

原 著

人工呼吸管理症例における 呼気一酸化窒素測定方法に関する検討

中 村 京 太

横浜市立大学大学院医学研究科生体制御・麻酔科学

要 旨: 一酸化窒素 (nitric oxide: NO) はガス状メディエータとして, 生体内反応に関与すると考えられ, 特に炎症反応の制御に重要な役割を呈していることが明らかにされてきた. 気道内で産生される NO は呼気中に検出されるため, その濃度を測定することは気道内での炎症の指標になりうる. 特に気管支喘息の重症度評価では, すでに臨床使用されている. また, 急性肺障害の早期診断に有効であるとする報告がされ, 周術期, 集中治療領域で応用できる可能性が示唆されている. 呼気 NO 測定方法の要点は呼気流速を一定に保つことにあるが, 従来の人工呼吸管理下で, 呼気流速を一定にすることは難しく, 確立された測定方法は存在しない. 本研究の目的は, 人工呼吸管理下での呼気 NO の産生部位が推定できる測定法を確立することとし, その方法として人工呼吸回路に気道抵抗を加え, breath-holding を併用した換気モードで測定することにより炎症部位診断を可能とする波形が得られるとの仮説を立て, 研究を行った.

全身麻酔下に手術を予定された5症例を対象とした. それぞれの症例で通常の換気モードと気道抵抗を加え breath-holding を併用した換気モードで測定を行った.

結果, 人工呼吸回路に気管チューブによる気道抵抗を加えて呼気流速の変化を少なくし, breath-holding を併用した換気モードで測定することにより, 炎症部位診断を可能とする波形が得ることができた. 本方法は, 呼気 NO 濃度測定から産生部位診断を含めた NO 産生量を推定可能にし, single breath での測定として有用であると考えられた. 今後, 連続モニタに適用可能な方法の開発と病態による波形や産生量の変化に関する研究が必要であると考ええる.

Key words: 一酸化窒素, nitric oxide, 呼気一酸化窒素, exhaled nitric oxide, 人工呼吸, mechanical ventilation, 呼気流速, expiratory flow rate

緒 言

一酸化窒素 (nitric oxide: NO) はガス状メディエータとして, 生体内反応に関与すると考えられ, 特に炎症反応の制御に重要な役割をはたしていることが明らかにされてきた. 炎症性疾患で産生される NO は, 気道内では主にマクロファージ, 気道上皮の inducible NOS (iNOS) より大量に産生され, 気管平滑筋拡張作用の他に, 好酸球性炎症を惹起する作用, 血管透過性を亢進する作用, superoxide となり一次防御の1つとしての作用などがある¹⁾. 気道内で産生される NO は呼気中に検出

されるため, その濃度を測定することは気道内での炎症の指標になりうる²⁾. これまで, 様々な疾患や病態における呼気 NO (exhaled nitric oxide: eNO) 濃度に関する報告がされてきた. 特に気管支喘息の重症度評価では, すでに臨床使用されている³⁾⁴⁾⁵⁾. また, 急性肺障害の早期診断に有効であるとする報告がされ, 周術期, 集中治療領域で応用できる可能性が示唆されている⁶⁾.

自然気道下での eNO 濃度測定方法は American Thoracic Society (ATS) が, official statement で言及し, 気管支喘息症例のコントロールなどにおいて, すでに臨床に普及されている⁷⁾. ここで重要なのは NO 濃度を測定

することにより本来は NO 産生量を測定することにある。しかしながら産生量の測定は技術的に困難であり、NO 濃度で代用せざるを得ない。NO は肺胞だけでなく気道からも常時一定量を産生されているため、理論的には測定される eNO 濃度は呼気流速の影響を強く受けることが考えられる。呼気の初期と比べ呼気終末では呼気流速がほとんど 0 に近いいため、濃度は高値を示すことになり、NO の産生量をモニタすることにはならない。つまり呼気炭酸ガスモニタのように呼気終末で測定しても臨床的意義はほとんどない。したがって測定方法の要点は呼気流速を一定に保ち、濃度を測定することにより産生量を推定することに集約される。自然気道下ではマウスピースに気道抵抗と回路内圧計を装着した呼気回路を準備し、呼気回路内圧を一定にするように患者に呼出させることで、呼気流速を一定にして測定するように推奨している⁷⁾。

