

□ 総 説 □

肺胞水分クリアランスとその調節

内田 篤 治 郎*

ABSTRACT

Alveolar Fluid Clearance and Its Regulation

Tokujiro UCHIDA

Department of Anesthesiology, Tokyo Medical and Dental University Graduate School, Tokyo, 113-8519

Lung fluid balance is actively regulated by distal lung epithelium both in normal and in pathological conditions. One of the important mechanisms which explains this regulation is active salt transport followed by osmotic water movement through alveolar epithelial cells. Sodium ion in alveolar fluid is absorbed into epithelial cells via apical epithelial sodium channel (ENaC) and actively transported to interstitium by basolateral $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase. This function can be modified by many factors (like catecholamines, humoral factors, mediators, reactive oxygen/nitrogen species, and oxygenation of cells), at multiple steps (transcription, translation, and post translational modification of protein function). Some clinical studies demonstrated higher alveolar fluid clearance significantly correlated with better outcome in patients with acute lung injury (ALI) and acute respiratory distress syndrome (ARDS). Amelioration or activation of alveolar epithelial cell function is important in the treatment of lung injury patients, and the regulation of alveolar fluid clearance is one of the possible targets of therapeutic strategy of ALI/ARDS.

1. はじめに

ヒトの肺胞の表面積は 143m^2 といわれ、その99%は肺胞上皮で覆われている。そのうち、95%は扁平な形状のI型上皮がしめ、残り5%は立方体に近い形状のII型上皮が占めているといわれている¹⁾。通常、これらの上皮細胞は、比較的堅固な細胞間結合により、肺組織を外界から守る役割を果たしていることは、想像に難くないが、そのほかにも、サーファクタントの産生により表面張力を低下させ、肺胞の開存状態を維持したり、出

生時や肺水腫からの回復過程などで、肺胞に貯留した余分な水分を間質側にくみ出すなどの重要な働きを担っている。また、ある種の肺傷害では、上皮のバリア機能に破綻が生じた際に、II型上皮様の細胞が増殖しており、これによりバリア機能が修復されると考えられている²⁾。

本稿では、これらの肺胞上皮機能の中でも、肺胞における水分クリアランスについて概説する。従来、肺水腫などで肺胞内に貯留した水分は、周囲を灌流する毛細血管を流れる血液の膠質浸透圧と血管内の静水圧の差により、間質を通して血管内に吸収されると考えられてきた。これは主として、肺水腫に関する実験が常温下で行われていたり、比較的肺胞水分クリアランスの少ない動物種

* 東京医科歯科大学医学部大学院医歯学総合研究科心肺統御麻酔学

(イヌ)での研究成果が多かったため、肺胞上皮の能動的な働きに関しては注意が向けられなかったためである。しかし、1980年代より、肺胞上皮による能動的な水分の移動が行われていることが指摘されるようになり、約20年間でその調節機構などに関して、研究成果が蓄積しつつあるので、これを紹介する。

2. 肺胞腔から水分が吸収されるメカニズム

最初に、肺胞における能動的な水分クリアランスが指摘されたのは、ヒツジを使ったモデルでの次のような研究による³⁾。まず、肺末梢気道に、血漿タンパク濃度と同じ濃度(%)のアルブミン加等張液を注入すると、血漿タンパク濃度は不変であったにもかかわらず、4時間後には、これが6.5~8.4g/dlに上昇し、24時間後には、12.9g/dlにまで上昇した。生理的な状態では、アルブミン

は肺胞上皮のバリアを通過できないため、肺胞中のアルブミン濃度の上昇は、水分の吸収により説明されたわけである。このような方法で観察される水分の吸収は、気道内圧や換気の影響を受けないが⁴⁾、一方、体温を下げると著しい抑制を受ける⁵⁾ことがわかり、生命現象に伴う能動的なプロセスの関与が考えられた。

現在考えられている肺胞水分クリアランスのメカニズムの中で、最も主要なものとして位置づけられているのは、Naイオンの移動を介する機構である。一般的には、上皮細胞には極性があり、細胞内小器官の分布は、外界に接するApical側と間質に接するBasolateral側で大きく異なる。肺胞上皮も例外ではなく、Naイオンの移動に関しては、Apical側に上皮性Naチャネル(ENaC)が存在し、Basolateral側にはNa⁺-K⁺ATPaseが存在している。何らかの理由でENaCの開存率が

