

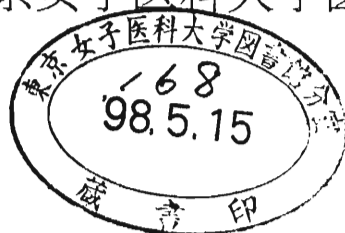
肺高血圧症に対する一酸化窒素吸入法の
増強補助療法の開発

(課題番号 08670915)

平成9年度科学研究費補助金 (基盤研究C)
研究成果報告書

平成10年3月

研究代表者 近藤 千里
(東京女子医科大学医学部 助手)



肺高血圧症に対する一酸化窒素吸入法の
増強補助療法の開発

(課題番号 08670915)

平成9年度科学研究費補助金（基盤研究C）研究成果報告書

平成10年3月

研究代表者 近藤 千里
(東京女子医科大学医学部 助手)

はしがき

一酸化窒素（NO）はL-arginineを基質としてNO合成酵素（NOS）により産生され、血管平滑筋のトーンスの調節、神経伝達などに重要な役割を果たしている。近年、経気道的に吸入させて肺血管を拡張させることにより、種々の原因による肺高血圧症の急性増悪を緩解せしめる救命的治療法として、臨床的応用が試みられている。しかし、NO自体が100ppmの高濃度では肺実質障害を引き起こす可能性があるために高濃度では使い難く、またそれ以下の濃度においても長期にわたる持続的使用の安全性はあきらかではない。そのため、現在ではNOの投与濃度を10ppm以下のなるべく低い濃度に抑えて使うようにされているが、一方ではこのような投与方法では臨床的有効性が不十分の場合もしばしば経験される。したがって、投与NO濃度をできるだけ低くするとともに、その効果を最大限に発揮せしめるような補助的治療法の開発は臨床的に重要であると考えられる。そこで本研究では細胞内サイクリックGMP濃度を上昇させる作用をもつホスホジエステラーゼ阻害剤のうち、我が国で臨床的に使用が認められた薬剤を用いて実験的肺高血圧に対してNOの作用増強効果があるかについて検討を行った。

研究組織

研究代表者： 近藤千里（東京女子医科大学医学部 助手）

研究経費

平成8年度	1,200千円
平成9年度	1,000千円
計	2,200千円

肺高血圧症に対する一酸化窒素吸入法の増強
補助療法の開発

東京女子医科大学医学部 循環器小児科
近藤千里

1、はじめに

一酸化窒素 (NO) はL-arginineを基質としてNO合成酵素 (NOS) により産生され、血管平滑筋のトーンズの調節、神経伝達などに重要な役割を果たしている1)。近年、経気道的に吸入させて肺血管を拡張させることにより、種々の原因による肺高血圧症の急性増悪を緩解せしめる救命的治療法として、臨床的応用が試みられている2)-7)。しかし、NO自体が100ppmの高濃度では肺実質障害を引き起こす可能性があるために高濃度では使い難く、またそれ以下の濃度においても長期にわたる持続的使用の安全性はあきらかではない。そのため、現在ではNOの投与濃度を10ppm以下のなるべく低い濃度に抑えて使うようにされているが、一方ではこのような投与方法では臨床的有効性が不十分の場合もしばしば経験される。したがって、投与NO濃度をできるだけ低くするとともに、その効果を最大限に発揮せしめるような補助的治療法の開発は臨床的に重要であると考えられる8)。このような補助的療法の開発にあたり、いくつかのNO増強のための方法が考えられる。そのひとつにNOが血管平滑筋に働く際にグアニル酸シクラーゼを活性化させ、これにより産生されるサイクリックGMPの代謝を変容させることが考えられる。サイクリックGMPは生体内でホスホジエステラーゼにより代謝され失活するが、このホスホジエステラーゼの活性を阻害する薬剤を投与することでサイクリックGMPの代謝を遅延させ、結果的にNOの平滑筋弛緩作用を増強させることが出来ると考えられる。本研究では、このようなホスホジエステラーゼ

阻害剤のうち、我が国で臨床的に使用が認められた薬剤を用いて実験的肺高血圧に対してNOの作用増強効果があるかについて検討を行った。

2、方法

1) 実験的肺高血圧の作製

肺高血圧は実験的に次の方法で作製した。

A) 低酸素によるもの

肺血管は吸入酸素濃度を低下させると収縮することが知られている。300g前後の成獣イマミチラットにペントバルビタール10mg/kgを腹腔内投与し全身麻酔を行ったのち、20Gサーフロー針外筒を用いて経口的に気管内挿管をおこない空気により小動物用人工呼吸器により呼吸管理をおこなった。ついで、頸部皮下より右内頸静脈ならびに内頸動脈を露出しシリコンチューブをこれらに挿入し、肺動脈、ならびに上行大動脈にまで進めた。それぞれに圧トランスデューサーを連結し肺動脈圧と大動脈圧の記録をおこなった。大動脈圧、肺動脈圧の観察から、血行動態が安定していることを確認した後、酸素濃度を空気の21%から平均肺動脈圧が空気投与時の倍に上昇することを目標に徐々に減少させた。これには酸素ブレンダーによりボンベからの圧縮空気と圧縮窒素を混合させたのち、酸素濃度計を用いて任意の酸素濃度を調整し人工呼吸器のガスの取り込みラインより与えた。

