気管支喘息に対する肺サーファクタント吸入療法についての基礎的および臨床的研究

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: 倉島, 一喜
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8344

金沢大学十全医学会雑誌　第100巻　第4号　772－787 (1991)

気管支喘息に対する肺サーファクタント吸入療法についての基礎的および臨床的研究

金沢大学医学部内科学第三講座（主任：松田　保教授）
倉　島　一　喜

（平成3年7月17日受付）

著者は，気管支喘息におけるサーファクタントの有効性を明らかにするために，モルモットの喘息モデルを用いた基礎的検討と気管支喘息患者における臨床的検討を行った．受身感作モルモットの抗原吸入時の気管支収縮反応に対してサーファクタント吸入は改善効果を示し，少量では末梢気道の，大量では末梢および中枢気道の拡張効果を認めた．またサーファクタントの吸入前処置は抗原吸入時の気管支収縮に対する予防効果を示した．ヒスタミンおよびロイコトリエンC 4 (leukotriene C4, LTC4) 吸入時のモルモットの気管支収縮反応もサーファクタントの吸入前処置により抑制された．しかし抗原を静注した場合，またはヒスタミンを静注した場合の気管支収縮反応はサーファクタントの吸入前処置によって抑制されなかった．喘息患者の発作時にはサーファクタントを吸入させた場合，呼吸機能，血液ガスの有意な改善が認められたが，喘息患者の非発作時に吸入させた場合は明らかな気管支拡張効果は認められなかった．以上の成績は，サーファクタント吸入は喘息発作時に気管支拡張効果をしめすが，その作用機序は喘息発作では痰または気道虚脱による気道閉塞の開存作用，予防的には抗原や化学伝達物質の阻害作用によるものと考えられ，サーファクタント吸入療法が喘息発作の新しい治療法となりうる可能性が示唆された．

Key words　bronchial asthma, pulmonary surfactant, inhalation therapy

気管支喘息は，気道過敏性を基本病態とし，可逆性の気道収縮，気管支内の粘液および気管支壁の炎症性浮腫によって気道閉塞を生じるが，そのほかの気道閉塞の要因として発作時の化学伝達物質による粘液分泌亢進の結果，肺サーファクタント（以下サーファクタント）の失活がおこり末梢気道の閉塞をきたすことが考えられる[1]．サーファクタントはこれまで新生児呼吸切迫症候群や成人の呼吸切迫症候群など肺胞を主座とする病変についてその重要性が指摘され，近年サーファクタント補充療法も行われるようになっているが，喘息や慢性気管支炎などの気道疾患においても重要な役割を果たしている可能性がある．

サーファクタントは肺胞の空気相と液相の界面にあって，その表面張力を著しく低下させることにより肺胞の虚脱を防止している物質である．もしこの物質が欠乏するとLaplaceの式 (P＝2T/r, P：圧，T：表面張力，r：肺胞の半径) により，肺胞を収縮する力は呼気時に増大し，肺胞は虚脱する．同様にサーファクタントは末梢気道においてもその開存性に重要な役割を果たしているほか，気道粘液のゾル層とゲル層の間にあって粘液線毛輸送能を促進させ異物や痰の排出に重要な役割を果たしている[2]．

喘息発作では動物モデルにおいて肺胞洗浄液の表面活性の低下が報告されている[3]．またサーファクタント前投与による気道収縮の抑制効果についても先駆的研究がなされているが[4]，喘息発作中のサーファクタント投与の効果およびその作用機序に関するる研究は見当たらない．また気道閉塞が問題となる気管支喘息

Abbreviations: ARDS, adult respiratory distress syndrome; C dyn, dynamic compliance; ΔN2, alveolar plateau of nitrogen washout test, FEV1.0; forced expiratory volume in one second; FVC, forced vital capacity; IRDS, infant respiratory distress syndrome; LTC4,

発作では注入よりも吸入による投与の方がより理想的である．

以上より著者は，気管支喘息における新たな治療法としてサーファクタントの吸入療法に注目し，藤村[5]が開発したモルモットのアナフィラキシー遅延性反応物質 (slow reacting substance of anaphylaxis, SRS-A) を主体とした抗原吸入誘発喘息モデルを用いて基礎的検討を行うと同時に，喘息患者の発作時および非発作時のサーファクタント吸入投与の効果について臨床的検討を行い，興味ある知見を得たので報告する．

対象および方法

I．気管支収縮反応に対するサーファクタント吸入療法に関する基礎的研究

1．実験動物

250～300g の Hartley 系雄モルモット (三共ラボ，東京) を購入し，金沢大学動物実験施設内の空調飼育室 (室温23±2°C，湿度55±5％) で1週間以上飼育し，肉眼的観察により健常と判断した動物を実験に使用した．

2．実験装置および測定項目

実験装置のブロックダイアグラムを図1（上段）に示した．ネンブタール 75mg/kg の腹腔内投与によってモルモットを麻酔した後，胸骨上縁より1横指頭側で気管切開を行って気管カニューレを装着し，小動物用従量式レスピレーター Model 1680 (Harvard 社，South Natic, MA) にて陽圧呼吸を行った．1回換気量は 10ml/kg，呼吸数は毎分60回とした[6]．本装置の死腔は 0.5ml である．気管カニューレの側圧 (pressure at the airway opening, Pao) は，差圧トランスデューサー Model TP-603T (日本光電社，東京) を用いて測定した．食道内圧 (esophageal pressure, Peso) は，気管切開部で食道を切開し，水で満たした先端から 5.0 mm 間隔で2つの側孔をもつポリエチレンチューブ (外径 1.4mm，内径 1.0mm) を胃まで挿入し，0.5 ml の水をフラッシュした後ゆっくり引き抜き，低圧用差圧トランスデューサー Model MPU-0.1A (日本光電社) にて測定した圧の振幅が最大となる位置で食道チューブを固定して求めた．気流速度 ($\dot{V}$, flow rate) は体プレチスモグラフにとりつけた小動物用 Lilly 型ニューモタコグラフ Model TV241T (日本光電社) および低圧用差圧トランスデューサー Model TP-602T (日本電光社) により測定し，これを電気的に積分して換気量 (V, volume) を求めた．上記の4つのパラメーターはレクチコーダー Model P-0770C (日本光電社) に連続描記し，Amdur と Mead[7]の方法に従い，作図法により肺粘性抵抗 (RL) と動肺コンプライアンス (C dyn) を算出した (Fig.1 下段). RL と C dyn は肺気量に依存するため，RL は体重 (Kg) を乗じ，C dyn は体重 (Kg) で除した値を用いた[7]．

3．使用薬物

使用した薬物は以下のとうりである．サーファクタント TA (東京田辺製薬，東京)，卵白アルブミン (ovalbumin, OA) (Sigma, Basel, Switzerland)，ジフェンヒドラミン (Sigma)，完全フロインドアジュバンド (Difco Laboratories, New York, U.S.A.)，ネンブタール (Abbot Laboratories, Illinois, U.S.A.)，二塩化ヒスタミン (和光純薬，大阪)，ロイコトリエンC 4 (leukotriene, LTC4) (小野薬品，大阪)，生理食塩水 (大塚製薬，東京)．

4．薬物の吸入負荷

薬物は南ら[6]が開発した小動物用定量的吸入負荷装置を用いて，呼吸状態を変化させることなく，安静換気のままで吸入負荷した．エアロゾール発生量は15.2 μl/分であり，その46.4％がモルモットの肺に沈着する．

5．抗原吸入時の気管支収縮反応

a）モルモットの抗卵白アルブミン血清 (抗 OA 血清) の作製

Santives ら[9]の方法を改良して，抗 OA 血清を作製した．総量 500μg の OA を完全フロイドアジュバント (CFA) にてエマルジョンの状態とし，250～300g のモルモットの両側鼠径部，両側腋窩部，項部の5か所に皮下注射した．2週間後，同じ処置にて追加免疫を行った．さらに2週間後採血し，血清を分離し，同一容器に集めて均一化した，小スピッツに分注して－20°Cで凍結保存した．作製した抗 OA 血清の力価は，受身皮膚アナフィラキシー反応[10]で4時間後12800培，24時間後6400培，1週間後512培だった．

b）受身感作

抗 OA 血清 1ml/kg をモルモットの腹腔内に正確に注入して受身的に感作した．

c）抗原吸入時の気管支収縮反応

leukotriene C4 ; MMF, maximum midexpiratory flow ; OA, ovalbumin ; Pao, pressure at the airway opening ; Peso, esophagial pressure ; RL, lung resistance ; SRS-A, slow reacting substance of anaphylaxis ; V, volume ; $\dot{V}$, flow