さらに、この測定方法の呼気直前に、10秒間の breath-holding を追加して得られた eNO 波形について、Shinkai らは NO の気道における産生部位との関係を証明し、波形を phase にわけ、Phase 1 を死腔、Phase 2 を気道成分と肺胞成分の混合、Phase 3・4 を肺胞成分と説明している⁸⁾。また Phase 2 で出現する波形の Peak 値は、気道成分を反映するものと推測している⁸⁾。この方法は、炎症部位の診断が可能になるため、気道や肺における炎症性疾患の診断、評価に有用であると期待できる。

周術期や集中治療領域で問題となる様々な重症気道・肺疾患の管理では、人工呼吸管理を切り離して考えることはできない。これまで気道や肺の炎症は、症状および理学的所見や画像所見、白血球数や CRP などの血液検査所見などから、総合的な判断で評価されてきた。人工呼吸管理を要する症例において eNO 産生量の測定が可能となれば、炎症部位からの直接のメディエータを測定することになるため、real time に変化している気道や肺の炎症性変化を捉えられると考えられる。しかし、吸気を強制的ないしは補助的に陽圧にすることが主流である従来の人工呼吸管理下で、呼気流速を一定にすることは難しく、ATS も現在まで推奨する方法を提供できないとしている⁷⁾。

本研究の目的は、人工呼吸管理を要する重症気道・肺疾患の症例に対する eNO 産生量を eNO 濃度測定することによりモニタリングすることにある。その方法として人工呼吸回路に気道抵抗を加えて呼気流速の変化を少なくし、breath-holding を併用した換気モードで測定することにより炎症部位診断を可能とする波形が得られるとの仮説を立て、研究を行った。

対象と方法

対象

対象は気管挿管下に全身麻酔管理を予定した 5 症例で、いずれも肺合併症を指摘されていない症例とした。

予備実験 (気道抵抗の負荷)

Portex 社、内径 3 mm の気管チューブを使用し、チューブ先端にも呼吸器回路と接続できるようにコネクターを装着した。予備実験として、気管チューブの両端に気道内圧計を接続したうえで、麻酔器の吸気回路と直列に接続し、流速による抵抗値の変化を 6, 12, 18, 20 l/min の 4 点で測定した。

換気法の設定

麻酔器は bias flow のない人工呼吸器を搭載した Fabius GS (Dräger 社製) を使用した。個々の症例において、①通常の換気法である Normal Ventilation 法; N 法 ($VT=10\text{ml/kg}$, $f=10/\text{min}$, $I:E=1:2$, $T\text{ pause}/T\text{ insp}=10\%$) と②深吸気位・breath-holding を設定した換気法に加え、呼気抵抗として内径 3 mm の気管チューブを接続して換気する Breath-holding and Respiratory Resistance 法; R 法 ($VT=15\text{ml/kg}$, $f=4/\text{min}$, $I:E=2:1$, $T\text{ pause}/T\text{ insp}=50\%$) の 2 つの異なる方法で換気を行った。

測定機器

それぞれの換気法で eNO 波形および呼気流速波形を記録した。

eNO 濃度の測定は、気管チューブ側と人工鼻の間に接続した I コネクターから 250 ml/min で呼気をサンプリングし、NO analyzer 280 NOA (Sievers 社製) を使用して記録した。280 NOA は、NO と O_3 の反応によって NO_2 の励起体を生成し、この活性種が示す化学発光を検出することによって測定を行うもので、高感度、超高速応答の測定装置である。呼気流速の測定には呼吸モニタ OMR-7101 (日本光電社製) を使用し、フローセンサー TF-701P (日本光電社製) を接続して呼気流速波形を記録した。

