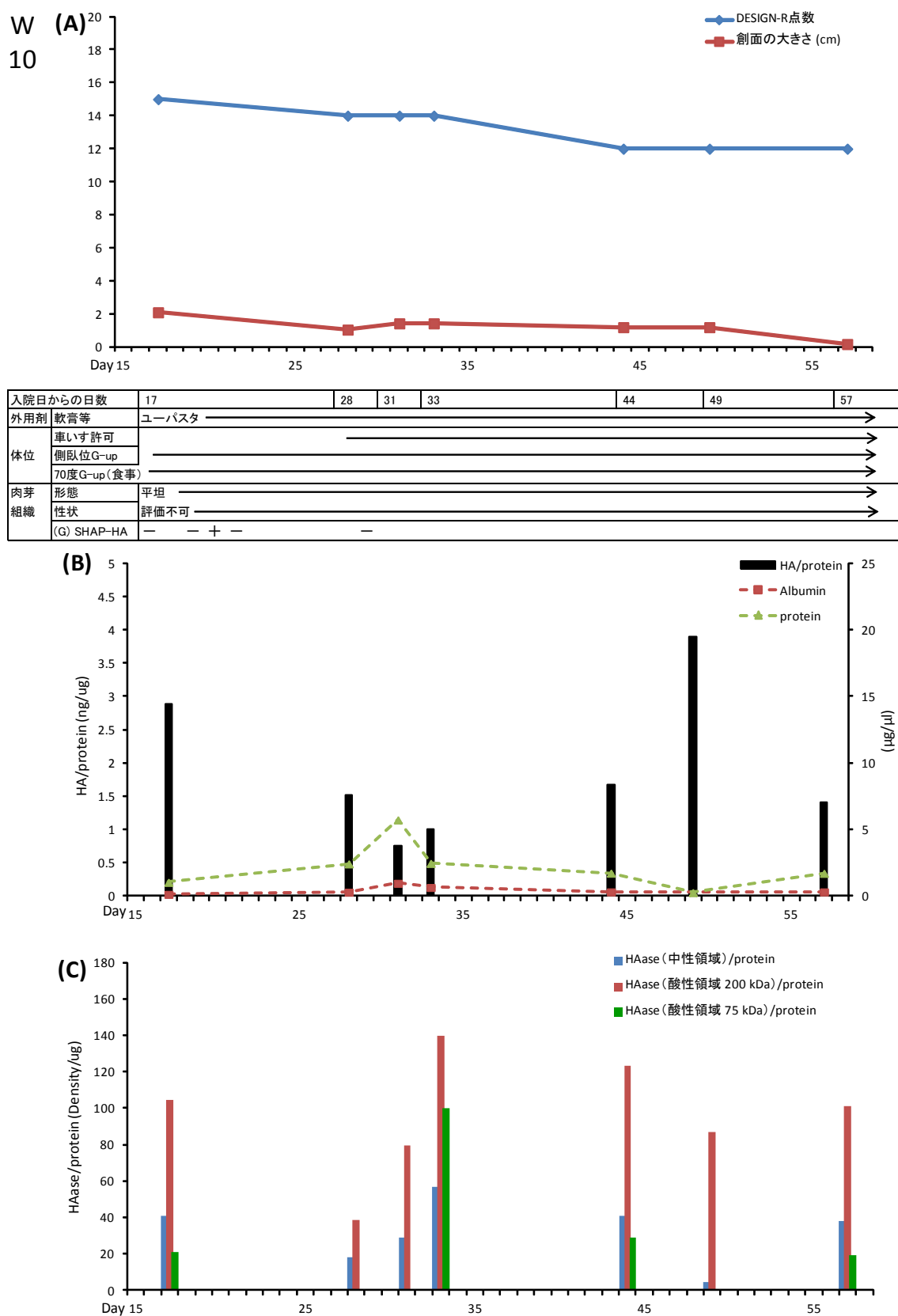


図 24 Wound 10 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化

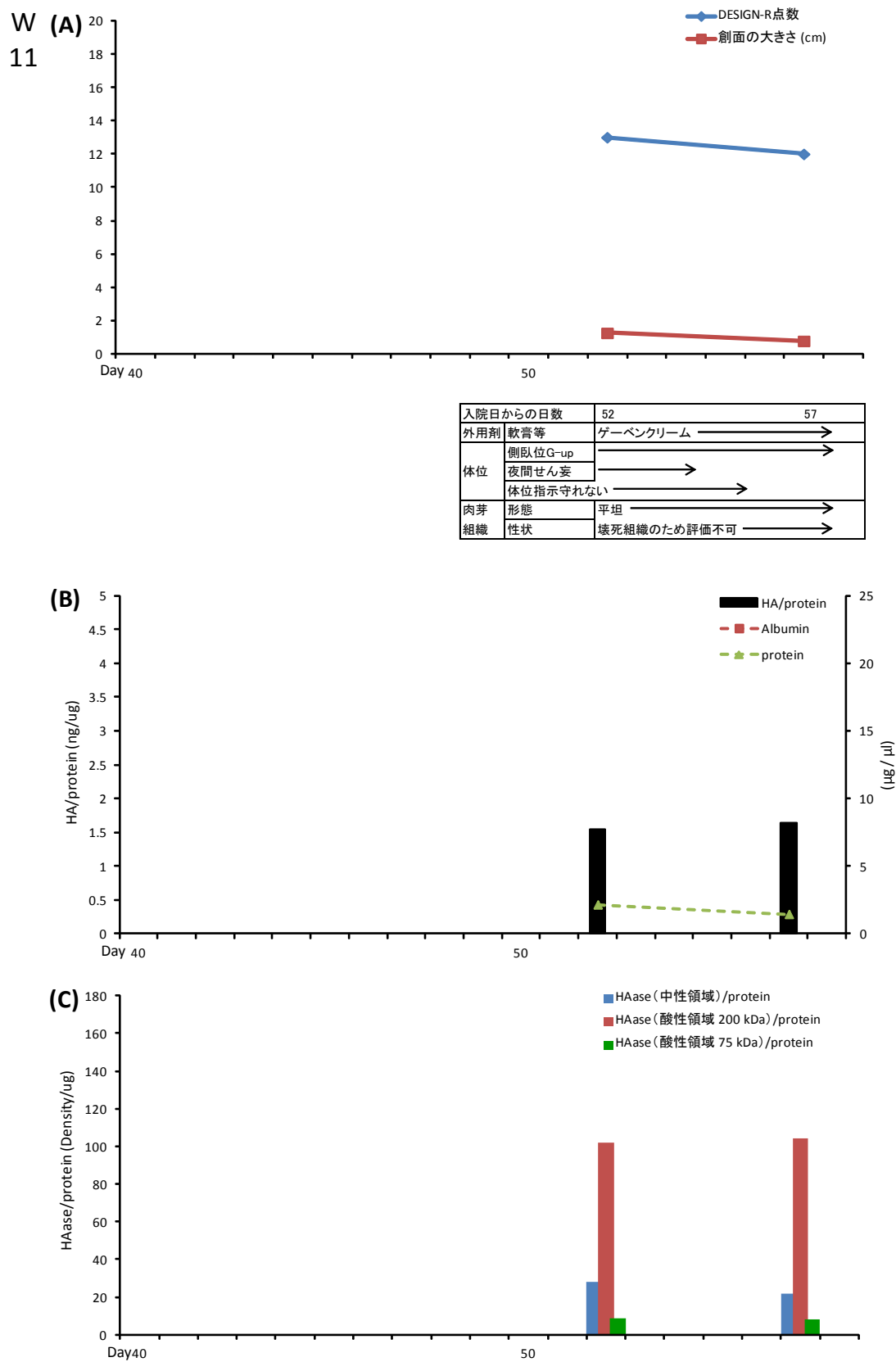


図 25 Wound 11 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化

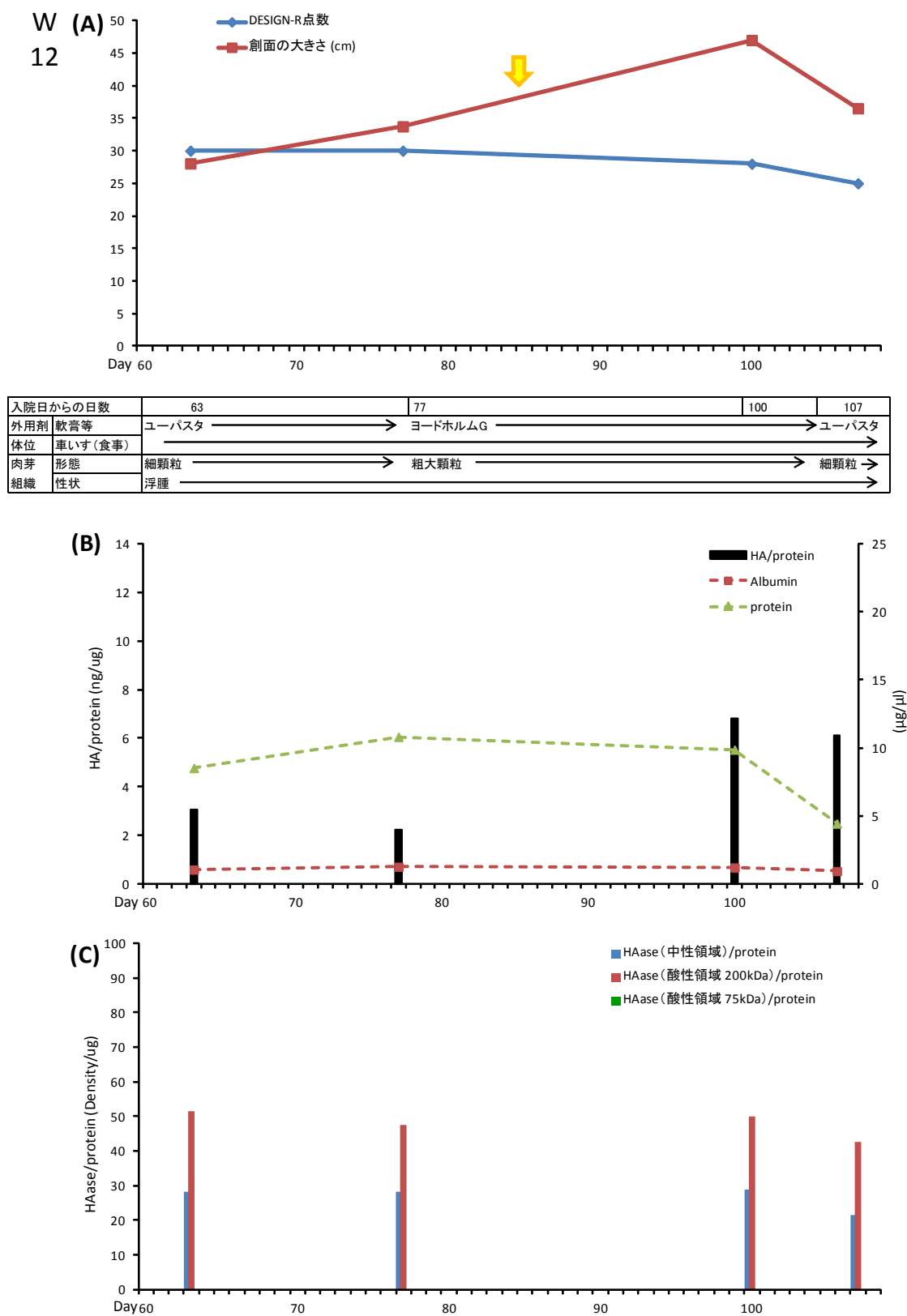


図 26 Wound 12 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化

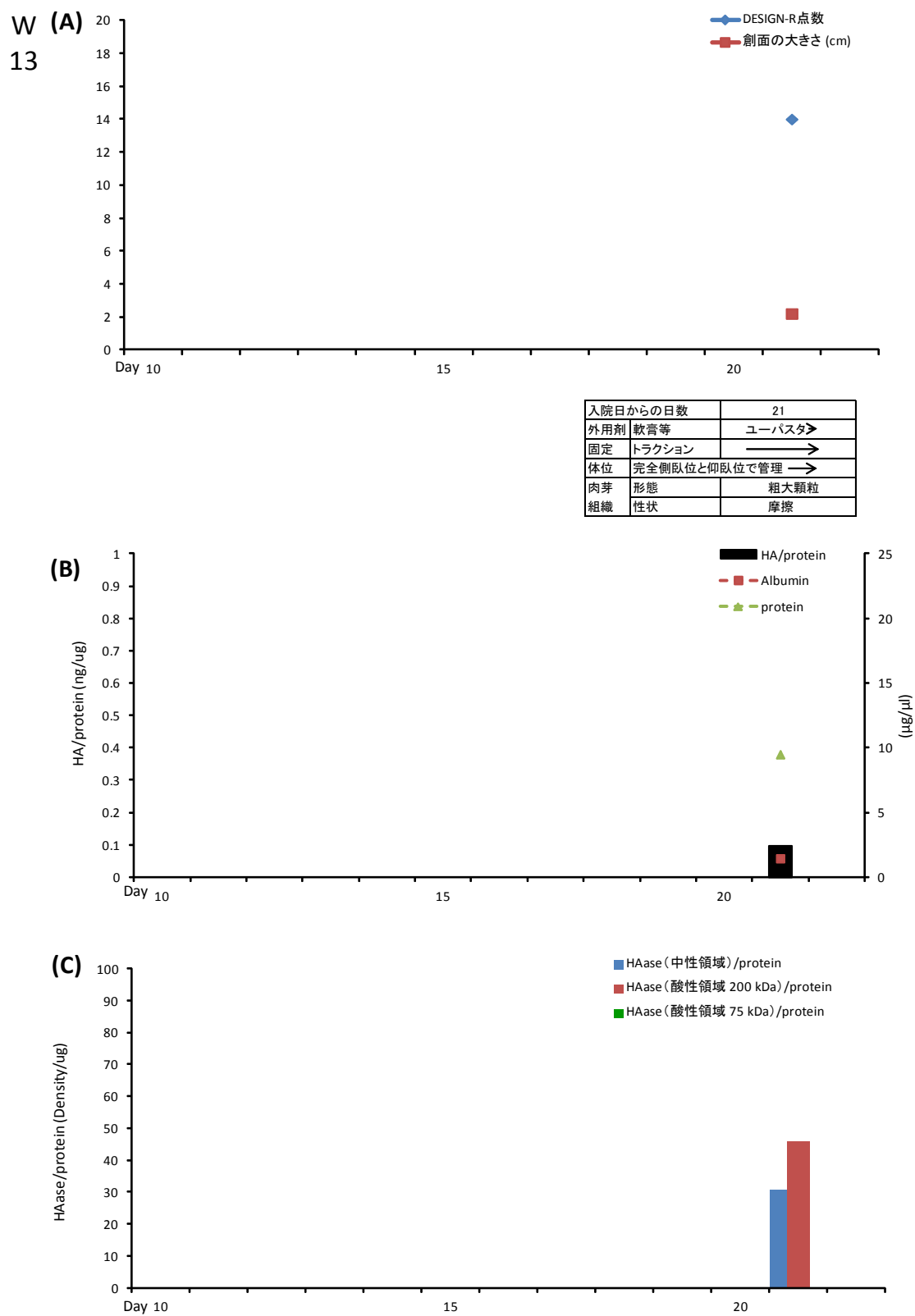


図 27 Wound 13 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化

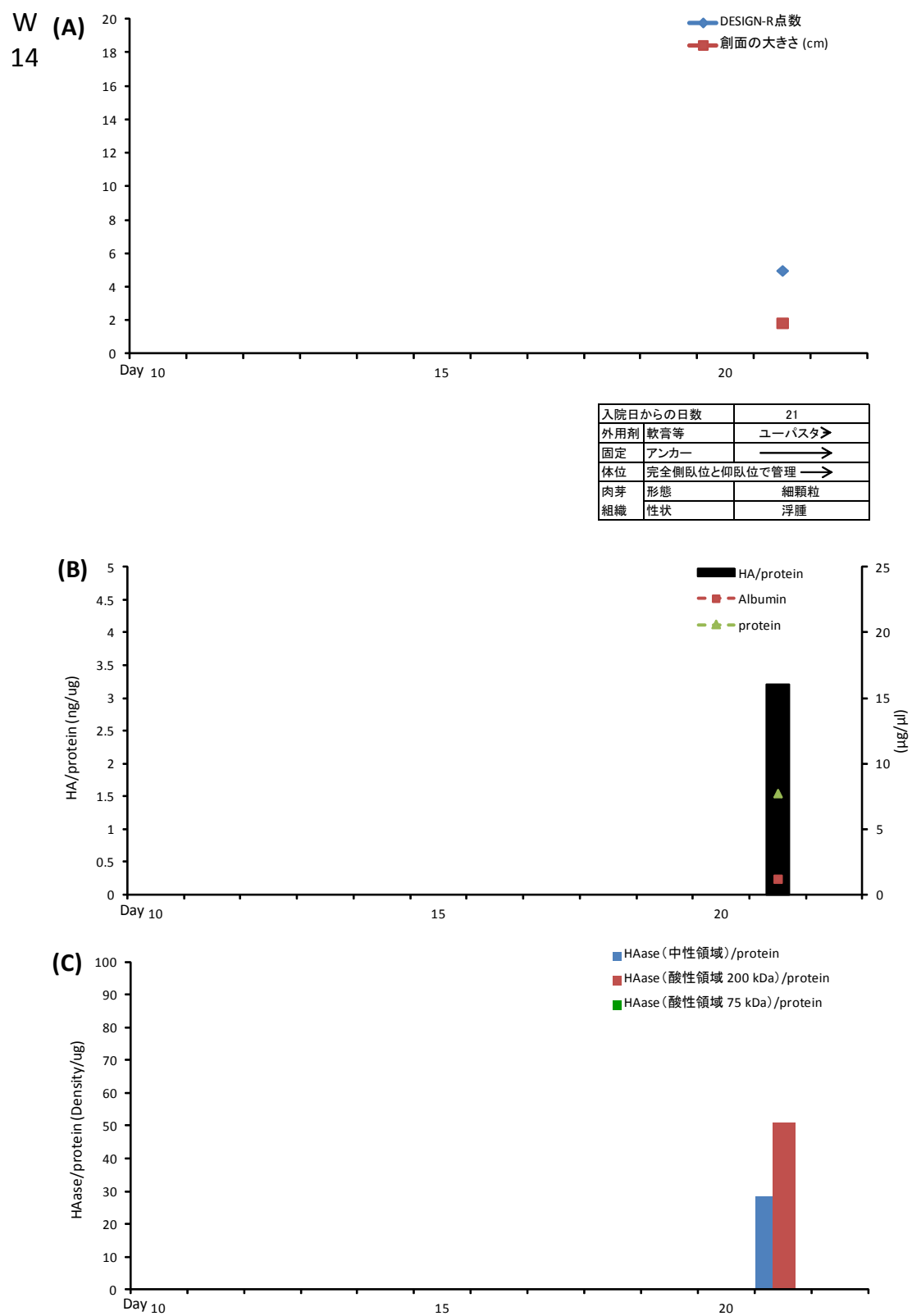


図 28 Wound 14 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化

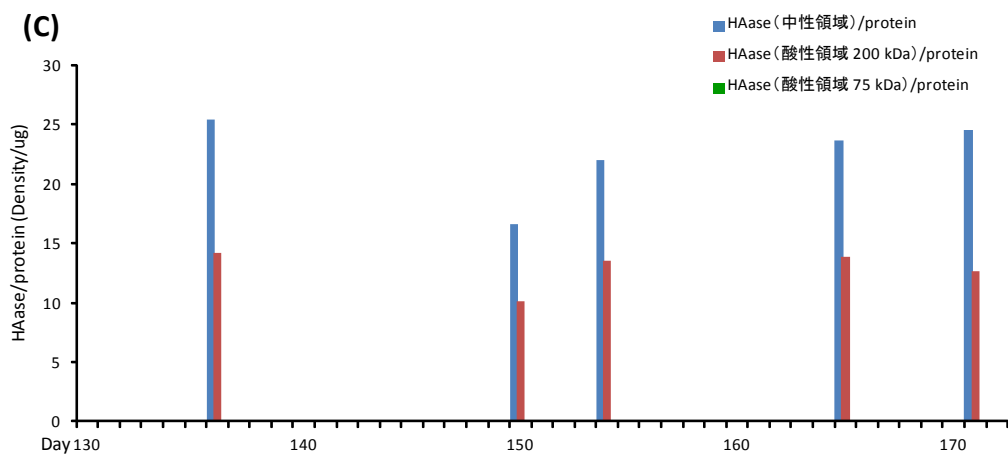
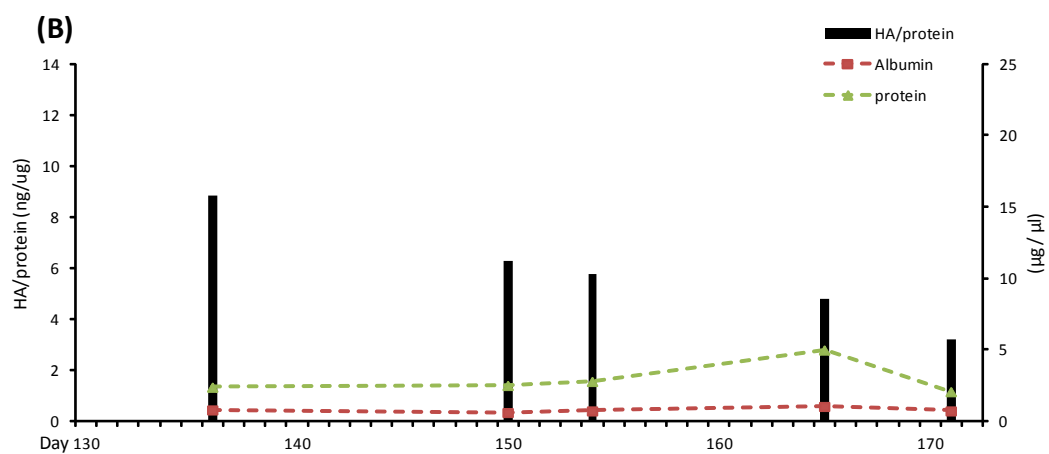
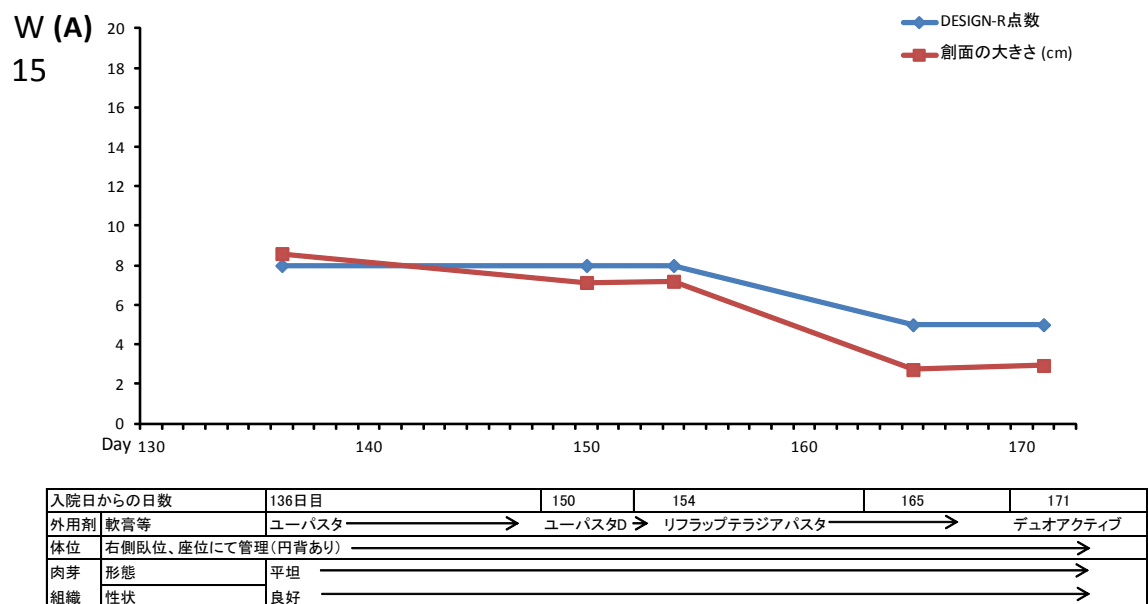
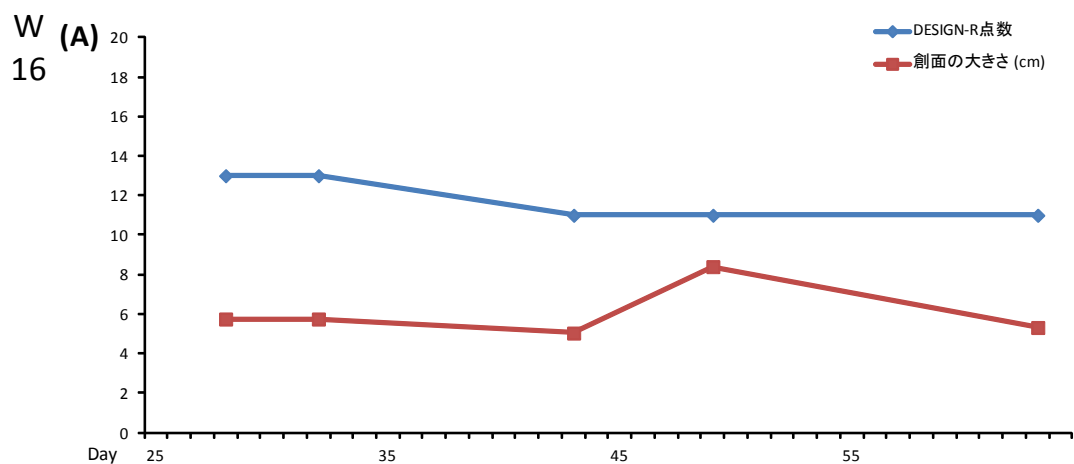


図 29 Wound 15 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化



