

会 頭 講 演

肺サーファクタントの基礎と臨床

千 田 勝 一 (岩手医科大学医学部小児科学講座)

はじめに

世界一権威があるとされる医学雑誌, Lancet の1980年1月12日号の巻頭論文に, 画期的な治療法が掲載された。それは, 呼吸窮迫症候群 respiratory distress syndrome (RDSと略) が病理診断名で硝子膜症 hyaline-membrane disease ともよばれていた時代に, 人工サーファクタントの気道内投与が重症RDS児に顕著な効果を示した報告¹⁾である。これは「サーファクタント発見の新たな歴史の始まり」²⁾であった。

本稿では, その論文の筆頭著者で, 人工サーファクタントの開発と臨床応用に世界で初めて成功した恩師, 藤原哲郎先生 (現在, 岩手医科大学名誉教授) の業績と, 先生のもとで行った教室員の仕事を中心にご紹介する。

I. サーファクタント研究の歴史^{2)~4)}

肺胞が呼気時に潰れないでいるのは, 肺胞Ⅱ型上皮細胞から分泌されたサーファクタント (表面活性物質 surface active agent) が肺胞の表面を覆っているからである。これが十分に産生されないまま早産で生まれると, RDSを発症する。この因果関係は, RDSが初めて記載されてから77年後に, 人工サーファクタント補充療法の成功によって実証されることになった。

RDSは1903年, Hochheim (独) によりその肺病理所見 (硝子膜) が初めて記載された。この硝子膜は呼吸不全の結果, 血管から肺胞へ漏出したフィブリノゲンがフィブリンになったものであるが, 当時, 研究者の眼はその成因に向

かい, 半世紀もの間, 諸説が現れては消える時代であった。

この間の1929年, von Neergaard (スイス) は動物の切除肺を使った実験から, 「換気力学の基本原理解における新知見: 肺胞表面張力に基づく肺の弾力」を著し, サーファクタントの存在を示唆した。しかし, この画期的な発見は注目されなかった。1950年代後半になり, サーファクタントはPattle (英) とClements (米) によってほぼ同時期に再発見された。そして1959年, AveryとMead (米) はRDSで死亡した肺の表面張力を測定し, サーファクタント欠乏説を提唱した。この説は最も期待され, サーファクタントの主成分がジパルミトイルホスファチジルコリン (DPPCと略) であることが分かると, 米国の研究チームはそのエアロゾルをRDS児に吸入させる臨床試験を行った。しかし, その結果は無効であったため, サーファクタント欠乏説は否定され, 「群盲 (研究者), 象 (RDS) をなでる」とたとえられる時代が続いた (図1)。

一方, 1960年代にUCLA (カリフォルニア大学ロサンゼルス校) でサーファクタントの研究を行っていた藤原先生は, サーファクタント欠乏説を支持する先駆的な知見を数多く発表し, それが1970年代になって未熟動物肺に天然サーファクタントを注入する実験へ発展した。しかし, その当時, 動物の天然サーファクタントは異種蛋白を含むためヒトに応用できず, また, この蛋白を除去するとサーファクタントとしての活性は失われると考えられていた。

先生は帰国後に人工サーファクタントの開発

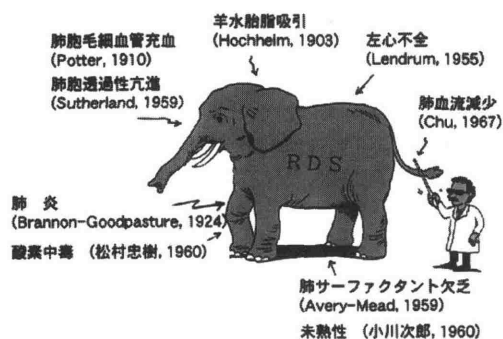


図1 盲人(研究者)と象(RDS)
RDSの原因として諸説が提
唱されている様子を表す。文
献¹⁾より引用。

に着手した。前述の DPPC は体温で固形となり、空気・水の界面に吸着しないことをすでに確認していた先生は、DPPC の表面吸着を促進させる脂質を求めて数百種もの組合せ実験を行った。そして、ある深夜に表面活性が極めて均一な人工サーファクタントが誕生した。この成功は、動物の天然サーファクタントから有機溶媒で親水性異種蛋白(血清と SP-A, SP-D; 後述)を除去しても表面活性は損なわれず、さらに、DPPC と酸性リン脂質を添加するとその表面活性は極めて均一になるという発見に起因している。

