

Respiratory Failure Induced by Highly Concentrated Oxygen : Therapeutic and Prophylactic Effects of Pulmonary Surfactant Replacement, and Influences of Mechanical Ventilation

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/2297/8353

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

金沢大学医学部麻酔・蘇生学講座（主任：村上誠一教授）

谷 口 淳 朗

（平成3年8月26日受付）

酸素中毒による呼吸不全に対し、サーファクタント補充療法が有効か否かと人工呼吸が及ぼす影響について、成熟ウサギ（日本白色種）38羽を用い検討した。酸素中毒の経過を観察した群（ $n=7$ ）は、酸素ボックス（酸素濃度95%以上）内で飼育後、 88 ± 20 時間（mean \pm SD）で“あえぎ呼吸”を開始し、 96 ± 20 時間で死亡した。また、死亡直後に 11.3 ± 2.0 mlの肺水腫液が得られた。サーファクタント補充療法による治療効果を検討した群（ $n=7$ ）では、酸素ボックス内で飼育中に“あえぎ呼吸”を開始した時点で、純酸素による人工呼吸を施行した。“あえぎ呼吸”開始時の動脈血酸素分圧（ PaO_2 ）は 480 ± 58 mmHgであったが、人工呼吸施行8時間後には 101 ± 70 mmHgにまで低下した。この PaO_2 が低下したウサギに対し、天然抽出型サーファクタント（Surfactant CK、濃度=25mg/ml）を2.5ml/kgあて気管内チューブを介して肺内に注入するというサーファクタント補充療法を施行しても、 PaO_2 が常に上昇するとは限らなかった。酸素ボックス内飼育64時間目（“あえぎ呼吸”開始以前）に純酸素による人工呼吸を施行した群（ $n=7$ ）でも、500mmHg以上の PaO_2 が12時間後には100mmHg以下になった。すなわち、酸素ボックス内で自発呼吸にまかせた場合よりも人工呼吸施行時の方が PaO_2 はむしろ早期に低下した。これに対し、64時間の酸素ボックス内飼育後、 PaO_2 がまだ高い時期に予防的に上記と同様のサーファクタント補充療法を施行した群（ $n=7$ ）では、引き続いて人工呼吸を12時間続けても、 PaO_2 の平均値は300mmHg以上に保たれた（予防的に補充療法を施行しなかった群に対し $p<0.05$ ）。なお、酸素ボックス内で飼育しないウサギ（ $n=10$ ）にも、同じ条件の人工呼吸を8ないし12時間施行したが、 PaO_2 の変化はみられなかった。気泡型表面張力計で測定した Surfactant CK の最小表面張力は 1.4 ± 0.5 mN/m（ $n=7$ ）であり、十分な表面活性を持つと判定された。しかし、この Surfactant CK に上述した肺水腫液を添加すると、最小表面張力は 20.6 ± 1.1 mN/mに上昇し（ $p<0.05$ ）、表面活性はほぼ消失した。以上の結果より、酸素中毒の準備状態にある場合、間歇的陽圧呼吸を施行すると、肺障害の加速されることが確かめられた。また、酸素中毒で発生する肺水腫液には、サーファクタントの活性を阻害する作用のあることが明らかにされた。さらに、酸素中毒による呼吸不全が完成してしまってからでは、肺水腫液が存在するため、サーファクタント補充療法の効果は不確実であると考えられた。しかし、高濃度酸素と人工呼吸の組合せによりもたらされる肺障害は、呼吸不全が発症する前に予防的に補充療法を施行すれば、軽減できると結論された。

Key words respiratory failure, oxygen toxicity, surfactant replacement, surfactant inhibitor, mechanical ventilation

Abbreviations: ARDS, adult respiratory distress syndrome; γ max, maximum surface tension; γ min, minimum surface tension; PEEP, positive end-expiratory pressure; PIP, peak inspiratory pressure; RDS, respiratory distress syndrome

動物を高濃度酸素に長時間暴露すると、肺コンプライアンスの低下、肺水腫、無気肺などが発生し、成人呼吸窮迫症候群 (adult respiratory distress syndrome, ARDS) 様の呼吸不全をきたすことが知られている^{1)~3)}。この病態は、肺サーファクタントの質的ならびに量的低下に際しておこる変化と類似している⁴⁾。事実、高濃度酸素吸入によって、肺サーファクタントの量は時間とともに漸減することが確認されており、成熟ウサギでは肺毛細管の透過性亢進と相まって、76~88時間目には死亡すると報告されている⁵⁾。

高度の呼吸不全に対しては、人工呼吸で対処するのが一般的である。一方、肺サーファクタントの欠如した未熟動物や呼吸窮迫症候群 (respiratory distress syndrome, RDS) の未熟児に対し、外部から経気道的に肺サーファクタントを補充する方法は、呼吸不全を著明に改善することが確認されている⁶⁾。また、気管内塩酸注入により呼吸不全を呈した動物に対しても、サーファクタント補充療法の有効なことが報告されている⁷⁾。これらのことから、酸素中毒による呼吸不全にも、補充療法が有効ではないかと考えられる。今回、著者は、成熟ウサギを用い、酸素中毒発生の経過を観察するとともに、酸素中毒による呼吸不全の治療および予防に対する補充療法の有効性と、人工呼吸の効果を検討した。また、酸素中毒によって発生した肺水腫液が、サーファクタントの活性に与える影響についても検討した。

対象および方法

I. 補充用サーファクタントの作成

補充用サーファクタントには、金沢大学医学部麻酔・蘇生学教室で開発された Surfactant CK を使用した⁸⁾。すなわち、健常ブタの摘出肺を生理食塩水で洗浄し、回収した洗浄液から 100×g、10分間の遠心により細胞成分を除去した後、さらに 2000×g、4°C、60分間の遠心により沈澱させた白濁層を採取した。この層から、クロロホルムとメタノール (2:1) の混合液により脂質分画を抽出し、次いで、0.45%食塩水を用いた Folch 洗浄法⁹⁾で蛋白含有量を減少させた。さらに、アセント沈澱法により中性脂質やコレステロールを除去したうえ、凍結乾燥したものを Surfactant CK とした。なお、このサーファクタントの主成分は、リン脂質 (98%) と疎水性タンパク質 (1%) である。

II. 酸素中毒の経過観察と、補充療法の治療および予防効果の検討

実験の対象には、体重 2.2~3.7kg の成熟ウサギ (日本白色種) を用いた。酸素中毒は、ウサギを酸素ボッ

クス内で飼育することによって作成した。すなわち、透明アクリル板製のボックス (45×55×70cm) に動物を 1羽ずつ収容し、2l/min の酸素を吹送して内部の酸素濃度を 95% 以上に保持した。炭酸ガス濃度は、吸引装置を設置して 0.3% 以下に保つようにした。また、温度を約 30°C、湿度を約 90% に保った。この条件下で、飼料と飲料水を自由に摂取できるようにして一定期間飼育し、酸素中毒の経過を観察するとともに、補充療法による酸素中毒の治療と予防効果に関する実験をおこなった。なお、治療および予防の実験では、酸素ボックス内で飼育しない同種の正常動物を対照として使用した。

