

氏 名： 高橋 佳子
学位の種類：博士（看護学）
学位記番号： 看甲第 12 号
学位授与年月日：平成 27 年 3 月 21 日
学位授与の要件：学位規則第 15 条第 1 項該当
論文題目：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
学位審査委員： 主査 米田 雅彦 教授
副査 小松万喜子 教授
副査 百瀬由美子 教授
副査 深田 順子 教授
副査 越川 卓 教授

論文内容の要旨

I. 研究の背景

褥瘡は、高齢者に好発する慢性潰瘍の代表的な疾患である。超高齢社会を迎え、療養の場所在宅へと拡大するなかで、褥瘡対策は重要な課題である。

褥瘡の管理において、創面を適切にアセスメントすることはケアの選択において重要である。発生した褥瘡のアセスメントには、深達度の評価としては、米国褥瘡諮問委員会（NPUAP）やヨーロッパ褥瘡諮問委員会（EPUAP）の評価が一般的に使用されている。また、治癒経過の評価には、日本褥瘡学会の DESIGN-R 分類他が使用されている。しかし、褥瘡の治癒過程にみられる肉芽組織の客観的な評価方法についてはまだ確立されていない。

肉芽組織とは深い褥瘡の治癒過程に一時的に見られる組織であり、良好な肉芽組織の形成と成熟は、創の上皮化を促進し治癒に欠かせない。肉芽組織は線維芽細胞等とこれら細胞間をうめる細胞外マトリックス（以下、ECM）により形成される。ECM はヒアルロン酸（以下、HA）等の多糖類とコラーゲン等の繊維性タンパク質や様々なタンパク質等により構成されている。本研究で着目した HA は、組織の水分調整に関与するため肉芽組織の浮腫性等の肉眼的所見に関与すると考えられ、さらにレセプターを介したシグナル伝達により細胞増殖、遊走、分化の調節にも関与している。また、血漿成分である inter- α -trypsin inhibitor（以下、ITI）由来の分子と HA が結合し Serum-derived-Hyaluronan-Associated Proteins（以下、SHAP）-HA 複合体が形成され、この複合体の存在は組織の炎症状態と関連している。

II. 研究目的

本研究において、褥瘡創面の 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褥瘡創面所見との関連を明らかにして、HA に関する分析結果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。HA の分析結果によって肉芽組織の状態を客観的に判断することが出来れば、適切な介入時期や介入方法を判断する上で有用と考えられる。

III. 概念枠組み

褥瘡の発生後、高分子 HA が合成され、褥瘡創面組織内において組織内の水分調整とともに細胞の増殖、遊走、分化に関与し組織の修復に寄与する。高分子 HA は創傷部において ITI と会合することによって SHAP-HA 複合体を形成する。また、HA 分解酵素等によって高分子 HA が分解され低分子 HA が形成される。低分子 HA の機能の一つに、炎症性サイトカインの発現を促進し、血管透過性を介して浮腫を促すことが考えられる。HA 代謝を含めた HA 動態が、良好な肉芽組織の再生を促し治癒に向かうこともあれば、バランスが崩れることによって浮腫性あるいは摩擦性の肉眼的創面所見としてあらわれると考えられる。そのため、HA 動態と肉芽組織の創面所見との関連を明らかにすることによって、肉芽組織の変化に合わせた適切な介入時期や介入方法を検討することが可能となると考えられる。

IV. 研究方法

Ⅲ度以上の褥瘡を持つ患者を対象者として、褥瘡創面に治療のために約 24 時間貼付したガーゼ（ガーゼサンプル）および処置時に使用された綿棒（綿棒サンプル）を回収後、サンプルを抽出し生化学的実験手法による分析をおこない、これらの結果と記載潰瘍学を基にした創面所見の評価およびカルテより抽出した対象者の情報を検討した。

