

Artificial Lung Surfactants Composed of Synthetic Lipids ; Surface Properties, and Effects on Surfactant Deficient Animals

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: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8152

合成脂質を用いて調整した人工肺サーファクタント

—表面活性, ならびにサーファクタント欠如動物における効果—

金沢大学医学部麻酔学講座 (主任: 村上誠一教授)

小久保 雅 之

(平成1年10月30日受付)

臨床使用可能な合成肺サーファクタントを開発する目的で, dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) と phosphatidylglycerol (PG) から成る DPPC-PG (70/30, w/w), およびそれに tripalmitin (TP) を加えた DPPC-PG-TP (65/25/10, w/w/w) を調製し, その表面活性ならびに生理活性を, ブタの肺から抽出した天然型サーファクタント (surfactant from natural source, Natural-S) と比較した. 表面活性は気泡型表面張力計で測定した. DPPC-PG の最小表面張力は 20.4 ± 1.2 mN/m (mean \pm SE) であったのに対し, DPPC-PG の最小表面張力は有意に低く (2mN/m以下) Natural-S の値とほぼ同等であった. また, DPPC-PG-TP の表面吸着速度は, DPPC-PG に比べ有意に速い値を示したが, Natural-S よりも遅かった. 生理活性の評価には, 自己の肺サーファクタントが欠如しているウサギ未熟胎仔と肺洗浄によりサーファクタントを洗い出した成熟ウサギの肺内に, 試料を投与するという方法を用いた. ウサギ未熟胎仔の非投与群および DPPC-PG を投与した群では, 20 cmH₂O の吸気時気管内圧を適用した人工呼吸下でも, 3ml/kg 以下の換気量しか示さなかった. 一方, DPPC-PG-TP を投与した群では, 前2者に比べ有意に大きい 10.2 ± 1.4 ml/kg という換気量が得られた. なお, Natural-S を投与した群でも換気量は 25.3 ± 1.8 ml/kg であった. 成熟ウサギのうち, 非投与群の PaO₂ は 100 Torr (純酸素による人工呼吸下) 以下に止まり, PaCO₂ は 81 Torr にまで上昇した. また, コンプライアンスは肺洗浄前の55%以下に減少した. DPPC-PG-TP を投与した群では, 100 Torr 以下の PaO₂ が投与直後から 460 ± 30 Torr に上昇し, PaCO₂ は 40 Torr 以下に保たれた. また, コンプライアンスも非投与群より有意に高値となった. DPPC-PG を投与した群では, これらの肺機能が好転するまでに投与後4~5時間を要した. 以上の結果より, TP には, DPPC と PG を混合したものとの生理活性を促進させる作用があり, DPPC-PG-TP は Natural-S より若干劣るものの, 肺サーファクタントとして生理活性を有するものと判定された.

Key words lung surfactant, replacement therapy, tripalmitin, dipalmitoylphosphatidylcholine, phosphatidylglycerol

未熟児の呼吸窮迫症候群 (respiratory distress syndrome, RDS) に対し, 肺サーファクタント補充療法が確立され, 様々な補充療法用サーファクタントが開発されてきた. 現在実用化されているサーファクタントには, 動物の肺洗浄液や肺ホモジェネートから遠

心分離と有機溶媒抽出によって精製したもの¹⁻⁴⁾, その精製物にさらに合成脂質を添加して成分を調整したもの^{5,6)}等がある. また, ヒト由来のサーファクタントとして羊水から精製したものも報告されている⁷⁾. これらの天然型肺サーファクタントは, いずれも RDS

Abbreviations: ARDS, adult respiratory distress syndrome; DPPC, dipalmitoylphosphatidylcholine; IPPB, intermittent positive pressure breathing; Natural-S, surfactant from natural source; PEEP, positive end-expiratory pressure; PG, phosphatidylglycerol; RDS, respiratory distress syndrome; TP, tripalmitin

の治療に有効であることが証明されているが、大量生産が困難なこと、ロットにより活性のパラツキが生じ易いこと、異種タンパクの存在により抗原性を持つ可能性があることなどの問題点を有している。最近、これらの問題を解決する目的で、複数の合成脂質を用いて調製した合成肺サーファクタントの研究が開始されている⁹⁻¹¹⁾。

天然の肺サーファクタントには dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) や phosphatidylglycerol (PG) が多量に存在する。しかし、DPPC 単独や¹²⁾、

Table 1. Composition of surfactant from natural source (Natural-S)

Phospholipid (DPPC: 75% of phospholipid)	94 %
Fatty acid and neutral lipid	5 %
Protein	1 %

DPPC, dipalmitoylphosphatidylcholine. Composition of lipids was assessed by thin layer chromatography and dose of protein was determined by amino acid analyzer (model 835, Hitachi, Tokyo) after hydrolysis in 6N HCl for 22 hr at 110°C under vacume.

DPPC と PG の組合せ¹⁰⁾だけでは、十分な生理活性を示さない。我々は、DPPC に PG などの酸性リン脂質、および中性脂質を添加した合成サーファクタントを試作し、その活性を検討してきた¹⁴⁾¹⁵⁾。今回著者は、DPPC と PG からなる合成肺サーファクタント (DPPC-PG)、この2種のリン脂質に中性脂質の一種である tripalmitin (TP) を添加したもの (DPPC-PG-TP)、および天然型肺サーファクタント (surfactant from natural source, Natural-S) の三者について、物理的 surface 活性を検討した。さらに、自己サーファクタントが欠如しているウサギ未熟胎仔と肺洗浄後の成熟ウサギに、これらのサーファクタントを投与して、肺胞安定化作用や血液ガス改善作用を比較し、TP の作用について若干の考察を加えた。

材料および方法

I. サーファクタントの調製

1. 合成肺サーファクタント (DPPC-PG および DPPC-PG-TP)

合成サーファクタントの調製に当たり、DPPC および PG (Sigma, St. Louis, USA) はそのまま、TP (和光、東京) はメタノールから再結晶して使用した。

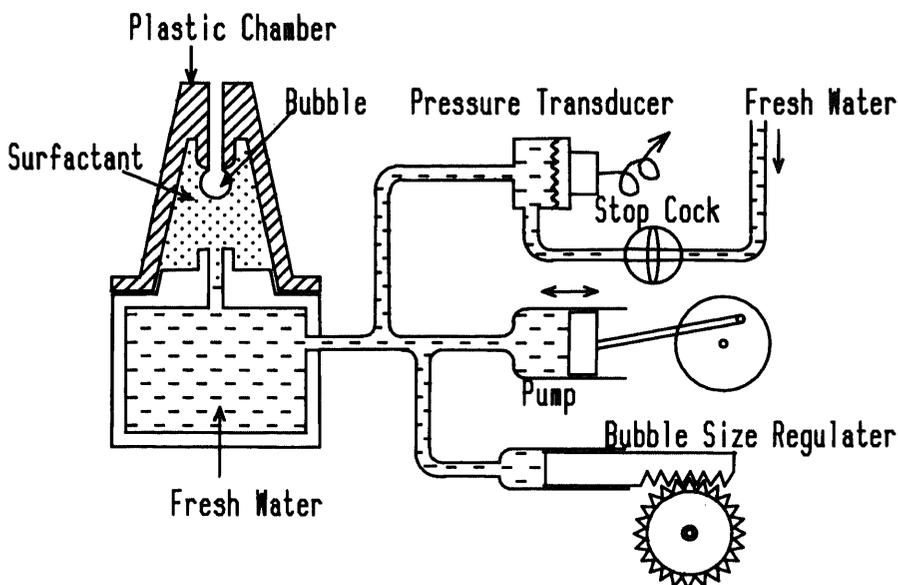


Fig. 1. Principle of pulsating bubble technique. After the plastic chamber was filled with surfactant suspension and warmed to 37°C, a bubble was created and pulsated by the pump between a maximum radius of 0.55 mm and minimum radius of 0.40 mm at the rate of 40/min. The maximum and minimum surface tensions were calculated from the pressure tracing after 10 min pulsation using the Laplace equation.