1. 酸素中毒の経過観察

この観察には、7羽のウサギ (A群) を前述の酸素ボックス内で死亡するまで放置し、その間、異常呼吸の発現時間および死亡時間を測定した。死亡直後、気管切開孔より挿管し、肺水腫液を採取した。肺水腫液は、1000×g、10分間遠心して凝固物を除去し、その後の測定のために凍結保存 (-20°C) した。また、肺を摘出し重量を測定した。

2. 酸素中毒に対する補充療法の治療および予防効果の検討

1) 治療効果の検討

この実験には、酸素ボックス内で飼育して酸素中毒を発症させたウサギ 7羽 (B群) と、正常なウサギ 5羽 (N-1群) の計 12羽を使用した。

B群は、酸素ボックス内で飼育中に、頭部を挙上し独特の“あえぎ呼吸”を開始した時点で、酸素ボックスから取り出した。直ちに酸素マスク (5l/min) を装着し、塩酸ケタミン (50mg/kg) (三共、東京) の筋注および 0.5% 塩酸メピバカイン (2~4ml) (吉富製薬、大阪) の局所麻酔下に気管切開をおこない、内径 3.5mm の気管内チューブを挿管、純酸素を用いて人工呼吸を開始した。人工呼吸器には Servo Ventilator (900B, Siemens-Elcoma, Solna, Sweden) を使用し、実験の全経過を通じ呼吸回数を 1分間あたり 30回、吸気と呼気の時間比 (I/E ratio) を 1/1 に固定した。なお、人工呼吸開始当初は、最大吸気圧 (peak inspiratory pressure, PIP) を 10cmH₂O とし、終末呼気陽圧 (positive end-expiratory pressure, PEEP) は付加しなかった。

人工呼吸中は、乳酸加リンゲル液 (10ml/kg/hr) を耳介静脈より持続輸液するとともに、ペントバルビタール (20mg/kg/hr) (大日本製薬、大阪) と臭化パンクロニウム (0.1mg/kg/hr) (日本オルガノン、東京) を持続投与し、一定の麻酔深度と非動化を保った。また、大腿動脈には血圧測定と採血のためのカテーテル

を留置した。さらに、圧トランスデューサー(TP-602T, 日本光電, 東京)を介して、気道内圧を常時監視するとともに、必要に応じて毛布を用いて直腸温を35.2~38.0°Cに保つようにした。

上記の条件で人工呼吸中、1時間おきに動脈血を採取し、自動ガス分析装置(ABL 2, Radiometer, Copenhagen, Denmark)で血液ガスを測定した。経過中、動脈血酸素分圧(PaO₂)が300mmHg以下となった場合には、PIPを5cmH₂Oずつ上昇させた。PIPを20cmH₂OにしてもPaO₂が300mmHg以下にとどまる場合には、5cmH₂OのPEEPも付加した。このようにして、PIPが20cmH₂O、PEEPが5cmH₂Oの条件下でも300mmHg以上のPaO₂が得られなくなった時点で、補充療法を施行した。補充療法には、気管内チューブを介して、生理食塩水に分散したSurfactant CK(濃度=25mg/ml)を2.5ml/kgあて肺内に注入するという方法を用いた。注入に際しては、左および右の側臥位を交互にとらせて1.25ml/kgずつ注入し、補充したサーファクタントが肺全体に行き渡るように配慮した。その後は、補充療法直前と同じ条件の人工呼吸を続け、血液ガスの推移を1時間観察した。

N-1群の5羽については、高濃度酸素下での飼育をおこなわずに、B群と同様の方法で麻酔および非動化をおこない、気管切開および気管内挿管後、純酸素を用いた人工呼吸下での動脈血ガス分圧の推移を8時間観察した。なお、この際の人工呼吸の条件は、B群の人工呼吸開始時の初期設定(PIP=10cmH₂O, 回数=30回/分)と同様にした。8時間の観察後、致死量のベントバルビタールを投与して屠殺し、肺水腫液の採取を試みたうえ、摘出肺の重量も測定した。

2) 予防効果の検討

この実験には、酸素ボックス内で飼育したウサギ14羽と、正常ウサギ5羽(N-2群)の合計19羽を使用した。

酸素ボックス内で飼育した14羽の動物については、飼育64時間目、すなわち、未だ“あえぎ呼吸”を開始しない時期にボックスから取り出し、前記の治療効果の検討と同様の麻酔と呼吸管理をおこなった。人工呼吸開始15分後、これらの動物を無作為に、C群(n=7)とD群(n=7)に分けた。C群には、治療効果の検討のときと同様に、Surfactant CKの分散液を2.5ml/kgあて肺内に注入した。D群には、偽薬として生理食塩水のみを2.5ml/kgあて、同様の方法で肺内に注入した。また、酸素ボックス内で飼育しないN-2群のウサギに対しても、同様に人工呼吸を開始し、生理食塩水2.5ml/kgを肺内に注入した。サーファクタン

トないし生理食塩水の肺内注入操作後は、PIPを10cmH₂O、呼吸回数を30回/分に固定した人工呼吸を続け、注入6時間目以降から12時間目までの血液ガスを経時的に測定した。

全ての測定が終了した後、致死量のベントバルビタールを投与して動物を屠殺した。肺を摘出し、気道に30cmH₂Oの圧の窒素ガスを吹送して肺胞を一旦拡張させた後、圧を下げて10cmH₂Oに保ちながら、肺動脈に10%ホルムアルデヒドを持続注入して肺組織を固定した。固定した標本は、ヘマトキシリン・エオジン染色後、鏡検に供した。

III. 肺水腫液のタンパク質含有量の測定、およびサーファクタントの活性に及ぼす影響

A群(酸素ボックス内で死亡した動物)で得られた肺水腫液のタンパク質含有量をピウレット法¹³⁾で測定した。また、肺水腫液、肺水腫液にSurfactant CKを10mg/mlの濃度で分散させたもの、および生理食塩水にSurfactant CKを10mg/mlの濃度で分散させたもの、の三者について動的表面張力(γ)を測定した。この測定には、気泡型表面張力計(Oscillating Bubble Apparatus, Model ASC, Surfactometer International, Toronto, Canada)を用いた¹⁴⁾。まず、25 μ lの被検液を測定室に入れ、37°Cに加温したうえ、その中に半径0.55mmの気泡を作成した。次いで、気泡を5分間拍動させ(速度=30cpm, 半径変化範囲=0.40~0.55mm)、気泡内外の圧差(Δp)と半径(R)から、Laplaceの式($\Delta p=2\gamma/R$)により γ を求めた。なお、気泡の半径が最小のときの値を最小表面張力(minimum surface tension, γ_{min})、最大のときの値を最大表面張力(maximum surface tension, γ_{max})とした。

