

## 小児に特異的な疾患における NO 代謝産物の測定意義

浦 島 崇 小 川 潔

東京慈恵会医科大学小児科学講座  
(指導：衛藤義勝教授)

(受付 平成 16 年 2 月 14 日)

### NITRIC OXIDE-RELATED COMPOUNDS IN DISEASES OCCURRING MAINLY IN CHILDREN

Takashi URASHIMA and Kiyoshi OGAWA

*Department of Pediatrics, The Jikei University School of Medicine*

Nitric oxide (NO) is a strong vasodilator but its function is not clear. Recently, the relation of NO and vascular remodeling was clarified. However, measuring NO *in vivo* is difficult because it is rapidly metabolized. Therefore, we measured nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) instead of NO in diseases occurring mainly in children. In congenital heart disease with pulmonary hypertension, levels of  $\text{NO}_3^-$  were high but decreased rapidly after surgical repair. This result shows that increased pulmonary blood flow strongly affects NO production. In patients who had had Kawasaki disease for at least 10 years, levels of  $\text{NO}_3^-$  were low. Some patients presented with hypertrophy of intima-media thickness (IMT). We speculate that in patients with a history of severe Kawasaki disease, in which production of  $\text{NO}_3^-$  is inhibited by vascular endothelial dysfunction, vascular remodeling occurs. Levels of  $\text{NO}_3^-$  are higher in patients with pituitary short stature than in patients with nonpituitary short stature. Although the reason for this difference is unclear, NO has been reported to inhibit growth-hormone secretory cells and may contribute to the development of idiopathic short stature.

(Tokyo Jikeikai Medical Journal 2004 ; 119 : 243-51)

Key words : nitric oxide, congenital heart disease, pulmonary hypertension, Kawasaki disease, short stature

#### I. 緒 言

F. Murad らが 1998 年のノーベル医学・生理学賞を受賞したのを機に、生体内における血管拡張物質の 1 つとして一酸化窒素 (以下 NO) の役割が注目されるようになった。現在では単なる生体内における血管拡張物質としてだけではなく、血管リモデリングへの関与から、その治療への応用も研究されている。また小児科の分野において先天性心疾患による肺高血圧症、新生児に認められる胎便吸引症候群、新生児遷延性肺高血圧症に対して NO 吸入療法が導入されこれらの疾患の予後

を劇的に改善した。しかし NO は生体内において不安定な物質であり、数秒で酸化されることから NO 自体の測定は極めて困難である。ESR 法などが NO の測定法として知られているが、大規模の施設と煩雑な検体処理が必要なため臨床応用は行われていない。そこで我々は NO の最終代謝産物であり生体内において安定な硝酸イオン (以下  $\text{NO}_3^-$ ) を測定することにより小児に特徴的な疾患との関連性を検討した。NO は血管内皮型 (eNOS)、誘導型 (iNOS)、神経型 (nNOS) の異なった合成酵素を介して産生されることが知られている<sup>1)2)</sup>。eNOS は血管内皮細胞、iNOS は血小

板, 単球などに発現する。nNOS は神経型と命名されているもののその詳細な発現メカニズムは明らかになっていない<sup>3)-5)</sup>。eNOS はおもに NO を誘導することによって血管拡張作用を呈する。NO 合成酵素阻害薬である NG-monomethyl L-arginine (L-NMMA) を投与することによって肺微小血管壁厚の肥厚と血管周囲線維化の増大が生じる。また NO 産生が低下した状態では, 酸化ストレスが増大し NF- $\kappa$ B の増加を介して肺動脈平滑筋の肥厚による血管リモデリングと微小血管における筋性動脈の増加を引き起こすことが報告されており, eNOS は平滑筋細胞の遊走と増殖を抑制することにより血管機能の恒常性を維持する重要な因子であると考えられる<sup>6)7)</sup>。iNOS は感染症などのストレスによって発現し NO を誘導することによって抗菌作用を呈すると考えられている<sup>8)</sup>。

