気道防御における一酸化窒素 (NO) の役割

久保 伸夫

The Contribution of Nitric Oxide to the Airway Defense Mechanism

Nobuo Kubo, M.D.

Department of Otolaryngology, Kansai Medical University, Osaka

Nitric oxide (NO) is produced in human airways and can be measured in exhaled air. It has recently been reported that most exhaled NO derives from the upper airways. Our current data suggest that endothelial cells in the nasal mucosa are the dominant source of NO. The net output of NO (V_{NO}) is considered to be a very reliable value for the quantitative assessment of airway NO production, since the concentration of exhaled NO correlates hyperbolically with the ventilation volume. Using V_{NO} , NO production in the airways can be evaluated in various airway diseases. Nasal and oral V_{NO} are not elevated in any pathological conditions, including asthma, while they are decreased in chronic sinusitis and chronic bronchitis. NO concentration in the nose and saccharine time, which indicates nasal muco-ciliary transportation, are significantly correlated. As NO is a regulator of muco-ciliary activity, the decreased concentration of NO in chronic sino-bronchial inflammation—which is characterized by neutrophil infiltration and dysfunction of muco-ciliary transportation—may contribute to their pathogenesis. NO might be terminated by O_2^- produced by neutrophils.

Key words : nitric oxide, exhaled air, sino-bronchitis, asthma, mucociliary transportation

I. 呼気中一酸化窒素

一酸化窒素 (NO) は、中枢神経系では気体拡散によってシグナル伝達を行うガス状神経伝達物質であり、末梢神経系まではこれまで未知であった NANC 作働性血管拡張神経の伝達物質である。また ERDF といわれた血管内皮細胞由来の NO は血管平滑筋に対し、最強の血管拡張物質である。さらに活性酸素の組織傷害を考え

る上で、NO ラジカルである ONOO⁻ の役割は近年注目されている。一方 NO 吸入療法は、換気血流比改善には最も合理的な作用機序が期待でき、新生児遷延性肺高血圧症には最も有効な治療手段として注目されている。

近年、人体は自動車など内燃機関と同様に CO₂ とともに一酸化窒素 (NO) を呼気中に排気しており、その濃度は大気の百倍に達することが報告された¹⁾。さらに、この呼気中 NO は気管支喘息で増加し^{2,3)}、喫煙者で減少しており²⁾、カルタゲナ症候群患者⁴⁾や嚢胞性線維症 (cystic fibrosis) では消失すると報告されている。さらに興味深いことに、呼気中 NO は CO₂ と異な

関西医科大学耳鼻咽喉科
別刷請求：〒570-8507 守口市文園町 1
関西医科大学耳鼻咽喉科
久保伸夫

り, 少なくとも生理的条件下では圧倒的に鼻副鼻腔が多く産生するといわれ⁴⁾, Lundberg らは上顎洞内 NO 濃度は 20 ppm に達し殺菌作用を有し, 呼気の NO の大半は上顎洞由来であると報告している⁵⁾。さらに彼らは慢性副鼻腔炎症例では NO は減少し, アレルギー性鼻炎症例では不変であり, 呼気中の NO 気道線毛運動機能に気道中 NO は促進的に作用する可能性を示唆した⁶⁾。さらに興味深い報告として, 呼気 NO は霊長類と象以外の動物では排気されないか極めて微量らしい⁷⁾。

II. NO の測定法と問題点

実際の呼気中 NO の評価は, 測定機種, 測定方法, 測定条件, 評価法などによって大きく異なる。大気環境中窒素酸化物 (いわゆる NO_x , NO と NO_2 の和) の測定装置は, 毎分 5 リットル程度の大气を吸引し測定するため, 高感度で再現性もあるが, そのまま呼気ガス測定に用いることはできない。そこで呼気をいったん bag 内にため, 流量を毎分 2 リットル程度の限界まで絞って大気用測定装置で測定する機種が各社から発売されたが, 応答速度が遅く, 微量サンプル測定ではデータが信頼できず, 理論的にも生体 NO 測定には適さない⁸⁾。

現在最も呼気 NO 測定に信頼できる装置は, 減圧下の化学発光法による生体内 NO 測定専用装置である Sievers 社や EcoPhysics 社の製品であり, 毎分数百 ml の流量でも測定可能で, しかもほぼリアルタイムにデータが得られる。ただし臨床の場で用いるには標準ガスを用いるキャリブレーションなど煩雑な面もある。

