

肺洗浄とサーファクタント補充による肺胞表面張力の変化が分離灌流ラット肺の灌流圧に及ぼす影響

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/2297/9316

肺洗浄とサーファクタント補充による肺胞表面張力の変化が 分離灌流ラット肺の灌流圧に及ぼす影響

金沢大学医学部医学科麻酔・蘇生学講座 (主任: 小林 勉教授)

松 本 豊

肺胞表面張力が肺循環に及ぼす影響を、分離灌流ラット肺 (n=31) を用いて調査した。ラットを麻酔後に脱血死させ、開胸後に肺動脈と左心房にカテーテルを留置した。定速灌流回路 (30 ml/kg/分) に接続し、自己血を加えた生理的電解質液で再灌流した。すべての実験を通じて、換気には95%酸素と5%炭酸ガスの混合気を用いた。実験1では、人工呼吸の最大吸気圧を20 cmH₂O、終末呼気陽圧を5 cmH₂Oに固定し、肺洗浄とサーファクタント補充による灌流圧の変化を調査した。最大灌流圧は、肺洗浄により14.6±2.4 mmHgから11.1±1.4 mmHg ($\bar{x} \pm SD$) に低下した (p<0.05)。なお、この値は、サーファクタント補充により13.7±1.3 mmHgに増加し (p<0.05 肺洗浄後値との比較)、肺洗浄前の値に近づいた。最小灌流圧も、肺洗浄により有意に低下し、サーファクタント補充により回復した。対照として生理食塩水を補充したラット肺では、肺洗浄後の最大灌流圧および最小灌流圧はともに回復しなかった。実験2では、最大吸気圧を変化させて灌流圧に及ぼす影響を調べた。まず、基準時の最大吸気圧が25, 20, 15および10 cmH₂Oの各段階で灌流圧を測定し、次いで肺洗浄後、およびサーファクタント補充後に同じ条件で灌流圧を測定した。実験中は、終末呼気陽圧を5 cmH₂Oに設定した。最大吸気圧と最大灌流圧の回帰直線の傾きは、肺洗浄により0.29±0.04 mmHg/cmH₂Oから0.11±0.05 mmHg/cmH₂Oに減少し (p<0.05)、サーファクタント補充により0.20±0.07 mmHg/cmH₂Oに回復した (p<0.05 肺洗浄後値との比較)。最大吸気圧と灌流圧差 (最大灌流圧と最小灌流圧との差) の回帰直線の傾きは、肺洗浄により減少したが (p<0.05)、サーファクタント補充により増加した (p<0.05 肺洗浄後値との比較)。実験3では、換気を行わずに気道内圧を一定にして、灌流圧に対する影響を調査した。気道内圧が5 cmH₂Oおよび12.5 cmH₂Oのときに基準時の灌流圧を測定し、同様の測定を肺洗浄後とサーファクタント補充後に行った。いずれの気道内圧においても、肺灌流圧はほとんど変化しなかった。以上より、人工呼吸下では、肺胞表面張力が肺循環に影響を及ぼすと結論された。すなわち、サーファクタントの減少や質的異常による表面張力の増大は、肺灌流圧の低下をもたらす。人工呼吸の影響を低下させると考えられた。一方、サーファクタント補充などによる表面張力の正常化は、肺灌流圧の上昇をもたらす。肺毛細血管の圧迫に対する肺胞内圧の影響が強まると結論された。

Key words isolated lung perfusion, perfusion pressure, pulmonary surfactant, surface tension

肺サーファクタントは、肺胞の表面張力を低下させ、換気に要する力を減少させる物質である¹⁾。肺サーファクタントに障害がある患者 (呼吸窮迫症候群など) の人工呼吸に際しては、吸気時の圧を高めなければ、生命維持に必要な換気量を得られないことが多い。一方、吸気時の気管内圧を高めると、肺毛細管が圧迫され、肺血管抵抗が増して心拍出量の低下する場合がある²⁾。したがって、肺胞の表面張力と肺血管抵抗の関係を解明しておくことは、人工呼吸法の安全性を高めるうえで重要な事項であると考えられる。

しかし、近年に至るまで肺サーファクタントの性状を人為的に変化させることが困難であったため、肺胞の表面張力と肺血管抵抗の関係を実験的に調査した報告はほとんど見当たらない。今回著者は、灌流法により肺血流を一定にしたラットを用い、肺洗浄でサーファクタントを洗い出した場合と、その肺にサーファクタントを補充した場合の気道内圧と肺血管抵抗の関

係を検討した。

対象および方法

I. サーファクタントの調製

実験には、金沢大学医学部麻酔・蘇生学講座で開発した補充療法用サーファクタント (surfactant CK, S-CK)³⁾を使用した。S-CKは、ブタの肺洗浄液から、遠心法、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、およびアセトン沈殿法を経て採取し、98%のリン脂質と1%の疎水性蛋白質を主成分とするものである。S-CKをラット肺に投与する際には、生理食塩水に分散し、50 mg/mlの濃度に調製した。

II. 動物実験

1. 最大吸気圧を固定した実験 (実験1)

平成10年6月30日受付, 平成10年8月4日受理

Abbreviations: ARDS, acute respiratory distress syndrome; HPV, hypoxic pulmonary vasoconstriction; IRDS, infantile respiratory distress syndrome; S-CK, surfactant CK

体重330 gから460 gのウイスター系雄性ラット12匹を用い、最大吸気圧を固定した実験を行った。ベントバルビタール(大日本, 大阪) 30 mg/kgを腹腔内投与して麻酔したうえ、1%メピバカイン(藤沢薬品, 大阪)の局所麻酔を併用して気管切開を行い、7 Frのカニューレを挿管した。大腿動脈に24 Gの血管カニューレを留置し、ヘパリンナトリウム500単位を投与して3分後に、脱血屠殺した。

次に、胸骨正中切開により心肺を大きく露出して、5 Frのカニューレを右心室から肺動脈に進めて留置するとともに、6 Frのカニューレを心尖部から左心房に進めて留置し、両者を灌流回路に接続した。すなわち、左心房から流出した灌流液(後述)を貯留槽を介してローラーポンプMasterFlex(Cole-Parmer, Vernon Hills, USA)に導き、30 ml/kg/分の速度で、恒温水槽(37~38℃)を通したうえ、肺動脈に送り返して肺を灌流した。肺動脈側カニューレには圧トランスデューサー(ダイナボット, 東京)を接続して、灌流圧を連続的に測定した。なお、この測定では、左心房の高さを基準点(0 mmHg)とした。

灌流液には、3%ウシ血清アルブミン(Sigma, St. Louis,

USA)を加えた生理的電解質液(119mM NaCl, 4.7mM KCl, 1.17mM MgSO₄, 22.61mM NaHCO₃, 1.18mM KH₂PO₄, 3.2mM CaCl₂) 30 mlに自家血約10 mlを混合したものをを用いた。