| 入院日からの日数 |                   | 28日目   | 32日目 | 43日目 | 49日目 | 63日目 |
|----------|-------------------|--------|------|------|------|------|
| 外用剤      | 軟膏等               | ユーバスタD |      |      |      |      |
|          | フィブラストスプレー        |        |      |      |      |      |
| 固定       | トラクション            |        |      |      |      |      |
|          | アンカー              |        |      |      |      |      |
| 体位       | 30-45度側臥位を避けて体位管理 |        |      |      |      |      |
|          | 側臥位ギヤッチアップ        |        |      |      |      |      |
|          | 30度G-Up(食事)       |        |      |      |      |      |
| 肉芽       | 形態                | 平坦     |      |      |      |      |
| 組織       | 性状                | 摩擦     |      |      |      |      |

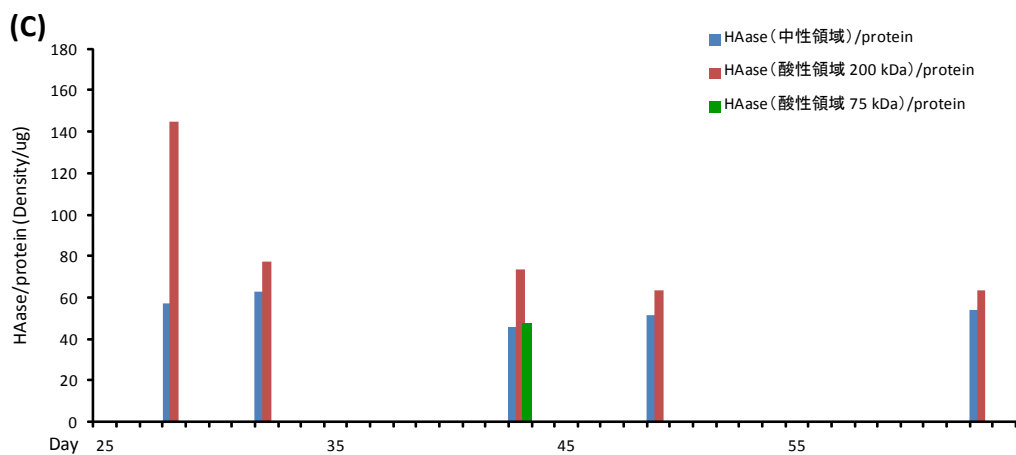
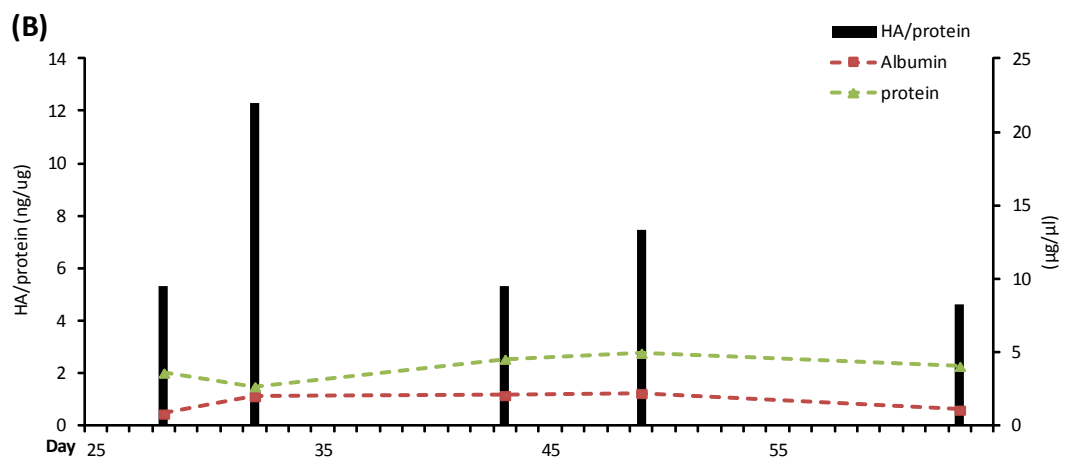


