

学位論文題名

Antenatal Dexamethasone Administration Impairs
Normal Postnatal Lung Growth in Rats

(出生前デキサメサゾン投与の有する出生後ラット仔肺の
正常な構造的成長阻害作用に関する研究)

学位論文内容の要旨

背景

周産期医療において早産児の肺成熟を促す、即ち肺サーファクタント欠乏に伴う呼吸窮迫症候群の発症予防を目的とする出生前経母体デキサメサゾン(以下 DXM)投与の効果が広く認められている。ヒト周産期における肺の成長には大きく三つの重要な段階があって一つは通常妊娠 31 週から 32 週頃に生ずる前述のサーファクタントシステムの確立である。残りは肺の構造的成長に関わるもので、既存の肺胞が分割して数を増やす現象(alveolarization、妊娠 35 週頃から生後 3 歳頃)、そして肺胞壁が厚い未熟な構造から、薄く成熟した構造へ変化する現象(microvascular maturation、出生後まもなくから 5 歳頃)である。これらの成長段階は時期に差異があるものの哺乳類に広く共通で、特に後二者のバランスのとれた進行が不可欠であることは動物モデルによって明らかにされている。例えばラット新生仔に出生後 DXM を投与することで microvascular maturation が過剰に促進され、その結果 alveolarization が不十分となり、成獣となったラット肺は個々の肺胞が大きく、その数が少ない、いわば気腫状の変化をきたすことが報告されている。また alveolarization は未熟な肺胞壁にのみ生じ得ることが示されている。本研究の目的は、出生前 DXM 投与も出生後のラット新生仔肺に同様の作用を持つことを示すことにある。

対象および方法

妊娠日数の確定した SD ラット 21 頭(満期 22.5 日)および出生した新生仔 108 頭を対象とした。DXM の一回投与量は 0.4mg/kg(母体重あたり)とし、ラット母獣を 7 頭ずつの 3 群に分け、第 1 群には妊娠 20 日に同量の生理食塩水を、妊娠 21 日に DXM を腹腔内投与した。第 2 群には妊娠 20 および 21 日に DXM を腹腔内投与、対照群には両日生理食塩水を投与した。出生した新生仔 213 頭から各群 36 頭、計 108 頭をランダムに選択した。日齢 1、4、7、10、13、21、35、44、60 に各群 4 頭の左肺を用いて vertical section によるモルフォメトリーを行うための組織標本作成を行った。標本から得られた 400 倍の拡大画像各 10 枚(計 1080 枚)について Apple 社コンピューター用ソフト Stereology Toolbox (Morphometrix 社)を用いて解析を行った。算出可能なパラメーターは

S_V : Surface density of Alveolar walls (単位肺体積当たりの肺胞腔体積)

n_V : numerical density of Alveoli (単位肺体積当たりの肺胞数)

r : average alveolar radius (肺胞の平均半径)

である。3群間の統計学的検討は Scheffe の方法を用いた。

結果

- 1) S_v : 日齢 10 と 60 で第 1 群, 第 2 群とも対照群に比して有意な減少を示した。(日齢 10 : $269.1 \pm 12.0 \text{ cm}^{-1}$, $273.1 \pm 10.5 \text{ cm}^{-1}$ vs. $295.8 \pm 5.4 \text{ cm}^{-1}$, 日齢 60 : $375.3 \pm 15.3 \text{ cm}^{-1}$, $367.3 \pm 37.1 \text{ cm}^{-1}$ vs. $501.2 \pm 9.6 \text{ cm}^{-1}$, mean \pm SD で示す)
- 2) n_v : 日齢 10 で第 1 群のみ対照群に対して, また日齢 44, 日齢 60 では第 1 群, 第 2 群とも対照群に比して有意の減少を示した。(日齢 10 : $408.9 \pm 51.9 / \text{mm}^3$ vs. $603.6 \pm 34.5 / \text{mm}^3$, 日齢 44 : $792.8 \pm 278.0 / \text{mm}^3$, $763.4 \pm 201.6 / \text{mm}^3$ vs. $1265.1 \pm 121.3 / \text{mm}^3$, 日齢 60 : $978.9 \pm 182.9 / \text{mm}^3$, $1037.6 \pm 291.6 / \text{mm}^3$ vs. $1942.3 \pm 130.6 / \text{mm}^3$)
- 3) r : 日齢 10 で第 1 群のみ対照群に対して, また日齢 60 では第 1 群, 第 2 群とも対照群に比して有意の増大を示した。(日齢 10 : $72.6 \pm 3.6 \mu \text{ m}$ vs. $62.5 \pm 1.3 \mu \text{ m}$, 日齢 60 : $55.7 \pm 4.1 \mu \text{ m}$, $54.0 \pm 5.5 \mu \text{ m}$ vs. $45.4 \pm 1.1 \mu \text{ m}$)

考察

日齢 10 で一時顕在化した気腫状変化はその後代償されたかにみえるものの, 日齢 60 に再び顕在化した。同様の現象は出生後 DXM 投与においても認められていた。日齢 60 にはラットは成獣に至ったとみなされるのでこれは不可逆的変化と考えられた。周産期医学の臨床においても出生前母体 DXM 投与の適応を本視点から再考する必要があると考える。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 林 邦 彦
副 査 教 授 水 上 尚 典
副 査 教 授 西 村 正 治

学 位 論 文 題 名

Antenatal Dexamethasone Administration Impairs Normal Postnatal Lung Growth in Rats

(出生前デキサメサゾン投与の有する出生後ラット仔肺の
正常な構造的成長阻害作用に関する研究)

