

間欠的一酸化窒素吸入療法が血中一酸化窒素濃度に及ぼす影響

稲垣英一郎

【背景】一酸化窒素吸入療法 (inhalation of nitric oxide : INO) は、肺高血圧症や acute respiratory distress syndrome (ARDS) などの治療法として用いられ、肺血管を選択的に拡張して肺動脈圧を低下させ、動脈血酸素化を改善することが報告されている。NO の吸入方法としては、副作用を軽減し、換気血流ミスマッチを防ぐ観点から間欠的 INO が注目される。これまで、吸入された NO の動態については、肺血管内で極めて短時間に酸化・失活されると考えられてきたが、最近、吸入された NO が肺循環を経て、体循環の NO 動態に影響を与える可能性が示されている。したがって、繰り返し NO を吸入させることで体循環の NO 動態に影響を受ける可能性が考えられる。そこで、本研究では、間欠的に NO を吸入させた時の体循環血中 NO 動態を in vivo 計測用 NO センサを用いて検討した。

【方法】全身麻酔したブタ (n = 7) を対象に、右頸動脈及び左大腿動脈から挿入した 5 Fr のシースを介して NO センサ (amiNO-700, Innovative Instruments, Inc., USA) を挿入し、センサ先端の感知部を弓部大動脈と左腸骨動脈内に留置した。人工呼吸器に連結した NO 吸入装置を介して NO (1 ppm) を吸入させた。一回の NO 吸入時間は15分間とし、15分間の NO 吸入休止期間を置いて、同様の NO 吸入を計4回行った。

【結果】NO 吸入を繰り返した結果、弓部大動脈、左腸骨動脈における血中 NO 濃度は1回目 (弓部大動脈 : 0.9 ± 0.8 nM, 左腸骨動脈 : 0.1 ± 0.9 nM), 2回目 (弓部大動脈 : 1.4 ± 1.0 nM, 左腸骨動脈 : 1.1 ± 1.0 nM), 3回目 (弓部大動脈 : 1.1 ± 1.0 nM, 左腸骨動脈 : 0.5 ± 1.0 nM), 4回目 (弓部大動脈 : 1.5 ± 1.1 nM, 左腸骨動脈 : 0.7 ± 0.8 nM) と、いずれの部位でも再現性をもって上昇した。NO 吸入による血中 NO 濃度変化は、弓部大動脈と左腸骨動脈の間、吸入回の間で有意差がなかった。NO 吸入は脈拍数、動脈圧に有意な影響を与えなかった。

【結論】間欠的 NO 吸入における体循環の NO 濃度変化を NO センサを用いて、安定して評価することができた。NO を繰り返し吸入させた場合、吸入の度に弓部大動脈だけでなく、より末梢の左腸骨動脈レベルにおいても血中 NO 濃度が上昇することが示された。その際、NO 吸入の繰り返しによる動脈血 NO 濃度上昇の減弱は認められず、間欠的 INO において、吸入された NO が再現性をもって、肺循環を経て体循環の NO 動態に影響を及ぼすことが明らかになった。

(平成19年10月22日受理)

Table 1. 循環動態パラメータ (n = 7) : それぞれの指標において, 吸入時間中の変化, および各回数間に有意差は見られなかった.

	1回目		2回目		3回目		4回目	
	開始時	終了時	開始時	終了時	開始時	終了時	開始時	終了時
心拍数(/分)	157±31	152±27	157±31	164±36	157±31	157±32	156±31	158±32
収縮期血圧 (mmHg)	125±15	125±15	122±15	120±14	119±13	119±14	117±18	117±13
拡張期血圧 (mmHg)	72±16	71±16	72±16	68±15	67±14	67±13	68±12	65±13
動脈血液ガス (mmHg)	142.3±20.8	143.5±16.8	136.3±16.6	139.2±23.0	136.5±19.2	139.3±20.6	134.8±21.2	138.6±18.6

79 ± 31 μmol/L, 4 回目の NO 吸入終了時が 74 ± 29 μmol/L で有意差はなかった. 各 NO 吸入前後における吸気中の NO_x 濃度は, 0.1~1.3 ppm の変化を示した.

