

□ 総 説 □

## 肺血管内皮と NO

丸 山 一 男\* 宮 坂 勝 之\*\*

### はじめに

1980年, Furchgott ら<sup>1)</sup>が血管内皮細胞より産生・放出される血管内皮細胞由来弛緩因子 (Endothelium-derived relaxing factor ; EDRF) の存在を発表して以来, 血管内皮細胞による血管トーンズの調節機構が注目されてきた。一方, NOガスや構造上NOを含む物質, NOを放出する物質がサイクリック 3',5'-グアノシン 1リン酸 (cyclic 3',5'-guanosine monophosphate, cyclic-GMP) 産生を高めることは, 1977年ごろから知られており<sup>2)~4)</sup>, NOが血管を弛緩することも知られていた<sup>5)</sup>。EDRFの本態は長らく不明であったが, 1987年に Moncada<sup>6)</sup> やニトロ化合物と cyclic-GMPの研究に従事していた Ignarro<sup>7)</sup>のグループが一酸化窒素 (nitric oxide, NO) もしくはその関連物質であろうと同定し, その翌年, Moncadaら<sup>8)</sup>, Sakumaら<sup>9)10)</sup>により, NOは血管内皮でL-アルギニンから産生されることが明らかとなった。一方, NOの血管拡張作用の一部はNOがS-nitrosothiolに変化することによってもたらされることも知られていたが<sup>11)</sup>, EDRFはNOそのものより nitrosothiol に近いという論文もみられる<sup>12)</sup>。

Ignarroらは1983年に, ウシ肺動脈でアセチルコリンによる弛緩とニトロ化合物による弛緩は cyclic-GMPの蓄積と密接に関連することを報告している<sup>13)</sup>。これはたいへん先見の明のある報告で, 後に同グループはウシの肺動脈によって EDRFとNOが同一もしくは類似物質であることを発見することになり<sup>7)</sup>, アセチルコリンが肺血管内皮細胞でNOを産生・放出し, このNOが

cyclic-GMPの上昇とこれに続く弛緩を引き起こすことを最初に示したものと考えられる。また, 大動脈, 冠動脈, 脳動脈では, すでにNO合成酵素の局在が血管内皮細胞に認められているので<sup>14)</sup>, おそらく肺血管内皮においてもその存在が予想される。

### 1. EDRF≒NOの研究方法

EDRF≒NOの存在は,

①内皮細胞温存血管リング標本での EDRF 放出を刺激する, アセチルコリン, A 23187, ATP (P<sub>2Y</sub> 受容体), ADP, bradykinin (BK<sub>2</sub> 受容体), thrombin, norepinephrine (α<sub>2</sub> 受容体), serotonin (5-HT<sub>1</sub> 受容体), histamine (H<sub>1</sub> 受容体), substance P, などの弛緩作用を検討すること (図1),

②その弛緩が, L-N<sup>G</sup>-monomethyl arginine (L-NMMA), nitro-L-arginine (L-NA), nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) のようなNO合成阻害剤で抑制されること (図2),

③この抑制がNOの内因性基質である L-arginine の投与で回復するが D-arginine では回復しないこと,

④血管壁での cyclic-GMP 濃度の上昇を確認すること,

などにより総合的に判断されているのが現状であろう。EDRF≒NOに関しては優れた総説がすでにあるので<sup>10)15)~17)</sup>, 本稿では特に, 最近の肺血管, 肺循環におけるNOの話題について紹介する。

### 2. 正常肺血管における NO による血管トーンズの調節

摘出肺を用いた灌流実験では灌流圧の変化により血管収縮・弛緩を推定するのであるが, アセチ

\* 三重大学医学部附属病院集中治療部 (〒514 三重県津市江戸橋 2-174)