B) 肺血管収縮薬剤によるもの

上記のように動物を同様に前処置したのち、U46619（トロンボキサンB2誘導体）溶液を0.4-1.6mg/kg/minの範囲で平均肺動脈圧35mmHgに上昇さ

せることを目標に持続静脈投与を行った。

2) NO吸入濃度の調整

NO吸入は上記の人工呼吸器への送気ガスに対して、NO濃度が5000ppmとなるようにあらかじめ作製した標準NO/N₂混合ガスをマスフローメーターにより流量を微調節することでしながら送り込みNOの混合気を作製し、この濃度を下流のNO濃度測定器で連続的にモニターすることで任意のNOガス濃度を得た。NO濃度は5、10、20、40、100 ppmの5段階にした。

3) ホスホジエステラーゼ阻害剤の投与

ホスホジエステラーゼ阻害剤として以下の薬剤の効果を検討した。

A) アミノフィリン

0.4mg/kg/minのアミノフィリンを持続静注し、アミノフィリン投与前と投与開始10分後の肺動脈圧の変化を見た。

B) ジピリダモール

0.14mg/kg/minのジピリダモールを持続静注し、ジピリダモール投与前と投与開始10分後の肺動脈圧の変化を見た。

4) 統計

実験成績はいずれも平均+/-標準偏差で表し、有意差検定はコントロールに対する各条件下、および相互の条件下における肺動脈圧の変化をしらべ、ANOVAを用い $p < 0.05$ を有意差ありとした。

3、結果

1) 低酸素およびU 4 6 6 1 9による肺動脈圧の変化

肺動脈平均圧は、コントロール 16 ± 5 mmHg (n=10)に対し、低酸素（酸素濃度平均 $12\pm 2\%$ ）を吸入させることで 27 ± 11 mmHgと上昇した。U 4 6 6 1 9 静注により肺動脈平均圧は、コントロール 14 ± 6 mmHg (n=10)に対し、投与後 23 ± 8 mmHgと上昇した。

2) NO吸入による肺動脈圧の変化

上記の低酸素吸入により誘導した肺動脈平均圧（ 27 ± 11 mmHg）(n=10) は、NOの吸入開始後5分以内にすみやかに低下した。すなわち 23 ± 8 mmHg(5ppm), 20 ± 10 mmHg(10ppm), 18 ± 9 mmHg(20ppm), 19 ± 8 ppm(40ppm), 20 ± 9 ppm(100ppm)であり、NOを20ppm以上に上昇させてもさらに肺動脈圧が下がる傾向は認められなかった。

上記のU 4 6 6 1 9 静注により誘導した肺動脈平均圧

（ 23 ± 8 mmHg）(n=10) は、NOの吸入開始後5分以内にすみやかに低下した。すなわち 16 ± 8 mmHg(5ppm), 15 ± 7 mmHg(10ppm), 17 ± 8 mmHg(20ppm), 18 ± 7 ppm(40ppm), 16 ± 8 ppm(100ppm)であり、NOを10ppm以上に上昇させてもさらに肺動脈圧が下がる傾向は認められなかった。

3) ホスホジエステラーゼ阻害剤のNOの肺動脈圧低下作用に及ぼす影響

以上の結果から、NOの濃度20ppmにおいて肺動脈圧を低下させたのち、

ホスホジエステラーゼを投与することでさらに肺動脈圧が低下するかをみた。

低酸素により誘導した平均肺動脈圧(25 ± 9 mmHg)($n=7$) にたいしNO 20 ppmにより肺動脈圧は 20 ± 7 mmHgへと低下したが、これにアミノフィリン投与後 22 ± 6 mmHgと有意の変化を示さなかった。同様に低酸素誘導平均肺動脈圧(28 ± 10 mmHg)($n=7$)にたいしNO 20 ppmにより肺動脈圧は 21 ± 8 mmHgへと低下したが、これにジピリダモール投与後 23 ± 5 mmHgと有意の変化を示さなかった。

