

高温の水蒸気を吸入させたラットの急性呼吸不全に対するサーファクタント補充療法

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 我喜屋, 徹 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9346

高温の水蒸気を吸入させたラットの急性呼吸不全に 対するサーファクタント補充療法

金沢大学医学部麻酔・蘇生学講座 (主任: 小林 勉教授)

我 喜 屋 徹

高温の水蒸気 (95~98℃) 吸入により急性呼吸不全を呈した成熟ラット (体重350-430g) 44匹を用い、サーファクタント補充療法の効果を検討した。ペントバルビタールの腹腔内投与でラットを麻酔した後、気管切開孔より挿管した。純酸素を用い、最大吸気圧を25cmH₂O、終末呼気圧を7.5cmH₂Oに設定した従圧式人工呼吸で管理し、実験1と2を行った。実験1では、ラット (n=22) に水蒸気を3.7±1.4分間 (\bar{x} ±SD) 吸入させた。吸入約25分後には、重篤な急性呼吸不全が発症した。すなわち、動脈血酸素分圧 (arterial oxygen pressure, PaO₂) は531±43mmHg (n=22) から102±31mmHg (n=22) に低下した (p<0.01)。また、動脈血炭酸ガス分圧 (arterial carbon dioxide pressure, PaCO₂) は27±6mmHg (n=22) から47±9mmHg (n=22) に増加し (p<0.01)、動的肺-胸郭コンプライアンスの平均値は水蒸気吸入前の65%に低下し (p<0.01)、6.1±3.3ml/kg (n=22) の肺水腫液が気管内吸引により採取されるようになった。これらの動物のうち、サーファクタント直接注入群 (n=11) に対しては、ブタ肺由来の加工サーファクタント (100mg/kgを2ml/kgの生理食塩水に分散したもの) を気管内に注入した。その結果、PaO₂は時間経過とともに上昇し、120分目には260±113mmHg (n=11) に達した (注入前値に対し p<0.01)。また、PaCO₂および動的肺-胸郭コンプライアンスも有意に改善した。一方、偽薬として生理的食塩水を気管内に注入した群 (n=11) では、動脈血ガス分圧および動的肺-胸郭コンプライアンスの値は全く改善しなかった (サーファクタント直接注入群に対し p<0.05)。実験2では、ラット (n=22) に高温の水蒸気を4.0±1.7分間吸入させ、実験1と同様の呼吸不全を発症させた。これらの動物のうち、サーファクタント噴霧吸入群 (n=11) に対しては、実験1で使用したと同じサーファクタントを超音波ネブライザーでエアロゾル化し、60分間かけて吸入させた。その結果、PaO₂は時間の経過とともに上昇し、120分目には211±109mmHg (n=11) に達した (噴霧前値に対し p<0.01)。しかし、PaCO₂および動的肺-胸郭コンプライアンスの改善は有意なものでなかった。なお、水蒸気吸入後に何ら処置を加えなかった動物 (n=11) では、PaO₂を含め、全ての所見に改善傾向は見られなかった。以上の結果から、高温の水蒸気の吸入により、急性の呼吸不全が生ずると結論された。また、このような呼吸不全に対して、サーファクタント補充療法、特に直接注入法を用いた補充療法は、血液ガス所見や動的肺-胸郭コンプライアンスを有意に改善し得ると結論された。

Key words airway burn, nebulization, pulmonary edema, respiratory failure, surfactant replacement

火災などの際、高温のガスを吸入することによって起こる気道熱傷では、しばしば重篤な呼吸不全が発生する^{1)~3)}。一般に、気道熱傷による呼吸不全の治療には、酸素吸入や人工呼吸療法、ステロイドおよび気管支拡張薬の投与などが用いられている⁴⁾⁵⁾。特に、終末呼気陽圧 (positive end-expiratory pressure, PEEP) を付加した人工呼吸は、低酸素血症の改善に有効であると報告されている⁶⁾。しかし、これら従来の治療法では、呼吸不全を改善することが困難な症例もしばしば存在する。

気道熱傷に伴う受傷早期の肺の変化としては、肺水腫、無気肺、および肺胞への出血と白血球の遊走などがある⁷⁾。これらの病変の発生機序には、熱刺激による化学伝達物質の放出や肺サーファクタントの異常が関与していると推測されている⁸⁾⁹⁾。経気道的なサーファクタント補充療法は、気道内に塩酸を注入

した動物¹⁰⁾や肺洗浄動物¹¹⁾の呼吸不全を著明に改善する。したがって、気道熱傷に伴う呼吸不全に対しても、サーファクタント補充療法は治療効果を示す可能性が考えられる。今回、著者は、気道熱傷の一つのモデルとして、ラットに高温 (95~98℃) の水蒸気を吸入させ、PEEPを付加した人工呼吸でも改善不可能な呼吸不全を発症させたうえ、サーファクタント補充療法が有効か否かを検討した。

対象および方法

I. 補充療法用サーファクタントの調整

補充療法用のサーファクタントには、金沢大学医学部麻酔・蘇生学教室で開発したサーファクタントシーケイ (surfactant CK, S-CK)¹²⁾¹³⁾を用いた。S-CKは、ブタの肺洗浄液から、遠心

平成9年4月24日受付, 平成9年6月20日受理

Abbreviations: C, control; I, instilled; N, nebulized; PaCO₂, arterial carbon dioxide pressure; PaO₂, arterial oxygen pressure; PEEP, positive end-expiratory pressure; PIP, peak inspiratory pressure; S, saline; S-CK, surfactant CK

法, クロロホルム/メタノール (2/1, v/v) による抽出法, 0.5%食塩水による洗浄法, およびアセトン沈澱法を経て採取し, 98%のリン脂質と1%の疎水性タンパク質を主成分としたものである。S-CKをラットに補充する際は, 生理食塩水に分散し, 50mg/mlまたは25mg/mlの濃度のものを使用した。

II. 動物実験

1. サーファクタント直接注入法の効果検定 (実験1)