\*\* 国立小児病院小児医療研究センター病態生理研究室

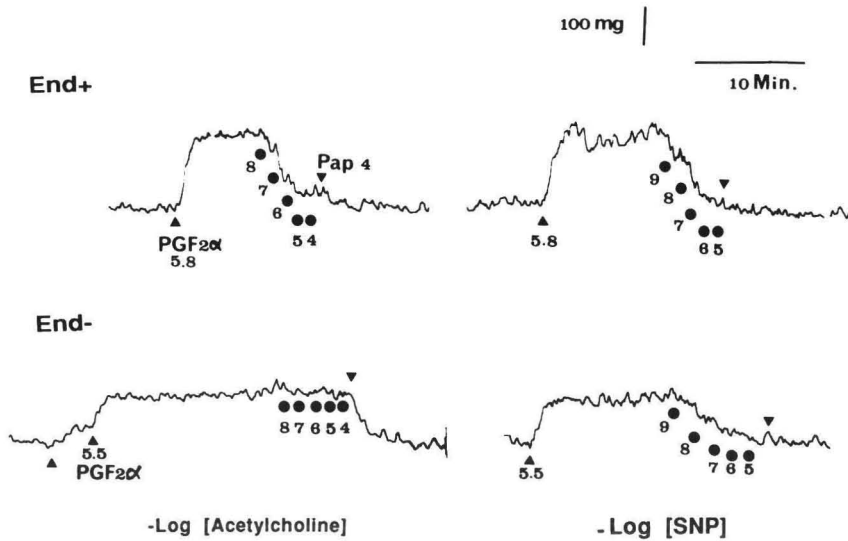


図 1 内皮細胞温存血管および内皮細胞除去血管片でのアセチルコリン，SNP による弛緩

図は，体重 250 g のラットより左主肺動脈を摘出し長さ 2 mm のリング状血管片を作成後，20 ml organ bath に静止張力 0.75 g をかけて懸垂し，等尺性張力変化を測定した一例である。内皮細胞除去血管片はピンセットの先を数回リング状片の内腔に通す操作により作成した。上段が内皮細胞温存血管片で，下段は内皮細胞除去血管片であり，縦軸は張力を表し，横軸は時間を示す。まず収縮物質として prostaglandin  $F_2\alpha$  ( $PG_2F\alpha$ ) を投与し収縮が安定したのちアセチルコリンまたは，sodium nitroprusside (SNP) を低濃度から高濃度に段階的に投与し，弛緩反応を記録した。最後に papaverine  $10^{-4}M$  を投与し最大弛緩を得た。左側の上段のトレースのごとく内皮細胞存在下ではアセチルコリンにより用量依存性に血管は弛緩したが，下段左のトレースのごとく内皮細胞非存在下ではアセチルコリンによる弛緩はほとんど認められない。この弛緩はインドメタシンで抑制されないためプロスタサイクリンとは異なる物質 Endothelium derived relaxing factor (EDRF) によるものと考えられている。一方，SNP は右側上下段に示すごとく，血管内皮細胞の有無にかかわらず用量依存性に血管を弛緩させた。1980 年に Furchgott<sup>1)</sup>の報告以来，アセチルコリンは内皮細胞由来弛緩因子 (EDRF) の放出を介する弛緩物質とされ，SNP やニトログリセリンは，いまのところ内皮細胞非依存性弛緩物質に含められている。

薬剤の単位； $-\text{Log}$  [薬剤濃度] M (mole)

ルコリンにより灌流圧は低下する<sup>18)19)</sup>。これは，アセチルコリンによる肺血管の弛緩を示しているが，L-NMMA の存在下でこの弛緩は完全に抑制されたので<sup>20)</sup>，灌流肺では刺激により EDRF $\equiv$ NO の産生・放出があると思われる。一方，アセチルコリンなどの EDRF $\equiv$ NO 産生・放出刺激がない状態での内皮細胞の EDRF $\equiv$ NO 産生を basal EDRF release というが，この存在

については意見が分かれる。すなわち，低酸素や収縮物質による刺激のない状態で NO 合成阻害剤，L-NMMA を灌流液に添加しても灌流圧はほとんど上昇しないか全く変化しない<sup>20)~23)</sup>とする報告と上昇する<sup>24)25)</sup>とする報告があり一定していない。また，同様の実験を摘出血管で行うと，収縮が起こらない程度の極少量のフェニレフリン存在下で<sup>24)</sup>L-NMMA は張力を増加する。

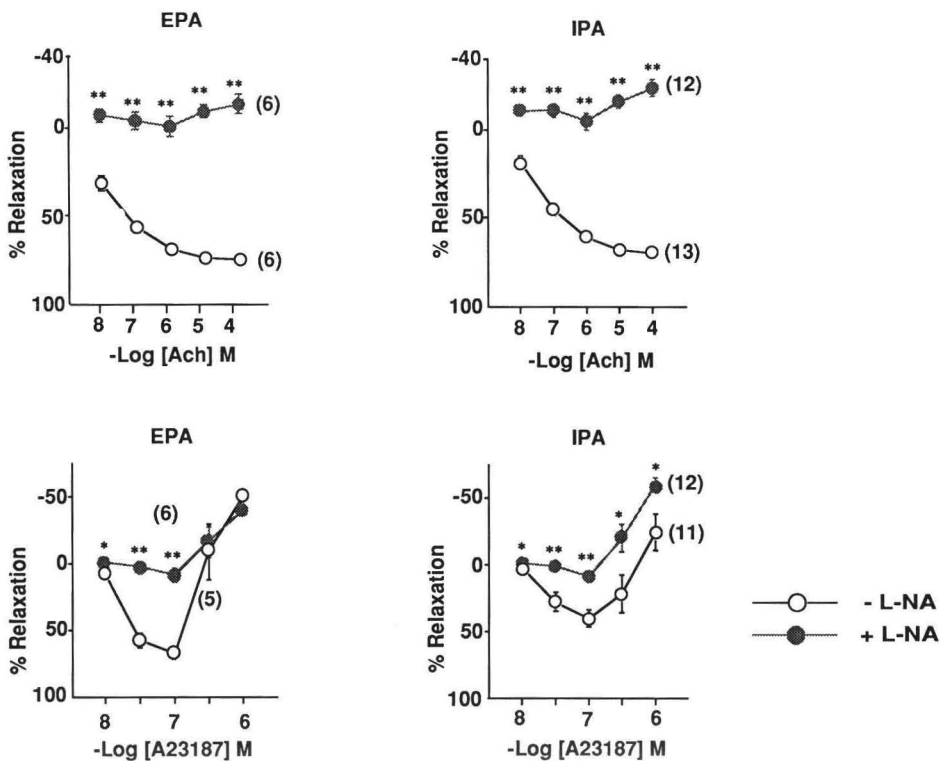


図 2 NO合成阻害剤 (L-NA) による弛緩抑制

正常ラットの摘出肺動脈内皮温存血管片において、L-NA 処理によりアセチルコリン、A 23187 による弛緩は消失したので、両者により産生・放出される EDRF は NO と考えられる。papaverine 10<sup>-4</sup>M により得られた弛緩を 100% とし用量・作用曲線を作成した (図 1 を参照)。

EPA；肺外肺動脈，IPA；肺内肺動脈，L-NA；nitro-L-arginine

(Maruyama J and Maruyama K：Impairment of the endothelium-dependent response to acetylcholine in hypertensive pulmonary arteries of rats during recovery from chronic hypoxia. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)*, 1994 (in press) より引用)

NO は L-arginine が L-citrulline に代謝される際に同時に放出されるため、L-arginine を投与し NO 産生を高め肺循環に対する影響をみた実験では、正常な小ヒツジに L-arginine を投与しても肺動脈圧に変化はなかった<sup>26)</sup>。一方、小ヒツジや新生児ヒツジに NO 合成阻害剤である L-NA を持続静注すると肺動脈圧と血圧が上昇し<sup>27)28)</sup>、L-arginine はこれらの上昇を抑制した<sup>26)</sup>。これらの結果は、肺動脈を低圧に保つために EDRF ≡ NO が関与していることと、NO の基質である L-arginine は、成長した正常動物で