測定

全身麻酔導入後、手術が開始される前に測定を実施した。麻酔は propofol, fentanyl citrate, vecuronium bromide を使用した静脈麻酔とし、測定時は病院中央配管より供給される圧縮空気中の NO の混入を避けるため、100% 酸素による換気下とした。それぞれの症例において、N 法と R 法を施行し eNO 波形と呼気流速波形を記録した。また、波形から eNO の産生部位が鑑別できるかを検討するため、測定で得られた eNO 波形の phase 2

(peak) と phase 3 (plateau) 濃度を測定し比較検討を行った。統計学的解析には paired t test を用いた。

倫理的配慮

本研究は、横浜市立大学医学部倫理委員会の審査を通過し、所定の説明書ならびに同意書を使用して、本人の同意を得た上で行った。

結 果

気管チューブによる抵抗値

内径 3 mm の気管チューブによる抵抗は、流速によって異なり、6 l/min の流速時に 35cmH₂O・sec/l, 12 l/min の流速時に 70cmH₂O・sec/l, 18 l/min の流速時に 100cmH₂O・sec/l, 20 l/min の流速時に 146cmH₂O・sec/l と流速のほぼ一次関数を示した (図 1)。

呼気中 NO 濃度波形の測定

実際に得られた eNO 波形を示す (図 2)。N 法では、呼気流速の低下に伴い、右上がりの eNO 波形が得られた。一方、R 法では、自然気道下での測定と近似した波形が得られ、eNO を Phase 1~3 にわけることが可能であった (図 3)。N 法における phase 2 (peak) と phase 3 (呼気終末値) の eNO 濃度は phase 2: 5.8 ± 2.7ppb, phase 3: 6.0 ± 4.2ppb (p=0.815) と有意差を認めなかったが、R 法における phase 2 (peak) と phase 3 (plateau) の eNO 濃度は phase 2: 20.8 ± 9.9ppb, phase 3: 6.0 ± 2.7ppb (p=0.023) と両群間で有意差を認めた。

抵抗 (cmH₂O・sec/l)

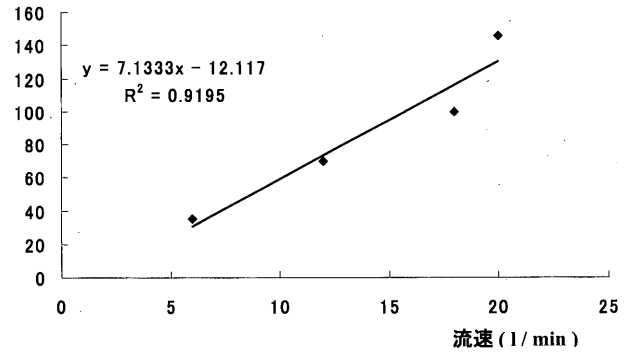
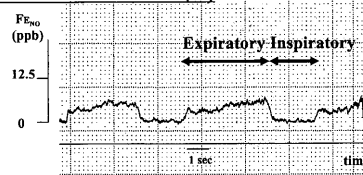


図 1 気管チューブ (内径 3 mm) による抵抗値は、気流の流速によって変化し、ほぼ一次関数を呈した。

Normal Ventilation (N)



Breath-holding and Respiratory Resistance (R)