V. 実験方法

抽出したガーゼサンプルに対してタンパク定量、血清アルブミン定量、HA 定量、HA ギイモグラフィ、SHAP-HA 複合体の免疫染色をおこない、綿棒サンプルに対してタンパク定量、ドットプロット、一部のサンプルに対して透析後に血清アルブミン定量、HA 定量をおこなった。実験から得られたデータは、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各タンパク量で除した値を用いた。ガーゼサンプルの分析は、Mann-Whitney の U 検定後に Bonferroni の p 値補正下で多重比較をおこなった。綿棒サンプルについては一元配置分散分析をおこなった。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

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。

VII. 研究結果

ガーゼサンプル採取の対象者は 15 名であり、平均年齢 71.2 歳±16.5（36 歳～92 歳）、男性 9 名、Body Mass Index は 18.5 以上 25 未満が 7 名と最も多く、日常生活自立度は C2 が 6 名であり、有効な荷重部の除圧ができない対象者が 14 名であった。

ガーゼサンプルは 21 創面から採取し、発生部位は仙骨が最も多く 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。すべての創面でサンプル採取期間中に DESIGN-R 点数の減少がみられた。21 創面の内、17 創面からは経時的にガーゼサンプルを採取し、それぞれを肉芽組織の状態が反映された独立したサンプルとして扱い、計 143 創面を対象とした。創面所見の分類は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、創面の性状として良好、浮腫、摩擦に分類し分析をおこなった。HA 量に有意な差はなかったが、HA 分解活性（中性領域）は摩擦性創面で浮腫性正面と比較して有意に高かった（平均：良好=39.3(Density/ μg)、浮腫=30.4、摩擦=41.2、 p 値=.00)。HA 分解活性（酸性領域）では、有意な差はなかったが、中性領域と同様の傾向がみられた。また、タンパク量は良好な創面で浮腫性・摩擦性創面と比較して有意に低く（平均：良好=6.3 ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)、浮腫=12.9、 p 値<.05)、アルブミン量も良好な創面で少ない傾向がみられた（平均：良好=1.9(mg/ml)、浮腫=2.4、摩擦=2.8)。SHAP-HA 複合体は 29 創面に検出され、浮腫性および摩擦性の創面に多く検出された（良好=1（創面）、浮腫=14、摩擦=14）。HA 変化量（1 回前に採取したサンプルの HA 量を減じた値）と創面の粗大顆粒状形態の変化（増強、減少、同程度）との関連について、粗大顆粒状形態の減少した創面で、増強・同程度と比較して有意に HA 量が減少していた（平均：増強=1.0 (ng/ μg)、減少=-1.2、同程度=.5、 p 値<.05)。HA 分解活性変化量に差はなかった。

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 創面から採取し、255 個を分析対象とした。綿棒サンプルは採取部分の創面所見を用いて分類をおこない、性状について良好、浮腫、摩擦に分類した。浮腫性と比較して摩擦性の部分に SHAP-HA 複合体量が有意に多かった（平均：良好=1.7 (ng/ μg)、浮腫=1.5、摩擦=3.8、 p 値=.01)。

以上より、良好では HA 分解活性（中性領域）は低くなく、摩擦性と同程度だったが、アルブミン等血漿成分は少なく、SHAP-HA 複合体量も少なかった。浮腫性では HA 分解活性（中性領域）は低く、アルブミン等血漿成分は良好に比較して多い傾向であり、SHAP-HA 複合体量は低かった。また、粗大顆粒状形態の増強にともない HA 量も増加していた。摩擦性では、HA 分解活性（中性領域）、アルブミン等血漿成分および SHAP-HA 複合体量のいずれも多かった。

VIII. 考察

本結果より、浮腫性の創面では HA 分解活性が低いことから、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、アルブミン等血漿成分の流入も少ないことから、浮腫性創面は脆弱な外力に対する抵抗性の低い状態の創面であると考えられる。