DPPC-PG はDPPC とPG を 70/30(w/w), DPPC-PG-TP はDPPC とPG とTP を65/25/10の比でクロロホルムに溶解後、減圧乾固して、蒸留水に分散させたうえ凍結乾燥して作成した。使用時には生理食塩水に分散させた。

2. 天然型肺サーファクタント (Natural-S)

Natural-S は、高田らの方法¹⁰⁾によりブタ肺胞洗浄液より作成した。すなわち、新鮮なブタの摘出肺に生理食塩水を注入して肺胞洗浄液を採取した。100×g, 10分間の遠心分離により細胞成分を除去した後、4°C, 2000×gで1時間遠心分離し、白色沈渣を得た。この沈渣をクロロホルム/メタノール(2/1, v/v)で抽出し、クロロホルム層をFolchらの方法¹¹⁾にしたがい、0.5%食塩水により洗浄、減圧乾固した後、少量のク

ロロホルムで再溶解し、中性脂質やコレステロールを除くために過量のアセトンを加え、表1に示すようなサーファクタント成分を沈殿させた。遠心分離により沈殿物を集め、減圧下で乾燥させた後、蒸留水に分散させ凍結乾燥した。使用時には生理食塩水に分散させた。

II. 物理的表面活性

各サーファクタントの物理的表面活性は、気泡型表面張力計¹²⁾(Model ASC, Surfactometer International, Canada)を用いて測定した。図1に気泡型表面張力計の模式図を示す。測定室(容量25μl)内に10mg/mlの濃度のサーファクタント分散液を入れ、その中に半径0.55mmの気泡を作成した。37°Cに加温したうえで、気泡の半径を0.40と0.55mmの間で、1分間40回

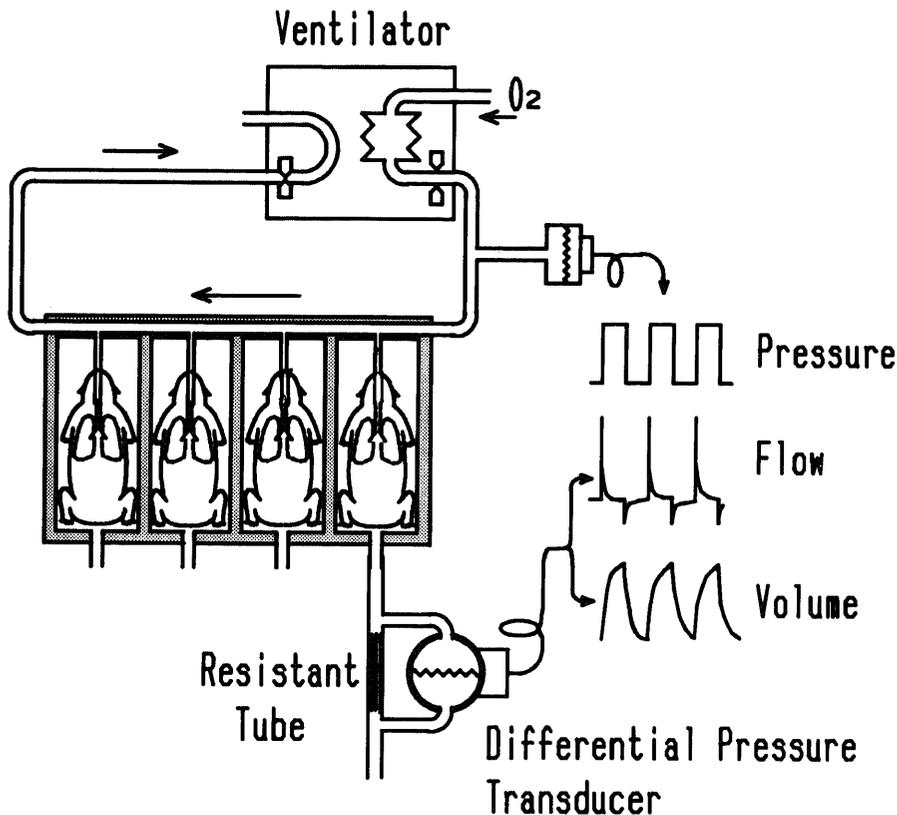


Fig.2. diagram of experimental set-up for immature newborn rabbits. The newborn rabbits, which were tracheostomized and treated with the test surfactants or not treated (control animals), were kept in airtight chambers (multiple plethysmographs). The animals were connected in parallel to respiration unit which was set at pressure preset mode ventilation. The tidal volume was calculated by integration of pressure difference across the resistant tube attached to the plethysmograph.

で拍動させた。10分間拍動させた後、気泡の収縮力(P)と半径(R)からLaplaceの式($P=2\gamma/R$)により表面張力(γ)を求めた。気泡の半径が最大時の表面張力を最大表面張力(γ_{max})、気泡の半径が最小時の表面張力を最小表面張力(γ_{min})、とした。また、気泡半径最大時にパルセーションを停止させ、気泡の収縮力が減少する速度から表面吸着速度を求めた。

III. 動物実験

1. ウサギ未熟胎仔

交配後26日18時から27日0時間の妊娠ウサギ(日本白色種、満期妊娠日数31日)6羽をベントバルビタール200mgの腹腔内投与により麻酔し、帝王切開により計54羽の未熟胎仔を娩出させた。体重を測定し、気管内に18ゲージ金属カニューレを挿入した後、同一母ウサギから得た胎仔を無作為に、対照として何も投与しない非投与群(n=9)、DPPC-PG群(n=19)、DPPC-PG-TP群(n=15)、およびNatural-S群(n=11)に分けた。DPPC-PG群、DPPC-PG-TP群、Natural-S群には、各々のサーファクタント分散液(50mg/ml)を100 μ l/headあて気管カニューレを介し

て肺内に注入した。なお、胎仔の体重は、非投与群が29.7 \pm 1.8g(mean \pm SE)、DPPC-PG群が29.5 \pm 1.0g、DPPC-PG-TP群が30.6 \pm 0.9g、Natural-S群が29.2 \pm 1.3gで、群間に有意差を認めなかった。

これらの操作が終了した後、胎仔を37 $^{\circ}$ Cに加温したプレチスモグラフ装置に收容した。同一母ウサギから得た全胎仔に対して、気管カニューレの挿入及びサーファクタントの投与が終了するまでの間、先に準備のできた胎仔は、一律5cmH₂Oの持続性気道陽圧(continuous positive airway pressure, CPAP)に設定したそれぞれのプレチスモグラフ装置の気密室内で自発呼吸にまかせて待機させた。

全胎仔の準備が終了した後、1羽あたり0.02mgの臭化バンクロニウムを腹腔内に投与して胎仔を非動化し、図2に示すように、人工呼吸器(Servo 900B, Siemens-Elema, Sweden)を用いて従圧式の間欠的陽圧呼吸(intermittent positive pressure breathing, IPPB)を開始した。吸気時気管内圧は人工呼吸器の作動圧を変えることによって調節した。呼吸回数を1分間40回、吸気と呼気の時間比を1:1とし、圧波形は

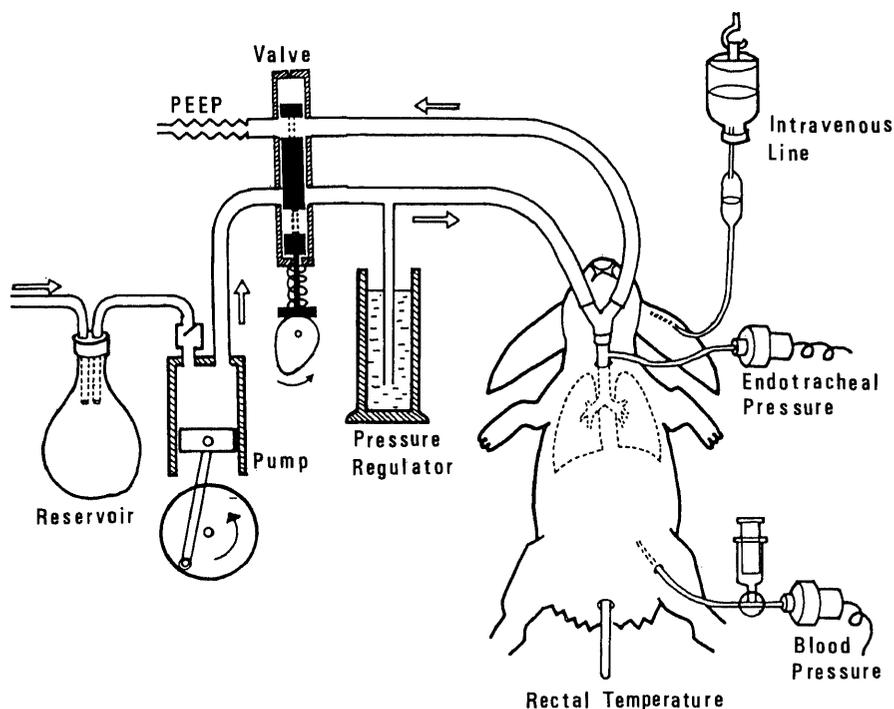


Fig. 3. Diagram of experimental set-up for lung-lavaged adult rabbits. Anesthetized adult rabbit were endotracheally intubated and mechanically ventilated by pressure preset mode with pure oxygen. Positive end-expiratory pressure (5 cmH₂O) was applied after the first lung-lavage.