IV. 統計処理

各測定値は平均値 \pm 標準偏差(mean \pm SD)で表した。平均値の比較には、分散分析とSchefféの多重比較法を用い、P値<0.05を有意差とした。

成 績

I. 酸素中毒の経過

酸素ボックス内に放置したA群(n=7)は、88 \pm 20時間目に“あえぎ呼吸”を開始し、96 \pm 20時間目に死亡した。“あえぎ呼吸”開始から死亡までは8.0 \pm 2.7時間であった。なお、呼吸パターンに異常がみられるまでは、食欲、活動状態などを含めて、外見上の所見には変化がなかった。表1に、A群の体重、摘出肺重量および死亡直後に採取された肺水腫液量を、治療効果の検討に用いたN-1群(酸素ボックス内飼育をおこな

わず、8時間の人工呼吸後屠殺)のものとは対比して示す。なお、N-1群(n=5)では、肺水腫液を認めなかった。一方、A群で採取された肺水腫液量は体重1kgあたりに換算すると3mlを超えており、肺と肺水腫液の合計、すなわち全肺重量はN-1群の3倍以上であった。

II. 酸素中毒に対する補充療法の治療効果

表2に、B群およびN-1群の人工呼吸中のPaO₂とPaCO₂を示す。酸素ボックス内飼育中に、“あえぎ呼吸”を呈した時点(88±15時間)で人工呼吸を開始し、15分間が経過した時点でのB群のPaO₂と酸素ボックス内飼育をしなかったN-1群のそれとの間には有意差が無かった。その後、人工呼吸を8時間続けても、N-1群ではPaO₂に有意な変化が認められなかった。しかし、B群では、人工呼吸開始の後、時間の経過と共にPaO₂は低下し、人工呼吸開始8.2±1.0時間後、すなわちサーファクタント補充療法直前には、20cmH₂OのPIPと5cmH₂OのPEEPを付加した条件下でも、PaO₂が100mmHg前後にまで低下し、

N-1群との間に有意差を示した。一方、PaCO₂には、人工呼吸を開始した時点で、すでにB群とN-1群との間に有意差を認めた。また、N-1群のPaCO₂は8時間後も変化しなかったのに対して、B群では時間の経過とともに上昇し、両群間の差はさらに拡大した。

図1に、B群における補充療法前後のPaO₂の推移を示す。補充療法後、7羽のうちの2羽で、PaO₂が300mmHg以上に上昇した。しかし、他の5羽では明らかに変化が認められなかった。図2に、B群におけるPaCO₂の推移を示す。補充療法施行直前の値は69.0±24.7mmHg、施行60分後の値が78.9±32.8mmHgで、両群間には有意な差は認められなかった。

III. 酸素中毒に対する補充療法の予防効果

図3に、予防効果の検討でのPaO₂の推移を示す。高濃度酸素を64時間吸入させた時点では、C群およびD群のウサギに“あえぎ呼吸”はみられなかった。また、人工呼吸開始直後のPaO₂には、酸素ボックス内飼育をしない正常なN-2群のウサギのそれとの間に有意差を認めなかった。予防的補充療法施行の6時間

Table 1. Weights of body, lung and edema fluid in rabbits exposed to >95% oxygen until death and in normal rabbits

Group	n	Body (kg)	Lung (g)	Edema (g)	Lung+Edema (g)
A	7	3.0±0.6	25.0±3.5*	11.3±2.0*	36.0±3.8*
N-1	5	3.1±0.4	11.8±2.0	none	11.8±2.0

Values are mean±SD. n, number of rabbits. A, rabbits exposed to >95% oxygen until death. N-1, normal rabbits kept under normal environmental conditions and mechanically ventilated for 8hr with 100% oxygen. *, Significantly different from group N-1 (p<0.05).

Table 2. Arterial blood gas changes in rabbits after mechanical ventilation was started

	Group	n	Time after ventilation	
			15min	8hr
PaO ₂ (mmHg)	B	7	480±58	101±70* [▲]
	N-1	5	531±42	526±38
PaCO ₂ (mmHg)	B	7	48.8±15.2*	69.0±24.7* [▲]
	N-1	5	21.0±6.0	24.5±6.0

Values are mean ± SD. n, number of rabbits. B, rabbits exposed to >95% oxygen until the onset of gasping before mechanical ventilation. N-1, normal rabbits kept under normal environmental conditions. *, Significantly different from group N-1 (p<0.05). The rabbits were under pressure controlled ventilation with 100% oxygen and 10 cmH₂O peak inspiratory pressure (PIP) except [▲](20cmH₂O PIP and 5cmH₂O positive end-expiratory pressure, and measured at 8.2±1.0hr after ventilation).

後、すなわち高濃度酸素吸入70時間目以降は、Surfactant CK が投与されたC群、および偽薬として生理食塩水が投与されたD群の PaO₂は、人工呼吸開始直後に比較して共に低値を示した。しかしC群の値は、326±108mmHg であったのに対し、D群では161±80mmHg であり、両群の差は有意であった。その後におけるC群の PaO₂は、大きな変化を示さず、平均値で 300mmHg 以上を保ったのに対し、D群の PaO₂は漸次低下し、最終的には 100mmHg 以下に

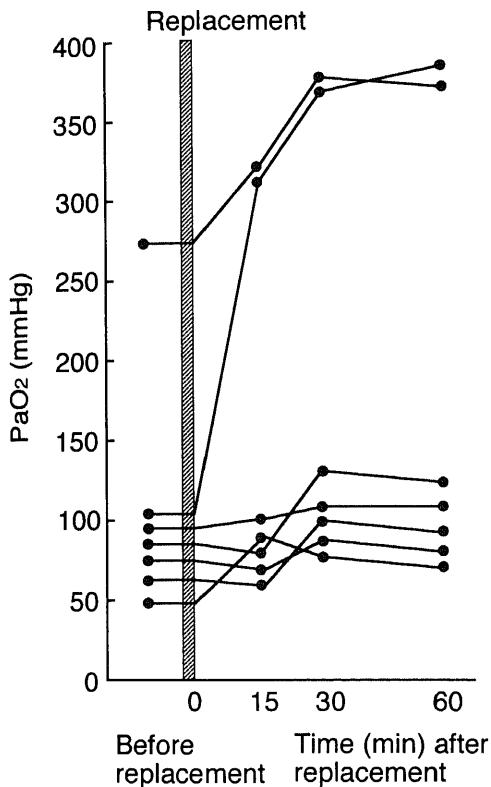


Fig. 1. PaO₂ values of each rabbit in the therapeutic experiment. All rabbits (n=7) were placed in oxygen box (oxygen concentration >95%) until the onset of gasping, and then mechanically ventilated with 100% oxygen, 30 breath/min, 20cmH₂O peak inspiratory pressure and 5cmH₂O positive end-expiratory pressure. When PaO₂ decreased to below 300mmHg under the mechanical ventilation, surfactant replacement was performed. After the replacement, PaO₂ of two rabbits increased to over 300mmHg, but the values of other five animals did not increase. Replacement, 2.5ml/kg of a modified natural surfactant (Surfactant CK, 25mg/ml physiological saline solution) was instilled into the lung via endotracheal tube.