また、摩擦性の創面では高分子 HA の分解は早い状態であり、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。さらに綿棒サンプルの結果から、摩擦性の所見の部位に SHAP-HA 複合体量が多いことから、褥瘡創面の摩擦性所見の部位は炎症が亢進している状態であると考えられる。

褥瘡の治癒過程において、良好、浮腫性、摩擦性の状態はそれぞれ独立、あるいは、創面全体に均一に存在しておらず、良好な部分において HA 分解活性が低下することによって浮腫性への移行が促され、浮腫性の部分において HA 量の増加にともない粗大顆粒状形態が亢進する。脆弱性を増した肉芽組織は損傷を受けやすく、HA 分解活性の上昇や SHAP-HA 複合体量の増加をともない摩擦性所見を呈すると考えられるように、移行しやすい状態にあると考えられる。

HA 量、HA 分解活性および SHAP-HA 複合体の分析をおこなうことによって、その状態を判断し、適切な介入時期および介入方法が選択可能となると考えられる。創の脆弱性が増す時期に、より愛護的なケアや創固定方法を検討することにより、悪化の予防あるいは最小限に抑えることが可能と考えられる。

今後、HA の分析結果を客観的評価指標としてベッドサイドでの活用を目指して、HA 分析方法等を検討するとともに、脆弱な創面を保護するための看護技術や材料の活用等検討が必要である。

IX. 結論

- 浮腫性所見の創面において、HA 分解活性が低く、SHAP-HA 複合体量が少なかった。
- 粗大顆粒状形態の肉眼的増減と HA 量の増減は同様に変化していた。
- 摩擦性所見の創面において、HA 分解活性が高く、SHAP-HA 複合体量が多かった。

以上のように、HA 分析結果と創面所見に関連がみられ、HA の分析が、創の状態に合わせた介入時期や介入方法を検討するための客観的指標となる可能性が示唆された。

論文審査結果の要旨

【論文審査及び最終試験の経過】

第 7 回博士後期課程研究科会議（平成 26 年 11 月 12 日）において、予備審査合格の承認を得た高橋氏の研究題目「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」に対して、主査：米田雅彦教授、副査：小松万喜子教授、百瀬由美子教授、深田順子教授、越川卓教授の 5 名が博士後期課程学位審査委員会として選出、承認された。平成 27 年 1 月 30 日に博士学位請求論文を審査委員会は受理し、各委員は精読の上、愛知県立大学大学院看護学研究科学位審査規程第 13 条および愛知県立大学大学院看護学研究科博士後期課程の学位に関する内規 14 条と 16 条に基づき論文審査を 2 月 4 日に約 1 時間行った。副論文として「組織水分調節にかかわる細胞外マトリック

ス分子であるヒアルロン酸の褥瘡における挙動」日本褥瘡学会誌（2011）13巻2号150-156と「Location-dependent depth and undermining formation of pressure ulcers」J. Tissue Viability. (2013) 22巻63-67の2報を確認した。その後、愛知県立大学大学院看護学研究科博士後期課程の学位に関する内規17条に基づき口頭発表および口述試験の最終試験を公開で2月18日に約1時間行った。論文審査および最終試験の結果をもって2月18日に博士(看護学)学位を授与するに合格かどうかの判定を行った。

