

The 45th Scientific Meeting of
the Japanese Medical Society for
Lung Surfactant and Biological Interface

日本 肺サーファクタントおよび界面現象に関する学術集会

**肺サーファクタント・
界面医学会** (旧 日本界面医学会)

第45回学術研究会



2009年 10月3日土

金沢市文化ホール

石川県金沢市高岡町15番1号

会 長 梶 博久

金沢医科大学 呼吸機能治療学
(呼吸器内科学)

第45回日本肺サーファクタント・界面医学会学術研究会



開催にあたって

金沢医科大学 呼吸機能治療学(呼吸器内科学)

梅 博久

この度、歴史ある日本肺サーファクタント・界面医学会の第45回学術研究会を金沢で開催するはこびとなりました。ご指名をいただいた理事、評議員、会員の皆様に深く御礼を致したいと思います。今回は熊本大学の磯濱洋一郎准教授と鶴見大学名誉教授の石井淑夫先生に特別講演をいただき、信州大学の久保恵嗣教授にランチョン・セミナーでご講演をいただくことになっております。興味あるご演題もいただいております。私たちは、大学病院の呼吸器内科という臨床教室で仕事をしていることもあり、呼吸器疾患におけるサーファクタントの役割や界面医学との関連についての研究をご発表、ご紹介いただけるような会にできたらと思っております。また、古くて実は新しいサーファクタントの研究にあらためてスポットライトが当たるような企画ができたらと思っております。皆様には、活発なディスカッションをお願いするとともに、秋の加賀・金沢を十分にご堪能いただけたらと思っております。教室のスタッフ一同、会が滞りなく進むことに努力しますので、よろしくご指導、ご鞭撻をお願い申し上げます。

演者の方へのお願い

1) 一般演題の講演時間は10分、討論時間は5分です。必ずお守り下さい。

2) 発表はPCプレゼンテーションのみで行います。

- 今回はパソコン（一面投影）による発表のみとさせていただきます。
- OHP および35mmスライドプロジェクターは準備いたしませんので、ご注意ください。
- PC 環境は、OS:Windows XP、Application:Microsoft Power Point2003で対応いたします。
- Macintosh は対応出来ませんので、Windows XP に変換したデータを USB メモリに入れてご持参下さい。
- 発表データは上記 PC 環境で再生可能なファイルを作成して下さい。使用フォントは Windows に標準で装備されているもの（MS 明朝、MS ゴシック、Times New Roman、Arial、Century 等）を使用して下さい。
- 発表ファイル名は、「演題番号－演者名 .ppt」として下さい。
（例：1－金沢太郎 .ppt）
- 発表データは USB メモリで準備し、学会の始まる前までに会場入り口の、「発表受付」（9:00～）までお持ち下さい。これら以外のメディアでは受付できませんので、ご注意ください。USB メモリはその場で返却いたします。なお、発表ファイルは学会終了時に消去いたします。
- 発表の際は、演台にセットされている PC を使用し演者の先生ご自身で操作願います。