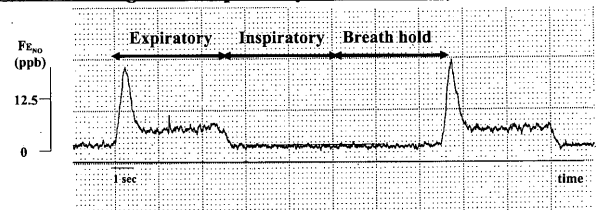
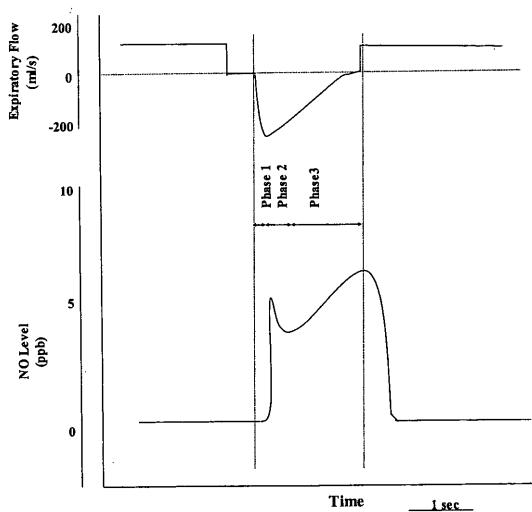


図 2 N 法では、phase 3 が右上がりの波形を示したのに対し、R 法では自然気道下に呼気流速を一定とし、breath-holding を加えて計測した測定波形と近似した波形が得られた。

Normal Ventilation (N)



Breath-holding and Respiratory Resistance (R)

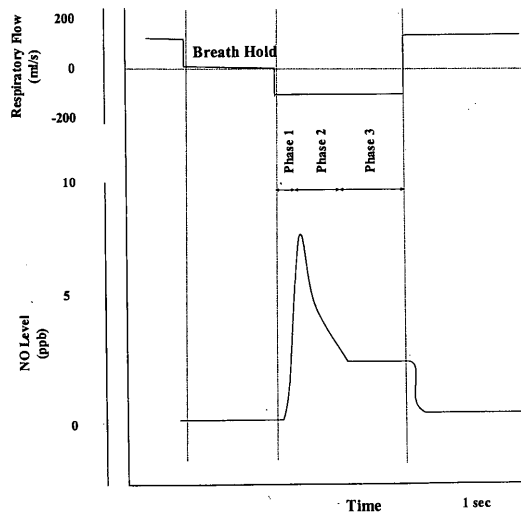


図 3 N 法では呼気流速の低下に伴い、phase 3 が右上がりの波形を呈した。一方、R 法では呼気流速の低下が最小限に抑えられ、phase 3 が plateau を呈した。

考 察

本研究の結果、N法の波形は今までの報告と同様に、呼気終末にeNO値がピークをとったのに対し、R法ではeNO濃度に影響をおよぼす呼気流速の変化を抑え、自然気道に呼気抵抗を加えた方法におけるeNOの波形に近い波形を得ることができた。N法でのphase 2とphase 3とのeNO値に有意差を認めなかったものの、R法でのphase 2 (peak) と phase 3 (plateau) に有意差を得たことから、N法では不能であった気道成分と肺胞成分の鑑別が、R法では可能であると考えられる。

現在、人工呼吸管理中の呼気NO測定方法の統一された推奨法はない⁷⁾。一方で、集中治療領域でもNOなどガス状メディエータ測定の臨床的意義が重視される傾向になっている。これまでも人工呼吸中の肺障害モニタとしてeNO濃度をを用いた報告は散見されるが、呼気終末NO濃度や平均NO濃度などを比較し、呼気流速の影響を考慮していないものもある。つまりNO濃度を測定しているだけでNO産生量の重要性に着目していないため、炎症の程度などの指標としては不十分である。本研究は、自然気道における測定法と同じく、呼気抵抗を加えることにより呼気流速を一定とし、NO濃度測定により最も臨床的意義のあるNO産生量を推定可能にした。

eNO濃度は呼気流速に依存して変化する⁹⁾。100ml/s以上の呼気流速では、比較的流速依存性が少なくなることから¹⁰⁾、100~300ml/sでの測定が適しているといわれている¹¹⁾。その理由は、気道の様々な部位からNOが気道内へ放出されているからである。