受身感作の12～24時間後に実験を行った．ヒスタミンによる反応を完全に除外するためにジフェンヒドラミン 60mg/kg を腹腔内投与し[5]，15分後に生理食塩水で溶解した 1mg/kgの抗 OA を30秒間吸入負荷し，Pao の変化を25分間観察した．

6．サーファクタント吸入による抗原吸入誘発気管支収縮反応の改善効果

a）サーファクタント 20mg/ml吸入群

体重 350～420g のモルモット 9 匹を用い，生理食塩水で 20mg/ml に調整し，37°Cに保温したサーファクタント溶液を，抗原チャレンジ20分後に90秒間呼吸状態を変化させることなく吸入させた．Pao は抗原チャレンジ25分後までに連続的に記録し，C dyn, RL はチャレンジ前，気道収縮のピーク時，チャレンジ18分後，23分後に測定した．

b）サーファクタント 10mg/ml吸入群

350～420g のモルモット 9 匹を用い，生理食塩水で 10mg/ml に調整し，37°Cに保温したサーファクタント溶液を a）と同様の方法で吸入させた．

c）対照群

350～420g のモルモット 9 匹を用い，生理食塩水を同様の方法で吸入させた．

7．サーファクタント吸入前処置による抗原吸入誘発気管支収縮反応の抑制効果

a）サーファクタント吸入群

体重 350～420g のモルモット 9 匹を用い，生理食塩

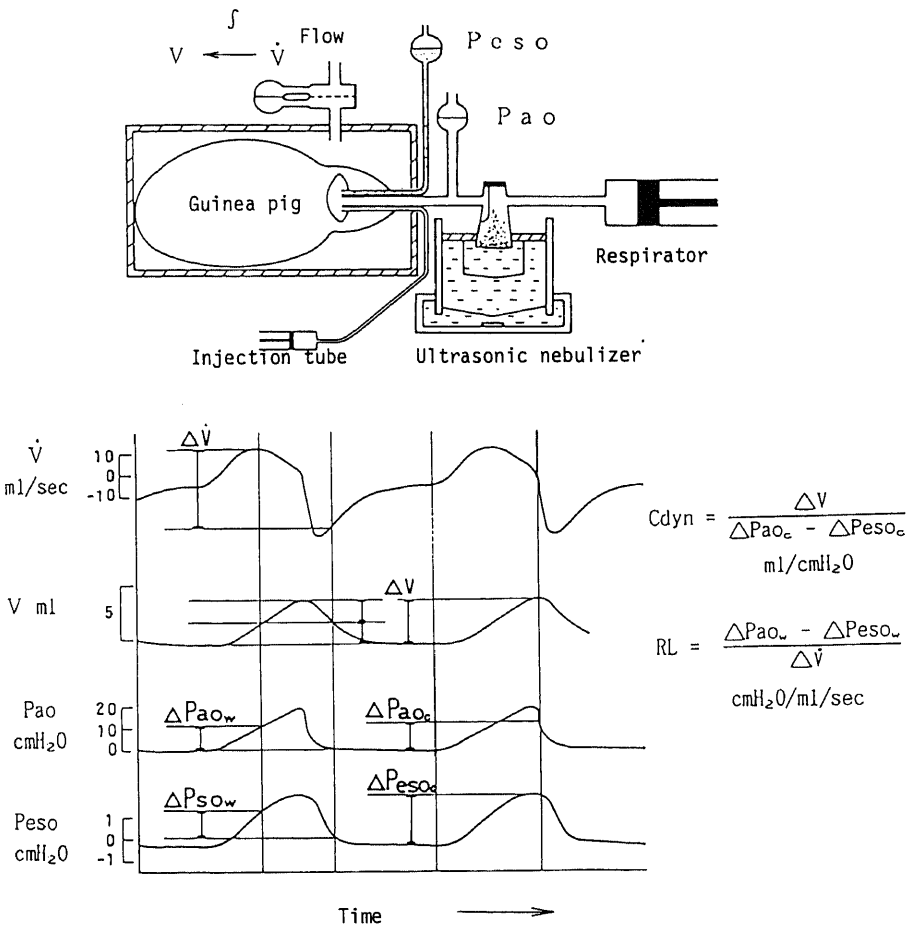

Fig. 1. Schematic representation of our device used for body plethysmograph of the guinea pigs is shown in upper panel, and record of the data and calculation method of Cdyn and RL are shown in lower panel. $\dot{V}$ denotes flow of the airtight box, V change of the box volume, Pao airway opening pressure, and Peso esophagial pressure.

水で 20mg/ml に調整し，37°Cに保温したサーファクタント溶液を，抗原チャレンジ10分前に90秒間呼吸状態を変化させることなく吸入させた．抗原吸入後 Pao を抗原吸入20分後までに連続的に記録した．

b）対照群

同じ体重のモルモット9匹を用い，生理食塩水を同様の方法で吸入させ，抗原吸入後 Pao を抗原吸入20分後までに連続的に記録した．

8．サーファクタント吸入前処置による抗原静注誘発気管支収縮反応の抑制効果

a）サーファクタント吸入群

体重 350～420g のモルモット9匹を用い，生理食塩水で 20mg/ml に調整し，37°Cに保温したサーファクタント溶液を，抗原チャレンジ10分前に90秒間呼吸状態を変化させることなく吸入させた．抗原 (OA 1mg/ml) 0.2ml を総頸静脈より静注し Pao を抗原静注20分後まで連続的に記録した．

b）対照群

同じ体重のモルモット9匹を用い，生理食塩水を同様の方法で吸入させ，抗原静注後の Pao を抗原吸入20分後までに連続的に記録した．

9．サーファクタント吸入前処置によるヒスタミン吸入誘発気管支収縮反応の抑制効果

二塩化ヒスタミンを生理食塩水で溶解し，25，50，100，200μg/ml のヒスタミン溶液を作製した．低濃度のヒスタミン溶液より5分間隔で30秒間吸入負荷し，Pao の変化を観察した．

a）サーファクタント吸入群

390～470g のモルモット8匹を用いた．ヒスタミン吸入負荷の10分前に，20mg/ml のサーファクタント溶液を90秒間吸入させた．

b）対照群

390～470g のモルモット9匹を用いた．ヒスタミン吸負荷の10分前に，生理食塩水を90秒間吸入させた．

10．サーファクタント吸入前処置によるヒスタミン静注誘発気管支収縮反応の抑制効果

二塩化ヒスタミンを生理食塩水で溶解し，25，50，100，200μg/ml のヒスタミン溶液を作製した．低濃度のヒスタミン溶液より5分間隔で総頸静脈から 0.2 ml 静注し，Pao の変化を観察した．

a）サーファクタント吸入群

330～450g のモルモット5匹を用い，ヒスタミン吸入負荷の10分前に，20mg/ml のサーファクタント溶液を90秒間吸入させた．

b）対照群

330～450g のモルモット5匹を用いた．ヒスタミン吸入負荷の10分前に，生理食塩水を90秒間吸入させた．

11．サーファクタント吸入前処置によるロイコトリエンC4 (LTC4) 吸入誘発気管支収縮反応の抑制効果

LTC4 を生理食塩水で溶解し，0.033，0.1，0.33，1.0μg/ml の LTC4 溶液を作製した．低濃度の LTC4 溶液より5分間隔で30秒間吸入負荷し，Pao の変化を観察した．

a）サーファクタント吸入群

340～360g のモルモット5匹を用いた．LTC4 吸入負荷の10分前に，20mg/ml のサーファクタント溶液を90秒間吸入させた．

b）対照群

340～370g のモルモット5匹を用いた．LTC4 吸入負荷の10分前に，生理食塩水を90秒間吸入させた．

12．評価

サーファクタント投与前後での呼吸機能の比較は対応のある t 検定を用いて検定した．

吸入によるモルモットの気管支収縮反応は個体差が大きいため，ノンパラメトリック法 (Mann-Whitney の U-test) を用いて検定した．両側検定で危険率を5％以下を有意差ありと判定した．

II．喘息患者に対するサーファクタント吸入投与の効果についての臨床的研究

1．喘息発作時のサーファクタント吸入の効果

a）対象

喘息発作にて来院した患者11名を無作為に対照群とサーファクタント治療群の2群に分けた．2群間で年齢，性差，非発作時呼吸機能に有意差はなく，全例において喘息発作の既往を認めた (表1)．サーファクタント以外の治療および自然経過による呼吸機能の影響をさけるため，対象は発作発症後12時間以上，48時間以内でなお発作が持続しているものとし，6時間以上は治療を変えず，症状に変化のないものを対象とした．

b）方法

評価可能とされた11名のうち，対照群5例では生理食塩水 1ml を，サーファクタント治療群6例ではサーファクタント TA 10mg/ml, 1ml をハンドジェットネブライザー (日本商事，大阪，3.5気圧，5l/min) にて吸入した．両群とも投与前および投与15分後に呼吸機能，動脈血ガス分析の測定を行った．呼吸機能の測定は努力肺活量 (forced vital capacity, FVC)，1秒量 (forced expiratory volume in one second, $FFV_{1.0}$)，中間呼気流量 (maximum midexpiratory flow, MMF)，クロージングボリュームの第3相 (alveolar plateau of

nitrogen washout test, ΔN2) について測定した (FUDAC-60, 福田電子, 東京). 動脈血ガス分析の測定は血液ガス測定装置 (278 Blood Gas System, Ciba Corning Diagnostic Co. Medfield, U.S.A.) を用いて測定した.