実験1では, 体重350~430gのウイスター系成熟ラット22匹を使用した。ペントバルビタール(30mg/kg)の腹腔内投与により麻酔した後, 気管切開孔より内径1.5mmの気管内チューブを挿入した。次に, 図1に示すように, 2匹のラットを一組にして人工呼吸回路に並列に接続し, 人工呼吸器 Servo 900B (Siemens-Elema, Solna, Sweden) を用いて従圧式の間歇的陽圧呼吸を行った。実験の全経過を通じて, 吸気ガスには純酸素を用い, 呼吸回数を毎分40回, 吸気と呼気の時間比を1:1に固定した。また, 最大吸気圧 (peak inspiratory pressure, PIP) は人工呼吸器の作動圧を変えることによって調節し, PEEPは呼気回路に可変抵抗器 EO37E (Siemens-Elema) を付加して調節した。実験中は, 呼吸回路の圧を常時監視し, 設定した換気条件が保たれていることを確認した。なお, 動物の肺コンプライアンスが変化しても PEEPの値が変動しないように, 呼吸回路には容量10ℓの気密のビン (airtight jar) を装着した。

ラットの左股動脈にはカテーテルを挿入し, 血圧測定と動脈血の採取に当てる。また, 右股静脈にもカテーテルを挿入し, 乳酸加リンゲル液を5ml/kg/hrの速度で持続的に投与した。実験中は, ペントバルビタール (15mg/kg) の腹腔内間欠投与と,

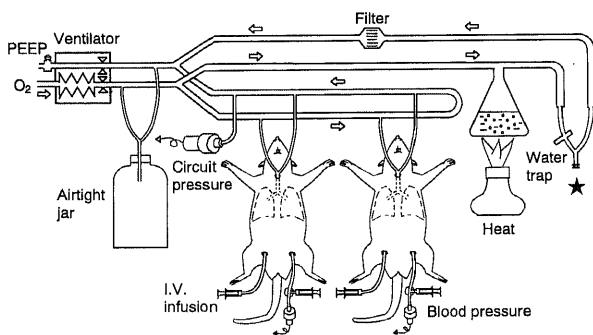


Fig. 1. Diagram of experimental setup. Open arrows indicate direction of oxygen flow. The rats were connected one by one to branch circuit (★) for inhalation of high temperature vapor. PEEP, positive end-expiratory pressure.

臭化パנקロニウム (0.4mg/kg/hr) の持続静注により, 一定の麻酔深度と非動化を保った。

PIPを25cmH₂O, PEEPを7.5cmH₂Oの条件に設定した人工呼吸を開始し, 15分後に基準状態時における動脈血ガス分析と1回換気量の測定を行った。次いで, PEEPを0cmH₂Oにした後, 沸騰水の入ったフラスコを組み込んだ回路 (水蒸気吸入回路, 図1★印) に, ラットを1匹ずつ順次つなぎ変え, 水蒸気を吸入させた。なお, 気管内チューブの接続部位で測定した水蒸気の温度は95~98℃であった。水蒸気吸入は, 最初に1.5分間行い, 2分後の気管内吸引で0.1ml以上の肺水腫液が採取されるようになるまで, 1分間ずつ合計2~5回あてを行った。この際, 水蒸気吸入時以外はもとの呼吸回路に戻した。

同一実験における2匹のラットがともに肺水腫を呈するようになってから5分後に, 7.5cmH₂OのPEEPを再び付加し, その10分後に動脈血酸素分圧 (arterial oxygen pressure, PaO₂) を測定した。7.5cmH₂OのPEEPを付加してもPaO₂が170mmHg以上に上昇しないことを確認し, その時点を群分け直前時として, 気管内吸引と換気量の測定を行った。なお, 水蒸気吸入より群分け直前時までに気道内吸引で得られた肺水腫液は, それぞれの動物のものを一まとめにし, 凍結保存して後の分析にそなえた。

群分け直前時の測定から5分後に, 一組にした2匹のラットを, サーファクタント直接注入 (instilled, I) 群および生理食塩水の気道内注入 (saline, S) 群に無作為に分けた。I群 (n=11) に対しては, 50mg/mlの濃度に調整したS-CKを2ml/kg (100mg/kg) あて, 気管内チューブを介して肺内に注入した。S群に対しては生理食塩水を2ml/kgあて, 同様の方法で肺内に注入した。群分け後は, 換気条件およびラットの体位を変更せず, 15, 30, 60, 120分目に動脈血ガス分析を行った。さらに, 120分目の時点では, 換気量も測定した。また, 群分け30分目以降からは, 30分に一度の頻度で両群のラットに対し, 気管内吸引を行った。なお, この吸引は, 動脈血を採取した後にいった。

動脈血のPaO₂および炭酸ガス分圧 (arterial carbon dioxide pressure, PaCO₂) は, 自動血液ガス分析装置 ABL 2 (Radiometer, Copenhagen, Denmark) を用いて測定した。各ラットの1回換気量は, 気管内チューブと人工呼吸回路の間に気流抵抗管TV-241T (日本光電, 東京) を挿入し, 差圧検出器TP-602T (日本光電), 呼吸用アンプAR-601G (日本光電) および換気量ユニットAQ-601G (日本光電) を介して測定した。なお, この1回換気量 (ml) を換気圧 (PIP-PEEP, cmH₂O) と体重 (kg) で除して, 動的肺-胸郭コンプライアンスを求めた。

2. サーファクタント噴霧吸入法の効果検定 (実験2)

実験2では, 体重360~430gのウイスター系ラット22匹を用

Table 1. Arterial blood gas values in the experiment for the evaluation of the effect of surfactant instillation (experiment 1) before and after inhalation of high temperature vapor

Subjects	No. of subjects	Arterial oxygen pressure ($\bar{x} \pm SD$, mmHg)		Arterial carbon dioxide pressure ($\bar{x} \pm SD$, mmHg)	
		Before	After	Before	After
Surfactant instilled (I) group	11	543 ± 44	111 ± 32*	28 ± 7	43 ± 7*
Saline instilled (S) group	11	518 ± 39	93 ± 28*	26 ± 4	50 ± 11*

* $p < 0.01$ vs. the values before inhalation of high temperature vapor. Before, before vapor inhalation (baseline period); after, after vapor inhalation (just prior to surfactant or saline instillation).