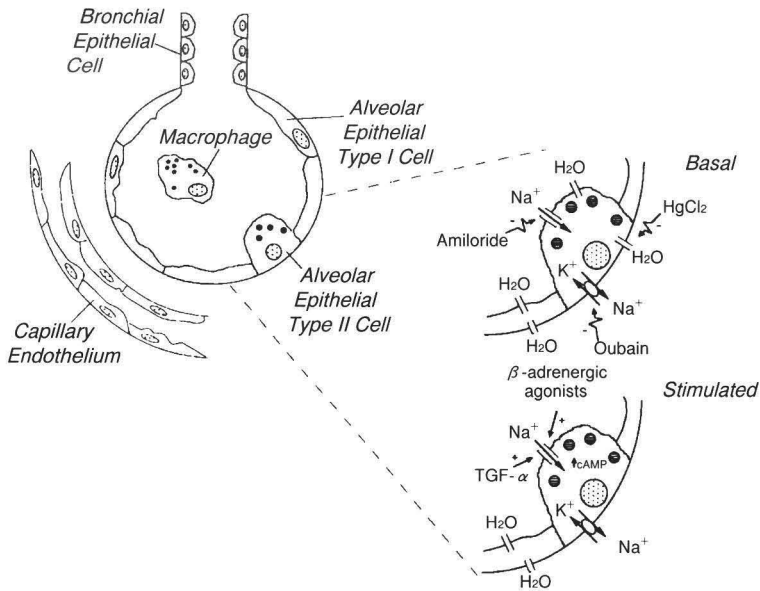


図1 肺胞上皮と肺胞水分クリアランス

肺胞上皮には、肺胞腔側に上皮性Naチャネル、基底膜側にNa⁺-K⁺ATPaseが存在し、余分なNa⁺を間質側にくみ出している。肺胞中の余分な水分はNa⁺の移動に伴い、間質へと移動すると考えられている(Basal)。これらの機構は、βアゴニストなどによって活性化される(Stimulated)。

(Matthay MA, Folkesson HG, Verkman AS: Salt and water transport across alveolar and distal airway epithelia in the adult lung. Am J Phys Lung Cell Mol Physiol 270: L487-L503, 1996 より一部改変)

あがると、イオン濃度勾配から細胞内にNaイオンが流れ込み、これをNa⁺-K⁺ ATPaseが間質側にくみ出す。このNaイオンの動きに伴って生じる浸透圧差により、水が肺胞腔から間質側に移動するというものである(図1)。

このNa⁺輸送仮説に関しては、*in vivo*から*in vitro*にいたるいくつかの実験的証拠が挙げられている。まず第1に、上記のように、肺胞中に5%等張アルブミン液を注入した場合の濃縮過程は、ENaCの阻害薬であるamilorideやNa⁺-K⁺ ATPaseの阻害薬であるouabainによって抑制される⁶⁾。第2に、ラットのII型肺胞上皮のprimary cultureでは、short-circuit current (Isc)を測定することにより、細胞を介するNaの流れが存在し、apical側にamilorideを投与したり、basolateral側にouabainを投与すると、これが抑制されること⁷⁾、第3に、ENaCの α サブユニットの欠損マウスは、出生時に肺胞中の水分を吸収できずに、生後40時間以内に呼吸窮迫症候群で死亡してしまうこと⁸⁾、第4に、Na⁺-K⁺ ATPaseの β_1 サブユニット遺伝子をアデノウイルスを用いた遺伝子導入で成熟ラット肺に発現させると、肺胞水分クリアランスが増加する⁹⁾ことなどである。なお、amilorideは完全にNa⁺輸送をとめるわけではないので、Na⁺輸送の20~50%はENaCに依存しないメカニズムによると考えられている。Na⁺-Glucose cotransporter¹⁰⁾やcyclic-nucleotide-gated cation channel¹¹⁾などの関与が考えられている。

