



Effects of Maternal administration of Dexamethasone and Thyrotropin-Releasing Hormone on Fetal Rat Pulmonary Surfactant Synthesis

横山, 直樹

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1995-10-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲1453

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1001453>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・（本籍）	よこやま なお 樹 横 山 直 樹	（香川県）
博士の専攻分野の名称	博 士（医 学）	
学位記番号	博い第985号	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当	
学位授与の日付	平成7年12月31日	
学位論文題目	Effects of Maternal Administration of Dexamethasone and Thyrotropin-Releasing Hormone on Fetal Rat Pulmonary Surfactant Synthesis （デキサメサゾン及びTRHの母体内投与がラット胎仔肺サーファクタント合成に及ぼす影響）	
審 査 委 員	主査 教授 中 村 肇	
	教授 望 月 眞 人	教授 松 尾 雅 文

論 文 内 容 の 要 旨

I. はじめに

グルココルチコイドは胎児肺成熟特に肺サーファクタント合成促進作用を持ち、母体に分娩前に投与することによって新生児呼吸窮迫症候群の発症率が低下することが報告されている。肺サーファクタントは、約90%のリン脂質、約10%の蛋白質とわずかの炭水化物により構成されている。サーファクタント蛋白は4種の蛋白SP-A, SP-B, SP-C, SP-Dに分類され、それぞれが独自の機能を持っていることが現在までにわかってきている。SP-Aは親水性蛋白で、気相液相間におけるリン脂質の吸収を高め、SP-BとSP-Cはいずれも疎水性で、リン脂質表面フィルム形成を促進する。SP-Dは最近発見された43kDaの親水性蛋白でその機能については明らかにされていない。これらの蛋白発現にグルココルチコイドが及ぼす影響については、これまでにラットを始め種々の動物モデルを用いて研究されてきた。その結果、グルココルチコイドはSP-A, B, CのmRNAの合成を促進することがわかってきた。

一方、甲状腺ホルモンもまた肺成熟促進作用を持ち、臨床的にはThyrotropin-releasing hormone (TRH)の経母体投与がその胎盤通過性から広く試みられている。TRHは容易に胎盤を通過し胎児の下垂体を刺激しTSHとプロラクチンを産生させ、胎児肺を成熟させるといわれている。近年、TRHとグルココルチコイドの併用投与がグルココルチコイド単独より胎児肺成熟に関してより効果的であると報告されてきている。しかしながら、母体内投与されたTRHが胎児肺のサーファクタント合成に及ぼす効果については明らかにされていない。

そこで我々は妊娠ラットを用いて、グルココルチコイドとTRHの母体内投与が胎児ラット肺サーファクタント合成すなわちSP-A, B, CのmRNA及びDSPCに与える影響を検討した。

II. 実験方法と結果

妊娠Wistarラット16匹を4群に分け、TRH及びデキサメサゾンを以下の投与量で各々生食に溶解し等量とし、妊娠17日から連続3日間腹腔内投与した（妊娠期間22日）。

- 1) TRH群: TRH $20 \mu\text{g}/\text{kg} \times 2/\text{day}$
- 2) DEX群: デキサメサゾン $0.5\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$
- 3) DEX+TRH群: デキサメサゾン $0.5\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$
+TRH $20 \mu\text{g}/\text{kg} \times 2/\text{day}$
- 4) 対照群: 0.9%生食

妊娠20日目、最終投与6時間後にジエチルエーテル麻酔下で胎児及び胎児肺を摘出した。胎児肺を右と左に分離し、各2-3肺を一塊とし1検体とした。右肺をRNA解析に、左肺をDSPC測定に用いた。各群のSP-A, B, C mRNA量をNorthern blotting法にて解析し、総肺DSPC量の測定にはMuneshigeらの方法を用いた。

1. ラット胎仔体重量, 肺重量

DEX群では体重量, 肺重量ともに有意に減少し, DEXの母体内投与は胎児の発育に影響を与えたが, TRH群では変化は認められなかった。

2. ラット肺SP-A, SP-B, SP-C mRNA

ラットSP-A, B, C mRNAはNorthern blottingにおいてそれぞれ1.6kbと0.9kb, 1.5kb, 0.8kbのバンドとしてみられ, DEX群とDEX+TRH群においてSP-BとSP-Cは対照群より濃いバンドで認められた。吸光度解析の結果, SP-BとSP-CのmRNA量はDEX群とDEX+TRH群で対照群に比し, それぞれSP-Bで1.59倍, 1.87倍, SP-Cで1.34倍, 1.42倍 ($p<0.01$) と有意に高く, TRH単独群では対照群と有意差はみられなかった。またDEX群とDEX+TRH群間にも有意差はみられなかった。一方, SP-AのmRNA量は4群間に有意差を認めなかった。

3. ラット胎仔肺総DSPC量

DEX群とDEX+TRH群における総DSPC量は, 対照群に比し1.39倍, 1.35倍 ($p<0.01$) と有意に高かった。しかし, DEX群とDEX+TRH群に有意差はみられなかった。

III. 考 察

グルココルチコイドはin vivoとin vitroの両方においてSP-BとSP-CのmRNAの合成を高めることがこれまでに知られている。我々の研究でもSP-BとSP-CのmRNAレベルはデキサメサゾン投与により上昇したが, SP-A mRNAの変化はみられず, SP-BとSP-CはSP-Aと異なった機構で制御されていることが確かめられた。我々の方法ではデキサメサゾンによるSP-BとSP-CのmRNA量の増加は, 他の同様の研究報告に比し軽度であった。SP-BとSP-CのmRNA量はデキサメサゾンの投与量に比例し, 投与時期によっても反応の程度は異なり, 本実験で増加量が軽度であったのはこれらの影響が考えられた。