いた。ラットに対し、実験1と同様の方法で麻酔と人工呼吸を行った。また、実験1と同様の方法で水蒸気吸入による呼吸不全を作成し、気道内吸引による肺水腫液の採取と保存、動脈血ガス分析、および換気量を測定した後、11匹ずつ無作為にサーファクタント噴霧吸入 (nebulized, N) 群と対照 (control, C) 群に分けた。N群に対しては、直径1~5 μ mのエアロゾルが作成できるダイアフラム型超音波ネブライザー装置NE-U06 (OMURON社、東京) を用い、人工呼吸下にS-CKを噴霧吸入させた。すなわち、呼吸回路の吸気側にネブライザー装置を組み込み、その薬液槽に25mg/mlの濃度に調整したS-CKの分散液3mlを入れ、エアロゾル化して吸入させた。その後は、薬液槽の中のS-CKがなくなった時点で、2mlずつ追加し、合計8ml (200mg) の分散液を60分間にわたって吸入させた。C群 (n=11) に対しては、特別な処置を加えず、そのまま人工呼吸のみを行った。なお、群分け後は、実験1と同様の方法で、両群のラッ

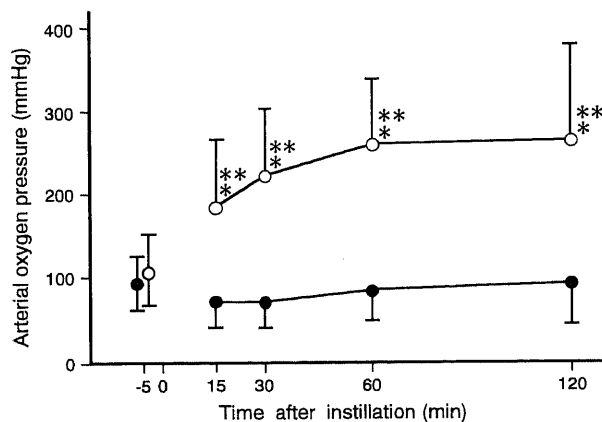


Fig. 2. Sequential PaO₂ values in the experiment for the evaluation of the effect of surfactant instillation (experiment 1) after inhalation of high temperature vapor. Values are $\bar{x} \pm SD$. * $p < 0.05$ vs. saline group, ** $p < 0.05$ vs. the values just prior to surfactant or saline instillation (-5 min). ○, instilled group (n=11); ●, saline group (n=11).

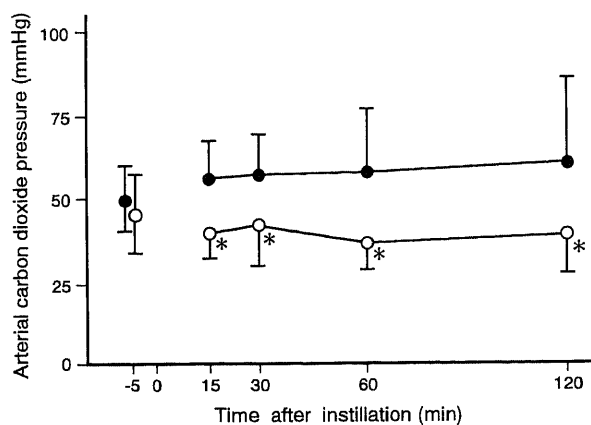


Fig. 3. Sequential PaCO₂ values in the experiment for the evaluation of the effect of surfactant instillation (experiment 1) after inhalation of high temperature vapor. Values are $\bar{x} \pm SD$. * $p < 0.05$ vs. saline group, ** $p < 0.05$ vs. the values just prior to surfactant or saline instillation (-5 min). ○, instilled group (n=11); ●, saline group (n=11).

トの動脈血ガスおよび換気量を測定した

Ⅲ. 肺水腫液の分析

凍結保存しておいた肺水腫液は、解凍後、そのリン脂質濃度を過マンガン塩灰化法 (リン脂質テストワコー, 和光, 大阪) で測定し、タンパク質濃度をビウレット法 (クリナライザー JCA-MS 24, 日本電子, 東京) で測定した。

Ⅳ. 統計処理

測定値は平均 \pm 標準偏差 ($\bar{x} \pm SD$) で表した。統計学的判定には、一元および二元配置分散分析のうへ Scheffé法による多重比較テストを行い、危険率が5%未満の場合 ($p < 0.05$) を統計的に有意差ありと判定した。

成 績

I. I群とS群の比較 (実験1)

1. 体重および基準状態時と群分け直前時の血液ガス所見

I群とS群のラットの体重は、それぞれ 377 ± 24 g (n=11) と 389 ± 24 g (n=11) であり、両群間に有意差はなかった。基準状態時の PaO₂ は 531 ± 43 mmHg (n=22), PaCO₂ は 27 ± 6 mmHg (n=22) で、いずれも両群間に有意差を認めなかった。水蒸気吸入後の群分け直前時の PaO₂ は 102 ± 31 mmHg (n=22) を示し、基準状態時より平均値で 429 mmHg 低下していた ($p < 0.01$)。また、PaCO₂ は 47 ± 9 mmHg (n=22) を示し、基準状態時より平均値で 20 mmHg 増加していた ($p < 0.01$)。なお、これら群分け直前時の値にも、I群とS群の間に有意差は認められなかった (表1)。

2. 水蒸気の吸入時間および肺水腫液の量と組成

実験終了時まで、両群の全てのラットが生存した。I群およびS群における水蒸気の吸入時間は 3.7 ± 1.4 分 (n=22), 最初の

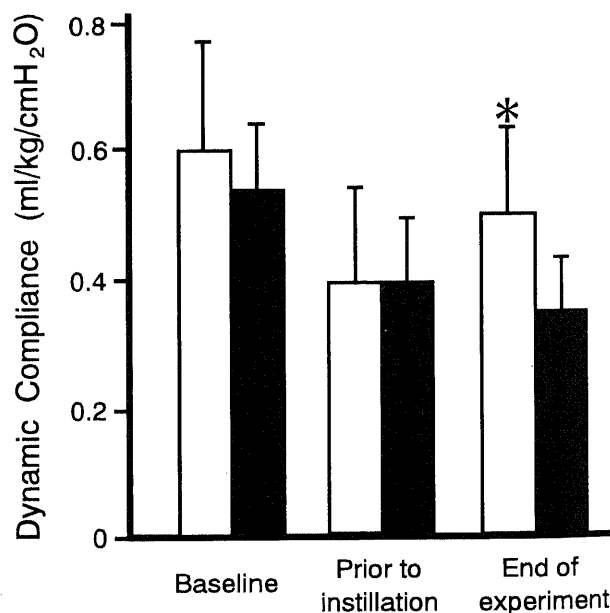


Fig. 4. Changes of dynamic lung-thorax compliance in the experiment for the evaluation of the effect of surfactant instillation (experiment 1) during the baseline period, just prior to surfactant or saline instillation, and the end of experiment. Values are $\bar{x} \pm SD$. * $p < 0.05$ vs. saline group. Open bars, instilled group (n=11); solid bars, saline group (n=11).