は十分量存在していることを示している。また、ウシの肺内動静脈では、内皮細胞を除去すると血管壁の cyclic-GMP 濃度が減少し、内皮細胞由来の NO による cyclic-GMP 産生の存在がうかがわれる<sup>29)</sup>。ラットにおいても、内皮細胞除去肺動脈血管片では、アセチルコリンによる弛緩が消失し (図 1)、内皮細胞温存血管では、NO 合成阻害剤 L-NA によりアセチルコリンの弛緩は抑制されるので (図 2)、ラット肺動脈の EDRF は NO であろうと考えられる。

### 3. 急性低酸素暴露とNO

低酸素下ではラット摘出肺血管の cyclic-GMP 濃度が減少するため、間接的にNOの減少が推定されている<sup>30,31)</sup>。また、非低酸素下でEDRFの阻害剤であるヘモグロビンやメチレンブルーは摘出血管の張力を増加するが、低酸素下ではコントロールと差がなくなることから、低酸素下ですでにEDRFが低下しているという<sup>30)</sup>。また、ウサギ摘出肺動脈では、低酸素下でmethacholineやA 23187による弛緩が抑制されるためEDRF≒NOが抑制されているとされている<sup>31)</sup>。ヒトの摘出肺血管にA 23187を投与し、あらかじめEDRF≒NOの産生を高めておくと低酸素暴露による収縮反応が亢進したが<sup>32)</sup>、これは低酸素によりNO産生が抑えられた結果とも考えられる。

以上は低酸素がNOを抑制するため低酸素性肺血管攣縮反応が起こるという考え方であるが、逆に低酸素下でもNO産生があるという報告もみられる。すなわち、低酸素で換気したときの低酸素性肺血管攣縮反応<sup>33)</sup>をNO合成阻害剤L-NMMA<sup>22)24)</sup>やEDRFを不活化するNDGA<sup>16)</sup>は増強する<sup>18)</sup>。また、低酸素暴露やU-46619による肺動脈圧上昇をL-arginineは抑制した<sup>26)</sup>。このことは、低酸素暴露中にもNOは産生・放出されていて、低酸素性肺血管攣縮反応に対抗しているとも考えられるが、その量が非低酸素時に比し多いかどうかは不明である<sup>24)</sup>。ラットの摘出肺動脈では低酸素負荷が内皮細胞依存性の弛緩を引き起こし、L-NAがこの弛緩を抑制するので、低酸素はNOを放出するとされている<sup>34)</sup>。

一方、低酸素暴露は初期には一過性にNO産生・放出を抑制し、後に亢進するという二相性の作用も想定されている。フェニレフリンであらかじめ収縮させたブタ摘出肺動脈では、低酸素負荷はさらなる一過性の収縮を引き起こし、この収縮は内皮細胞除去により消失するため、EDRF≒NOが減少するためと考えられている<sup>25)35)</sup>。低酸素負荷は、この一過性の収縮に引き続き内皮細胞依存性の弛緩を引き起こし、この弛緩はL-NMMAにより部分的に抑制されるので低酸素

はNOを放出させる刺激であるとも考えられる<sup>35)</sup>。

血管内皮細胞は、endothelin-1やPDGFのような血管収縮物質や内皮細胞由来NOのような血管拡張物質の両者を放出している。これら3者の相互関係は興味深いですが、最近、NOは低酸素によるET-1とPDGF-Bのgene expressionを抑制し、L-NAは逆に誘導すると報告されている<sup>36)</sup>。

### 4. 出生前後の肺循環におけるNOの役割

出生後、肺血流は10倍に増加し肺動脈圧は低下する。(肺動脈圧は分娩前は体血圧と同等であるが、出生後1時間以内に体血圧の1/2程度に低下する)ヒツジ胎児の肺動脈圧、肺血流を測定した実験では、L-NAは肺血流を下げ、肺動脈圧を上昇させた。また、分娩直前にL-NAを投与したヒツジでは、コントロールに比し出生後の肺血流増加の程度が少なく、肺動脈圧は低下しにくかった。このAbman<sup>37)</sup>の報告はEDRF≒NO活性がヒツジの胎児に存在し出生後の肺循環の変化に関与する可能性を示唆している。Finemanらも新生児ヒツジで同様の結果を得ている<sup>27)</sup>。ヒツジの肺摘出血管では、胎児でEDRF≒NOを介する弛緩が成人に比し弱いが存在しており、新生児は胎児と成人の中間のEDRF活性を持つ<sup>38)</sup>。生後3日のブタにおいても、成長したブタに比べるとEDRFによる弛緩は抑制されている<sup>39)</sup>。この胎児・新生児期のEDRF活性低下はL-アルギニン投与である程度回復する<sup>38)</sup>ので、この年代ではNOの基質不足が推定される。高濃度酸素はEDRF≒NOの産生を高めヒツジの胎児の肺血流量を増加する<sup>40)</sup>。また、胎生後期と出生直後の肺動脈のNO産生能をcyclic-GMP濃度で検討したところ、酸素濃度が低下すると、NO産生能が低下した<sup>41)</sup>。L-NAは新生児のヒツジから摘出した肺動脈のトーンズを変化させないが、肺静脈の張力を増加したので、肺静脈では、アセチルコリンなどの刺激のない状態でのbasal EDRFの産生・放出が存在すると考えられ<sup>42)</sup>、出生後の肺循環の変化に肺静脈系が関与しているのではないかと報告もみられる。