なった。なお、N-2 群の PaO₂には、全経過を通じ有意な変動がみられなかった。

図4に、予防効果の検討での PaCO₂の推移を示す。予防的補充療法施行の6時間後における PaCO₂は、C群およびD群とも、人工呼吸開始直後に比べて高値を示した。しかし、偽薬を投与したD群の上昇度は著し

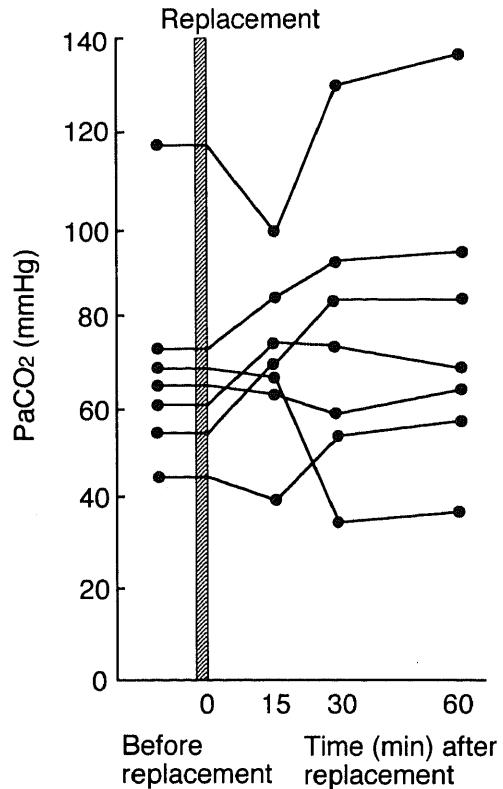


Fig. 2. PaCO₂ values of each rabbit in the therapeutic experiment. All rabbits (n=7) were placed in oxygen box (oxygen concentration >95%) until the onset of gasping, and then mechanically ventilated with 100% oxygen, 30 breath/min, 20cmH₂O peak inspiratory pressure and 5cmH₂O positive end-expiratory pressure. When PaO₂ decreased to below 300mmHg under the mechanical ventilation, surfactant replacement was performed. Before the replacement, PaCO₂ of all rabbits were already higher than normal rabbits that were not placed in oxygen box but were mechanically ventilated with the same conditions. Any uniform changes in the PaCO₂ values were not seen by the replacement. Replacement, 2.5ml/kg of a modified natural surfactant (Surfactant CK, 25mg/ml physiological saline solution) was instilled into the lung via endotracheal tube.

く、12時間後、すなわち高濃度酸素吸入が76時間目の値は、 $112.7 \pm 46.9 \text{ mmHg}$ であり、C群 ($61.8 \pm 20.7 \text{ mmHg}$) との間に有意差を認めた。なお、N-2群の PaCO_2 には、全経過を通じ有意な変動がみられなかった。

図5に、予防効果の検討で得られた肺組織を示す。酸素ボックス内飼育をおこなっていないN-2群では、偽薬の注入と12時間の人工呼吸をおこなったにもかかわらず、異常所見はみられなかった。一方、64時間の酸素ボックス内飼育をおこなったC群およびD群では、いずれも間質の肥厚、および間質への白血球浸潤

がみられた。しかし、D群では、上記の所見に加えて、肺水腫液の出現や肺胞腔への白血球遊出がみられ、C群に比較して組織の変化がより高度であった。

IV. 肺水腫液の蛋白質含有量、およびサーファクタントの活性に及ぼす影響

表3に示すように、生理食塩水に分散した Surfactant CK の γ_{min} は 2 mN/m 以下であり、 γ_{max} は 31 mN/m 前後であった。一方、肺水腫液に Surfactant CK を分散した場合の γ_{min} は 19 mN/m 以上、 γ_{max} は 40 mN/m 以上であり、生理食塩水に分散した場合に比べて有意に高い値を示した。なお、肺水腫

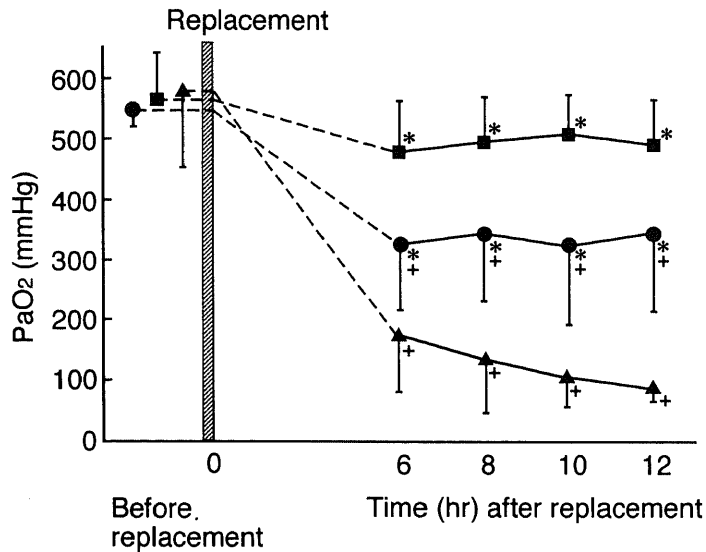


Fig. 3. PaO_2 values in the prophylactic experiment. Rabbits in the groups C (●—●, $n=7$) and D (▲—▲, $n=7$) were placed in oxygen box (oxygen concentration $>95\%$) for 64hr, and then mechanically ventilated with 100% oxygen, 30 breath/min and $10 \text{ cmH}_2\text{O}$ peak inspiratory pressure. Rabbits in the group N-2 (■—■, $n=5$) were not placed in oxygen box but mechanically ventilated by the same conditions with the other groups. Then, Surfactant CK was instilled in the group C, and the placebo was instilled in the groups N-2 and D. At the beginning of the mechanical ventilation (before replacement), there was no significant difference in PaO_2 among the three groups. PaO_2 of the group N-2 did not change throughout the experiment. In the group C, PaO_2 decreased under the mechanical ventilation, but the values were significantly higher than those of the group D from 6hr after the replacement until end of the experiment. Replacement, 2.5 ml/kg of a modified natural surfactant (Surfactant CK, 25 mg/ml physiological saline solution) was instilled in the group C, or 2.5 ml/kg of the placebo (physiological saline) was instilled in the groups N-2 and D into the lung via endotracheal tube. Values are mean \pm SD. *, Significantly different from the group D ($p < 0.05$). +, Significantly different from the value obtained before replacement ($p < 0.05$).