2. 喘息非発作時のサーファクタント吸入投与の効果

a) 対象

気管支喘息にて通院中の患者で2週間以上小発作 (日本アレルギー学会分類) 以上の発作を認めない患者10名を対象とした. 常用薬は通常通りの用法, 用量を服用することとした.

b) 方法

上記の患者10名に2週間の間隔をおいて生理食塩水 1ml またはサーファクタント TA 10mg/ml, 1ml をハンドジェットネブライザー (日本商事社製, 大阪, 3.5

Table 1. Patient Characteristics

Trial*	Patient No.	Sex/Age	Height (cm)	Weight (kg)	$FEV_{1.0}/FVC$ (%)	Allergen	Medications
S	1	M/40	170	55	57.1	House dust	Oral theophylline
P	2	F/42	153	55	44.7	House dust	Oral theophylline+Anti-allergic drug
S	3	F/36	167	53	49.8	Cedar	Oral theophylline+Anti-allergic drug
P	4	F/32	160	55	77.9	Candida	Inhaled β_2-agonist
S	5	M/45	171	58	35.4	House dust	Oral theophylline+Anti-allergic drug
P	6	M/60	156	48	50.0	Cedar	Oral theophylline
S	7	M/73	162	53	57.9	House dust	Oral theophylline
P	8	F/62	157	49	38.1	House dust	Oral theophylline+Anti-allergic drug
S	9	M/47	166	61	50.0	House dust	Oral theophylline+Anti-allergic drug
P	10	M/45	165	55	55.9	House dust	Oral theophylline
S	11	F/55	149	52	62.6	Candida	Inhaled β_2-agonist
	Mean	48.8	161.5	54	52.7		
	SE	3.7	2.1	1.1	3.5		

* S denotes surfactant trial, and P the placebo.

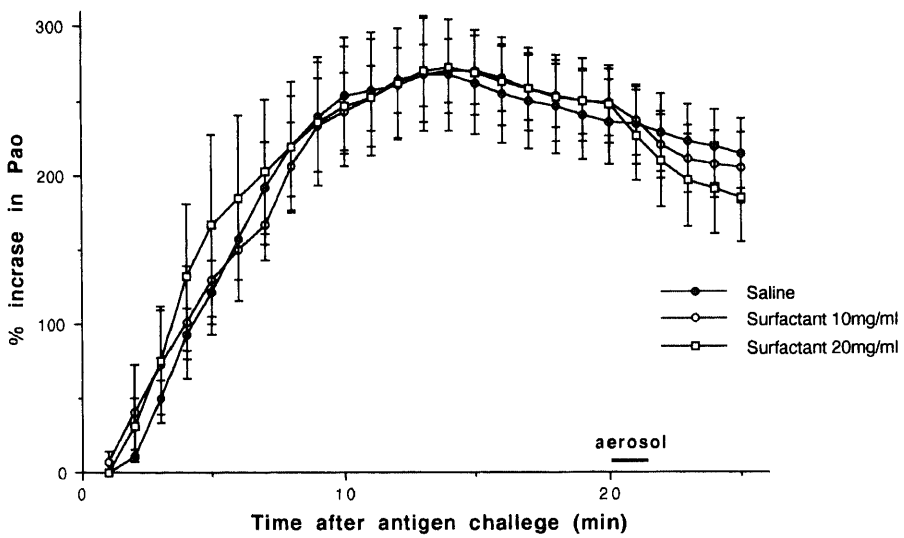

Fig. 2. Percent changes from the baseline values in pressure at the airway opening (PaO) after antigen challenge in the three groups of animals. The time of aerosol adminstration of surfactant or saline is shown in the figure as aerosol. Each value represents mean±SEM.

気圧，5 l/min) にて吸入させ，さらに30分後サルブタモール0.5ml を同様の方法で吸入させた．吸入前および各吸入15分後に呼吸機能検査を行い，サーファクタントの気管支拡張効果およびサルブタモールの拡張効果に対するサーファクタントの増強効果の有無について検討した．呼吸機能は FVC, FEV1.0，MMF, V25 について測定した (Autospiror HI-498，チェスト社，東京)．

3．患者の同意

本研究を行うにあたり，対象患者に十分検査の意義について説明し，その同意を得たが，患者および呼吸機能を測定した検査技師には薬剤の種類およびその薬効についての情報は与えなかった．

4．使用薬物

使用した薬物は以下の通りである．すなわちサーファクタント TA (東京田辺製薬)，サルブタモール (グラクソ,ロンドン,イギリス)，生理食塩水 (大塚製薬)．

5．評価

対照群および薬物投与群の呼吸機能は平均±標準誤差 (SEM) で表し，薬物投与前後での比較は対応のある t 検定を用いて検定した．両側検定で，危険率5％以下を有意の変化と判定した．

成　　績

I．気管支収縮反応に対するサーファクタント吸入療法に関する基礎的研究

1．サーファクタント吸入による抗原吸入誘発気管支収縮反応の改善効果

Pao, C dyn, RL の基準値は対照群で 10.4±0.6cm H_2O，1.42±0.06ml/cmH_2O・kg，6.86±0.27 cmH_2O・sec・kg・10^{-2}/ml であり，サーファクタン

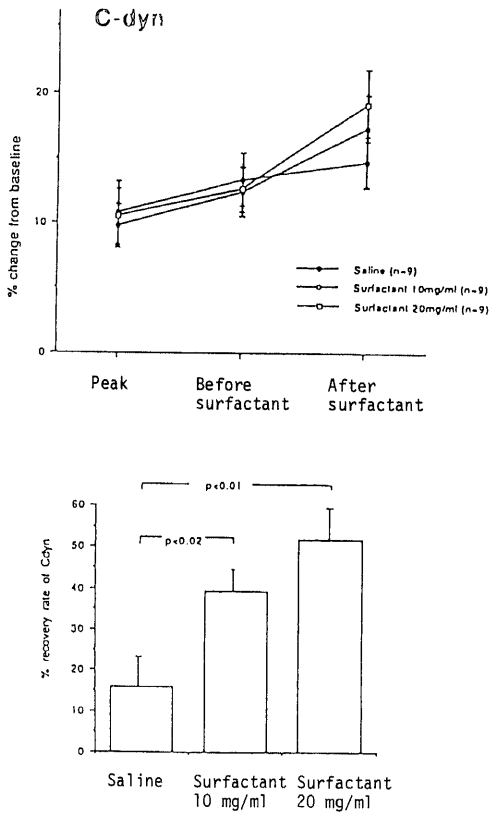

Fig. 3. Percent changes from the baseline values in pulmonary dynamic compliance at the time of peak, before (18min after OA challenge) and after surfactant inhalation (23min after OA challenge) are shown in upper panel. The percent recovery rate of each group (the value of 23min/the value of 18min) is shown in lower panel.

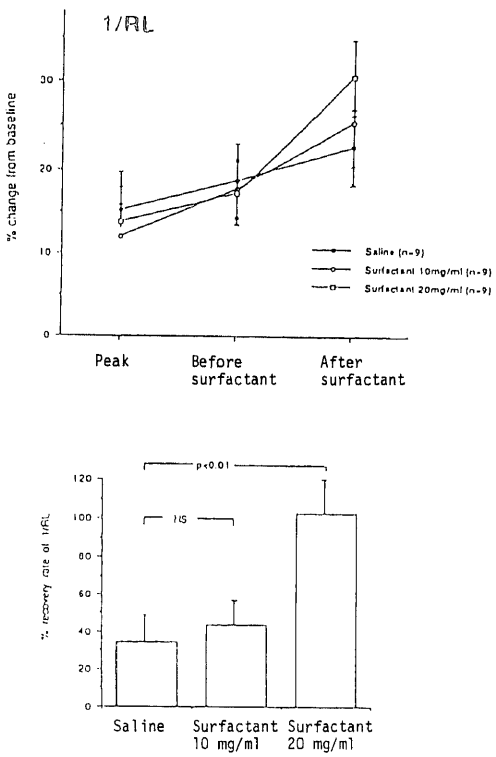

Fig. 4. Percent changes from the baseline values in pulmonary resistance at the time of peak, before (18min after OA challenge) and after surfactant inhalation (23min after OA challenge) are shown in upper panel. The percent recovery rate of each group (the value of 23min/the value of 18min) is shown in lower panel.