考 察

(1) 血中 NO 濃度

本研究において, NO 吸入を繰り返した結果, 弓部大動脈, 左腸骨動脈における血中 NO 濃度は, いずれの部位においても再現性をもって上昇した. 血中 NO 濃度を弓部大動脈・左腸骨動脈間で比較すると, 左腸骨動脈の NO 濃度変化が弓部大動脈の NO 濃度変化よりも低い傾向にはあるが, 有意差はなかった. また, 弓部大動脈, 左腸骨動脈とも, 各回数間で NO 濃度変化の有意差はなかった.

本研究で使用した, NO センサの感度, 選択性, 時間応答についてはこれまでにすでに詳しく報告しているが, 動脈血中で NO 濃度を長時間で高精度に計測することができる特性を有している^{19)~23)}. 本研究では吸入 NO 濃度を 1 ppm とし, NO の吸入パターンを間欠的とした. 一般に, 大気中の NO 濃度は 10 から 500 ppb であるが, 交通量の多い地域では NO 濃度が 1.5 ppm²⁴⁾ に達する事が報告されており, 本研究で使用した NO 吸入濃度はこれとほぼ同濃度である. すなわち, 一般人が生活環境によっては経験しうる吸入パターンと言える. INO で用いられる NO 濃度については, NO 吸入濃度 1~10 ppm で酸素化がプラトーになるとの

報告があるものの, 吸入 NO 濃度と酸素化, 肺動脈圧低下との関係は個体間あるいは同一個体内でも差が大きいことが知られており, INO ごとの NO 濃度の最適化が求められている¹²⁾.

吸入 NO 濃度の最適化について, NO 吸入濃度が高すぎると, 肺胞換気が低下した領域の血流を増加させて換気血流ミスマッチをもたらすことで酸素化の効率が低下すると考えられる. 吸入 NO 濃度を最適化するためのパラメータとしては, 酸素化, 肺動脈圧, メトヘモグロビンなどが用いられているが, 多くの動物実験で吸入 NO が肺循環だけでなく, 体循環の血行動態, NO 動態に影響を与える事が示されており^{25), 26)}, 今後は体循環への影響も考慮して, 動脈血中の NO 濃度をモニターする事が重要になると考えられる. この点, 本研究で用いた, NO センサを利用した血中リアルタイム NO 濃度計測法は, 唯一, NO 濃度をモニターする事ができる方法であり, 極めて有用である.

個々の INO を最も効果的にするためには, 吸入 NO 濃度の最適化とともに投与時間の最適化が重要であると考えられる. 不適切な長時間 NO 吸入は, 換気血流ミスマッチをもたらす, NO 吸入の毒性を高めると考えられる. このような観点から, 実際, NO 吸入を間欠的にする「パルス NO 吸入量法」が行われ, 酸素化と肺高血圧の改善が報告されている²⁷⁾. 間欠的な NO 吸入が循環系の NO 動態にどのような影響を与えるかについては, これまで十分に

検討されていなかった。本研究で用いた低濃度（1 ppm）NOの15分間吸入では、15分間の間欠期をおいた4回までの繰り返しにおいて、同程度の血中NO濃度の上昇を認めたことから、NO吸入の繰り返しが循環系NO動態を大きく変化させたとは考えにくい。従来、吸入されたNOの多くは肺循環において、オキシヘモグロビンと反応してメトヘモグロビンと硝酸塩になるほか、ヘモグロビン、ハプトグロビン-ヘモグロビン複合体やヘム鉄によって失活しニトリシルヘモグロビンになると考えられてきた²⁸⁾。一方、ヘモグロビン、アルブミンをはじめ多くのチオールを持つタンパク質がNOと反応してS-ニトロソチオールを可逆的に形成して、NOの貯蔵コンパートメントとして機能することが知られている²⁹⁾。本研究で、NO吸入を繰り返しても血中NO濃度が同程度に上昇したことから、上記のNOの貯蔵コンパートメントが容易には飽和されず、NOが大動脈を経て末梢動脈に至る間、血中に存在するものと理解される。Yamasawa²¹⁾は繰り返し吸入ではないが、1 ppmのNOを吸入させた時の動脈血NO濃度の上昇を報告しており、今回の研究結果と一致する。