水蒸気吸入から群分けまでの時間は 25 ± 5 分 ($n=22$) であり、これらの値には両群間に有意差を認めなかった。水蒸気吸入開始時から群分けまでに気管内の吸引で得られた肺水腫液量は 6.1 ± 3.3 ml/kg ($n=22$) であり、両群間に有意差はなかった。また、肺水腫液中のタンパク質濃度は 27 ± 4 mg/ml ($n=22$)、リン脂質濃度は 0.6 ± 0.2 mg/ml ($n=22$) であり、これらの値にも両群間に有意差を認めなかった。

3. サーファクタント直接注入法による PaO₂ の変化

図2に PaO₂ の経時変化を示す。水蒸気吸入により 111 ± 32 mmHg ($n=11$) に低下したI群の PaO₂ は、サーファクタントの気道内注入後15分目に 195 ± 76 mmHg ($n=11$) とS群に比して有意に上昇し、120分目には 260 ± 113 mmHg ($n=11$) に達した(注入前値に対し $p < 0.01$)。一方、S群の PaO₂ の平均値は、水蒸気吸入後から実験終了時まで100mmHg以下で推移し、有意な変化を示さなかった。

4. サーファクタント直接注入法による PaCO₂ の変化

図3に PaCO₂ の経時変化を示す。水蒸気吸入により、 43 ± 7 mmHg ($n=11$) に上昇したI群の PaCO₂ は、群分け後、若干低下する傾向を示した。一方、水蒸気吸入により、 50 ± 11 mmHg ($n=11$) になったS群の PaCO₂ は、その後も徐々に上昇し、群分け15分目以降から実験終了時まで、I群に比して有意に高い値を示した。

5. 動的肺-胸郭コンプライアンスの変化

図4に動的肺-胸郭コンプライアンスの変化を示す。基準状態時におけるI群およびS群の動的肺-胸郭コンプライアンスは、それぞれ 0.63 ± 0.18 ml/kg/H₂O ($n=11$) と 0.55 ± 0.10 ml/kg/H₂O ($n=11$) であり、両群間に有意差はなかった。水蒸気吸入後の群分け直前時には、それぞれの平均値は基準状態時の64%と73%に有意に低下した。実験終了時、I群では、平均値が基準状態時の82%にまで回復したが、S群では、逆に平均値が65%に低下しており、両群間に有意差が認められた ($p < 0.05$)。

II. N群とC群の比較(実験2)

1. 体重および基準状態時と群分け直前時の所見

N群とC群のラットの体重は、それぞれ 405 ± 27 g ($n=11$) と 376 ± 21 g ($n=11$) であり、両群間に有意差はなかった。基準状態時の PaO₂ は 529 ± 30 mmHg ($n=22$)、PaCO₂ は 25 ± 5 mmHg ($n=22$) であり、いずれも両群間に有意差を認めなかった(表2)。

2. 水蒸気の吸入時間および肺水腫液の量と組成

実験終了時まで、両群の全てのラットが生存した。N群およびC群における水蒸気の吸入時間は 4.0 ± 1.7 分 ($n=22$)、最初の水蒸気吸入から群分けまでの時間は 26 ± 4 分 ($n=22$) であり、これらの値には、両群間に有意差を認めなかった。水蒸気吸入

Table 2. Arterial blood gas values in the experiment for the evaluation of the effect of surfactant nebulization (experiment 2) before and after inhalation of high temperature vapor

Subjects	No. of subjects	Arterial oxygen pressure ($\bar{x} \pm$ SD, mmHg)		Arterial carbon dioxide pressure ($\bar{x} \pm$ SD, mmHg)	
		Before	After	Before	After
Surfactant nebulized (N) group	11	502 ± 28	$106 \pm 34^{*}$	24 ± 3	$46 \pm 14^{*}$
Control (C) group	11	556 ± 32	$88 \pm 26^{*}$	26 ± 7	$42 \pm 13^{*}$

* $p < 0.01$ vs. the values before inhalation of high temperature vapor. Before, before vapor inhalation (baseline period); after, after vapor inhalation (just prior to surfactant nebulization).

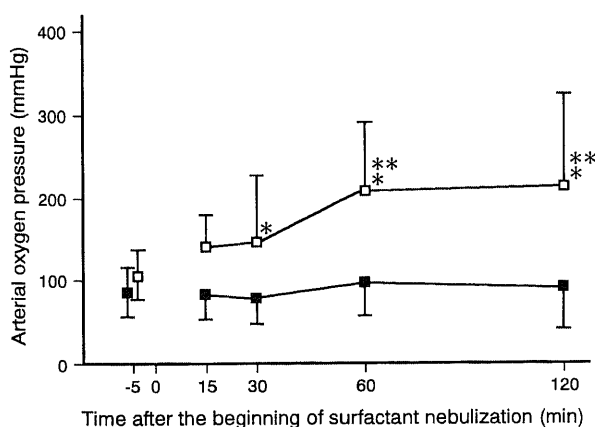


Fig. 5. Sequential PaO₂ values in the experiment for the evaluation of the effect of surfactant nebulization (experiment 2) after inhalation of high temperature vapor. Surfactant nebulization was performed for one hour. Values are $\bar{x} \pm$ SD. * $p < 0.05$ vs. control group, ** $p < 0.05$ vs. the values just prior to surfactant nebulization (-5 min). □, nebulized group ($n=11$); ■, control group ($n=11$).