液中のタンパク質量は $5.8 \pm 0.3 \text{g/dl}$ であった。

考 察

重症の呼吸不全患者では、吸気中の酸素濃度を上昇させないと生命を維持できない場合がある。しかし、高濃度酸素自体が肺を障害することは、酸素中毒としてよく知られており、呼吸不全の患者を管理するうえでの二律背反ともいえる問題である。

今回の実験で、酸素ボックス内で飼育したウサギ(B群)は、88時間前後で“あえぎ呼吸”を始めた。この呼吸は、肺コンプライアンスが低下したために、肺胞を開こうとして呼吸筋を総動員したことによるもの

と考えられる。しかし、この時点での人工呼吸下の PaO_2 は、正常なウサギ(N-1群)のそれと比べて、差がみられなかった。但し、その後約8時間という短時間のうちに、B群の PaO_2 は 100mmHg 近くまでに低下し、重篤な呼吸不全が発生した。つまり、酸素中毒による呼吸不全は、高濃度酸素を一定時間吸入した後に発症し、一旦発症するとその進行は速いと考えられる。Holmら¹⁹⁾も、ウサギに64時間高濃度酸素を吸入させると、室内空気に戻しても12~24時間後に低酸素血症が出現すること、およびその低酸素血症は進行が比較的急激であることを報告している。

今回、死亡するまで酸素ボックス内に放置したウサ

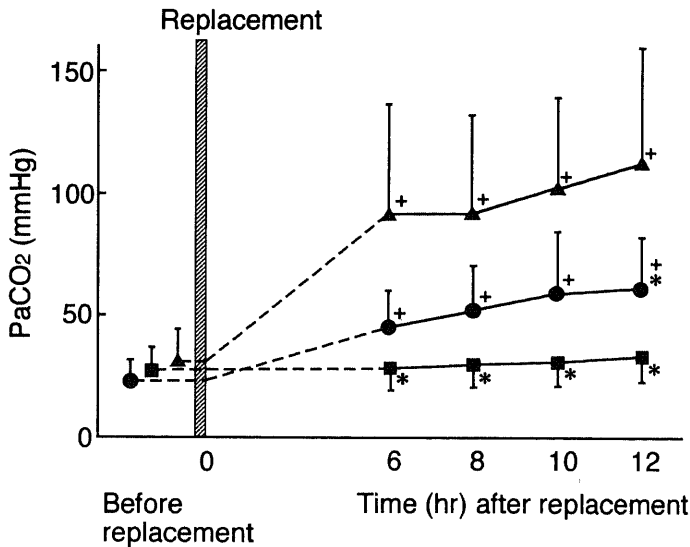


Fig. 4. PaCO_2 values in the prophylactic experiment. Rabbits in the groups C (●—●, $n=7$) and D (▲—▲, $n=7$) were placed in oxygen box (oxygen concentration $>95\%$) for 64hr, and then mechanically ventilated with 100% oxygen, 30 breath/min and $10 \text{cmH}_2\text{O}$ peak inspiratory pressure. Rabbits in the group N-2 (■—■, $n=5$) were not placed in oxygen box but mechanically ventilated by the same conditions with the other groups. Then, Surfactant CK was instilled in group C, and the placebo was instilled in the groups N-2 and D. At the beginning of the mechanical ventilation (before replacement), there was no significant difference in PaCO_2 among the three groups. PaCO_2 of the group N-2 did not change throughout the experiment. In the group C, PaCO_2 increased under the mechanical ventilation, but the value was significantly lower than that of the group D in 12hr after the replacement. Replacement, 2.5ml/kg of a modified natural surfactant (Surfactant CK, 25mg/ml physiological saline solution) was instilled in the group C, or 2.5ml/kg of the placebo (physiological saline) was instilled in the groups N-2 and D into the lung via endotracheal tube. Values are mean \pm SD. *, Significantly different from the group D ($p < 0.05$). +, Significantly different from the value obtained before replacement ($p < 0.05$).

ギ (A群) の肺重量は、正常なウサギ (N-1 群) の肺重量の3倍を超えており、これには肺水腫液の重量も加わっていることが明らかとなった。今回の実験では、“あえぎ呼吸”を開始した時点における肺重量を測定していないので、その後の約8時間で肺水腫液がどれくらい増加したかは明確ではない。しかし、肺水腫は短時間のうちに出現するという報告もあり¹⁰、“あえぎ呼吸”開始以降の急速な呼吸状態の悪化は、肺水腫

の急激な進展と密接に関係しているものと考えられる。

肺水腫が発生すれば、気道や肺胞の内腔が占拠され、ガス交換が障害されるという機械的閉塞が呼吸不全の機序として考えられる。しかし、今回の補充療法予防効果の検討では、高濃度酸素を吸入させなかった正常な動物 (N-2 群) の肺内に2.5ml/kgの生理食塩水を注入しても、動物血ガス分圧はほとんど変化しな

