

氏 名 (本籍)	おお いずみ てつ の すけ 大 泉 哲 之 助
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	医 第 1 0 3 2 号
学 位 授 与 年 月 日	昭 和 5 3 年 2 月 2 2 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
最 終 学 歴	昭 和 4 3 年 9 月 順 天 堂 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業
学 位 論 文 題 目	先 天 性 食 道 閉 鎖 症 に お け る 肺 合 併 症 に 関 す る 実 験 的 研 究

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 佐 藤 寿 雄 教 授 滝 島 任  
教 授 葛 西 森 夫

# 論文内容要旨

## 研究目的

先天性食道閉鎖症の治療成績向上を阻む因子として、術前術後を通じ肺合併症が挙げられる。著者は本症剖検例9例中6例において気管では線毛の脱落、消失、びらんを見ると共に基底細胞過形成、扁平上皮化生を高率に認め、更に肺では肺胞腔内に泡沫細胞が充満している特徴的な組織像 (Retention lung: Emery 1971) を認めた。これらの肺所見は炎症性変化に乏しく恰も下部気道や肺胞腔からの細胞及びmucosの除去の障害、すなわち気道のmucociliary transport mechanism (MCTM) の障害に起因していると推定された。このような臨床的知見に基づき、ラット気管に選択的にリネアックX線照射を施行し実験的に気管MCTM障害を作成、気管・肺の形態学的検索を行うと共に、肺胞腔内における surfactant の消長を検討した。

## 研究方法

体重200～400gのDonryu系のラット雄77匹を使用した。照射方法として、照射前にnembutal腹腔内麻酔(4mg/100g)の下にラットを背臥位に固定、X線透視により気管の位置を確認した後照射野0.5×3cm、焦点皮膚間距離100cm、線量率250R/minの条件下で、Lineac X線を1日1回500Rads、30日間連日照射した。形態学的検索には照射終了後7～35日目に屠殺し、気管・肺の光顕及び電顕を行った。更に気管では粘膜表面構造の変化を追求する目的で走査型電顕による観察を行った。固定方法として10%中性ホルマリンの他、磷脂質染色の目的でBakerの固定を行った。染色方法はHE染色の他、PAS染色、Alcian blue染色を併用した。脂肪染色にはSudan III, Sudan black B染色、岡本らによるSilver diphenyl carbazone法を行った。透過電顕にはglutaraldehyde液とOsmium酸による二重固定を行い、エポン包埋後超薄切片を作成し、酢酸ウラン、クエン酸鉛による二重染色を施し観察したが、更に磷脂質染色を目的として、Dermerのtricomplex法を行った。走査型電顕には臨界点乾燥法を用いた。肺洗浄液による surfactant の検索については照射終了後10～35日目に屠殺し、(1)肺 surfactant の半定量的検索：生食水を用いて経気道的に行って得られた肺洗浄液を20,000×g, 4°C 20分間遠心した後その pellet に0.1 mlの生食水を加えてhematcrit管に移し、10,000 r.p.m. 5分間遠心した。分離された白色層、褐色層の全長に対する%を求め、実験、対照両群を比較検討した。(2)白色層の表面活性度の測定：(1)と同様に高速遠心後その pellet に生食水5 mlを加え溶解しClementsの方法に基づき titer を測定した。(3)Surfactant lecithinの定量：肺洗浄液を600×g, 5分間遠心して細胞を除去した後20,547×g, 4°C, 30分間遠心した。その sediment から lipid を抽出し薄層クロマトを用いて surfactant lecithinの定量を施行。(4)蔗糖密度勾配遠心分画法による surfactant の定量：肺洗浄液を17,000 r.p.m., 2°C, 40分間遠心し、その pellet を0.145 M NaCl に溶解した。あらかじめ0.25 Mと0.68 M sucrose重層したものを用いて重層し、25,000 r.p.m., 60分間遠心した。得られた各分画帯の中、0.25と0.68

M sucrose の間に存在する fraction を用いて surfactant lipoprotein を測定した。

(5) Palmitate- $1-^{14}\text{C}$  albumin complex  $10\mu\text{Ci}$  を静注し、8時間及び72時間目に屠殺した。肺洗浄液は(3)の方法を用いて処理し、surfactant lecithin への isotope の取り込みを検討した。