Lancet へ掲載された反響は大きく、TIME 誌(1980年2月25日号)に紹介された。また、サーファクタント欠乏説が実証され、Avery を始め多くの研究者が来日した。この後、サーファクタントの基礎的、臨床的研究は急速に進歩することになる。

II. サーファクタントの基礎

1) 組成

天然サーファクタントは脂質-蛋白複合体(重量比約10:1)である(図2)。脂質成分はリン脂質(約80%)と中性脂質(約10%)からなる。リン脂質の大部分はホスファチジルコリンであり、その1位、2位ともにパルミチン酸を結合する DPPC が45%を占める。ホスファチジルコリンに次いで多いのが酸性リン脂質のホスファチジルグリセロールであるが、早産児ではホスファチジルイノシトールがその代役を務める。

一方、人工サーファクタントの開発により蛋白成分の研究も進歩した。人工サーファクタントは有機溶媒で脂質とともに抽出される疎水性蛋白を約2%含み⁵⁾、これが表面活性の発現に不可欠な成分であることが判明した⁶⁾。そのころ、サーファクタントに特異的な蛋白は種々の名称でよばれていたため、1988年に surfactant protein の頭文字をとって国際的に名称が統一された。この結果、疎水性蛋白は SP-B, SP-C に、また、親水性蛋白は SP-A に統一された。その後、新たな親水性蛋白が見つかり、SP-D

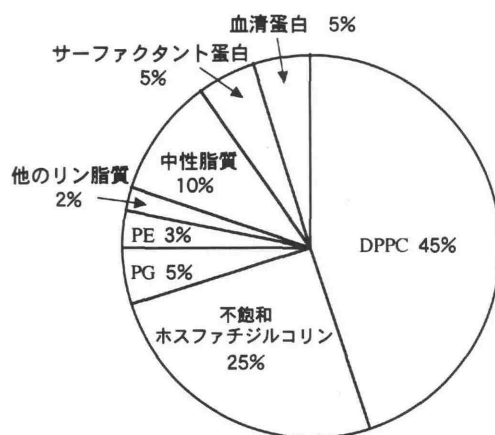


図2 天然サーファクタントの組成
DPPC; ジパルミトイルホス
ファチジルコリン, PG; ホス
ファチジルグリセロール, PE
; ホスファチジルエタノラミ
ン。

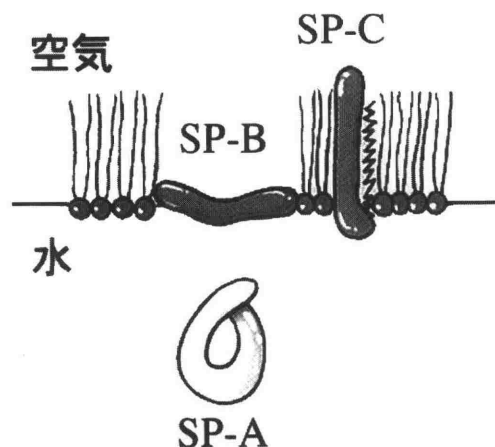


図3 サーファクタント単分子膜の構造を表す概念図
文献¹⁾より引用。

が追加された。したがって、天然サーファクタントの蛋白成分は、血清以外に親水性のSP-A, SP-Dと、疎水性のSP-B, SP-Cの4種類からなる。

SP-A, SP-B, SP-Cのアミノ酸配列のコンピュータ解析から、空気・水の界面における構造が明らかになった⁷⁾ (図3)。SP-Bは両親媒性表面探索ペプチドで、サーファクタントの拡散、吸着、再拡散に関与し、SP-Cは膜貫通ペプチドで、リン脂質膜に入り込み、サーファクタントの単分子膜を安定化するものと考えられる。