3. 肺胞水分クリアランスの調節

ENaCは、 α 、 β 、 γ の3種類のサブユニットから構成されると考えられているが、一つのチャネルがそれぞれいくつのサブユニットで構成されているかについては、 $\alpha_2\beta_1\gamma_1$ とする説¹²⁾や $\alpha_3\beta_3\gamma_3$ とする説¹³⁾など、今のところ定説がない。また、II型肺胞上皮の培養細胞では、21pS程度のコンダクタンスを有し、NaとKに対してほぼ等しい透過性を示す低選択性チャネル(NSC: non selective channel)と、5-7pSのコンダクタンスを有してNaに対する選択性の高い高選択性チャネル(HSC: high selective channel)

が存在する¹⁴⁾。これらの性質の違いは、サブユニットが完全な多量体を形成しているか、単量体または不完全な構造しか形成していないかによるともいわれている。

一方、Na⁺-K⁺ ATPaseは α 、 β の2種類のサブユニットが1:1に結合したものであることがわかっているが、組織により、 $\alpha \cdot \beta$ サブユニットに複数のisoformが存在する。II型肺胞上皮では $\alpha_1\beta_1$ の組み合わせが最も多いといわれている。

いずれにせよ、これらのタンパクは、mRNAの転写、タンパクの翻訳・合成、合成されたタンパクの膜表面への移動と多量体の形成、構成タンパクのリン酸化、膜表面から細胞内への後退、分解といった多段階での調節が行われていると考えられている。以下に、肺胞水分クリアランスを増加させる因子と減少させる因子について概説する。

1) 肺胞水分クリアランスを増加させる因子

肺胞水分クリアランスを増加させる因子の中で、これまで最も多く研究されてきたのはカテコールアミンである。そこで、肺胞水分クリアランスの増加因子はカテコールアミン依存性のものと非依存性のものに分類されることが多い。

a) カテコールアミン依存性調節

胎生動物を用いた研究では、出生時の内因性的カテコールアミンの放出が、肺胞腔の水分の吸収に大きく貢献していることが明らかにされている¹⁵⁾¹⁶⁾。同様に、成人や成熟動物でも、主として、 β_2 アゴニストが肺胞水分クリアランスを亢進させる^{17)~20)}。これらの反応は、気道へのamiloride投与により抑制されるため、Na⁺輸送を介するものと考えられている。肺胞上皮では、 β_1 および β_2 受容体が存在し、主として、 β_2 アゴニストは、これを介して、細胞内のcyclic AMP(cAMP)を上昇させる。cAMPの上昇は、ENaCやNa⁺-K⁺ ATPaseのサブユニットの膜上への発現を促したり^{21)~23)}、ENaCやNa⁺-K⁺ ATPaseのタンパク自体をリン酸化を助け、開存率を増加させるなどのメカニズムが考えられている²⁴⁾。また、 β アゴニストにより、HSCの割合が増加することも指摘されており、ENaCのサブユニット

が、より多く完全な形で結合するのを助けている可能性もある。

なお、ドパミンが肺胞水分クリアランスを増加させることも、肺の摘出灌流標本を用いた研究で明らかにされている²⁵⁾。しかし、この反応は、 β 受容体を介するものではなく、ドパミンが、肺胞上皮に存在するドパミン D_1 受容体を介して、 $Na^+ - K^+ ATPase$ の α_1 サブユニットの basolateral 側の細胞膜への発現を促すためと考えられており²⁶⁾²⁷⁾、カテコールアミン依存性の機構とは切り離して考えられている。

b) カテコールアミン非依存性調節

近年、肺胞水分クリアランスは、カテコールアミン以外の因子の調節を受けることが明らかにされてきた。主なものとしては、ステロイドなどの内分泌因子とある種の成長因子であるが、肺傷害における炎症誘発因子の一つである TNF α が肺胞水分クリアランスを増加させるという意外な結果も明らかとなっている。

糖質コルチコイドは、胎生動物と成熟動物のいずれでも、肺における Na^+ ・水分輸送を増加させる。この作用は、糖質コルチコイドによる ENaC や $Na^+ - K^+ ATPase$ の mRNA の転写の増加や、および転写以後の過程の修飾が起これ、これら 2 種類のタンパクの発現増加^{28)~30)} や、ENaC の機能修飾 (NSC から HSC への変化)³¹⁾ が起こるためと考えられている。