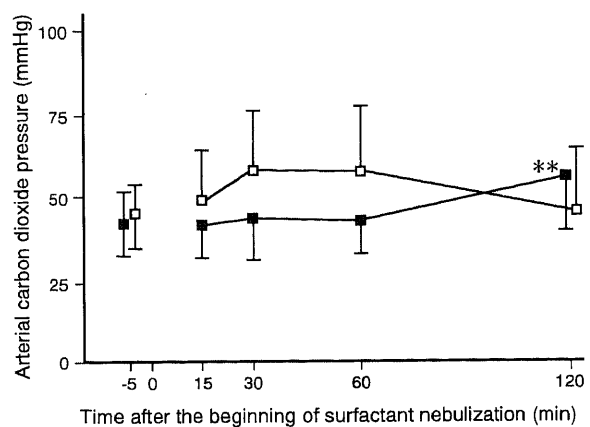


Fig. 6. Sequential PaCO₂ values in the experiment for the evaluation of the effect of surfactant nebulization (experiment 2) after inhalation of high temperature vapor. Surfactant nebulization was performed for one hour. Values are $\bar{x} \pm$ SD. * $p < 0.05$ vs. the values just prior to surfactant nebulization (-5 min). □, nebulized group ($n=11$); ■, control group ($n=11$).

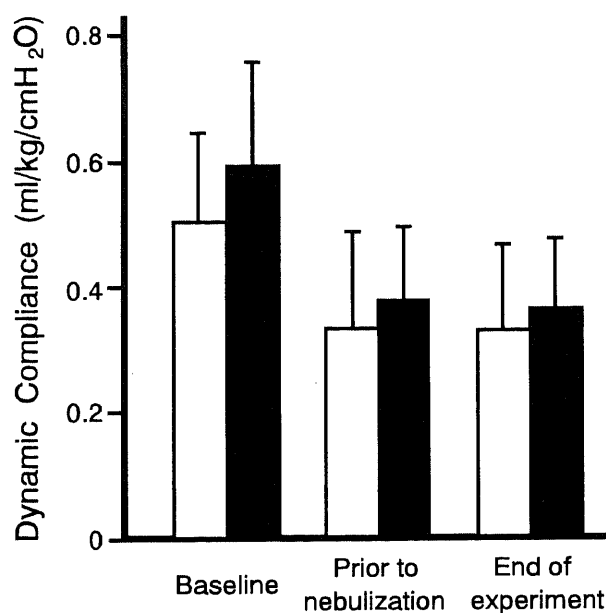


Fig. 7. Changes of dynamic lung-thorax compliance in the experiment for the evaluation of the effect of surfactant nebulization (experiment 2) during the baseline period, just prior to surfactant nebulization, and the end of experiment. Values are $\bar{x} \pm SD$. Open bars, nebulized group (n=11); solid bars, control group (n=11).

開始時から群分けまでに気管内の吸引で得られた肺水腫液量は $6.4 \pm 3.6 \text{ ml/kg}$ (n=22) で、両群間に有意差はなかった。また、肺水腫液中のタンパク質濃度は $29 \pm 6 \text{ mg/ml}$ (n=22)、リン脂質濃度は $0.7 \pm 0.3 \text{ mg/ml}$ (n=22) であり、これらの値にも両群間に有意差はなかった。

3. サーフアクトン噴霧吸入法による PaO₂ の変化

図5にPaO₂の経時変化を示す。水蒸気吸入により、106 ± 34mmHg (n=11) に低下したN群のPaO₂は、サーファクトンの噴霧吸入を開始後、30分目には $147 \pm 79 \text{ mmHg}$ (n=11) とC群に比して有意に高くなった。PaO₂は、その後も上昇を続け、120分目には $211 \pm 109 \text{ mmHg}$ (n=11) にまで上昇し(噴霧前値に対し $p < 0.01$)、実験終了時までC群に比して有意に高い値を維持した。一方、C群 (n=11) のPaO₂の平均値は、水蒸気吸入後から実験終了時まで、100mmHg以下に留まった。

4. サーフアクトン噴霧吸入法による PaCO₂ の変化

図6にPaCO₂の経時変化を示す。水蒸気吸入により $46 \pm 14 \text{ mmHg}$ (n=11) になったN群のPaCO₂は、サーファクトンの噴霧吸入を開始後、30分目には $58 \pm 22 \text{ mmHg}$ (n=11) と最高値を示したものの、その後は徐々に低下して、120分目には $48 \pm 18 \text{ mmHg}$ (n=11) になった。一方、C群のPaCO₂は、水蒸気吸入後より持続的に上昇を続け、群分け120分目には $62 \pm 21 \text{ mmHg}$ (n=11) に達した(群分け5分前の値に対し $p < 0.05$)。しかし、両群間に有意差は認められなかった。

5. 動的肺-胸郭コンプライアンスの変化

図7に動的肺-胸郭コンプライアンスの変化を示す。基準状態時におけるN群およびC群のラットの動的肺-胸郭コンプライアンスは、それぞれ $0.51 \pm 0.14 \text{ ml/kg/cmH}_2\text{O}$ (n=11) と $0.60 \pm 0.17 \text{ ml/kg/cmH}_2\text{O}$ (n=11) であり、両群間に有意差は認

められなかった。水蒸気吸入後の群分け直前時には、それぞれの平均値は基準状態時の65%と64%に有意に低下した。また、実験終了時においても、N群とC群のコンプライアンスの平均値は群分け直前時とほぼ同じ値(それぞれ基準状態時の66%と62%)を示し、両群間に有意差は認められなかった。

考 察

今回の実験で、95～98℃の水蒸気をラットに吸入させた結果、PEEPを付加した人工呼吸でも改善不可能な低酸素血症や高炭酸ガス血症が発生し、水蒸気吸入から約25分後には、6ml/kg前後の肺水腫液が気道内から採取されるようになった。また、動的肺-胸郭コンプライアンスも低下した。しかし、サーファクトン補充療法、特に直接注入法を用いた補充療法により、上記の所見は有意に好転した。

高温の水蒸気の吸入により呼吸不全が発生する機序としては、肺水腫の出現によるガス交換スペースの減少、気道粘膜の膨化や壊死に伴う気道閉塞などが考えられる¹⁰⁾¹³⁾。これらのうち、肺水腫については、高温の水蒸気により肺胞上皮や血管内皮細胞のタンパク質が変性または破壊を受け、その透過性が亢進するために発生すると考えられている³⁾。しかし、群分け後、S群やC群に対して、気管内吸引により肺水腫液を取り除いてもPaO₂の上昇が見られなかったこと、およびサーファクトン補充療法が著効を示したという今回の実験結果は、高温の水蒸気吸入後の呼吸不全に、サーファクトンの機能異常が大きく関与していることを強く示唆する。