2) 機能, 代謝

サーファクタント蛋白についての構造解析、遺伝子破壊(ノックアウト)マウスやヒトの遺伝子変異の研究、および代謝経路の解明が進んだ⁸⁾。SP-B欠損があるとRDSと同様の経過で呼吸不全のため死亡し、SP-C欠損があると種々の呼吸器疾患を発症することが分かった。SP-AとSP-Dはコレクチンファミリーに属し、マクロファージを刺激して肺の感染防御に関与している。サーファクタントの代謝では、脂質や蛋白の大部分が肺胞Ⅱ型上皮細胞に取り込まれ再利用される。

Ⅲ. 人工サーファクタント製剤⁹⁾

藤原先生が開発した人工サーファクタントは、1980年代に日本と米国で比較対照試験が行われ、日本では1987年にSurfactenとして実用化された。一方、米国の会社がこの製造・販売権を入手し、1991年からSurvantaとして世界数十カ国で用いられている。また、欧米の人工サーファクタントも開発された。

現在、RDSの治療薬として使用されている製剤は、ウシ肺由来の成分・活性を調整したSurfacten (日)とSurvanta (米)、ウシ肺洗浄液由来のInfasurf (米)、Alveofact (独)、Newfactan (韓)、ブタ肺由来のCurosurf (伊)である。これらの比較を以下に示す。なお、ヒト羊水サーファクタント(米)はウイルス感染などを伝搬する危険性があるため製造を中止し、合成サーファクタントのALEC (英)とExosurf (米)は速効性がないことから製造中止

となった。

1) 表面活性¹⁰⁾

表面活性はmodified Wilhelmy表面張力計で表面吸着と表面拡散を測定し、次に動的表面張力-面積曲線の記録から最小表面張力、最大表面張力、表面圧縮時に表面張力が10 milli-newton/meter (mN/m)に達する面積を求めた。純粋な水の表面張力は72mN/mであるが、良好なサーファクタントの表面張力は素速く低下し、表面圧縮時に70～80%の面積で10mN/m未満に達する。

この結果、各製剤の表面活性はかなり異なることが分かった(図4)。表面吸着はSurfactenが優れ、表面拡散はSurvanta以外がよく、最小表面張力はSurfactenとSurvantaが低く、最大表面張力はSurfactenとAlveofactが低かった。表面圧縮時に表面張力が10mN/mに達したのはSurfactenとSurvantaだけであった。

以上のことから、表面活性はSurfactenが最も優れていた。

2) 生理活性¹¹⁾

生理活性は未熟ウサギRDSモデルの気道へ注入後に、肺胸郭圧量曲線から求めた肺気量と、肺組織標本における肺胞-肺面積比で比較した。良好なサーファクタントはこれらを成熟レベルまで改善できるはずである。

この結果、リン脂質として30mg/kgの注入でSurfactenの肺気量は成熟対照と同等であった

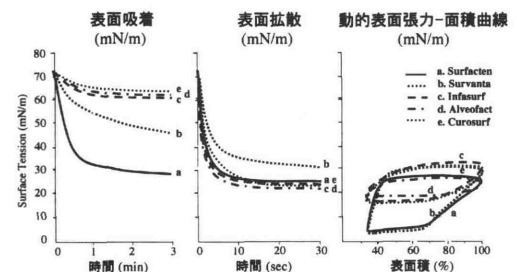


図4 種々の人工サーファクタントの表面活性

表面吸着は検体を水槽の底に注入し、表面拡散は検体を水槽の水面に静置して表面張力を測定する。表面張力-面積ダイアグラムは表面拡散測定後に移動板で表面積を変化させて表面張力を測定する。文献¹⁰⁾を改変。

