

審査の結果の要旨

氏名 金澤 寿樹

本研究は治癒期間が長い慢性創傷である褥瘡における圧力起因性治癒遅延を同定するための創部滲出液から採取するマーカーの開発を試みたものである。著者の *in vitro* 実験によるマーカー候補を、全層欠損創に圧荷重を与えた治癒遅延動物モデルを開発し、動物モデルと臨床の褥瘡において検証し、以下の結果を得た。

1. 動物モデルの開発において、オスの Wister ラットを使用し、創作製後 7 日目に 0 (対照群)、1、5、10kg の荷重群を 2 時間かけた。荷重をかけた群は全て総面積が拡大し、治癒期間の荷重量依存的延長を示した。HE 染色による組織学的解析では創作製後 14 日目の 5kg と 10kg 群の肉芽組織では無細胞化とヒアリン化が認められ、虚血の持続により炎症細胞の浸潤がなく、組織修復が未だ起こっていないことを示した。筋組織においては創作製後 14 日目の 1kg と 5kg 群では線維化がおり組織修復が認められたが、10kg 群では炎症細胞の浸潤が持続し、組織障害が進行していた。これらの結果より本研究の動物モデルは圧力起因性創傷治癒遅延モデルとしての妥当性を示した。
2. 本研究によって開発した圧力起因性創傷遅延動物モデルを使用して、著者の先行研究で報告したマーカー候補である PGE₂、ヒアルロン酸、HSP90 α の圧荷重による動態を解析した。PGE₂ に関する解析において、COX2 の mRNA では 0kg 群と比較して創作性後 7 日目では 1k、5k、10kg 群の全群、8 日目では 5kg と 10kg 群、14 日目では 1kg と 5kg 群に有意差が認められた。免疫組織化学では、0kg 群と比較して創作性後 7、8、14 日目における 1k、5k、10kg 群の全群で COX2 陽性細胞が多く認められた。組織内の PGE₂ 産生解析では創作製後 7 日目では 1kg と 5kg 群、14 日目では 5kg と 10kg 群が 0kg 群と比較して有意差が認められた。以上の結果より圧荷重による PGE₂ の増加が示された。
3. ヒアルロン酸に関する解析において、ヒアルロン酸合成酵素の HAS1 の mRNA では 0kg 群と比較して 7 日目では 1k、5k、10kg 群の全群、8 日目では 10kg 群に有意差が認められた。免疫組織化学では、0kg 群と比較して 1k、5k、10kg 群では 7 日目と 8 日目で HAS1 陽性細胞が多く認められた。HAS2 の mRNA では 0kg 群と比較して 8 日目では 1kg と 5kg 群、14 日目では 10kg 群に有意差が認められた。免疫組織化学では、0kg 群と比較して 7 日目の 1kg と 5kg 群と 8 日目の 5kg と 10kg 群で HAS2 陽性細胞が多く認められた。組織内のヒアルロン酸産生解析では 7 日目では 5kg 群、8 日目では 1kg 群が 0kg 群と比較して有意差が認められた。以上の結果より圧荷重によるヒアルロン酸の増加が示された。
4. HSP90 α に関する解析において、HSP90 α の mRNA では 0kg 群と比較して 8 日目の 10kg 群に有意差が認められた。免疫組織化学では、0kg 群と比較して 1k、5k、10kg 群の 8 日目と 14 日目で HSP90 α 陽性細胞が多く認められた。組織内定量解析では 7 日目の 5kg 群、14 日目の 1k、5k、10kg 群の全

群が 0kg 群と比較して有意差が認められた。以上の結果より圧荷重による HSP90 α の増加が示された。

5. 肉芽組織での動態解析より 3 つのマーカー候補を対象に創面ブロッティング法による滲出液解析を行う前に創面ブロッティング法（創部の滲出液を簡便に採取し定量解析する手法）の適応をなるかをドットプロットで検証した。結果は創面ブロッティングの適応となるのは HSP90 α のみであった。HSP90 α 滲出液解析の定量解析の結果では、0kg 群と比較して荷重前の 7 日目では介入群では有意差が認められなかったのに対して、8 日目では 10kg 群、10 日目では 1k、5k、10kg 群の全群で HSP90 α は有意に上昇していた。14 化目は有意差が認められなかった。これらの結果から圧荷重による HSP90 α の滲出液中の増加が示された。次にこれらの動物実験の結果をもとに臨床の褥瘡にてマーカー候補を症例研究 1、症例研究 2 で検証した。
6. 症例研究 1 の症例では仙骨部の褥瘡をもつ 60 歳の女性は脳出血による片麻痺のために効果的な体位変換の実施ができずに持続的に圧迫を受け続けて治癒が進まない状態であった。HE 所見では、コラーゲンの繊維構造がないヒアリン化が認められた。免疫組織化学では、COX2、HAS2、HSP90 α の発現が認められた。ヒアリン化所見は肉芽組織が圧力負荷を受けていた根拠となる所見であり、3 つのマーカー候補が圧力負荷による治癒遅延褥瘡において発現していたことから、これらの因子が圧力起因性創傷治癒遅延を同定するマーカーになりうることを示された。
7. 症例研究 2 は創面ブロッティングによる HSP90 α 解析の妥当性検証であり、診療録等により創部への圧力の負荷あるいはその改善が明らかな褥瘡について、HSP90 α の検出との関連を検討した。創部にかかる圧力に関する情報が確かな患者 3 名について、治癒経過と HSP90 α の検出を記述的に解析したところ、一週間前に創部が圧力を受けた経緯がある場合 HSP90 α が陽性であり、また ADL 改善により治癒が進行した際に HSP90 α が陰性に転じたことが示された。さらに、臨床褥瘡の治癒遅延に対する圧力負荷の関与を検討するため、横断研究において創面ブロッティング法による HSP90 α の評価を応用した。
8. 横断研究では治癒遅延の有無と HSP90 α の検出の有無を調べたところ HSP90 α は治癒遅延の説明変数になることが有意に示された。反復測定データ 47 件中 18 件が治癒遅延しており HSP90 α 陽性はその中で 16 件であり、圧力負荷が治癒遅延の大きな要因であることが示された。

以上、本論文は今までに報告されていなかった圧力起因性創傷治癒遅延モデルを開発し、この動物モデルと臨床の褥瘡において、圧力による創傷治癒遅延を同定するマーカー候補として PGE₂、ヒアルロン酸、HSP90 α を同定した。なかでも HSP90 α は創面ブロッティング法の適用となり、褥瘡の滲出液でも治癒遅延を同定しうる堅牢なマーカーである可能性を示した。本研究で同定したマーカーによって圧起因性治癒遅延を同定することで、体位変換や体圧分散器具の選択において客観的な指標に基づく判断が可能になり、創部における除圧ケアの優先度を判断でき、効率的な除圧ケアの配分が可能になると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。