末梢へ運ばれたNOが末梢動脈、微小循環のどの部位でどのような作用を発揮するかは今後の重要な検討課題であるが、上述したように、多くの動物実験で吸入NOが肺循環だけでなく、体循環の血行動態、NO動態に影響を与える事が示されており^{25), 26)}、NOの吸入濃度・パターン、病態によっては、繰り返し濃度が上昇する血中NOが、体循環の血行動態、微小循環に影響を与えるものと考えられる。今後、間欠的INOが体循環をターゲットとした治療法として利用することが期待できる。最近、ごく軽微な溶血でも、遊離ヘモグロビンによって内因性NOの失活が亢進すること、また、このNOの失活亢進がNOを吸入することによって防ぐことができることが報告されており^{30), 31)}、溶血性疾患や体外循環などにおいては、溶血に対する治療法としての観点からも

NO吸入濃度と吸入パターンをコントロールすることが重要になると考えられる。

(2) 循環動態

各NO吸入前後で心拍数に有意差なく、4回のNO吸入の間にも有意差はなかった。従来のINOの臨床的な検討でも心拍数への影響は低いと考えられており³²⁾、本研究の結果もこれと同様であった。各NO吸入前後で収縮期血圧・拡張期血圧に有意な変化はなく、4回のNO吸入の間にも有意な差はなかった。NO吸入が体血圧に及ぼす影響について、ヒツジを対象に比較的高濃度のNO（60 ppm）を吸入させた場合は、体血圧、脈拍数が有意に変化することが報告されており、NO吸入が循環動態に与える影響については、今後、吸入NO濃度とともに血中NO濃度との関係からも詳細に検討する必要があると考えられる²⁵⁾。

INOは、ARDSなどの肺血管病変を有する疾患において、酸素化を改善することが知られている^{6), 33)}。その機序としては、吸入されたNOが換気のある肺胞のみに到達し、したがって、換気ある肺胞に接する血管のみを拡張させることが考えられている。本研究では、それぞれの吸入時間中の動脈血液ガスに有意な変化は認められなかったが、その理由としては対象動物が換気障害を有する病態モデルでないこと、吸入NO濃度が1 ppmと低濃度であったことが考えられる。

INOの対症となる多くの肺疾患では炎症の存在が考えられるが、炎症では、NOとスーパーオキシド($\cdot O_2$)が結合して極めて反応性の高いパーオキシナイトライト(ONOO \cdot)が生じ、肺組織の蛋白や脂質をニトロ化して障害することが知られている。したがって、炎症性の病態では、血中NO濃度の過剰な上昇は病態生理学的に不適切とも考えられ、血中NO濃度のモニターすることが重要と考えられる。酸化ストレスとのバランスに関して、早産児にNOを吸入させると、酸素吸入からの積極的な離脱と酸化ストレスの生物学的マーカーが改善