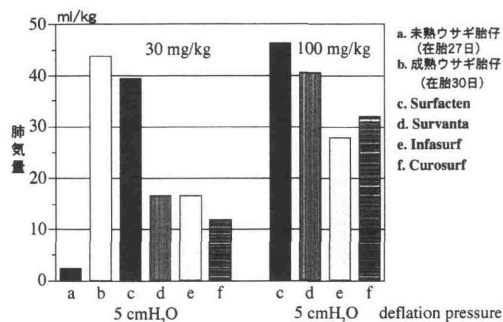


図5 種々の人工サーファクタントの生理活性
肺気量は肺を空気で30cm H₂Oまで膨らませ、次に5 cm H₂Oまで減圧したときの肺胸郭圧量曲線から求めた。文献¹¹⁾を改変。

のに対し、他の製剤の肺気量はその50%未満であった。臨床の投与量と同じ100mg/kg注入では、Survantaだけが成熟対照のレベルに達した(図5)。肺胞-肺面積比はこの結果と同様で、肺胞の拡張も均一であった。

以上から、Surfactenは少量投与でも生理活性に優れていた。

3) 電子顕微鏡写真¹²⁾

電子顕微鏡による観察の結果、基本構造の相違がみられた。SurfactenとSurvantaは長いひも状で、InfasurfとCurosurfは円形構造をしていた(図6)。表面活性、生理活性の結果を考慮すると、表面張力低下作用にとって長いひも状構造が有利ではないかと考えられた。

4) 製剤の相違

各製剤の成分は基本的に脂質とSP-B, SP-Cからなるが、脂質構成成分の含有量が異なっている。また、Survanta, Infasurf, Curosurfは

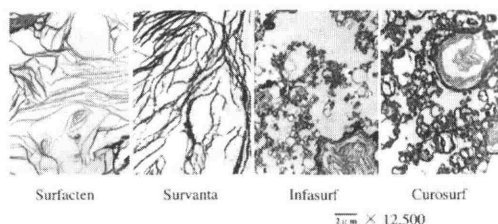


図6 種々の人工サーファクタントの電子顕微鏡写真
文献¹²⁾の著者より提供。

溶解する操作を省くため、前もって生理食塩液に拡散させた液状化製剤にしておき、表面吸着に乏しい成分が増えている可能性がある。さらに、前二者は高圧蒸気滅菌を行っており、不飽和リン脂質などが分解している可能性がある。したがって、これらの条件が単独で、または重複して活性や構造に影響していることも考えられる¹³⁾。

IV. サーファクタントの臨床

1) 治療の実際

RDSを発症する可能性が高い切迫早産、とくに在胎28週未満の場合(50%以上がRDSを発症)は、周産期母子医療センターで管理する。そこで母体胎児管理を行い、早産になるときは新生児専門医が分娩に立ち会う。RDSかどうかは、出生前は羊水、出生直後は胃に飲み込んだ羊水を使ってマイクロバブルテストを行い、サーファクタント欠乏の有無で判定する¹⁴⁾。この検査は特異度が高い。