## 5. 肺高血圧と形態的肺血管内皮細胞障害

慢性閉塞性肺疾患<sup>43)44)</sup>、左右シャントを持つ先天性心疾患<sup>45)46)</sup>、新生児遷延性肺動脈高血圧症 (PPHN)<sup>47)</sup> など、肺高血圧を来す疾患では、肺動脈血管内皮細胞の形態的異常が以前より指摘されてきた。すなわち、内皮細胞の膨化・肥大・過形成、内皮細胞の配列の変化、内皮細胞間での間隙の出現と基底膜の露出、などが認められる。動物モデルにおいても、慢性低酸素暴露肺高血圧<sup>48)49)</sup>、モノクロタリン投与によるラット肺高血圧<sup>50)</sup>、慢性高濃度酸素暴露による肺高血圧<sup>51)</sup>で同様の変化が出現し、透過型電顕により、内皮細胞内のミトコンドリア・粗面小胞体の肥大<sup>49)50)</sup>、ribosome・filament bundles・ground substanceの増加<sup>49)</sup>が示されている。一般に肺高血圧が問題となる病態では、こうした血管内皮細胞の異常は病因にかかわらず共通の所見と考えられている。一方、外傷、ショック、敗血症に続発する重症急性呼吸不全（いわゆる成人呼吸窮迫症候群：ARDS）においても肺動脈圧の上昇を来し<sup>52)</sup>、肺動脈血管内皮細胞の異常が古くから知られている<sup>53)</sup>。実験的エンドトキシン血症では肺血管内皮細胞の膨化が報告されている<sup>54)</sup>。こうした肺血管内皮細胞の形態学的異常は、内皮細胞の機能的異常をも示唆すると思われるので、NO産生・放出の異常が検討されてきた。

## 6. 肺高血圧性血管における NO を介する弛緩の障害

こうした血管内皮細胞の形態的異常は血管内皮細胞機能の障害をも示唆していると考えられるため、NOからみた肺血管内皮細胞の異常が検討されている。肺高血圧のないヒトより摘出した肺動脈血管片はアセチルコリンにより弛緩したので、EDRF $\equiv$ NOの産生・放出が存在すると考えられる<sup>55)</sup>。アセチルコリンによる内皮細胞依存性弛緩反応は、肺移植を必要とした慢性閉塞性肺疾患 (COLD) 患者の摘出肺血管片で抑制されていた<sup>56)</sup>。COLDでは肺泡低酸素による肺動脈収縮と肺高血圧が肺血管の器質的变化に先行すると考えられ、実験的には慢性低酸素暴露肺高血圧モデ

ルの病変と類似している<sup>57)</sup>。摘出肺動脈を用いた実験では、慢性低酸素暴露肺高血圧ラット<sup>58)</sup>、モノクロタリン投与によるラット肺高血圧<sup>59)60)</sup>、慢性高濃度酸素 (85%) 暴露による肺高血圧<sup>51)</sup>、自然に肺高血圧を発症する spontaneously pulmonary hypertensive fawn-hooded rat<sup>61)</sup>、低酸素暴露による新生児の子ウシ<sup>62)</sup>の摘出肺動脈でもアセチルコリンによる弛緩反応は抑制されている。以上の結果は、

①肺高血圧血管での EDRF $\equiv$ NOの産生・放出抑制、

②産生・放出されても血管平滑筋に到達しない、

③肺高血圧血管では、中膜の肥厚が認められるが、この肥大・増生した血管平滑筋が EDRF $\equiv$ NOに反応しにくい、

のいずれかを示している。また最近筆者らは、肺高血圧血管でアセチルコリンにより、血管内皮細胞からアラキドン酸代謝産物の収縮物質が産生・放出されるため、EDRF $\equiv$ NOによる弛緩が弱まっている可能性を指摘した<sup>63)</sup>。

以上はアセチルコリンによる EDRF $\equiv$ NOの産生・放出を介する弛緩についての報告であるが、NOはアセチルコリンなどの刺激がなくとも常時産生・放出されており、これをNOの basal releaseと呼んでいる。NO産生阻害薬である L-NMMA, L-NA, L-NAME 投与は、このNOの basal releaseも抑制すると考えられている。

3週間の低酸素暴露による肺高血圧ラットの摘出肺灌流実験ではアセチルコリンや A 23187 による灌流圧低下が抑制され<sup>20)64)</sup>、L-NMMA を投与しても灌流圧の上昇が認められないことから、肺高血圧肺での EDRF $\equiv$ NOの産生・放出が抑制されていると考えられる<sup>20)</sup>。この弛緩抑制は L-アルギニン投与により回復するので<sup>20)</sup>、NOの内因性基質となる L-アルギニンが低酸素肺高血圧では減少しているのが原因と思われる<sup>20)</sup>。Crawley らは、慢性低酸素暴露による摘出肺高血圧血管ではアセチルコリンによる cyclic-GMP 上昇が抑制されるとしたが<sup>65)</sup>、これはNO産生の低下を示している。一方、Rodman らは、摘出肺高血圧動脈を用いた実験で L-NA による収縮が肺高血圧とコントロールで差がないことから、

NOの basal release は低酸素肺高血圧で抑制されないとしている<sup>66)</sup>。モノクロタリン肺高血圧ラットの灌流肺を用いた実験ではアセチルコリンによる弛緩は正常ラットと同等またはそれ以上に温存されており、摘出血管の結果と異なる<sup>67)</sup>。また、Okaらは、正常ラット摘出灌流肺にNO合成阻害薬であるL-NAを投与しても灌流圧は変化しないが、肺高血圧ラット摘出灌流肺ではL-NAにより灌流圧が上昇することから、肺高血圧では basal EDRF の産生がむしろ亢進している可能性を指摘した<sup>68)</sup>。

以上のように、肺高血圧における EDRF $\equiv$ NOの産生・放出とその役割については、実験モデルにより異なった結果が報告されつつあるのが現状で、今後の進展が興味深い。

### 7. 組織学的肺高血圧性血管病変<sup>69)</sup>の発生とNO

L-NAMEを長期間投与し、NOの産生を慢性的に抑制しておくと、体血圧は上昇するが肺動脈圧は上昇せず、小肺動脈の中膜の肥厚などの肺高血圧性血管病変も出現しない<sup>70)</sup>。また、慢性の低酸素暴露中に、NOの基質となるL-アルギニン投与し続けても、肺動脈圧の上昇や肺高血圧性血管病変の出現を抑制できない<sup>70)</sup>。この結果によると、肺循環における basal なNO産生の役割があまり重要でないことになる。逆に、アルギニンを含まない餌で飼育したラットでは、モノクロタリンや慢性低酸素暴露による肺高血圧およびその血管病変の発生が抑制されるという<sup>71)</sup>。この解釈については、アルギニン欠乏はコラーゲン産生の低下につながるもので、必ずしもNO産生低下のみを意味するものではないので注意を要する。一方、慢性の低酸素暴露中にNOを持続的に吸入させると、右室肥大と本来血管平滑筋を持たない肺胞レベルでの肺動脈における血管平滑筋の出現率が抑制される<sup>72)</sup>。この長期間NO吸入のvascular remodelingへの影響は大変興味深い問題と思われる、今後の検討が待たれる。