図 30 Wound 16 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化

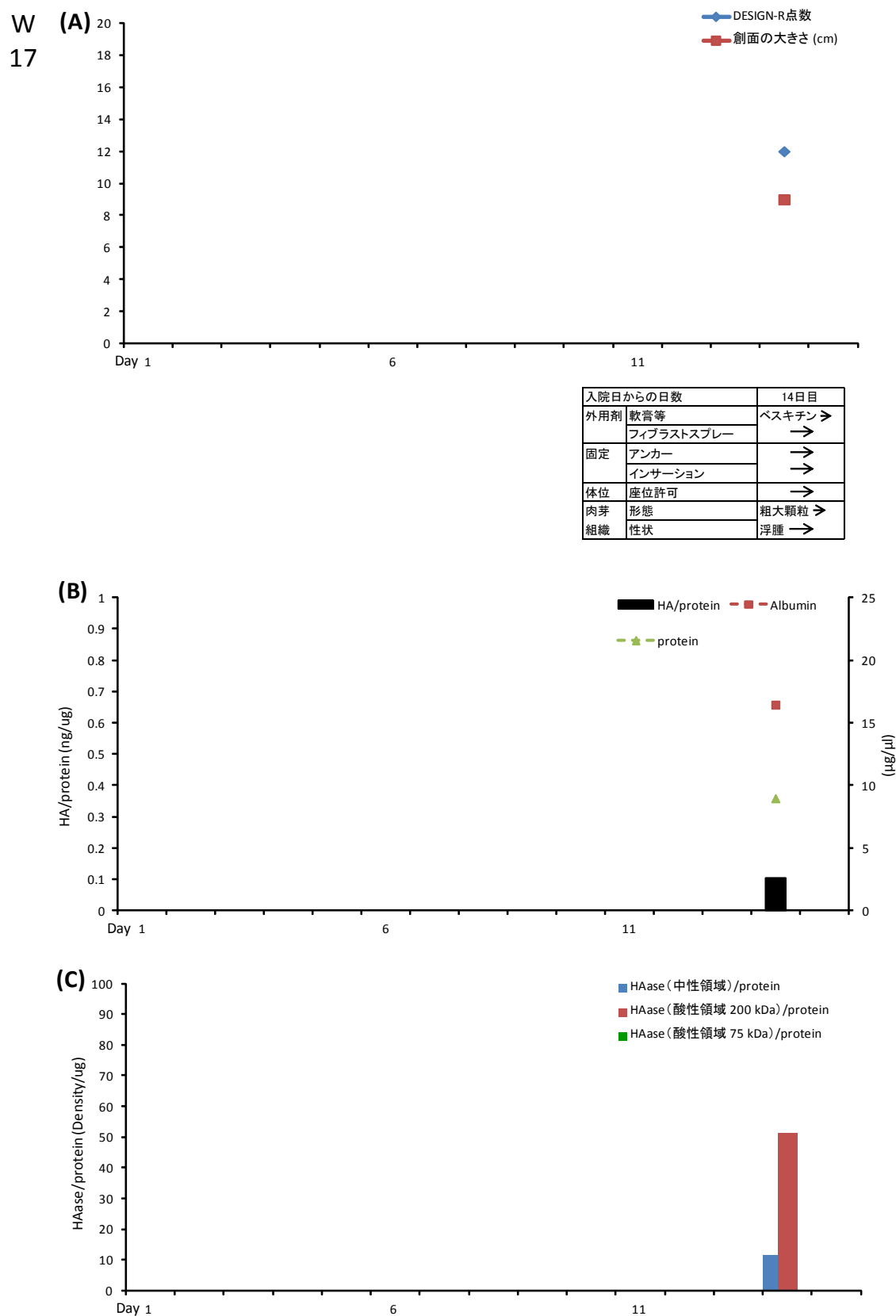


図 31 Wound 17 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化

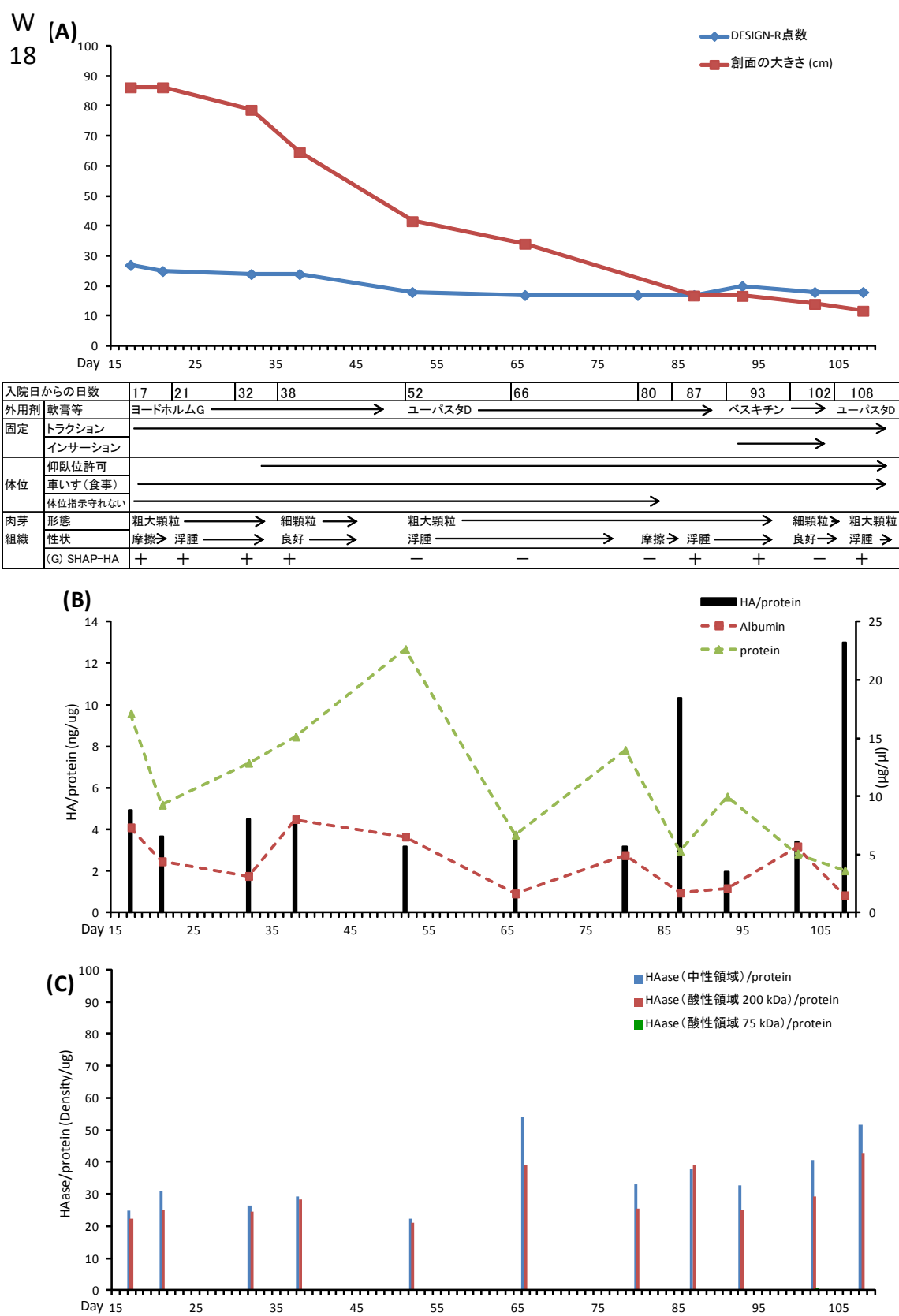


図 32 Wound 18 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化

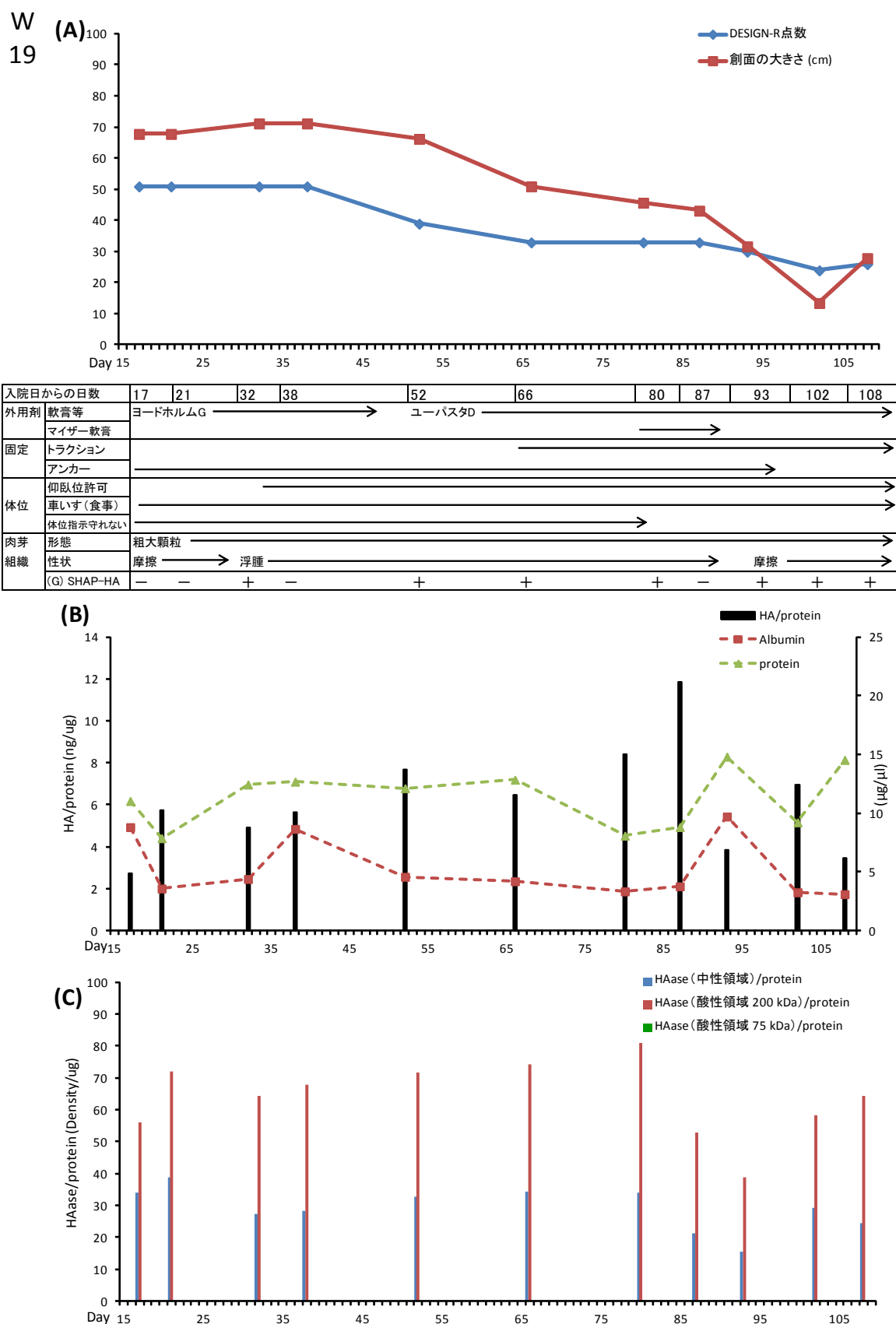


図 33 Wound 19 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化

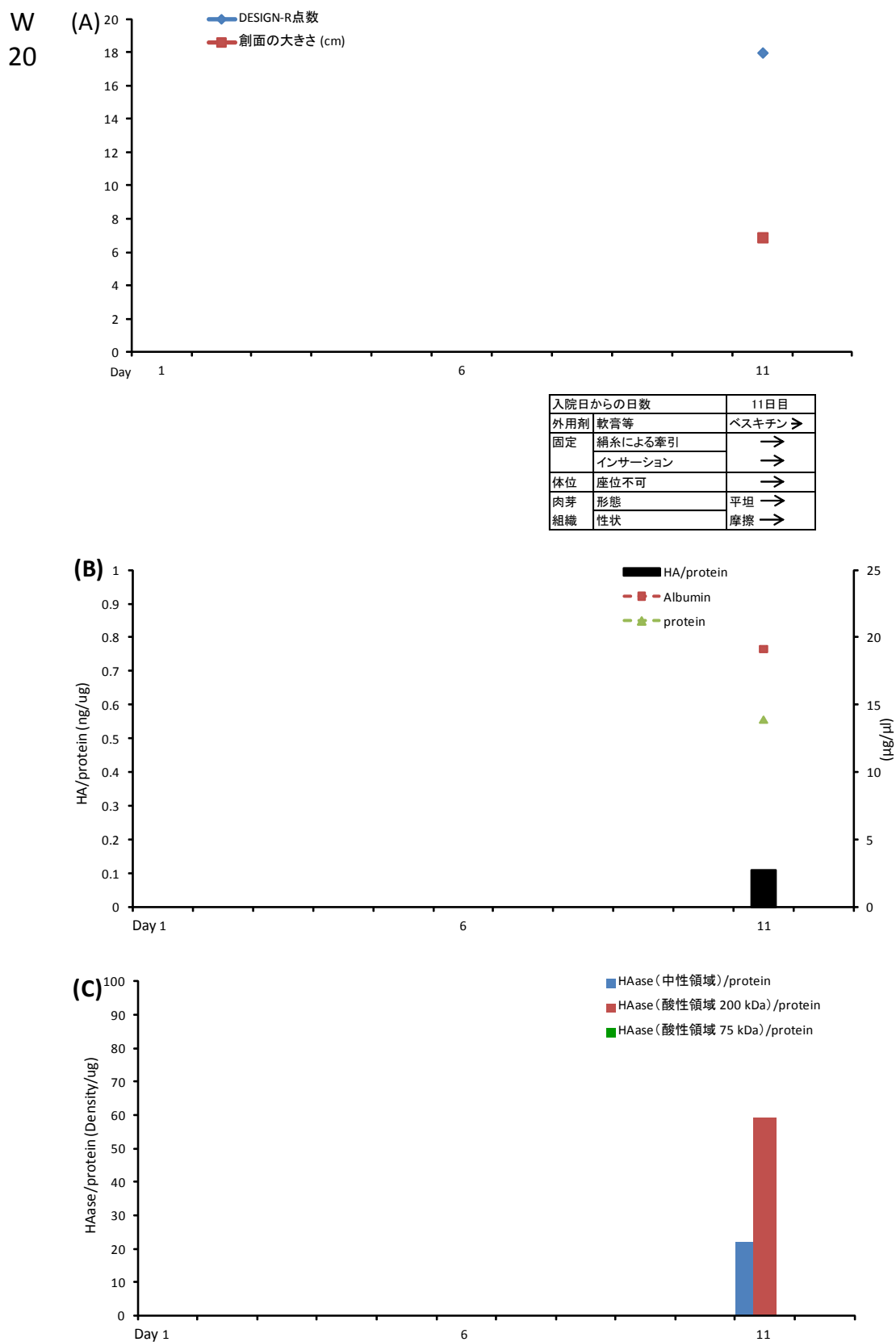


図 34 Wound 20 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化

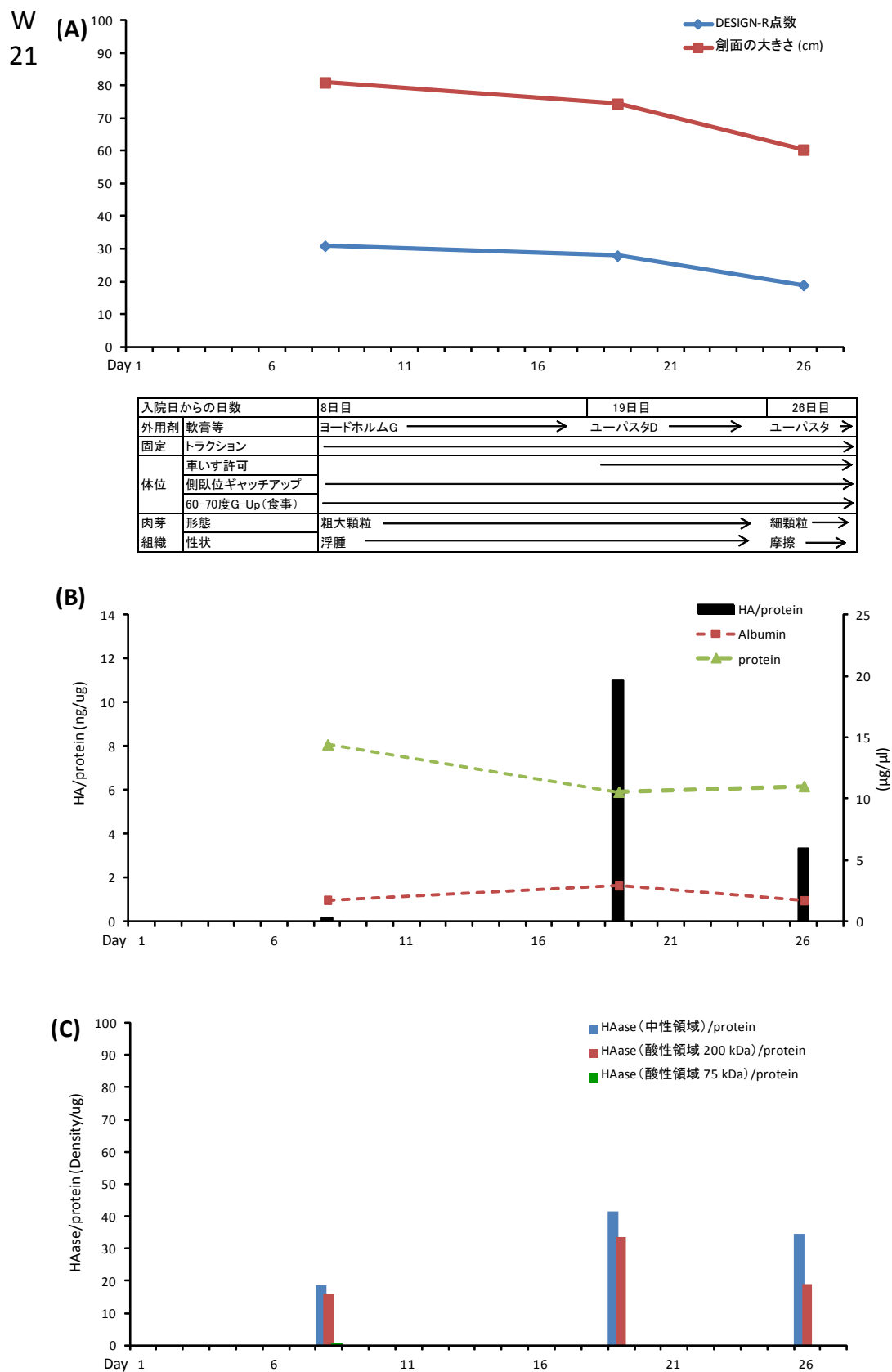


図 35 Wound 21 の(A)DESIGN-R 点数、創面の大きさ、(B) HA 量/タンパク量、アルブミン量、タンパク量、(C)HA 分解活性および外用剤他の経時的変化