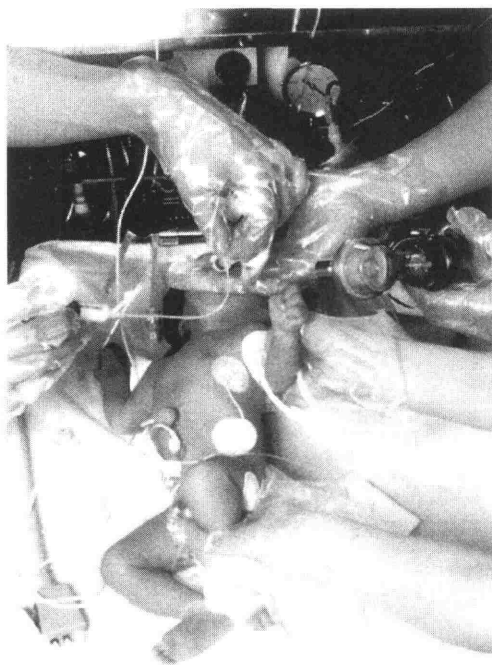


図7 人工サーファクタント補充の実際
肺に均等分布するよう、体位変換をしながら挿管チューブを介して人工サーファクタントを補充しているところ。

出生直後にこの判定が未熟値であれば, Surfacten の凍結乾燥剤を滅菌生理食塩液で溶解し, 暖めたのちデスポーザブル注射器にとる。それにカテーテルを付けて児の挿管チューブから体位変換しながら100mg/kg を分割投与する (図7)。判定が成熟値でRDSを発症した場合は, その時点で治療する。

2) 効果

治療後は速やかに人工換気条件を軽減できる。これに伴って, 胸部X線像は劇的に改善する (図8)。RDSの90%は1回の投与で速やかに酸素濃度と気道圧が正常レベルになり, その効果が持続する反応パターンをとる¹⁵⁾。速効性がないか, あっても効果が持続しない場合は, 再投与で改善することが多い。

RDSに対するSurfactenの補充療法は, 人工換気条件の軽減, 胸部X線像の改善, 種々の合併症 (エアリーク, 脳室内出血, 慢性肺疾患) の減少に有効であることが臨床試験で確認された^{16)~18)}。一方, 外国の人工サーファクタントによる反応パターンはSurfactenと異なり, 1回の投与で効果が持続するものはむしろ少なく, 再投与が正当化されている。さらに, 脳室内出血と慢性肺疾患の減少は認められていない。この主な理由は人工サーファクタントの質の差によるものと思われる。

3) 人工サーファクタントの動態

RDSの気道液中のSP-A, SP-B, SP-Cを酵素免疫法で測定すると, 自己のSP-Aは生後48時間頃に増量するが, Surfacten補充後はSP-B, Cが対照群よりも高値を維持し, 自己のSP-B, Cが分泌されるまでの間, 十分に肺胞ブルーサ

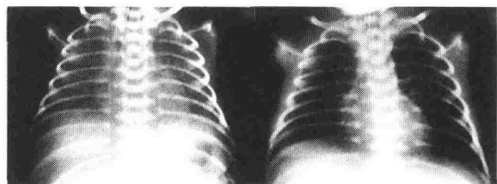


図8 人工サーファクタント補充前後のRDSの胸部X線写真

RDSの典型像 (左) から, 補充後短時間ではほぼ正常像 (右) を示す。

イズを維持している¹⁹⁾²⁰⁾。効果が持続するのは, 肺胞Ⅱ型上皮細胞に取り込まれて再分泌された可能性がある。

4) 副作用

RDSの血清中のSP-A, SP-B, SP-Cとそれに対する抗体を酵素免疫法で調べると, 少数例でSP-Aと, SP-AおよびSP-B, Cに対するIgM抗体が一過性にみられ, これは対照群に多かった²¹⁾。人工サーファクタントの補充が血管内へのリークを防いでいる可能性がある。その後, Surfactenの補充を受けた208例, 629血清について抗体を検査したが, 抗体の産生は認められなかった²²⁾。現在, どの製剤による副作用もみられていない。

2001年に日本でウシ海綿状脳症が発生したことに伴い, Surfactenの原料は非発生源のものに切り替えになった。肺は危険度が低い部位であり, 病原体のプリオンは抽出工程で除去される可能性も高いことから, この問題は心配ないと考えられる。

5) 治療の最適化

RDSを発症する早産児は, 肺を含めて多臓器の未熟性を抱えている。したがって, 予後の改善にとって一般支持療法が重要であることは言うまでもない。とくに, 早産管理と出生時管理, 循環管理は重要である¹⁵⁾²³⁾。それに加えて, マイクロバブルテストでRDSを選別し, 最適な人工サーファクタントを予防投与してその治療効果を最大限引き出すようにすれば, RDSの予後はさらに改善されるものと思われる。