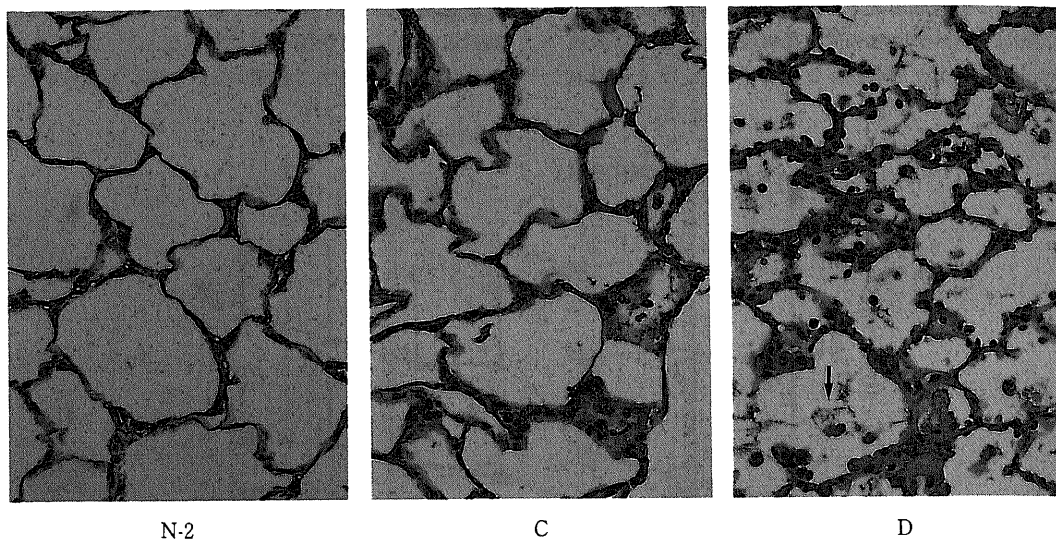


Fig. 5. The rabbit's lungs after the prophylactic experiment. N-2 was not placed in oxygen box (oxygen concentration >95%), but mechanically ventilated for 12hr with 100% oxygen, 30 breath/min and 10cmH₂O peak inspiratory pressure. C and D were placed in oxygen box for 64hr and mechanically ventilated for 12hr with the same conditions. C, replaced with a modified natural surfactant (Surfactant CK, 25mg/ml physiological saline solution) at the beginning of the mechanical ventilation; D and N-2, replaced with the placebo (physiological saline) at the beginning of the mechanical ventilation. Hematoxyline-eosin stain. $\times 400$. \downarrow , proteinaceous lung edema fluid fixed by formaldehyde and leucocytes in an alveolar space.

Table 3. Surface tension of Surfactant CK suspended in physiological saline and edema fluid, and edema fluid alone

	n	γ min (mN/m)	γ max (mN/m)
Surfactant CK in physiological saline	7	1.4 \pm 0.5	31.0 \pm 1.8
Surfactant CK in edema fluid	7	20.6 \pm 1.1*	46.1 \pm 4.6*
Edema fluid alone	7	31.3 \pm 4.3* [▲]	54.8 \pm 4.2* [▲]

Values are mean \pm SD. n, number of measurements. γ min, minimum surface tension. γ max, maximum surface tension. The concentration of Surfactant CK in physiological saline and edema fluid was adjusted to 10mg/ml. *, Significantly different from Surfactant CK in physiological saline ($p < 0.05$). [▲], Significantly different from Surfactant CK in edema fluid ($p < 0.05$).

かった。また、Kobayashiら¹⁰⁾は、気道や肺胞に液体が存在しても、適切な人工呼吸をおこなっている限りPaO₂の低下は軽度で、液体の存在がガス交換を直接障害することは少ないと述べている。以上より、肺水腫液の出現と相前後して現れた呼吸不全については、機械的閉塞以外の機序が関与している可能性が考えられる。

今回、Surfactant CKを肺水腫液に分散した場合の γ_{\min} は20mN/mを超え、生理食塩水に分散したものの(2mN/m以下)よりも有意に高い値を示した。肺サーファクタントは、 γ_{\min} が10mN/mを超えると、生理的活性を示さなくなるといわれている¹⁶⁾。従って、上記の所見は、肺水腫液がサーファクタントの活性を阻害せしめたことを示すものである。Fuchimukaiら¹⁷⁾、Ikegamiら¹⁸⁾、Seegerら¹⁹⁾、および新多ら²⁰⁾も、血液や肺水腫液中のタンパク質によりサーファクタントの活性が著明に阻害されることを見出ししている。今回の実験で得られた肺水腫液中のタンパク質含有量は5.8g/dlで、血清とほぼ等しいものであった。すなわち、今回の実験でみられた呼吸不全の機序の一つは、タンパク質に富んだ肺水腫液により、サーファクタントが不活化されたためと考えられる。

今回、実験に用いた Surfactant CKの補充療法は、肺洗浄ウサギおよびイヌ^{21)~23)}、ウサギ未熟胎仔²⁴⁾²⁵⁾、新生児呼吸窮迫症候群の患児²⁶⁾、気管内に塩酸が注入されたウサギ²⁷⁾、塩素ガスを吸入させたラット²⁸⁾など、サーファクタントの質的ならびに量的低下に基づいた呼吸不全に対し、著効を示すことが確認されている。しかし、今回の実験で、酸素中毒による呼吸不全が完成した後に補充療法をおこなった動物(B群)では、一部に効果を認めたものもあるが、一般的にみて治療効果は不確実であった。これは、前述したように、サーファクタントの活性を阻害する物質、すなわちタンパク質濃度の高い肺水腫液が肺胞に存在していたためと考えられる。さらに、酸素中毒の末期には、硝子膜形成、肺毛細管内の血栓形成、肺胞内出血など、肺構造の破壊がおこる²⁹⁾。これらの変化が完成した状態では、サーファクタント補充療法を含め、いかなる治療も効果をもたらさないのは当然であろう。Ennemaら³⁰⁾も、モルモットを用いた実験で、酸素中毒が完成した状態ではサーファクタント補充療法の効果が期待できないと報告している。

酸素中毒では、白血球が活性化されて種々の有害物質を放出し、肺毛細管壁の透過性が亢進するといわれている³¹⁾。一方、Holmら³²⁾は、成熟ウサギを用いた実験で、高濃度酸素を64時間吸入させた時点では、血液

ガスに異常所見はみられないものの、肺サーファクタントの量はすでに30%以下に減少していたと報告している。また、紫藤ら³³⁾、Kobayashiら³⁴⁾は、肺サーファクタントの生理的臨界濃度という概念を提唱しており、肺胞の表面活性を保つためには、ある程度以上のサーファクタント濃度が必要であり、その濃度を僅かに下まわっただけでも、生理的な作用が急激に消失すると述べている。肺サーファクタントは、肺胞の表面張力を低下させて無気肺を防止するとともに、肺胞内圧と毛細管静水圧との間の圧勾配を保ち、肺水腫の発生を防止している物質である³⁵⁾。すなわち、酸素中毒では、サーファクタントが有効濃度以下となって肺胞内圧と毛細管静水圧との間の圧勾配を保てなくなり、これに上述の肺毛細管や肺胞上皮の透過性亢進が加わって、急激に肺水腫が発生するという機序が考えられる。また、肺水腫が発生すれば、残存しているサーファクタントの活性がさらに阻害されるという悪循環に陥るものと想定される。

今回の酸素中毒予防実験において、早期に補充療法を施行したウサギ(C群)でも、間質の肥厚や細胞浸潤などの変化がみられた。しかし、肺腔に水腫液や白血球はみられず、呼吸不全の程度は偽薬が投与された動物(D群)に比べ軽度であった。したがって、この実験結果は、サーファクタントの不活性化と肺水腫液の出現に関する上記の想定を裏付けるものといえる。