するという報告もあり³⁴⁾、このような例では酸化ストレスとともに血中NO濃度を評価することが有用と考えられる。

(3) NO 酸化物

NOを吸入させることで吸気中のNOx (NOガス, NO₂ガス)濃度は、0.1~1.3 ppm変化し、NO吸入の影響を窺わせたが、血中NOx(亜硝酸イオン, 硝酸イオン)濃度は、プロトコルを通じて有意な変化を示さなかった。すなわち、NO代謝産物であるNOxがとらえうる血中NO濃度変化は、 μM のオーダーであるのに対して、NOセンサが測定する血中NO濃度変化はnMのオーダーであり、両者の間には著しい差がある。さらに血中NOxは、血管内皮など生体組織内のNO合成酵素由来のものだけでなく、食物中に含有されるものなどもある。また、NOxは主に尿中に排泄され、その半減期は数時間である。このため、1 ppmのNO吸入では、血中NOx濃度は有意に変化しなかったものと考えられる。Broereら³⁵⁾は、健常成人を対象に、体循環血管抵抗、腎血管抵抗を有意に上昇させる程度にNO合成酵素阻害薬であるNG-nitro-L-arginine methyl esterを静脈内に投与しても尿中NOxの排泄が有意な変化を示さなかったことを報告している。したがって、NO吸入に伴う微小な血中NOの濃度変化を血中もしくは尿中NOx(亜硝酸イオン, 硝酸イオン)濃度の変化で、評価することは極めて困難であると考えられる。この点、本研究で用いたNOセンサは微小なNO濃度変化を高精度で測定することができ、NO動態の検討に有用であると言える。INOの副作用に関して、NO吸入にあたって臨床的には、副作

用を軽減するために血中メトヘモグロビン濃度を測定することが推奨されているが、本研究では、血中メトヘモグロビン濃度の変化は、4回のNO吸入を通じて、0~0.3%と無視しうるものであった。

おわりに

間欠的NO吸入における体循環のNO濃度変化をNOセンサを用いて、安定して評価することができた。NOを繰り返し吸入させた場合、NO吸入の度に弓部大動脈だけでなく、より末梢の左腸骨動脈レベルにおいても血中NO濃度が上昇することが示された。その際、低濃度のNO吸入の繰り返すことによる、NO吸入時の動脈血NO濃度上昇の変化は認められず、間欠的NO吸入において、吸入されたNOが再現性をもって、肺循環を経て体循環のNO動態に影響を及ぼすことが明らかになった。今後、各種疾患において間欠的INOを行ううえで、NOセンサによる動脈血NO濃度をリアルタイムで計測することで、治療法としての意義がさらに解明されるものと考えられる。

謝 辞

本研究を御指導いただきました川崎医科大学医用工学科の小笠原康夫先生、後藤真己先生、望月精一先生、同胸部心臓血管外科の種本和雄教授はじめ諸先生方、御協力いただきました同医用実験センター・医用生物センターの職員の方々、同研究補助員の三澤小百合さんに感謝いたします。

文 献

- 1) Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327: 524-526, 1987
- 2) Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G: Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 9265-9269, 1987