## 1) ヒアルロン酸量の経時的変化と創面所見の関連

各創面の経時的変化の図 15～35 の各 (B) の HA 量のグラフから、HA 量が増減しながら変化している状態がみられた。経時的に採取したサンプルにおいて、HA 量からその 1 回前に採取したサンプルの HA 量を減じた HA 量を HA 変化量として、創面所見との関連を検討した。創面所見に関して、臨床上問題となるのは浮腫性の肉芽組織が粗大顆粒状形態に過剰な肉芽組織を形成する場合であり、肉眼的所見として粗大顆粒状の増減といった形態の変化が捉えやすいため、粗大顆粒状形態の変化について分析した。1 回前のサンプル採取時の創面所見に対して、肉眼的に粗大顆粒状形態が増強、減少、同程度のいずれに変化しているかを分類し分析をおこなった（増強 41 創面、減少 43 創面、同程度 22 創面）。粗大顆粒状所見が減少している創面では有意に HA 量が減少していた（図 36）。

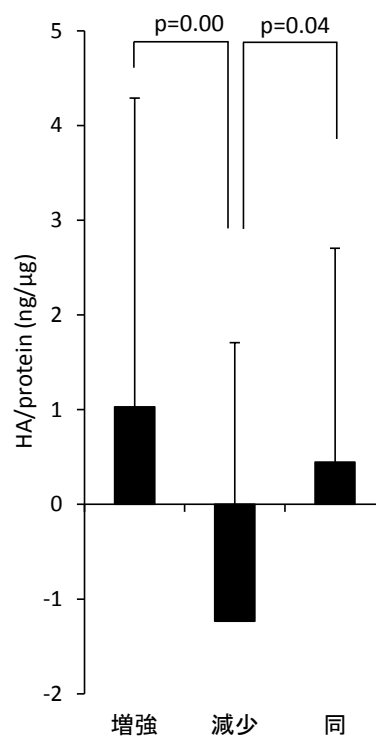


図 36 HA 変化量と粗大顆粒状所見の変化の関連

サンプル数は、増強 41 創面、減少 43 創面、同程度 22 創面を分析に使用した。

## 2) ヒアルロン酸分解活性の経時的変化と創面所見の関連

HA 量と同様に、1 回前に採取したサンプルの HA 分解活性を減じた HA 分解活性を HA 分解活性変化量として、粗大顆粒状の増減について検討した（増強 41 創面、減少 43 創面、同程度 22 創面）。粗大顆粒状の減少していた創面で HA 分解活性は高くなっている傾向はあるが有意な差ではなかった（図 37 a～c）。

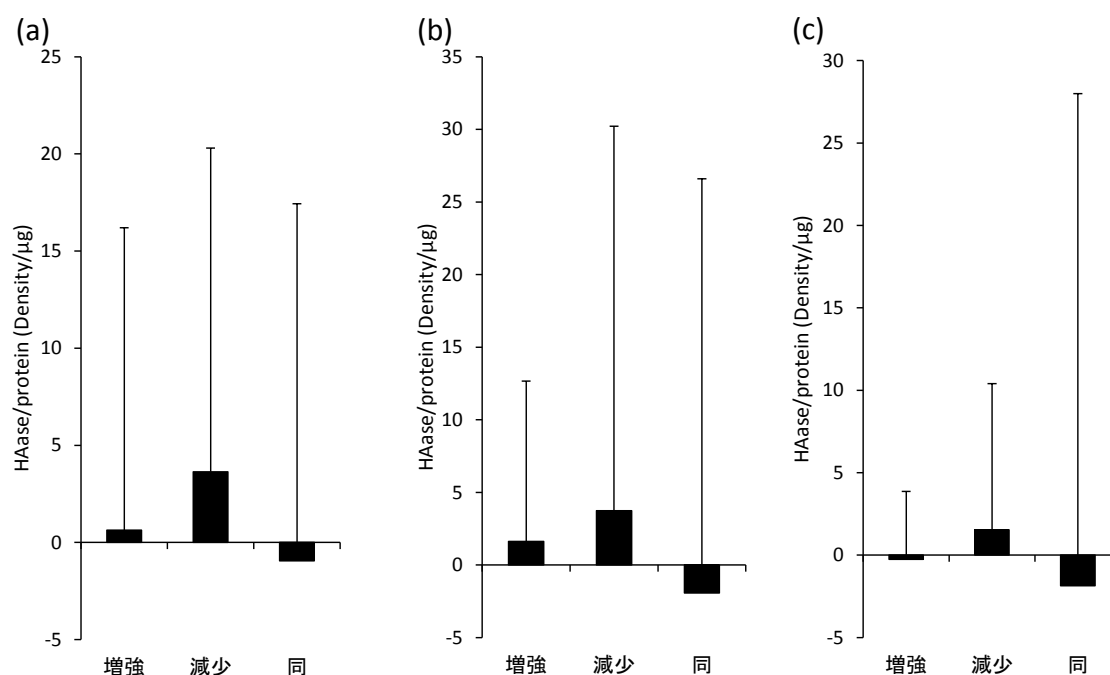


図 37 HA 分解活性変化量と粗大顆粒状所見の変化の関連

(a)中性領域、(b)酸性領域 200 kDa、(c) 酸性領域 75 kDa

サンプル数は、増強 41 創面、減少 43 創面、同程度 22 創面を分析に使用した。

### 3) ヒアルロン酸量、ヒアルロン酸分解活性の経時的変化と創面所見の関連についてのまとめ

創面所見の形態および性状に対して HA 量に有意な差はなかったが、本分析では HA 合成活性自体ではなく HA の組織における蓄積量を測定しているため、経時的な HA 量の変化をみると、粗大顆粒状形態の増減に関連して HA 量も増減しており、褥瘡の治癒過程において HA 量が肉芽組織の状態に応じて変化していた。

また、褥瘡の治癒過程における HA 量の変化は、急性創傷の場合のように、HA 量が一気に増加しピークを迎えると急激に減少してくような曲線に変化するのではなく、治癒状態つまり肉芽組織の状態によって増減しながら数ヶ月をかけて緩やかに変化し、最終的には wound 2、9 等にみられるように治癒に向けて HA は減少していた。

HA 分解活性の経時的変化は、黒色壊死等の除去後、治癒機転の初期においては、例えば wound 3、4 は黒色壊死組織除去後早い段階でサンプル採取ができた創面であるが、wound 3、4 にみられるように HA 量の上昇とともに HA 分解活性（中性領域、

酸性領域 200 kDa) も上昇していた。また、wound 2、3、15 は創の収縮と上皮化により、ほぼ治癒に近い状態までサンプル採取ができた創であるが、治癒に向けて HA 分解活性が大きく上昇するとともに HA 量は減少していた。

また、wound 2、3、4、5、6、12 ではポケット切開（黄色の矢印）をおこなっているが、wound 5 では HA 量は減少していたが、その他の wound 2、3、4、6、12 ではポケット切開後数日から 2 週間程度で HA 量は増加していた。

SHAP-HA 複合体については、ガーゼサンプルと綿棒サンプルの分析結果が、創面によって同じ結果である場合と違う結果である場合があった。

## 5. ヒアルロン酸量と創固定方法との関連

対象者に使用された創固定方法 (Mizokami, et al. 2015) とガーゼサンプルから得られた HA 量との関連を検討した。測定した HA 量は研究者のみが管理しており、HA 量によって固定方法の選択をしていない。創固定方法とその使用された創面数を表 10 にしめした。創固定方法と HA 量との関連を分析した。固定なしの創面は、HA 量が有意に低かった (図 38)。

表 10 創固定方法と創面数

| 創固定方法           | (創面) |
|-----------------|------|
| 固定なし            | 63   |
| トラクション          | 36   |
| アンカー            | 16   |
| 複合              | 28   |
| [トラクション+アンカー    | 20]  |
| [トラクション+インサージョン | 2]   |
| [アンカー+インサージョン   | 5]   |
| [絹糸牽引+インサージョン   | 1]   |

143

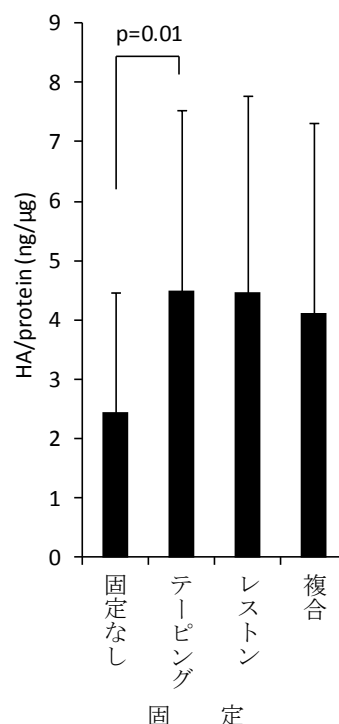


図 38 創固定方法と HA 量／タンパク量との関連

## VIII. 考察

### 1. ヒアルロン酸動態および SHAP-HA 複合体と創面所見

ガーゼサンプル、および、綿棒サンプルの分析結果と創面所見との関連、その経時の変化についてそれぞれ検討した。

ガーゼサンプルの分析より、浮腫性の創面では HA 量に有意な差はなかったが、HA 分解活性（中性領域）が低いことがわかった。また、形態として粗大顆粒状の形態を呈するときは浮腫状を呈することが多いが（永井他，2009）、粗大顆粒状の形態の創面においても HA 分解活性（酸性領域）は低かった。浮腫性の創面では HA 分解活性が低く、高分子 HA から低分子 HA への HA 分解が遅い状態であることがしめされた。しかし、HA 量は他の所見の創面と比較して多くないことから、浮腫性の創面では高分子 HA が緩やかに分解されながら、新生される高分子 HA と緩やかに置き換わり組織に安定的に存在していると考えられる。これは、安定した水和環境の提供により肉芽組織の増生に寄与する一方で、組織の状態として水分を貯留しやすい状態であり、また、アルブミン等血漿成分の流入も少なくないことから、浮腫性創面は外力に対する抵抗性の低い脆弱な創面であると考えられる。

また、HA 変化量と粗大顆粒状形態の変化との関連に関して、HA 変化量と粗大顆粒状形態の増減に関連がみられた。粗大顆粒状形態が増強していく状態は、HA 量の蓄積量が増加している状態であり、これは水分を保持しやすく組織の脆弱性が増している状態であると考えられる。このように HA が粗大顆粒状形態を増強しながら蓄積していく時は、ケアや治療において注意が必要な時期と考えられる。一方で、粗大顆粒状形態が減少し HA の蓄積量が減少していく時は、創の状態が改善されていると考えられ、これは浮腫性の所見であっても、現状のケアや治療が適している状態と考えられる。長期的な HA 量の経時的变化からも治癒に向けて HA 量は減少しており、HA 量の減少は治癒に向かっている状態と考えられる。しかし、経時的变化を表した図 15～35 から、1 つの創面における経時的な変化として上述のような関連はみられるが、全く別の創面同士（例えば wound 1 と wound 2）を HA 量のみで比較し判断することは、HA 量の数値的な基準の確立に至っていないため、現時点においては難しい。経時的なモニタリングの中で HA 量の変化および HA 分解活性を検討することによって、より注意が必要な状態であるかを判断することが可能であると考えられるが、今後さらに検討が必要である。

摩擦性の創面では HA 分解活性（中性領域）が高く、高分子 HA の分解は早い状態であることがしめされた。摩擦性所見の創面では、新生される高分子 HA に早い回転で置き換わり、さらに高分子 HA から分解された低分子 HA 量が多い状態であると考えられる。低分子 HA は炎症性サイトカインの発現を促進するため、組織において炎

症が促進されていると考えられる。研究者の修士課程における研究において、正常ヒト皮膚線維芽細胞に損傷を与え、加圧（静水圧 50 mmHg）の有無による創傷治癒過程における HA 分子サイズの比較において、加圧により HA の低分子化が認められた。摩擦性所見と外力との関連を本研究では明らかにできないが、摩擦性の所見であること、また褥瘡の悪化の要因が外力であることより、創面に何らかの外力が加わることによって HA 分解活性が亢進し、HA の低分子化がおこっている可能性がある。

形態的に、摩擦性の創面は平坦な状態をしめすことが多く、平坦な形態の場合も HA 分解活性（酸性領域）は高かった。しかし、平坦な形態は肉芽組織が新生を始めまだ創底を覆っていない状態や良好な創面でもみられたため、平坦な形態における HA 分解活性の高い状態を、そのまま摩擦性創面の状態と関連付けることはできなかった。しかし、肉芽組織の新生している炎症期初期と考えられる創面では同時に起こっている組織破壊による ECM への HA 分解酵素の放出、あるいは、良好な創面における過剰に産生された HA、または蓄積した HA の分解に HA 分解活性の上昇は必要であり、それらが反映されていると考えられる。

浮腫という所見は、手術創等の創傷部位あるいは創傷部位以外においても医療者にとっては馴染み深く、肉芽組織の浮腫性所見の有無には注意が向きやすい。しかし、摩擦性所見は、脆弱で傷つきやすい肉芽組織にみられる所見であると考えられるため、褥瘡創面に特有な所見といえるかもしれない。摩擦性所見は、肉芽組織がベッドなどで摩擦される場合にも起こると考えられるが、多くの場合、ポケット内部や皮膚のたるみ等によって肉芽組織同士が摩擦されるような部位で観察される所見である。摩擦性所見の部分は、上述のように炎症が亢進している可能性があるため、適切な介入により悪化を予防することが必要と考えられる。しかし、ポケット内部等観察しにくい部分も多く、HA 動態から炎症の状態を推測できることは有用となると考えられる。