サーファクトンは、肺胞被覆層の表面張力を減少させることによって、肺胞の虚脱と肺水腫液の漏出を防止する機能を有している¹⁰⁾¹⁷⁾。肺水腫液が出現した場合にサーファクトンが障害される機序として、サーファクトンの希釈という問題を先ず挙げることが出来る。サーファクトンの主成分であるリン脂質を指標とした場合、その濃度が3mg/ml以下になると、サーファクトンとしての生理作用が出現しなくなると言われている¹⁰⁾。今回の実験では、高温の水蒸気を吸入した後、約25分目の時点で、6ml/kg前後の肺水腫液が気道内吸引により採取され、その液中のリン脂質濃度は0.6mg/ml(平均値)であった。すなわち、今回の肺水腫液中のリン脂質が全て肺サーファクトンに由来するものであったと仮定しても、サーファクトンとしての生理的作用が期待できる濃度ではない。今回の実験におけるラットの肺胞表面は、気道から採取された肺水腫液とほぼ同じもので被覆されていると考えられる。したがって、大量の肺水腫液が出現した場合、サーファクトンの希釈という点だけから考えても、重篤な呼吸不全が生じて不思議ではない。

さらに、血漿中のアルブミンやフィブリノーゲンは、肺サーファクトンの活性を強く阻害することが知られている¹⁰⁾。また、肺水腫液中のタンパク質が、肺サーファクトンの活性を阻害することは、ウィルヘルミーバランス²⁰⁾や気泡型表面張力計²¹⁾を用いた測定で証明されている。さらに、新多²²⁾は、肺水腫液が存在する場合、その中のタンパク質とサーファクトン脂質の濃度比が5.6以下でないと、サーファクトンはその生理的機能が発揮できないと報告している。今回の実験で、ラットの気管から採取された肺水腫液のタンパク質濃度は29mg/ml前後であった。すなわち、本肺水腫液中のタンパク質とサーファクトン脂質の比は、少なくとも48(29/0.6)以上であると

計算される。したがって、このことから、本実験の被検動物では自己の肺サーファクタントが不活化された状態であると考えられ、重篤な呼吸不全が発生しても当然であると思われる。肺水腫液によってサーファクタントの活性が障害されれば、肺胞が虚脱するとともに、肺血管系からタンパク質の漏出が増加する²⁹⁾。したがって、肺水腫液の出現と呼吸不全の間には、サーファクタントの不活化を介した悪循環が生ずることになる。

この悪循環を断ち切るには、外部から活性の高いサーファクタントを補充するのが、最も手っとり早い方法と考えられる。Nittaら²⁴⁾は、ウサギ未熟胎仔を用いた実験で、肺水腫液中のタンパク質によるサーファクタントの阻害作用は、大量のサーファクタントを加えることにより打ち消すことができると報告している。また、Tashiroら²⁵⁾は、エンドトキシンの気管内注入により肺水腫が生じたラットに対し、今回の実験で用いたと同一のサーファクタントを気管内に投与した結果、呼吸不全が著明に改善したと報告している。今回の実験結果は、これらの見解をさらに強く支持するものであろう。

今回の実験では、サーファクタントを直接気管内に注入する方法と、超音波ネブライザーを用いた噴霧吸入法の2種類の投与方法を検討した。現在、直接注入法は、新生児呼吸窮迫症候群の治療に広く用いられている。しかし、この方法では、サーファクタントを肺胞に均一に到達させるためには、ある程度の量の分散液を一度に投与する必要がある²⁶⁾。その際、液体を肺内に注入したことによる血液ガスの一時的な悪化や、気道内圧を高めることによる肺損傷の危険性が存在する²⁷⁾。

一方、ネブライザーを用いた噴霧吸入法は、多量の液体を肺に負荷する危険をさけることができるので、より臨床に受け入れやすいという利点がある。また、サーファクタントを肺全体にほぼ均等に到達させることが可能である²⁸⁾。Liら²⁹⁾は、肺洗浄により呼吸不全を呈したラットに対して、ネブライザーを用いて今回の実験2と同一のサーファクタントを投与したところ、直接注入法とほぼ同程度に、呼吸不全が改善したと報告している。しかし、今回の実験の噴霧吸入法では、 PaO_2 の改善が見られたものの、 PaCO_2 や動的肺-胸郭コンプライアンスの有意な改善が見られなかった。この原因としては、肺洗浄に比べ、高温の水蒸気吸入の際には、より多量の肺水腫液が出現し、肺内のサーファクタント濃度の低下が著しかったことが考えられる。このため、低濃度のサーファクタントを噴霧吸入したN群では、肺内のサーファクタントが呼吸不全を改善するのに十分な濃度に達しなかった可能性がある。

今回の実験で、噴霧吸入法によるサーファクタントの補充に際しては、ラット1匹あたり200mgのS-CKを使用した。これは、直接注入法で用いた量の5倍前後にあたる。しかし、噴霧吸入法では、呼気中に多量のサーファクタントがエアロゾルのまま呼出されるため、実際に肺内に吸着される量が少なくなる。今回の実験と同じ超音波ネブライザー装置を用い、放射性テクネチウムを指示物質として用いたTashiroら³⁰⁾の検討では、エアロゾル化されたサーファクタントの4%前後しか肺に沈着しないと報告されている。この数値をそのまま用いると、今回のN群のラットの肺内に沈着したサーファクタントの量は8mgにすぎず、体重あたりに換算すると約20mg/kgになる。すなわち、今回のN群では、直接気道内注入法を用いたI群の1/5しかS-CKが肺に沈着しなかったことになる。

噴霧吸入法で肺に沈着するサーファクタントの量を増すためには、高濃度のものを用いた方が有利と思われる。しかし、陳ら³¹⁾は、超音波ネブライザーの薬剤槽内のサーファクタント濃度を25mg/mlから50mg/mlに高めると、発生するエアロゾルの量が約40%に減少すると報告している。そのため、今回の噴霧吸入法では、やむをえず25mg/mlの濃度のS-CKを使用した。サーファクタントの濃度を高めた場合に、エアロゾルの発生量が減少するのは、噴霧吸入法の一つの欠点であろう。また、噴霧吸入法では、多量のサーファクタントが呼気と一緒に放出されて無駄になるなどの問題も存在し、今後の検討が必要である。