一方, 母体へのTRHとグルココルチコイドの併用投与が肺胞洗浄液中のSP-A量やDSPC量を増加させることが種々の動物実験で報告されている。我々の研究ではデキサメサゾンはラット胎仔肺の総DSPC量を増加させたが, TRH単独ではDSPC量を増加させず, デキサメサゾンとの併用による相乗的な効果もみられなかった。さらにTRH単独投与はサーファクタント蛋白のmRNA量にも有意な変化を与えなかった。Rodriguezらは $100 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ のTRHを妊娠ラットに投与し, 胎児肺のDSPC量の増加と抗酸化酵素の減少がみられたことを報告している。しかし我々の研究では有意なサーファクタント蛋白mRNA量とDSPC量の増加は観察されなかった。彼らの研究に比べ, 我々の用いたTRH投与量は $40 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ と少量であったが, 母体のTSH, T_3 , T_4 と胎児のTSHは, $40 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ のTRH投与によっても有意に上昇し, また投与量による上昇度の差も認められず, 今回のTRH

投与量及び投与法はラット胎仔に生物学的効果を与えるのに十分な量であったと考えられる。しかし、サーファクタント蛋白mRNA量とDSPC量はTRH投与により増加しなかった。TRHのサーファクタント合成に及ぼす影響は胎児肺の発達時期、治療期間、投与量、種差などによって微妙に異なると考えられ、さらなる研究が必要である。

今回、サーファクタント蛋白量については測定できず、TRH自身が蛋白合成を促進するか否かについては言及できない。本実験はmRNAレベル及びDSPC量の評価であり、蛋白測定の追加実験が必要である。

IV. 結 論

我々は、TRHは肺サーファクタント蛋白mRNAの合成を促進させず、mRNA合成以外の面で、あるいはサーファクタント以外の部分で胎児肺を成熟させると考える。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

グルココチサイドは胎児肺成熟特に肺サーファクタント合成促進作用を持ち、母体に分娩前に投与することによって新生児呼吸窮迫症候群の発症率が低下することが報告されている。

肺サーファクタントは、約90%のリン脂質、約10%の蛋白質とわずかの炭水化物により構成され、サーファクタント蛋白は4種の蛋白SP-A, SP-B, SP-C, SP-Dがあり、それぞれが独自の機能を持っていることが現在までにわかってきている。

一方、甲状腺ホルモンもまた肺成熟促進作用を持ち、臨床的にはThyrotropin-releasing hormone(TRH)の経母体投与がその胎盤通過性から広く試みられており、またTRHは容易に胎盤を通過し胎児の下垂体を刺激しTSHとプロラクチンを産生させ、胎児肺を成熟させるといわれている。近年、TRHとグルココルチコイドの併用投与がグルココルチコイド単独より胎児肺成熟に関してより効果的であるとの報告もあるが、母体内投与されたTRHが胎児肺のサーファクタント合成に及ぼす効果については明らかにされていない。

そこで申請者らは妊娠ラットを実験モデルとして、グルココルチコイドとTRHの母体内投与が胎児ラット肺サーファクタント合成に及ぼす影響をSP-A, B, CのmRNAの発現並びにDSPC産生から検討した。

実験方法は、妊娠Wistarラット16匹を4群に分け、TRH及びデキサメサゾンを経口投与量を以下に示すように各々生食に溶解し等量とし、妊娠17日から連続3日間腹腔内投与し、妊娠20日目、最終投与6時間後にジエチルエーテル麻酔下で胎児及び胎児肺を摘出し検体とした。右肺をRNA解析に、左肺をDSPCに用いている。各群のSP-A, B, C mRNA量をNorthern blotting法にて解析し、総肺DSPC量の測定にはMuneshigeらの方法を用いた。

その結果、SP-BとSP-CのmRNA量はデキサメサゾン群とデキサメサゾン+TRH群ともに対照群に比し、それぞれSP-Bで1.59倍、1.87倍、SP-Cで1.34倍、1.42倍 ($p<0.01$) と有意に高ったが、TRH単独群では対照群と有意差はない。またデキサメサゾン群とデキサメサゾン+TRH群の間には有意差はなかったという。

グルココルチコイドはin vivoとin vitroの両方においてSP-B, SP-CのmRNAの合成を高めることはこれまで知られていたが、申請者らのin vivoでの研究においてもSP-B, SP-CのmRNAレベルがデキサメサゾン投与により上昇するが、SP-AのmRNAは変化していないことから、SP-B, SP-C

はSP-Aと異なった機構で発現制御されていることを示唆するものである。

一方、母体へのTRHとグルココルチコイドの併用投与が肺胞洗浄液中のSP-A量やDSPC量を増加させる得ることがこれまでに報告されているが、申請者らの研究ではデキサメサゾンとラット胎仔肺の総DSPC量を増加させるが、TRH単独ではDSPC量を増加させず、デキサメサゾンとの併用による相乗的な効果は認められず、またTRH単独投与ではサーファクタント蛋白のmRNA量にも有意な変化を与えないことから、その効果について否定的な見解を示した。

本研究は、未熟児呼吸障害の主要な原因である肺サーファクタント欠乏に対する治療法として、デキサメサゾン並びにTRHの効果について基礎的に研究したものであり、従来ほとんど行われなかった肺サーファクタント蛋白mRNA誘導にデキサメサゾンが促進作用をもつという重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。