役員会（理事会・評議員会）・会長招宴のご案内

1) 役員会（理事会・評議員会同時開催）：

日 時：平成21年10月2日(金) 17:00～18:00

場 所：金沢市文化ホール（展示棟3F）
〒920-0864 金沢市高岡町15番1号
TEL：076-223-1221(代)
FAX：076-223-1299

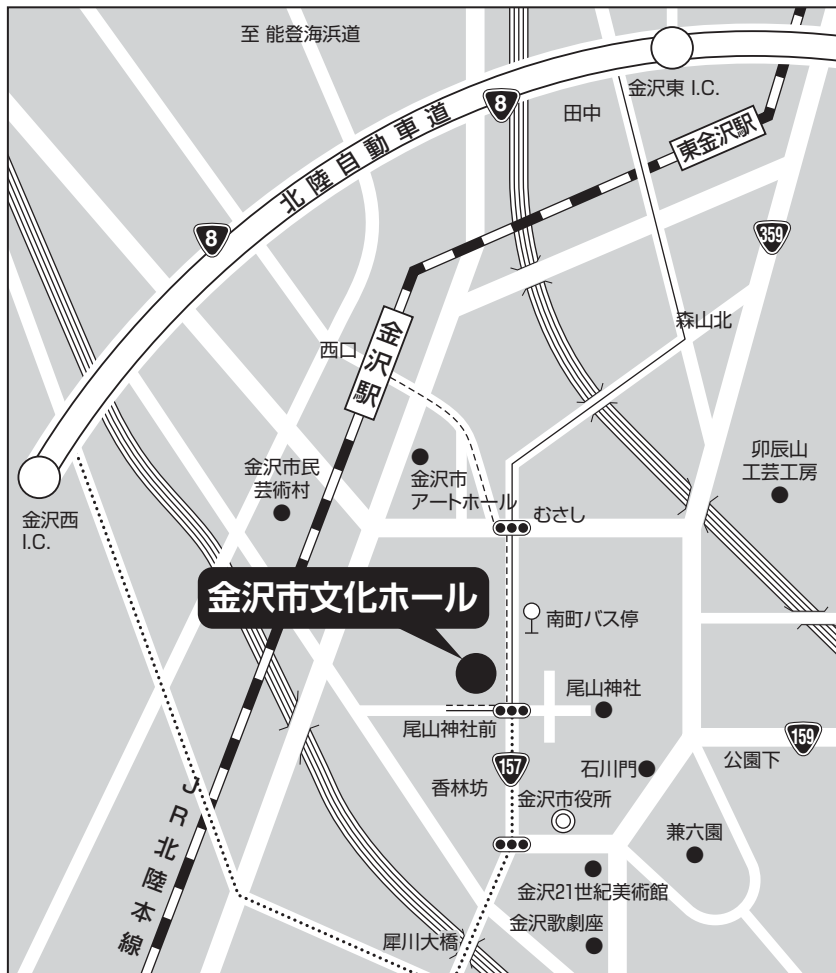
2) 会長招宴：

日 時：平成21年10月2日(金)
19:00～（18:30展示棟入り口にタクシーを準備します）

場 所：「料亭 杉の井」
〒921-8032 金沢市清川町3-11
TEL：076-243-2288

会 費：5,000円（役員会受付で申し受けます。）

会場周辺図



金沢市文化ホール 〒920-0864 金沢市高岡町15番1号
TEL (076) 223-1221 (代) FAX (076) 223-1299

会場までのアクセス

■ JR金沢駅から

タクシー ……………約10分

バス ……………約15分

金沢駅前(東口バスターミナル) ⑦～⑨番のりば ➡ 「南町」下車 徒歩約3分

※バスに関する詳細：北鉄バステレホンサービスセンター TEL (076) 237-5115

■ 小松空港から

空港連絡バス ……約60分 「香林坊」下車 徒歩約5分

※金沢駅直通バスは香林坊に停車しません。ご注意ください。

プログラム

9:30～9:35

開会挨拶

第45回学術研究会会長 梶 博久(金沢医科大学)

9:35～10:05

一般演題1

座長：樋田寿々子(帝京平成大学)

01 夏眠アフリカ産肺魚呼吸器の形態学的研究

○松村豪一¹⁾、秋谷昭治¹⁾、佐々木美香²⁾、千田勝一²⁾、佐藤 茂³⁾、
高橋常男⁴⁾、武井恒知⁵⁾

秋谷病院¹⁾、岩手医科大学 小児科²⁾、日本医科大学 中央電子顕微鏡研究施設³⁾、
神奈川歯科大学 口腔解剖⁴⁾、徳島大学 分子酵素学研究センター 酵素分子科学部門⁵⁾

02 肺癌組織における水チャンネル(アクアポリン)発現の研究

○町田雄一郎¹⁾、超希彤¹⁾、島崎 都²⁾、上田善道²⁾、上野正克¹⁾、
田中 良¹⁾、相川広一¹⁾、薄田勝男¹⁾、佐川元保¹⁾、佐久間勉¹⁾

金沢医科大学 呼吸器外科¹⁾、金沢医科大学 病理病態学²⁾

10:05～10:35

一般演題2

座長：長 和俊(北海道大学)

03 A theoretical study on liquid column standing above vertically vibrating sputum surface

Norio Tarao¹⁾, Osamu Takagi²⁾

Department of Rehabilitation, Seirei Christopher University¹⁾,
International Research Institute²⁾

04 Lung surfactant may have the function to prevent overdilation of terminal airspaces : presumption by surfactant inactivation technique with detergent

○ Tsutomu Kobayashi, Hailing Wu, Xiaoguang Cui, and Wenzhi Li

Department of Anesthesiology, Harbin Medical University,
Second Affiliated Hospital

10:35～11:05

一般演題3

座長：諏訪部章（岩手医科大学）

05 SP-C はサーファクテンによる経鼻ワクチン増強効果の必須成分である

○水野 大、武井恒知、木本貴士、品原和加子、國見卓也、木戸 博

徳島大学 疾患酵素学研究センター 応用酵素・疾患代謝研究部門

06 肺サーファクタントリン脂質のマイコプラズマに対する生体防御機構

○黒沼幸治¹⁾、千葉弘文¹⁾、白鳥正典¹⁾、高橋弘毅¹⁾、黒木由夫²⁾、
Dennis R. Voelker³⁾

札幌医科大学 内科学第三講座¹⁾、札幌医科大学 医化学講座²⁾、
Department of Medicine, National Jewish Health, USA³⁾

11:05～11:15

コーヒーブレイク

11:15～12:00

一般演題4

座長：黒沼幸治（札幌医科大学）

07 肺胞Ⅱ型細胞の分化維持とサーファクタント合成の関連性

～肺サーファクタント特異蛋白とリン脂質合成酵素の遺伝子発現を指標とした検討～

○小笠原理恵¹⁾、菱川大介²⁾、進藤英雄²⁾、清水孝雄²⁾、林秀一郎³⁾、
吉田康夫³⁾、遠山稿二郎³⁾、諏訪部章¹⁾

岩手医科大学医学部 臨床検査医学講座¹⁾、東京大学大学院 医学研究科 細胞情報学²⁾、
岩手医科大学 共同研究部門バイオイメージングセンター³⁾

08 Rab38 遺伝子異常によるラット肺胞Ⅱ型上皮細胞の変化

○小林 誠¹⁾、長内和弘¹⁾、北楯祥子¹⁾、四宮祥平¹⁾、山谷淳代¹⁾、
高原 豊¹⁾、齋藤雅俊¹⁾、土原一真¹⁾、井口晶晴¹⁾、樋口純子²⁾、
黄 正寿¹⁾、梶 博久¹⁾

金沢医科大学 呼吸機能治療学¹⁾、山形大学 人体病理学²⁾

09 Mutations in the surfactant protein C (SFTPC) are predicted to be high frequency in pediatric interstitial lung diseases (PILD)

○ Yasuhiro Setoguchi, Seiko Kume, Yuta Kono

Division of Respiratory Medicine, Tokyo Medical University, Tokyo, Japan.