【論文審査及び最終試験の結果】

褥瘡は、慢性潰瘍の代表的な疾患であり、高齢化が進む中で介護施設及び在宅での発症は増加傾向にある。重症化して表皮および真皮の一部を壊死で失った深い褥瘡の場合、その治癒は線維芽細胞増殖による肉芽組織の再生が最も重要な要因となる。良好な肉芽組織が出来て、潰瘍周囲からの上皮の増殖が起こり、治癒に向かうことになる。ただ、肉芽再生当初には、炎症反応を伴うが、化学反応ゆえに水が必要で浮腫が誘引され、結果として浮腫性の肉芽組織なる。既存の評価ツールでは、肉芽組織の目視だけで順調に治癒に移行しているか判断することは難しく、経時的に肉芽組織を観察することが必要になり、看護ケアが後手に回ることになりかねない。論文提出者は肉芽の再生が良好かどうか的確に判断するためのマーカーとして、滲出液中のヒアルロン酸とヒアルロニダーゼおよびSHAP-HA複合体に注目した。通常の創傷治癒は、組織損傷後、ヒアルロン酸合成活性が上昇し、その後、過剰のヒアルロン酸はヒアルロニダーゼにより分解され、元の結合組織が再生される。さらに、分解で生じた低分子ヒアルロン酸は血管誘導能を持ち組織の仕上げには重要な因子となる。初期の段階で炎症反応が起こるが、その際には、ヒアルロン酸に血清成分のインターαトリプシンインヒビターの長鎖タンパク質がヒアルロン酸と共有結合したSHAP-HA複合体が形成される。この分子はヒアルロン酸の線維化を促し、リンパ球の足場となり炎症反応の良いマーカーになる。褥瘡治癒過程に置いて、ヒアルロニダーゼ活性とSHAP-HA複合体に注目した研究は今まで無く、新規性および独創的な視点であり、研究目的に対して適切な研究方法であると審査委員会では判断した。褥瘡創面からのターゲット分子のサンプリングに処置ガーゼ、拭き取りガーゼ、拭き取り綿棒を用い、各採取方法の分析可能分子種および量的限界を明確にしたことは、看護ケアのアセスメントにつながる基礎的なデータとして、発展的ではあるが看護学領域の研究としての価値を持つと判断した。

研究結果として、ガーゼサンプルにおいて良好肉芽組織と比較して浮腫性肉芽組織では中性領域に至適pHをもつヒアルロニダーゼ活性が低下しているこ

と、さらに SHAP-HA 複合体が検出されることを明らかにした。浮腫になった肉芽は組織強度が弱いと考えられ、皮膚のたるみによる組織同士の接触や衣服・ベッドなどとの接触や圧迫・ズレにより摩擦性の肉芽に変化しやすい。摩擦性肉芽組織に変化した場合には治癒は難しく、もう一度浮腫性に戻り、良性肉芽組織へと移行する必要がある。その浮腫から摩擦に移行する際、ガーゼサンプルでヒアルロニダーゼ（中性）活性が上昇することが判明したが、良好肉芽組織になる際も上昇することから、マーカーとしては不十分であった。しかし、論文提出者は、同時に採取した綿棒サンプルで SHAP-HA 複合体が上昇すると摩擦性肉芽組織になることを発見した。それには多くのサンプルを詳細に分析する必要があり、その努力と価値を審査委員会は認めた。肉芽の肉眼観察として、浮腫性と摩擦性の判断には経験を要する上に、相互間の移行に関しては、その場での判断は不可能である。その意味で、取り扱いやすいガーゼサンプルでの 1 段目のスクリーニングと 2 段目の綿棒による確定は、看護アセスメントにとって、重要なマーカーの発見といえると審査委員会は判断した。また、提出された論文は、背景、結果および考察において、余分なデータ記載があるものの、形式が適切であると判断した。

最終試験の口述試験については、発表は論理的に構成され分かりやすく、質問に対してあらゆる可能性を見据えて的確に答えようとしていた。ただ、論点を逃がしているところもあり今後の課題であるが、経験を積むことで解消すると判断した。分子の定量化など今後の課題も含めて、十分な理解を確認することが出来た。また、将来の研究展開としてのキット化やアセスメントツールマーカーの確立についても、今回の研究を基礎にしたものであると判断でき、看護研究として発展性も含めて期待できるものであった。

本学位審査委員会は、提出された学位請求論文が博士の学位を授与されるに値するものであり、かつ最終試験の結果から論文提出者の高橋氏が褥瘡に関する看護専門領域において十分な学識と研究者としての能力を有するものであると確認したので、博士（看護学）学位を授与するに適格であると全員一致で判断した。