以上の準備ののち、図1に示すようにラット全体を37~38℃に保温した箱に入れ、人工呼吸器Servo 900B(Siemens-Elementa, Solna, Sweden)に装着した。人工換気の条件は、吸気と呼気の時間比を1:1、呼吸回数を毎分40回に設定した。吸入気には5%炭酸ガスと95%酸素の混合気を用い、最大吸気圧を20 cmH₂O、終末呼気陽圧を5 cmH₂Oに設定した。なお、実験中は、上記の設定を変えなかった。肺灌流と人工換気を開始して15分後に、まず基準時の灌流圧を10分間記録した。また、同時に、気管カニューレと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)を用いて基準時の1回換気量を記録した。

次に、ラットの肺サーファクタントを欠如させるために肺洗浄を施行した。すなわち、37℃に加温した1%ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート(ツィーン20)(和光純薬, 大阪)の生理食塩水溶液を30 ml/kgあて、注射器を用いて、ゆっくりと肺に注入して吸引し、再び注入と吸引を繰り返すという二重肺洗浄操作を行った。さらに、37℃の生理食塩液のみを用いて、同様の二重肺洗浄を5回施行した。肺洗浄操作完了の10分後、最大吸気圧が20 cmH₂O、終末呼気陽圧が5 cmH₂Oの換気条件下で、灌流圧と1回換気量の測定を基準時と同様の方法で行った。

12匹のラットのうち、6匹については2 ml/kgのS-CKの分散液(S-CKにして100 mg/kg)を経気道的に肺に注入するという補充操作を施行し、サーファクタント補充群とした。また、他の6匹のラットには、2 ml/kgの生理食塩水を同様の方法で肺に注入し、偽補充群とした。補充操作の10分後に、基準時と同様の方法で灌流圧と1回換気量を測定した。なお、実験中は、基準時と肺洗浄や補充操作の都度、灌流液のpHおよび酸素分圧(PO₂)を血液ガス分析装置ABL-510(Radiometer, Copenhagen, Denmark)で測定した。

実験終了後、サーファクタント補充群および偽補充群とも、気道に7.5 cmH₂Oの一定の陽圧をかけたまま、4%ホルムアルデヒド溶液による灌流固定を行い、HE染色標本を作成した。

2. 最大吸気圧を変化させた実験(実験2)

体重330gから480gのWistar系雄性ラット9匹を用い、最大吸気圧を変化させた実験を行った。ラットに対する処置と灌流条件は、実験1と同様にした。まず、基準時の測定として、最大吸気圧を25 cmH₂O、終末呼気陽圧を5 cmH₂Oに設定し、灌流圧を5分間記録した後に1回換気量を測定した。次に最大吸気圧を20 cmH₂Oに下げても同様の手順で記録を行い、さらに最大吸気圧が15 cmH₂Oおよび10 cmH₂Oでの所見を記録した。

続いて、実験1と同様に肺洗浄を行った。肺洗浄終了後、基準時と同じように、最大吸気圧が25、20、15および10 cmH₂Oのときの灌流圧と1回換気量を測定した。さらに、S-CKの分散液(2 ml/kg)を用いたサーファクタント補充を施行した後、最大吸気圧を25、20、15および10 cmH₂Oに変化させて、灌流圧と1回換気量を記録した。なお、最大吸気圧を変化させる毎に、灌流液のpHとPO₂を測定した。

個々のラットについて、4段階の最大吸気圧に対応する最大灌流圧、最小灌流圧および灌流圧差(最大灌流圧-最小灌流圧)について、最小2乗法により回帰直線を求め、得られた傾きの

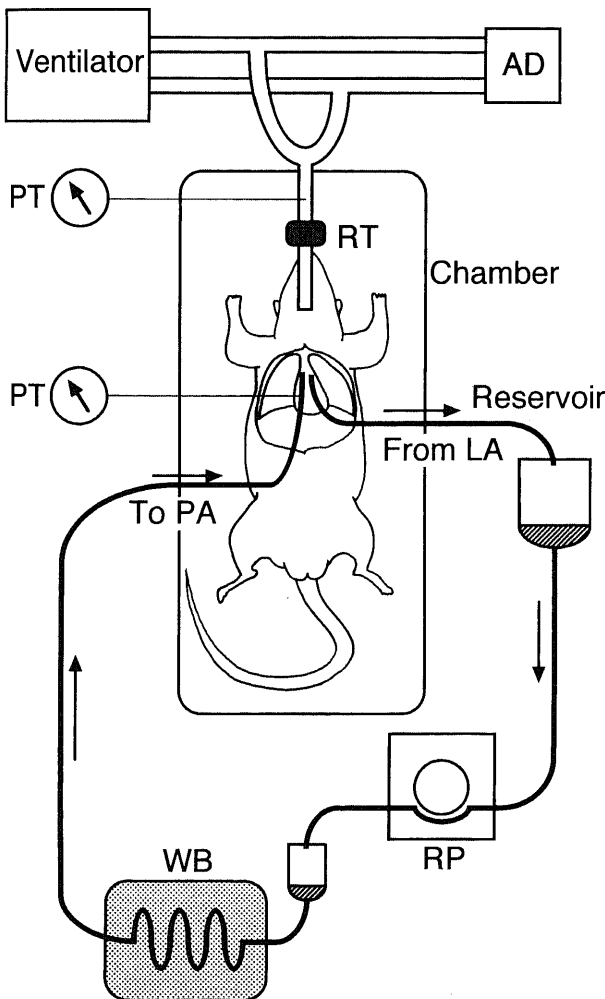


Fig. 1. Diagram of experimental setup. Arrows indicate direction of perfusion flow. AD, air dumper; LA, left atrium; PA, pulmonary artery; PT, pressure transducer; RP, roller pump; RT, resistant tube; WB, warming bath.

平均値と標準偏差を計算した。

3. 無換気での実験(実験3)

体重330 gから460 gのWistar系雄性ラット10匹を用い、気道に定常圧をかけて換気しない実験を行った。ラットに対する

処置と灌流に関する設定は、実験1と同様にした。まず気道内圧を12.5 cmH₂Oの定圧に設定し、基準時の灌流圧を10分間記録した後、気道内圧を5 cmH₂Oに下げて灌流圧を10分間記録した。