また、鉱質コルチコイドに関しても、一般的にさまざまな組織の上皮における水電解質輸送の調節因子として重要なものと位置づけられており、肺にも受容体が存在する³²⁾ ため、関与の可能性が考えられている。現段階では、アルドステロンが肺胞水分クリアランスを増加させる³³⁾³⁴⁾ という結果が散見されるにとどまるが、 $Na^+ - K^+ ATPase$ の α_1 , β_1 サブユニットタンパクの発現を増加させたり³⁵⁾、ENaC における HSC の割合を増加させるなどの結果も明らかになっており³⁵⁾、今後の研究が待たれるところとなっている。

肺胞水分クリアランスを増加させる成長因子としては、epidermal growth factor (EGF), transforming growth factor α (TGF α), keratinocyte growth factor (KGF) などがある。このう

ち、KGF と EGF は一般に細胞増殖を促す作用をもつ。特に KGF は II 型肺胞上皮を増殖させることが示されており、水分を輸送できる細胞数の増加が、水分クリアランスの増加をもたらしていると考えられている³⁶⁾。

TNF α の肺胞水分クリアランスへの効果は、最初、緑膿菌の気道内接種による肺炎モデルで肺胞水分クリアランスの上昇が観察された実験で、これが、TNF α 中和抗体投与により抑制されたことから注目されるようになった³⁷⁾。ラットの気道に TNF α を投与すると、1 時間後には、肺胞水分クリアランスが上昇するが、TNF α による肺胞水分クリアランスの増加は、 β 遮断薬では拮抗されず、amiloride で有意に拮抗される³⁸⁾。このことから、TNF α による肺胞水分クリアランスの増加は、cAMP を介さない反応による ENaC の機能修飾によると考えられている。TNF α には 2 種類の受容体が存在するが、TNF α の作用には、これらの受容体を介する反応とこれを介さない反応があることが知られている³⁸⁾。最近の報告では、TNF α の 2 つの受容体の欠損マウスでも、TNF α による肺胞水分クリアランスの増加が野生種と同程度認められること、TNF α のレクチン様ドメインという活性部位のアミノ酸配列を模したポリペプチドアナログを投与すると肺胞水分クリアランスの増加を再現できることなどから、TNF α の肺胞水分クリアランス増加作用は、主として TNF α のレクチン様ドメインが ENaC の機能を修飾することによるもので、TNF α 受容体を介さないとされている³⁹⁾。この活性部位のポリペプチドアナログが、受容体を介した炎症性メディエータの産生を引き起こさないとすれば、治療戦略としての可能性が期待できよう。

2) 肺胞水分クリアランスを減少させる原因

これまでに、肺胞水分クリアランスを減少させる要因がいくつか明らかになっている。肺傷害により、上皮細胞の機能が低下している状態では肺胞水分クリアランスは低下するが、これは、次項で取り上げることとし、ここでは上皮の機能低下を誘発する因子として、低酸素状態と麻酔薬、活性酸素・NO などを取りあげる。

細胞を取り巻く環境における酸素濃度が低下す

ると、肺胞上皮を介する Na^+ ・水分輸送は抑制される。長時間（12時間以上）にわたる低酸素状態は、 Na^+-K^+ ATPase の α_1 および β_1 サブユニットの mRNA の転写を抑制⁴⁰⁾、ENaC サブユニットの翻訳過程ならびに apical 側の膜への移動の抑制をおこす⁴¹⁾⁴²⁾ ことが明らかとなっている。逆に、胎児ラットの肺上皮を培養して、酸素濃度を 3% からさまざまな濃度に上昇させると、濃度依存性に ENaC の mRNA 量を増加させ、並行してチャネル活性を増加させる⁴³⁾⁴⁴⁾ ため、酸素濃度が、出生時の肺胞中の水分量の調節においても重要な役割をはたしていると考えられている。興味深いことに、肺胞水分クリアランスの低酸素による抑制作用は、 β アゴニストによって、回復させることが可能であり、このことは、酸素濃度による調節と β アゴニストによる調節が、ともに Na 輸送タンパク（ENaC, Na^+-K^+ ATPase）の膜表面への移動（membrane trafficking）などの共通のプロセスにより制御されている可能性を示唆している⁴²⁾。