酸素ボックス内で飼育、放置したウサギ(A群)が“あえぎ呼吸”を開始した時間、および死亡した時間は、高濃度酸素吸入後それぞれ、88±20時間、および96±20時間であり、従来の報告⁹⁾とほぼ一致する。しかし、予防効果の検討におけるD群のウサギで、動脈血ガス分圧に異常がみられたのは、高濃度酸素吸入の70時間(64時間の酸素ボックス内飼育に6時間の人工呼吸を加えた時間)後であり、酸素ボックス内で飼育され自発呼吸にまかせた動物に比べ、早期に呼吸不全に陥ったことになる。これは、高濃度酸素の吸入によって酸素中毒が発生しつつある肺に、間歇的陽圧呼吸を施行すると、肺障害が加速されることを示唆している。この肺障害の加速機序については、今後の検討を必要とする。しかし、Kolobowら³⁶⁾は、間歇的陽圧呼吸のみによっても、肺サーファクタントが障害を受けることを報告しており、この問題にもサーファクタントの関与している可能性がある。

重症の呼吸不全患者の管理に際し、高濃度酸素を用いた人工呼吸は不可欠の手技である。しかし、今回の実験結果とこれらの考察は、すでに高濃度酸素が投与

されている患者に対して、不用意な人工呼吸をおこなうと、肺の状態をさらに悪化させる可能性があることを示すものであり、注意が喚起される。

今回の実験結果より、酸素中毒では、肺水腫の発生とサーファクタントの不活化という悪循環を早期に断ち切ることが重要であり、そのためには予防的サーファクタント補充療法が有効であると結論された。また、今回の結果は、肺障害の発生機序が酸素中毒と類似しているARDSに対しても、早期に予防的補充療法をおこなえば、効果が得られる可能性を示唆するものである。しかし、サーファクタント補充療法を成人に対して使用するには、投与方法、投与量、アレルギー反応など、未解決の問題も多い。今後、臨床応用に向けて、さらに詳細な検討が進められる必要があるものと思われる。

結 論

成熟ウサギを用い、酸素中毒による呼吸不全の、発症経過を観察したうえ、サーファクタント補充療法および人工呼吸による呼吸不全の治療および予防効果を検討し、考察を加えた。さらに、酸素中毒に際して発生する肺水腫液がサーファクタントの活性に与える影響を検討し、以下の結論を得た。

1. 酸素中毒による呼吸不全は、高濃度酸素を一定時間吸入した後に肺水腫を伴って発症し、一旦発症するとその進行は急激であった。

2. 酸素中毒の準備状態にある場合に、高濃度酸素を用いて人工呼吸をおこなうと、肺の状態をさらに悪化させる可能性が示唆され、人工呼吸の適用には十分な注意が必要であると考えられた。

3. 酸素中毒に際して発生する肺水腫液には、サーファクタントの活性を強く阻害する作用が認められた。

4. 酸素中毒による呼吸不全が発症した後、肺サーファクタント補充療法を施行しても、肺水腫液が存在するためにその有効性は期待し難いと考えられた。

5. しかし、呼吸不全に陥る前に、肺サーファクタントを予防的に補充することにより、肺障害の進行を軽減することができた。

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、直接御指導いただいた小林 勉助教授に深く感謝するとともに、本研究遂行にあたり御協力いただきました、麻酔・蘇生学教室の諸先生方、および研究助手の方々に対し、厚く御礼申し上げます。なお、本研究の一部は、文部省科学研究費（課題番号0254352）およ

び日本医師会研究助成費（昭和63年度）の助成を受けたことを付記し、謝意を表します。

文 献

- 1) Clark, J. M. & Lambertsen, C. J.: Pulmonary oxygen toxicity: A review. *Pharmacol. Rev.*, **23**, 37-133 (1971).
- 2) Matalon, S. & Egan, E. A.: Effects of 100% O₂ breathing on permeability of alveolar epithelium to solute. *J. Appl. Physiol.*, **50**, 859-863 (1981).
- 3) Nickerson, P. A., Matalon, S. & Farhi, L. E.: An ultrastructural study of alveolar permeability to cytochrome C in the rabbit lung; Effect of exposure to 100% oxygen at one atmosphere. *Am. J. Pathol.*, **102**, 1-9 (1981).
- 4) Gross, N. J. & Smith, D. M.: Impaired surfactant phospholipid metabolism in hyperoxic mouse lungs. *J. Appl. Physiol. Respir. Environ. Exercise Physiol.*, **51**, 1198-1203 (1981).
- 5) Matalon, S., Holm, B. A. & Notter, R. H.: Mitigation of pulmonary hyperoxic injury by administration of exogenous surfactant. *J. Appl. Physiol.*, **62**, 756-761 (1987).
- 6) 小林 勉: ウサギ未熟胎仔に対する人工サーファクタント補充療法. *北陸麻酔誌*, **19**, 13-18 (1985).
- 7) Shapiro, D. L., Notter, R. H., Morin, F. C. III, Deluga, K. S., Golub, L. M., Sinkin, R. A., Weiss, K. I. & Cox, C.: Double-blind, randomized trial of a calf lung surfactant extract administered at birth to very premature infants for prevention of respiratory distress syndrome. *Pediatrics*, **76**, 593-599 (1985).
- 8) 元塚雅也, 小林 勉, 谷口淳朗, 乾早智子, 新多恵子, 村上誠一: 気管内塩酸注入後の急性呼吸不全に対する肺洗浄とサーファクタント補充療法の効果. *日界面医誌*, **20**, 1-7 (1989).
- 9) 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).
- 10) Folch, J., Ascoli, I., Lees, M., Meath, J. A. & LeBaron, F. N.: Preparation of lipid extraction from brain tissue. *J. Biol. Chem.*, **191**, 833-841 (1951).
- 11) 平山千里, 右田俊介: 血漿タンパク質の分析法お