U 4 6 6 1 9 静注により誘導した平均肺動脈圧(22 ± 7 mmHg)($n=7$) にたいしNO 20 ppmにより肺動脈圧は 15 ± 6 mmHgへと低下したが、これにアミノフィリン投与後 17 ± 6 mmHgと有意の変化を示さなかった。同様にU 4 6 6 1 9 静注誘導平均肺動脈圧(24 ± 10 mmHg)($n=7$)にたいしNO 20 ppmにより肺動脈圧は 20 ± 5 mmHgへと低下したが、これにジピリダモール投与後 19 ± 6 mmHgと有意の変化を示さなかった。

4、考察

本研究では低酸素による、あるいはトロンボキサンB 2誘導体を用いた薬理学的的方法による実験肺高血圧のいずれにたいしても、経気道的に投与されたNOは5 ppmから20ppmnの範囲の低濃度では容量依存的に肺動脈圧平均圧を低下させたが、それ以上の100 ppmにいたる濃度では肺動脈圧のさらなる低下は認められなかった。一方、ホスホジエステラーゼ阻害剤であるアミノフィリン、ジピリダ

モールのいずれもNO20ppm吸入で得られた肺動脈圧低下をさらに低下させる効果は認められなかった。

ホスホジエステラーゼ阻害剤は近年、末梢血管拡張作用と心筋収縮力増加作用を併せ持つ医薬品としてヒトに対しても臨床応用が行われている。その作用の本態はサイクリックGMPないしサイクリックAMPの生体内での分解に関与するホスホジエステラーゼを阻害することで、細胞内サイクリックAMPあるいはGMPを増加させ間接的に平滑筋弛緩作用や心筋収縮力増強作用を発揮すると考えられている。NOは細胞内サイクリックGMPを増すことで血管平滑筋を弛緩させるので、ホスホジエステラーゼ阻害剤はこの点で相乗的に作用することが期待される。実際、これまでもホスホジエステラーゼ5型の阻害剤であるザプリニストでは吸入NOの作用を増強させるとの報告がある。しかし本剤は実験用薬品でありヒトに用いることはできない。そこで同様の作用を持ち、ヒトに使用可能であるジピリダモールにおいてNO作用増強作用が期待される。

今回の結果でジピリダモールあるいはアミノフィリンのいずれにおいてもNOの作用を増強させる結果とならなかった理由としてはいくつかの可能性が考えられる。その第1にNO吸入単独ですでに最大限の肺血管拡張が達成されており、これ以上にサイクリックGMPの濃度がかりに増えても血管拡張がおこらないかもしれないということである。事実、今回の実験系では20ppm以上にしても肺動脈圧の低下はそれ以上は認められなかったために、20ppmにおいて最大限の血管拡張に至っている可能性はある。これについてはNOの吸入濃度を5ppmなどのより低濃度とし、血管

拡張がより軽度の状態を作り、検討することが必要である。第2にジピリダモールやネオフィリンによるホスホジエステラーゼ阻害作用が強力でないため、かりにNOによって誘導されたサイクリックGMPの細胞内濃度を薬理的に有意に増加させていないかもしれないということである。それにはこれらの薬剤投与前後におけるNO吸入下での血中サイクリックGMP濃度の変化を測定することで検討できる。本研究において結果には示さなかったがジピリダモール投与前後で血中サイクリックGMP濃度は変化しなかった (n=3)。これに対してはジピリダモールの投与量を臨床的使用が想定されるものよりもはるかに大量とすれば、このような効果が期待されるのかもしれない。第3にホスホジエステラーゼの作用に臓器特異性があり、体循環末梢動脈に認められるような血管拡張作用が肺血管にたいしては弱いか認められない可能性がある。第4に、実際はホスホジエステラーゼの肺血管拡張作用はあっても、同時に体血管拡張とこれにともなう心拍出量の増加がおこるので、肺血管抵抗としては低下していても肺動脈圧自体の低下として現れない可能性がある。これには実験系として心拍出量を測定することで検証できると思われる。

文献

1. Gaston, B., J.M. Drazen, J. Loscalzo and J.S. Stamler, 1994, The biology of nitrogen oxides in the airways, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 149: 538.
2. Fratacci M, Frostell CG, Zapol WM, et al. : Inhaled nitric oxide. A selective pulmonary vasodilator of

heparin-protamine vasoconstriction in sheep.

Anesthesiology 75:990-999, 1991.

3. Pepke-Zeba 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.

4. Adnot S, Kouyoumdjian C, Defouilloy C, et al. : Hemodynamic and gas exchange response to infusion of acetylcholine and inhalation of nitric oxide in patients with chronic obstructive lung disease and pulmonary hypertension. *Am Rev Respir Dis* 148:310-316,1993.

5. Frostell CG, Blomqvist H, Zapol WM, et al.: Inhaled nitric oxide selectively reverses human hypoxic pulmonary vasoconstriction without causing systemic vasodilation. *Anesthesiology* 78:413-416,1993.

6. Roberts JD, Lang P, Zapol WM, et al.: Inhaled nitric oxide in congenital heart disease. *Circulation* 87:447-453, 1993.