また、揮発性吸入麻酔薬も、 Na^+ ・水分輸送を低下させるが、投与を中止すると、 Na^+ ・水分クリアランスは速やかに回復する⁴⁵⁾。このような可逆的な調節のメカニズムは明らかではないが、*in vitro* で培養細胞を用いた実験では、1% のハロタンにより、 Na^+-K^+ ATPase や ENaC の活性が可逆的に低下することが示されている⁴⁶⁾。

肺傷害時、あるいは大量出血に伴う hypovolemic shock の際には、白血球が肺組織中に遊走し、oxygen radicalなどを放出するといわれている。これにより、肺胞水分クリアランスは抑制され、 β アゴニストによる刺激に対する反応性も小さくなる。また、NO は、II 型肺胞上皮の培養細胞で観察される Na の Isc を低下させ、さらに superoxide との反応により peroxynitrite を産生すると、ENaC 依存性の Na 輸送を低下させることが示されている⁴⁷⁾。活性酸素や活性窒素酸化物はその強力な酸化作用により、ENaC の構成タンパクを酸化し、機能を低下させると考えられている。

4. 臨床における肺胞水分クリアランスの検討

以上のように述べてきた肺胞水分クリアランスに関する知見は、気道に等張アルブミン液を注入する *in vivo* 研究、摘出肺灌流標本を用いた研究、培養細胞を用いた *in vitro* 研究などによるが、いずれも臨床への適用は難しい。しかし、肺の切除標本で気道に等張アルブミン液を注入した研究では、ヒトでも肺胞水分クリアランスが十分に観察されること、 β アゴニストによる調節を受けることなどが示されている²⁰⁾。近年ヒトの肺胞 II 型上皮の primary culture を使ったアプローチなども見られ始めており、病態解析の基礎となる知見が期待される場所であるが、これまでのところ、臨床的には、肺水腫液中のアルブミン濃度を経時的に追跡するなどの方法での検討が行われてきた。ここでは、これらの結果に基づき、静水圧性肺水腫と肺傷害性肺水腫に関する知見を紹介する。

1) 静水圧肺水腫

65名の静水圧肺水腫の患者で気管挿管直後およびその4時間後に採取した肺水腫液を検討すると、38%の患者では14%/hr以上、37%の患者では3%/hr以上、14%/hr以下の水分クリアランスが観察された⁴⁸⁾。残る25%の患者では有意なクリアランスが観察されなかったが、前者と比較して、肺灌流圧には有意差が見られなかった。少数ながら、水分クリアランスが見られなかった患者がいた原因は明らかではないが、心房性 Na 利尿ペプチドには ENaC を介する Na 輸送を抑制する働きがあるという動物実験の結果もあり⁴⁹⁾、関与している可能性がある。また、肺胞中の酸素濃度の低下が Na^+ 輸送を低下させた可能性も考慮すべきであろう。しかし、このような患者で観察された肺胞水分クリアランスは、ラットの *in vivo* の実験で観察されるレベルと同等であり、統計上有意水準に到達はしなかったが、 β アゴニストによる改善傾向も観察されているため、一般には、静水圧肺水腫では、上皮の機能は損なわれていないと考えられている。

2) 肺傷害に伴う肺水腫

静水圧肺水腫と同様な方法で急性肺傷害・急性

呼吸窮迫症候群患者 79 名で測定された肺胞水分クリアランスでは、56% の患者で 3%/hr であり、32% の患者では 3%/hr 以上 14%/hr 以下の水分クリアランスが観察された。14%/hr 以上のものは 13% (10 名) しかいなかった。この 10 名と 14%/hr 以下の 69 名の予後について比較すると、クリアランスの低下した患者では、呼吸不全の有病期間が有意に長く、死亡率も高かった⁵⁰⁾。肺水腫液の nitrite, nitrate を測定すると、クリアランスの低下した患者では、nitrite, nitrate のレベルが高く⁵¹⁾、炎症に伴って産生された活性窒素酸化物が、Na 輸送タンパクの機能を抑制するという上記のような機構の関与を裏付けている。また、肺傷害患者の肺胞洗浄液中の SP-D (Surfactant Protein D) レベルを調べた研究では、SP-D レベルの低い患者での予後が悪いことが示され⁵²⁾、上皮機能の低下が予後の悪化因子として重要であることを裏付けている。