炎症をあらわす指標として、HA の形質変化による SHAP-HA 複合体についても検討した。ガーゼサンプルにおいて SHAP-HA 複合体は、浮腫性および摩擦性の性状の創面に多く検出されていた。SHAP-HA 複合体が炎症部位に多く存在するという報告から（Kida, et al. 1990 ; Yingsung, et al. 2003）、浮腫性および摩擦性の創面と炎症状態との関連が示唆される。そのため、SHAP-HA 複合体が検出された 29 創面において良好な創面では 1 創面（3%）、細顆粒状の創面では 3 創面（10%）のみに検出され

ていたことは妥当であると考えられる。しかし、このガーゼサンプルの分類は創面の最も大きな部分を占める所見での分類であったため、部分的には浮腫性や摩擦性の所見を呈する部分も含んでいた。そのため、SHAP-HA 複合体を検出した良好な創面や細顆粒状の創面を個別に見直すと、最も範囲の広い部分として良好あるいは細顆粒状の所見が認められたが、ポケットを同時に形成している創面であり、創面全体が良好あるいは細顆粒状の創面ではなかったため、SHAP-HA 複合体を検出したと考えられる。浮腫性および摩擦性の創面で各 14 創面（48%）ずつに SHAP-HA 複合体が検出されていたが、同様にそれぞれがどちらの所見も含んでいる可能性があり、浮腫性の創面にも SHAP-HA 複合体が検出したと考えられる。

また、浮腫性および摩擦性所見において SHAP-HA 複合体の検出された創面と検出されていない創面があった。SHAP-HA 複合体は、HA と ITI の量的、時間的關係に依存して形成されるため、SHAP-HA 複合体の検出された創面は、HA 量が多い創面であり、かつ、炎症の亢進が示唆されるため、同じ分類の所見の創面であっても、より良くない状態であると考えられる。

HA 量および HA 分解活性から示唆される組織の脆弱性および HA の低分子化による炎症の促進の可能性とともに、SHAP-HA 複合体の分析は組織の炎症状態を判断する指標となると考えられる。

さらに、詳細に検討するためにおこなった綿棒サンプルの分析では、摩擦性所見の部分に SHAP-HA 複合体量が多く、これはガーゼサンプルでの結果を支持するものであった。さらに、アルブミンやフィブロネクチンといった血漿成分も多い傾向がみられ血管透過性が増している部位であると考えられ、デコリンも多い傾向がみられ、炎症が促進されている状態である可能性が綿棒サンプルの分析からも示唆された。HA との結合能をもつバーシカンも多い傾向がみられていたが、HA と結合することによって HA はより安定的な状態となり代謝は遅くなると考えられ、それにより SHAP-HA 複合体の代謝も遅くなると考えられる。SHAP-HA 複合体が組織に留まることによって、SHAP-HA 複合体が HA のケーブル構造に関与し (de la Motte, et al. 2003)、白血球の接着を促進することから (Zhuo, et al. 2006) 創部への白血球の流入を促進し、さらに炎症は促進されるのかもしれない。綿棒サンプルの結果からも、摩擦性の部位は炎症が亢進している部位である可能性が示唆された。

綿棒サンプルの浮腫性部分に関する分析結果は、浮腫性部分では SHAP-HA 複合体

量が少なく、しかし、アルブミンやフィブロンネクチンといった血漿成分は良好な部分に比較して多い傾向がみられており、摩擦性部分とは分子的に異なる状態であった。ガーゼサンプルの結果より HA が組織に安定的に存在していることが示唆されており、さらに血管の透過性の亢進によって組織に水分が供給されることによって浮腫性の所見を呈していると考えられる。

SHAP-HA 複合体に関して、経時的变化を表した図 15～35 から、ガーゼサンプルと綿棒サンプルでの分析結果が、創面によって同じ結果である場合と違う結果である場合がみられた。しかし、これは元々のサンプルの条件が違うため、この両者の違いを比較することはできない。また、それぞれのサンプルに利点と欠点があり、ガーゼサンプルは簡便で対象者への侵襲もないが創面全体としてのみため、創面所見との関連を特定するには経験が必要になる。綿棒サンプルは、創面の所見と対応した結果からケア方法等の考察に使用できる可能性はあるが、サンプル採取者による違いが生じる可能性や創面のどの部位を採取するかによって結果が大きく異なる可能性がある。また検出力に関して、ガーゼサンプルの場合は直接的に SHAP-HA 複合体の有無を検出できるが、綿棒サンプルの場合は ITI とビクニンの量的な関係の中で推測して判断している。臨床への活用において、検出の程度や使いやすさについては、さらに検討が必要である。

HA 分解活性の中性領域と酸性領域における違いについて、肉芽組織の形態としては酸性領域に差がみられ、性状としては中性領域に差がみられていた。他の創面所見においてもそれぞれ違いがみられていた。酸性領域、中性領域によるこれらの差の有無の違いについては不明である。しかし、創面の状態によって、例えば、組織の破壊が進む状態の時には、本来、細胞内に存在し酸性領域に活性をもつ HA 分解酵素が ECM 中に拡散されることによって活性の差が生じると考えられる。また、偽膜がある場合は、創面の細菌等による HA 分解酵素の産生と放出により ECM 中の HA 分解活性が上昇する可能性がある。実際の創面において、本来、ECM 中は中性であるが、例えば上述のように、組織の破壊が進む状態の時には血管透過性も亢進している状態であり、アルブミン等が創面に流入している時期と考えられる。アルブミンの等電点が pH 4.9 のため、アルブミンが多い部分では創面局所の pH が緩衝作用で局所的に酸性に傾くことによって、酸性領域での HA 分解活性が実際の創面においても優位になると考えられる。逆に、アルブミンのような等電点の低い分子が少ない部分では中性領域での

分解活性が高くなると考えられる。そのため、創面の形態や状態の影響によって、HA 分解活性の中性領域あるいは酸性領域での活性に差が生じているのかもしれない。今後、さらに HA 分解活性をもつ分子の同定とともに、検討が必要であると考えられる。

また、本分析より、ポケットが形成されている創面においても特徴がみられた。ガーゼサンプルの分析結果より、ポケットが形成されている創面は HA 量が多く、HA 分解活性（酸性領域）が低いことから、高分子 HA が蓄積されている状態であることが示唆され、水分を保持しやすく組織の脆弱性が増している創面であると考えられた。さらに、SHAP-HA 複合体は、ポケットが形成されている創面、特に深いポケットを形成している創面に検出されており、SHAP-HA 複合体が組織の炎症状態を反映していると考えられるため、ポケットが形成されている創面では、同時に、炎症状態が亢進している状態であると考えられる。実際に、ポケットが形成されている創面の所見として、ポケットの内部は摩擦性の所見を、そしてポケットではない部分は浮腫性の所見と複雑な所見を呈することも多く、これらの状態を反映しているのかもしれない。さらに綿棒サンプルを、その採取部位からポケットの内部またはポケットの外部に分類した分析結果では、ポケットの内部に HA 量が多く、さらに血漿成分のフィブロンクチンやアルブミンが多かったことより、ポケット内部の組織は脆弱性が増している状態であることが考えられた。バーシカン（8531 抗体）も有意に多く、このバーシカンのフラグメントが組織へより多くの HA の供給を促進することから（Murasawa, et al. 2013）、ポケット内部はさらに脆弱性が亢進しやすい状態にあるのかもしれない。ポケット内部は摩擦性の所見を呈することが多く、良好な肉芽組織の増生が進まない部位であり、深い損傷部では腱等の露出や壊死が起こるが、デコリンはコラーゲン分子の近くに局在するため、今回、Ⅲ度以上の褥瘡を対象にしているために深い損傷部からデコリンが多く検出されたのかもしれない。また、デコリンは創傷治癒において炎症を促進するため（Alberts, et al. 2008 ; Merline, et al. 2011）、ポケット内部は、脆弱性ばかりでなく、炎症も亢進しているのかもしれない。SHAP-HA 複合体に有意な差はなかったが、ポケット内部は摩擦性所見を呈することが多く、ポケット内部は炎症状態が亢進している可能性がある。ポケットが形成されている創面の組織の状態として、組織の脆弱性と炎症性が同時に存在していることは、ケア方法を考える上で重要かもしれない。SHAP-HA 複合体を含む HA 動態をモニタリングすることは、ケアや治療方法を検討する上で有用となる可能性がある。

本研究では ECM の成分である HA に着目し、褥瘡創面アセスメントの客観的指標への活用の可能性について検討し、HA 量、HA 分解活性および SHAP-HA 複合体の分析が肉芽組織の客観的指標として有用である可能性が示唆された。特に、HA に着目したこれらの分析は、治癒過程における肉芽組織の脆弱性等を反映しており、外力が原因で発生および悪化にいたる褥瘡の管理において、これらの情報は非常に有用であると考えられる。すなわち、患者の日常生活を支える看護の機能において、「褥瘡をもつ患者の看護」として日常生活行動からも起こりうる外力の管理において、HA に着目した指標は看護において有用であると考ええる。

現在使用されている治癒経過評価表は、例えば DESIGN-R 分類での肉芽組織の評価は良好肉芽組織が創面の何%を占めるかを評価しており、治癒経過表として優れたツールであるが、良好肉芽組織以外の肉芽組織の状態に十分に注目しているとはいえない。また、創面の浮腫性は、粗大顆粒状の形態としても着目しやすく、外用剤の選択においても注意が払われる所見である。しかし、創傷治癒過程にある肉芽組織は、正常な皮膚における浮腫とは異なると考えられるが、その詳細についても言及されてきていなかった。本研究における、浮腫性および摩擦性所見における HA 動態および HA の形質変化についての報告は初めてであり、その所見の背景となる組織の状態を推測することはケアの立案において有用であると考えられる。

本分析から、良好、浮腫性および摩擦性の関連について、図 39 にまとめた。肉芽組織の新生および増生がなされ、褥瘡発生初期には組織の炎症状態のため、そのまま良好な肉芽組織に覆われた状態になることはまれであると考えられ、多くは浮腫性または摩擦性肉芽組織が形成された後、浮腫性の状態から良好な状態へと移行していくと考えられる。しかし、良好な肉芽組織の状態から、再度、浮腫性に戻る場合や、あるいは摩擦性の状態に移行する場合もおこると考えられる。しかし、一時的には、肉芽組織の増殖のために浮腫性に移動することは必要かもしれない。

これを、本分析結果を踏まえてさらに詳細に述べると、褥瘡発生の初期において肉芽組織の新生および増生時には、HA 量が増加し、組織の炎症状態も重なるため多くの場合に浮腫性肉芽組織となると考えられる。HA 分解が良好におこなわれ、血管透過性の減少によって組織への水分の流入が減少することによって良好肉芽組織へと移行し、HA 量が減少しながら治癒へ向かう。しかし、外力等なんらかの要因により HA 分解活性の低下によって高分子 HA が蓄積され、さらに血管透過性の亢進が維持され

ることによって組織への水分の流入が加わることで、浮腫性肉芽組織となる。また、浮腫性肉芽組織において HA 量が増すことで粗大顆粒状形態が亢進する。さらに、脆弱性の増した肉芽組織は、肉芽組織同士の接触等によって影響を受けやすい状態となり、摩擦性肉芽組織へと移行すると考え

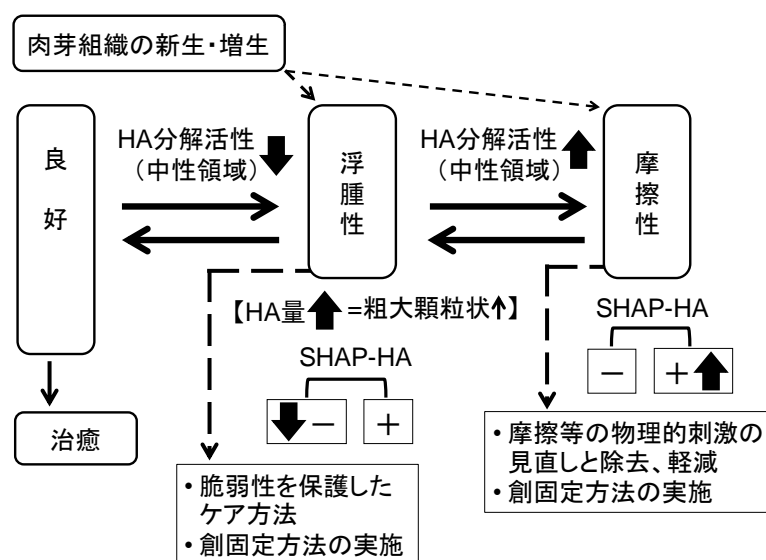


図 39 各所見の関連

られる。摩擦性肉芽組織では、HA 分解が亢進することによって低分子 HA が多い状態となり炎症が亢進されと考えられ、それにより血管透過性は亢進し、血漿成分の流入が増加することによって、HA から SHAP-HA 複合体が形成され、SHAP-HA 複合体自体がさらに炎症を亢進している可能性がある。デコリン等様々な炎症促進性の分子も加わることで、炎症が亢進した状態となっている可能性があり、炎症状態の持続は治癒を阻害すると考えられる。さらに、浮腫性および摩擦性所見の各所見において、SHAP-HA 複合体が検出される場合と検出されない場合がある。浮腫性の創面において SHAP-HA 複合体が検出される場合、炎症がより亢進している状態と考えられ、肉眼的には浮腫性が優位と判断される場合にも、本来まだ摩擦性に分類される状態であることがしめされている可能性がある。逆に、摩擦性の創面において SHAP-HA 複合体が検出されない場合、HA の分解が進んでいる状態と考えられ、炎症がおさまってきているのかもしれない。SHAP-HA 複合体の分析によって、より注意が必要な状態を判断できる可能性が示唆された。

浮腫性や摩擦性は、お互いに移行しやすい状態であると考えられる。しかし、これらの変化は創面全体に均一におこらず、もともとの発生における外力の掛かり方等によって創面は不均一であり、その後の外力の掛かり方等によっても、ひとつの創面内の一部では浮腫性に、別の部位では摩擦性に移行するというように、ひとつの創面内に別の所見が混在することも多く観察される。創面的一部分であっても、それが全体

に影響を及ぼし、さらには治癒の阻害になり得る。これらの変化を、肉眼的所見のみで判断するには経験が必要であり、客観的指標の活用によりこれらの肉芽組織の変化を見落とさずケアに繋げることが重要であると考えられる。

本分析によって浮腫性および摩擦性所見の組織の状態を推測することができ、良好な肉芽組織から浮腫性肉芽組織への移行や、浮腫性肉芽組織から摩擦性肉芽組織への移行を客観的に捉えることが可能となると考えられる。これらの変化を、適切に判断することによって、悪化を最小限に抑え、また予防することが可能かもしれない。特に浮腫性の時に摩擦性に移行させず、良好な肉芽組織へと移行するように早期に適切な介入をおこなうことが重要と考えられる。

今回の研究対象創面には含まれていなかったが、記載潰瘍学に述べられている浮腫性とは逆の乾燥性の創面等が、さらに図 39 に含まれるべきであると考えられる。

## 2. 看護ケアへの応用

治癒過程の肉芽組織において、浮腫性や摩擦性所見は良く観察される所見であるが、その肉芽組織の分子的な状態は明らかではなかったため、このような肉芽組織の変化に対応したケアについて検討されてきておらず、これらの所見の変化を測定するための指標も検討されていなかった。また、肉芽組織の脆弱性に対して愛護的なケアがされているが、良好な肉芽組織と浮腫性の肉芽組織の脆弱性の違いについては言及されておらず、それらに対するケアの違いについても言及されていない。肉芽組織の肉眼的創面所見の良好、浮腫性および摩擦性創面の組織内の状態を考察し、その関連や移行について、今回、初めての報告となった。