6) 波及効果

人工サーファクタント補充療法の導入はさまざまな波及効果を生み, 新生児医学は飛躍的な進歩を遂げた。本療法によりサーファクタント欠乏が解消されたことで, かつて象 (RDS) の一部にたとえられた病態の関与が浮き彫りとなり²³⁾, それぞれの診断法, 治療法が進歩した。本療法が日常診療に導入されたことに伴い, 日本と米国から新生児死亡率, およびRDS死亡率は顕著に減少したことが報告された。臨床試験のメタアナリシスを行って公表する Vermont-

Oxford Data Baseが構築され、その主要メンバーはコックランライブラリーに参画している。

V. 藤原哲郎名誉教授の国際受賞

藤原先生は、1996年にサウジアラビアのKing Faisal国際賞・医学賞を(図9)、2004年に米国小児科学会のApgar賞をどちらもアジアで初めて受賞された。

King Faisal国際賞は、サウジアラビアの故Faisal国王の子息たちが1976年に設立したKing Faisal財団の活動の1つで、毎年、国際社会の各分野で顕著な功績を残した人々に贈られる。1995年まで世界30カ国の99名が受賞した。この中にはノーベル賞受賞者やその候補者もあり、レベルの高さから本賞は「南のノーベル賞」と称されている。医学賞の受賞は、「新生児死亡原因のトップの座を占めていたRDSに対して、有効な人工サーファクタントの開発と補充療法を確立したことにより、先進国の新生児死亡率を著明に低下させ、人類の幸福に貢献した」ことが評価された。

Apgar賞は、Apgarスコアを開発した米国の麻酔科医、Virginia Apgarの功績を記念して米国小児科学会が1975年に設立したもので、毎年、周産期小児科学の発展に際立った貢献をした人に贈られる。2003年まで29名が受賞した。本賞の受賞は、「RDSに対する人工サーファクタントの開発と補充療法の成功は、過去30年の周産期小児科学の歴史で最も画期的な進歩であり、世界の新生児死亡率の低下とインタクトサバイ

バルの増加に大きく貢献した」ことが評価された。

おわりに

最近、SP-BやSP-C類似の合成ポリペプチドを使った合成サーファクタント、Surfaxin(米)やVenticute(独)が開発され、第Ⅲ相試験が行われている。日本でもSurfactenに匹敵する合成サーファクタントが開発された。合成サーファクタントの開発には、表面活性に優れ、動物ならびに臨床で有効性が証明されたSurfactenをgold standardにする必要があろう。

文 献

- 1) Fujiwara T, Maeta H, Chida S, et al. Artificial surfactant therapy in hyaline-membrane disease. *Lancet* 1980 ; 1(8159) : 55-59.
- 2) Avery ME. Historical perspective. Polin RA et al, eds. *Fetal and Neonatal Physiology*, 3rd ed. Philadelphia : Saunders, 2004 : 1003-1005.
- 3) Obladen M. History of surfactant research. Robertson B et al, eds. *Pulmonary Surfactant : From Molecular Biology to Clinical Practice*. Amsterdam : Elsevier, 1992 : 1-18.
- 4) 藤原哲郎. 肺のバブル物語 : 人工サーファクタントへの道のり. *ミクロスコピア* 1995 ; 12 : 76-85.
- 5) Fujiwara T : Surfactant replacement in neonatal RDS. Robertson B et al, eds. *Pulmonary Surfactant*, Amsterdam : Elsevier, 1984 : 479-503.
- 6) Takahashi A, Fujiwara T. Proteolipid in bovine lung surfactant: its role in surfactant function. *Biochem Biophys Res Comm* 1986 ; 135 : 527-532.
- 7) Takahashi A, Waring AJ, Amirkhanian J, et al. Structure-function relationships of bovine pulmonary surfactant proteins : SP-B and SP-C. *Biochim Biophys Acta* 1990 ; 1044 : 43-49.
- 8) Whitsett JA. Composition of pulmonary surfactant lipids and proteins. Polin RA et al, eds. *Fetal and Neonatal Physiology*, 3rd ed. Philadelphia : Saunders, 2004 : 1005-1013.
- 9) Fujiwara T, Robertson B. Pharmacology of exogenous surfactant. Robertson B et al, eds. *Pulmon-*