ト 10mg/ml 群では 9.8±0.6cmH_2O，1.38±0.08ml/cmH_2O・kg，6.92±0.29cmH_2O・sec・kg・．10^{-2}/ml であり，サーファクタント 20mg/ml 群では 9.4±0.4cmH_2O，1.55±0.11ml/cmH_2O・kg，5.85±0.28 cmH_2O・sec・kg・10^{-2}/ml であり，3 群間に差はなかった．図 2 に示したように対照群では Pao は抗原吸入後13分で最大値 (267±39%の上昇) を示し，18分で245±32%，23分で225±25%の上昇を示した．サーファクタント 10mg/ml 群では Pao は抗原吸入後15分で最大 (269±23%の上昇) を示し，18分後で253±22%，23分後で210±22%の上昇を示した．サーファクタント 20mg/ml 群では Pao は抗原吸入後14分で最大 (272±32%の上昇) を示し，18分後で252±29%，23分後で196±31%の上昇を示した．図 3 に Cdynの変化を示すが，吸入後23分値の18分値に対する回復率は，対照群では14.6±1.9%の回復率であったのに対し，サーファクタント 10mg/ml 投与群では43.5±10.3% ($p<0.02$) であり，サーファクタント 20mg/ml 投与群では52.0±9.5% ($p<0.02$) であった．図 4 に 1/RL の変化を示すが，吸入後23分値の18分値に対する回復率でみると，対照群では34.5±15.7%の回復率であったのに対し，サーファクタント 10mg/ml 投与群では 39.5±5.5% (NS) であり，サーファクタント20mg/ml 投与群では102.4±15.7% ($p<0.02$) であった．

2．サーファクタント吸入前処置による抗原吸入誘発気管支収縮反応の抑制効果

抗原吸入後の Pao の 0 分値に対する増加率を経時的に図 5 に示した．対照群とサーファクタント吸入群では 2 分以降のすべての時間で有意差を認めた．Pao のピークは対照群で 8 分に出現し，サーファクタント吸入群では明確なピークは形成しなかった．Pao のピーク値は対照群211.7±37.3%，サーファクタント吸入群72.7±16.9%であり，抑制率は65.7%であった．

3．サーファクタント吸入前処置による抗原静注誘発気管支収縮反応の抑制効果

抗原吸入後の Pao の 0 分値に対する増加率を経時的に図 6 に示した．対照群とサーファクタント吸入群ではすべての時間で有意差を認めなかった．Pao のピーク出現時間は対照群，サーファクタント吸入群とも抗原吸入後 5 分であり，Pao のピーク値は対照群232.5±39.7%，サーファクタント吸入群211.2±44.9%であり，両群間に差を認めなかった．

4．サーファクタント吸入前処置によるヒスタミン吸入誘発気管支収縮反応の抑制効果

Pao のヒスタミン吸入直前値は，対照群 10.1±0.1 cmH_2O，サーファクタント投与群10.2±0.2cmH_2O であり，両群間に差を認めなかった．ヒスタミン吸入による Pao の増加率の用量－反応曲線を図 7 に示した．サーファクタント吸入前処置によって50，100，200

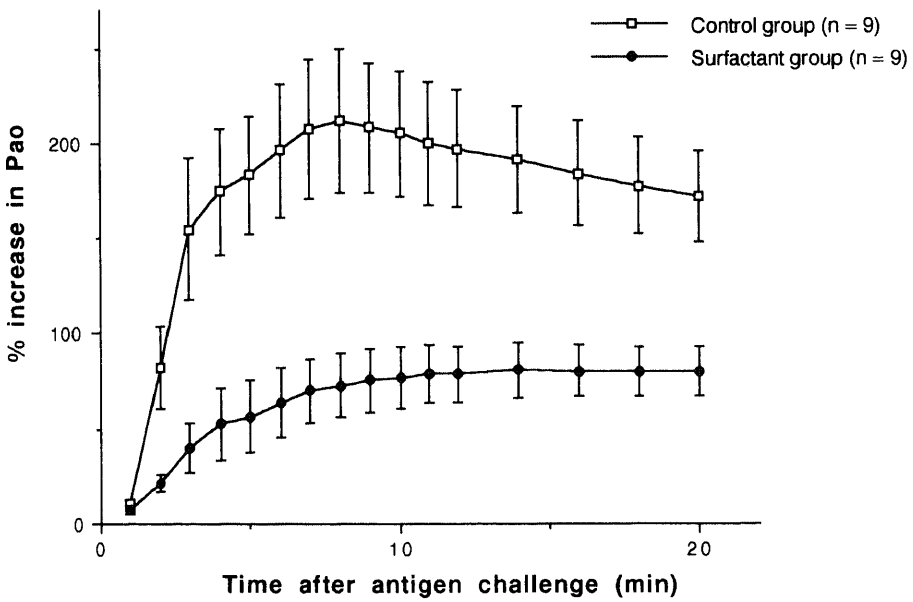

Fig. 5. Percent changes from the baseline values in pressure at the airway opening (PaO) after antigen inhalation. Each value represents mean±SEM.

μg/ml のヒスタミン吸入時の気管支収縮反応は有意に抑制され，その抑制率はそれぞれ87.6%，89.2%，71.4%であった．

5．サーファクタント吸入前処置によるヒスタミン静注誘発気管支収縮反応の抑制効果

Pao のヒスタミン吸入直前値は，対照群 10.1±0.1 cmH_2O，サーファクタント投与群10.0±0.1cmH_2O であり，両群間に差を認めなかった．ヒスタミン吸入による Pao の増加率の用量－反応曲線を図 8 に示した．サーファクタント吸入前処置によって25，50，100，200μg/ml のヒスタミン吸入時の気管支収縮反応はいずれも有意な抑制は認められなかった．

6．サーファクタント吸入前処置によるロイコトリエンC 4 吸入誘発気管支収縮反応の抑制効果

Pao のロイコトリエンC 4 吸入直前値は，対照群 10.0±0.1cmH_2O，サーファクタント投与群10.0±0.2 cmH_2O であり，両群間に差を認めなかった．ロイコトリエンC 4 吸入による Pao の増加率の用量－反応曲

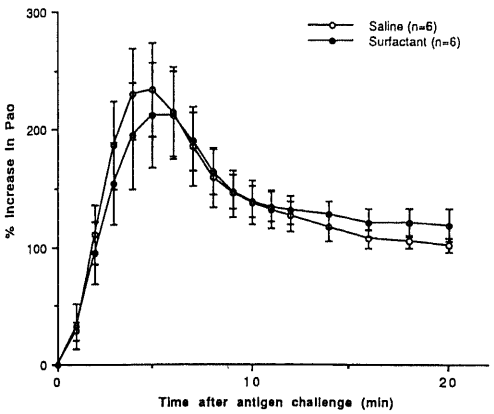

Fig. 6. Percent changes from the baseline values in pressure at the airway opening (PaO) after antigen injection. Each value represents mean±SEM.

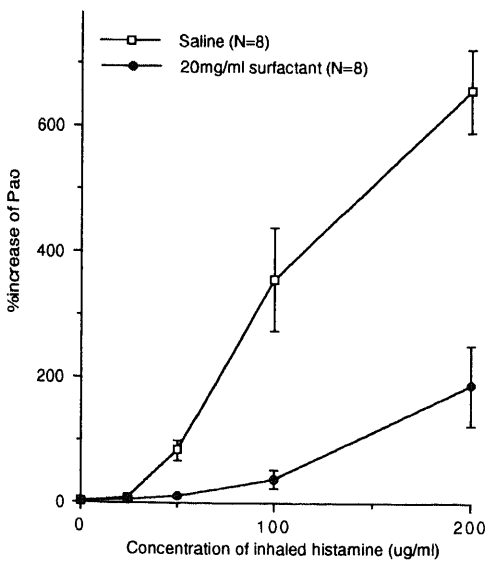

Fig. 7. Effects of 90 s inhalation of Surfactant TA 20mg/ml on the histamine inhalation. Each value represents mean±SEM.

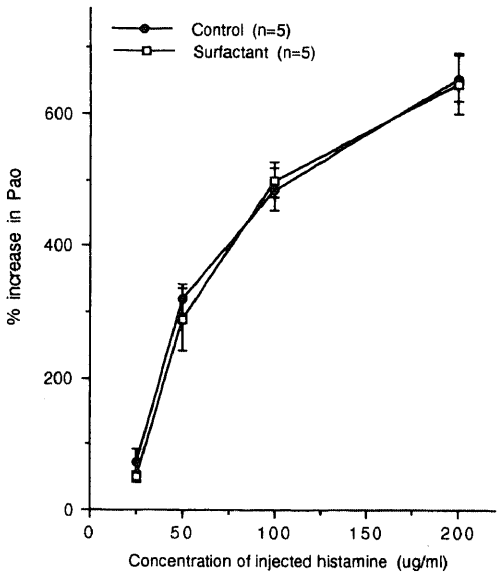

Fig. 8. Effects of 90 s inhalation of Surfactant TA 20mg/ml on the injected histamine-induced bronchoconstriction. Each value represents mean±SEM.