### 8. 肺高血圧とNO吸入

さて、本稿のテーマは肺血管内皮とNOである

が、EDRF $\equiv$ NOという意見の一致は、NOを治療薬として検討するという新たな展開を生み出し、特に肺高血圧領域での有用性が期待されている<sup>73)74)</sup>。すなわち、NOはガスとして肺から投与可能で、気道、肺胞を介して肺血管に直接作用する可能性があり、肺から血中に移行するとヘモグロビンと結合するため体循環に至るころには血管拡張作用が消失すると考えられることから、選択的肺血管拡張薬としての可能性を秘めている。臨床応用は、おそらくHigenbottam<sup>75)</sup>が最初と思われるが、主に肺動脈圧の低下、右心室の後負荷軽減を目的として使用されている。この意味では、Abmanら<sup>77)</sup>、Zapolら<sup>76)</sup>が示したように新生児遷延性肺動脈高血圧症(PPHN)の治療での応用が期待されている。本邦でも、国立小児病院のグループが先天性心疾患術後のpulmonary hypertensive crisisやPPHNの治療に応用し効果を得ている<sup>78)79)</sup>。成人においても最近、Zapolのグループが、重症急性呼吸不全で、肺内シャント率の軽減が得られると報告し注目をあびている<sup>81)</sup>。その理由は、NOはガスであるため換気の良い肺胞にのみ到達することになり、換気のある肺胞に接する肺血管のみを拡張させる。したがって、換気の悪い肺胞の血流が換気の良い肺胞へシフトすることになるため、肺内シャント率が低下すると考えられる。

余談であるが、NOの臨床応用の先駆けとなっているHingenbottamにせよAbmanにせよ、以前から、肺高血圧や肺血管におけるEDRF $\equiv$ NOの生理学的、薬理学的基礎研究に従事していたことは興味深い。一方、ZapolはARDSにおける肺高血圧を最初に指摘し、その後もその病態・治療の研究に携わってきた。

こうした肺高血圧が問題となる疾患で、EDRFを介する弛緩反応が抑制されていることは前述したが、一方で、病的に肥大・増生した肺血管平滑筋側がEDRF $\equiv$ NOに反応しにくい可能性も指摘した<sup>80)</sup>。臨床例で、NO吸入の効果にバラツキが認められるようだが<sup>78)79)82)</sup>、すでに肺血管の組織学変化が進行した症例では、その可能性が高い。sodium nitroprusside (SNP)は、その構造(CN)<sub>5</sub>-FeNOにNOを含みNOを血管平滑筋の

内外で放出することにより弛緩反応を引き起こすため、SNP の反応は間接的に NO に対する反応をみていることになる。慢性低酸素暴露肺高血圧ラット、モノクロタリン肺高血圧ラットの摘出肺動脈では、SNP による最大弛緩は抑制されなかったが、最大弛緩の 1/2 の弛緩を引き起こす濃度が高値を示したことから、SNP に対する感受性が低下していると考えられる<sup>66)83)84)</sup>。また、8-bromo-cGMP による弛緩も同様の結果を示した<sup>66)</sup>。以上の結果によると、SNP による弛緩抑制は、肺血管平滑筋内の cyclic-GMP への感受性の変化によるものと考えられる。一方、SNP により血管内 cyclic-GMP 濃度の上昇をみた研究では、低酸素暴露肺高血圧ラットにおいてコントロールに比し抑制がみられ、肺血管平滑筋における soluble guanylyl cyclase レベルでの障害も考えられる<sup>65)</sup>。いずれにせよ、肺高血圧血管では、たしかに SNP に対する感受性が落ちるが、最大弛緩は軽度抑制<sup>65)</sup>または変化なし<sup>66)83)84)</sup>であり、反応性は保たれていると考えられるので、NO 吸入の有効性を間接的に支持する基礎的事実と思われる。

### 9. 肺血管における NO 作動性神経

肺血管内皮細胞で産生された NO は肺血管平滑筋に作用し血管のトーン調節に関与しているが、アドレナリン作動性神経刺激による収縮も抑制していた<sup>85)86)</sup>。モルモットの内皮細胞除去肺血管で、ノルアドレナリンやアセチルコリンの受容体を遮断した後、電気刺激を加えると血管は弛緩する。L-NMMA や L-NA はこの弛緩を抑制し、L-アルギニンはこの抑制効果を解除した<sup>87)</sup>。このことは、神経終末から NO を放出する神経 (nonadrenergic, noncholinergic (NANC) nerve, NO 作動性神経) の存在を示唆している。神経系で NO 合成酵素の構造が解明されたが<sup>88)</sup>、神経と内皮細胞の NO 合成酵素は、Ca-calmodulin により活性化される点で一致している。一方、macrophage に存在する NO 合成酵素の構造も明らかにされたが<sup>89)</sup>、Ca-calmodulin 非依存性である。前者を constitutive NO synthase (cNOS)、後者を inducible NO