今回対象とした疾患は先天性心疾患, 川崎病, 低身長である。左右短絡より肺体血流比が増加する心室中隔欠損などの先天性心疾患では肺血流の増加によって肺動脈血管内皮に対するずり応力が増強し, 血管内皮細胞のメカノセンサーを介して eNOS の発現が促進され NO 産生量が増加することが予想される。これにより NO 産生量を反映して血中 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> が変化するか検討した。さらに多くの先天性心疾患に対して術前に心臓カテーテルを施行し血管抵抗, 肺体血流比を算出している。これらの検査結果は形態評価のみならず術後の肺動脈クリーゼのリスク予期, また高い血管抵抗値を呈した場合, Eisenmenger 症候群の診断のもと手術適応外と判断される<sup>9)10)</sup>。NO<sub>3</sub><sup>-</sup> をはじめとした NO 代謝産物はこれらの検査結果と相関性を持ち術前検討因子の 1 つとなりうると報告されている<sup>11)</sup>。この報告では NO<sub>3</sub><sup>-</sup> はグリース法によって測定されている。今回, このグリース法に高速液体クロマトグラフィの分離技術を加えたエイコム吸光法を用いて再検討を行った。

川崎病は全身の中小動脈に血管炎を呈し, 冠動脈瘤を合併する小児期に特有の原因不明の疾患である。川崎病は 1969 年に川崎富作博士によって世界第 1 例が報告され, 疾患概念が確立された。現在, 日本国内では年間約 8,000 例の新患が発症している。近年, 冠動脈瘤の合併症を残した川崎病

既往者が若年期から動脈硬化を呈することが病理所見から明らかになっている<sup>12)</sup>。川崎病既往者において血管内皮機能のマーカーとして NO<sub>3</sub><sup>-</sup> を測定し, 他のマーカーと比較を行い血管機能の評価を試みた。

低身長の患児では成長ホルモンの適応評価のため NO の前駆体である L-アルギニン負荷を行う。近年, L-アルギニンは次世代の降圧剤として注目されている<sup>13)</sup>。降圧作用の機序は NO の前駆体である L-アルギニンがインスリンを介して血管拡張作用を誘導するためと考えられている<sup>14)</sup>。今回, 正常血圧の小児において L-アルギニン負荷が NO<sub>3</sub><sup>-</sup> の産生に影響を与えるか検討した。

## II. 対象と方法

### 1. 対象

#### 1) 肺高血圧を伴った先天性心疾患における検討

左右短絡に高度の肺高血圧 (肺体血圧比 = Pp/Ps > 0.8) を合併し 1999 年 11 月から 2001 年 12 月に心臓カテーテルおよび手術目的で埼玉県立小児医療センターに入院した 12 例 (平均 6.9 カ月, 男児 8 例, 女児 4 例, Down 症候群 8 例を含む) で末梢血中 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> を手術の前後で比較した。12 例のうち 7 例が心室中隔欠損, 5 名が房室中隔欠損であった。コントロール群は同院を精査目的で受診し左右短絡を伴わない先天性心疾患と診断された患児 11 名 (平均 2.9 カ月)。疾患はファロー四徴症 3 名, 肺動脈閉鎖 3 名, 右心型単心室 1 名, 肺動脈狭窄 1 名, 大動脈弓離断術後 1 名, 動脈管開存術後 1 名, 大動脈縮窄 1 名であった。肺高血圧の患児は全例で利尿剤としてフロセミド, スピロノラクトン, 強心剤としてメチルジゴキシンを併用していた。肺高血圧群とコントロール群のいずれも血清 BUN と Cr は正常範囲であった。また対象症例と別に心内修復術後に肺高血圧が残存した症例と ASD に原発性肺高血圧症を合併した症例に対して酸素療法を施行し血中心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP), 脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP), NO<sub>3</sub><sup>-</sup> の推移を検討した。

#### 2) 遠隔期川崎病における検討

川崎病発症後 10 年以上経過した 10 例 (男子 6 名, 女児 4 名) に関して検討を行った。10 例とも

に心臓カテーテル検査目的で入院し平均年齢 14 歳 9 カ月、川崎病発症後平均 12.5 年であった。全例、急性期に冠動脈瘤を呈し、その後も冠動脈瘤または狭窄病変が残存していた。コントロールは学校健診で不整脈を指摘され精査目的で来院した患児 (平均年齢 14.3 歳) とした。