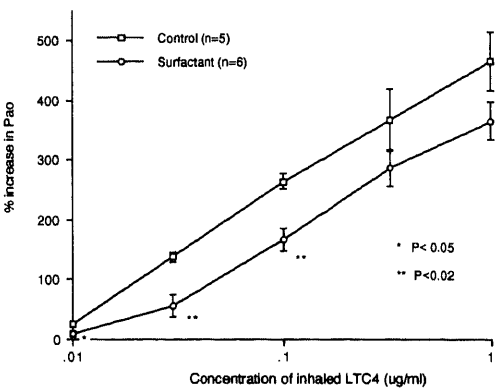

Fig. 9. Effects of 90 s inhalation of Surfactant TA 20mg/ ml on the leukotriene C4 (LTC4) inhalation. Each value represents mean±SEM.

線を図9に示した．サーファクタント吸入前処置によって0.01，0.03，0.1ug/mlのロイコトリエンC4吸入時の気管支収縮反応は有意に抑制され，その抑制率はそれぞれ61.5%，58.9%，36.8%であった．

II．喘息患者に対するサーファクタント吸入投与の効果についての臨床的研究

1．喘息発作時のサーファクタント吸入の効果

表1に示したように，対照群とサーファクタント吸入群では，年齢，性，体格，呼吸機能に有意差はなく，高度から中等度の閉塞性換気障害が認められた．対照群では吸入前後の FVC (2.0±0.41 対2.1±0.31) (図10), $FEV_{1.0}$ (1.2±0.21 対1.1±0.21) (図11), MMF (0.66±0.21 1/sec 対0.55±0.17 1/sec) (図12), PaO2 (65.2±5.1対64.2±4.4torr), PaCO2 (39.1±3.2対38.2±3.2torr) (図14) に有意の変化は見られなかったが，ΔN2 には有意の上昇 (2.72±1.02対3.73±

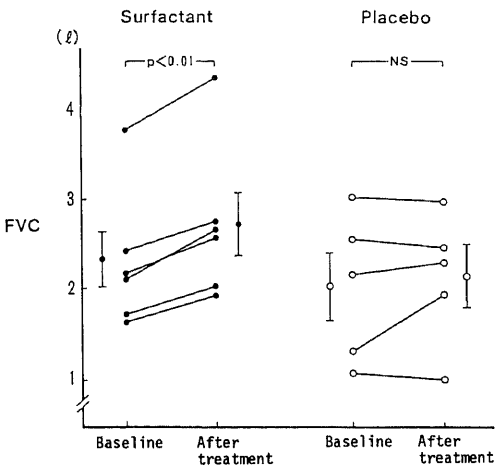

Fig. 10. Forced vital capacity (FVC) before and after inhalation of surfactant (closed circles) or placebo (open circles) during asthma attack. Each symbol represents a patient shown in Table 1. The mean (±SEM) is shown to the left or right of each group of values.

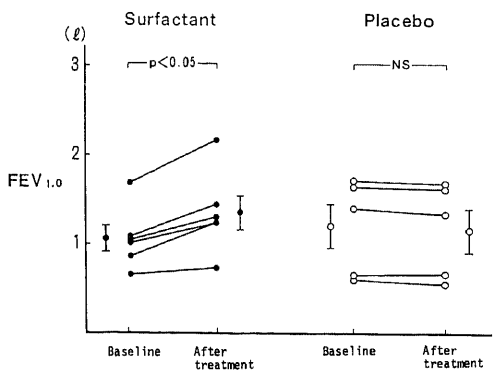

Fig. 11. Forced expiratory volume in one second (FEV1.0) before and after inhalation of surfactant (closed circles) or placebo (open circles) during asthma attack. Each symbol represents a patient shown in Table 1. The mean (±SEM) is shown to the left or right of each group of values.

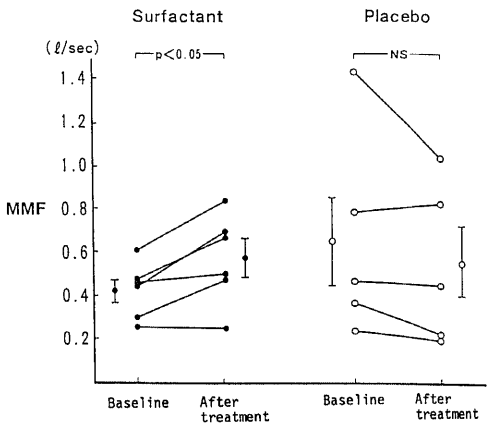

Fig. 12. Maximal midexpiratory flow (MMF) before and after inhalation of surfactant (closed circles) or placebo (open circles) during asthma attack. Each symbol represents a patient shown in Table 1. The mean (±SEM) is shown to the left or right of each group of values.

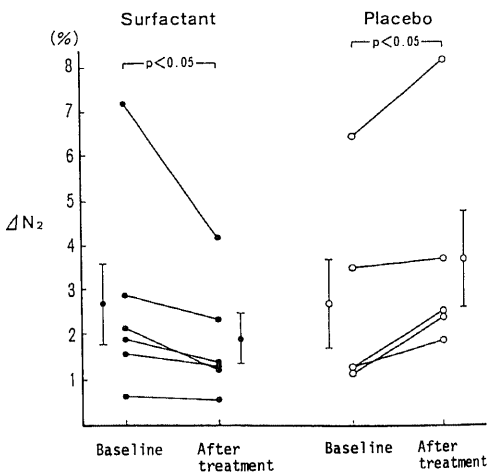

Fig. 13. The slope of alveolar plateau in single-breath nitrogen washout test (ΔN2) before and after inhalation of surfactant (closed circles) or placebo (open circles) during asthma attack. Each symbol represents a patient shown in Table 1. The mean (±SEM) is shown to the left or right of each group of values.

1.13%, p<0.05) (図13) が認められた．一方，サーファクタント吸入群では吸入前後の FVC, $FEV_{1.0}$はそれぞれ2.3±0.31対2.7±0.31 (図10), 1.1±0.1対1.3±0.21 (図11) とそれぞれ11.7% (p<0.01), 27.3% (p<0.05) の改善が得られた．末梢気道閉塞の指標である MMF, ΔN2 もそれぞれ0.42±0.05 1/sec 対0.57±0.08 1/sec (図12), 2.72±0.92%対1.89±0.51% (図13) それぞれ+33.2% (p<0.05), −30.5% (p<0.05) と有意の改善が見られた．また PaO2 も 67.2±3.1 torr から76.2±4.7 torr (図14) へと有意 (p<0.05) の上昇が見られた．

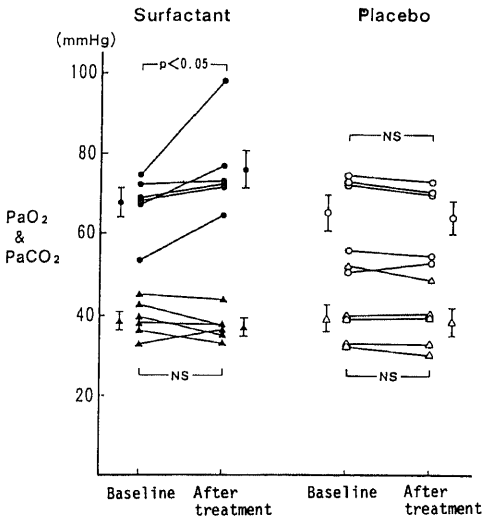

Fig. 14. Arterial oxygen tensions (PaO_2) before and after inhalation of surfactant (closed circles) or placebo (open circles) and arterial carbon dioxide ($PaCO_2$) before and after surfactant (closed triangles) or placebo (open triagles) during asthma attack. Each symbol represents a patient shown in Table 1. The mean (± SEM) is shown to the left or right of each group of values.