12:00～13:00

ランチョンセミナー

共催：日本肺サーファクタント界面医学会・帝人ファーマ(株)

座長：梶 博久（金沢医科大学）

〔 ARDS の病態と診断・治療について 〕
〔 肺サーファクタントの関与はあるのか？ 〕

信州大学医学部 内科学第一講座 久保恵嗣 先生

13:00～13:30

総会

13:30～14:15

会長講演

座長：高橋敬治（至誠堂総合病院）

〔 当科における肺サーファクタント研究の軌跡 〕 ～細胞内輸送を中心として～

金沢医科大学 呼吸機能治療学（呼吸器内科学） 榎 博久 先生

14:15～15:15

特別講演 1

座長：佐久間勉（金沢医科大学）

〔 肺胞上皮細胞のアクアポリン、その発現と意義 〕

熊本大学大学院 医学薬学研究部 薬物活性学分野 磯濱洋一郎 先生

15:15～15:30

コーヒーブレイク

15:30～16:30

特別講演 2

座長：千田勝一（岩手医科大学）

〔 界面科学に集う研究者と測定機器メーカー 〕

協和界面科学株式会社 鶴見大学 名誉教授 石井淑夫 先生

16:30～16:35

次期会長の挨拶

日本肺サーファクタント・界面医学会 第46回学術研究会会長 長 和俊（北海道大学）

抄 録

会 長 講 演

特 別 講 演

ランチョンセミナー

一 般 演 題

当科における肺サーファクタント研究の軌跡 ～細胞内輸送を中心として～

梅 博久

金沢医科大学 呼吸機能治療学(呼吸器内科学)

肺胞Ⅱ型上皮細胞(Ⅱ型細胞)は肺サーファクタント(PS)の産生・分泌・再利用を行い、層状封入体(LB)という特異な構造物をもった高度に分化した上皮細胞である。PSは複数のリン脂質と4種類のアポタンパク質の複合体であり、肺胞表面における気相-液相界面の表面張力を低下させ、肺胞虚脱や肺胞内水腫を防いでいる。リソゾーム関連小器官であるLBがPSの貯蔵顆粒であり、調節性に分泌されることから、PSは複数の成分であるにもかかわらず、単一の輸送経路が想定されてきた。しかし我々はフォスファチジルコリン(PC)、SP-A、SP-Bの輸送経路を個別に検討してこれが誤りであることを明らかにした。すなわち、Ⅱ型細胞において新たに合成されたPCのほとんどはLBへ輸送されるが、ゴルジ装置の関与は必要ないこと、新合成SP-Aは翻訳後、ゴルジ装置で糖鎖修飾を受けた後に、LBへは輸送されず連続性に分泌され、LBへはエンドサイトーシスで取り入れられること、新合成SP-Bは翻訳後、ゴルジ装置以下の下流の輸送経路で酵素的分解を受けた後にLBへ輸送・貯蔵されることなどが分かった。以上よりPC、SP-A、SP-Bともそれぞれ別経路でLBへ輸送されと考えられる。

分泌タンパク質や膜タンパク質は小胞体上で翻訳され、小胞体内で固有の3次元構造に折りたたまれ、小胞に包まれてゴルジ装置へ運ばれ糖鎖修飾を受け、細胞膜へ挿入ないし細胞外へ分泌される。また細胞外からエンドサイトーシスによって取り込まれた分子はやはり小胞に包まれてエンドゾームやリソゾームへ運ばれ処理される。これらの輸送過程は各段階で多数の分子群による制御を受けている。分化した細胞はそれぞれリソゾーム関連小器官を分泌顆粒とする特殊な分

当科のPS研究は、細胞内輸送という地味なテーマを中心に行ってきた。しかし、最近、ABCA3異常によるLBの形成不全と出産後呼吸不全、SP-C異常による家族性間質性肺炎、SP-A異常による間質性肺炎・肺癌などの細胞内輸送異常による肺疾患が注目されている。当科でも呼吸器内科の立場から、PSの細胞内輸送と肺疾患病態との関係をさらに探求していきたいと考えている。

[illegible]

肺胞上皮細胞のアクアポリン、その発現と意義

儀濱洋一郎

熊本大学大学院 医学薬学研究部・薬物活性学分野

肺胞壁表面積の大部分を占める肺胞 I 型上皮細胞は、血管内皮細胞とともに呼吸膜を形成し、肺胞・血液の間のガス交換に重要な役割を果たしている。この I 型細胞は、もう一種類の肺胞上皮細胞で肺サーファクタントの産生細胞である II 型細胞を前駆細胞として分化、形成されることは古くから知られている。しかし、この II 型から I 型細胞への分化調節や、分化した I 型細胞が非常に薄く扁平な形態の他に、ガス交換の効率化のための仕組みをもつのか否かなどについては、殆ど明らかにされていない。ところで、細胞膜の水輸送を促進する水チャネルの一種である aquaporin-5 (AQP5) は、末梢気道では I 型細胞に選択的に発現しており、II 型から I 型細胞への分化の過程でその発現が上昇する。また、この AQP5 によって I 型細胞は、これまでに調べられている全ての細胞の中で、水透過性の最も高い細胞膜をもつことが知られている。すなわち、AQP5 は I 型細胞の分化調節や細胞機能と密接な関係にあると推定される。このような考えのもと、我々は分化に伴う AQP5 の転写調節および I 型細胞細胞における AQP5 の存在意義について調べている。本講演では、これまでに我々が明らかにしてきた成績について述べたい。

まず、AQP5 遺伝子の 5'-末端プロモーター領域を解析し、その調節に重要な転写因子として Sp1 および Sp3 を同定した。興味深いことに、多くの遺伝子で Sp1 と Sp3 は同様の活性をもつのに対し、本プロモーターでは Sp1 は転写促進、Sp3 は転写抑制と相反する作用を示した。また、AQP5 プロモーターの Sp1 結合領域は II 型細胞ではメチル化を受け不活性化されており、I 型細胞へと分化する