### 3) 低身長患者における検討

2000 年 4 月から 2001 年 3 月に埼玉県立小児医療センターへ低身長精査のため L-arginine 負荷 (5 ml/kg) を施行した 10 名 (男児 9 名, 女児 1 名, 平均 8 歳 8 カ月)。全例で血圧, 血中 BUN, Cr は正常, 基礎疾患は Noonan 症候群, 早産低出生体重児が各 1 名であった。

## 2. 方法

$\text{NO}_3^-$  は患児から採血した残血清を用い, 除蛋白した後にエイコム吸光法により行った。従来,  $\text{NO}_3^-$  の測定にはグリース法が広く用いられていたがエイコム吸光法はグリース法に高速液体クロマトグラフィーの分離技術を加えることにより 0.1 pmol の感度で  $\text{NO}_3^-$  を測定することが可能である。 $\text{NO}_3^-$  は化学的に安定しており, 生体内においてはそのままの状態ですら尿中に排泄されるため, 腎機能の低下を認めない患児においては内因性 NO の産生量を反映すると考えられる。

血管内中膜複合体厚 (IMT) の測定は ALOKA 12 MHz のプローベを用いて左右の頸動脈の IMT を測定した。片側 2 カ所以上で測定を行い, その平均値を測定値とした。

### 3. 統計処理方法

有意差の検定には t 検定を用いて  $p$  値が 0.05 未満の場合を有意差ありとした。

## III. 結 果

### 1. 肺高血圧を伴った先天性心疾患における検討

術前の  $\text{NO}_3^-$  は  $5,928.2 \pm 1,654.6$  (average  $\pm$  SD)  $\mu\text{mol/ml}$ , 手術直後の  $\text{NO}_3^-$  は  $5,681.6 \pm 1,352 \mu\text{mol/ml}$ , 術後 2 週間の  $\text{NO}_3^-$  は  $4,148.4 \pm 979.6 \mu\text{mol/ml}$  であった。術前の  $\text{NO}_3^-$  は術後 2 週間後の結果と比べて有意に高値であった ( $p < 0.005$ )。さらに肺高血圧群術前の  $\text{NO}_3^-$  は, コントロール群 ( $3,882.7 \pm 1,565.8 \mu\text{mol/ml}$ ) に比較して有意 ( $p < 0.01$ ) に高値であった。術前に施行した心臓カテーテル検査所見と  $\text{NO}_3^-$  の相関関係を

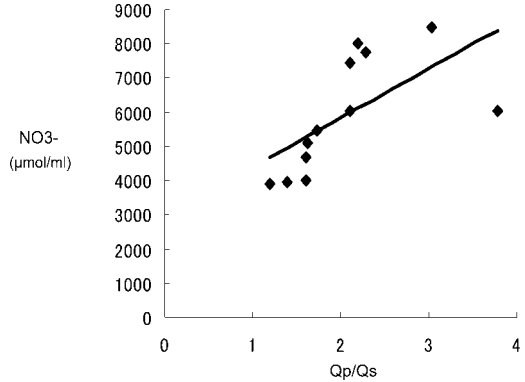


Fig. 1. Correlation of Qp/Qs calculated in cardiac catheterization and preoperative  $\text{NO}_3^-$ .

The value of  $\text{NO}_3^-$  was  $5,928.2 \pm 1,654.6$  (Average  $\pm$  Standard deviation). The value of Qp/Qs was  $2.05 \pm 0.73$ . There was significant correlation ( $r = 0.627$ ;  $y = 1,430.1x + 2,969.6$ ). It was thought that increased pulmonary blood flow let shearing stress for pulmonary artery increase, and the concentration of  $\text{NO}_3^-$  was increased.