synthase (iNOS) と呼ぶようである。

謝辞：稿を終えるにあたり、御指導頂きました三重大学、宗行万之助教授に深く感謝します。

### 参考文献

- 1) Furchgott RF and Zawadzki JV : The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288 : 373-376, 1980
- 2) Arnold WP, Aldred R and Murad F : Cigarette smoke activates guanylate cyclase and increases guanosine 3', 5'-monophosphate in tissues. *Science* 198 : 934-936, 1977
- 3) Arnold WP, Mittal CK, Katsuki S, et al : Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3', 5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. *Proc Natl Acad Sci USA* 74 : 3203-3207, 1977
- 4) Derubertis FR and Craven PA : Calcium-independent modulation of cyclic GMP and activation of guanylate cyclase by nitrosamines. *Science* 193 : 897-899, 1976
- 5) Gruetter CA, Barry BK, McNamara DB, et al : Coronary arterial relaxation and guanylate cyclase activation by cigarette smoke, N'-nitrosornicotine and nitric oxide. *J Pharmacol Exp Ther* 214 : 9-15, 1980
- 6) Palmer RJM, Ferrige AG and Moncada S : Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327 : 524-526, 1987
- 7) Ignarro LJ, Byrns RE, Buga GM, et al : Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical. *Circ Res* 61 : 866-879, 1987
- 8) Palmer RMJ, Ashton DS and Moncada S : Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 333 : 664-666, 1988
- 9) Sakuma I, Stuehr DJ, Gross SS, et al : Identification of arginine as a precursor of endothelium-derived relaxing factor. *Proc Natl*

- Acad Sci USA 85 : 8664-8667, 1988
- 10) 佐久間一郎：EDRF 研究の進展；特に血圧・自律神経調節への関与を中心に。血管 14 : 69-78, 1991
  - 11) Ignarro LJ, Lippton H, Edwards JC, et al : 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
  - 12) Myers PR, Minor RL, Guerra R, et al : Vasorelaxant properties of the endothelium-derived relaxing factor more closely resemble S-nitrosocysteine than nitric oxide. Nature 345 : 161-163, 1990
  - 13) Ignarro LJ, Burke TM, Wood KS, et al : Association between cyclic-GMP accumulation and acetylcholine-elicited relaxation of bovine intrapulmonary artery. J Pharmacol Exp Ther 228 : 682-690, 1983
  - 14) Brecht DS, Hwang PM and Snyder SH : Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. Nature 347 : 768-770, 1990
  - 15) Moncada S, Palmer RMJ and Higgs EA : Nitric oxide ; Physiology, pathophysiology, and pharmacology. Pharmacol Rev 43 : 109-142, 1991
  - 16) 戸田 昇, 岡村富夫：血管内皮由来弛緩因子 (EDRF)。日薬理誌 95 : 295-308, 1990
  - 17) 鹿野和久：脈管作動性物質；EDRF 研究の動向と進歩。日本臨床 50 : 1430-1436, 1992
  - 18) Brashers VL, Peach MJ and Rose CE : Augmentation of hypoxic pulmonary vasoconstriction in the isolated perfused rat lung by in vitro antagonists of endothelium-dependent relaxation. J Clin Invest 82 : 1495-1502, 1988
  - 19) Cherry PD and Gillis N : Evidence for the role of endothelium-derived relaxing factor in acetylcholine-induced vasodilatation in the intact lung. J Pharmacol Exp Ther 241 : 516-520, 1987
  - 20) Eddahibi S, Adnot S, Carville C, et al : L-arginine restores endothelium-dependent relaxation in pulmonary circulation of chronically hypoxic rats. Am J Physiol 263 : L 194-L 200, 1992
  - 21) Hasunuma K, Yamaguchi T, Rodman M, et al : Effects of inhibitors of EDRF and EDHF on vasoreactivity of perfused rat lungs. Am J Physiol 260 : L 97-L 104, 1991
  - 22) Liu SF, Crawley DE, Barnes PJ, et al : Endothelium-derived relaxing factor inhibits hypoxic pulmonary vasoconstriction in rats. Am Rev Respir Dis 143 : 32-37, 1991
  - 23) Nishiwaki K, Nyhan DP, Rock P, et al : N<sup>ω</sup>-nitro-L-arginine and pulmonary vascular pressure-flow relationship in conscious dogs. Am J Physiol 262 : H 1331-1337, 1992
  - 24) Archer SL, Tolins JP, Raji L, et al : Hypoxic pulmonary vasoconstriction is enhanced by inhibition of the synthesis of an endothelium derived relaxing factor. Biochem Biophys Res Comm 164 : 1198-1205, 1989
  - 25) McMahon TJ, Hood JS, Bellan JA, et al : N<sup>ω</sup>-nitro-L-arginine methyl ester selectively inhibits pulmonary vasodilator responses to acetylcholine and bradykinin. J Appl Physiol 71 : 2026-2031, 1991
  - 26) Fineman JR, Chang R and Soifer SJ : L-arginine, a precursor of EDRF in vitro, produces pulmonary vasodilation in lambs. Am J Physiol 261 : H 1563-H 1569, 1991
  - 27) Fineman JR, Chang R and Soifer SJ : EDRF inhibition augments pulmonary hypertension in intact newborn lambs. Am J Physiol 262 : H 1365-1371, 1992
  - 28) Fineman JR, Heymann MA and Soifer SJ : N<sup>ω</sup>-nitro-L-arginine attenuates endothelium-dependent pulmonary vasodilation in lambs. Am J Physiol 260 : H 1299-H 1306, 1991
  - 29) Ignarro L, Byrns RE and Wood KS : Endothelium-dependent modulation of cGMP levels and intrinsic smooth muscle tone in isolated bovine intrapulmonary artery and vein. Circ Res 60 : 82-92, 1987
  - 30) Rodman DM, Yamaguchi T, Hasunuma K, et al : Effects of hypoxia on endothelium-dependent relaxation of rat pulmonary artery. Am J Physiol 258 : L 207-L 214, 1990