矩形波になるように呼吸条件を設定した。吸気ガスには純酸素を用い、人工呼吸のガス駆出量の上限は同時に測定する全被検胎子の予測換気量の10倍以上 (7 l/min) に設定した。IPPB 開始後、最初の1分間は気道に注入したサーファクタントを肺胞に到達させる目的で、吸気時気管内圧を 35cmH₂O にした。その後は、吸気時気管内圧を 25, 20, 15, 10cmH₂O と順次変化させた。換気量の測定は、人工呼吸の条件を変更してから 4~5 分後に行った。

各胎子の換気量は、プレチスモグラフに接続した自家製の気流抵抗管の前後の差圧を差圧トランスデューサー (TP-602T, 日本光電, 東京) で検出し、呼吸用アンプ (AR-601G, 日本光電) と換気量ユニット (AQ-601G, 日本光電) を用いて電氣的に積分して求めた。

実験終了後、一部の胎子については Nilsson らの方法¹⁹⁾に従い、気道に 10cmH₂O の圧をかけながら肺動脈から 1% グルタルアルデヒドと 3.5% ホルマリンの混合溶液 (pH 7.4) を灌流させて、肺組織を固定し、ヘマトキシリン・エオジン染色後、鏡検した。

2. 肺洗浄成熟ウサギ

体重 2.7~3.5kg の成熟ウサギ (日本白色種) 29羽を使用した。ケタラル 30mg/kg と硫酸アトロピン 0.1mg の筋注により麻酔を導入したのち、ペントバルビタール 30mg/kg の静注による維持麻酔下に、気管切開孔より挿管した。ペントバルビタールは必要に応じて追加投与し、麻酔深度を一定に保った。筋弛緩薬 (臭化パンクロニウム 0.1mg/kg) を 1 時間毎に静注して非動化したうえ、図 3 に示すような圧制御方式の人工呼吸回路に接続した。人工呼吸器にはハーバード型レスピレーター (SN-480-3, シナノ製作所, 東京) を使用し、吸気ガスには実験の全経過を通じ 100% 酸素を用いた。呼吸条件は、吸気時気管内圧 20cmH₂O、呼吸回数を 1 分間 30 回、吸気と呼気の時間比を 1:1.5 に設定した。なお、気管内圧を持続的に測定できるよう

に気管内チューブに側孔を付け、圧トランスデューサーに接続した。血圧の監視と採血に使用するため大腿動脈にカニューレを留置し、さらに輸液と薬物投与のために耳静脈にもカニューレを留置した。また、直腸温を測定し、適宜電気毛布を用いて 37°C 前後に体温を保持した。

上記の呼吸条件下で動脈血採血を行い、肺洗浄前の動脈血酸素分圧 (PaO₂)、動脈血二酸化炭素分圧 (PaCO₂)、pH などを血液ガス自動分析装置 (ABL2, Radiometer, Copenhagen, Denmark) により測定した。また、同時に胸郭と肺を含めた全コンプライアンスの測定も行った。全コンプライアンスは Kobayashi らの方法²⁰⁾に準じ、筋弛緩薬で非動化した動物の肺に機能的残気量レベルから 50ml の空気を注入して肺胞をいったん拡張させたのち、注入空気の半量 (25ml) を排除して 5 秒間保持したときの気道内圧から、以下の式により計算した。

$$\text{全コンプライアンス} = \frac{25\text{ml}}{\text{気管内圧 (cmH}_2\text{O)}}$$

なお、このコンプライアンスの推移は、肺洗浄前の値を 100 としたときの百分率で示した。

続いて、肺サーファクタントを欠如させるための肺洗浄を 3 回行った。第 1 回目の肺洗浄には、非イオン性界面活性剤である polyoxyethylene (20) sorbitanmonolaurate (Tween 20) が 2% 含まれている生理食塩水を用いた。すなわち、37°C にあたためたこの洗浄液を 25ml/kg あて気道内に注入し、注入終了と同時に排液を開始した。第 1 回目の肺洗浄以降は、人工呼吸回路の呼気側に狭窄部を設け、5cmH₂O の終末呼気陽圧 (positive end-expiratory pressure, PEEP) を付加した。Tween 20 を用いた第 1 回目の肺洗浄の 10 分後および 20 分後に、生理食塩水のみを用いた第 2 回目と第 3 回目の肺洗浄を同じ要領で行った。なお、1 回

Table 2. Surface properties of surfactants measured by pulsating bubble technique

Surfactant	γ min (mN/m)	γ max (mN/m)
DPPC-PG (n=5)	20.4±0.5*	59.9±2.0*
DPPC-PG-TP (n=8)	0.8±0.3	57.0±1.2*
Natural-S (n=6)	1.6±0.2	30.7±0.5

DPPC, dipalmitoylphosphatidylcholine; PG, phosphatidylglycerol; TP, tripalmitin; Natural-S, surfactant from natural source; n, number of measurements. Values are means ± SE. * Significantly different from Natural-S by one-way ANOVA followed by Sheffé's multiple comparison (P<0.05).

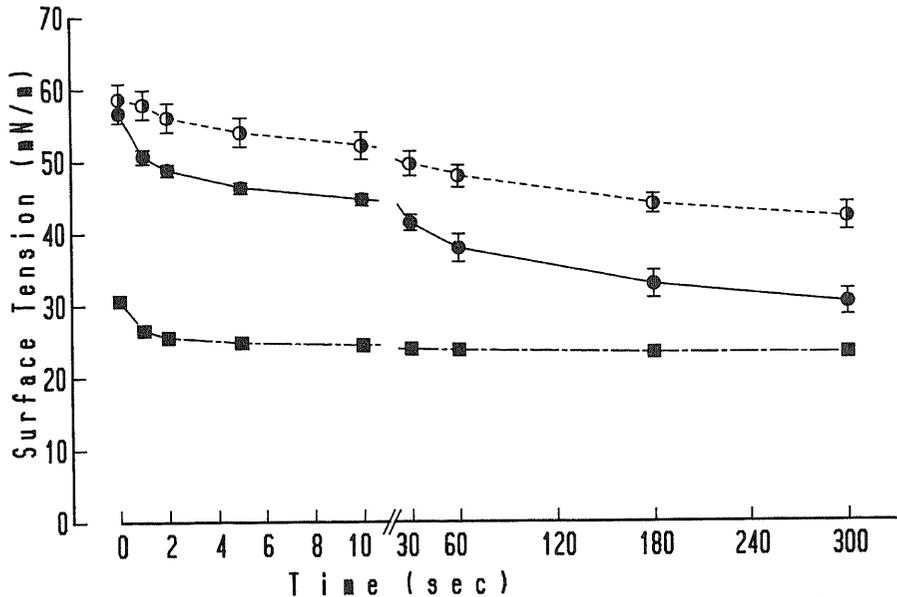


Fig. 4. Surface tension change after cessation of bubble pulsation at the maximum diameter. Values are means \pm SE. DPPC, dipalmitoylphosphatidylcholine; PG, phosphatidylglycerol; TP, tripalmitin; NaturalS, surfactant from natural source. \circ , DPPC-PG (n=5); \bullet , DPPC-PG-TP (n=8); \blacksquare Natural-S (n=6).

の洗浄操作には約45秒間を要し、この間動物は無呼吸状態におかれたが、洗浄操作中に死亡した動物はなかった。3回目の肺洗浄終了から7分後に、動脈血ガス分析を行った。次いで、利尿薬（フロセミド20mg）を筋注射し、動物を無作為に非投与群（n=10）、DPPC-PG群（n=8）およびDPPC-PG-TP群（n=11）に分けた。DPPC-PG-TP群には、肺洗浄終了の8分後に、各々の合成サーファクタント分散液（30mg/ml）を6ml/head あて経気道的に投与した。投与に際しては、左側臥位に続いて右側臥位というように体位を変えてそれぞれ3mlずつを注入し、左右の肺に均等にサーファクタントが注入されるように配慮した。また、注入直後にはAMBU bagによる用手強制呼吸（加圧時気管内圧30~35cmH₂O、1分間40回）を約40秒間施し、合成肺サーファクタントが肺胞末端までいきわたるようにした。非投与群のウサギに対しては気道内に何も注入しなかったが、体位の変換とAMBU bagによる用手強制呼吸は他の2群と同様に行った。

注入操作終了の30分後より、1時間毎に、血液ガスと全コンプライアンスを6時間にわたって測定した。測定終了後、過量のペントバルビタールを静注して動物を屠殺し、肺を摘出して重量を測定した。

IV. 統計処理

測定結果は mean \pm SE で表し、群間の有意差判定

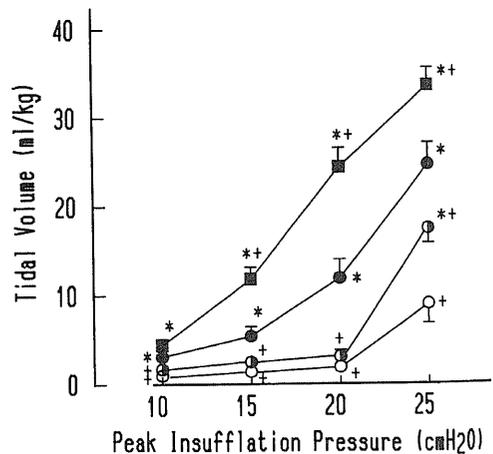


Fig. 5. Tidal volumes at various insufflation pressures of immature newborn rabbits. Values are means \pm SE. DPPC, dipalmitoylphosphatidylcholine; PG, phosphatidylglycerol; TP, tripalmitin; Natural-S, surfactant from natural source. \circ , non-treated group (n=9); \bullet , DPPC-PG group (n=19); \bullet , DPPC-PG-TP group (n=15); \blacksquare , Natural-S group (n=11). Statistical analysis was performed using one-way ANOVA followed by Sheffé's multiple comparison. * Significantly different from the non-treated group ($P < 0.05$). + Significantly different from the DPPC-PG-TP group ($P < 0.05$).