現在、褥瘡を持つ患者はいわゆる寝たきりの患者ばかりではなく、一時的な基礎疾患の増悪により褥瘡を発生し、治療によって基礎疾患が軽快したことによって歩行可能な状態になっている患者もおり、さらに、廃用症候群予防、拘縮予防等のために入院後早期から患者の状態に合わせたリハビリテーションの開始、日常生活行動の拡大が図られている。本研究の対象者も日常生活自立度は、C2（自力で寝返りがうてない）が最も多かったが、対象者の半数以上が C1～B1 であった。

動作能力等が不十分な状態の患者の動作時は、創の変形（Mizokami, et al. 2013）を起こしやすいが、肉芽組織を良好に保つためには創の変形を防ぐような介入が必要となる。現在までは、どの程度の介入が必要かについて患者の動作能力を考慮し、創

への影響については臨床の看護師の経験をもとに判断されていた。

本分析から創の脆弱性や炎症状態を推測できることによって、重点的に創の保護や安静に努めなければならない状態（時期）を客観的に判断できるようになると考えられる。例えば、脆弱性や炎症状態が増していると考えられる時期に、車いすへの移乗の際に、患者自身で可能であっても創面を引きずるなど外力が掛からないかを観察し、創の変形が起こらないように重点的な介助をおこなうことで、患者の日常生活行動の拡大と折り合いをつけながら、効果的に創の悪化を予防することができると考えられる。本結果にもしめされたが、例えばポケット切開後に HA 量の大きな増加がみられ、この時期は組織的にも脆弱性が増していると考えられ、創の保護や安静を図ることが重要である。患者自身も、スタッフも、切開という侵襲を理解し、より愛護的なケアや観察をおこなっている。しかし、外力等なんらかの要因によって HA 量が増加し、切開後と同様に組織の脆弱性が増している場合もある。この変化を肉眼的所見やスタッフの経験のみに依存せず、HA の分析によって客観的に判断し、常にケアにあたるスタッフがこの変化を理解し共有することによって、切開後に悪化をおこさないことと同様に、創の悪化を最小限に、あるいは予防するための介入時期が判断できると考えられる。

また、褥瘡は身体の様々な部位に発生するが、発生部位による褥瘡の特徴があり、大転子、腸骨、仙骨はポケットの形成が多く、これは創周囲の軟部組織の特徴の違いによるものと考えられ (Takahashi, et al. 2013)、この軟部組織の特徴について、Mizokami, et al.(2013)は創の変形として報告している。本分析から得られる組織の脆弱性等に関する指標の効果が最も期待されるのが、創の変形が起こりやすい部位である仙骨を始めとする尾骨、腸骨、大転子等の腰部に形成される褥瘡に対してであると考えられる。本分析によって、重点的に除圧管理をおこなう時期が判断できることは、これら除圧管理の難しい部位の管理と患者の日常生活行動の両方を維持する上で有用と考えられる。

さらに、HA 量と創の固定方法 (Mizokami, et al. 2015) の関連を分析したところ、固定をしていない創面は有意に HA 量が低かった。HA 量が多い創は、組織の脆弱性が増強され、創の変形を起こしやすい状態であり、創固定の対象となったと考えられる。本研究で分析をおこなった褥瘡創面において、経時的にサンプル採取をおこなったすべての創面の DESIGN-R 点数が改善され、良好な経過が得られていたことより、

HA 量が多い創面に対してこのような創の固定方法について考慮することは一つの方法であり、有効かもしれない。

本分析から、HA 量、HA 分解活性および SHAP-HA 複合体の分析が看護ケアの選択に有用である可能性が示唆された。

### 3. 今後の課題

本研究において、HA 量、HA 分解活性および SHAP-HA 複合体の分析が看護ケアの選択に有用である可能性が示唆されたが、HA 量、HA 分解活性および SHAP-HA 複合体量の数値的な域値を決定するには至っていない。今後、さらに症例数を増やし検討することが必要である。

さらに、本研究では HA 分解活性がどのような分子によって分解されるか特定していない。また、HA はその分子サイズによる機能に違いがあることより、これらに関して、今後、明確にする必要がある。例えば、HA 分解活性が高い時、低分子 HA がどの程度蓄積しており、摩擦性所見と関連しているのか等を明確にすることが適切な介入に繋がると考えられる。

また、本研究では浸出液および創表面タンパク質の分析から肉芽組織の状態を推測しているため、実際の肉芽組織における局在、組織像について検討していく必要がある。

本研究では、肉芽組織の状態を判断する指標としての可能性について分析をおこない、それによって、どのような時期にケア方法等の追加や修正について判断すべきかを考察してきた。今後、上述のように HA に関してさらに詳細に検討していくとともに、この指標を活用するために、どのように脆弱な肉芽組織を保護しながらケアをおこなうのか検討していく必要がある。既存の方法としては、本分析を活用し適切な時期に、より愛護的なケアの提供や創固定方法の検討を上述した。さらに研究を重ねることによって、看護技術や様々な材料の活用も含めて提案していく必要がある。

## IX. 結論

本研究は、ECM 成分である HA に着目し深い褥瘡の治癒過程において形成される肉芽組織の状態の変化と創面所見との関連について言及した初めての報告である。これまで肉芽組織の浮腫性所見に関して、創傷治癒過程における肉芽組織の浮腫の組織の

状態についても言及されておらず、さらに、良好な肉芽組織と浮腫性の肉芽組織の脆弱性の違いについても検討されていなかった。そのため、肉芽組織の変化に対応したケアについて検討されてきておらず、また、これらの所見の変化を測定するための指標も検討されていなかった。さらに、本研究では良好、浮腫性および摩擦性所見を取り上げているが、これら創面の組織内の状態を推測し、これら所見の関連や移行について、今回、初めての報告となった。

本分析結果から、褥瘡の治癒過程における肉芽組織の所見と HA の関連について、褥瘡発生の初期において肉芽組織の新生および増生時には、HA 量が増加し、組織の炎症状態も重なるため多くの場合に浮腫性肉芽組織となると考えられる。HA 分解が良好におこなわれ、血管透過性の減少によって組織への水分の流入が減少することによって良好な肉芽組織へと移行し、HA 量が減少しながら治癒へ向かうと考えられる。しかし、外力等なんらかの要因により HA 分解活性の低下によって高分子 HA が蓄積され、さらに血管透過性の亢進が維持されることによって組織への水分の流入が加わることで、浮腫性肉芽組織となる。また、浮腫性肉芽組織において HA 量が増すことで粗大顆粒状形態が亢進する。さらに、脆弱性の増した肉芽組織は、肉芽組織同士の接触等によって影響を受けやすい状態となり、摩擦性肉芽組織へと移行すると考えられる。摩擦性肉芽組織では、HA 分解が亢進することによって低分子 HA が多い状態となり炎症が亢進されることが考えられ、それにより血管透過性は亢進し、血漿成分の流入が増加することによって、HA から SHAP-HA 複合体が形成され、SHAP-HA 複合体自体がさらに炎症を亢進している可能性がある。デコリン等炎症促進性の分子を含めた様々な分子によって炎症が亢進した状態となっている可能性があり、炎症状態の持続は治癒を阻害すると考えられる。さらに、浮腫性および摩擦性所見の各所見において、SHAP-HA 複合体の分析によって、より注意が必要な状態を判断できる可能性が示唆された。

これらから、浮腫性創面は、HA 分解活性（中性領域）が低く、組織の状態として高分子 HA による水分を貯留しやすい状態であることが示唆された。そのため、組織の脆弱性が問題と考えられる。この問題に対応するために、ケアとしては組織の脆弱性に留意したケアが重要な時期と考えられる。さらに、SHAP-HA 複合体の分析から、浮腫性創面において SHAP-HA 複合体が検出される創面は、HA 量が多く、組織の炎症が亢進している状態であると考えられるため、特にこれらに留意したケア等が必要

な時期であると考えられる。

摩擦性創面は、HA 分解活性（中性領域）が高く、SHAP-HA 複合体量が多く、組織の状態として炎症状態が亢進している状態であることが示唆された。そのため、ケアとしては肉芽組織の摩擦等の物理的刺激の見直しと除去、軽減をはかることに留意することが必要と考えられる。摩擦性創面において SHAP-HA 複合体の分析から SHAP-HA 複合体が検出される創面は、HA 量が多く、特に炎症状態が亢進していると考えられるため、注意が必要な時期であるといえる。また、摩擦性所見に関して、目視が難しいポケット内部の状態の判断に対しても有用となる可能性がある。

浮腫性所見と摩擦性所見がお互いに移行しやすいことより、肉眼的所見のみに依存しない、HA 量、HA 分解活性や SHAP-HA 複合体の分析によって、客観的に判断し、適切な介入時期の判断が可能となると考えられる。

以上のように、肉芽組織の状態を客観的に判断し、ケアを選択するための判断材料として、HA 量、HA 分解活性および SHAP-HA 複合体の分析が、創面の状態をあらわす客観的指標となる可能性が示唆された。

## 謝辞

本研究を実施するにあたり、多くの方々にご指導、ご協力を賜り、心より感謝を申し上げます。

愛知県立大学大学院看護学研究科、米田雅彦教授には長きに渡り指導教員として多くのご指導を賜り、深く感謝を申し上げます。現在の私が在るのは、すべて米田雅彦教授のお陰です。

独立行政法人国立長寿医療研究センター、先端診療部、皮膚科医長、磯貝善蔵先生には、大変多くのご指導を賜り、深く感謝を申し上げます。研究を続けることができましたのは、すべて磯貝善蔵先生のお陰です。

米田雅彦教授、磯貝善蔵先生のご指導によって、博士論文をまとめるに至ることができました。心より感謝を申し上げます。

また、国立長寿医療研究センター病院の師長、スタッフの皆様には、臨床における素晴らしい看護実践を通して様々な示唆を与えていただき、深く感謝を申し上げます。

副指導教員として様々な機会において、ご指導、ご助言を下さいました愛知県立大学大学院看護学研究科、小松万喜子教授、百瀬由美子教授に心より感謝を申し上げます。

す。

そして、研究にご協力いただきました対象者の皆様に心より感謝を申し上げます。

## 参考文献

- Alberts,B.,Johnson,A.,Lewis,J.,et al.(2008).The extracellular matrix of animal connective tissues. In *Molecular Biology of The Cell*. 5th ed. (pp.1178-1195). New York, Garland Science.
- Aya,K.L., & Stern,R.(2014).Hyaluronan in wound healing: Rediscovering a major player. *Wound repair and regeneration*, 22(5),579-593.
- Beeckman,D.,Schoonhoven,L.,Fletcher,J.,et al.(2007).EPUAP classification system for pressure ulcers: European reliability study. *Journal of advanced nursing*, 60(6),682-691.
- Black,J.,Baharestani,M.M.,Cuddigan,J.,et al.(2007).National Pressure Ulcer Advisory Panel's updated pressure ulcer staging system. *Advances in skin & wound care*, 20(5),269-274.
- Bourguignon,L.Y.(2014).Matrix hyaluronan-activated CD44 signaling promotes keratinocyte activities and improves abnormal epidermal functions. *The American Journal of Pathology*, 184(7),1912-1919.
- Brienza,D.,et al.(2008).Tissue integrity management. In Cooper, RA. et al. An introduction to rehabilitation engineering. Boca Raton, USA, Taylor & Francis.
- Chen,W.Y.,Abatangelo,G.(1999).Functions of hyaluronan in wound repair. *Wound repair and regeneration*, 7(2),79-89.
- Csoka,A.,Frost,G.,SternR.(2001).The six hyaluronidase-like genes in the human and mouse genomes. *Matorix biology*, 20(8),499-508.
- Damodarasamy,M.,Johnson,R.S.,Bentov,I.,et al.(2014).Hyaluronan enhances wound repair and increases collagen III in aged dermal wounds. *Wound repair and regeneration*, 22(4),521-526.
- de la Motte,C.A.,Hascall,V.C.,Drazba,J.,et al.(2003).Mononuclear leukocytes bind to specific hyaluronan structures on colon mucosal smooth muscle cells treated with polyinosinic acid:polycytidylic acid: inter-alpha-trypsin inhibitor is crucial

- to structure and function. *The American Journal of pathology*, 163(1),121-133.
- Dinsdale,S.M.(1974).Deucubitus ulcers: Role of pressure and friction in causation. *Archives of physical medicine and rehabilitation*, 55(4),147-152.
- Essex,H.,Clark,M.,Sims,J.et al.(2009).Health-related quality of life in the hospital inpatients with pressure ulceration: assessment using generic health-related quality of life measures. *Wound Repair and Regeneration*, 17(6),797-805.
- Evanco,S.P.,Tammi,M.I.,Tammi,R.H.,et al.(2007).Hyaluronan-dependent pericellular matrix. *Advanced drug delivery reviews*, 59(13),1351-1365.
- Foschi,D.,Castoldi,L.,Radaelli,E.,et al.(1990).Hyaluronic acid prevents oxygen free-radical damage to granulation tissue: a study in rats. *International journal of tissue reactions*, 12(6),333-339.
- Fraser,J.R.,Laurent,T.C.,Laurent,U.B.(1997).Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *Journal of internal medicine*, 242(1),27-33.
- Frenkel,J.S.(2014).The role of hyaluronan in wound healing. *International wound journal*, 11(2),159-163.
- Frost,S.J., & Weigel,P.H.(1990).Binding of hyaluronic acid to mammalian fibrinogens. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1034(1),39-45.
- 福井基成(1993). 最新！褥創治療マニュアル. 照林社.
- 古田勝経(2009). 褥瘡治療薬：外用薬の選び方・使い方. 日本褥瘡学会誌, 11(2), 92-100.
- 古田勝経(2010). 困る！！難治性褥瘡への戦略～外用薬治療の新しい展開～. 日本褥瘡学会誌, 12(2), 93-98.
- 古田勝経, 溝神文博, 宮川哲也他(2013). 医師・薬剤師・看護師による褥瘡チーム医療の経済的側面に関する考察. 日本医療・病院管理学会誌, 50(3), 15-23.
- Gefen,A.(2009).Reswick and rogers pressure-time curve for pressure ulcer risk. Part 1. *Nursing Standard*, 23(45),64-74.
- Gefen,A.(2009).Reswick and rogers pressure-time curve for pressure ulcer risk. Part 1. *Nursing Standard*, 23(46),40-44.
- Hattori,N.,Mochizuki,S.,Kishi,K.,et al.(2009).MMP-13 plays a role in keratinocyte migration, angiogenesis, and contraction in mouse skin wound healing. *The American journal of pathology*, 175(2),533-546.