一方、I型細胞でのAQP5の機能については、上述のように非常に高い水透過性からも肺胞-血管間の効率的な水の輸送すなわち、肺胞内水の生理的なクリアランスに重要と推定できる。しかし、炎症や心疾患などの病態時に毛細血管での浸透圧バランスや静水圧に異常が生じると、この高い水透過性は逆に肺胞水腫の病態形成を誘引し易い。ところが、AQP5の水透過能に対する炎症性メディエーターNOの作用を調べると、NOはAQP5をS-ニトロシル化し、水の通過を抑制することが分かった。さらに、最近、AQP5は水分子だけでなくその分子内の孔構造を介してCO₂ガスも通過させることも明らかとなった。I型細胞のガス交換にもAQP5が関わっている可能性があるのかも知れない。

【 界面科学に集う研究者と測定機器メーカー 】

石井淑夫

協和界面科学株式会社 鶴見大学 名誉教授

溶液内部の物性を測定するとき、仮に 1cm^3 の試料を用いたとして、ほぼ 10^{23} 個の分子が対象になる。その溶液の表面物性を測定するときには大きく見積もっても 10^{16} 個の分子が対象となる。表面張力の測定で吊り板を使用するときには対象分子の数は、さらに小さくなる。接触角の測定に関与する分子は 10^8 程度になる。測定対象となる分子の数が小さくなると、不純物の影響が大きくなる上に、界面ではとくに不純物を集める性質が強いので溶液内部の性質を調べるのとは違った注意が必要になる。日本サーファクタント・界面医学会の皆さんが興味を持たれる系にはこのように高度の技術を必要とされるように思われる。このような技術を身につけることは、分子生物学などの分野での重要な知見を得るのに大きな力となると思われる。

界面の特異性は関与する分子の数が小さいという以上に本質的なものがある。数学では界面の2次元性に注目してシャボン玉が研究対象にされた。四色問題や巡回セールスマン問題も古くから研究された。2次元に特有な難問である。コンピュータの小型化が進めば2次元電磁気学の特異性や、3次元とは異なる量子力学が研究されることになろう。

水面上の単分子膜が多くのエレクトロニクス研究者の注目を浴びたこともあった。1940年に使われていた真空管のサイズは 10cm 程度だったが年々、小型化してゆき、真空管などのデバイスの大きさを対数にして年代を横軸にとると、直線的に減少し、2040年には 1nm という分子の大きさになるという予測がある。デバイスを小型化するためには、単分子膜を積層する Langmuir-Blodgett 膜を作

る技術が役立つとみられた。小型化のペースは2010年になろうとする現在までも保持されている。この分野の加工精度は機械工業など広い分野とも同時進行して今日のナノテクノロジーにつながっている。

界面科学の研究機器は昭和20年代、30年代には研究者が自分で作るのが普通であった。あるいは、科学機器メーカーに設計図や実物を見せてコピー機器を作ったりしていた。新しい機器を作るときにメーカー側の協力無しには作れない状態が長く続き、研究の進展のためには、こうした機器メーカーの協力が不可欠であると考えられる。たとえば界面医学研究が進んだ影には CAHN/Ventron による動的表面張力測定系の役割が大きかったように思う。これを初めて見た時期は水面上に作られた膜を、糸や金属箔リボンを工夫して、不安を感じながら取り扱っていた頃なので、ブレードと呼ばれる板を水槽の中に差し込んで表面積の拡大・縮小を操作する機構の見事さには驚かされた。同時に研究における機器メーカーの役割を認識させられた。

研究生活を離れるに当たり、こうした周辺技術の担い手であるメーカー側に立つことにした。界面科学の周辺で使われる機器の宣伝をすることは研究者にとっても役に立つことが多いと考えるので、現在開発中の機種も含めて紹介し、皆様のご批判を頂きたい。

ARDS の病態と診断・治療について (肺サーファクタントの関与はあるのか?)

久保恵嗣

信州大学医学部 内科学第一講座

現在、ALI (acute lung injury、急性肺損傷) / ARDS (acute respiratory distress syndrome、急性呼吸窮 (促) 迫症候群) は、何らかの基礎疾患の経過中に、(1) 急性発症し、(2) $\text{PaO}_2/\text{F}_i\text{O}_2$ が 300 Torr 以下 (ALI) あるいは 200 Torr 以下 (ARDS) の低酸素血症を呈する。(3) 胸部エックス線写真で両側の浸潤影がみられ、(4) 肺動脈楔入圧が 18 mmHg 以下あるいは臨床的に左房圧上昇の所見がなく左心不全が否定される、の4つを満たす場合と定義 (Am J Respir Crit Care Med 1994 ; 149 : 818) とされている。基礎疾患としては、直接 (direct ARDS) および間接 (indirect ARDS) に肺に作用するものに大別される。前者では、肺炎、誤嚥などが、後者では、敗血症、多発・重症外傷などがある。ALI/ARDS は重症度のみの相違で同じ病態である。

発生機序は、基礎疾患に伴う生体への侵襲が全身性の炎症反応を惹起し、この過程で好中球を主体とする炎症細胞が活性化され、活性化された好中球が肺に補足され好中球から蛋白分解酵素、活性酸素などが放出され、肺血管内皮細胞・肺胞上皮細胞の損傷が起こり透過性亢進型肺水腫となるとされている。特に、indirect ARDS では全身性炎症反応 (SIRS) の一部分症状とも考えられている。ALI/ARDS はそれ程稀な疾患ではなく、人口 10 万人に対しての年間の頻度が 86.2 人 (ALI) ・ 64.0 人 (ARDS) との報告 (Rubenfeld CD、et al. N Engl J Med 2005 ; 353 : 1685) がある。治療としては、2000 年以降、EBM が確立されている療法として、低容量人工換気療法、重症敗血症に対する活性化 protein C 投与、SIRS に伴う肺障害に対する sivelestat 投与の 3 つがある。ただ、これら 2 つの薬