実際の気道熱傷では、肺胞レベルに至るような重篤な熱傷は希れである³²⁾。また、気道以外の部位の熱傷を伴う場合が多い³³⁾など、今回の実験結果をすぐさま実際の臨床症例にあてはめることには問題があろう。しかし、水蒸気吸入は、乾燥ガス吸入に比べ、はるかにその熱量が大きく、気道の末梢部や肺胞レベルにも熱傷をもたらす率が高い³²⁾³³⁾。したがって、今回の実験で用いた動物モデルは、重症の気道熱傷に対する治療の手掛かりを得る目的に適したものと考えられる。

今回の実験では、サーファクタント補充療法を行っても、 PaO_2 や動的肺-胸郭コンプライアンスが、基準状態時の値にまでは回復しなかった。前述したように、気道熱傷では、気道粘膜の膨化や壊死などが生ずるが、これらの病変にまで、サーファクタントが有効であるとは考え難い。しかし、今回の実験結果は、高温の水蒸気吸入によって生じた呼吸不全の原因の一つに、肺サーファクタントの機能異常が関与していることを証明するとともに、この病態に対して肺サーファクタント補充療法が有効であることを示すものである。

結 論

ラットに高温(95℃-98℃)の水蒸気を2-6分間吸入させて呼吸不全を発生させたうえ、サーファクタントの補充療法を行い、以下の結論を得た。

1. ラットに高温の水蒸気を吸入させたところ、肺水腫の出現とともに、 PaO_2 および動的肺-胸郭コンプライアンスの有意な低下と PaCO_2 の有意な上昇が見られ、急性の呼吸不全が発生した。しかし、PEEPを付加した人工呼吸のみでは、呼吸不全の有意な改善は見られなかった。

2. 水蒸気吸入後にラットの気管内吸引により得られた肺水腫液の量は約6ml/kg、また肺水腫液中のタンパク質とリン脂質の濃度比は48(29/0.6)以上と高く、サーファクタントの機能阻害作用を持つタンパク質が多量に含まれていた。このことから、肺水腫液によるサーファクタントの希釈と不活化が呼吸不全の一因と推定された。

3. 高温の水蒸気吸入による呼吸不全に対し、直接注入法によりサーファクタントを経気道的に補充したところ、 PaO_2 や PaCO_2 などの血液ガス所見および動的肺-胸郭コンプライアンスが好転した。それに対し、ネブライザーを用いた噴霧吸入によるサーファクタントの補充では、 PaO_2 は改善するものの、 PaCO_2 や動的肺-胸郭コンプライアンスの改善は不十分であった。

以上より、高温の水蒸気吸入により発生した呼吸不全に対して、サーファクタント補充療法、特に直接注入法による補充療法は有効な治療法であることが示唆された。しかし、気道粘膜

の膨化や壊死などの病変に対しては、補充療法は有効では有り得ず、個別の対策を検討する必要があると思われた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、直接御指導と御校閲をいただいた小林 勉教授に深く感謝いたします。また、実験に御協力いただいた麻酔・蘇生学教室の諸先生と実験助手の方々に深謝いたします。なお、本研究は、文部省科学研究費(基盤研究B, 課題番号0254352および05671254)の援助を受けたことを付記し、謝意を表します。