には一元分散分析を行ったうえ、Scheffé 法による多重比較テストを行い、 $P < 0.05$ を有意差とした。

成 績

I. 物理的表面活性

表2に気泡型表面張力計を用いて測定した γ min及び γ maxを示した。DPPC-PGの γ minは20mN/m前後であるのに対し、DPPC-PG-TPおよびNatural-Sの値は5mN/m以下であった。DPPC-PGとDPPC-PG-TPの γ maxは共に55mN/m以上であるのに対し、Natural-Sは約30mN/mと有意に低い値を示した。

最大半径で気泡の拍動を停止した後の表面張力の経時変化を図4に示した。DPPC-PGは、表面張力の低下が遅く、5分後の値は 42.2 ± 1.9 mN/mと高い値であった。DPPC-PG-TPの表面張力は、拍動停止後、5秒間で 56.7 ± 1.3 mN/mから 46.4 ± 0.7 mN/mに急速に低下した。その後も徐々に表面張力は低下し、5分後には約30mN/mに達した。Natural-Sの表面張

力は5秒以内に約25mN/mに達し、その後はほぼ一定の値を示した。

II. ウサギ未熟胎仔に対する効果

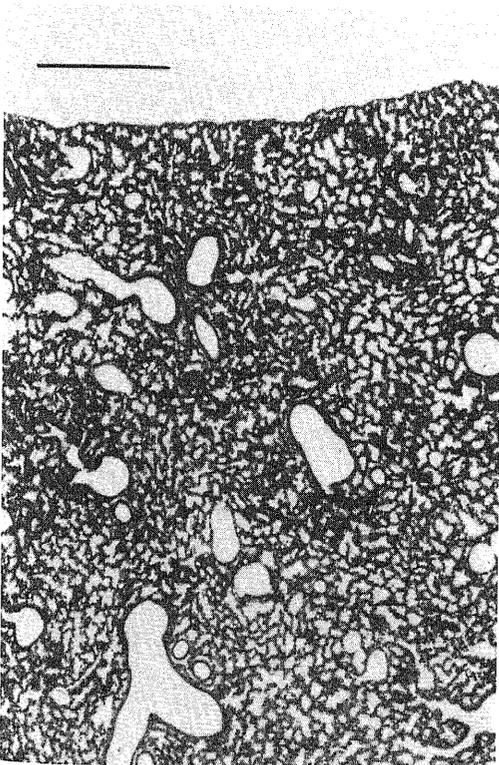
1. 換気量

図5に各群の換気量を示した。非投与群では25cmH₂Oの高い吸気時気管内圧の場合のみ 9.0 ± 2.3 ml/kgの換気量が得られたが、20cmH₂O以下の圧では2ml/kg以下の換気量しか得られなかった。DPPC-PG群は、25cmH₂Oで非投与群より有意に大きい換気量が得られたが、20cmH₂O以下では非投与群との間に差がみられなかった。一方、DPPC-PG-TP群は、全ての気道内圧で非投与群およびDPPC-PG群より有意に大きい換気量を示した。しかも、20cmH₂Oでも、 11.9 ± 2.2 ml/kgと生存に必要な換気量を得ることができた。Natural-S群の換気量はさらに大きく、15cmH₂O以上の吸気時気管内圧ではDPPC-PG-TP群との間に有意差を示した。

2. 肺組織像

図6に各群の代表的肺組織像を示した。非投与群で

Non-treated



DPPC-PG

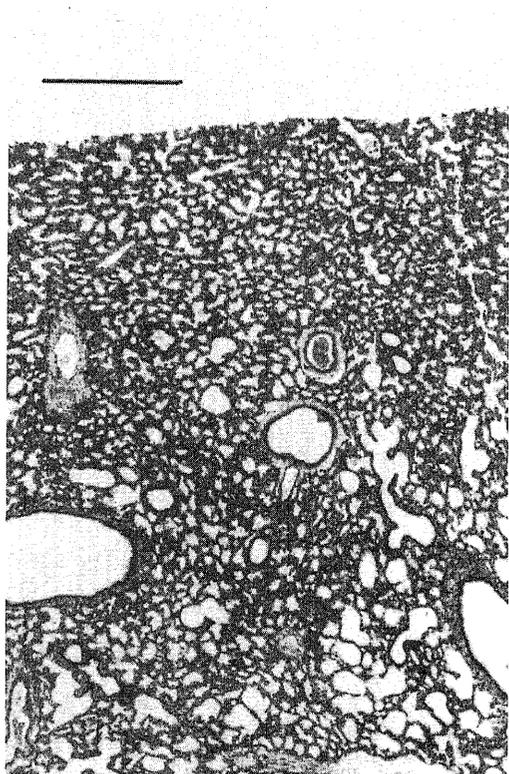


Fig. 6

は、肺胞内腔が殆ど存在せず、無気肺の状態を呈していた。DPPC-PG 群でも、非投与群と同様、肺胞内腔は殆ど存在しなかった。DPPC-PG-TP 群では、内腔を認める肺胞も多く存在するが無気肺の部分も散在しており、不均一な拡張を示していた。Natural-S 群は、全肺胞が均等に内腔を保っていた。

III. 肺洗浄成熟ウサギ

1. 肺洗浄液の回収率

肺洗浄液の回収率は、初回が最も低く $84 \pm 1\%$ であったが、2回目と3回目は $95 \pm 1\%$ であった。肺内に残留した洗浄液の合計は1羽あたり $21 \pm 1.2\text{ml}$ であった。

2. 動脈血酸素分圧 (PaO_2)

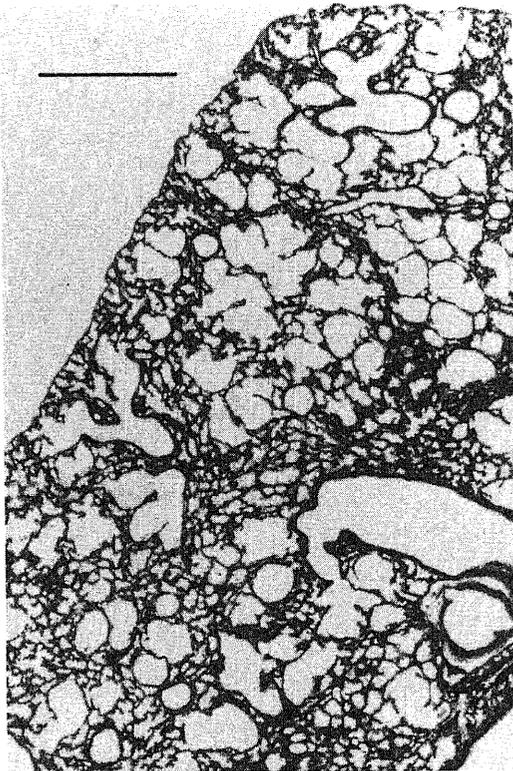
図7に PaO_2 の経時変化を示した。肺洗浄前に約 600 Torr であった PaO_2 は、肺洗浄により純酸素で人工呼吸を行っているにもかかわらず $51 \pm 4\text{ Torr}$ に低下した。肺洗浄前および5分後の PaO_2 は、3群間に有意差がなかった。非投与群の PaO_2 は、6時間半にわたって、平均値が 100 Torr を越えることは一度も

なかった。DPPC-PG 群の PaO_2 は、投与4時間半まで非投与群との間に有意差を示さなかった。しかし、3~4時間目から徐々に改善傾向を示し、投与6時間半後の PaO_2 は $358 \pm 61\text{ Torr}$ にまで達し、非投与群より有意に高い値となった。一方、DPPC-PG-TP 群では、投与直後に暗紫色だった目が浅紅色に変化し、血液酸素化の改善がうかがえた。投与30分後の PaO_2 は、 $460 \pm 30\text{ Torr}$ にまで上昇し、実験終了まで 400 Torr 以上の平均値を維持した。

3. 動脈血二酸化炭素分圧 (PaCO_2)

PaCO_2 の経時変化を図8に示した。肺洗浄前の PaCO_2 は $16.4 \pm 0.7\text{ Torr}$ と過換気状態であった。また、肺洗浄5分後は、 $39.4 \pm 2.3\text{ Torr}$ であった。肺洗浄前および5分後の PaCO_2 は、3群間に有意差がなかった。非投与群の PaCO_2 は、洗浄後漸時上昇し、3時間半後に $78.1 \pm 43.0\text{ Torr}$ に到達し、その後実験終了までこのレベルを継続した。DPPC-PG 群の PaCO_2 は、投与後4時間半まで非投与群と同様の推移を示したが、以後は低下する傾向を示した。一方、

DPPC-PG-TP



Natural-S

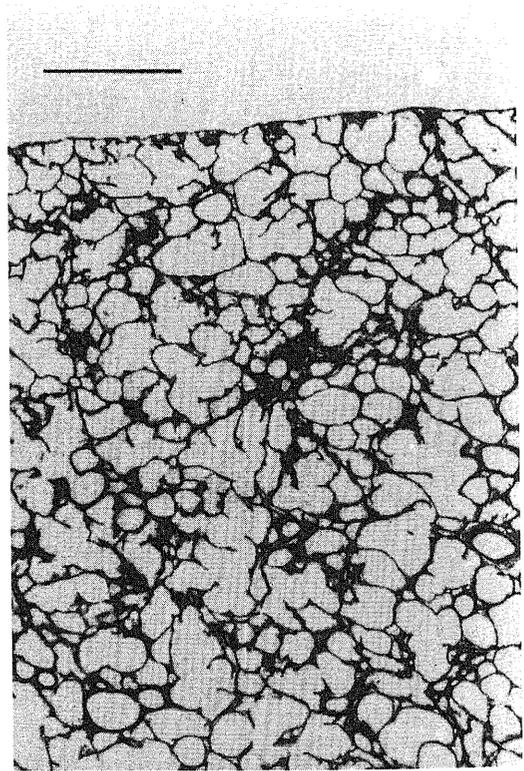


Fig. 6. Lungs of surfactant treated and non-treated immature newborn rabbits. Hematoxyline-eosin stain. Bars indicate $500\ \mu\text{m}$.