- Huang,L.,Yoneda,M.,Kimata,K.(1993).A serum-derived hyaluronan-associated protein (SHAP) is the heavy chain of the inter alpha-trypsin inhibitor. *The Journal of Biological Chemistry*, 268(35),26725-26730.
- Itano,N.,Sawai,T.,Yoshida,M.,et al.(1999). Three isoforms of mammalian hyaluronan synthases have distinct enzymatic properties. *The Journal of biological chemistry*, 274(35),25085-25092.
- Jackson,D.G.(2009).Immunological functions of hyaluronan and its receptors in the lymphatics. *Immunological reviews*, 230(1),216-231.
- Jiang,D.,Liang,J.,Noble,P.W.(2007).Hyaluronan tissue injury and repair. *Annual review of cell and developmental biology*, 23,435-461.
- 金子恵, 中嶋昌代, 黒崎里美他(2010). 重症の褥瘡を有した脊髄損傷者の褥瘡再発予防—多職種による住宅訪問指導の1例—. 日本褥瘡学会誌, 12(2), 132-136.
- Kida,D.,Yoneda,M.,Miyaura,S.,et al.(1999).The SHAP-HA complex in sera from patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *The Journal of Rheumatology*, 26(6),1230-1238.
- Kobayashi,H., & Terao,T.(1997).Hyaluronic acid-specific regulation of cytokines by human uterine fibroblasts. *The American journal of physiology*, 273(4Pt1),C1151-C1159.
- 国立社会保障・人口問題研究所(2012). 日本の将来推計人口 (平成 24 年 1 月推計). <http://www.ipss.go.jp/syoushika/tohkei/newest04/sh2401top.html>, 2013 年 5 月 12 日.
- Kosiak,M.(1961).Etiology of decubitus ulcers. *Archives of physical medicine and rehabilitation*, 42,19-29.
- Kumar,V.,Abbas,A.K.,Fausto,N.,et al.(2007).acute and chronic inflammation. Tissue repair: Regeneration, healing, and fibrosis. In Robbins Basic Pathology 8e. (pp.31-80). Philadelphia, Saunders.
- Kwong,E.W.,Pang,S.M.,Aboo,G.H.(2009).Pressure ulcer development in older residents in nursing homes: influencing factors. *Journal of advanced nursing*, 65(12),2608-2620.
- Ladwig,G.P.,Robson,M.C.,Liu,R.(2002).Ratios of activated matrix

- metalloproteinase-9 to tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in wound fluids are inversely correlated with healing of pressure ulcers. *Wound Repair and Regeneration*, 10(1),26-37.
- Landis,E.M.(1930).Micro-injection studies of capillary blood pressure in human skin. *Heart*, 15,209-228.
- Laurent,T.C.,Laurent,U.B.,Fraser,J.R.(1996).The structure and function of hyaluronan: An overview. *Immunology and Cell Biology*, 74(2),A1-7.
- Leaper,D.J.,Schultz,G.,Carville,K.,et al.(2012).Extending the TIME concept: what have we learned in the past 10 years?. *International Wound Journal*, 9(Suppl.2),1-19.
- Matsui,Y.,Furue,M.,Sanada,H.,et al.(2011).Development of the DESIGN-R with an observational study: an absolute evaluation tool for monitoring pressure ulcer wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 19(3),309-315.
- Merline,R.,Moreth,K.,Beckmann,J.,et al.(2011).Signaling by the matrix proteoglycan decorin controls inflammation and cancer through PDCD4 and MicroRNA-21. *Science signaling*, 4(199),ra75.
- Meyer,K., & Palmer,J.W.(1934).The polysaccharide of the vitreous humor. *The Journal of Biological Chemistry*, 107,629-634.
- Milner,C.M., & Day,A.J.(2003).TSG-6: a multifunctional protein associated with inflammation. *Journal of cell science*, 116(Pt10),1863-1873.
- 溝神文博，古田勝経，野田康弘他(2010)．高齢者褥瘡に対する薬剤師主導型の褥瘡対策チームの有用性．日本病院薬剤師会雑誌，46(12)，1643-1646．
- Mizokami,F.,Furuta,K.,Utani,A.,Isogai,Z.(2013).Definitions of the physical properties of pressure ulcers and characterisation of their regional variance. *International wound journal*, 10(5),606-611.
- Mizokami,F.,Takahashi,Y.,Nemoto,T.,Nagai,Y.,Tanaka,M.,Utani,A.,Furuta,K., Isogai,Z.(2015).Wound fixation for pressure ulcers: A new therapeutic concept based on the physical properties of wounds. *Journal of tissue viability*, in press.
- 森將曇，掛橋千賀子，小山恵美子他(2001)．慢性褥瘡潰瘍の組織像と筋線維芽細胞の局在．日本褥瘡学会誌，3(3)，315-319．

- 森將曇, 小山恵美子(2008). 褥瘡潰瘍におけるリンパ管分布の組織学的検討. 日本褥瘡学会誌, 10(1), 23-27.
- 森田智之・渡辺偉二(2011). 介助者への車いすクッション使用方法指導経験. 日本褥瘡学会誌, 13(2), 166-170.
- Muller,M.,Trocme,C.,Lardy,B.,et al.(2008).Matrix metalloproteinases and diabetic foot ulcers: the ratio of MMP-1 to TIMP-1 is a predictor of wound healing. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*. 25(4),419-426.
- Murasawa,Y.,Watanabe,K.,Yoneda,M.,et al.(2013).Homotypic versican G1 domain interactions enhance hyaluronan incorporation into fibrillin microfibrils. *The Journal of biological chemistry*, 288(40),29170-29181.
- 永井弥生, 磯貝善蔵, 古田勝経他(2009). 褥瘡に対する記載潰瘍学の確立とその有用性. 日本褥瘡学会誌, 11(2), 105-111.
- 日本褥瘡学会(編)(2005). 科学的根拠に基づく褥瘡局所治療ガイドライン. (112-113), 株式会社照林社.
- 日本褥瘡学会調査委員会(2006a). 褥瘡対策未実施減算導入前後の褥瘡有病率とその実態についてのアンケート調査報告. 日本褥瘡学会誌, 8(1), 92-99.
- 日本褥瘡学会調査委員会(2006b). 褥瘡対策未実施減算導入後における褥瘡対策委員会と体圧分散寝具の実態. 日本褥瘡学会誌, 8(2), 216-223.
- 日本褥瘡学会実態調査委員(2011a). 療養場所別褥瘡有病者率, 褥瘡の部位・重症度(深さ). 日本褥瘡学会誌, 13(4), 625-632.
- 日本褥瘡学会実態調査委員(2011b). 療養場所別褥瘡有病者の特徴およびケアと局所管理. 日本褥瘡学会誌, 13(4), 633-645.
- 日本褥瘡学会(編)(2012). 褥瘡予防・管理ガイドライン (第3版). 日本褥瘡学会誌, 14(2), 165-226.
- 西田紀貴, 嶋田一夫(2011). CD44の準安定なヒアルロン酸認識機構と細胞ローリング. 生化学, 83(10), 893-901.
- Noble,P.W.,Liang,J.,Jiang,D.(2011).Hyaluronan as an immune regulator in human diseases. *Physiological reviews*, 91(1),221-264.
- 野田康弘, 野原葉子, 水野正子他(2004). 褥瘡保存的治療のためのブレンド軟膏の製剤学的妥当性. 日本褥瘡学会誌, 6(4), 593-598.

- 野田康弘(2011). 外用薬の創面薬理学：基剤の「能動的吸収」と「受動的吸収」. 日本褥瘡学会誌, 13(1), 24-28.
- 大浦武彦, 菅原啓, 羽崎達哉他 (2000). 創傷治癒からみた新褥瘡経過表 (大浦). 日本褥瘡学会誌, 2(3), 275-294.
- Oksala,O.,Salo,T.,Tammi,R.,et al.(1995).Expression of proteoglycans and hyaluronan during wound healing. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 43(2),125-135.
- Porter,S.,Clark,l.M.,Kevorkian,L.,et al.(2005).The ADAMTS metalloproteinases. *The Biochemical journal*, 386(Pt1),15-27.
- Reswick,J.B., & Rogers,J.E.(1976).Experience at Rancho Los Amigos hospital with devices and techniques to prevent pressure sores. In Kenedi, R.M.,Cowden,J.M. (Ed.), *Bed sore biomechanics*(pp.301-310). Macmillan Press.
- Rubin,E.,Gorstein,F.,Schwartz,R.,et al.(2004).Repair, Regeneration, and Fibrosis. In Rubin's Pathology Clinicopathologic Foundations of Medicine. 4th ed. (pp.84-117). Philadelphia, Lippincott Williams &Wilkins.
- Sanada,H.,Iizaka,S.,Matsui,Y.,et al.(2011).Clinical wound assessment using DESIGN-R total score can predict pressure ulcer healing: pooled analysis from two multicenter cohort studies. *Wound Repair and Regeneration*, 19(5),559-567.
- Sandy,J.D.,Westling,J.,Kenagy,R.D.,et al.(2001). Versican V1 proteolysis in human aorta in vivo occurs at the Glu441-Ala442 bond, a site that is cleaved by recombinant ADAMTS-1 and ADAMTS-4. *The Journal of biological chemistry*, 276(16),13372-13378.
- Schultz,G.S.,Sibbald,R.G.,Falanga,V.,et al.(2003).Wound bed preparation: a systematic approach to wound management. *Wound Repair and Regeneration*, 11,1-28.
- Schultz,G.S.,Davidson,J.M.,Kirsner,R.S.,et al.(2011).Dynamic reciprocity in the wound microenvironment. *Wound Repair and Regeneration*, 19(2),134-148.
- Schultz,G., & Dowsett,C.(2012).Wound bed preparation revisited. *Wounds International*. 3(1),25-29.
- 関根祐介, 明石貴雄, 南雲珠恵他(2007). 入院医療費包括評価制度における褥瘡治療

- 費の現状. 日本褥瘡学会誌, 9(1), 50-55.
- 総務省統計局(2011). 平成 22 年国勢調査.  
<http://www.stat.go.jp/data/kokusei/2010/kihon1/pdf/gaiyou1.pdf>, 2013 年 5 月 12 日.
- Stadelmann,W.K.,Digenis,A.G.,Tobin,G.R.,et al.(1998).Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *American journal of surgery*, 176(2A Suppl),26S-38S.
- Stechmiller,J.K.,Cowan,L.,Whitney,J.D.,et al.(2008).Guidelines for the prevention of pressure ulcers. *Wound Repair and Regeneration*, 16,151-168.
- Stern,R., & Jedrzejewski,M.J.(2006).The hyaluronidases: Their genomics, structures, and mechanisms of action. *Chemical reviews*, 106(3),818-839.
- 高橋誠, 下道正昭, 大浦武彦(2012). 圧・ずれ力が橈骨動脈と皮膚毛細血管の血流量に与える影響. 日本褥瘡学会誌, 14(4), 547-552.
- Takahashi,Y.,Isogai,Z.,Mizokami,F.,Furuta,K.,Nemoto,T.,Kanoh,H.,et al.(2013). Location-dependent depth and undermining formation of pressure ulcers. *Journal of tissue viability*, 22(3),63-67.
- Tammi,R.,Saamanen,A.M.,Maibach,H.I.,et al.(1991).Degradation of newly synthesized high molecular mass hyaluronan in the epidermal and dermal compartments of human skin in organ culture. *The Journal of Investigative Dermatology*, 97(1),126-130.
- Tammi,M.I.,Day,A.J.,Turley,E.A.(2002).Hyaluronan and homeostasis: a balancing act. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(7),4581-4584.
- Thomas,D.R.,Rodeheaver,G.T.,Bartolucci,A.A.,et al.(1997).Pressure ulcer scale for healing: derivation and validation of the PUSH tool. The PUSH Task Force. *Advances in wound care*, 10(5),96-101.
- Toole,B.P.(1991).Proteoglycan and hyaluronan in morphogenesis and differentiation. In D.H.Elizabeth(Ed.), *Cell biology of extracellular matrix*. 2nd ed. (pp.305-341). New York Plenum Press.
- Turley,E.A.,Noble,P.W.,Bourguignon,L.Y.(2002).Signaling properties of hyaluronan receptors. *The Journal of biological chemistry*, 277(7),4589-4592.

- Velnar,T.,Bailey,T.,Smrkolj,V.,et al.(2009).The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *The Journal of international medical research*, 37(5),1528-1542.
- Whitney,J.,Phillips,L.,Aslam,R.,et al.(2006).Guidelines for the treatment of pressure ulcers. *Wound Repair and Regeneration*, 14(6),663-679.
- Wight,T.N.(2002). Versican: a versatile extracellular matrix proteoglycan in cell biology. *Current opinion in cell biology*, 14(5),617-623.
- Yatabe,T., & Okada,Y.(2004).MMP and ADAM in rheumatoid arthritis. *Connective Tissue*, 36,223-231.
- Yingsung,W.,Zhuo,L.,Mörgelin,M.,et al.(2003).Molecular heterogeneity of the SHAP-hyaluronan complex. Isolation and characterization of the complex in synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(35),32710-32718.
- Yoneda,M.,Suzuki,S.,Kimata,K.(1990).Hyaluronic acid associated with the surfaces of cultured fibroblasts is linked to a serum-derived 85 kDa protein. *The Journal of Biological Chemistry*, 265(9),5247-5257.
- Zhuo,L.,Kanamori,A.,Kannagi,R.,et al.(2006).SHAP potentiates the CD44-mediated leukocyte adhesion to the hyaluronan substratum. *The Journal of biological chemistry*, 281(29),20303-20314.

【資料 1】（別紙 1）コード番号表

コード番号表

| コード番号 | カルテ番号 | 対象者氏名 | コード番号 | カルテ番号 | 対象者氏名 |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1     |       |       | 14    |       |       |
| 2     |       |       | 15    |       |       |
| 3     |       |       | 16    |       |       |
| 4     |       |       | 17    |       |       |
| 5     |       |       | 18    |       |       |
| 6     |       |       | 19    |       |       |
| 7     |       |       | 20    |       |       |
| 8     |       |       | 21    |       |       |
| 9     |       |       | 22    |       |       |
| 10    |       |       | 23    |       |       |
| 11    |       |       | 24    |       |       |
| 12    |       |       | 25    |       |       |
| 13    |       |       | 26    |       |       |

国立長寿医療研究センター 先端診療部皮膚科医長 磯貝善蔵氏保管

【資料 2】（別紙 2）データシート

| データシート     |                                     |                                    |     |
|------------|-------------------------------------|------------------------------------|-----|
| コードNo.     | 年 月 日記入                             |                                    |     |
| 基本属性       | 年齢・性別                               | 歳（男・女）                             |     |
|            | 身長・体重                               | Cm／ Kg（年 月 日）                      |     |
|            | 疾患名                                 |                                    |     |
| 肝機能検査値     | AST                                 | IU/l（年 月 日）                        |     |
|            | ALT                                 | IU/l（年 月 日）                        |     |
| 上腕三頭筋皮下脂肪厚 |                                     | mm（年 月 日）                          |     |
| 栄養状態       | アルブミン値                              | g/dl（年 月 日）                        |     |
|            | ヘモグロビン値                             | g/dl（年 月 日）                        |     |
|            | 総タンパク値                              | g/dl（年 月 日）                        |     |
| 厚労省危険因子    | 日常生活自立度                             | J1・J2・A1・A2・B1・B2・C1・C2            |     |
|            | 基本的動作能力(ベッド上 自力体位変換(イス上 坐位姿勢の保持、除圧) | できる ・ できない                         |     |
|            | 体位変換能力                              | 全介助・部分介助(程度 )                      |     |
|            | 程度基礎疾患による運動機能障害(特定の動き)              | 有・無 (状態 )                          |     |
|            | 除圧への理解・協力                           | あり・なし( )                           |     |
|            | 病的骨突出                               | なし ・ あり                            |     |
|            | 関節拘縮                                | なし ・ あり                            |     |
|            | 拘縮・変形                               | 部位( )                              |     |
|            | 栄養状態低下                              | なし ・ あり                            |     |
|            | 皮膚湿潤                                | (多汗) なし・あり (尿失禁) なし・あり (便失禁) なし・あり |     |
|            | 浮腫(局所以外の部位)                         | なし ・ あり( )                         |     |
|            | 褥瘡の状態                               | 部位                                 |     |
| 深さ         |                                     | Ⅲ ・ Ⅳ                              |     |
| 大きさ        |                                     | 長径 (縦) ×短径 (横) cm                  |     |
| 形状         |                                     |                                    |     |
| 炎症／感染      |                                     | 発赤 ・ 熱感 ・ 腫脹 ・ 疼痛                  |     |
| 浸出液量／性状    |                                     | なし ・ 少 ・ 中 ・ 多                     |     |
|            |                                     | 性状( )                              |     |
| ポケットの形成    |                                     |                                    |     |
| 肉芽組織の状態    |                                     |                                    |     |
| 治療方法       | 外用薬                                 |                                    |     |
|            | ドレッシング材                             |                                    |     |
|            | その他                                 | テーピング ・ レストン                       |     |
| 看護ケア       | 体圧分散寝具                              |                                    |     |
|            | 底づきの確認                              | 回／日                                |     |
|            | 体位変換時間間隔                            |                                    |     |
|            | 皮膚の清潔                               | 入浴                                 | 回／週 |
|            |                                     | 清拭                                 | 回／週 |
|            |                                     | 陰部洗浄                               | 回／週 |
|            | ギャッチアップの角度                          |                                    |     |
| 個別ケアの有無／内容 | 有・無 (内容 )                           |                                    |     |