2．喘息非発作時のサーファクタント吸入投与の効果

図15に示すように生理食塩水またはサーファクタント吸入後の FVC の改善率はそれぞれ5.8±4.1%, −0.8±2.1%で有意差はなかった．また生理食塩水またはサーファクタント吸入後のサルブタモール吸入による改善効果でもそれぞれ27.3±17.3%, 12.6±7.0と有意差は見られなかった．同様に $FEV_{1.0}$ においても (図16) 生理食塩水またはサーファクタント吸入後の改善率はそれぞれ2.0±4.4%, −3.4±1.8%で有意差はなかった．また生理食塩水またはサーファクタント吸入後のサルブタモール吸入による改善効果でもそれぞれ29.8±13.1%, 22.4±11.9%で有意差は見られなかった．

末梢気道閉塞の指標である MMF (図17) でも生理食塩水またはサーファクタント吸入後の改善率はそれぞれ−1.4±4.9%, −14.0±3.9%で有意差はなく，生理食塩水またはサーファクタント吸入後のサルブタモール吸入による改善効果でもそれぞれ39.2±11.5%, 38.4±21.3%と有意差は見られなかった．また $\dot{V}$ 25 (図18) についても生理食塩水またはサーファクタント吸入後の改善率はそれぞれ−17.9±14.6%, −4.0±7.0%で有意差はなく，生理食塩水またはサーファクタント吸入後のサルブタモール吸入による改善効果でもそれぞれ103.7±32.3%, 139.5±88.4%と有

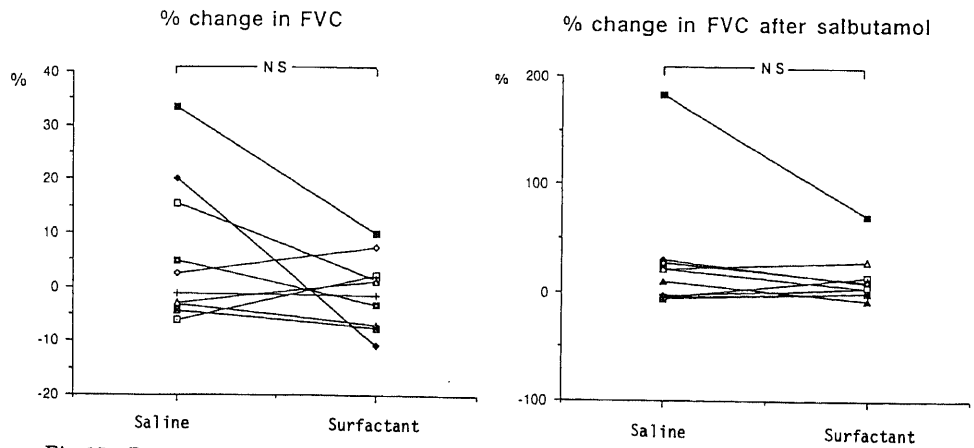

Fig. 15. Percent changes in forced vital capacity (FVC) after inhalation of saline or surfactant (left), and after inhalation of salbutamol following saline or surfactant inhalation (right) in patients with stable asthma.

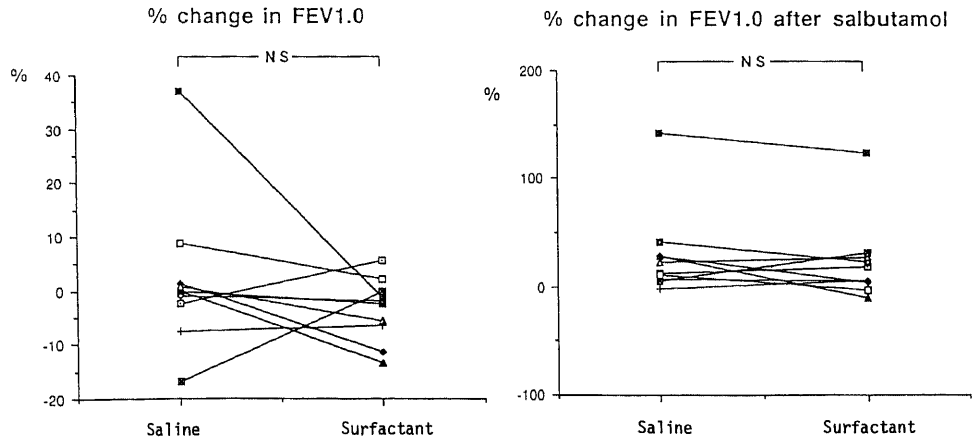

Fig. 16. Percent changes in forced expiratory volume in one second (FEV1.0) after inhalation of saline or inhalation (left), and after inhalation of salbutamol following saline or surfactant inhalation (right) in patients with stable asthma.

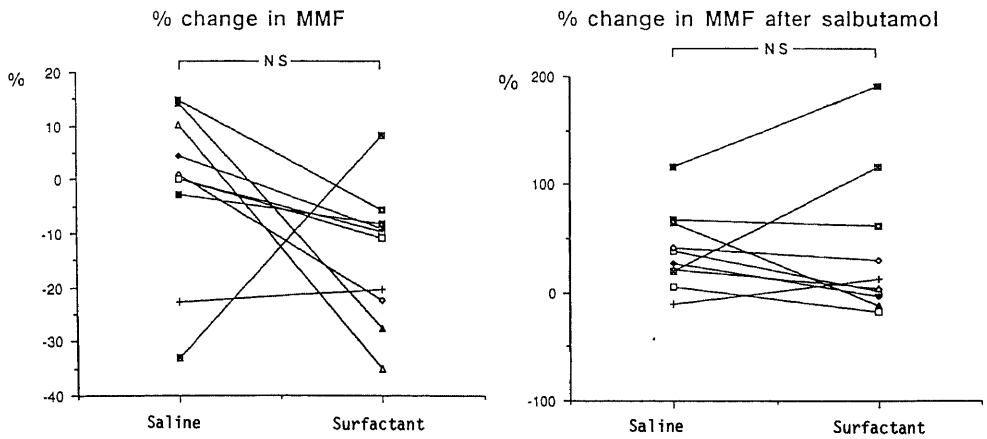

Fig. 17. Percent changes in maximal midexpiratory flow (MMF) after inhalation of saline or surfactant (left), and after inhalation of salbutamol following saline or surfactant inhalation (right) in patients with stable asthma.

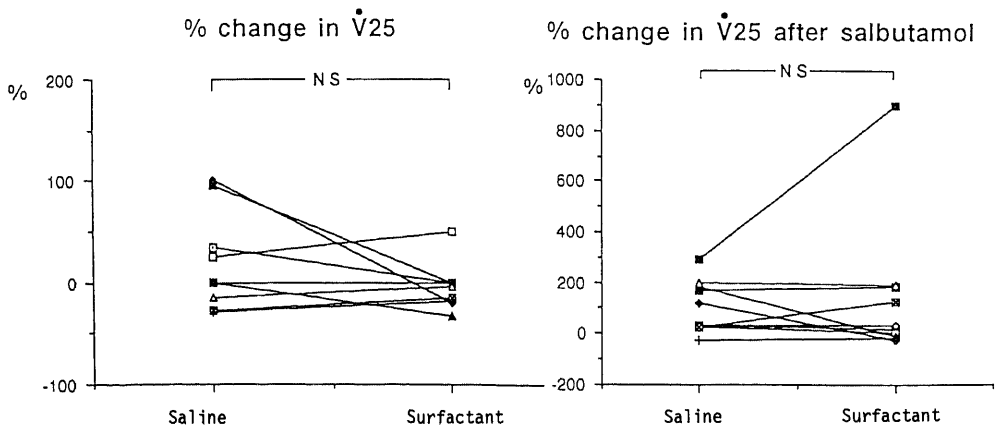

Fig. 18. Percent changes of maximal flow rates at 25% forced vital capacity (V̇25) after saline or surfactant inhalation (left), and after inhalation of salbutamol following saline or surfactant inhalation (right) in patients with stable asthma.