今回、R法によって可能となった、呼気流速変化の抑制は、使用した気管チューブ (Portex社、内径3mm 長さ16cm) の抵抗の特性によるところも大きいと考えられる。今回呼気抵抗として使用したチューブの抵抗値を測定したところ、流速に比例し、ほぼ一次関数を示した (図1)。使用したチューブが剛性の高いものであれば、抵抗値は流速の影響を受けにくくなり、理論上の呼気流速は気道抵抗前後の圧差に依存し、呼気終末にむけて直線的に低下することになる。一方、今回のような抵抗特性を示す気管チューブを使用すれば、特にeNO測定に推奨される呼気流速が低い状態での抵抗値が、速度依存性に低くなり、それ以上の流速の低下を抑え、変化率の減少に寄与しているものと考えられる¹²⁾。

障害肺や炎症部位から直接産生されるガス状メディエータであるNOを測定することは、肺障害や気道疾患のモニタとして有用性が期待される。本来NOは、その血管拡張作用によって、体血管および肺血管の血流および血管平滑筋の収縮性を制御する役割をもつ。NOはL-arginineから、nitric oxide synthase (NOS) によっ

て産生される^{1) 13)}。NOSのサブタイプには endothelial NOS (eNOS)、neuronal NOS (nNOS) および inducible NOS (iNOS) の3種類が存在する¹⁴⁾。eNOSおよびnNOSは constitutive isoform of NOS (cNOS) と呼ばれ、恒常的に発現し、酵素活性の発現には細胞質中のCa²⁺濃度の上昇が必要である。生理学的な状態では、主に血管内皮のeNOSによって産生されるNOが、血管透過性を含めた血管運動性の制御に関与していると考えられている¹³⁾。一方、炎症性疾患においては、エンドトキシンやTNF- α 、interleukin-1 β 、interleukin-4、interferon- γ などの炎症性サイトカインの刺激が、血管内皮や血管平滑筋、マクロファージに作用しiNOSを発現させる¹⁵⁾。気道内では主として気道上皮およびマクロファージにiNOSが発現する。iNOSはいったん酵素が発現されるとCa²⁺濃度に依存しないため、大量のNOを産生させる¹⁴⁾。iNOS由来のNOは、それ自体が血管透過性亢進を引き起こしたり、炎症部位でパーオキシナイトライト (ONOO-) の産生を介して細胞障害性に働く可能性があるとされている¹⁶⁾。

eNO濃度の測定法には、大きくOn-line法とOff-line法に分けられる。Off-line法は、呼気をbagに集めて測定する方法である。今回の測定で施行しているOn-line法は一呼吸ごとの測定を可能にし、呼気の波形解析からNO産生部位を鑑別できる点で、Off-line法よりも有用であると考えられる。

本研究では気管挿管下の人工呼吸管理中の検討であるため、NOの放出が多いとされる鼻腔や咽頭由来のものは、混入しない。気道粘膜や肺胞からのNO放出は、iNOSからの産生のみでなく、濃度依存性の拡散といった因子も考えられる。Tsoukiasらは、eNOの肺における動態に関して、数学的モデルで説明している¹⁷⁾。肺を肺胞と気管支の2つのコンパートメントに分け、NO産生量 $V_{NO} = F_{NO, Br} + Q_E \cdot C_{Alv}$ ($F_{NO, Br}$: bronchial NO flux, Q_E : 呼気流速, C_{Alv} : 定常状態における肺胞気中NO濃度) と示した。この式によれば、特に気管支領域において気道に放出されるNOは、気管支壁と気道内のNO濃度差に依存する拡散能によって決定する。したがって、換気様式や肺疾患のパターンによって、eNO濃度の波形は異なってくることが考えられる。今後はOn-line法での測定時に、様々な呼吸パターンの違いによって生じる、測定結果の違いについても検討課題となることが考えられる。また、疾患によるeNO波形のパターンの違いも考えられ、炎症部位診断を有効に活用するためにも、検討することが必要である。現在、臨床で肺炎の診断に考慮されている呼吸音の聴診所見や1日に1回程度の胸部単純X線撮影、血液検査による炎症所見、痰の性状などは、病態の変化を早期に捉えることは難しい。肺炎やARDSでの本法によるeNO波形パターンの解析はreal