【資料 3】（別紙 3）依頼文

平成 年 月 日

独立行政法人

国立長寿医療研究センター

総長 大島 伸一 殿

研究者名 愛知県立大学大学院

看護学研究科 博士後期課程

高橋 佳子

「ヒアルロン酸の量的・形質変化に着目した褥瘡創面のアセスメントに関する研究」の  
研究実施の承諾について(ご依頼)

時下ますますご清栄のこととお喜び申し上げます。

私は、愛知県立大学大学院看護学研究科博士後期課程に在籍します高橋佳子と申します。  
私は、貴センターの先端診療部皮膚科医長である磯貝善蔵先生を研究代表とする「創面蛋白を用いた褥瘡、皮膚潰瘍に対する評価方法と創傷薬理学の樹立」の研究チームの研究生として、共同研究分担者である愛知県立大学、米田雅彦教授（後期課程指導教員）の指導のもと、研究の一部に参加させていただくことになり、磯貝先生が行われる研究の研究生として承諾を得ている者です。このたび、研究課題を「ヒアルロン酸の量的・形質変化に着目した褥瘡創面のアセスメントに関する研究」として、下記のとおり研究を行い、研究結果は、愛知県立大学大学院博士後期課程の論文として発表したいと考えています。褥瘡の治癒過程における肉芽組織の状態を正確に判断することが可能となることにより、創面の状態に合わせたドレッシング材等による水分調整方法や体位変換方法等看護ケアの選択の可能性について検討していくことが出来るのではないかと考えます。つきましては、ご多忙のところ誠に恐縮ですが、別添の研究計画書をご検討頂き、貴センターでの研究実施をご承諾いただきますようお願い申し上げます。

ご承諾の折には、別添えの承諾書にご記入いただき、同封の返信用封筒にてご返送を賜りますようお願い申し上げます。

記

1.研究課題

ヒアルロン酸の量的・形質変化に着目した褥瘡創面のアセスメントに関する研究

2.研究者

### 3.研究目的

SHAP-HA 複合体を含む HA 動態と治癒過程における肉芽組織の肉眼的所見との関連を明らかにする。それを基に、良好な肉芽組織の保持や促進のために、吸水または保水による水分調整を行う創面状態について考察する。また、治癒過程における肉芽組織の状態をとらえ、対象者の様々な要因を含め、褥瘡を持つ患者の看護として、創面の状態に合わせた看護ケアの選択の可能性について考察する。

### 4.研究方法概要（詳細は添付の研究計画書をご参照ください）

データ収集期間：平成 24 年 8 月～平成 24 年 12 月

- 1) 貴センター、先端診療部皮膚科医長、磯貝善蔵先生からご紹介いただいた褥瘡を保有する患者のうち本研究参加に同意が得られた対象者の褥瘡処置に同席し、褥瘡創面処置に使用されたガーゼおよび綿棒の採取を経時的に行い、ガーゼおよび綿棒から抽出した褥瘡創面浸出液中のヒアルロン酸、ヒアルロン酸分解酵素、SHAP-HA 複合体の分析を行なう。
- 2) 対象者の基本的動作能力や看護ケア等の情報を電子カルテ端末から取得する。
- 3) 褥瘡処置時に撮影された創面画像と SHAP-HA 複合体を含むヒアルロン酸動態の関連について分析を行う。また、対象者の基本的動作能力や看護ケア等の情報を含めて総合的に分析を行い、褥瘡創面の状態に合わせた適切な看護ケアの選択の可能性について検討する。

### 5.依頼内容

- 1) 研究者は、褥瘡処置に使用したガーゼおよび綿棒の採取にあたり、貴病院の病棟で行なわれる対象者の先端診療部皮膚科医長、磯貝氏による褥瘡処置時に同席させていただき、ガーゼおよび綿棒を採取させていただきたいと存じます。
  - 2) 浸出液を採取した患者の医療データを使用させていただきたいと存じます。医療データの情報収集は、研究者が、電子カルテ端末の利用について磯貝先生よりご了承をいただき行いたいと存じます。情報収集に際しては、事項 6. 倫理的配慮に記載いたしましたように、対象者のプライバシーに配慮し、必要項目のみを情報収集いたします。
- 収集データ（添付資料 別紙 2）：年齢、性別、身長、体重、疾患名、肝機能検査値（AST、ALT）上腕三頭筋皮下脂肪厚、アルブミン値、ヘモグロビン値、総タンパク値、日常生活自立度、厚労省危険因子（(1)基本的動作能力（ベッド上自力体位変換、椅子上坐位姿勢の保持、除圧）、(2)病的骨突出、(3)関節拘縮、(4)栄養状態低下、(5)皮膚湿潤（多汗、尿失禁、便失禁）、(6)浮腫（局所以外の部位））および(1)については、自力体位変換能力の程度と対象者の除圧への理解度と協力の有無、(3)については、拘縮や体の変形の有

無と部位についても情報収集したいと存じます。体圧分散寝具の使用／種類、エアマット時の底付きの確認、体位変換時間間隔、ギャッチアップの角度、皮膚の清潔（入浴、清拭、陰部洗浄）、その他個別ケアの有無と内容、褥瘡の状態および褥瘡の治療内容（外用薬剤名等）

#### 6.倫理的配慮について

- 1) 研究の結果から得られるいかなる情報も研究の目的以外に使用いたしません。
- 2) 全てのデータシート（添付資料 別紙 2）およびガーゼ、綿棒はコード化し、対象者と医療データの情報が連結しないように管理いたします。コード表は、磯貝先生が院内にて管理し、研究者が持ち出すことはありません。
- 3) 電子カルテ端末からの情報収集に際しては、添付資料、別紙 2 の項目のみ閲覧および転記し、それ以外のデータについては一切閲覧しません。
- 4) 画像データを含むすべてのデータは認証機能付きフラッシュメモリーを使用し、データシート（添付資料 別紙 2）およびフラッシュメモリーは愛知県立大学院生室内鍵付きロッカーにて保管し情報の漏洩をいたしません。
- 5) 画像データを含むすべてのデータは、すべての研究終了後に、用紙はシュレッダーにかけ、フラッシュメモリーのデータは消去し、適切な方法で削除いたします。

#### 7.研究計画書（別添）

#### 8.研究者連絡先 〒463-8501

名古屋市守山区大字上志段味字東谷

愛知県立大学 守山キャンパス 院生研究室 高橋 佳子

電話番号：052-736-1401（内線 262）

E-mail：[b7yosiko@nrs.aichi-pu.ac.jp](mailto:b7yosiko@nrs.aichi-pu.ac.jp)

指導教員 愛知県立大学 教授 米田 雅彦

電話番号：052-736-1401 内線（462）

E-mail：[yoneda@nrs.aichi-pu.ac.jp](mailto:yoneda@nrs.aichi-pu.ac.jp)

【資料 4】（別紙 4）承諾書

# 承 諾 書

平成 年 月 日

愛知県立大学大学院  
看護学研究科博士後期課程  
高橋 佳子 殿

病院名  
総長 印

下記の研究について、当病院で実施することを承諾します。

## 記

研究課題名 ヒアルロン酸の量的・形質変化に着目した褥瘡創面のアセスメントに関する研究  
研究者名 愛知県立大学大学院看護学研究科博士後期課程 高橋 佳子  
指導教員 愛知県立大学大学院看護学研究科 教授 米田 雅彦

【資料 5】（別紙 5）研究参加のお願い

「ヒアルロン酸の量的・形質変化に着目した褥瘡創面  
（床ずれ）のアセスメントに関する研究」  
研究参加のお願い

私は、愛知県立大学大学院看護学研究科大学院生、高橋佳子と申します。このたび、独立行政法人国立長寿医療研究センター、先端診療部皮膚科医長である磯貝善蔵先生が行われている「創面蛋白を用いた褥瘡、皮膚潰瘍に対する評価方法と創傷薬理学の樹立」の研究チームの研究生として、共同研究者である愛知県立大学の米田雅彦教授の指導のもと研究をさせていただきます。

研究の御参加について、すでにご同意を頂いておりますが、研究の一環として、高橋が「ヒアルロン酸の量的・形質変化に着目した褥瘡創面のアセスメントに関する研究」をテーマに研究を行わせていただき、床ずれが順調に治るために、床ずれの状態に合わせた看護ケアの方法について検討していきたいと考えています。本研究において、以下の部分について実施致しますことを、ご同意いただけますようによりしくお願い致します。

【研究目的について】

床ずれに対して様々な看護ケアが行われていますが、どのような床ずれの状態の時に、どのような看護ケアが必要なのかは経験的に行われており、客観的に判断する目安がありません。そのため、本研究では、床ずれ部分の浸出液の分析を行い、床ずれが順調に治るための水分調整について、また、床ずれの状態に合わせてどのような看護ケアを行ったらよいかを検討することを目的としています。

【研究方法について】

1. 床ずれの治療に同席させていただき、処置に使用して処置後に廃棄されるガーゼの一部および綿棒をいただき、ここから浸出液を取り、研究に使用させていただきます。この研究参加によって新たに行なっていただくことは何ともありません。ガーゼの収集と床ずれ部分の写真撮影

は、本研究参加へのご同意をいただきましてから開始させていただき、退院されるまでの間、週に1回、治療に同席し行う予定です。

2. ガーゼや綿棒に付着したタンパク質等の変化を調べますが、遺伝子検査などの遺伝情報は調べません。
3. ガーゼおよび綿棒と床ずれの回復状態との関連をみるために、床ずれの処置時に磯貝先生が撮影した**床ずれ部分の写真**を使用させていただきます。
4. 床ずれに関連する情報について、カルテを拝見し転記させていただきます。拝見させていただく情報は、年齢、性別、疾患名、身長、体重、栄養状態および肝臓機能の状態を示すもの(血液検査結果等)、拘縮や体の変形の有無、体の向きを変える力の程度、運動機能障害の有無や程度、床ずれの治療やケアへの理解度と協力の有無、看護師が行ったケアの内容(清潔や体位変換)、床ずれの治療内容です。

#### 【個人情報の保護について】

1. 研究で得られた情報はお名前を番号に置き換えて記録することにより、個人が特定できないように管理いたしますので、個人の情報が漏洩することはありません。
2. 写真は、床ずれ部分のみ撮影を行い、個人が特定できないようにいたします。
3. 研究データは鍵のかかる棚に保管し、研究終了後は速やかに破棄します。

#### 【研究参加による利益、不利益について】

1. 褥瘡(床ずれ)処置後の使用済みのガーゼと綿棒を回収いたしますが、みなさまに対して痛みなどをともなう身体的なご負担は一切ありません。
2. 磯貝先生とは別の席で、本研究の説明とご同意を得ることになりますので、再度、お時間をいただくことになります。できる限り、みなさまのご都合とお時間を考慮して行ないたいと思います。
3. 研究にご協力をいただけることで、褥瘡(床ずれ)の回復状態に応じた治療および看護ケアへの発展につなげることができます。

### 【研究の参加について】

研究への参加は自由であり、ご同意を撤回あるいは中止した場合でも、治療や看護は今までと変わらずに受けられ、不利益を被ることはありません。

### 【研究成果の公表について】

研究成果は、博士論文としてまとめ、また、学会や専門雑誌に公表いたしますが、御本人が特定される情報は一切公表いたしません。

### 【文書によりご同意をお願いいたします】

この研究への参加にご同意をいただけたら、別紙の研究協力に対する同意書にご署名をいただきたいと思います。ご署名は、ご本人または代諾者の方にご署名をお願い致します。

これらの研究の主旨をご理解いただき、本研究にご参加いただきますようお願い申し上げます。

### 【問い合わせの連絡先】

研究者                      愛知県立大学大学院 看護学研究科 博士後期課程  
高橋 佳子

問い合わせ先              〒463-8501 名古屋市守山区大字上志段味字東谷  
愛知県立大学  
電話番号：052-736-1401 院生研究室 内線（262）

指導教員                    愛知県立大学 看護学部  
教授 米田 雅彦

問い合わせ先              〒463-8501 名古屋市守山区大字上志段味字東谷  
愛知県立大学  
電話番号：052-736-1401 内線（462）

【資料 6】 (様式 3) 同意書 (病院控え)

独立行政法人国立長寿医療研究センター  
総長 大島 伸一 殿

## 同 意 書

平成 年 月 日

### 記

研究課題名 ヒアルロン酸の量的・形質変化に着目した褥瘡創面のアセスメントに関する研究

上記研究の実施にあたり、高橋佳子から説明文書を用いて説明を受け、以下の項目について十分理解しましたのでその実施に同意します。  
説明を受け、理解した項目 (□の中にご自分でレ印をつけてください。)

- ☐ 本研究の目的  
褥瘡 (床ずれ) が順調に治るための、褥瘡 (床ずれ) 部分の回復状態に合わせた適切な看護ケアを検討します。
- ☐ 褥瘡 (床ずれ) の治療に同席させていただき、処置に使用した廃棄されるガーゼの一部および綿棒を回収し、研究に使用させていただきます。
- ☐ ガーゼや綿棒に付着したタンパク質等の変化を調べますが、遺伝子検査などの遺伝情報は調べません。
- ☐ 床ずれの写真を使用させていただきます。
- ☐ 床ずれに関するデータについて診療記録から転記させていただきます。
- ☐ 研究参加による利益と不利益について
- ☐ 研究への参加、不参加、中断は自由で、同意を撤回あるいは中止した場合でも、治療や看護は今までと変わらずに受けられます。
- ☐ 研究結果の公表に際しては、御本人が特定される情報は一切公表いたしません。

平成 年 月 日

本人又は代諾者氏名

署名

(代諾者と本人の関係)

説明者の所属 愛知県立大学大学院看護学研究科

説明者の署名

独立行政法人国立長寿医療研究センター先端診療部皮膚科医長 磯貝善蔵氏留置き

【資料 7】 (様式 3) 同意書 (患者控え)

独立行政法人国立長寿医療研究センター  
総長 大島 伸一 殿

## 同 意 書

平成 年 月 日

### 記

研究課題名 ヒアルロン酸の量的・形質変化に着目した褥瘡創面のアセスメントに関する研究

上記研究の実施にあたり、高橋佳子から説明文書を用いて説明を受け、以下の項目について十分理解しましたのでその実施に同意します。  
説明を受け、理解した項目 (□の中にご自分でレ印をつけてください。)

☐ 本研究の目的

褥瘡 (床ずれ) が順調に治るための、褥瘡 (床ずれ) 部分の回復状態に合わせた適切な看護ケアを検討します。

☐ 褥瘡 (床ずれ) の治療に同席させていただき、処置に使用した廃棄されるガーゼの一部および綿棒を回収し、研究に使用させていただきます。

☐ ガーゼや綿棒に付着したタンパク質等の変化を調べますが、遺伝子検査などの遺伝情報は調べません。

☐ 床ずれの写真を使用させていただきます。

☐ 床ずれに関するデータについて診療記録から転記させていただきます。

☐ 研究参加による利益と不利益について

☐ 研究への参加、不参加、中断は自由で、同意を撤回あるいは中止した場合でも、治療や看護は今までと変わらずに受けられます。

☐ 研究結果の公表に際しては、御本人が特定される情報は一切公表いたしません。

平成 年 月 日

本人又は代諾者氏名

署名 \_\_\_\_\_