Fig. 1 に示す。術前の  $\text{NO}_3^-$  と Qp/Qs は相関関係を認めた。

在宅酸素療法を施行した 2 例は酸素療法開始後に血中 BNP の低下, 血中  $\text{NO}_3^-$  の上昇 (Fig. 2) を認め心エコーで肺高血圧の低下を確認し酸素療法を漸減中止した。在宅酸素療法中止後も肺高血圧の再燃は認めなかった。

### 2. 遠隔期川崎病における検討

川崎病発症後 10 年以上経過した 10 例において Body mass index (BMI) は平均 21.3 で 25 以上の肥満患者は認めなかった。動脈硬化のマーカーとしてフィブリノーゲン, ホモシステイン, LDL コルステロール, リポプロテイン A, vWF, HDL コルステロールを測定した。結果は 1 例を除き正常であった。異常値を示した 1 例はリポプロテインが 60 mg/dl と軽度上昇, vWF が 40% と低下を認めた。動脈硬化, 血管リモデリングの指標として測定した頸動脈の IMT は平均  $0.55 \pm 0.22$  mm で若年者での異常値といわれる 0.6 mm 以上の肥厚は 3 名で認めた (Fig. 3)。IMT と血中フィブリノーゲン値は  $r = 0.61$  で相関を認めた (Fig. 4)。 $\text{NO}_3^-$  と IMT,  $\text{NO}_3^-$  と血中フィブリノーゲンは相関関係を認めなかった。他の動脈硬化マーカーと IMT,  $\text{NO}_3^-$  は相関関係を認めな

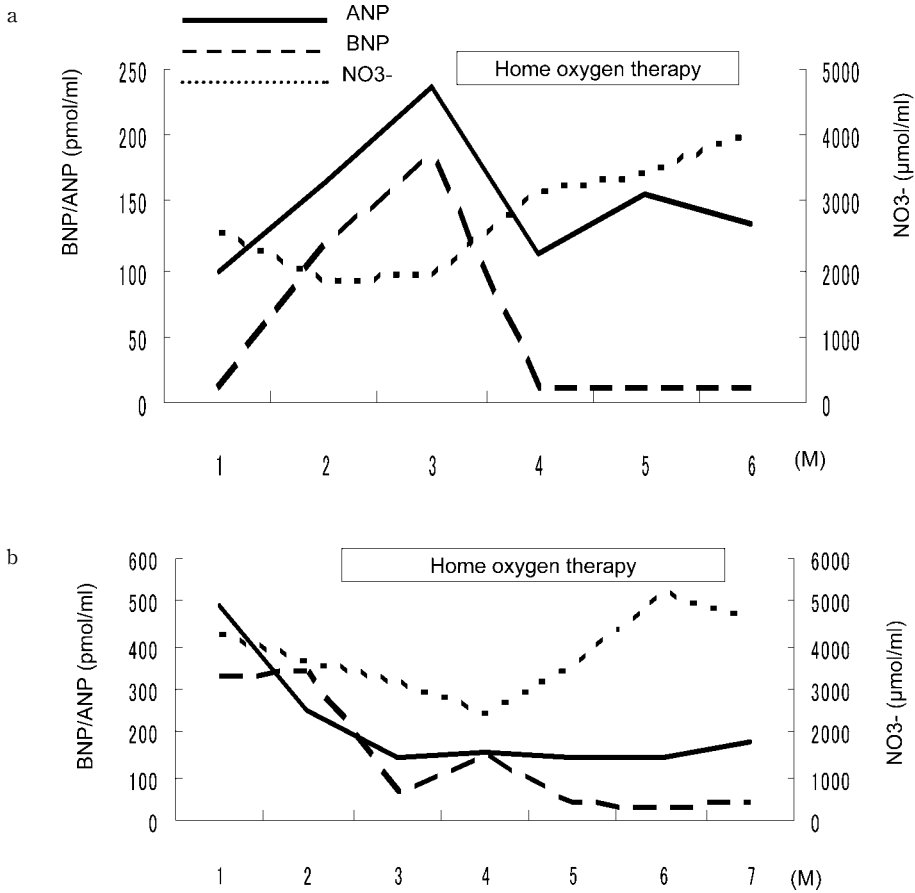


Fig. 2a, b. Alteration of ANP, BNP and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> in 2 patients treated with home oxygen therapy (HOT). Value of ANP and BNP were decreased immediately after HOT. It was thought that right ventricle load decreased due to pulmonary vasodilator action by oxygen, and the value of BNP was decreased. And it was thought that right ventricle and diastolic pressure, right atrium pressure improved by what right ventricle load improved, and the value of ANP was decreased. It was thought that the value of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> was raised by increase of pulmonary blood flow by oxygenation.