測定方法に関しては, 上述の bag trap 法のものは, bag 内の NO 濃度で評価せざるを得ない。Sievers 社製のものなど single breath のリアルタイム測定が可能な装置では, 安静呼吸時 (breath by breath) の peak NO 濃度, 一回呼気時 (single breath) の peak NO 濃度などを測定している。しかし, これらのように濃度により生体の産生する気体を評価するのは, 定量性において不十分である。当然のことだが, 図 1 に示したように, NO の時分産生量は呼気中 CO_2 と同様に一定であり, 時分換気量が増えれば, それに反比例し, 呼気中 NO 濃度は低下す

図 1 NO metabolic hyperbola

る (metabolic hyperbola)。つまり, 息の吹き方や呼吸の大きさという人為的操作で NO 濃度は自由に操作できるし, 毎回同じように検査しているつもりでも再現性は乏しい。また喘息や COPD などで換気量が低下すれば当然見かけ上 NO 濃度は増加する。

旭川医科大学生理学教室岩元らのグループは, 呼気 NO を時分産生量 (V_{NO}) で評価することを提唱し⁹⁾, Sievers NO analyzer とスパイログラフィーからの信号をシグナル遅延装置を介して Mac Lab に入力する V_{NO} 測定システムを開発した。われわれもその指導を受け, V_{NO} による呼気中 NO の評価を行っている。

また測定方法に関する最大の問題点は, 下気道由来 NO 測定を行う際に高濃度の鼻腔から咽頭口腔への NO の contamination をいかに防ぐかであるが, 意識的軟口蓋挙上を行っても, NO の濃度差による拡散を防ぐことは困難である。Barnes らのように口呼気終末時にも持続的に陽圧をかけると, いきごらえを行っていることになり, NO 濃度はみかけ上高くなる。現時点では気管内挿管を行う以外には鼻腔からの影響は除けない。

測定条件に関しては, 測定する室内環境中の NO の back ground の影響が最も重要である。排気ガスや冷暖房, 喫煙などで back ground は上昇するが, 下気道の濃度より高いと NO は濃度差から肺泡へ拡散し, 呼吸器は NO filter となってしまう, 口呼気中 NO は吸気レベルより低くなり, NO 産生量は測定できない。またキャリブレーションガスそのものの正確さ, 装置やチューブの NO の吸着, 吸引流量と装置抵抗を

図2 喉頭全摘出手術後の無喉頭患者の鼻腔および気管口の NO 産生量

いかに一定にするかなど注意点は多い。

一般に麻酔科医以外の医師は気体を扱うことが少なく、気体物理に関する知識が乏しい。また国内には呼気 NO を研究する呼吸生理学の専門家が極めて少ないため、呼気 NO に関する測定法や評価法は、既存の文献の方法やメーカーの知識を無条件に踏襲していることが多く、上述のように呼吸生理学的に問題がある場合もあり混乱を招いている。

III. 上下気道の NO 産生量とその起源

上下気道から産生される NO を分離して測定するために、喉頭全摘出手術後の無喉頭患者の鼻腔および気管口の NO 産生量を測定した(図2)。下気道の NO 産生量は上気道の10%以下であった。これは従来の報告よりさらに少ない⁴⁾。さらに半数以上の症例では、下気道からは呼気 NO は back ground level であった。すなわち、呼気中 NO の大半は鼻腔由来である。しかし、この結果は、下気道の NO 産生を必ずしも否定しているわけではなく、下気道が NO を産生しているとしても呼気までは到達する以前に、濃度勾配にしたがって隣接する血管内に拡散している可能性も十分にある。

NO は血管平滑筋を弛緩させるが、血管内へ入ると直ちにヘモグロビンと結合するため、血管内に free の NO は存在せず、常に末梢気道から NO は血管へ拡散していると考えられる。つまり、下気道が NO を産生しても、呼気 NO がそれを反映するとは考えにくいことを示している。

また一側の下鼻甲粘膜切除を行っている症例では、切除側の NO 産生は、非切除側の20分の1程度に減少していたが、片側の Caldwell-Luc 手術によって上顎洞粘膜を除去された症例では、両側の NO 産生量に変化はなかった。このことは、鼻腔由来の NO の起源が下鼻甲介であり、Lundberg の報告のように上顎洞粘膜由来とは考えられないことを示唆している。さらに下鼻甲介粘膜は豊富な血管構築に特徴づけられ、組織学的には陰茎と類似していることから考えると、NO は下鼻甲介の微小血管の血管内皮細胞において eNOS から合成された可能性が高いといえる。気道上皮が NO を産生している可能性も否定できないが、そうすれば圧倒的に広い表面積を有する下気道の NO 産生がもっと呼気中にも反映されてよいと思われる。また喘息や気管支炎など炎症病態ではマクロファージが iNOS によって大量の NO を産生している可能性もあるが、これはヒトやサル鼻腔への iNOS の選択的阻害剤の投与実験の結果をまたなければ判断できない。