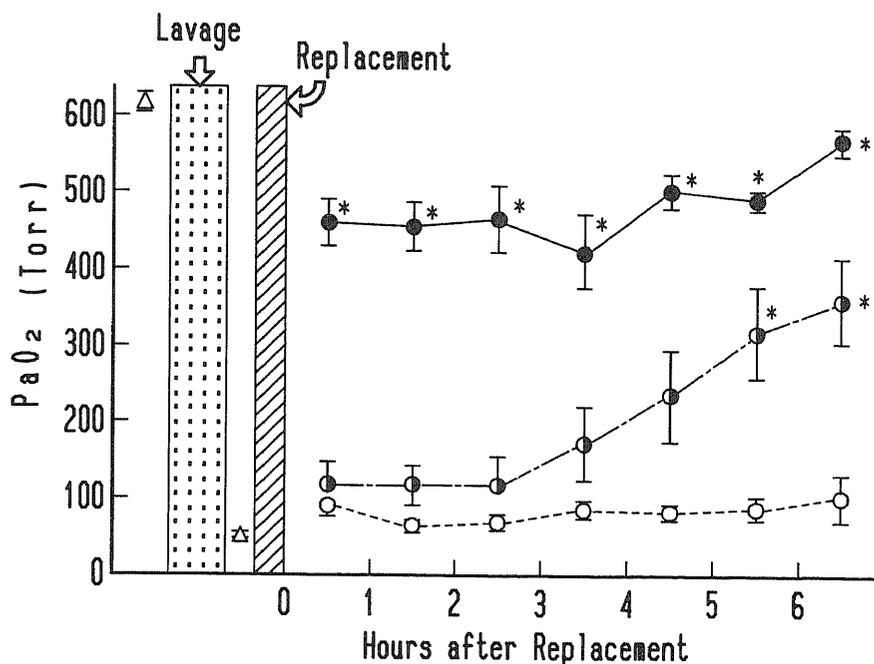


Fig. 7. PaO₂ of lung-lavaged rabbits. Values are means±SE. DPPC, dipalmitoylphosphatidylcholine; PG, phosphatidylglycerol; TP, tripalmitin. Δ, all animals (n=29); ○, non-treated group (n=10); ◐, DPPC-PG group (n=8); ●, DPPC-PG-TP group (n=11). *Significantly different from the non-treated group by one-way ANOVA followed by Sheffé's multiple comparison (P<0.05).

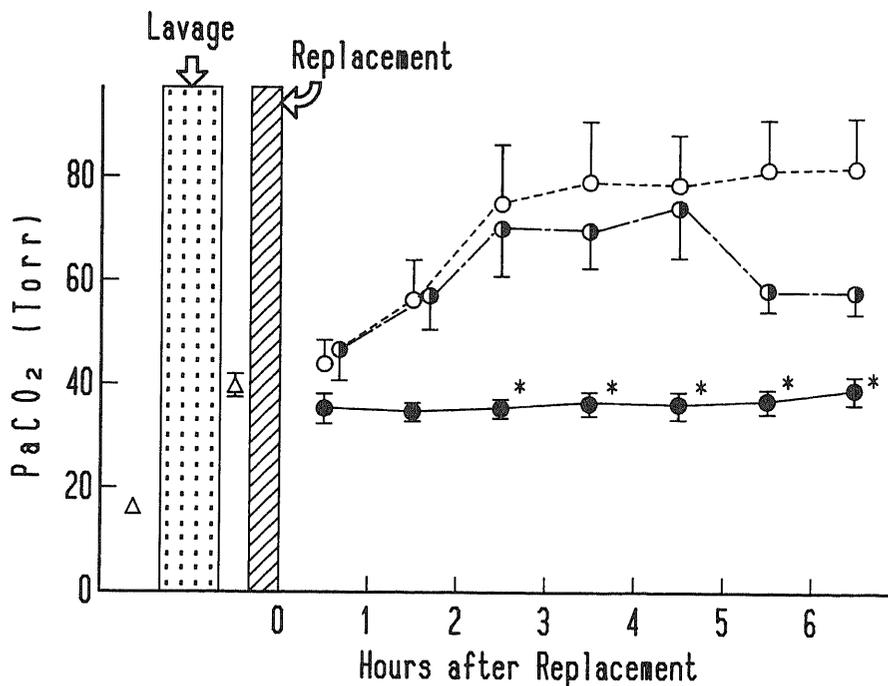


Fig. 8. PaCO₂ of lung-lavaged rabbits (means±SE). Symbols and numbers of animals are same as Fig. 7.

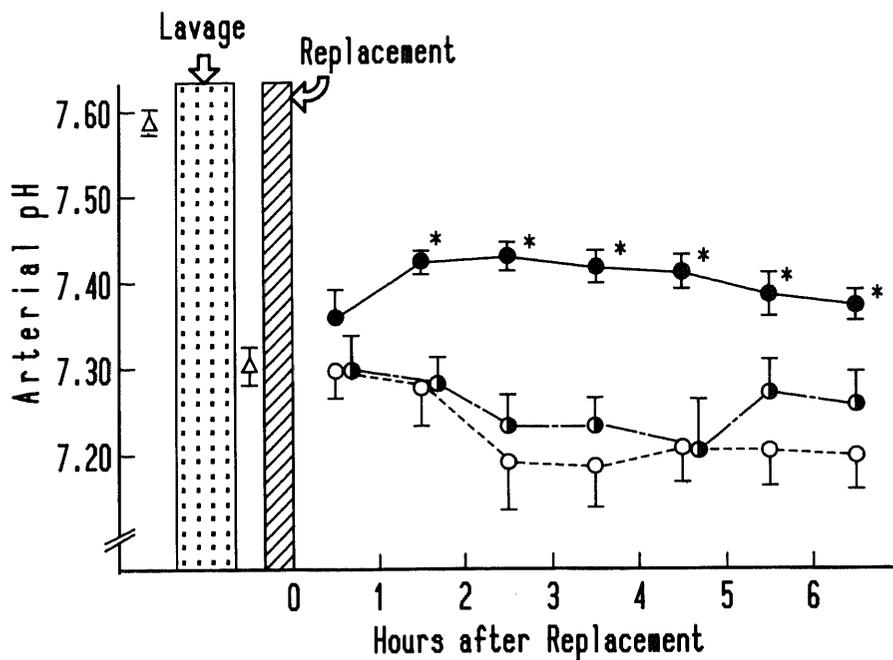


Fig. 9. Arterial pH of lung-lavaged rabbits (means \pm SE). Symbols and numbers of animals are same as Fig. 7.

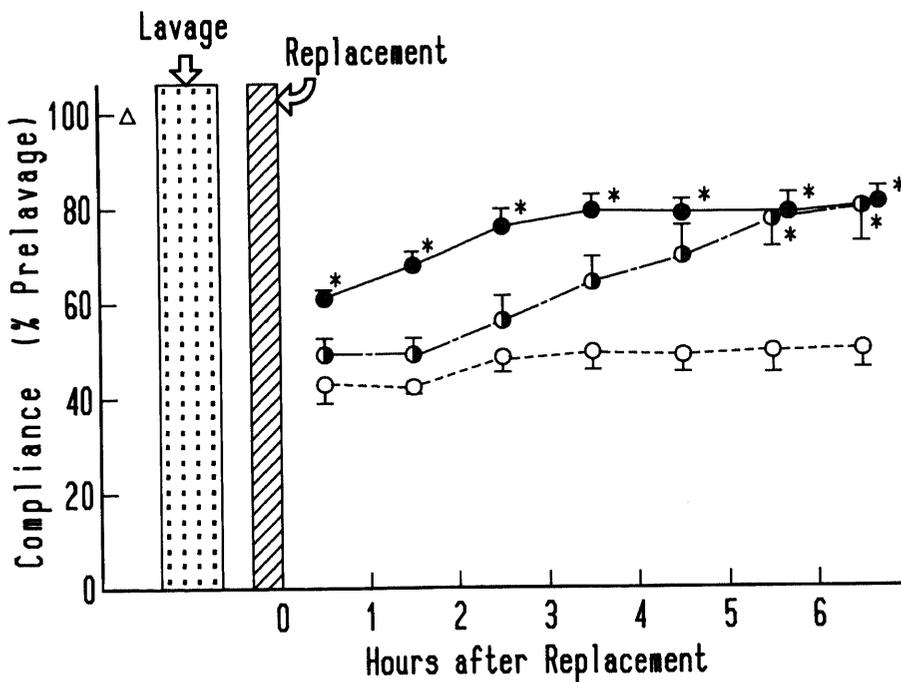


Fig. 10. Lung-thorax compliance of lung-lavaged rabbits (means \pm SE) expressed as a percentage of the prelavage value. Symbols and numbers of animals are same as Fig. 7.