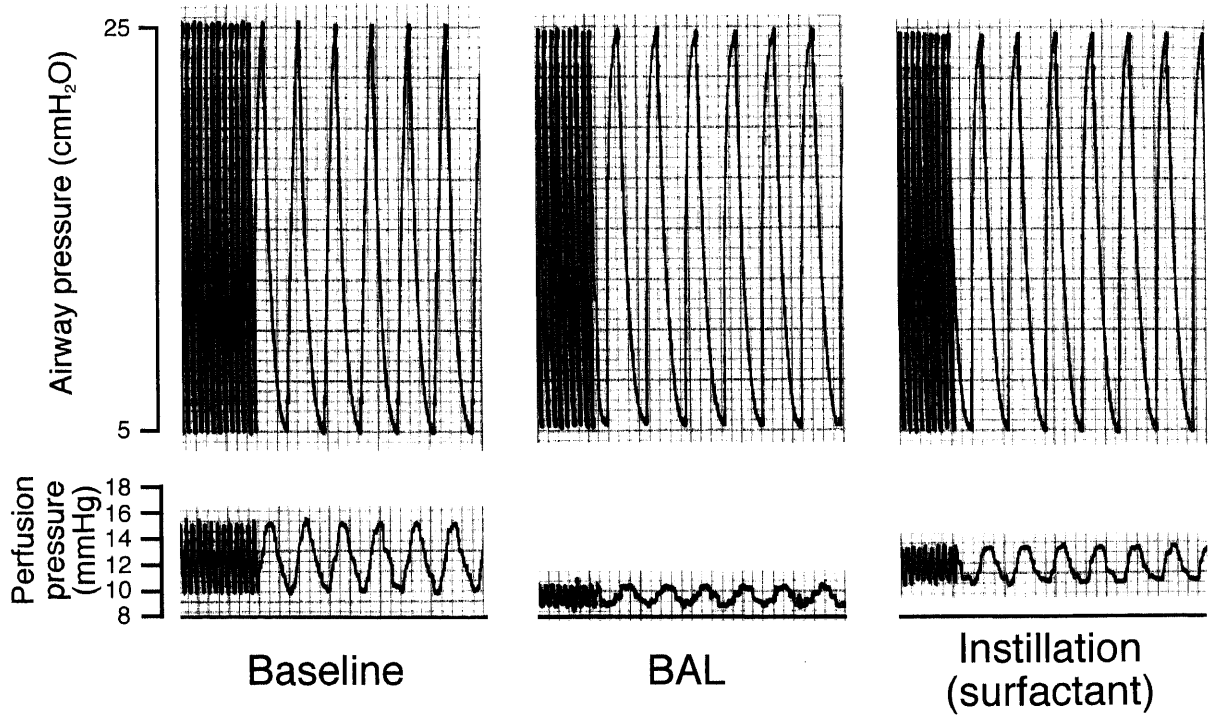


Fig. 2. Examples of perfusion pressure records.

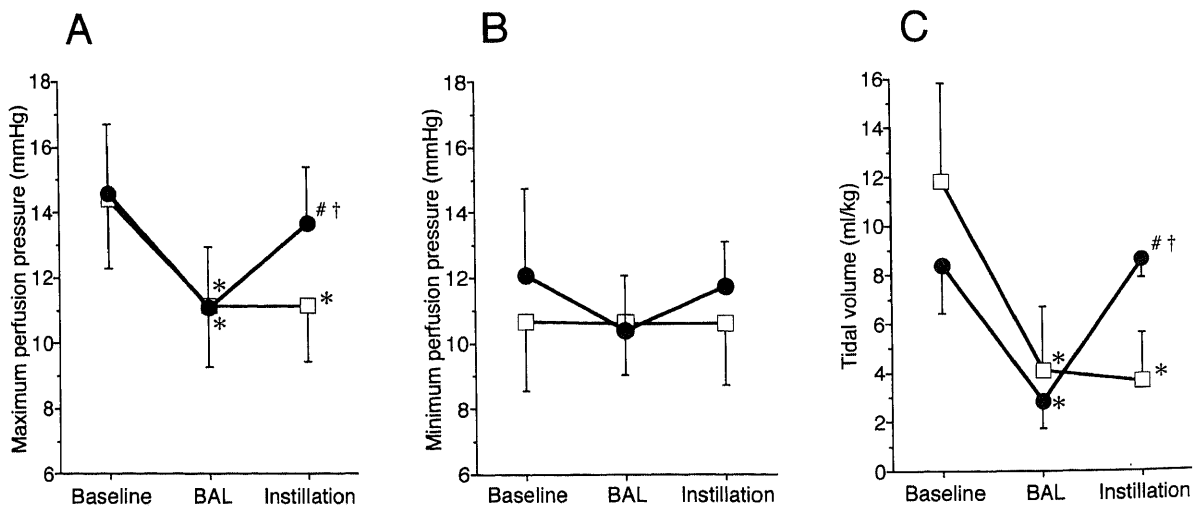


Fig. 3. Comparison between lungs receiving surfactant replacement and saline instillation in experiment 1. (A) Maximum perfusion pressure. (B) Minimum perfusion pressure. (C) Tidal volume. ●, surfactant replacement group (n=6); □, saline instillation group (n=6). Values are $\bar{x} \pm SD$. *p<0.05 vs. baseline value, #p<0.05 vs. BAL value, †p<0.05 vs. saline.

次に、実験1と同様の方法で肺洗浄を行った。肺洗浄後、基準時と同じく、気道内圧が12.5 cmH₂Oと5 cmH₂Oの際の灌流圧をそれぞれ10分間記録した。次いで、2 ml/kgのS-CKの分散液 (S-CKにして100 mg/kg) を経気道的に補充し、灌流圧を記録した。

Ⅲ. ツィーン20がS-CKの活性に与える影響の検討

S-CKの分散液 (10 mg/ml) にツィーン20を種々の濃度 (0～3.2%) で加え、その表面張力を、気泡型表面張力計PBS (Electronics, Amherst, USA) で測定した。各試料を37℃に加温した測定室 (容量25 μl) に入れ、温度が平衡した後、試料液中に作成した気泡の半径を0.40～0.55 mmの間で毎分40回の速度により拍動させた。5分間拍動させた時点で、気泡の半径が最小および最大のときの表面張力 (γ) を、それぞれ最小表面張力 (minimum γ , γ min) および最大表面張力 (maximum γ , γ max) と定義した。 γ は、気泡内外の圧差 (ΔP) と半径 (R) からLaplaceの式 ($\gamma = 1/2 \Delta P \cdot R$) を用いて求めた。

Ⅳ. 統計処理

測定結果は、平均値±標準偏差 (\bar{x} ±SD) で表わした。群間および群内の差の検定には、二元配置分散分析法 (two-way ANOVA) を行ったうえBonferroniの方法を用い、危険率 (p) が0.05未満を有意差と判定した。

成 績

I. 最大吸気圧を固定した実験 (実験1)

サーファクタント補充群と偽補充群の体重は、それぞれ371±47 gと400±46 gであり、群間に有意差は認められなかった。灌流圧には、図2に示すように換気と同調する振幅が認められた。すなわち、吸気圧が最大のときに最大灌流圧を示し、終末呼気時に最小灌流圧を示した。灌流液のPO₂は138 mmHg以上に保たれ、pHは7.40±0.11であった。また、肺洗浄液の回収率は96%以上であった。