7. Journois D, Pouard P, Safran D, et al.: Inhaled nitric oxide as a therapy for pulmonary hypertension after operation for congenital heart defects. *J Thorac Cardiovasc Surg* 107:1129-1135,1994.

8. Zapol WM: Minidose inhaled nitric oxide: less is better. *Intensive Care Med*19,433-434,1993.

mean PA pressure

mmHg

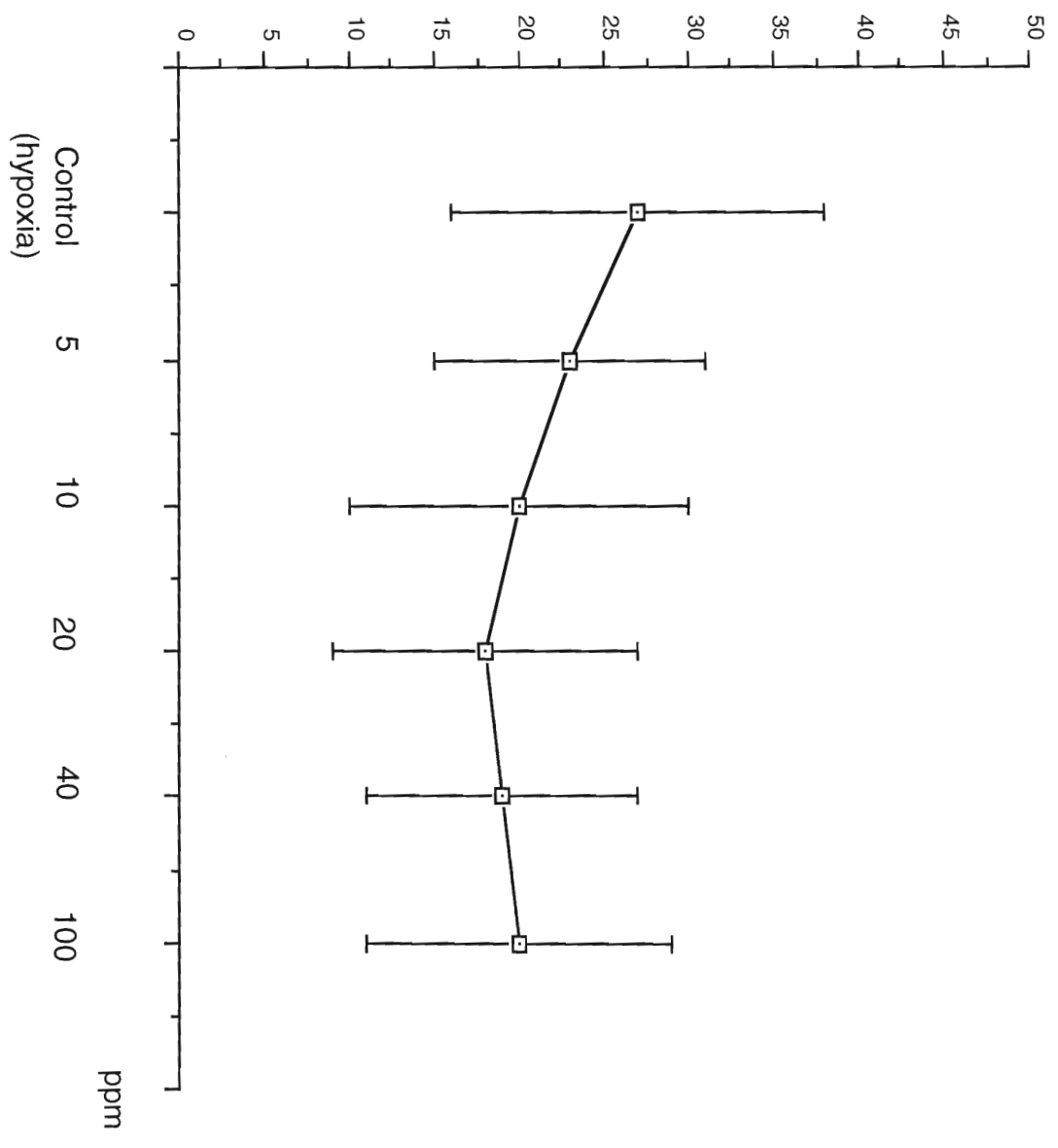


Fig. 1

mean PA pressure

mmHg