- 31) Johns RA, Linden JM and Peach MJ : Endothelium-dependent relaxation and cyclic GMP accumulation in rabbit pulmonary artery are selectively impaired by moderate hypoxia. *Circ Res* 65 : 1508-1515, 1989
- 32) Hoshino Y, Obara H, Kusunoki M, et al : Hypoxic contractile response in isolated human pulmonary artery ; role of calcium ion. *J Appl Physiol* 65 : 2468-2474, 1988
- 33) 宗行万之助 : Hypoxic pulmonary vasoconstriction. *麻醉* 37 : 1424-1436, 1988
- 34) Mathew R, Omar HA, Cherry PD, et al : Role of cGMP mechanisms in response of rat pulmonary arteries to hypoxia. *Am J Physiol* 263 : H 141-H 146, 1992
- 35) Kovitz KL, Aleskowitch TD, Sylvester JT, et al : Endothelium-derived contracting and relaxing factors contribute to hypoxic responses of pulmonary arteries. *Am J Physiol* 265 : H 1139-H 1148, 1993
- 36) Kourembanas S, McQuillan LP, Leung GK, et al : Nitric oxide regulates the expression of vasoconstrictors and growth factors by vascular endothelium under both normoxia and hypoxia. *J Clin Invest* 92 : 99-104, 1993
- 37) Abman SH, Chatfield BA, Hall SL, et al : Role of endothelium-derived relaxing factor during transition of pulmonary circulation at birth. *Am J Physiol* 259 : H 1921-H 1927, 1990
- 38) Abman SH, Chatfield BA, Rodman DM, et al : Maturational changes in endothelium-derived relaxing factor activity of ovine pulmonary arteries in vitro. *Am J Physiol* 260 : L 280-L 285, 1991
- 39) Zellers TM and Vanhoutte PM : Endothelium-dependent relaxations of piglet pulmonary arteries augment with maturation. *Pediatr Res* 30 : 176-180, 1991
- 40) Tiktinsky MH and Morin III FC : Increasing oxygen tension dilates fetal pulmonary circulation via endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol* 265 : H 376-H 380, 1993
- 41) Shaul PW, Farrar MA and Magness RR : Pulmonary endothelial nitric oxide production is developmentally regulated in the fetus and newborn. *Am J Physiol* 265 : H 1056-H 1063, 1993
- 42) Steinhorn RH, Morin III FC, Gugino SF, et al : Developmental differences in endothelium-dependent responses in isolated ovine pulmonary arteries and veins. *Am J Physiol* 264 : H 2162-H 2167, 1993
- 43) Wilkinson M, Langhorne CA, Heath D, et al : A pathophysiological study of 10 cases of hypoxic cor pulmonale. *Q J Med* 66 : 65-85, 1988
- 44) Magee F, Wright JL, Wiggs BR, et al : Pulmonary vascular structure and function in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 43 : 183-189, 1988
- 45) Rabinovitch M, Bothwell T, Hayakawa BN, et al : Pulmonary artery endothelial abnormalities in patients with congenital heart defects and pulmonary hypertension. *Lab Invest* 55 : 632-653, 1986
- 46) Rabinovitch M, Keane JF, Norwood WI, et al : Vascular structure in lung tissue obtained at biopsy correlated with pulmonary hemodynamic findings after repair of congenital heart defects. *Circulation* 69 : 655-667, 1984
- 47) Murphy JD, Rabinovitch M, Goldstein JD, et al : The structural basis of persistent pulmonary hypertension of the newborn infant. *J Pediatr* 98 : 962-967, 1981
- 48) Meyrick B, Reid L : Endothelial and subintimal changes in rat hilar pulmonary artery during recovery from hypoxia. *Lab Invest* 42 : 603-615, 1980
- 49) Ilkiw R, Maruyama K, Rabinovitch M : Intralipid effect on normal and hypoxic remodeled rat pulmonary vasculature. *Am J Physiol* 255 : H 1499-H 1508, 1988
- 50) Rosenberg H and Rabinovitch M : Endothelial injury and vascular reactivity in monocrotaline pulmonary hypertension. *Am J Physiol* 255 : H 1484-H 1491, 1988
- 51) Coflesky JT and Evans JN : Pharmacologic properties of isolated proximal pulmonary arteries after seven-day exposure to in vivo hyperoxia. *Am Rev Respir Dis* 138 : 945-951, 1988