time に 1 日に複数回の測定が可能となり、病態の変化をこれまでより早期に察知することが期待される。また、広範囲熱傷時にみられる、全身や肺の血管透過性亢進も NO の関与が強く示唆されており¹⁸⁾、モニタリングとしての可能性が考えられる。

気管挿管下の人工呼吸管理症例における、eNO 測定法として Tornberg らは、呼気抵抗装置と吸引システムを組み込んだ呼気回路に接続し、複数の呼気流速から得られた結果を使用して、流速の影響を受けない因子 (FANO: fraction alveolar NO, FAWNO: fraction of airway wall NO, DNO: airway wall transfer rate) を数学的モデルから計算し、Tsoukias らの示した two-compartment model を利用して¹⁷⁾、計算上の eNO 濃度を測定した¹⁹⁾。この方法は、人工呼吸管理症例の eNO 濃度を計算値で求められるが、排出される eNO を直接測定するものではない。

本研究における R 法での換気設定は、一回換気量を大きく設定し、さらに深吸気位を作成、呼吸回数を減らしていることから、長期呼吸管理の設定としては不適切である。また呼気流速が 0 となる前に吸気相が始まることから、intrinsic PEEP が発生していることが強く疑われるため、連続モニタとしては非現実的である。したがって本法は部位診断を目的とした、single breath での測定として有用であると考えられる。

また今後、長期呼吸管理の換気設定にも対応した、連続的なモニタリング方法を検討することで、肺障害の部位や経時的変化をとらえることができれば、急性呼吸不全や慢性呼吸障害増悪時の管理にきわめて有用な新しいモニタになるものと考えられる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究に御指導、御校閲を賜りました横浜市立大学医学部山田芳嗣教授、宮下徹也先生に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Kharitonov SA, Barnes PJ: Exhaled markers of pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, **163**: 1693-1722, 2001.
- 2) Silkoff PE: Noninvasive measurement of airway inflammation using exhaled nitric oxide and induced sputum. *Clin Chest Med*, **21**: 345-360, 2000.
- 3) Kharitonov SA, Yates D, et al: Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet*, **343**: 133-135, 1994.
- 4) Massaro AF, Gaston B, et al: Expired nitric oxide levels during treatment of acute asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, **152**: 800-803, 1995.
- 5) Smith AD, Cowan JO, et al: Diagnosing Asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, **169**: 473-478, 2004.
- 6) Adrie C, Monchi M, et al: Exhaled and nasal nitric oxide as a marker of pneumonia in ventilated patients. *Am J Respir Crit Care Med*, **163**: 1143-1149, 2001.
- 7) The official statement of the American Thoracic Society. Recommendations for Standardized Procedures for the Online and Offline Measurement of Exhaled Lower Respiratory Nitric Oxide and Nasal Nitric Oxide in Adults and Children-1999. *Am J Respir Crit Care Med*, **160**: 2104-2117, 1999.
- 8) Shinkai M, Suzuki S, et al: Analysis of Exhaled Nitric Oxide by the Helium Bolus Method. *Chest*, **121**: 1847-1852, 2002.
- 9) Silkoff PE, McClean PA, et al: Marked flow-dependence of exhaled nitric oxide using a new technique to exclude nasal nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med*, **155**: 260-267, 1997.
- 10) 一ノ瀬正和, ほか: 呼気ガス分析法. 生体内一酸化窒素 (NO) 実験プロトコール, 第20章: 252-257, 2000.
- 11) 駒木裕一, 杉浦久敏, ほか: 臨床検査としての NO, 呼吸と循環, **51**: 595-602, 2003.
- 12) Reissmann R, Pothmann W, et al: Resistance of Laryngeal mask airway and tracheal tube in mechanically ventilated patients. *Br J Anaesth*, **85**: 410-416, 2000.
- 13) Moncada S, Higgs A: The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med*, **329**: 2002-2012, 1993.
- 14) Nathan C, Xie QW: Nitric oxide synthases: roles, tools, and controls. *Cell*, **78**: 915-918, 1994.
- 15) Szabo C, Salzman AL, et al: Endotoxin triggers the expression of an inducible isoform of nitric oxide synthase and the formation of peroxynitrate in the rat aorta in vivo. *FEBS Lett*, **363**: 235-238, 1995.
- 16) Beckman JS, Beckman TW, et al: Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrate: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA*, **87**: 1620-1624, 1990.
- 17) Tsoukias NM, George SC: A two-compartment model of pulmonary nitric oxide exchange dynamics. *J Appl Physiol*, **85**: 653-666, 1998.
- 18) Soejima K, Traber LD, et al: Role of nitric oxide in permeability after combined burns and smoke inhalation injury. *Am J Respir Crit Care Med*, **163**: 745-752, 2001.
- 19) Tornberg DC, Bjorne H, et al: Multiple single-breath measurements of nitric oxide in the intubated patient. *Am J Respir Crit Care Med*, **168**: 1210-1215, 2003.