Table 3. Weight of body and excised lungs

Group	n	Body Weight (kg)	Lung Weight (g)
Non-treated	10	3.1±0.1	22.6±1.1
DPPC-PG	8	3.0±0.1	17.2±0.6*
DPPC-PG-TP	11	3.1±0.1	15.7±0.3*

Values are means ± SE. * Significantly different from the non-treated group by one-way ANOVA followed by Sheffé's multiple comparison ($p < 0.05$).

DPPC-PG-TP 群は、平均 35.5~39.2 Torr の PaCO₂ を実験終了まで維持し、投与 2 時間半以降には非投与群との間に有意差を示した。

4. 動脈血 pH

動脈血 pH の変化を図 9 に示した。肺洗浄前が 7.57 ± 0.02、肺洗浄 5 分後が 7.30 ± 0.02 で、3 群間に有意差はなかった。非投与群と DPPC-PG 群の pH は、時間の経過とともにさらに低下する傾向を示した。一方、DPPC-PG-TP 群の平均値は実験終了まで 7.36~7.43 とほぼ正常値を維持した。

5. 全コンプライアンス

図 10 に全コンプライアンスの変化を示した。非投与群のコンプライアンスは、肺洗浄 30 分後の値が肺洗浄前の 43 ± 4 % にまで低下した。その後徐々に回復する傾向を示したが、肺洗浄前の 55 % 以上に復しなかった。DPPC-PG 群は、投与後約 3 時間は非投与群に近い値を示していた。しかし、その後回復し、投与 5 時間半後と 6 時間半後のコンプライアンスは、非投与群より有意に高い値となった。一方、DPPC-PG-TP 群のコンプライアンスは、投与 30 分後に肺洗浄前の 61%、実験終了時に 81% まで回復し、全経過を通じて非投与群より有意に高い値を示した。

6. 体重および肺重量

動物の体重は 3 群間に差がなかった。実験終了後の摘出肺の重量は、表 3 に示すように、非投与群が他の 2 群より有意に大きい値を示した。なお、DPPC-PG 群と DPPC-PG-TP 群の間には有意差が認められなかった。

考 察

肺サーファクタントは、肺胞表面をおおう液体の層(肺胞被服層)の空気との界面に単分子膜を形成して表面張力を低下させ、肺胞の収縮力や血管から液体を引き出す力を弱めている。したがって、肺サーファクタントの欠乏や活性の低下は、コンプライアンスの低下に基づく無気肺や肺水腫を招く。このような病態を

改善するには、活性の高いサーファクタントを経気道的に補充する方法が最も合理的であると考えられる。事実、サーファクタント補充療法は、新生児の RDS に対する治療法として実用化され定着しつつある。

また、サーファクタント補充療法は、adult respiratory distress syndrome (ARDS) を初めとする各種成人の肺疾患にも適用し得ると考えられる。Ganzuka ら²¹⁾は、ウサギを用いて塩酸の気道内投与による ARDS 様の呼吸不全モデルを作成し、これに対してサーファクタント補充療法が有効であったと報告している。さらに、肺胞タンパク症、気道内への異物の吸引、重症気管支喘息などの治療として行われている肺洗浄後のサーファクタント欠如状態²²⁾に対し、サーファクタント補充療法が応用できる可能性もある。

実験結果の考察に先立ち、活性の判定に用いた各種の評価方法を検討しておく必要があろう。物理的表面活性の測定に用いた気泡型表面張力計は、肺サーファクタントの活性測定用に考案されたものであり、装置内に作成された気泡を肺胞とみなしている。したがって、 γ_{min} は呼気時の肺胞の表面張力に相当し、その値が大きいと肺胞の収縮力が強く、無気肺が形成されやすいことを示すと考えられている。今回の実験では、気泡の半径が最大になった時点で拍動を止め、その後の表面張力の推移を表面吸着速度とみなした。これは、肺胞が伸展してサーファクタント分子の密度が粗になった肺胞被服層の表面に、サーファクタントの分子が肺胞被服層内部から吸着する速度を反映するものと考えられる。したがって、サーファクタントの活性は、この表面吸着速度が呼吸速度に見合った速さでないと発揮されない。なお、 γ_{max} は、吸気時の肺胞の表面張力に相当し、肺胞の拡張と表面吸着速度とのバランスで決まると考えられる。

肺サーファクタントの活性を、物理的表面活性でのみ判定するのは不十分である。生理活性の評価系として用いた在胎 27 日未満のウサギ未熟胎仔は、肺サーファクタントが欠如しており、RDS の実験モデルと

して知られている²⁴⁾。今回の実験でも、非投与群の換気量は極めて小さく、鏡検上肺胞内腔は存在しなかった。したがって、ウサギ未熟胎仔の肺内に各種の試料を投与した際の換気量や肺組織所見は、サーファクタントとしての生理活性を反映するものと考えられる。このように、ウサギ未熟胎仔はRDSの動物モデルとして優れているが、長時間にわたって観察ができないこと、肺機能の重要な指標となる動脈血ガス所見の測定ができないことなどの欠点がある。

成熟動物を用い、肺洗浄を行ってサーファクタントを洗いだしてしまえば、未熟動物胎仔と同様、サーファクタント欠如モデルが作成でき、上記の欠点を補う評価系となる可能性がある。このためには、生理食塩水により5~10回の全肺洗浄を行うという方法がある²⁵⁻²⁷⁾。しかし、成熟ウサギを使用した予備の実験では、若干の問題点がみられた。すなわち、生理食塩水だけの肺洗浄では、水に不溶性のサーファクタント成分を十分に洗い出すことが難しいこと、繰り返しの肺洗浄は肺出血をもたらす可能性があることなどである。非イオン型界面活性剤 polyoxyethylene (20) sorbitanmonolaurate (Tween20) は、水に不溶性のサーファクタント成分を洗い出すのに有効であると同時に、肺胞内に残存するサーファクタントを不活性化すると考えられる²⁸⁻³⁰⁾。そこで、今回は、第1回目の肺洗浄は Tween20 を2%含む生理食塩水で行い、その後は生理食塩水のみによる肺洗浄を2回行った。その結果、肺洗浄後の肺出血は認められず、非投与群では6時間半にわたって肺機能がほとんど回復しないという、長時間にわたるサーファクタント欠如状態が作成できた。

なお、肺洗浄成熟ウサギの実験には、全例に5cmH₂OのPEEPを併用した。PEEPは、呼気終末時の気管内圧を陽圧に保つ人工呼吸法であり、機能的残気量の増加、虚脱肺胞への換気の再開、肺血流の再分布、細気管支閉塞の防止、シャントの減少、肺浮腫の軽減などをもたらすとされている³¹⁾。したがって、RDSやARDSなど、サーファクタントの低機能状態や欠如状態の呼吸管理にはPEEPが有効と考えられる。しかし、PEEPで肺機能が回復するようなモデルでは、サーファクタントの評価系にはなり得ない。また、Kobayashiら³²⁾は、肺洗浄ウサギに対しPEEPとサーファクタント投与の両者を併用することにより、初めてほぼ正常な肺機能の維持と長時間の生存が可能になったと報告しており、肺洗浄動物をサーファクタントの評価系に使用する場合、PEEPの併用を推奨している。

次に合成肺サーファクタントの組成と活性の関係を考察する。まず、天然型の肺サーファクタントについては、DPPC(リン脂質の一種)がその主成分であるとされている。リン脂質は、リン酸基を含む親水性部分と炭化水素鎖の疎水性部分を分子内に持ち、空気と水の界面(気液界面)で炭化水素鎖を気相に向け排列すると表面張力を下げる。DPPCの気液界面での単分子膜は、面積収縮時に水分子を介しない状態で規則正しく排列し、表面張力を0mN/m近くまで低下させる作用を持つと言われている³³⁾。今回の実験で、未熟胎仔の換気量と組織像を最も良く改善したNatural-Sは、DPPCを多く含有し、2mN/m以下の γ minを示した。しかし、純粋なDPPCは、相転移温度が41°Cであり、これより低い温度では結晶状態にあるため、水相に浮遊させても気液界面に排列することができない³³⁾。したがって、DPPCがサーファクタントとしての機能を発現するためには、相転移温度を体温(37°C)より低くしなければならぬ。

DPPCにPG(リン脂質の一種)が添加されると相転移温度が下がり、37°Cでも流動性をもった液晶状態になる。Morleyら³⁴⁾は、DPPCとPGを混合したものが肺サーファクタントとしての活性を示すであろうと想定し、それをRDSの患児に投与したところ、死亡率が低下したと報告している。しかし、その臨床成績を疑問視するむきも少なくない^{35,36)}。DPPC-PGは、Morleyらと同じく2種類のリン脂質を組み合わせたものである。今回の実験では、DPPC-PGは20mN/m前後の γ minを示し、吸気時気管内圧が20cmH₂O以下ではウサギ未熟胎仔の換気量を発現させなかった。また、肺洗浄成熟ウサギにおいても、投与後数時間は呼吸機能を改善しなかった。