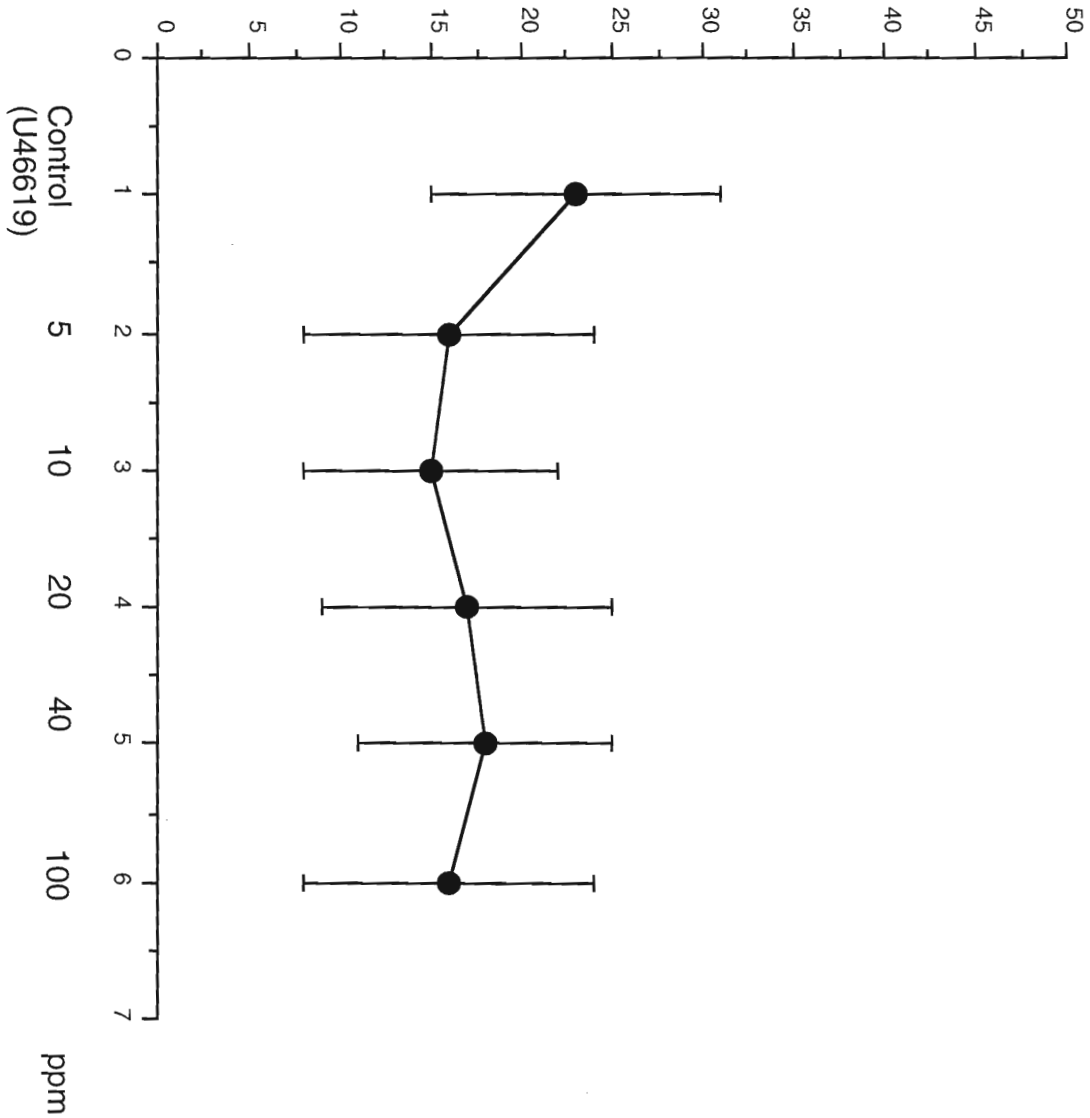


Fig. 2

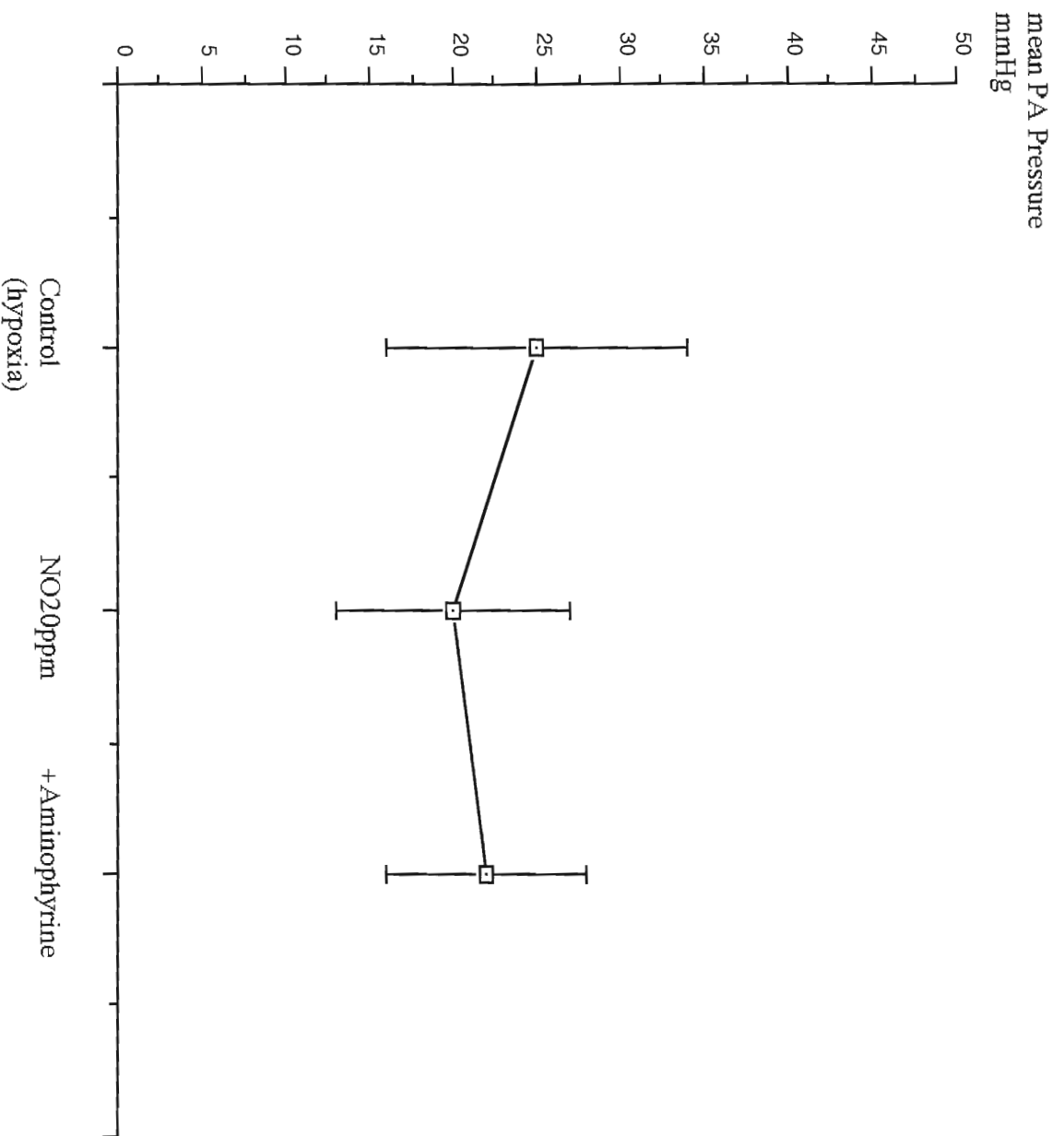


Fig. 3

mean PA pressure
mmHg