## 研 究 結 果

(1)気管では照射終了後7～35日の期間を通じ広汎な線毛の脱落、消失と扁平上皮化生を認め気管において高度なMCTM障害を示す所見であった。(2)肺では泡沫細胞が肺胞腔内に充満し、炎症性細胞の乏しい特徴的な組織所見を認めた。(3)泡沫細胞の脂肪組織化学所見及び超微形態所見から空泡性の胞体中に脂質が多量に含まれており、更にDermerのtricomplex法による検索により泡体における surfactant の存在が示唆された。(4)泡沫細胞の起源はその超微形態所見から肺胞食細胞に由来すると考えられた。かつ胞体内の脂質中、層状封入体はⅡ型肺胞上皮細胞から肺胞腔内へ分泌されたものが pinocytosis により摂取されたと推定される所見を得た。(5)肺洗浄液を高速遠心して得られた白色層(濃縮された surfactant)と褐色層(肺胞腔内細胞成分)はいずれにおいても実験群が対照群の2.5～2.8倍という高値を示した。更にClements法を応用してこの白色層の表面活性度を測定すると実験群は高 titer を示した。肺 surfactant の marker である surfactant lecithin は実験群が  $1.37 \pm 0.90 \text{ mg/g wet lung}$ 、対照群では  $0.55 \pm 0.14 \text{ mg/g wet lung}$  と実験群が約2.4倍の高値を示した。蔗糖密度勾配遠心分画法を用いて、より精製されたものとして surfactant lipoprotein を測定すると、実験群は  $0.91 \pm 0.28 \text{ mg/g wet lung}$ 、対照群は  $0.40 \pm 0.15 \text{ mg/g wet lung}$  の値を示し、実験群が対照群に比し約2.3倍の高値を示した。(6) $^{14}\text{C}$ -palmitate の surfactant lecithin のラット当りの取り込みを比較すると、isotope 静注後8時間では実験群、対照群の両者に有意差はみられず、72時間目では危険率1% ( $P < 0.01$ ) で有意差がみられた。 $T_{1/2}$  は実験群が対照群に比し約18時間の遅延を示した。(5)～(6)迄の肺 surfactant の検索から、実験群において肺胞腔内に surfactant の著しい貯留を認め、更に isotope の取り込み実験により、実験群では肺胞腔内の surfactant の分泌は正常であるが肺胞腔からの除去が遅延している所見を得た。

## 結 論

ラット気管のMCTMを障害することにより、先天性食道閉鎖症剖検例にみられた特異な肺病変と組織学的に一致する実験的肺組織像を得た。以上の実験結果から先天性食道閉鎖症の肺合併症中に存在する所謂 retention lung の病態は気道の mucociliary transport system の障害に由来する可能性が示唆され、更にこのMCTM障害時における肺 surfactant の検討から、肺胞腔内に肺 surfactant が著しく貯留しており、その貯留の原因が肺 surfactant の分泌亢進によるものでなく、肺胞腔からの除去遅延に由来すると推定された。従って抗生物質投与等の肺炎に対する一般的治療に抵抗する本症の肺合併症に対しては、肺洗浄法が有効と考えられた。

## 審査結果の要旨

先天性食道閉鎖症の治療に際しては肺合併症の対策が重要である。最近、この肺病変に対し気道内清浄化の有用性が指摘されているが、気道のもつ粘液線毛輸送機構(MCTM)は強力な異物排泄機構であり、その障害が肺機能障害をきたす大きな因子となっていると推察される。本研究では気管MCTMの障害が肺の生理機能に如何なる障害を与え、また如何なる肺病変を招来するかを検討するため、ラットを用い、その気管に選択的リネアックX線照射を行い、実験的に気管MCTM障害を作成し、気管、肺の形態学的検索を行うとともに肺胞腔内surfactantの消長を検討している。

その結果によると、まず気管では照射後7～35日の全経過を通じ広汎な線毛の脱落消失と粘膜上皮の扁平上皮化生がみられ、気管に高度なMCTM障害があるものと考えられた。肺では泡沫細胞が肺胞腔内に充満し、この泡沫細胞に検討を加えたところ、空胞性の胞体中に多量の脂質が含まれており、さらに胞体内にはsurfactantの存在が示唆された。肺胞洗滌液を検討したところ、肺surfactantのmarkerとされる濃縮した白色層およびより確実なmarkerであるsurfactant lecithin, surfactant lipoproteinは対照群に比し実験群が著明な高値を示し、肺胞腔内surfactantが多量に蓄積していることが確認された。さらに本研究では<sup>14</sup>C-Palmitateを用いてsurfactant lecithinへの取り込みを検討しているが、その成績では実験群では肺胞壁内へのsurfactantの分泌は正常であるが、肺胞壁からの消失が遅延しているとの成績を得ている。このことから肺surfactantは主として気管系から排泄されるものと判断している。一方、先天性食道閉鎖症剖検例の気管を組織学的に検討しているが、実験群と類似の所見を高頻度に認めている。このことから本症では気管上皮の変化に伴う気管MCTM障害が、抗生物質も無効なretention lungを高率に合併する原因になっていると考えている。そして、このような症例に対する肺洗滌療法の有効性を強調している。

最近、大きな侵襲を必要とする手術が多く行なわれるようになってから、長期間にわたり、気管内挿管を必要とする症例が少くない。その際の肺合併症に対し肺洗滌療法が行なわれているが、その有用性に関しては種々論議されている。本研究の成績は、肺洗滌療法に対し、有力な理論的根拠を提示したものであり、先天性食道閉鎖症のみならず、他疾患における肺合併症治療にも貴重な指針を与えたものである。よって本研究は学位授与に値するものと認める。