- 52) Zapol WM and Snider MT : Pulmonary hypertension in severe acute respiratory failure. *New Eng J Med* 296 : 476-480, 1977
- 53) Bachofen M and Weibel ER : Alterations of the gas exchange apparatus in adult respiratory insufficiency associated with septicemia. *Am Rev Respir Dis* 116 : 589-615, 1977
- 54) Meyrick B and Brigham KL : Acute effects of *Escherichia coli* endotoxin on the pulmonary microcirculation of anesthetized sheep. *Lab Invest* 48 : 458-470, 1983
- 55) Greenberg B, Rhoden K and Barnes PJ : Endothelium-dependent relaxation of human pulmonary arteries. *Am J Physiol* 252 : H 434-H 438, 1987
- 56) Dinh-Xuan AT, Higenbottam TW, Clelland CA et al : Impairment of endothelium-dependent pulmonary artery relaxation in chronic obstructive lung disease. *N Eng J Med* 324 : 1539-1547, 1991
- 57) Dinh-Xuan AT : Disorders of endothelium-dependent relaxation in pulmonary disease. *Circulation (Suppl V)* 87 : V 81-87, 1993
- 58) Maruyama J, Maruyama K and Muneyuki M : Endothelium-dependent and independent relaxation in pulmonary arteries of rats during recovery from chronic hypoxia. *Am Rev Respir Dis* 145 : A 206, 1992
- 59) Altieri RJ, Olson JW and Gillespie MN : Altered pulmonary vascular smooth muscle responsiveness in monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *J Pharmacol Exp Ther* 236 : 390-395, 1986
- 60) Ito K, Nakashima T, Murakami K, et al : Altered function of pulmonary endothelium following monocrotaline-induced lung vascular injury in rats. *Br J Pharmacol* 94 : 1175-1183, 1988
- 61) Ashmore RC, Rodman DM, Sato K, et al : Paradoxical constriction to platelets by arteries from rats with pulmonary hypertension. *Am J Physiol* 260 : H 1929-H 1934, 1991
- 62) Orton EC, Reeves JT and Stenmark KR : Pulmonary vasodilation with structurally altered pulmonary vessels and pulmonary hypertension. *J Appl Physiol* 65 : 2459-2467, 1988
- 63) Maruyama J, Maruyama K, Miyasaka K, et al : Cyclooxygenase inhibition potentiates relaxation to acetylcholine in pulmonary arteries of rats after exposure to chronic hypoxia and during recovery in room air. *Am Rev Respir Dis* 147 : A 428, 1993
- 64) Adnot S, Raffestin B, Eddahibi S, et al : Loss of endothelium-dependent relaxation activity in the pulmonary circulation of rats exposed to chronic hypoxia. *J Clin Invest* 87 : 155-162, 1991
- 65) Crawley DE, Zhao L, Giembycz MA, et al : Chronic hypoxia impairs soluble guanylyl cyclase-mediated pulmonary arterial relaxation in the rat. *Am J Physiol* 263 : L 325-L 332, 1992
- 66) Rodman DM : Chronic hypoxia selectively augments rat pulmonary artery  $Ca^{2+}$  and  $K^{+}$  channel-mediated relaxation. *Am J Physiol* 263 : L 88-L 94, 1992
- 67) Archer SL, Rist K, Nelson DP, et al : Comparison of the hemodynamic effects of nitric oxide and endothelium-dependent vasodilators in intact lungs. *J Appl Physiol* 68 : 735-747, 1990
- 68) Oka M, Hasunuma K, Rodman R, et al : Inhibition of endothelium-derived relaxing factor causes vasoconstriction in hypertensive rat lungs. *Am Rev Respir Dis* 145 : A 208, 1992
- 69) Maruyama K, Ye C, Rabinovitch M, et al : Chronic hypoxic pulmonary hypertension in rats and increased elastolytic activity. *Am J Physiol* 261 : H 1716-H 1726, 1991
- 70) Hampl V, Archer SL, Nelson DP, et al : Chronic EDRF inhibition and hypoxia ; effects on pulmonary circulation and systemic blood pressure. *J Appl Physiol* 75 : 1748-1757, 1993
- 71) Hacker A and Seavitt C : Dietary restriction of arginine, hypoxia-induced pulmonary hypertension and collagen. *Am Rev Respir Dis* 147 : A 494, 1993
- 72) Adnot S, Kouyoumdjian C, Eddahibi S, et al : Continuous inhalation of nitric oxide protects against development of pulmonary hyperten-

- sion in chronically hypoxic rats. *Am Rev Respir Dis* 147 : A 494, 1993
- 73) 宮坂勝之, 藤原寛行:一酸化窒素 (nitric oxide) の吸入療法. *医学のあゆみ* 166 : 760, 1993
- 74) 阪井裕一, 宮坂勝之:一酸化窒素の臨床応用の可能性, 問題点について. *臨床麻酔* 17 : 1491-1492, 1993
- 75) Higenbottam T, Pepke-Zaba J, Scott J, et al : Inhaled endothelium derived-relaxing factor (EDRF) in primary hypertension (PPH). *Am Rev Respir Dis*. 137(Suppl) : A 107, 1988
- 76) Roberts JD, Polaner DM, Zapol WM, et al : Inhaled nitric oxide in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Lancet* 340 : 818-819, 1992
- 77) Kinsella JP, Neith SR, Abman SH, et al : Low-dose inhalational nitric oxide in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Lancet* 340 : 819-820, 1992
- 78) 田中裕之, 阪井裕一, 高田正雄ほか:肺高血圧を伴う先天性心疾患に対する nitric oxide の使用経験. *日臨麻会誌* 13(5) : 189, 1993
- 79) 藤原寛行, 阪井裕一, 高田正雄ほか:新生児遷延肺高血圧症における NO および ECMO 療法. *日臨麻会誌* 13(5) : 189, 1993
- 80) Maruyama J and Maruyama K : Impairment of the endothelium-dependent response to acetylcholine in hypertensive pulmonary arteries of rats during recovery from chronic hypoxia. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)*, 1994 (in press)
- 81) Rossaint R, Falke KJ, Zapol WM, et al : Inhaled nitric oxide for adult respiratory distress syndrome. *N Eng J Med* 328 : 399-405, 1993
- 82) Pepke-Zaba J, Higenbottam TW, Dinh-Xuan AT, et al : Inhaled nitric oxide as a cause of selective pulmonary vasodilatation in pulmonary hypertension. *Lancet* 338 : 1173-1174, 1991
- 83) Wanstall JC and O'Donnell SR : Responses to vasodilator drugs on pulmonary artery preparations from pulmonary hypertensive rats. *Br J Pharmacol* 105 : 152-158, 1992
- 84) Wanstall JC, Hughes IE and O'Donnell SR : Reduced relaxant potency of nitroprusside on pulmonary artery preparations taken from rats during the development of hypoxic pulmonary hypertension. *Br J Pharmacol* 107 : 407-413, 1992
- 85) Liu SF, Crawley DE, Evans TW, et al : Endogenous nitric oxide modulates adrenergic neural vasoconstriction in guinea-pig pulmonary artery. *Br J Pharmacol* 104 : 565-569, 1991
- 86) Sinozuka K, Kobayashi Y, Shimomura K, et al : Role of nitric oxide from the endothelium on the neurogenic contractile responses of rabbit pulmonary artery. *Eur J Pharmacol* 222 : 113-120, 1992
- 87) Liu SF, Crawley DE, Rohde JAL, et al : Role of nitric oxide and guanosine 3', 5'-cyclic monophosphate in mediating nonadrenergic, noncholinergic relaxation in guinea-pig pulmonary arteries. *Br J Pharmacol* 107 : 861-866, 1992
- 88) Bredt DS, Hwang PM, Glatt CE, et al : Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase. *Nature* 351 : 714-718, 1991
- 89) Xie Q, Cho HJ, Calaycay J, et al : Cloning and characterization of inducible nitric oxide synthase from mouse macrophages. *Science* 256 : 225-228, 1992