肺サーファクタントは、肺胞表面の表面張力の低下により肺胞の虚脱を防止する以外に、活性酸素の除去や抗炎症作用を有し、また、ARDS 症例の水腫液のタンパク質は、サーファクタントの活性を阻害することより、以前より、ALI/ARDS の発生に、サーファクタントの機能異常の関与 が推定されている (Turell DC. Emerg Med Clin N Am 2008 ; 26 : 921) が、ARDS 症例に対するサーファクタント補充療法は、酸素化能を改善するものの生存率を向上させなかった (Spragg RG, et al. N Engl J Med 2004 ; 351 : 884) との報告があり、ALI/ARDS の治療法としては支持されていないのが現状である。しかし、重症の direct ARDS では、本療法で死亡率が減少する可能性が示唆されており (Taut FJH, et al. Chest 2008 ; 134 : 724)、今後の成果が待たれる。

○松村豪一¹⁾、秋谷昭治¹⁾、佐々木美香²⁾、千田勝一²⁾、佐藤 茂³⁾、
高橋常男⁴⁾、武井恒知⁵⁾

秋谷病院¹⁾、岩手医科大学 小児科²⁾、日本医科大学 中央電子顕微鏡研究施設³⁾、
神奈川歯科大学 口腔解剖⁴⁾、
徳島大学 分子酵素学研究センター 酵素分子科学部門⁵⁾

【はじめに】著者らは、これまでに各種のサンショウウオ、イモリなどの両生類や肺魚の呼吸器の発生学的ならびに形態学的研究を実施し、報告してきた。今回は夏眠アフリカ産肺魚の呼吸器について報告する。

【材料と方法】アフリカ産の肺魚プロトプテルス・エチオピクスの成体2匹を使用した。ネンブタール麻酔を施したのち、開胸および開腹後、消化器を摘出して、それらの背後にある肺嚢を観察しやすくした。ついで、各試料の中枢部と末梢部を結紮して空気および肺サーファクタントを逃がさないようにして、以下の試料を摘出した。①肺嚢の気管分岐部、②気管支、③中間部および④尻尾に近接している末梢部(肺胞上皮部)を光顕用固定液に、また電顕用固定液に浸漬した。光顕用固定液としては10% 中性フォルマリン、電顕用固定液としては、2.5% グルタルアルデヒド液にウーロン茶粉末を加えたものを使用した。以下通常のSEM 用およびTEM 用電顕試料を作成し、検鏡した。

【結果】ネンブタール麻酔を施して、2匹の肺魚の体重を測定すると、大きい方は、2.5kg、小さい方は0.5kgあり、体長は、前者が73cm、後者が35cmであった。肉眼的に、この種の肺魚では気管分岐部と気管支が明瞭に観察できた。走査電顕で観察すると肺嚢の気道部分は肺嚢の隔壁と襞の部分に多く見られ、線毛で覆われ、ところどころに円形の粘液細胞が存在した。これら隔壁の中央陥凹部に肺上皮が存在していた。透過電顕では、気道を構成する線毛上皮細胞と粘液産生細胞が観察された。肺胞上皮には、肺胞上皮細胞の細胞質と毛細血管内皮と基底膜からなる空気血液関門が明瞭に認められた。また、肺胞上皮細胞の細胞質内には、層板小体およびラメラ自体の数が水中にいる通常のアフリカ産肺魚(プロトプテルス エチオピクス)よりも増加していた。

【結論】人工的に夏眠状態にさせたアフリカ産成体肺魚(プロトプテルス エチ

オピクス)の呼吸器において、肺胞上皮に空気血液関門が認められることから、夏眠状態でも、ガス交換が行われ、肺胞上皮細胞の細胞質には、層板小体およびラメラ自体の数が通常のこの種の肺魚の肺胞上皮細胞内のものより増加していた。これは夏眠状態の肺魚は肺界面活性物質を肺胞上皮細胞質内に多量に作成し、貯留させて、雨季に備えていることが強く示唆された。

肺癌組織における水チャンネル(アクアポリン) 発現の研究

○町田雄一郎¹⁾、超希彤¹⁾、島崎 都²⁾、上田善道²⁾、上野正克¹⁾、
田中 良¹⁾、相川広一¹⁾、薄田勝男¹⁾、佐川元保¹⁾、佐久間勉¹⁾
金沢医科大学 呼吸器外科¹⁾、金沢医科大学 病理病態学²⁾

【背景】 アクアポリンとは、近年発見された膜タンパクで、細胞内外の水分バランスの調節において重要な役割を果たす。現在、13種類のアクアポリンが発見されており、肺には AQP1・AQP3・AQP4・AQP5 を認めている。そこで今回我々は、ヒト肺癌組織においてアクアポリン発現の臨床的病理有意性について検討する。

【目的】 肺癌組織において水チャンネル(AQP1, AQP3, AQP5)の発現に関して検討する。

【対象と方法】 当科にて切除し肺癌標本を対象とした。肺癌組織中の AQP1、AQP3、AQP5 の発現を免疫組織染色により検討した。評価方法は、高発現(2+ : 50%以上の細胞で発現)、中発現(1+ : 10~50%で発現)、低発現(± : 10%程度で発現)、無発現(-)の4段階で行った。また、Laser-captured microdissectionを用いて real time RT-PCR 法による遺伝子発現の定量解析を行った。