最大灌流圧を図3Aに示す。サーファクタント補充群では、基準時に14.6±2.4 mmHgを示したが、肺洗浄後には11.1±1.4 mmHgと平均して3.5 mmHg低下した ($p < 0.05$)。補充操作後の最大灌流圧は13.7±1.3 mmHgに上昇し、肺洗浄後に比較して有意に高い値を示し、基準時の値に近付いた。偽補充群における基準時と肺洗浄後の最大灌流圧は、サーファクタント補充群とほぼ同じ値であった。しかし、補充操作後の値は肺洗浄後と変わりがなく、サーファクタント補充群より有意に低値を示した。

最小灌流圧を図3Bに示す。サーファクタント補充群では、基準時の値が12.1±2.7 mmHgであり、肺洗浄後には10.4±1.7 mmHgと低下する傾向を示した。補充操作後、サーファクタント補充群の最小灌流圧は若干上昇したが、偽補充群ではほとんど変化が認められなかった。なお、全ての時点で、両群間に有意差は認められなかった。

1回換気量を図3Cに示す。サーファクタント補充群では、基準時に8.4±2.0 ml/kgであったが、肺洗浄後には2.9±1.1 ml/kgに有意に減少した。補充操作後、1回換気量は8.7±0.7

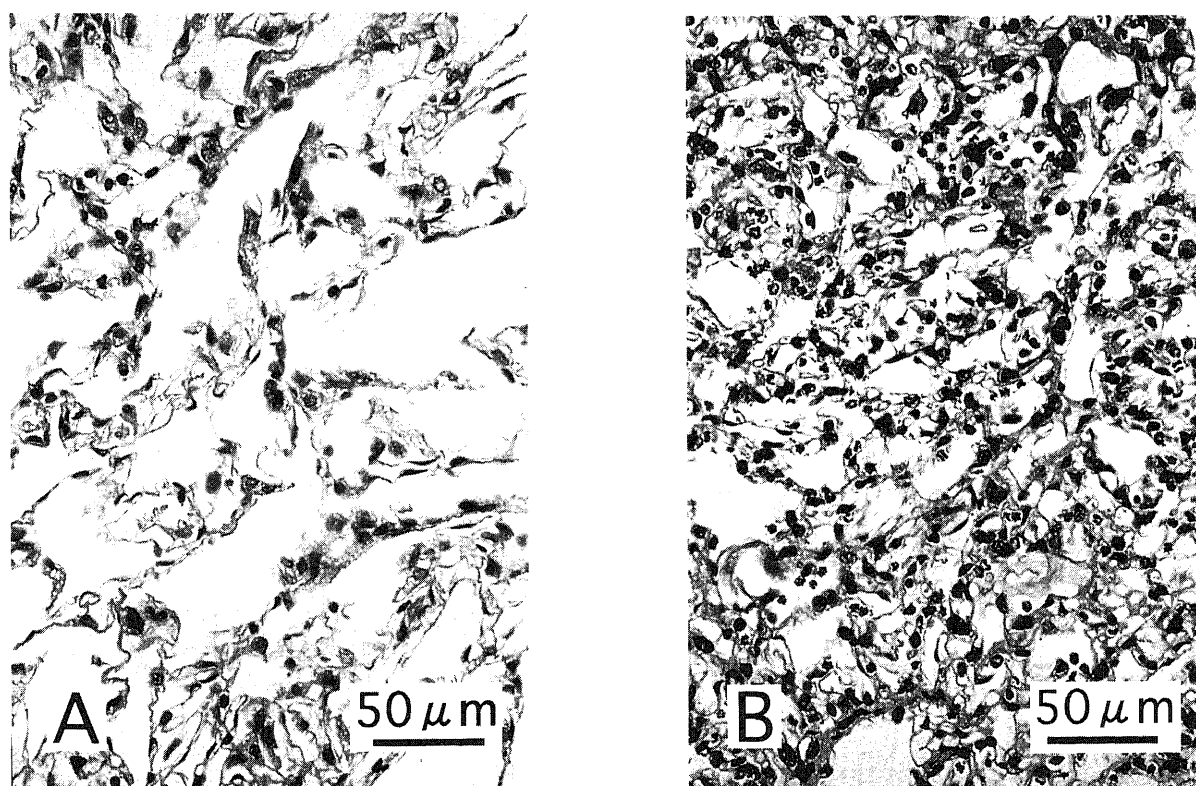


Fig. 4. Stained sections of the lungs. HE stain. (A) Surfactant replacement after bronchoalveolar lavage. (B) Saline (placebo) replacement after bronchoalveolar lavage.

ml/kgへと有意に増大し、基準時の値に近くなった。偽補充群の1回換気量は、基準時の 11.8 ± 1.0 ml/kgから肺洗浄後には 4.1 ± 2.6 ml/kgに低下した ($p < 0.05$)。補充操作後の値は肺洗浄後と変わりがなく、サーファクタント補充群より有意に低値であった。

組織所見を図4に示す。サーファクタント補充群の肺胞腔は十分に拡張していた(A)。一方、生理食塩水を注入した偽補充群では、肺胞腔が一樣に小さかった(B)。

II. 最大吸気圧を変化させた実験(実験2)

基準時、肺洗浄時およびサーファクタント補充後の最大灌流

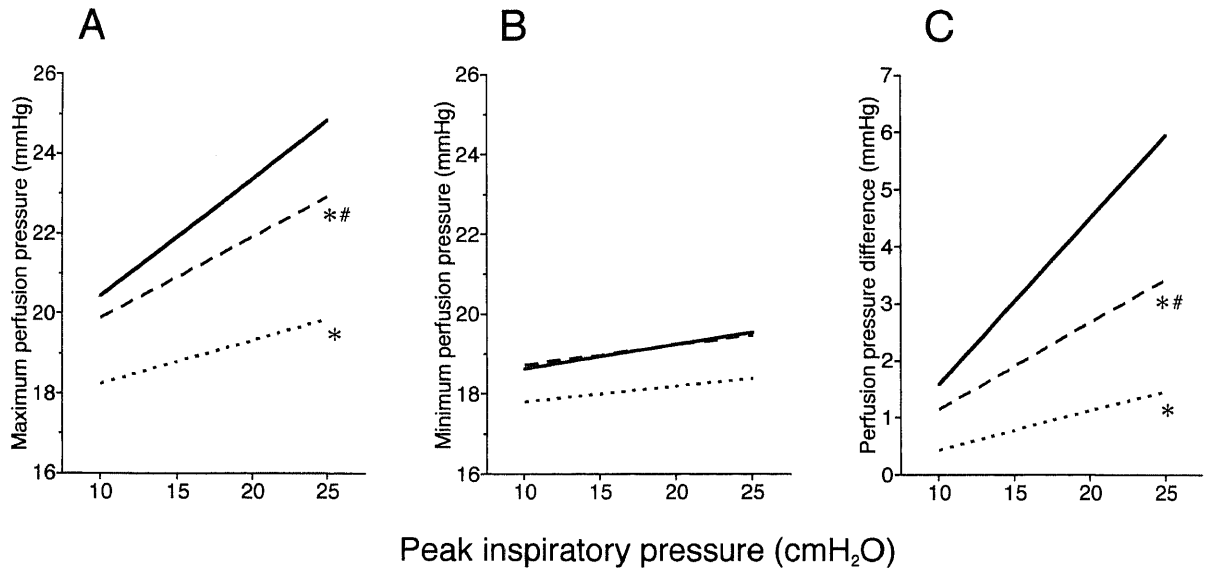


Fig. 5. Correlation between peak inspiratory pressure and perfusion pressure. (A) Maximum perfusion pressure. (B) Minimum perfusion pressure. (C) Perfusion pressure difference. Mean slope and mean intercept were calculated from individual regression lines. * $p < 0.05$ vs. slope of baseline, # $p < 0.05$ vs. slope of bronchoalveolar lavage. —, baseline; ---, bronchoalveolar lavage;, surfactant replacement.