肺サーファクタントとしての生理活性を示す物質は、 γ minが5mN/m以下を示す必要がある。このことは、呼気時(気泡型表面張力計では気泡収縮時)にも、十分量のDPPCが気液界面に存在する必要があることを示している。また、吸気時には気液界面にすばやく再吸着する性質を有する必要があると考えられる。Natural-Sに比べ、DPPC-PGの γ minは高く、表面吸着速度は明らかに遅いものであった。したがって、DPPCとPGの混合物を生理食塩水に分散させた場合、相転移温度の問題は解決されたとしても、DPPCは気液界面にとどまりにくいことが推定される。また、安定なリポソームを形成してしまうために、気液界面に排列するのに要する時間が長くなり、呼吸の1サイクル内に単分子膜が形成されないことが推定される。

TP は、炭素数16の直鎖飽和アシル基を3個有したグリセリドで、その疎水性は DPPC や PG より強い。したがって、TP には DPPC や PG が気液界面から液相内部へと移行するのを阻止し、さらにリン脂質が形成するリポソーム中に入り込んでその安定性を減弱させる作用があると推定される。事実、DPPC-PG に TP を加えたもの (DPPC-PG-TP) の γ min は 1mN/m 以下であった。また、DPPC-PG-TP の表面吸着速度は、DPPC-PG に比べて明らかに速かった。

肺で適切なガス交換が行われるためには、1回換気量として少なくとも 7~8ml/kg が必要とされている³⁹。しかし、この換気量を得るために人工呼吸中の吸気時気管内圧を無闇に上昇させれば、肺組織の損傷、循環障害、気胸などを発生させる。新生児では、30cmH₂O 以上の吸気時気管内圧で長時間人工呼吸を行うと、肺組織の損傷が必発とされている³⁹。今回のウサギ未熟胎仔の実験で、非投与と DPPC-PG 群で 7ml/kg 以上の換気量を得るためには、25cmH₂O の吸気時気管内圧を必要とした。一方、DPPC-PG-TP 群では、20cmH₂O の気管内圧でも必要な換気量を得ることができた。また、組織像からみた肺胞の伸展度も、DPPC-PG-TP 群は DPPC-PG 群よりも良好な所見を示していた。しかし、Natural-S 群に比べた場合、これらのポイントは若干劣っていた。

さらに、肺洗浄を施行した成熟ウサギによる評価では、PaO₂、PaCO₂、動脈血の pH、コンプライアンスなどは、いずれも DPPC-PG-TP 群の所見が、非投与群や DPPC-PG 群に比べて優れていた。DPPC-PG 群でも、時間の経過と共に各種の所見は好転する傾向を示したが、少なくとも速効性という面では TP の添加が有効であった。したがって、DPPC と PG の混合物、およびそれに TP を加えた際の表面活性に対する推定は、動物実験でもある程度裏付けされたものと考えられる。

しかし、今回試調製した DPPC-PG-TP の生理活性および表面吸着速度は Natural-S に比べて劣っており、 γ max も高い値を示した。

Natural-S は、小林ら⁷が臨床効果を報告している Surfactanto-CK とほぼ同様の方法で調製したブタ肺洗浄液由来のものであり、優秀な生理活性を示した。このサーファクタントは、表 1 に示したように DPPC や PG などのリン脂質のほか、若干の脂肪酸、中性脂質および 1%前後のタンパクを含んでいる。

この Natural-S 中に含まれているタンパク質は、分子量が 16kDa 以下で、ロイシンやバリンなどの疎水性アミノ酸に富んでいる³⁷⁻³⁹。このタンパク質にはリン

脂質の表面吸着速度を速める作用があると言われており、このタンパクと合成脂質を混合した再構成肺サーファクタントを作成する試みも開始されている³⁷⁻⁴⁰。しかし、この再構成サーファクタントが、天然のものと同等の生理活性を示したという報告は今のところ見あたらない。

異種タンパクを含まない人工 (合成) 肺サーファクタントを作成するには、ヒトの肺サーファクタントを遺伝子工学や細胞工学の技術を駆使して作成するという方法が考えられる。しかし、この方法は現在まだ実現しておらず、今後多くの基礎研究を必要とする。別の方法としては、今回試みたように、DPPC の相転移温度を低下させ、かつ疎水性を強め、表面吸着速度を速める物質を添加するという方法が考えられる。今回試作した DPPC-PG-TP は、合成サーファクタントの開発に一つの方向を示唆するものであり、基礎試料を提供するものと考えられる。

結 論

DPPC と PG のみからなるリン脂質混合物 (DPPC-PG, 70/30) と、それに中性脂質である TP を加えたもの (DPPC-PG-TP, 65/25/10) を調製し、その物理的・表面活性および肺サーファクタントとしての生理活性を、ブタ肺から抽出した天然肺サーファクタント (Natural-S) と比較し、次の結論を得た。

1. DPPC と PG のみからなるリン脂質混合物は、強い物理的・表面活性を示さない。また、自己のサーファクタントが欠如しているウサギ未熟胎仔や肺洗浄後の成熟ウサギの肺内に投与しても、生理活性をほとんど示さない。

2. DPPC と PG の混合物に TP を加えると、最小表面張力が低下し、気液界面への吸着速度が増すという現象がみられ、物理的・表面活性が増大する。

3. DPPC と PG に TP を加えると、肺サーファクタントとしての生理活性が出現し、ウサギ未熟胎仔や肺洗浄後の成熟ウサギに投与した場合、肺機能を著明に好転させる。

4. DPPC と PG の混合物に TP を添加したものの生理活性は、Natural-S に比較して若干劣る。しかし、タンパク質を含まない合成肺サーファクタントの開発に、一つの方向を示唆するものである。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲をいただいた村上誠一教授に深く感謝いたします。また終始、直接御指導いただいた小林勉助教授に深く感謝いたします。また本研究遂行に

当たりご協力いただきました。麻酔学教室の諸先生方ならびに故吉田恒正氏および帝人株式会社生物医学研究所の皆様に対し、厚く御礼申し上げます。なお、本研究の一部は、文部省化学研究費(課題番号58480320)および日本医師会研究助成費(昭和63年度)の補助によったことを付記し、謝意を表します。

文 献

- 1) 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 (Surfactanto 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).
- 2) **Barggren, P., Grossmann, G., Nilon, R., Tollbom, O., Thnell, S. & Robertson, B.**: A protein free physiologically active preparation of natural lung surfactant. *IRCS Med. Sci. Biochem.*, **9**, 283 (1981).
- 3) **Enhörning, G., Shennan, A., Possmyer, F., Dunn, M., Chen, C. P. & Milligan, J.**: Prevention of neonatal respiratory distress syndrome by tracheal instillation of surfactant: a randomized clinical trial. *Pediatrics*, **76**, 145-153 (1985).
- 4) **Kwong, M. S., Egan, E. A., Notter, R. H. & Shapiro, D. L.**: Double-blind, randomized trial of calf lung surfactant extract administration at birth to very premature infants for prevention of hyaline membrane disease in extremely premature infants. *Pediatrics*, **76**, 585-592 (1985).
- 5) **Fujiwara, T., Maeda, H., Chida, S., Morita, T., Watabe, Y. & Abe, T.**: Artificial surfactant therapy in hyaline-membrane-disease. *Lancet*, **1**, 55-59 (1980).
- 6) **Fujiwara, T.**: Surfactant replacement in neonatal RDS. in B. Robertson, L. M. G. Van Golde & J. J. Batenburg (eds.), *Pulmonary Surfactant*, 1st ed., p479-503, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1984.
- 7) **Hallman, M., Merritt, T. A., Jarbenpaa, A.-L., Boynton, B., Mannino, F., Gluck, L., Moore, T. & Edwards, d.**: Exogenous human surfactant for treatment of severe respiratory distress syndrome: a randomized prospective clinical trial. *J. Pediatr.*, **106**, 923-969 (1985).
- 8) **Morley, C. J., Miller, N. & Bangham, A. D.**: Dry artificial lung surfactant and its effect on very premature babies. *Lancet*, **1**, 64-68 (1981).
- 9) **Grossmann, G., Larsson, I., Nilsson, R., Robertson, B., Rydgh, L. & Stenius, P.**: Lung expansion in premature newborn rabbits treated with emulsified synthetic surfactant; principles for experimental evaluation of synthetic substituent for pulmonary surfactant. *Respiration*, **45**, 327-338 (1984).
- 10) **Obladen, M., Kampanann, W., Zimmermann, I. & Lachmann, B.**: Artificial surfactant in preterm rabbits with and without respiratory distress syndrome: difference of in vitro and in vivo activities. *Eur. J. Pediatr.*, **144**, 195-199 (1985).
- 11) **Durand, D. J., Clyman, R. I., Heymann, M. A., Clements, J. A., Maurat, F., Kittermann, J. & Ballaard, P.**: Effects of a protein free, synthetic surfactant on survival and pulmonary function in preterm lambs. *J. Pediatr.*, **107**, 775-780 (1985).
- 12) **Robillard, E., Alarie, Y., Dagenais-Perusse, P., Baril, E. & Builbeault, A.**: Microaerosol administration of synthetic beta-gamma-dipalmitoyl-L-alpha-lecithin in the respiratory distress syndrome: a preliminary report. *Can. Med. Ass. J.*, **90**, 55-57 (1964).
- 13) **Milner, A. D., Vyas, H. & Hopkin, I. E.**: Effects of artificial surfactant on lung function and blood gases in idiopathic respiratory distress syndrome. *Arch. Dis. Child.*, **58**, 458-460 (1983).
- 14) 小久保雅之, 吉田恒正, 高田善則, 片岡久範, 小林勉, 村上誠一: 人工サーファクタントの試み—肺洗浄ウサギに対する効果—。日界面医誌, **14**, 59-66 (1983).
- 15) 小久保雅之, 上嶋康秀, 吉田恒正, 小林勉, 小暮万理子, 村上誠一: Tween 20 を用いた肺洗浄ウサギに対する人工サーファクタント補充療法—トリパルミチンの効果—。日界面医誌, **15**, 60-66 (1984).
- 16) 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**, 68-74 (1982).
- 17) **Folch, J., Ascoli, I., Lees, M., Meath, J. A. & LeBaron, F. N.**: Preparation of lipid extraction from brain tissue. *J. Biol. Chem.*, **191**, 883-841 (1951).
- 18) **Enhörning, G.**: Pulsating bubble technique for evaluating pulmonary surfactant. *Appl. Physiol.*, **43**, 198-203 (1977).
- 19) **Nilsson, R., Grossmann, G. & Robertson, B.**: Lung surfactant and the pathogenesis of