文 献

- 1) Moylan JA, Chan CK. Inhalation injury: an increasing problem. *Ann Surg* 188: 35-37, 1977
- 2) Foley FD, Moncrief JA, Mason AD. Pathology of the lung in fatally burned patients. *Ann Surg* 167: 34-37, 1968
- 3) 大矢栄次郎. 気道熱傷. *臨床外科* 28: 187-195, 1973
- 4) Dressler DP, Skornik WA, Kupersmith S. Corticosteroid treatment of experimental smoke inhalation. *Ann Surg* 183: 46-52, 1976
- 5) Bruce M, Patricia A, Allyn RN. Pulmonary complications of burns. *Ann Surg* 177: 311-319, 1973
- 6) Venus B, Matsuda T. Prophylactic intubation and continuous positive airway pressure in the management of inhalation burn injury in burn victim. *Crit Care Med* 9: 519-523, 1981
- 7) Fredric WT, Gumbert JL. Cause of death from burns. *Ann Surg* 161: 497-501, 1965
- 8) John MH. Inhalation injury in burns. *Am J Surg* 139: 508-512, 1980
- 9) Holm BA, Matalon S. Role of pulmonary surfactant in the development and treatment of adult respiratory distress syndrome. *Anesth Analg* 69: 805-818, 1989
- 10) Kobayashi T, Grossmann G, Robertson B. Effects of artificial and natural surfactant supplementation in immature newborn rabbits. *日界面医誌* 15: 125-131, 1984
- 11) Kobayashi T, Kataoka H, Ueda T, Murakami S, Takada Y, Kokubo M. Effect of surfactant supplement and end-expiratory pressure in lung-lavaged rabbits. *J Appl Physiol* 57: 995-1001, 1984
- 12) 高田善則, 小林 勉, 片岡久範, 村上誠一, 小久保雅之. 肺サーファクタント由来物質の表面活性に対する温度と湿度の影響. *日界面医誌* 13: 128-134, 1982
- 13) 小林 勉, 片岡久範, 村上誠一, 春木伸一. 試作サーファクタント (Surfactant CK) による新生児呼吸窮迫症候群の治療経験. *日界面医誌* 12: 1-6, 1981
- 14) Foley FD, Moncrief JA, Mason AD. Pathology of the lung in fatally burned patients. *Ann Surg* 167: 251-264, 1967
- 15) 野口 宏, 斉藤文夫, 山際加代. Inhalation Burn: 実験的観察. *日災害医誌* 25: 598-605, 1977
- 16) Holm BA, Matalon S. Role of pulmonary surfactant in the development and treatment of adult respiratory distress syndrome. *Anesth Analg* 69: 805-818, 1989
- 17) Lachmann B, Robertson B, Vogel J. In vivo lung lavage as an experimental model of the respiratory distress syndrome. *Acta Anaesthesiol Scand* 24: 223-236, 1980
- 18) Kobayashi T, Shido A, Nitta K, Inui S, Ganzuka M, Robertson B. The critical concentration of surfactant in fetal lung liquid at birth. *Respir Physiol* 80: 182-192, 1990
- 19) Holm BA, Notter RH, Finkelstein JN. Surface property changes from interactions of albumin with natural lung surfactant and extracted lung lipids. *Chem Phys Lipids* 38: 287-298, 1985
- 20) Seeger W, Stöhr G, Wolf HR, Neuhof H. Alteration of surfactant function due to protein leakage: special interaction with fibrin monomer. *J Appl Physiol* 58: 326-338, 1985
- 21) Fuchimukai T, Fujiwara T, Takahashi A, Enhorning G. Artificial pulmonary surfactant inhibited by proteins. *J Appl Physiol* 62: 429-437, 1987
- 22) 新多恵子. 肺水腫液がサーファクタント活性を介して換気能におよぼす影響: ウサギ未熟胎仔による検討. *十全医会誌* 100: 1070-1084, 1991
- 23) Jobe A, Ikegami M, Jacobs H, Jones S, Conaway D. Permeability of premature lamb lungs to protein and the effect of surfactant on that permeability. *J Appl Physiol* 55: 169-176, 1983
- 24) Nitta K, Kobayashi T. Impairment of surfactant activity and ventilation by proteins in lung edema fluid. *Respir Physiol* 95: 43-51, 1994
- 25) Tashiro K, Li WZ, Yamada K, Matsumoto Y, Kobayashi T. Surfactant replacement reverses respiratory failure induced by intratracheal endotoxin in rats. *Crit Care Med* 23: 149-156, 1995
- 26) Gilliard N, Richmond P, Merritt TA, Spragg RG. Effect of volume and dose on the pulmonary distribution of exogenous surfactant administered to normal rabbits or to rabbits with oleic acid lung injury. *Am Rev Respir Dis* 141: 743-747, 1990
- 27) 権 五経, 佐藤大三, 吉成道夫, 小原正一, 遠藤和敬, 岩月尚文, 橋本保彦. 肺洗浄犬に対する高頻度ジェット換気と人工肺サーファクタント補充療法の効果. *麻酔* 40: 574-579, 1991
- 28) Lewis JF, Ikegami M, Jobe AH, Tabor B. Aerosolized surfactant treatment of preterm lambs. *J Appl Physiol* 70: 869-876, 1991
- 29) Li WZ, Chen WM, Kobayashi T. Aerosolized surfactant reverses respiratory failure in lung-lavaged rats. *Acta Anaesthesiol Scand* 38: 82-88, 1994
- 30) Tashiro K, Yamada K, Li WZ, Matsumoto Y, Kobayashi T. Aerosolized and instilled surfactant therapies for acute lung injury caused by intratracheal endotoxin in rats. *Crit Care Med* 24: 488-494, 1996
- 31) 陳 衛民, 李文志, 元塚雅也, 高橋麗子, 示野勝巳, 小林 勉, 倉島一喜. 肺洗浄ラットに対する超音波ネブライザーを用いたサーファクタント補充療法. *日界面医誌* 23: 23-30, 1992
- 32) Chu CS. New concept of pulmonary burn injury. *J Trauma* 21: 958-961, 1981
- 33) Walker JE, Wells RE. Heat and water exchange in the respiratory tract. *Am J Med* 30: 259-267, 1961

Surfactant Replacement for Respiratory Failure Induced by Inhalation of High Temperature Vapor in Rats

Toru Gakiya, Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920 - J. J. J. Med Soc., 106, 420 - 427 (1997)

Key words airway burn, nebulization, pulmonary edema, respiratory failure, surfactant replacement

Abstract

The effects of surfactant replacement on respiratory failure induced by inhalation of high temperature vapor (95-98 °C) were studied in 44 adult rats weighing 350-430 g. Experiments 1 and 2 were performed under anaesthesia with intraperitoneal pentobarbital and mechanical ventilation with pure oxygen, 25 cmH₂O peak inspiratory pressure, and 7.5 cmH₂O positive end-expiratory pressure. In experiment 1, the rats (n=22) were subjected to inhalation of the vapor for 3.7 ± 1.4 min ($\bar{x} \pm SD$). Twenty-five minutes after the inhalation, the animals developed severe respiratory failure; arterial oxygen pressure (PaO₂) decreased from 531 ± 43 mmHg (n=22) to 102 ± 31 mmHg (n=22, p<0.01), arterial carbon dioxide pressure (PaCO₂) increased from 27 ± 6 mmHg (n=22) to 47 ± 9 mmHg (n=22, p<0.01), dynamic lung-thorax compliance decreased to 65 ± 12 % (n=22) of the baseline value (p<0.01), and 6.1 ± 3.3 ml/kg (n=22) of lung edema fluid appeared. In the animals in the instillation group (n=11) receiving a bolus instillation of a modified porcine surfactant (100 mg/kg in 2 ml/kg saline) into the trachea, the PaO₂ increased with time, reaching 260 ± 113 mmHg (n=11) at 120 min after the instillation (p<0.05 vs. pre-instillation value). The instillation of surfactant also led to significant improvement in the values of PaCO₂ and dynamic lung-thorax compliance. While in the group (n=11) receiving the same volume of saline alone as a placebo, the values of PaO₂, PaCO₂ and dynamic lung-thorax compliance did not improve (p<0.05 vs. instillation group). In experiment 2, the rats (n=22) were subjected to inhalation of the high temperature vapor for 4.0 ± 1.7 min (n=22), and the same respiratory failure occurred as in experiment 1. In the animals (n=11) receiving aerosolized surfactant for 60 min through an ultrasonic nebulizer, the PaO₂ values increased with time, and reached 211 ± 109 mmHg (n=11) at 120 min after the start of the nebulization (p<0.01 vs. pre-nebulization period), but the PaCO₂ and the dynamic lung-thorax compliance did not improve. In the animals (n=11) in experiment 2 not receiving any treatment, none of the findings including PaO₂ improved. From these results, it was concluded that inhalation of high temperature vapor in rats induces severe respiratory failure with pulmonary edema, and that surfactant replacement, especially by bolus instillation into the trachea, improves both the blood gas findings and the dynamic lung-thorax compliance.