意差は見られなかった．

考　　察

気管支喘息は吸入抗原に対するⅠ型アレルギー反応によって引き起こされる疾患であり，その病態解明のためには抗原および気管支収縮物質の投与経路は経気道的である必要がある[5]．この点で，本研究で用いた実験系は気管支喘息の病態解明のために理想的なモデルと考えられる．モルモットを同種細胞親和性抗体により受身感作し，抗原吸入により気道収縮を誘発した．またジフェンヒドラミンの投与で内因性ヒスタミンを完全にブロックすることにより良好な再現性が得られた[5]．残りの反応は SRS-A の特異的な阻害剤である FPL55712[5] や SRS-A のレセプター拮抗薬である AS-35 (未公開資料) により著明に抑制されることから本モデルの気道収縮反応は SRS-A を主体とする反応と考えられる．Becher[4] らの喘息モデルでは以上の点が考慮されておらずサーファクタントの投与も直接注入となっている．著者は投与操作にともなう肺メカニクの変化をさけ，均一な薬剤到達を期するため，吸入による投与を行った．事実，C dyn, RL ともサーファクタント TA，90秒吸入では変化を認めなかった．また気泡式表面張力計 (Electronetics Co. Amhest, NY, U.S.A.) を用いた検討では，90秒間の超音波処理ではサーファクタント TA の活性に変化は認められなかった．すなわち超音波処理前後の最小表面張力はそれぞれ5.6±1.2mN/m，6.1±0.9mN/m であった．吸入投与において問題となるのは気道内沈着量が限られることである．Oyarzun と Clements ら[11] によればウサギの肺胞洗浄により得られた肺の総リンパ脂質量は 2.5mg/g lung または 10mg/kg body weight であり，体重 400g のモルモットの場合，肺総サーファクタント量は約 4mg と推定される．実験で用いられた超音波ネブライザーにより送られたサーファクタント TA の量は 1～2mg であり，肺内沈着率を46%とすると[6]，肺内に沈着したサーファクタント TA の量は肺内総サーファクタントの1/8～1/4と算定される．吸入粒子の気道内沈着は衝突，ブラウン拡散，重力沈降によりおこり[12]，気道，肺胞領域の沈着比率は粒子径により規定される[13]．閉塞性疾患では衝突による沈着が増加し，部位はより中枢側となる[14]．レーザー拡散を用いた粒子測定装置 Particle Sizer (Malvern Instruments Ltd. Worcestershir, England) で測定した本実験におけるサーファクタント，生理食塩水，アルブミン粒子の大きさはいずれも平均 3.6±1.2μ/m であり，3群間に差はなく，主に気道領域に沈着したと考えられる[13]．今回サーファクタント TA を用いたのはその安全性が既に小児呼吸切迫症候群 (IRDS) おいて確立されており[15]，内科領域における将来の臨床応用が期待されるためである．サーファクタント TA は1%の疎水性アポ蛋白を含み[16]，これらの蛋白は表面活性，表面膜の形成に重要な役割を果たしている[17]．またサーファクタント TA で治療された240人の患者から採取した血清800検体からは1例の抗体も検出されなかったと報告されている[18]．

本研究では最初に，アナフィラキシー性気管支収縮に対し，サーファクタント吸入がどのような効果をもつかについて検討した．その結果，サーファクタントは気道収縮をある程度回復させるが，この回復効果は，10mg/ml 群では C dyn のみの改善にとどまり，20mg/ml 群では C dyn, RL 両者に認められることが示された．小動物の呼吸機能は，Amdur と Mead[7] がモルモットの C dyn と RL を測定し，C dyn が末梢側気道，RL が中枢側気道を反映すると報告していることから，サーファクタントの効果は C dyn においてより著明であり，末梢側気道における作用が強いことが示唆された．喘息におけるサーファクタントの役割は今ところ不明であり，その作用機序に関する研究は著者らの知るかぎりまだ報告がない．そこで次にサーファクタントと抗原，ケミカルメデエーターとの関わりについて検討した．実験2でサーファクタント吸入前処置が抗原吸入誘発気道反応を抑制したことは，抗原の気道上皮，肥満細胞へのアクセスを阻止，もしくは，ケミカルメデエーターを阻止した可能性を示唆するものである．実験3では吸入サーファクタントにケミカルメデエーターの遊離抑制作用があるかどうかを検討するため，抗原を静脈投与して気道アナフィラキシーを誘発した．この場合は十分量の抗原が肥満細胞に到達すると考えられる．サーファクタントが上皮下に到達しなければ，サーファクタントに肥満細胞からの遊離抑制作用があるかないかを議論することはできないが，この実験により吸入サーファクタントは気道上皮下でのケミカルメデエーターの遊離を抑制せず，その作用にも影響を与えないことがわかった．それでは気道上皮下に遊離されたサーファクタントとケミカルメデエーターとの間に相互作用はないのであろうか．最近，気道炎症に深く関わる各種のアラキドン酸代謝産物が気道上皮細胞からも産生されることが知られるようになった[19][20]．また喘息患者の気道粘膜生検で気道上皮の障害が認められ，これが気道過敏性と相関すること[21]，気道上皮を剝離したイヌの気道切片が種々の収縮物質に対して過敏になるとの報告がなされ

ている[22]．これは今日，上皮由来気管支拡張因子[23]として知られている概念であるが，その本体は現在のところ不明である．実験4と6の結果は吸入投与されたサーファクタントが各種吸入刺激（ケミカルメデエーター）に対して気道収縮抑制性に働くことを示している．ここには示さなかったが，トロンボキサンA2のアナログであるSTA2に対しても同様の結果が得られた．これは気道上皮上においてはサーファクタントとケミカルメデエーターの相互作用があることを示すものである．実験5では血管内に投与された気道収縮物質に対してはサーファクタントは何ら作用を示さないこと，すなわち直接の気管支拡張効果はないことが確認された．以上の実験によりサーファクタントの作用機序として，気道内における抗原やケミカルメデエーターの阻害作用が示唆され，気管支喘息の病態を気道過敏性の亢進とするならば，サーファクタントは外界刺激から気道上皮を保護し気道内のホメオスターシスを保つ役割を担っていると言えよう．しかし，喘息におけるサーファクタントの作用はより複雑と思われる．それはすでに存在している量と投与量との関係にもよるが，例えば，末梢気道において分泌物が溜まった場合，分泌物の表面張力が高いと気道は早期に閉塞するという現象が知られている[24]．吸入投与されたサーファクタントが分泌物の表面張力を下げることにより気道の早期閉塞を防ぐことは十分に考えられる．実際，気管支喘息では発作の初期にC1イオンと水分の気管支内への浸出が特徴[25]であり，これを抑制するフロセミドが喘息に有効であるとの報告[25]がある．サーファクタントは肺胞上皮からの水分漏出を防ぎ肺胞内を乾燥した状態に保つという作用[27][28]があるので末梢気道における同様の効果も期待される．

また臨床的検討については，実験1では喘息発作時のサーファクタント吸入により呼吸機能の有意な改善が得られた．実験に際しては，非等張液の吸入[25]や深吸気[29]により喘息患者では気道収縮を引き起こすので注意が必要とされる．事実，生理食塩水群では吸入後，ΔN2の有意な悪化が認められた．しかしサーファクタント吸入群では呼吸機能と血液ガスの有意な改善が認められ，サーファクタントの有効性を示す結果となった．この実験で用いられたサーファクタントの量は10mg/patientであり，RDSで使用される量60−200mg/kg[15][31]と比べ非常に少量となっている．したがって，RDSにおいて果たしているサーファクタントの作用（肺胞における表面張力の低下作用）はごく少ないと考えられる．

実験2は非発作時の喘息患者に対するサーファクタントの効果をみたものである．喘息患者では非発作時でもβ2刺激薬やテオフィリンなどの気管支拡張薬に対し，1秒量で平均20%程度の改善が認められることが知られている．今回の実験結果では非発作時にサーファクタントを投与しても呼吸機能の改善はなく，β2刺激薬に対する反応にも影響を及ぼさなかった．これは基礎実験でサーファクタントに気管支拡張効果がなかったことと一致する．以上よりサーファクタントの作用は気管支の直接拡張査用でなく，ケミカルメデエーターや気道分泌液に対するものであることが示唆された．サーファクタント吸入は喘息発作において有用であり，気管支喘息の新しい治療法となりうる可能性を示唆するものであるが，その適応や投与法，投与量に関してはなお検討すべき課題が残されている．これまでサーファクタントの研究は肺胞レベルにおいて行われ，気道領域における研究は緒に就いたばかりで，今後の研究が待たれる分野と思われる．

結　論

気管支喘息におけるサーファクタント吸入療法の可能性明らかにするために，モルモットの実験喘息モデルを用いた基礎的検討と気管支喘息患者における臨床的検討を行い，以下の結論を得た．

1．受身感作モルモットに抗原を吸入負荷した時の気道アナフィラキシー反応はサーファクタント吸入により改善効果が認められ，少量では主に末梢気道に，大量では末梢および中枢気道に気管支拡張効果が認められた．

2．受身感作モルモットに抗原を吸入負荷した時の気道アナフィラキシー反応に対し，サーファクタント吸入前処置は予防効果を有することが認められた．

3．ヒスタミンおよびアナフィラキシー遅延性反応物質（SRS-A）の1つであるLTC4吸入時のモルモットの気管支収縮反応は，サーファクタント吸入前処置により抑制された．

4．2，3で用いたサーファクタントの吸入前処置は，ヒスタミンの静注による気道収縮反応を変化させず，気管支の直接拡張効果は認められなかった．

5．喘息患者では，発作時，生理食塩水吸入群では有意な変化は見られなかったが，サーファクタント吸入群ではFVC, FEV1.0, MMF, PaO2に有意な改善が認められた．

6．喘息非発作時の患者では，サーファクタント吸入による呼吸機能の改善およびサルブタモールの気管支拡張効果の増強作用は認められなかった．

以上よりサーファクタント吸入投与は気道アナフィ

ラキシー反応時に気管支拡張作用を示すが，その作用は気管支平滑筋の直接拡張作用によるものではなく，作用の一部は抗原や化学伝達物質の阻害作用によるものであることが示唆された．そしてサーファクタント吸入療法は喘息発作ときの新しい治療法となりうる事が期待された．

謝　　辞

稿を終えるにあたり，本研究の機会と御校閲を賜った松田保教授ならびに御指導，御鞭撻を頂いた藤村政樹講師，本学麻酔学教室の小林勉助教授に深謝するとともに御協力いただいた当教室呼吸器グループの諸先生方に感謝致します．

本論文の要旨の一部は第40回アレルギー学会総会，第31回日本胸部疾患学会総会において発表した．

文　　献

1) **Enhorning, G.:** Athma, a condition of surfactant deficiency. *In* L. Ekelund, B. Jonson & L. Malm (eds.), Surfactant and Respiratory Tract, lst ed., p273-281, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1989.