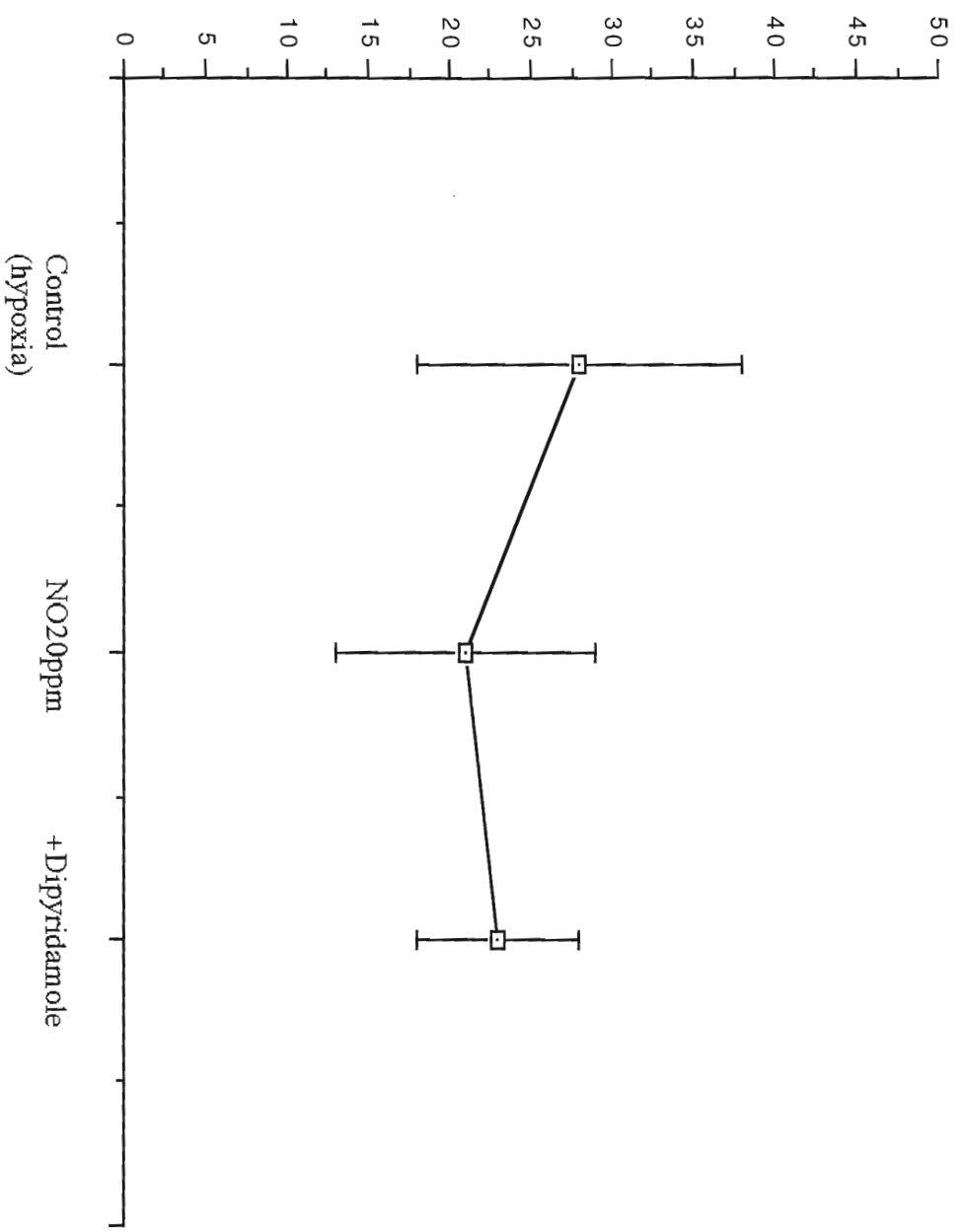


Fig.4

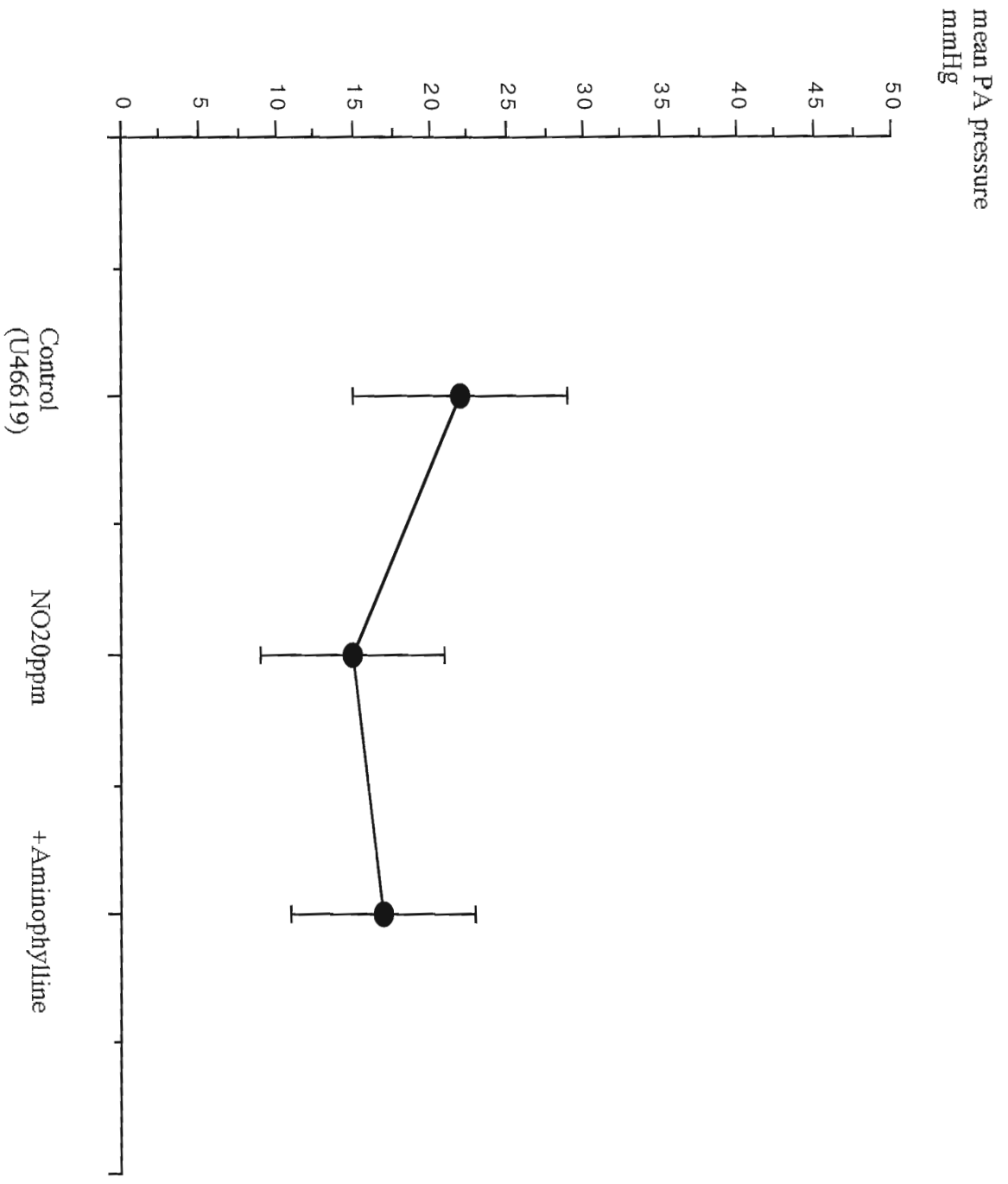


Fig. 5

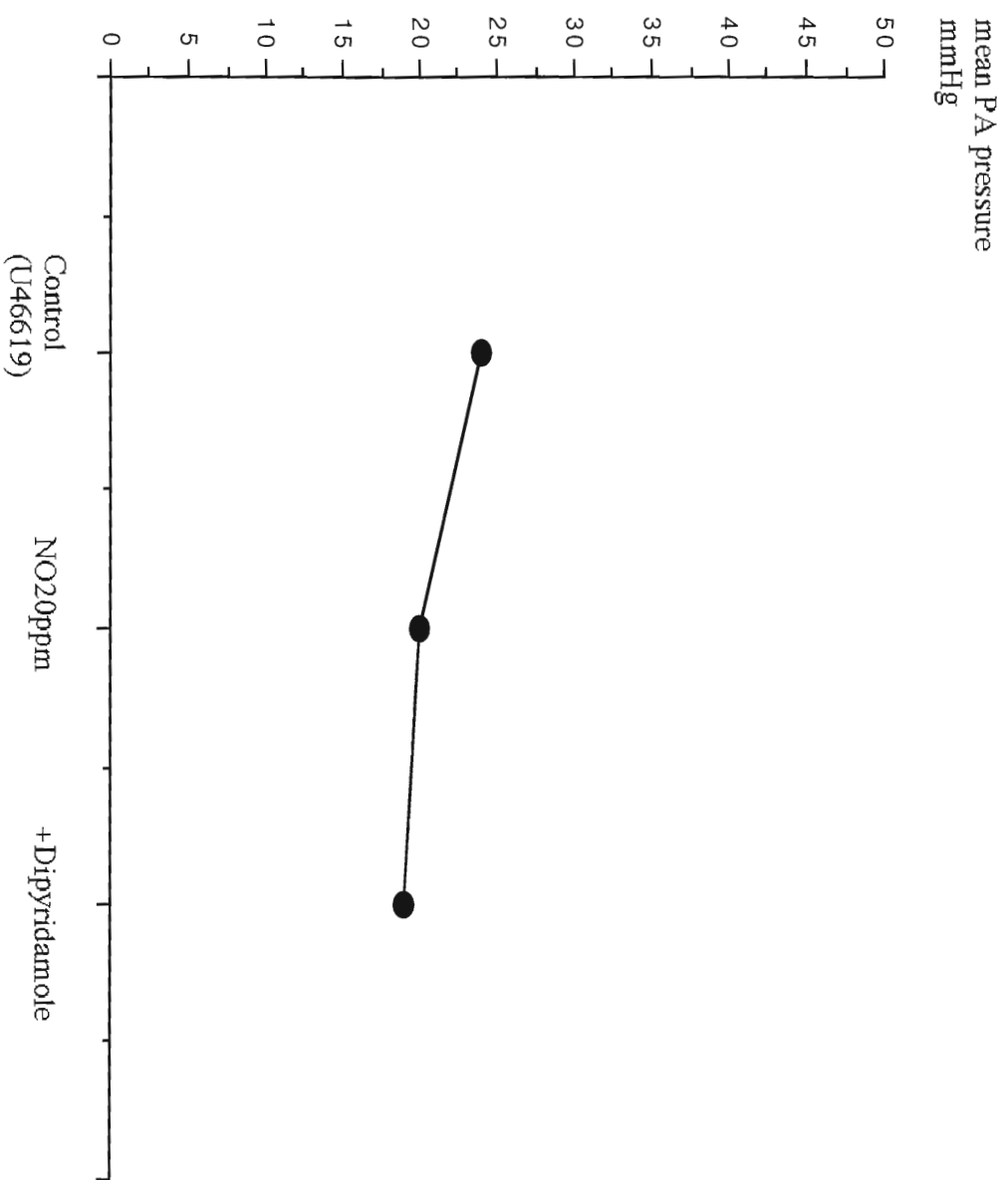


Fig. 6