- よび分画法。血漿タンパク質；構造・機能・病態，第1版，11-12頁，医歯薬出版，東京，1979。
- 12) **Enhoring, G.**: Pulsating bubble technique for evaluating pulmonary surfactant. *J. Appl. Physiol. Environ. Exercise Physiol.*, **43**, 198-203 (1977).
- 13) **Holm, B. A. & Matalon, S.**: Role of pulmonary surfactant in the development and treatment of adult respiratory distress syndrome. *Anesth. Analg.*, **69**, 805-818 (1989).
- 14) 大竹一栄，芦沢直文：肺水腫。麻酔，**26**，243-251 (1977)。
- 15) **Kobayashi, T., Kataoka, H., Ueda, T., Murakami, S., Takada, Y. & Kokubo, M.**: Effects of surfactant supplement and end-expiratory pressure in lung-lavaged rabbits. *J. Appl. Physiol. Environ. Exercise Physiol.*, **57**, 995-1001 (1984).
- 16) **King, R. J. & Clements, J. A.**: Surface active materials from dog lung. II. Composition and physiological correlations. *Am. J. Physiol.*, **223**, 715-726 (1972).
- 17) **Fuchimukai, T., Fujiwara, T., Takahashi, A. & Enhoring, G.**: Artificial pulmonary surfactant inhibited by proteins. *J. Appl. Physiol.*, **62**, 429-437 (1987).
- 18) **Ikegami, M., Jobe, A. & Berry, D.**: A protein that inhibits surfactant in respiratory distress syndrome. *Biol. Neonate.*, **50**, 121-129 (1986).
- 19) **Seeger, W., Ströhr, G., Wolf, H. R. D. & Neuhof, H.**: Alteration of surfactant function due to protein leakage: special interaction with fibrin monomer. *J. Appl. Physiol.*, **58**, 326-338 (1985).
- 20) 新多恵子，小林 勉，乾早智子，谷口淳朗，紫藤明美，村上誠一，**Robertson, B. & Grossmann, G.**: 肺水腫液のサーファクタント阻害作用；ウサギ未熟胎仔による検討。日界面医誌，**20**，36-41 (1989)。
- 21) 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気陽圧呼吸 (PEEP) の効果。十全医会誌，**92**，63-76 (1983)。
- 22) 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)。
- 23) 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)。
- 24) **Lachmann, B., Berggren, P., Curstedt, T., Grossmann, G. & Robertson, B.**: Combined effects of surfactant substitution and prolongation of inspiration phase in artificially ventilated premature newborn rabbits. *Pediatr. Res.*, **16**, 921-927 (1982)。
- 25) **Enhoring, 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)。
- 26) 小林 勉，片岡久範，村上誠一，春喜伸一：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)。
- 27) **Kobayashi, T., Ganzuka, M., Taniguchi, J., Nitta, K. & Murakami, S.**: Lung lavage and surfactant replacement for hydrochloric acid aspiration in rabbits. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, **34**, 216-221 (1990)。
- 28) 李文志，小林 勉，谷口淳朗，高橋麗子，新多恵子，村上誠一：塩素ガスを吸入させたラットの人工呼吸下における血液ガスおよび生存率；濃度と吸入時間について。北陸麻酔誌，**25**，35-40 (1991)。
- 29) **Winter, P. M. & Smith, G.**: The toxicity of oxygen. *Anesthesiology*, **37**, 210-241 (1972)。
- 30) **Ennema, J. J., Kobayashi, T., Robertson, B. & Curstedt, T.**: Inactivation of exogenous surfactant in experimental respiratory failure induced by hyperoxia. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, **32**, 665-671 (1988)。
- 31) **Klein, J.**: Normobaric pulmonary oxygen toxicity. *Anesth. Analg.*, **70**, 195-207 (1990)。
- 32) **Holm, B. A., Notter, R. H., Siegle, J. & Matalon, S.**: Pulmonary physiological and surfactant changes during injury and recovery from hyperoxia. *J. Appl. Physiol.*, **59**, 1402-1409 (1985)。
- 33) 紫藤明美，小林 勉，谷口淳朗，新多恵子，中井康子，村上誠一：肺表面活性と PEEP の効果；ウサギ未熟胎仔での検討。北陸麻酔誌，**22**，31-36 (1988)。
- 34) **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)。
- 35) **Bredenberg, C. E., Nieman, G. F., Paskanik, A. M. & Hart, K. E.**: Microvascular membrane permeability in high surface tension pulmonary

edema. *J. Appl. Physiol.*, **60**, 253-259 (1986).

36) Kolobow, T. Moretti, M. P., Fumagalli, R., Mascheroni, D., Prato, P., Chen, V. & Joris, M.: Severe impairment in lung function induced by

high peak airway pressure during mechanical ventilation. An experimental study. *Am. Rev. Respir. Dis.*, **135**, 312-315 (1987).

Respiratory Failure Induced by Highly Concentrated Oxygen: Therapeutic and Prophylactic Effects of Pulmonary Surfactant Replacement, and Influences of Mechanical Ventilation Junro Taniguchi, Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med Soc., **100**, 897—908 (1991)

Key words respiratory failure, oxygen toxicity, surfactant replacement, surfactant inhibitor, mechanical ventilation

Abstract

Effects of surfactant replacement and mechanical ventilation on respiratory failure in oxygen toxicity were examined using thirty-eight adult rabbits (Japanese white). The Rabbits (n=7) that were placed in the oxygen box (oxygen concentration >95%) for observation of respiratory failure started gasping in 88 ± 20 hr (mean \pm SD) and died in 96 ± 20 hr with 11.3 ± 2.0 ml of lung edema fluid. The rabbits (n=7) selected to be examined for the therapeutic effect of surfactant replacement were also placed in the oxygen box and mechanically ventilated with 100% oxygen when they started gasping. Their PaO₂ was 480 ± 58 mmHg when they started gasping, but decreased to 101 ± 70 mmHg within 8 hr under the mechanical ventilation. Surfactant replacement was performed in the rabbits with the decreased PaO₂; 2.5 ml/kg of a modified natural surfactant (Surfactant CK, 25 mg/ml physiological saline solution) was instilled into the lungs via endotracheal tube. The levels of PaO₂, however, was not always increased by the replacement. In the rabbits (n=7) that were placed in the oxygen box for 64 hr (before the onset of gasping), and then mechanically ventilated with 100% oxygen, over 500 mmHg of PaO₂ also fell to below 100 mmHg within 12 hr. Thus, the duration of oxygen exposure that causes PaO₂ to fall was shorter in rabbits subjected to mechanical ventilation than in those left in the oxygen box under normal breathing conditions. The rabbits (n=7) that prophylactically received the surfactant replacement at 64 hr after being placed in the oxygen box, (i. e. the animals that received the surfactant when their PaO₂ was still at the normal level), maintained over 300 mmHg of PaO₂ for 12 hr while under mechanical ventilation ($p < 0.05$ vs. without the replacement). In the rabbits (n=10) that were not placed in the oxygen box but were mechanically ventilated for 8~12 hr, the PaO₂ did not change. Minimum surface tension of Surfactant CK was 1.4 ± 0.5 mN/m (n=7), but rose to 20.6 ± 1.1 mN/m ($p < 0.05$) when the above mentioned lung edema fluid was added. From these findings, it was concluded that intermittent positive pressure ventilation might further damage the lungs exposed to highly concentrated oxygen, and that pulmonary edema fluid resulting from oxygen toxicity inhibits surfactant activity. It was also concluded that surfactant replacement in oxygen toxicity is not always effective when a large amount of lung edema fluid is present. Prophylactic surfactant replacement performed before the appearance of respiratory failure, however, is effective for suppressing lung injury induced by a combination of oxygen toxicity and mechanical ventilation.