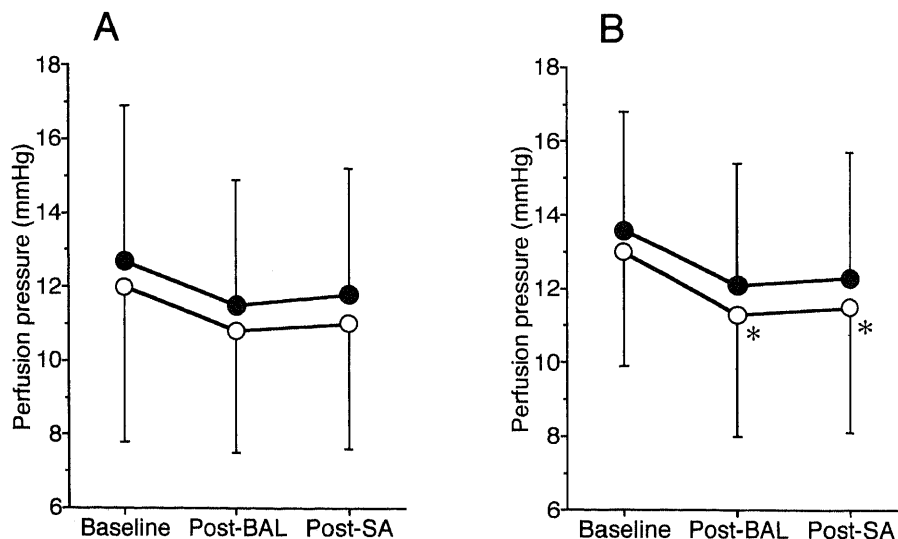


Fig. 6. Perfusion pressure of lungs receiving bronchoalveolar lavage and surfactant replacement. (A) At 5 cmH₂O static airway pressure. (B) At 12.5 cmH₂O static airway pressure. ●, maximum pressure; ○, minimum pressure. Values are $\bar{x} \pm SD$ ($n=10$). * $p < 0.05$ vs. baseline value.

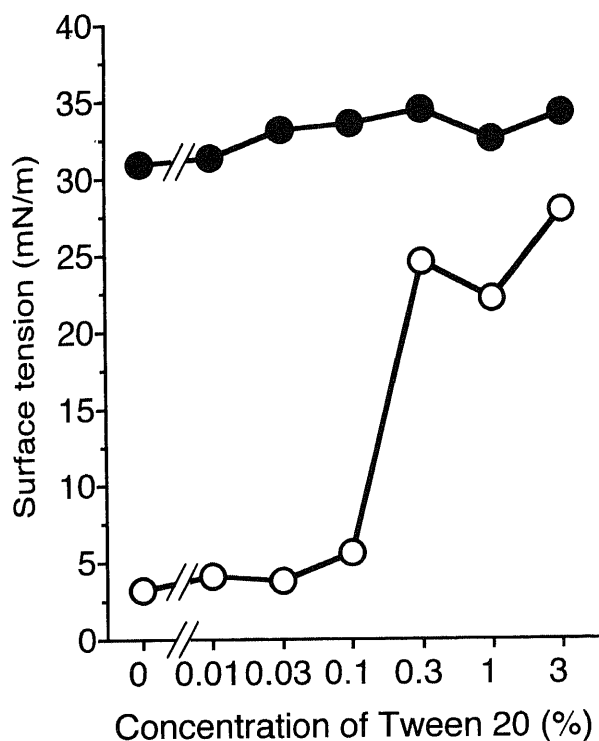


Fig. 7. Dynamic surface tensions of a modified natural surfactant (surfactant CK) mixed with various concentration of Tween 20. Concentration of the surfactant was fixed at 10 mg/ml. ●, maximum surface tension; ○, minimum surface tension.

圧の変化は、実験1のサーファクタント補充群のものと基本的に同様であった。最大吸気圧と最大灌流圧の関係を図5Aに示す。回帰直線の傾きは、基準時に 0.29 ± 0.01 mmHg/cmH₂Oであり、肺洗浄後には 0.11 ± 0.02 mmHg/cmH₂Oと有意に低下した。サーファクタント補充後には 0.20 ± 0.02 mmHg/cmH₂Oと、洗浄後に比較して有意に大きいに回復したが、基準時よりも小さい値にとどまった。

最大吸気圧と最小灌流圧の関係を図5Bに示す。全ての回帰直線の傾きの平均値は、 0.06 mmHg/cmH₂O以下であり、どの時点間にも有意差を認めなかった。

最大吸気圧と灌流圧差の関係を図5Cに示す。肺洗浄後の灌流圧差は、基準時と比較してすべての測定点で有意に低値を示した。サーファクタント補充後の灌流圧差は、最大吸気圧が 15 cmH₂O以上の場合、肺洗浄後より高値を示した ($p < 0.05$)。しかし、サーファクタント補充後の値は、基準時より有意に小さいものであった。最大吸気圧と灌流圧差の回帰直線の傾きは、基準時の 0.29 ± 0.03 mmHg/cmH₂Oが肺洗浄後には 0.07 ± 0.01 mmHg/cmH₂Oに有意に減少した。サーファクタント補充後は 0.15 ± 0.01 mmHg/cmH₂Oと有意に回復したが、基準時の値にまでは至らなかった。

Ⅲ. 無換気での実験 (実験3)

気道内圧が 5 cmH₂Oの場合は、図6Aに示すように、肺洗浄後に灌流圧の低下傾向が認められたものの、有意な変化は検出されなかった。気道内圧が 12.5 cmH₂Oの場合は、図6Bに示すように、最大および最小灌流圧が肺洗浄後に若干低下したが、最大灌流圧の有意な変化は認められなかった。灌流圧差は、気道内圧に依らず、基準時、肺洗浄後およびサーファクタント補充後の3時点とも 1 mmHg以下であった。