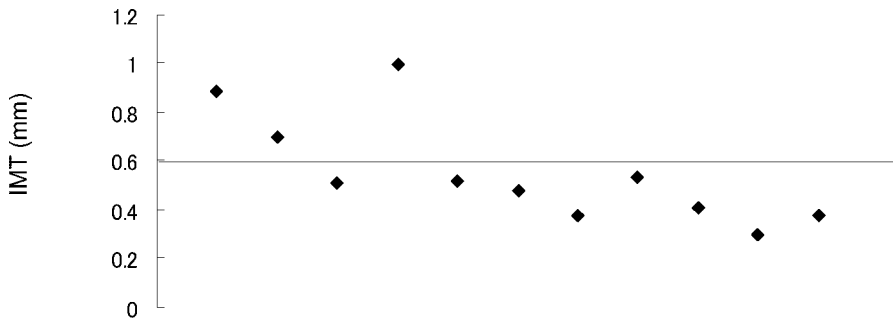


Fig. 3. Intima-media thickness (IMT) of internal carotid artery. There were 3 patients who have thickness more than 0.6 mm that is an abnormal value of adolescent. This finding showed some patients contracted Kawasaki disease passed more than ten years had thick vascular wall.

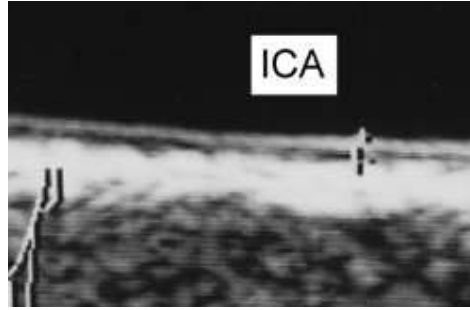


Fig. 3b. A figure of IMT of internal carotid artery.  
 IMT was measured by distance from echo-rich area of vascular lumen to echo-poor area.

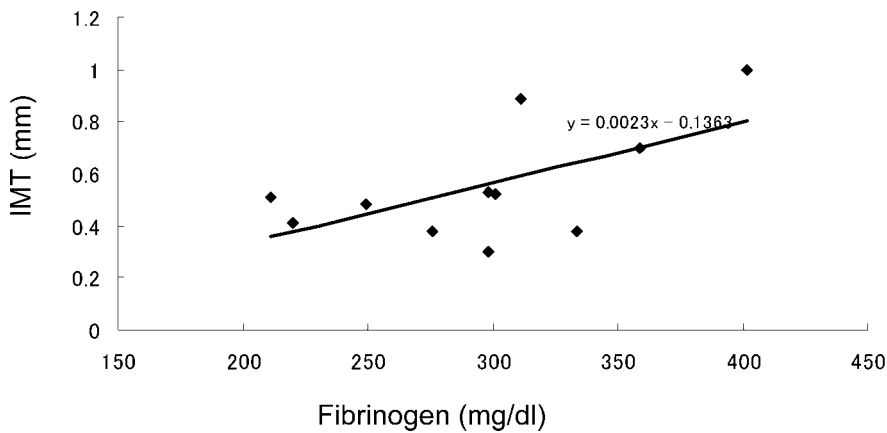


Fig. 4. Correlation of blood fibrinogen and IMT.  
 The value of fibrinogen was  $296.4 \pm 57.0$ . The value of IMT was  $0.55 \pm 0.22$ .  
 There was significant correlation ( $r=0.61$ ;  $y=0.0023x-0.1363$ ). Fibrinogen was thought to be a marker of vascular hypertrophy in Kawasaki disease same as arterial sclerosis.