5. 肺傷害・肺水腫の治療的戦略における肺胞水分クリアランス

以上のような知見より、肺胞上皮の機能を調節・維持することが、肺における病態の改善につながると考えられる。肺胞水分クリアランスに関しては、これを増加させる因子の投与、減少させる因子の除去、肺胞上皮細胞の分化増殖による上皮機能の修復といった戦略が考えられよう。もっとも身近なところでは、 β アゴニストとドパミン投与であるが、いずれも、いまだ臨床的に効果が証明されていない。特に炎症の重度なものに関しては、活性酸素などにより十分な効果が期待されにくいことも予想され、検討の待たれるところである。上述のように、動物実験のレベルでは、ENaC や $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase の遺伝子導入、さまざまな成長因子の投与などが試されてきているが、現段階では、より現実的、かつ効果的な治療的なアプローチを目指して、上皮機能の病態整理を解明していくことが、有望な治療法の開発につながると考えている。

引用文献

1) Weibel ER : Lung morphometry and models in

respiratory physiology. In Respiratory Physiology. An Analytical Approach. Edited by Chang HK, Paiva M. New York, Dekker, 1989, p 1-56

- 2) Folkesson HG, Nitenberg G, Oliver BL, et al : Upregulation of alveolar epithelial fluid transport after subacute lung injury in rats from bleomycin. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 275 : L478-L490, 1998
- 3) Matthay MA, Landolt CC, Staub NC : Differential liquid and protein clearance from the alveoli of anesthetized sheep. *J Appl Physiol* 53 : 96-104, 1982
- 4) Sakuma T, Pittet JF, Jayr C, et al : Alveolar liquid and protein clearance in the absence of blood flow or ventilation in sheep. *J Appl Physiol* 74 : 176-185, 1993
- 5) Serikov VB, Grady M, Matthay MA : Effect of temperature on alveolar liquid and protein clearance in an in situ perfused goat lung. *J Appl Physiol* 75 : 940-947, 1993
- 6) Basset G, Crone C, Saumon G : Significance of active ion transport in transalveolar water absorption : a study on isolated rat lung. *J Physiol* 384 : 311-324, 1987
- 7) Cheek JM, Kim KJ, Crandall ED : Tight monolayers of rat alveolar epithelial cells : bioelectric properties and active sodium transport. *Am J Physiol Cell Physiol* 256 : C688 - C693, 1989
- 8) Hummler E, Barker P, Gatzky J, et al : Early death due to defective neonatal lung liquid clearance in α ENaC-deficient mice. *Nat Genet* 12 : 325-328, 1996
- 9) Factor P, Saldias F, Ridge K, et al : Augmentation of lung liquid clearance via adenovirus-mediated transfer of a $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase beta 1 subunit gene. *J Clin Invest* 102 : 1421 - 1430, 1998
- 10) Basset G, Saumon G, Bouchonnet F, et al : Apical sodium sugar transport in pulmonary epithelium in situ. *Biochim Biophys Acta* 942 : 11-18, 1988
- 11) Ding C, Potter ED, Qiu W, et al : Cloning and widespread distribution of the rat rod-type cyclic nucleotide-gated cation channel. *Am J Physiol Cell Physiol* 272 : C1335-C1344, 1997