【結果】 水チャンネルの発現は肺癌の病理組織型により異なった。AQP1の発現は、粘液産生性 BAC と高分化型腺癌で高かった。AQP3の発現は、非粘液産生型 BAC と高分化型及び低分化型腺癌で高かった。AQP5の発現は、粘液産生型 BAC と高分化型及び低分化型腺癌で高かった。

【結論】 水チャンネル(AQP1, AQP3, AQP5)の発現は肺癌の病理組織型により異なることが示唆された。今後、肺癌における水チャンネルを用いた診断や治療への応用が期待できる。

A theoretical study on liquid column standing above vertically vibrating sputum surface

○ Norio Tarao¹⁾, Osamu Takagi²⁾

Department of Rehabilitation, Seirei Christopher University,¹⁾
International Research Institute²⁾

Background: An earthquake emits both P-wave (longitudinal wave) and S-wave (transverse wave) which travel at different speeds. In view of the frequency of wave, P-wave has rather high frequencies and S-wave has low frequencies which correspond approximately to the eigenfrequencies of buildings and the resonances of them should plunge seismic collapse of structures in the vicinity of the seismic source. As earthquake wave, in the case of vibration pulmonary expectoration, the vibrational treatment at low frequency aims to remove the whole drip vibrated near the resonant frequency and that at high frequency aims to disappear the fragment piece by piece or stringy carrying by a jet stream. During the last decade or two, one of the authors has investigated the two types of vibrational treatment of pulmonary sputum in association with surfactant effect on expectoration of sputum. In the past, the role of pulmonary surfactant on expectoration of sputum has been considered to be surface activation reducing the surface tension of sputum. However, the concrete mechanical advantage to reduce the surface tension seems to be not clear in the process to cut the sputum drop into many mist pieces carrying by some air streams. Therefore, in the previous study, we have investigated this process of expectoration using a Super High-Speed Video Camera; the abrasion of the surfaces of the pseudo-sputum droplets at the center of the jet stream. In this experiment, many finger-like liquid columns have appeared at appropriate frequencies from droplets of the solution on the vibrating plate. We have suggested the course of this phenomenon to be the non-Newtonian viscosity of mucin

solution which we have measured by a special capillary viscometer of the in the previous investigation; the shear-thinning viscosity has been exhibited in the lower frequency region. This time, we have verified this mechanism by numerical simulation using a model of calculation with various physical values.

Method: The model has many fine radial mesh cells in ax-symmetric configuration, and we have calculated the flows between individual cells under various degrees of viscosity and surface tension in the pressure caused by the accelerations of the vibrational movement and the gravity.

Results and Discussions: Using a new model calculation we have discovered many significant non-linear properties of fluid surfaces which promote when the surface tensions and the liquid viscosities are suitable for the growth of soliton-like waves in some appropriate frequency vibration. This phenomenon seems to explain the mechanism on growth of many finger-like liquid columns in previous experimental investigation. We have distinguished the contribution of surfactant to ripple the surface of sputum drop in some vibrational movement at the appropriate frequency.

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Lung surfactant may have the function to prevent overdistension of terminal airspaces: presumption by surfactant inactivation technique with detergent

○ Tsutomu Kobayashi, Hailing Wu, Xiaoguang Cui, and Wenzhi Li

Department of Anesthesiology
Harbin Medical University, Second Affiliated Hospital

ABSTRACT

Objectives: It is well known that the main function of lung surfactant is to prevent alveolar collapse. However, we have found a phenomenon that surfactant replacement reverses alveolar overdistension induced by high inspiration pressure ventilation, *i.e.*, the opposite phenomenon expected from the main function. To examine the presumption that lung surfactant itself would have the function to prevent alveolar overdistension, we inactivated lung surfactant with a detergent, and measured sizes of the terminal airspaces (alveoli and alveolar ducts).

Method: Wister rats anesthetized with pentobarbital were subjected to lung lavage with a detergent (Tween) which inactivates lung surfactant. Then, the rats were ventilated by a pressure-preset mode (peak inspiration pressure=25cmH₂O, positive end-expiratory pressure=7.5cmH₂O) for 1 h. After absorption atelectasis was induced, the thorax was widely opened, and the lungs were fixed at various inflation pressures. Sizes of the terminal airspaces were determined by using a microscope and a computer program.

Results: In rats receiving the lung lavage with Tween, a mixture of overdistended and collapsed terminal airspaces was caused at an inflation pressure of 20cmH₂O. At this pressure, ratio of the largest airspace size class (>63,000μm²) in the lavaged lungs was 53.2 ± 10.1% (mean ± SD, n=7) of all airspaces, while that in the normal lungs was 13.7 ± 4.5% (n=7, *P*<0.05).

Conclusion: Lung surfactant may have the function to prevent overdistension of terminal airspaces, as well as to prevent alveolar collapse.