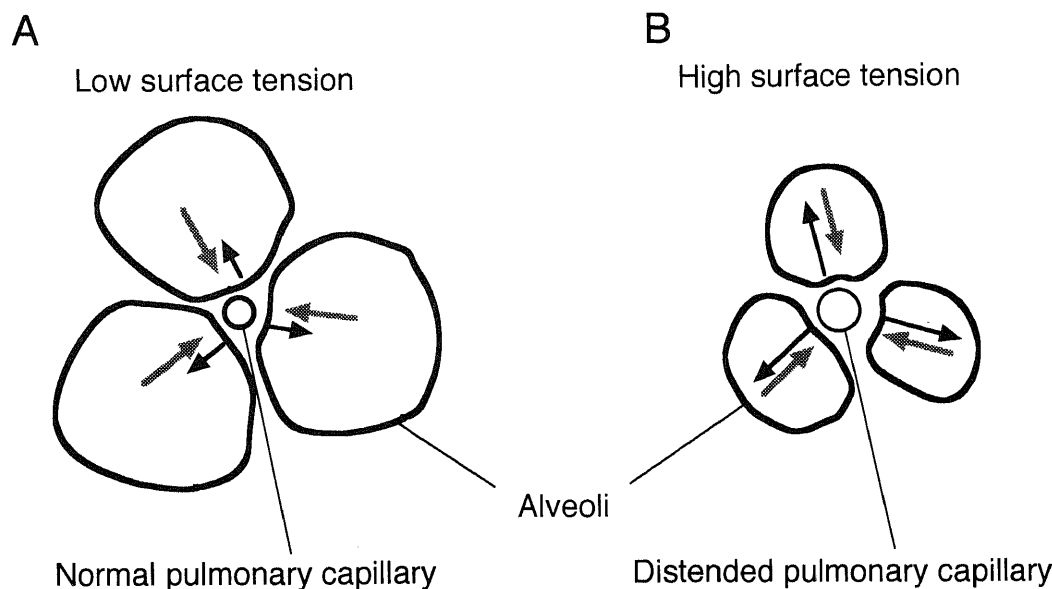


Fig. 8. Illustrations explaining the relationship between surface tension and pulmonary capillary. →, Retractive force due to surface tension; —→, Compression force due to artificial ventilation.

Ⅳ. ツィーン20がS-CKの活性に与える影響の検討

気泡型表面張力計による測定の結果を図7に示す。S-CK (濃度 10 mg/ml) の γ min の平均値は、ツィーン20の濃度が 0.03% 以下の場合、生理的機能が発現する 5 mN/m 以下の値を示した⁹⁾。しかし、ツィーン20の濃度が 0.32% を超えた場合、 γ min は 22 mN/m 以上に上昇した。

考 察

間歇的陽圧換気による人工呼吸では、吸気時に肺血流が低下する⁹⁾。今回の肺を換気した実験 (実験1と2) でも、灌流圧には換気に同調する振幅が認められ、最大灌流圧は終末吸気時に、最小灌流圧は終末呼気時に一致して認められた。一方、換気しなかった実験 (実験3) では、最大と最小灌流圧の差がほとんど見られなかった。これらの所見は、上記の報告を再確認するものであり、肺血流抵抗には肺胞内圧が大きく関与していることを示している。

肺胞表面は気体と液体の接する界面であり、そこには表面張力が生じている。このことから、肺毛細血管が肺胞気から受ける圧力は、途中に介在する肺胞の表面張力により修飾されると考えられる。すなわち、肺表面張力は、肺胞を収縮させる力として働いているため、毛細血管を圧迫する力を弱めると考えられる。しかし、正常な肺では肺サーファクタントが存在し、表面張力を減少させている。したがって、図8に示すように、正常肺 (A) に比べ、肺洗浄によりサーファクタントが洗い出されて肺胞の表面張力が増加した場合 (B) は、毛細血管を圧迫する力が小さくなり、肺灌流圧が低下するものと考えられる。

上記のような肺サーファクタントと肺胞内圧、および肺毛細血管の関係は、一部の研究者によって、既に1960年代から予想されている⁹⁾。しかし、肺サーファクタントの作用により、肺毛細血管の圧迫がどの程度影響されるのかを実測した報告は見当たらない。なお Thomas ら⁹⁾は、肺内をデキストラン水溶液で満たして肺胞表面張力を消失させても、摘出肺の肺血管抵抗は有意な変化を示さなかったと報告している。しかし、この所見は肺胞が液体で満たされているという非生理的な状態でのものであり、人工呼吸の際の参考にはなり難い。

生理食塩水で肺洗浄を10回前後繰り返すと、肺サーファクタントはほとんど洗い出されることが知られている⁷⁾。また、肺胞被覆層におけるサーファクタントの濃度が 1.0 mg/ml 以下になると表面張力を減少させる作用がほとんど消失すると言われている⁹⁾。さらに、ツィーン20は、肺サーファクタントを不活化するとともに、洗浄効果を高めることが知られている⁹⁾。今回の実験では、肺胞に残留しているサーファクタントの量を測定しなかったが、上記の報告を勘案すれば、肺洗浄後には、サーファクタントの作用がほぼ完全に消失していたものと推定される。

肺洗浄後は、組織の浮腫や残留液により肺組織の剛性が変化し、毛細血管を圧迫する肺胞内圧の伝達が一部ブロックされている可能性も否定できない。しかし、肺洗浄後に 2.0 ml/kg の生理食塩水を注入した偽補充群では、最大灌流圧がほとんど変化しなかった。一方、同量の生理食塩水にサーファクタントを分散して投与したサーファクタント補充群では、最大灌流圧が上昇し、基準時の値に近付いた。したがって、今回の実験で見られた基準時と肺洗浄後の灌流圧の差は、大部分がサーファクタントの作用に起因するものと結論できよう。

なお、今回の肺洗浄法で用いたツィーン20は洗剤の一種であり、表面張力を低下させる作用を持っている。したがって、ツィーン20が残留していた場合には、実験結果に影響を及ぼす可能性が考えられる。しかし、生理食塩水による洗浄を5回追加しており、肺洗浄液の回収率 (96%以上) から計算すると、肺に残存する液体中のツィーン20の濃度は、理論的には 10^{-6} % 以下であると計算される。この濃度は、S-CKの活性を阻害する限界の 0.32% よりかなり小さく、残存しているツィーン20の影響は無視してよいものと考えられる。また、高濃度酸素は肺を障害する要因であるが、吸入させたのは2時間以内であり、重篤な肺損傷が生ずる時間ではない¹⁰⁾。さらに、組織像では肺洗浄により肺胞の虚脱が認められたが、サーファクタント補充により大部分の肺胞が再拡張していた。これらの所見も、肺洗浄後に認められた肺灌流圧の低下の大部分が、サーファクタントの欠乏によるものであることを裏付けている。

実験2の結果は、最大吸気圧の増加により灌流圧が高まることを示すとともに、肺胞サーファクタントが正常なときには最大吸気圧の影響が強くと表われ、サーファクタントが欠如している状態では影響が少ないことを示している。この所見は、新生児呼吸窮迫症候群 (infantile respiratory distress syndrome, IRDS) の患児にサーファクタント補充療法を行うと、肺コンプライアンスが好転するという従来の報告^{10)・19)}と一致するが、肺動脈圧が低下したという一部の報告^{10)・19)}とは異なっている。上記の相違を来した原因の究明には、低酸素性肺血管収縮 (hypoxic pulmonary vasoconstriction, HPV) に関する考察が必要であろう。