- 12) Firsov D, Gautschi I, Merillat AM, et al : The heterotetrameric architecture of the epithelial sodium channel (ENaC). *EMBO J* 17 : 344 – 352, 1998
- 13) Eskandari S, Snyder PM, Kreman M, et al : Number of subunits comprising the epithelial sodium channel. *J Biol Chem* 274 : 27281–27286, 1999
- 14) Matalon S, O'Brodovich H : Sodium channels in alveolar epithelial cells : molecular characterization, biophysical properties, and physiological significance. *Annu Rev Physiol* 61 : 627–661, 1999
- 15) Brown MJ, Olver RE, Ramsden CA, et al : Effects of adrenaline and of spontaneous labour on the secretion and absorption of lung liquid in the fetal lamb. *J Physiol* 344 : 137–152, 1983
- 16) Finley N, Norlin A, Baines DL, et al : Alveolar epithelial fluid clearance is mediated by endogenous catecholamines at birth in guinea pigs. *J Clin Invest* 101 : 972–981, 1998
- 17) Berthiaume Y, Staub NC, Matthay MA : Beta-adrenergic agonists increase lung liquid clearance in anesthetized sheep. *J Clin Invest* 79 : 335–343, 1987
- 18) Charron PD, Fawley JP, Maron MB : Effect of epinephrine on alveolar liquid clearance in the rat. *J Appl Physiol* 87 : 611–618, 1999
- 19) Crandall ED, Heming TH, Palombo RL, et al : Effect of terbutaline on sodium transport in isolated perfused rat lung. *J Appl Physiol* 60 : 289–294, 1986
- 20) Sakuma T, Folkesson HG, Suzuki S, et al : Beta-adrenergic agonist stimulated alveolar fluid clearance in ex vivo human and rat lungs. *Am J Respir Crit Care Med* 155 : 506–512, 1997
- 21) Butterworth MB, Helman SI, Els WJ : cAMP-sensitive endocytic trafficking in A6 epithelia. *Am J Physiol Cell Physiol* 280 : C752–C762, 2001
- 22) Chen XJ, Eaton DC, Jain L : Beta-Adrenergic regulation of amiloride-sensitive lung sodium channels. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 282 : L609–L620, 2002
- 23) Snyder PM : Liddle's syndrome mutations disrupt cAMP-mediated translocation of the epithelial Na⁺ channel to the cell surface. *J Clin Invest* 105 : 45–53, 2000
- 24) Marunaka Y, Niisato N, O'Brodovich H, et al : Regulation of an amiloride-sensitive Na⁺-permeable channel by a beta2 - adrenergic agonist, cytosolic Ca²⁺ and Cl⁻ in fetal rat alveolar epithelium. *J Physiol* 515 : 669–683, 1999
- 25) Barnard ML, Olivera WG, Rutschman DM, et al : Dopamine stimulates sodium transport and liquid clearance in rat lung epithelium. *Am J Respir Crit Care Med* 156 : 709–714, 1997
- 26) Barnard ML, Ridge KM, Saldias F, et al : Stimulation of the dopamine 1 receptor increases lung edema clearance. *Am J Respir Crit Care Med* 160 : 982–986, 1999
- 27) Lecuona E, Garcia A, Sznajder JJ : A novel role for protein phosphatase 2A in the dopaminergic regulation of Na, K-ATPase. *FEBS Lett* 481 : 217–220, 2000
- 28) Tchepichev S, Ueda J, Canessa C, et al : Lung epithelial Na channel subunits are differentially regulated during development and by steroids. *Am J Physiol Cell Physiol* 269 : C805 – C812, 1995
- 29) Barquin N, Ciccolella DE, Ridge KM, et al : Dexamethasone upregulates the Na⁺-K⁺ ATPase in rat alveolar epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 273 : L825–L830, 1997
- 30) Ingbar DH, Duvick S, Savick SK, et al : Developmental changes of fetal rat lung Na⁺-K⁺ ATPase after maternal treatment with dexamethasone. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 272 : L665–L672, 1997
- 31) Lazrak A, Samanta A, Venetsanou K, et al : Modification of biophysical properties of lung epithelial Na⁺ channels by dexamethasone. *Am J Physiol Cell Physiol* 279 : C762–C770, 2000
- 32) Krozowski Z, Funder JW : Mineralocorticoid receptors in the rat lung. *Endocrinology* 109 : 1811–1813, 1981
- 33) Olivera WG, Ciccolella DE, Barquin N, et al : Aldosterone regulates Na⁺-K⁺ ATPase and increases lung edema clearance in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 161 : 567–573, 2000
- 34) Suzuki S, Tsubochi H, Suzuki T, et al : Modulation of transalveolar fluid absorption by endoge-