図9 King Faisal国際賞の受諾講演
右側はハーリド・アル・ファ
イサル殿下(左)とスルターン・
ビン・アブドゥルアジズ殿下。

- ary Surfactant: From Molecular Biology to Clinical Practice, Amsterdam : Elsevier, 1992 : 561-592.
- 10) 細川尊英, 高橋明雄. 各種人工肺サーファクタント製剤の表面活性の比較. 岩手医誌 2004 ; 56 : 287-293.
 - 11) 前多治雄. サーファクタント補充療法で用いられる各種サーファクタントの未熟ウサギ肺胸郭圧量曲線, コンプライアンス, alveolar expansion index測定による比較. 岩手医誌 1995 ; 47 : 37-49.
 - 12) 佐々木美香. 5種類の肺サーファクタントの比較: 表面活性と電子顕微鏡による観察. 岩手医誌 1990 ; 42 : 883-896.
 - 13) 藤原哲郎. 肺サーファクタントと臨床応用. 日胸疾患誌 1994 ; 32 : 236-249.
 - 14) Chida S. Antenatal and early neonatal diagnosis of surfactant deficiency. Robertson B et al, eds. Surfactant Therapy for Lung Disease, New York: Marcel Dekker, 1995 : 107-120.
 - 15) Konishi M, Chida S, Shimada S, et al. Surfactant replacement therapy in premature babies with respiratory distress syndrome : factors affecting the response to surfactant and comparison of outcome from 1982-86 and 1987-91. Acta Paediatr Jpn 1992 ; 34 : 617-630.
 - 16) Fujiwara T, Konishi M, Chida S, et al. Surfactant replacement therapy with a single postventilatory dose of a reconstituted bovine surfactant in preterm neonates with respiratory distress syndrome: final analysis of a multicenter, double-blind, randomized trial and comparison with similar trials. Pediatrics 1990 ; 86 : 753-764.
 - 17) 千田勝一, 藤原哲郎, 嶋田泉司, ほか. 呼吸窮迫症候群に対する人工肺サーファクタントの投与回数の検討: 全国多施設共同比較臨床試験. 日児誌 2002 ; 106 : 1241-1250.
 - 18) 嶋田泉司, 千田勝一, 藤原哲郎, ほか. 呼吸窮迫症候群に対する人工肺サーファクタントの投与時期の検討: 全国多施設共同比較臨床試験. 日児誌 2002 ; 106 : 1251-1260.
 - 19) Chida S, Phelps DS, Cordle C, et al. Surfactant-associated proteins in tracheal aspirates of infants with respiratory distress syndrome after surfactant therapy. Am Rev Respir Dis 1988 ; 137 : 943-947.
 - 20) Chida S, Fujiwara T, Konishi M, et al. Surfactant proteins and stable microbubbles in tracheal aspirates of infants with respiratory distress syndrome : relation to the degree of respiratory failure and response to exogenous surfactant. Eur J Pediatr 1997 ; 156 : 131-138.
 - 21) Chida S, Phelps DS, Soll RF, et al. Surfactant proteins and anti-surfactant antibodies in sera from infants with respiratory distress syndrome with and without surfactant treatment. Pediatrics 1991 ; 88 : 84-89.
 - 22) 川島敏男, 千田勝一, 藤原哲郎. 人工肺 surfactant 製剤 (PSF) 補充 RDS における抗 PSF 抗体の測定. 周産期医学 1987 ; 17 : 473-476.
 - 23) Fujiwara T, Konishi M, Chida S. Surfactant therapy in neonatal respiratory distress syndrome. Yeh TF, ed. Neonatal Therapeutics, 2nd ed. St. Louis : Mosby Year Book, 1991 : 70-86.