SP-C はサーファクテンによる経鼻ワクチン増強効果の必須成分である

○水野 大、武井恒知、木本貴士、品原和加子、國見卓也、木戸 博
徳島大学 疾患酵素学研究センター 応用酵素・疾患代謝研究部門

現在新型株の世界的流行が勃発し、また、トリ型のような強毒株の大流行が懸念されるインフルエンザの効果的な予防法として経鼻ワクチンが期待されており、その効果を上げるアジュバントの研究が盛んに行われている。我々はこれまで肺サーファクタント製剤サーファクテン(St)が、経鼻インフルエンザワクチン(HA)へのアジュバント活性を示し、粘膜局所と血中の抗体産生を増強することを明らかにしてきた。さらに、その作用機序にはStによる抗原提示細胞へのHAの取込増強と、鼻腔内におけるHA貯留効果があることを示している。本研究ではStのタンパク成分、サーファクタントプロテイン(SP-)BおよびSP-Cのアジュバント活性に対する寄与を検討した。

ゲル濾過によりStを脂質、SP-B、あるいはSP-Cを含む画分に分離した。これらを用いて、StからSP-BあるいはSP-Cを除去した、あるいはSt脂質を模した混合脂質にSP-BあるいはSP-Cを加えた各素材を作成した。これら各素材と蛍光標識したHAとの混合物をマウスへ経鼻接種し、一定時間後に鼻組織の連続断面標本を調製して、蛍光顕微鏡観察を行い、鼻腔内におけるHA貯留効果を比較検討した。また、これら混合物を骨髄由来樹状細胞へ投与し、一定時間後のHA取り込み効果をFACSにより評価した。

StからSP-Cを除去した素材を用いた検討では、Stによる抗原提示細胞へのHAの取込増強および鼻腔内におけるHA貯留効果はいずれもStに比べて顕著に減少した。さらにSt脂質を模した混合脂質にSP-Cを混合した素材は、Stと同等の効果を示した。これらの効果にSP-Bはほとんど影響を与えなかった。各素材を用いた経鼻HAワクチン接種による粘膜局所と血中の抗体産生増強はSP-Cを含む素材で認められ、Stによる経鼻ワクチンアジュバントに対する必須成分にSP-Cが含まれることが示された。

肺サーファクタントリン脂質のマイコプラズマに対する 生体防御機構

○黒沼幸治¹⁾、千葉弘文¹⁾、白鳥正典¹⁾、高橋弘毅¹⁾、黒木由夫²⁾、
Dennis R. Voelker³⁾

札幌医科大学 内科学第三講座¹⁾、札幌医科大学 医化学講座²⁾、
Department of Medicine, National Jewish Health, USA³⁾

Mycoplasma pneumoniae は肺炎や気管支炎の重要な起因菌の一つであり、薬剤耐性菌が増加していることや、時に重症化することが近年問題となっている。肺サーファクタント蛋白質の SP-A、SP-D は、さらに肺胞マクロファージなどの受容体に直接作用し、過剰な炎症の抑制など自然免疫にも関与していることが明らかになってきているが、肺サーファクタントリン脂質の自然免疫への関与についてはあまり知られていない。

今回我々は肺サーファクタントリン脂質の一成分であるフォスファチジルグリセロール (PG) が抗炎症作用を有し、*Mycoplasma pneumoniae* 菌および菌体成分 (膜成分、リポ蛋白) による炎症を制御していることを見いだした。分化させた U937 細胞 (肺胞マクロファージ) をマイコプラズマ菌体成分で刺激すると、炎症性サイトカインの一つである tumor necrosing factor (TNF)- α および nitric oxide (NO) の産生を認めた。PG 存在下で刺激すると TNF- α および NO の産生が有意に抑制された。生きたマイコプラズマの菌体でも TNF- α の産生が誘導されたが、PG により有意に抑制された。また、マイコプラズマ膜成分により MAPK 系および I κ B α 系の細胞内シグナリングが活性化されたが PG により阻害された。以上の結果により、PG は肺胞マクロファージにおいてマイコプラズマによる炎症を抑制していると考えられた。マイコプラズマ感染に対する生体防御機構のさらなる解明につながるものと考えられる。

肺胞Ⅱ型細胞の分化維持とサーファクタント合成の関連性 ～肺サーファクタント特異蛋白とリン脂質合成酵素の 遺伝子発現を指標とした検討～

○小笠原理恵¹⁾、菱川大介²⁾、進藤英雄²⁾、清水孝雄²⁾、林秀一郎³⁾、
吉田康夫³⁾、遠山稿二郎³⁾、諏訪部章¹⁾
岩手医科大学医学部 臨床検査医学講座¹⁾、
東京大学大学院 医学研究科 細胞情報学²⁾、
岩手医科大学 共同研究部門バイオイメージングセンター³⁾

【背景】 肺サーファクタント（以下 Sf）は肺胞腔表面の表面張力を減弱させ、効率的な肺胞換気を促す。この Sf 合成分泌は肺胞Ⅱ型上皮細胞（以下Ⅱ型細胞）の主要な役割であるが、Sf を合成分泌するⅡ型細胞株は未確立で、初代培養も通常培養開始1日後で脱分化する。初代培養の培養系を検討した報告は、分化維持効果が弱く、Ⅱ型細胞機能解析のためには改良が必要であった。

近年、Sf の4割を占める DPPC 合成に関与する遺伝子として、リゾホスファチジルコリンアシル転移酵素（LPCAT）1 が同定された。LPCAT1 はⅡ型細胞での特異的発現が確認され、Sf 合成への関与が示唆されたが、前述の理由で解析は難渋していた。

今回我々は、ex vivo での分化維持が明確で、より簡便な培養法の確立を目指してラットⅡ型細胞の培養条件を検討した。その結果、分化維持可能な系で培養した同細胞で LPCAT1 の発現を確認した。透過電顕像でも形態の類似を認めた。

【方法】 Shannon らの培養系を基に培養系を構築し、ラット単離Ⅱ型細胞を培養し、分化維持のパラメーターとしてⅡ型細胞マーカー SP-C 発現を RT-PCR で測定した。SP-C 発現を保持できた系で LPCAT1 発現量を確認し、透過電顕像観察を行った。