- nous aldosterone in adult rats. *Exp Lung Res* 27 : 143-155, 2001
- 35) Jain L, Chen XJ, Ramosevac S, et al : Expression of highly selective sodium channels in alveolar type II cells is determined by culture conditions. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 280 : L646-L658, 2001
 - 36) Wang Y, Folkesson HG, Jayr C, et al : Alveolar epithelial fluid transport can be simultaneously upregulated by both KGF and beta-agonist therapy. *J Appl Physiol* 87 : 1852-1860, 1999
 - 37) Rezaiguia S, Garat C, Delclaux C, et al : Acute bacterial pneumonia in rats increases alveolar epithelial fluid clearance by a tumor necrosis factor-alpha-dependent mechanism. *J Clin Invest* 99 : 325-335, 1997
 - 38) Fukuda N, Jayr C, Lazrak A, et al : Mechanisms of TNF-alpha stimulation of amiloride-sensitive sodium transport across alveolar epithelium. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 280 : L1258-L1265, 2001
 - 39) Elia N, Tapponier M, Matthay MA, et al : Functional identification of the alveolar edema reabsorption activity of murine tumor necrosis factor-alpha. *Am J Respir Crit Care Med* 168 : 1043-1050, 2003
 - 40) Planes C, Friedlander G, Loiseau A, et al : Inhibition of Na⁺-K⁺ ATPase activity after prolonged hypoxia in an alveolar epithelial cell line. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 271 : L70-L78, 1996
 - 41) Planes C, Escoubet B, Blot-Chabaud M, et al : Hypoxia downregulates expression and activity of epithelial sodium channels in rat alveolar epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 17 : 508-518, 1997
 - 42) Planes C, Blot-Chabaud M, Matthay MA, et al : Hypoxia and beta 2-agonists regulate cell surface expression of the epithelial sodium channel in native alveolar epithelial cells. *J Biol Chem* 277 (49) : 47318-47324, 2002
 - 43) Baines DL, Ramminger SJ, Collett A, et al : Oxygen-evoked Na⁺ transport in rat fetal distal lung epithelial cells. *J Physiol* 532 : 105-113, 2001
 - 44) Pitkanen O, Tanswell AK, Downey G, et al : Increased PO₂ alters the bioelectric properties of fetal distal lung epithelium. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 270 : L1060-L1066, 1996
 - 45) Rezaiguia-Delclaux S, Jayr C, Luo DF, et al : Halothane and isoflurane decrease alveolar epithelial fluid clearance in rats. *Anesthesiology* 88 : 751-760, 1998
 - 46) Molliex S, Crestani B, Dureuil B, et al : Effects of halothane on surfactant biosynthesis by rat alveolar type II cells in primary culture. *Anesthesiology* 81 : 668-676, 1994
 - 47) Hu P, Ischiropoulos H, Beckman JS, et al : Peroxynitrite inhibition of oxygen consumption and sodium transport in alveolar type II cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 266 : L628-L634, 1994
 - 48) Verghese GM, Ware LB, Matthay BA, et al : Alveolar epithelial fluid transport and the resolution of clinically severe hydrostatic pulmonary edema. *J Appl Physiol* 87 : 1301-1312, 1999
 - 49) Olivera W, Ridge K, Wood LD, et al : ANF decreases active sodium transport and increases alveolar epithelial permeability in rats. *J Appl Physiol* 75 : 1581-1586, 1993
 - 50) Ware LB, Matthay MA : Alveolar fluid clearance is impaired in the majority of patients with acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 163 : 1376-1383, 2001
 - 51) Zhu S, Ware LB, Geiser T, et al : Increased levels of nitrate and surfactant protein a nitration in the pulmonary edema fluid of patients with acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 163 : 166-172, 2001
 - 52) Cheng IW, Ware LB, Greene KE, et al : Prognostic value of surfactant proteins A and D in patients with acute lung injury. *Crit Care Med* 31 : 20-27, 2003
-