IV. 慢性気道疾患における NO の変化

V_{NO} を指標とした各種慢性気道炎症における気道 NO の産生量は表1の通りである。健康喫煙者と非喫煙者と V_{NO} も現在のところ有意差はみいだされていない。たばこの煙流には800 ppm (環境の10万倍) の NO が含まれるといわれ、当然下気道で拡散すると思われるが、喫煙量や吸い方には個人差が大きく、さらに検討が必要である。われわれの検討では、現在のところ喘息症例の鼻呼吸および意識的軟口蓋挙上時の口呼気の V_{NO} は健康成人と有意差をみとめなかった。小児例、非アトピー性喘息症例、重症発作時や挿管されている症例に関しては現在検討中である。通年性アレルギー性鼻炎患者における鼻呼気 V_{NO} も健康成人と有意な変化を示さなかった。しかし、ハウスダスト抗原誘発時には一過性に V_{NO} の増加を示した。花粉症症例に関してはデータを集めていない。

一方、慢性副鼻腔炎症例の鼻呼気 V_{NO} は健康成人に比較して約50%低下しており、慢性気管支炎などの慢性閉塞性肺疾患を合併している症例ではさらに低下していた。また内視鏡鼻内手

表1 V_{NO} を指標とした各種慢性気道炎症における
気道 NO の産生量 (nl/min)

	鼻呼吸	口呼吸
健康非喫煙者	385±41	41±5.6
喫煙者	334±52	29±5.3*
アレルギー性鼻炎	389±23	42±6.7
慢性副鼻腔炎	182±46*	21±8.3*
副鼻腔-気管支症候群	133±32*	18±4.9*
アトピー性喘息 (発作時)	419±31	49±6.1
アトピー性喘息 (非発作時)	365±41	35±4.2

術前後で比較すると、術後には2倍程度 V_{NO} が増加していた。マクロライド半量長期投与など、他の治療経過における V_{NO} の変化は現在検討中である。

好酸球性炎症を主体にするアトピー性気道炎症では、これまで言われているような呼気 NO 量の亢進はなく、一方、好中球炎症主体で線毛運動機能障害を主な病態とする慢性気道炎症で著しく呼気 NO が低下するというこれらの結果からは、呼気 NO はこれまで言われているような気道炎症で上昇し、その指標となるものではなく、その低下が好中球炎症で障害される線毛運動機能などの機能障害を反映することを示唆している。

V. 気道防御における NO の役割

図3は、慢性副鼻腔炎症例における線毛運動機能を評価するための鼻腔サッカリン輸送時間と、鼻呼吸 NO 濃度の相関を検討したもののだが、両者は弱い逆相関を示している。慢性副鼻腔炎において線毛運動機能と NO 濃度が相関するという結果からは以下の機序が考えられる。まず線毛上皮が NO を産生している可能性は上述のように少ないとわれわれは考えており、気道中の NO が線毛運動を賦活している可能性が大きく、それに関する *in vitro* の報告は多い¹⁰⁾。

慢性副鼻腔炎で NO が低下する機序としては、NOS の活性が低下し NO 産生が減少している可能性と NO の代謝が亢進している可能性がある。最近 cystic fibrosis では eNOS の

図3 非喫煙者におけるNO産生量と線毛運動機能

DNA mutationが起こっているという発表もあり、ある種の先天性疾患に関して前者の機序も考えられるが、慢性副鼻腔炎や副鼻腔気管支症候群に関してはこれまでの検討では NOS 活性は正常であり、われわれは後者の機序による以下の仮説を考えている。好中球は O₂⁻ などの大量の活性酸素を産生し、活性酸素による細胞障害は好中球性炎症の主体である。NO は O₂⁻ 存在下では直ちに消去され、さらに強力な NO ラジカルであるパーオキシナイトライト (ONOO⁻) に変換され、細胞障害を継続させる。したがって、好中球性炎症の場である慢性副鼻腔炎やびまん性細気管支炎では NO は好中球由来のラジカルによって消費され減少し、線毛運動機能は NO の低下とラジカルの上皮障害によって低下していくと思われる。

以上のように、NO は気道防御機構の最上位にある線毛運動機能を賦活させていると思われる。特殊な鼻構造を持つゾウ以外は、霊長類とヒトにのみ大量の呼気 NO が検出されるという報告⁷⁾は、進化の過程で直立に近づいたため、下気道、副鼻腔ともに重力に逆らって排液することが気道防御上決定的に重要になり、強力に線毛運動機能を維持させるため、広範囲な気道線毛細胞を同時に即時的に気道側から賦活できる気道 NO が出現したのではないかと。さらに、直立により不均一になった肺の換気血流比の改善にも関与しているかもしれない。