- neonatal bronchiolar lesion induced by artificial ventilation. *Pediat. Res.*, **12**, 249-255 (1978).
- 20) Kobayashi, T., Kataoka, H., Ueda, T., Merakami, S., Takada, S. & Kokubo, M.: Effects of surfactant supplement and end-expiratory pressure in lung-lavaged rabbits. *J. Appl. Physiol.*, **57**, 995-1001 (1984).
- 21) Ganzuka, M., Kobayashi, T., Taniguchi, J., Inui, S. & Murakami, S.: Effect of surfactant replacement on respiratory failure induced by hydrochloric acid instillation in rabbits. 第24回日本界面医学学会学術集会発表抄録, 5-6 (1988).
- 22) 後藤幸生, 明石学, 石川清, 中村不二雄, 清田豊秋, 小川雄之亮, 牧紀衛: Whole-lung lavage 法のテクニックに関する分類法と洗浄効率, 安全面からの検討. *麻酔*, **31**, 19-28 (1982).
- 23) Kylstra, J. A., Rausch, D. C., Hall, K. D., Spock, A.: Volume-controlled lung lavage in the treatment of asthma, bronchiectasis and mucoviscidosis. *Am. Rev. Respir. Dis.*, **103**, 651-665 (1971).
- 24) Robertson, B.: Surfactant substitution; experimental models and clinical applications. *Lung*, **158**, 57-68 (1980).
- 25) Lachmann, B., Robertson, B. & Vogel, J.: In vivo lung lavage as an experimental model of the respiratory distress syndrome. *Acta. Anaesthesiol. Scand.* **24**, 231-236 (1980).
- 26) 片岡久範: 肺洗浄ウサギに対するサーファクタント補充療法と終末呼吸陽圧呼吸 (PEEP) の効果. *十全医会誌*, **92**, 63-76 (1983).
- 27) 上田隆夫: 肺洗浄犬に対するサーファクタント補充療法の効果. *麻酔*, **34**, 194-201 (1985).
- 28) Valberg, P. A. & Brain, J. D.: Lung surface tension and air space dimensions from multiple pressure-volume curves. *J. Appl. Physiol.*, **43**, 293-306 (1977).
- 29) Nieman, G. F., Bredenberg, C. E., Clark, W. R. & West, N. R.: Alveolar function following surfactant deactivation. *J. Appl. Physiol.*, **51**, 895-904 (1981).
- 30) Nieman, G. F. & Bredenberg, C. E.: High surface tension pulmonary edema induced by detergent aerosol. *J. Appl. Physiol.*, **58**, 129-136 (1985).
- 31) 沼田克雄: 術中管理—合併症を含む—. 新麻酔学 (稲田編), 第1版, 319-332頁. 東京, 医師薬出版, 1982.
- 32) Notter, R. H., Tabak, S. A. & Mavis, R. D.: Surface properties of binary mixtures of some pulmonary surfactant components. *J. Lipid Res.*, **21**, 10-22 (1980).
- 33) Bangham, A. D., Morley, C. J. & Philips, M. C.: The physical properties of an effective lung surfactant. *Biochim. Biophys. Acta.*, **573**, 552-556 (1979).
- 34) Milner, A. D., Vyas, H. & Hopkin, E. I.: Effect of exogenous surfactant on total respiratory system compliance. *Arch. Dis. Child.*, **59**, 369-371 (1984).
- 35) Mushin, W. W., Mapleson, W. W. & Lunn, J. N.: Problems of automatic ventilation in infants and children. *Br. J. Anaesth.*, **34**, 514-522 (1962).
- 36) Stocks, J. & Godfry, S.: The role of artificial ventilation, oxygen and CPAP in the pathogenesis of lung damages in neonates. *Pediatrics*, **57**, 352-362 (1976).
- 37) Whitsett, J. A., Notter, R. H., Ohning, B. L., Ross, G., Meuth, J., Holm, B. A., Shapiro, D. L. & Weaver, T. E.: Hydrophobic surfactant-associated protein in whole lung surfactant and its importance for biophysical activity in lung surfactant extracts used for replacement therapy. *Pediatr. Res.*, **20**, 744-749 (1986).
- 38) Takahashi, A. & Fujiwara, T.: Proteolipid in bovine lung surfactant function. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **135**, 527-532 (1986).
- 39) Suzuki, Y., Curstedt, T., Grossmann, G., Kobayashi, T., Nilsson, R., Nohara, K. & Robertson, B.: The role of the low-molecular weight (≤ 15000 daltons) apoproteins of pulmonary surfactant. *Eur. J. Respir. Dis.*, **69**, 336-345 (1986).
- 40) Robertson, B., Curstedt, T., Grossmann, T., Kobayashi, T., Kokubo, M. & Suzuki, Y.: Prolonged ventilation of the premature newborn rabbit after treatment with natural or apoprotein-based artificial surfactant. *Eur. J. Pediatr.*, **147**, 168-173 (1988).
- 41) Revak, S. D., Merritt, T. A., Degryse, E., Stefani, L., Countney, M., Hallmann, M. & Cochrane, C. G.: Use of human surfactant low molecular weight apoproteins in the reconstitution

of surfactant biologic activity. *J. Clin. Invest.*, **81**, 826-833 (1988).

Artificial Lung Surfactants Composed of Synthetic Lipids; Surface Properties, and Effects on Surfactant Deficient Animals Masayuki Kokubo, Department of Anesthesiology (Director: Prof. S. Murakami), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc., 98, 1071—1086 (1989)

Key words lung surfactant, replacement therapy, tripalmitin, dipalmitoylphosphatidylcholine, phosphatidylglycerol

Abstract

To develop an effective synthetic lung surfactant for clinical use, two phospholipids, i.e., dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) and phosphatidylglycerol (PG), were mixed with or without tripalmitin (TP), and their surface properties and physiological activities were compared with those of a surfactant from natural source (Natural-S) which was extracted from porcine lungs. The lipid mixture composed of DPPC and PG (DPPC-PG, 70/30, W/W) showed $20.4 \pm 1.2 \text{ mN/m}$ (mean \pm SE) of minimum surface tension, but the lipid mixture with TP (DPPC-PG-TP, 65/25/10, w/w/w) showed a significant low value ($< 2 \text{ mN/m}$) which is similar to that of Natural-S. The surface adsorption speed of DPPC-PG-TP was significantly faster than that of DPPC-PG, but slower than that of Natural-S. For the evaluation of the physiological activities, the samples were transtracheally administered to two types of experimental animals; immature newborn rabbits which were deficient in their own lung surfactant and adult rabbits of which surfactant was depleted by lung lavage. In the immature newborn rabbits, tidal volumes of the untreated animals and those treated with DPPC-PG were below 3 ml/kg under mechanical ventilation with 20 cmH₂O of peak insufflation pressure. On the other hand, the tidal volumes of the animals administered DPPC-PG-TP was $10.2 \pm 1.4 \text{ ml/kg}$, which was significantly larger than those of the formers. The volume treated with Natural-S was $25.3 \pm 1.8 \text{ ml/kg}$. In the lung-lavaged adult rabbit, the PaO₂ of the untreated animals was below 100 Torr under mechanical ventilation with pure oxygen, the PaCO₂ increased to 81 Torr, and the compliance was less than 55% of the prelavage value. In the animals treated with DPPC-PG-TP, the PaO₂ immediately increased from 51 ± 4 to 460 ± 30 Torr, the PaCO₂ remained below 40 Torr, and the compliance was significantly better than the untreated animals. In the animals treated with DPPC-PG, 4 to 5 hours were necessary for an improvement in the lung functions. These results indicate that TP manifests the physiological activity of the phospholipid (DPPC and PG) mixture. Although the potency was somewhat less than Natural-S, it was concluded that DPPC-PG-TP has a physiological efficacy as lung surfactant.