早産児の呼吸窮迫症候群は肺の未成熟性に起因する肺サーファクタント欠乏が原因である。現在、肺成熟を促す目的で出生前経母体デキサメサゾン（以下 DXM）投与が行われ、その効果が広く認められている。ヒト周産期における肺の成長には大きく三つの重要な段階があって一つは通常妊娠 31 週から 32 週頃に生ずる前述のサーファクタントシステムの確立である。残りは肺の構造的成長に関わるもので、既存の肺胞が分割して数を増やす現象（alveolarization、妊娠 35 週頃から生後 3 歳頃）、そして肺胞壁が厚い未熟な構造から、薄く成熟した構造へ変化する現象（microvascular maturation、出生後まもなくから 5 歳頃）である。これらの成長段階は時期に差異があるものの哺乳類に広く共通で、特に後二者のバランスのとれた進行が肺成熟に不可欠であることは動物モデルによって明らかにされている。例えばラット新生仔に出生後 DXM を投与することで microvascular maturation が過剰に促進され、その結果 alveolarization が不十分となり、成獣となったラット肺は個々の肺胞が大きく、その数が少ない、いわば気腫状の変化をきたすことが報告されている。また alveolarization は未熟な肺胞壁にのみ生じ得ることが示されている。本研究の目的は、出生前母体 DXM 投与が出生後のラット新生仔肺に如何なる影響を与えるかを明らかにするものである。

妊娠日数の確定した SD ラット 21 頭（満期 22.5 日）および出生した新生仔 108 頭を対象とした。DXM の一回投与量は 0.4mg/kg（母体重あたり）とし、ラット母獣を 7 頭ずつの 3 群に分け、第 1 群には妊娠 20 日に同量の生理食塩水を、妊娠 21 日に DXM を腹腔内投与した。第 2 群には妊娠 20 および 21 日に DXM を腹腔内投与、対照群には両日生理食塩水を投与した。出生した新生仔 213 頭から各群 36 頭、計 108 頭をランダムに選択した。日齢 1、4、7、10、13、21、35、44、60 に各群 4 頭の左肺を用いて vertical section に

よるモルフォメトリーを行うための組織標本作成を行った。標本から得られた 400 倍の拡大画像各 10 枚(計 1080 枚)について Apple 社コンピューター用ソフト Stereology Toolbox (Morphometrix 社) を用いて解析を行った。算出可能なパラメーターは S_v : Surface density of Alveolar walls (単位肺体積当たりの肺胞腔体積)、 n_v : numerical density of Alveoli (単位肺体積当たりの肺胞数)、 r : average alveolar radius (肺胞の平均半径) である。3 群間の統計学的検討は Scheffe の方法を用いた。結果として、1) S_v : 日齢 10 と 60 で第 1 群, 第 2 群とも対照群に比して有意な減少を示した(日齢 10 : $269.1 \pm 12.0 \text{ cm}^{-1}$, $273.1 \pm 10.5 \text{ cm}^{-1}$ vs. $295.8 \pm 5.4 \text{ cm}^{-1}$ 、日齢 60 : $375.3 \pm 15.3 \text{ cm}^{-1}$, $367.3 \pm 37.1 \text{ cm}^{-1}$ vs. $501.2 \pm 9.6 \text{ cm}^{-1}$, mean \pm SD で示す)。2) n_v : 日齢 10 で第 1 群のみ対照群に対して、また日齢 44, 日齢 60 では第 1 群, 第 2 群とも対照群に比して有意の減少を示した(日齢 10 : $408.9 \pm 51.9 / \text{mm}^3$ vs. $603.6 \pm 34.5 / \text{mm}^3$, 日齢 44 : $792.8 \pm 278.0 / \text{mm}^3$, $763.4 \pm 201.6 / \text{mm}^3$ vs. $1265.1 \pm 121.3 / \text{mm}^3$, 日齢 60 : $978.9 \pm 182.9 / \text{mm}^3$, $1037.6 \pm 291.6 / \text{mm}^3$ vs. $1942.3 \pm 130.6 / \text{mm}^3$)。3) r : 日齢 10 で第 1 群のみ対照群に対して、また日齢 60 では第 1 群, 第 2 群とも対照群に比して有意の増加を示した(日齢 10 : $72.6 \pm 3.6 \mu\text{m}$ vs. $62.5 \pm 1.3 \mu\text{m}$, 日齢 60 : $55.7 \pm 4.1 \mu\text{m}$, $54.0 \pm 5.5 \mu\text{m}$ vs. $45.4 \pm 1.1 \mu\text{m}$)。すなわち、DXM 投与母獣から生まれた新生仔の肺は、日齢 10 で一時気腫状変化が顕在化し、その後代償されたかにみえるものの、日齢 60 に再び顕在化した。同様の現象は出生後 DXM 投与においても認められていた。日齢 60 にはラットは成獣に至ったとみなされるのでこれは不可逆的変化と考えられた。周産期医学の臨床において出生前母体 DXM 投与の適応をこの研究の結果から再考する必要があると考える。

公開発表に際し、副査の西村正治教授から、DXM 投与量の設定について、ラットとヒトの肺の成長段階の差について、結果の再現性・信頼性について、DXM が肺に及ぼす効果の機序、この研究結果の臨床への適応についての質問があった。ついで、副査の水上尚典教授から、本研究の背景およびその位置づけについてのコメントがあった。主査の小林邦彦教授から、肺成熟を促進する因子として炎症がある一方、抗炎症作用をもつ DXM 投与が同様な作用を呈する機序についての質問があった。最後にフロアーの共同実験者から、DXM による不可逆的な肺胞変化は慢性肺疾患の動物実験モデルと為りうる可能性が指摘された。

本研究は、周産期における母体へのステロイド投与の問題点を明らかにし、今後の臨床にその警鐘が生かされると期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。