VI. 窒素酸化物 (NO_x) の室内汚染

NO は生体の機能維持にとって最も重要な

図4 家庭用コンロ燃焼時(ブタン, 986 kcal)

子であるが、同時に大気汚染物質でもある。大気は窒素と酸素で構成されているが、燃焼によって両者は結合し、窒素酸化物(NO_x , 気体中ではNOと NO_2)が産生される。 NO_2 の環境基準値は40 ppb以下であり、主要幹線道路などではこの値を超えているが、この程度の濃度では生体に障害をあたえる証拠が乏しい。しかし、われわれが一日の大半を過ごす室内環境における窒素酸化物濃度は、これまでの海外の報告からも気道障害の原因となり得る可能性がある¹¹⁾。ガソリンエンジンによる氷面調整機を用いていた室内スケートリンクで練習しているアイスホッケー選手に気管支炎がみられたという報告もある¹²⁾。

われわれはSievers 280NOAと付属の NO_2 converterを用い、調理、ストーブ、喫煙など各種の燃焼に伴う室内のNOおよび NO_2 濃度を検討した。図4のごとく、携帯ブタンガスコンロ燃焼時のNOおよび NO_2 濃度は20分程度の燃焼で数十倍に達し、容易に1 ppmに達した。これまでの研究からこの濃度は少なくとも NO_2 に関しては気道線毛上皮障害を惹起する濃度である¹³⁾。このことは、 NO_2 のみでなく、低濃度では線毛運動を賦活させるNOも、NOラジカルとして、あるいは高濃度になれば NO_2 に酸化され気道障害をきたす可能性を示唆している。NOは気道防御にも気道障害にも働くのだろう。

地球温暖化対策のため開発されている低 CO_2 型ガソリンおよびディーゼルエンジンは、いずれも NO_x 排出量に関しては逆に増加して

いる。環境中の窒素酸化物は直接には生体に無害で、その規制は不必要であるという議論はあるが、さらに大気中濃度が増せば、酸性雨など環境への影響も大きい。

文 献

- 1) Gustafsson, L.E., Leone, A.M., and Persson, M.G.: Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pig and humans. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 181: 852-857, 1991.
- 2) Persson, M.G., Zetterstrom, O., and Agrenius, V.: Single breath nitric oxide measurement in asthmatic patients and smokers. *Lancet*, 343: 146-147, 1994.
- 3) Alving, K., Weitzberg, E., and Lundberg, J. M.: Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur. Respir. J.*, 6: 1368-1370, 1993.
- 4) Lundberg, J.O.N., Weitzberg, E., Nordvall, S. L., et al.: Primarily nasal origin of exhaled nitric oxide and absence in Kartagener's syndrome. *Eur. Respir. J.*, 7: 1501-1504, 1994.
- 5) Lundberg, J.O.N., Farkas-Szallasi, T., Weitzberg, E., et al.: High nitric oxide production in human paranasal sinuses. *Nature Med.*, 1: 370-373, 1995.
- 6) Lindberg, S., Cervin, A., and Runer, T.: Nitric oxide (NO) production in the upper airways in decreased in chronic sinusitis. *Acta Otolaryngol. (Stockh)*, 117: 113-117, 1997.
- 7) Schedin, U., Roken, B.O., Nyman, G., et al.: Endogenous nitric oxide in the airways of different animal species. *Acta Anesthesiol. Scand.*, 41: 1131-1141, 1997.
- 8) Nishimura, M., Imanaka, H., Uchiyama, A., et al.: Nitro oxide measurement accuracy. *J. Clin. Monitoring*, 13: 241-248, 1997.
- 9) Iwamoto, J., Pendergast, D.R., Suzuki, H., et al.: Effect of graded exercise on nitric oxide in expired air in humans. *Respir. Physiol.*, 97: 333-345, 1994.
- 10) Jain, B., Rubinstein, I., Robbins, R.A., et al.: Modulation of airway epithelial cell ciliary beat frequency by nitric oxide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 191: 83-88, 1993.
- 11) Alberts, W.M.: Indoor air pollution: NO, NO_2 , CO, and CO_2 . *J. Allergy Clin. Immunol.*, 94: 289-295, 1994.
- 12) Karlson-Stiber, C., Hojer, J., Sjöholm, A., et al.: Nitrogen dioxide pneumonitis in ice hockey players. *J. Internal. Med.*, 239: 451-456, 1996.

日気食会報, 49 (2), 1998

- 13) Tunnicliffe, W.S., Burge, P.S., and Ayres, J. G. : Effect of domestic concentrations of nitrogen dioxide on airway responses to inhaled allergen in asthmatic patients. *Lancet*, 344 : 1733-1736, 1994.