- 3) Pepke-Zaba J, Higenbottam TW, Dinh-Xuan AT, Stone D, Wallwork J : Inhaled nitric oxide as a cause of selective pulmonary vasodilation in pulmonary hypertension. *Lancet* 338 : 1173 – 1174, 1991
- 4) Cuthbertson BH, Dellinger P, Dyar OJ, Evans TE, Higenbottam T, Latimer R, Payen D, Stott SA, Webster NR, Young JD : UK guidelines for the use of inhaled nitric oxide therapy in adult ICUs. *Intensive Care Med* 23 : 1212 – 1218, 1997
- 5) Roberts JD, Polaner DM, Lang P, Zapol WM : Inhaled nitric oxide in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Lancet* 340 : 818 – 820, 1992
- 6) Rossaint R, Falke KJ, Lopez F, Slama K, Pison U, Zapol WM : Inhaled Nitric Oxide for the Adult Respiratory Distress Syndrome. *N Engl J Med* 328 : 399 – 405, 1993
- 7) Lowson SM, Rich GF, McArdle PA, Jaidev J, Morris GN : The Response to Varying Concentrations of Inhaled Nitric Oxide in Patients with Acute Respiratory Distress Syndrome. *Anesth Analg* 82 : 574 – 581, 1996
- 8) Puybasset L, Rouby JJ, Mougeon E, Stewart TE, Cluzel P, Arthaud M, Poete P, Bodin L, Korinek AM, Viars P : Inhaled nitric oxide in acute respiratory failure : Doserresponse curves. *Intensive Care Med* 20 : 319 – 327, 1994
- 9) Bigatello LM, Hurford WE, Kacmarek RM, Roberts JD Jr, Zapol WM : Prolonged inhalation of low concentrations of nitric oxide in patients with severe adult respiratory distress syndrome. Effect on pulmonary hemodynamic and oxygenation. *Anesthesiology* 80 : 761 – 770, 1994
- 10) Cannon BC, Feltes TF, Fraley JK, Grifka RG, Riddle EM, Kovalchin JP : Nitric Oxide in the Evaluation of Congenital Heart Disease with Pulmonary Hypertension : Factors Related to Nitric Oxide Response. *Pediatr Cardio* 26 : 565 – 569, 2005
- 11) 杉浦久敏, 一ノ瀬正和, 服部俊夫 : 気管支喘息と NO. *医学のあゆみ* 120 – 125, 2004
- 12) Griffiths MJD, Evans TW : Inhaled Nitric Oxide Therapy in Adults. *N Engl J Med* 353 : 2683 – 2695, 2005
- 13) Foubert L, Wolf DD, Reyntjens K, Belleghem YV, Somer FD, Nooten GV, Mortier E : Intermittent Nitric Oxide Combined with Intravenous Dipyridamole in a Piglet Model of Acute Pulmonary Hypertension. *Anesth Analg* 97 : 1497 – 1500, 2003
- 14) Rassaf T, Preik M, Kleinbongard P, Lauer T, Hei ß C, Strauer BE, Feelisch M, Kelm M : Evidence for in vivo transport of bioactive nitric oxide in human plasma. *J Clin Invest* 109 : 1241 – 1248, 2002
- 15) Liao JC, Hein TW, Vaughn MW, Huang KT, Kuo L : Intravascular flow decrease erythrocyte consumption of nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 : 8757 – 8761, 1999
- 16) Schechter AN, Gladwin MT : Hemoglobin and the Paracrine and Endocrine Functions of Nitric Oxide. *Engl J Med* 348 : 1483 – 1485, 2003
- 17) Kleinbongard P, Schulz R, Rassaf T, Lauer T, Dejam A, Jax T, Kumara I, Gharini P, Kabanova S, Oezueyaman B, Schnurch HG, Godecke A, Weber AA, Robenek M, Bloch W, Rosen P, Kelm M : Red blood cells express a functional endothelial nitric oxide synthase. *Blood* 107 : 2943 – 2951, 2006
- 18) Bor-Kucukat RB, Wenby RB, Meiselman HJ, Baskurt OK : Effects of nitric oxide on red blood cell deformability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284 : H1577 – H1584, 2003
- 19) Hamanaka S, Tanemoto K, Inagaki E, Yamasawa T, Yoshida K, Mochizuki S, Goto M, Miyasaka T, Kajiya F, Tanaka N : Direct measurement of nitric oxide during experimental cardiopulmonary bypass. *J Int Med Res* 33 : 295 – 300, 2005
- 20) Neishi Y, Mochizuki S, Miyasaka T, Kawamoto T, Kume T, Sukmawan R, Tsukiji M, Ogasawara Y, Kajiya F, Akasaka T, Yoshida K, Goto M : Evaluation of bioavailability of nitric oxide in coronary circulation by direct measurement of plasma nitric oxide concentration. *Proc Natl Acad Sci USA* 102 : 11456 – 11461, 2005
- 21) Yamasawa T : Dynamics of blood nitric oxide level during nitric oxide inhalation. *Kawasaki Med J* 33 : 101 – 106, 2007
- 22) Mochizuki S, Himi N, Miyasaka T, Nakamoto H, Takemoto M, Hirano K, Tsujioka K, Ogasawara Y, Kajiya F : Evaluation of basic performance and applicability of a newly developed in vivo nitric oxide sensor. *Physiol Meas* 23 :