IRDSの患児は、強い低酸素血症に曝されており、HPVが生じていると考えられる。HPVは、当然の結果として肺動脈圧を上昇させる^{19)・20)}。サーファクタント補充療法によってHPVが解消されれば、肺動脈圧の低下と肺血流の増加が見られるであろう。一方、今回の実験では、吸入気の酸素濃度を95%に保ち、灌流液のPO₂を高く維持したので、どの時点でもHPVは生じていなかったと考えられる。さらに、アシドーシスがHPVを増強することが知られている^{20)・21)}。IRDSの患児では、補充療法により高炭酸ガス血症が改善されアシドーシスが消失すれば、HPVの解消を助けるであろう。一方、本実験では、肺洗浄やサーファクタント補充の前後で、灌流液のpHの変動は正常値域内の最小限 (7.40 ± 0.11) にとどめられた。すなわち、HPVの有無が、本実験とIRDSの患児における肺血流の所見が相反した原因であると考えられる。

肺胞内圧と肺血管抵抗の関係を調査した報告には、肺を換気しない準静的な条件で測定したものが多^{6)29)・30)}。一方、今回の肺を換気した実験1および2と、換気しなかった実験3とでは、サーファクタントに関連した所見が若干異なっていた。すなわち、換気しなかった実験3では、肺洗浄やサーファクタント補充による灌流圧の変化が少なかった。この原因は不明であり、さらに気道内圧を高めた検討を要する。しかし、今回の結果は、肺を換気せずに測定した肺血管抵抗の所見の解析には、注意が必要なことを示唆するものであろう。

陽圧を用いる人工呼吸の副作用のひとつに血圧低下がある²³⁾。しかし、急性呼吸窮迫症候群 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) の患者に対して高い陽圧で人工呼吸を行っても、顕著な血圧低下の認められないことが多い²²⁾。本実験の結果から、この原因として、ARDSのように肺サーファクタン

トが障害されている場合には、肺循環が最大吸気圧の影響を受け難くなっているという機序が示唆された。また、一方では、サーファクタント補充療法などで肺胞の表面張力が正常化した場合、人工呼吸の陽圧による肺循環の抑制作用が増強される可能性も示唆された。したがって、このような患者の人工呼吸に際しては、肺コンプライアンスや血液ガス所見などが好転しても、肺循環系に充分注意する必要があると結論される。

結 論

分離肺循環下のラット肺を用い、肺洗浄でサーファクタントを洗い出した場合とサーファクタント補充後の肺灌流圧の変化を調査した。

1. 最大吸気圧を 20 cmH₂O に設定した場合、肺洗浄により灌流圧は 3.5 mmHg 低下し、サーファクタント補充療法により灌流圧はほぼ前値に復した。

2. 最大吸気圧を 10 cmH₂O から 25 cmH₂O 間で変化させた場合、肺洗浄により表面張力が増大した状態では、灌流圧に対する最大吸気圧の影響は減少した。一方、サーファクタント補充療法により表面張力が再び正常化した状態では、灌流圧に対する最大吸気圧の影響が増大した。

3. 換気を行わず、気道内圧を 5 cmH₂O および 12.5 cmH₂O の定常圧にした場合、肺洗浄とサーファクタント補充による肺灌流圧の変化はほとんど認められなかった。

以上より、HPV などの影響を除外すれば、サーファクタントの欠如や不活性化による肺胞表面張力の増大そのものは、肺血管抵抗を減少させると同時に、気道陽圧による肺血管抵抗の増大を緩和すると結論された。反対に、サーファクタント補充療法などにより肺胞の表面張力が正常化した場合は、肺毛細血管に対する肺胞内圧の影響が強まるので、人工呼吸管理に際しては、循環系に対する注意が必要であると結論された。

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、実験にご協力いただいた金沢大学医学部麻酔・蘇生学講座の教室員の皆様ならびに実験助手の方々に深く感謝いたします。なお、本研究は、文部省科学研究費(課題番号 07457353)の援助を受けたことを付記し、謝意を表します。本論文の一部を、日本界面医学会第 32 回学術研究会(1996, 横須賀市)において発表した。

文 献

- 1) Obladen M. History of surfactant research. *In* B Robertson, LMG van Golde, JJ Batenburg (eds), *Pulmonary Surfactant*, 1st ed, p1-18, Elsevier, Amsterdam, 1992
- 2) Miro AM, Pinsky MR. Heart-lung interactions. *In* MJ Tobin (ed), *Principles and Practice of Mechanical Ventilation*, 1st ed, p647-671, McGraw-Hill, New York, 1994
- 3) Kobayashi T, Grossmann G, Robertson B, Ueda T. Effects of artificial and natural surfactant supplementation in immature newborn rabbits. *Jpn Med Soc Biol Interface* 15: 125-131, 1984
- 4) Notter RH, Finkelstein JN. Pulmonary surfactant: an interdisciplinary approach. *J Appl Physiol* 57: 1613-1624, 1984
- 5) Bruderman I, Somers K, Hamilton WK, Tooley WH, Butler J. Effect of surface tension on circulation in the excised lungs of dogs. *J Appl Physiol* 19: 707-712, 1964
- 6) Thomas LJ, Griffio ZJ, Roos A. Effect of negative-pressure

inflation of the lung on pulmonary vascular resistance. *J Appl Physiol* 16: 451-456, 1961