【結果と考察】 ラットⅡ型細胞の形質保持回復に、インサート上のゲル上培養、培養開始1日後のゲル変形操作、培養開始2日目以降の培養液への血清非添加と KGF 添加が有効であった。本条件下の SP-C 発現は、培養開始後2日目でⅡ型細胞分離直後の5% 以下、同4日目で2割程度、同8日目では6割程度と継続的回復を示した。LPCAT1 も本培養系で発現持続を認めた。透過電顕像では立方体状の細胞と、層状封入体様構造を確認した。

本培養系はⅡ型細胞の ex vivo での分化維持を可能とし、同細胞の機能解析へ

道を開く。また、本培養系で SP-C と LPCAT1 発現量が回復したことから、LPCAT1 が Sf 合成に関与している可能性が示唆された。

○小林 誠¹⁾、長内和弘¹⁾、北楯祥子¹⁾、四宮祥平¹⁾、山谷淳代¹⁾、
高原 豊¹⁾、齋藤雅俊¹⁾、土原一真¹⁾、井口晶晴¹⁾、樋口純子²⁾、
黄 正寿¹⁾、梅 博久¹⁾
金沢医科大学 呼吸機能治療学¹⁾、山形大学 人体病理学²⁾

低分子量 G タンパク質 Rab38 はメラノサイトや肺胞Ⅱ型上皮細胞（Ⅱ型細胞）に特異的発現を示す。これまでに我々は Rab38 遺伝子異常を有するマウスおよびラットを用いた動物モデルにおける肺病変および肺サーファクタントの輸送・分泌異常を明らかにした。同動物モデルでは肺胞Ⅱ型上皮細胞が腫大し、層状封入体の数およびサイズの著明な増加が観察され、肺サーファクタント成分が細胞内に蓄積し、肺胞構造は軽度気腫化を呈していた。肺サーファクタントの主成分であるフォスファチジルコリン（PC）の分泌活性は、野生型 Rab38 を発現する Sprague-Dawley ラット由来Ⅱ型初代培養Ⅱ型細胞に比し、同動物モデルⅡ型細胞は無刺激での基礎分泌量は低下していたが、アゴニスト刺激による分泌は逆に著明に増加していた。

同動物モデルは眼皮膚型白皮症と出血異常を呈することが報告されている。これらの形質はヒトでは眼皮膚型白皮症、出血異常、間質性肺炎などの特徴的な多臓器病変を示すヘルマンスキー・パドラック症候群に一致するため、Rab38 がヘルマンスキー・パドラック症候群の原因候補遺伝子のひとつである可能性がある。また Rab38 は肺サーファクタントの輸送・分泌の制御に関与している可能性がある。

今回、われわれは同動物モデルより単離した Rab38 欠損初代培養Ⅱ型細胞にアデノウィルスベクターを用いて Rab38 遺伝子を導入することにより、PC 分泌活性の変化を検討した。その結果、基礎分泌量の抑制は改善し、アゴニスト刺激による分泌過剰亢進は抑制された。さらに Rab38 導入ラット肺の透過型電子顕微鏡解析では、Ⅱ型細胞内の層状封入体の形態異常も改善した。これらの結果は Rab38 がⅡ型細胞内における肺サーファクタントの輸送・分泌に直接関わることを示すと考えられる。

Mutations in the surfactant protein C (SFTPC) are predicted to be high frequency in pediatric interstitial lung diseases (PILD)

○ Yasuhiro Setoguchi, Seiko Kume, Yuta Kono

Division of Respiratory Medicine, Tokyo Medical University, Tokyo, Japan.

Mutations in *SFTPC* have been reported to be identified in patients with familial IP. Based on this knowledge, we analyzed *SFTPC* in patients with IIPs and evaluated the clinical characteristics of these patients. Methods: We enrolled 22 patients with familial IP, 52 patients with sporadic IP (infant-onset n=20, adult-onset n=32) and 43 healthy volunteers. Sequencing of *SFTPC* locus was performed in DNA extracted from blood. Results: We identified eight heterozygous missense mutations in *SFTPC*, containing four novel mutations in exon 2, exon3, exon4, and two well-known mutations in exon 3. Each patient with adult-onset familial IP was diagnosed at under 30 years old. Either familial or sporadic IP was associated with high frequency of mutation of *SFTPC* in PILD (45%) compared to adult-onset IP (10%). Interestingly, survivors of PILD in either sporadic or familial fashion showed the change of the phenotype to UIP from NSIP or DIP pattern. Conclusion: This data suggest that at least child-onset IP could be linked to mutation of *SFTPC* even in both sporadic and familial IP.

学会協賛企業一覧

(五十音順)

エーザイ株式会社

協和発酵キリン株式会社

田辺三菱製薬株式会社

第一三共株式会社

株式会社ツムラ

日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社

萬有製薬株式会社

フクダライフテック北陸株式会社

広告掲載企業一覧

(五十音順)

アステラス製薬株式会社

アストラゼネカ株式会社

エーザイ株式会社

大塚製薬株式会社

小野薬品工業株式会社

杏林製薬株式会社

シェリング・プラウ株式会社

塩野義製薬株式会社

大正富山医薬品株式会社

大日本住友製薬株式会社

ミナト医科学株式会社金沢営業所

日本肺サーファクタント・界面医学会 第45回学術研究会プログラム・抄録集

会 期：平成21年10月3日(土)

会 場：金沢市文化ホール

会 長：梶 博久(金沢医科大学)

発行所：〒920-0293 石川県河北郡内灘町大学1-1
金沢医科大学呼吸機能治療学(呼吸器内科)
TEL(076)286-2211 FAX(076)286-0980

印 刷： 株式会社セカンド
<http://www.secand.com/>

〒862-0950 熊本市水前寺 4-39-11 ヤマウチビル 1F
TEL：096-382-7793 FAX：096-386-2025