Abstract

ANALYSIS OF SINGLE BREATH MEASUREMENT
TO OBTAIN EXHALED NITRIC OXIDE CURVES IN VENTILATED PATIENTS

Kyota NAKAMURA

*Department of Anesthesiology and Critical Care Medicine
Yokohama City University Graduate School of Medicine*

Exhaled nitric oxide is a marker of airway inflammation and lung injury. Exhaled NO values vary considerably with exhalation flow rate. Therefore, standardization of exhalation flow is critical for obtaining reproducible measurements. In ventilated patients, it is difficult to standardize the exhalation flow rate, and a detailed method of exhaled NO measurements has not yet been found. In a previous study, in natural airway patients, characterized exhaled NO curves were obtained by a single breath maneuver with breath-holding and constant flow exhalation. The exhaled NO curves are divided into a dead space (phase 1), a mixture of airway and alveolar gas (phase 2), and the alveolar plateau (phase 3). The aim of this study was to develop a technique for obtaining characterized exhaled NO curves in ventilated patients.

Five patients that underwent planned operations under general anesthesia were enrolled. During general anesthesia, exhaled NO was continuously measured under normal ventilation ($VT = 10\text{ml/kg}$, $f = 10\text{bpm}$, $I:E = 1:2$, $T_{\text{pause}}/T_i = 10\%$) and breath-holding ventilation ($VT = 15\text{ml/kg}$, $f = 4\text{bpm}$, $I:E = 2:1$, $T_{\text{pause}}/T_i = 50\%$) with an expiratory resistance tube to produce the constant flow exhalation.

During normal ventilation, expiratory flow rate decelerated and exhaled NO curves showed a small peak ($5.8 \pm 2.7\text{ppb}$) in phase 1 and 2 (dead space and airway), and then increased slowly ($6.0 \pm 4.2\text{ppb}$) in phase 3 (alveolar gas). In constant flow exhaled ventilation, exhaled NO curves showed a large peak ($20.8 \pm 9.9\text{ppb}$) in phase 2 and decreased gradually to a constant plateau ($6.0 \pm 2.7\text{ppb}$) in phase 3. Airway gas was clearly distinguishable from alveolar gas ($p = 0.023$).

We used an expiratory resistance to produce constant expiratory flow in the ventilated patients. Breath-holding ventilation with expiratory resistance showed exhaled NO curves comparable to those of previous studies. This method during mechanical ventilation can be useful in differentiating airway and alveolar inflammation.