- 7) 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
- 8) 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: 181-192, 1990
- 9) Brendenberg CE, Paskanik AM, Nieman GF. High surface tension pulmonary edema. *J Surg Res* 34: 515-523, 1983
- 10) 谷口淳朗. 高濃度酸素の長時間吸入による呼吸不全: 肺サーファクタント補充および人工呼吸の治療ならびに予防効果. *十全医会誌* 100: 897-908, 1991
- 11) Fujiwara T, Maeta H, Chida S, Morita T, Watabe Y, Abe T. Artificial surfactant therapy in hyaline-membrane disease. *Lancet* 1: 55-59, 1980
- 12) Collaborative European Multicenter Study Group. Surfactant replacement therapy severe neonatal respiratory distress syndrome: an international randomized clinical trial. *Pediatrics* 82: 683-691, 1988
- 13) Jobe AH. Pulmonary surfactant therapy. *N Engl J Med* 328: 861-868, 1993
- 14) Käätä P, Kero P, Saraste M. Synthetic surfactant replacement therapy decreases estimated pulmonary distress syndrome. *Am J Dis Child* 146: 961-964, 1992
- 15) Käätä P, Seppänen M, Kero P, Saraste M. Pulmonary hemodynamics after synthetic surfactant replacement in neonatal respiratory distress syndrome. *J Pediatr* 123: 115-159, 1993
- 16) Seppänen MP, Käätä PO, Kero PO, Saraste M. Doppler-derived systolic pulmonary artery pressure in acute neonatal respiratory distress syndrome. *Pediatrics* 93: 769-773, 1994
- 17) Seppänen M, Käätä P, Kero P. Acute effects of synthetic surfactant replacement on pulmonary blood flow in neonatal respiratory distress syndrome. *Am J Perinatol* 11: 382-385, 1994
- 18) Hamdan AH, Shaw NJ. Changes in pulmonary artery pressure in infants with respiratory distress syndrome following treatment with Exosurf. *Arch Dis Child* 72: 176-179, 1995
- 19) Euler US, Liljestrand G. Observations on the pulmonary arterial blood pressure in the cat. *Acta Physiol Scand* 12: 301-320, 1947
- 20) Rodman DM, Voelkel NF. Regulation of vascular tone. *In* Crystal RG, West JB (eds), *The lung-scientific foundations*, 1st ed, p 1105-1119, Raven Press, New York, 1991
- 21) Barer GR, Howard P, Shaw JW. Stimulus-response curves for the pulmonary vascular bed to hypoxia and hypercapnia. *J Physiol* 211: 139-155, 1970
- 22) Marshall BE, Marshall C, Benumof J, Saidman JL. Hypoxic pulmonary vasoconstriction in dogs: effect of lung segment size and oxygen tension. *J Appl Physiol* 51: 1543-1551, 1981
- 23) Benumof JL, Pirho AF, Johansen I, Trousdale FR. Interaction of $\bar{P}V_{O_2}$ with PA_{O_2} on hypoxic pulmonary vasoconstriction. *J Appl Physiol* 51: 871-874, 1981
- 24) Domino KB, Wetstein L, Glasser SA, Lindgren L, Marshall C, Harken A, Marshall BE. Influence of mixed venous oxygen

- tension ($\overline{P\dot{V}O_2}$) on blood flow to atelectatic lung. *Anesthesiology* 59: 428-434, 1983
- 25) Schreiber MD, Heymann MA, Soifer SJ. Increased arterial pH, not decreased PaCO₂, attenuates hypoxia-induced pulmonary vasoconstriction in newborn lambs. *Pediatr Res* 20: 113-117, 1986
- 26) Brimiouille S, Lejeune P, Vachiery JL, Leeman M, Melot C, Naeije R. Effects of acidosis and alkalosis on hypoxic pulmonary vasoconstriction in dogs. *Am J Physiol* 258: 347-353, 1990
- 27) Noble WH, Colin JC, Fisher JA. The effect of PaCO₂ on hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Can Anaesth Soc J* 28: 422-430, 1981
- 28) Burton AC, Patel DL. Effect on pulmonary vascular resistance of inflation of the rabbit lungs. *J Appl Physiol* 12: 239-246, 1958
- 29) Whittenburger JL, McGregor M, Berglund E, Borst HG. Influence of state of inflation of the lung on pulmonary vascular resistance. *J Appl Physiol* 15: 878-882, 1960
- 30) Pain MCF, West JB. Effect of the volume history of the isolated lung on distribution of blood flow. *J Appl Physiol* 21: 1545-1550, 1966
- 31) Skaburskis M, Helal R, Zidulka A. Hemodynamic effects of external continuous negative pressure ventilation compared with those of continuous positive pressure ventilation in dogs with acute lung injury. *Am Rev Respir Dis* 136: 886-891, 1987
- 32) Veddeng OJ, Myhre ESP, Risøe C, Smiseth OA. Haemodynamic effects of selective positive end-expiratory pressure after pulmonary hydrochloric acid-aspiration in dogs. *Intensive Care Med* 18: 356-361, 1992

Effects of Bronchoalveolar Lavage and Surfactant Replacement Induced Alveolar Surface Tension Change on Perfusion Pressure of Isolated Rat Lungs Yutaka Matsumoto, Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920-8640 — *J. Juzen Med Soc.*, 107, 254 — 262 (1998)

Key words isolated lung perfusion, perfusion pressure, pulmonary surfactant, surface tension

Abstract

The effect of alveolar surface tension on pulmonary circulation was examined in the isolated lungs of 31 rats. Anesthetized rats were slaughtered by exsanguination and thoracotomized, following which catheters were inserted into the pulmonary artery and left atrium. The catheters were connected to a thermostatic constant flow (30 ml/kg/min) circuit filled with physiologic salt solution plus autologous blood. Through all the experiments, 95 % oxygen plus 5 % carbon dioxide gas was used for ventilation. The study consisted of three parts. The first experiment was performed to compare the effects of surfactant replacement with a saline (placebo) instillation. The lungs were ventilated with 20 cmH₂O peak inspiratory pressure (PIP) and 5 cmH₂O positive end-expiratory pressure (PEEP). The maximum perfusion pressure decreased from 14.6 ± 2.4 mmHg ($\bar{x} \pm SD$) to 11.1 ± 1.4 mmHg after bronchoalveolar lavage (BAL) ($p < 0.05$). This decreased value recovered to a near baseline value of 13.7 ± 1.3 mmHg after surfactant replacement (100 mg/kg wt) ($p < 0.05$ vs. value after BAL). The minimum perfusion pressure showed similar changes following surfactant replacement, while for lungs that received saline (placebo) replacement after BAL, there was no change in perfusion pressure. The second experiment was performed to examine the impact of PIP on perfusion pressure. Baseline perfusion pressure was recorded at 25, 20, 15 and 10 cm H₂O PIP with 5 cmH₂O PEEP and then equivalent perfusion pressure were measured after BAL and again after surfactant replacement. Regression lines between PIP and perfusion pressure were calculated for each step. The slope of the PIP-maximum perfusion pressure line decreased from 0.29 ± 0.04 mmHg/cmH₂O to 0.11 ± 0.05 mmHg/cmH₂O after BAL ($p < 0.05$). This decreased value recovered to 0.20 ± 0.07 mmHg/cmH₂O after surfactant replacement ($p < 0.05$ vs. value after BAL). Slope of PIP-perfusion pressure difference (i.e. maximum minus minimum perfusion pressure) also decreased after BAL ($p < 0.05$), and then increased following surfactant replacement ($p < 0.05$ vs. value after BAL). The third experiment was performed to ascertain the effect of static airway pressure on perfusion pressure. Perfusion pressures were recorded at baseline, after BAL and after surfactant replacement for 5 cmH₂O and 12.5 cmH₂O static airway pressures. For both static airway pressures, the perfusion pressure scarcely changed throughout the course of the experiment. It was concluded that the alveolar surface tension influences the pulmonary circulation when the lungs are ventilated. Elevated surface tension due to surfactant deficiency reduces the pulmonary perfusion pressure and the sensitivity to ventilation. The return to normal surface tension following surfactant replacement increases the pulmonary perfusion pressure and the sensitivity to ventilation.