2) **Rensch, H. & Seefeld, H.:** Surfactant- mucus interaction. *In* B. Robertson & L. Van Golde (eds), Pulmonary Surfactant, lst ed., p203-204, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1984.

3) **加藤尚志：**実験的喘息モデルにおける肺表面張力に関する研究．日本医科大学雑誌，**84,** 286-296 (1981).

4) **Becher, G.:** Lung surfactant prevents allergic bronchial constriction in ovalbumin sensitized guinea pigs. Biomed. Biochim. Acta, **44,** K57-K61 (1985).

5) **藤村政樹：**In vivo モルモットにおける slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) による気道反応とステロイドの抑制作用－抗原および leukotriene C4 の吸入負荷を用いての検討．アレルギー，**32,** 365-375 (1983).

6) **南　真司，岡藤和博，佐賀　務，藤村政樹，金森一紀，宮保　進，服部絢一，川井　清：**モルモットにおける定量式吸入負荷装置の開発．日胸疾会誌，**21,** 252-258 (1983).

7) **Amdur, M. O. & Mead, J.:** Mechanics respiration in unanesthetized guinea-pig. Am. J. Physiol., **192,** 364-368 (1958).

8) **Drazen, J. M. & Austen, K. F.:** Effects of intravenous administration of slow reacting substance of anaphylaxis, histamine, bradykinin and prostaglandin F2α on pulmonary mechanics in the guinea pig. J. Clin. Invest., **53,** 1679-1685 (1974).

9) **Santives, T., Roska, A. K., Hensley, G. T., Moore, V. L., Fink, J. N. & Abramoff, P.:** Immunological induced lung disease in guinea pig. J. Allergy Clin. Immunol., **57,** 582-594 (1976).

10) **Watanabe, N. & Ovary, Z.:** Antigen and antibody detection by in vivo methods: A reevaluation of passive cutaneous anaphylactic reactions. J. Immunol. Methods, **14,** 318-390 (1977).

11) **Oyarzun, M. J. & Clements, J. A.:** Control of lung surfactant by ventilation, adrenergic mediators, and prostaglandins in the rabbit. Am. Rev. Respir. Dis., **117,** 879-891 (1978).

12) **Taulbee, D. B. & Yu, C. P.:** A therapy of aerosol deposition in the human respiratory tract. J. Appl. Physiol., **38,** 77-85 (1975).

13) **Ito, H.:** Aerosol particle deposition in the normal and obstructive airways. J. Aerosol Res., **3,** 29-35 (1988).

14) **Goldberg, I. S. & Lourenco, R. V.:** Deposition of aerosols in pulmonary disease. Arch. Intern. Med., **131,** 88-91 (1973).

15) **Konishi, N., Fujiwara, T., Naito, T., Takeuchi, Y., Ogawa, T., Inukai, K., Fujimura, M. & Hashimoto, T.:** Surfactant replacement therapy in neonatal resiratory distress syndrome. Eur. J. Pediatr., **147,** 20-25 (1988).

16) **Taeush, H. W., Keough, K. M. W., Wiliams, M., Salivan, R., Steele, E., Lee, A. S., Phelps, D., Kariel, N., Floros, J. & Avery, M. E.:** Characterization of bovine surfactant for infant with respiratory distreess syndrome. Pediatrics, **77,** 572-581 (1986).

17) **Hawgood, S., Benson, B. J., Schilling, J., Damm, D., Clements, J. A. & White R. T.:** Nucleotid and amino acid sequences of pulmonary surfactant protein SP 18 and evidence for cooperation between SP 18 and SP 28-36 in surfactant lipid adsorption. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., **84,** 66-70 (1987).

18) **Kawashima, T., Chida, S. & fujiwara, T.:** Anti-5kDa protein IgG antibody in sera from patients with RDS treated by surfactant TA. Perinatal Med. Jpn., **17,** 473-476 (1987).

19) **Marom, Z.:** Human airway monohydroxy-eicosatetraenoic acid genaration and mucus release. J.

Clin. Invest. **72,** 122 (1983).

20) Hunter, J. A.: Prodominant generation of 15-lipoxygenase metabolites or arachidonic acid by epitherial cells from human trachea. Proc. Natl, Acad. Sci. U.S.A., **82,** 4633 (1985).

21) Laitinen, L. A., Heino, M., Latinen, A. Kava, T. & Haahtela, T.: Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. Am. Rev. Resp. Dis., **131,** 599-606 (1985).

22) Flavan, N. A.: Respiratory epithelium inhibits bronchial smooth muscle tone. J. Appl. Physiol., **58,** 834-838 (1985).

23) Fernandes, L. B., Paterson, J. W. & Goldie, R. G.: Co-axial biopsy of a smooth muscle relaxant factor released from guinea pig tracheal epithelium. Br. J. Pharmacol., **96,** 117-124 (1989).

24) Gaver III, D. P., Samsel, R. W. &. Solway, J.: Effects of surface tension and viscosity on airway reopening. J. Appl. Physiol., **69,** 74-85 (1990).

25) Sestini, P., Perdue, M. H., Crowe, S. E., Marshall, J. S., Stead, R. H & Bienenstock, J.: Allergen and neurotransmitter-induced changes in ion transport in rat tracheal epitheluim in vitro. Am. Rev. Resp. Dis., **137,** 219 (1988).

26) Bianco, S., Pieroni, M. G., Refini, R. M., Rottoli, L. & Sestini, P.: Protective effect of inhaled furosemide on allergen-induced early and late asthmatic reactions. N. Engl. J. Med., **321,** 1069-1073 (1989).

27) Clements, J. A.: Pulmonary edema and permeability of alveolar membranes. Arch. Environ. Health, **2,** 104-107 (1961).

28) Pattle, R. E.: Surface lining of lung alveoli. Physiol. Rev., **45,** 48-79 (1965).

29) Eschenbacher, W. L., Boushey, H. A. & Sheppard, D.: Alteration in osmolarity of inhaled aerosols cause bronchoconstriction and cugh, but absence of a permeant anion causes cough alone. Am. Rev. Respir. Dis., **129,** 211-215 (1984).

30) Gayrard, P., Orehek, J., Grimaud, C. & Charpin, J.: Bronchoconstrictor effects of a deep inspiration in patients with asthma. Am. Rev. Resp. Dis., **111,** 433 (1975).

31) Collaborative European Multicenter Study Group.: Surfactant replacement therapy for severe neonatal respiratory distress syndrome. Pediatrics, **82,** 683-691 (1988).

Experimental and Clinical Study on Surfactant Inhalation Therapy in Bronchial Asthma

Kazuyoshi Kurashima, Department of Internal Medicine (III), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920
—J. Juzen Med. Soc., **100,** 772—787 (1991)

Key words bronchial asthma, pulmonary surfactant, inhalation therapy

Abstract

The author studied the effects of exogenous surfactant, Surfactant TA, administered as an aerosol in bronchial asthma. An experimental study using a guinea pig model for asthma and a clinical study of asthmatic subjects were performed during asthmatic attack and in the stable state. Surfactant inhalation significantly reduced the bronchoconstricition mainly mediated by a slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) which was induced by antigen inhalation in passively sensitized guinea pigs. The bronchoconstriction induced by histamine and leukotriene C4 (LTC4) inhalation was also significantly reduced by surfactant preinhalation. But surfactant preinhalation did not alter the bronchoconstriction induced by venous administration of antigen and histamine. In asthmatic attack, pulmonary functions and blood gas composition improved significantly with surfactant inhalation. On the other hand, in stable asthmatics surfactant inhalation did not improve the pulmonary

functions and the response to beta adrenergic agoist inhalation. These findings indicate that surfactant may help to open a bronchi collapsed by sputum in asthmatic attack and block the action of an inhaled antigen and chemical mediators. It is assumed that surfadctant inhalation is a potential new therapeutic method in the treatment of bronchial asthma.