- 261–268, 2002
- 23) Mochizuki S, Miyasaka T, Goto M, Ogasawara Y, Yada T, Akiyama M, Neishi Y, Toyoda T, Tomita J, Koyama Y, Tsujioka K, Kajiya F, Akasaka T, Yoshida K : Measurement of acetylcholine-induced endothelium-derived nitric oxide in aorta using a newly developed catheter-type nitric oxide sensor. *Biochem Biophys Res Commun* 306 : 505–508, 2003
- 24) Mourgeon E, Levesque E, Duveau C, Law-Koune JD, Charbit B, Ternissien E, Coriat P, Rouby JJ : Factors influencing indoor concentrations of nitric oxide in a Parisian intensive care unit. *Am J Respir Crit Care Med* 156 : 1692–1695, 1997
- 25) Takahashi Y, Kobayashi H, Tanaka N, Sato T, Takizawa N, Tomita T : Nitrosyl hemoglobin in blood of normoxic and hypoxic sheep during nitric oxide inhalation. *Am J Physiol* 274 : H349–H357, 1998
- 26) Fox-Robichaud A, Payne D, Hasan SU, Ostrovsky L, Fairhead T, Reinhardt P : Inhaled NO as a viable antiadhesive therapy for ischemia/reperfusion injury of distal microvascular beds. *J Clin Invest* 101 : 2497–2505, 1998
- 27) Pepke-Zaba J, Morrell NW : Pulmonary hypertension in patients with COPD : NO treatment? *Thorax* 58 : 283–284, 2003
- 28) Cooper CE : Nitric oxide and iron proteins. *Biochim Biophys Acta* 1411 : 290–309, 1999
- 29) Ignarro LJ, Lippton H, Edwards JC, Baricos WH, Hyman AL, Kadowitz PJ, Gruetter CA : Mechanism of vascular smooth muscle relaxation by organic nitrates, nitrites, nitroprusside and nitric oxide : evidence for the involvement of S-nitrosothiols as active intermediates. *J Pharmacol Exp Ther* 218 : 739–749, 1981
- 30) Minneci PC, Deans KJ, Zhi huang, Yuen PST, Star RS, Bank SM, Schechter AN, Natanson C, Gladwin MT, Solomon SB : Hemolysis-associated endothelial dysfunction mediated by accelerated NO inactivation by decompartmentalized oxyhemoglobin. *J Clin Invest* 115 : 3409–3417, 2005
- 31) Rother RP, Bell L, Hillmen P, Gladwin MT : The Clinical Sequelae of Intravascular Hemolysis and Extracellular Plasma Hemoglobin. *JAMA* 293 : 1653–1662, 2005
- 32) Matsumoto A, Momomura S, Sugiura S, Fujita H, Aoyagi T, Sata M, Omata M, Hirata Y : The effect of nitric oxide on gas exchange in patients with congestive heart failure. *Ann Intern Med* 130 : 40–44, 1999
- 33) Gerlach H, Rossaint R, Pappert D, Falke KJ : Time-course and dose-response of nitric oxide inhalation for systemic oxygenation and pulmonary hypertension in patients with adult respiratory distress syndrome. *Eur J Clin Invest* 23 : 499–502, 1993
- 34) Hamon I, Fresson J, Nicolas MB, Buchweiller MC, Franck P, Hascoet JM : Early Inhaled Nitric Oxide Improves Oxidative Balance in Very Preterm Infants. *Pediatr Res* 57 : 637–643, 2005
- 35) Broere A, Van Den Meiracker AH, Boomsma F, Derckx FHM, Man Int Veld AJ, Schalekamp MADH : Human renal and systemic hemodynamic, natriuretic, and neurohumoral responses to different dose of L-NAME. *Am J Physiol* 275 : F870–F877, 1998