かった。一酸化窒素関連物質( $\text{NO}_3^-$ )は  $2,008 \pm 706 \mu\text{mol/ml}$  でコントロール ( $2,624 \pm 718 \mu\text{mol/ml}$ ) に比べて低値であった。

### 3. 低身長における検討

アルギニン負荷前と負荷後の最大値で  $\text{NO}_3^-$  は有意差を認めなかった ( $2,296.4 \pm 294.4 \mu\text{mol/ml}$  vs  $2,440.2 \pm 243.2 \mu\text{mol/ml}$ ;  $p=0.23$ )。負荷前後で収縮期血圧 ( $99.2 \pm 7.3 \text{ mmHg}$  vs  $100.2 \pm 5.8 \text{ mmHg}$ )、拡張期血圧 ( $55.6 \pm 5.1$  vs  $57.2 \pm 3.9 \text{ mmHg}$ ) とともに有意な変化を認めなかった。また L-アルギニン、GHRH、LHRH の負荷によって下垂体性低身長と診断されたのは 5 名、非下垂体性低身長と診断されたのは 5 名であった。L-アルギニン負荷前後の  $\text{NO}_3^-$  の値を Table 1 に示す。負荷前  $\text{NO}_3^-$  と負荷後最大値はともに下垂体性低

Table 1. Alteration of  $\text{NO}_3^-$  in L-arginine load before and after  $\text{NO}_3^-$  in before load and max value after load was significant increased in pituitary short stature.

	Before load	Max value After load
pituitary short stature	2,527.4	2,668.4
Non-pituitary short stature	2,066.4	2,312.4
P value	0.026	0.035

( $\mu\text{mol/ml}$ )

身長で有意に高値であった。

#### IV. 考 察

血管内皮増殖因子や各種サイトカインは血管内皮細胞、血管平滑筋の遊走と増殖によるリモデリングを誘導し、肺の微小血管においては血管壁厚の増加と平滑筋細胞に富む筋性動脈の増加作用によって血管内腔の狭小化を呈し肺血管抵抗を上昇させることが報告されている<sup>15)</sup>。この形態の変化が肺高血圧の進行に深く関与すると考えられる。NOはこれらのリモデリングを抑制し肺血管の閉塞性病変への進行を防ぐ作用があると報告されている<sup>16)</sup>。肺高血圧の症例に認められたNO<sub>3</sub><sup>-</sup>の上昇は、血管内皮細胞に対して増加した血流による物理的刺激(ずり応力)が血管内皮細胞のメカノセンサーを介して作用し血管内皮型NO合成酵素の発現が促進され内因性のNO産生が正常以上に誘導されたものと考えられる<sup>17)18)</sup>。

今回検討した肺高血圧群の症例は、心臓カテテル検査で肺体血流比(Qp/Qs)が2.0以上、Pp/Psは肺高血圧群全例で0.8以上であり、肺血流の増加に伴う高度の肺高血圧症であった。高度の肺高血圧を放置すると不可逆的な閉塞性病変(Eisenmenger症候群)を呈する可能性が高く、早期に根治的心内修復手術もしくは姑息的に肺血流を減少させる手術(肺動脈絞扼術)が必要となる。Eisenmenger症候群の肺血管の病理所見では肺小動脈の内膜、中膜における細胞性肥厚と線維性肥厚が認められる。これらの所見は肺血流の増加による物理的な刺激が長期間にわたり加えられ、広範な血管内皮の障害を引き起こし、血管内皮からのNO産生が低下し血管平滑筋の肥厚、遊走が誘導された影響と障害された血管内皮細胞の治癒機転における線維化によるものと考えられる。今回検討した症例でNO<sub>3</sub><sup>-</sup>が低下していた症例はなく、心臓カテテル検査でEisenmenger症候群と診断された症例も存在しなかった。

今回の検討では肺体血流比とNO<sub>3</sub><sup>-</sup>の相関性を認めた。通常、左右短絡を呈する疾患において術前に心臓カテテルを施行する。これは肺血管抵抗と肺体血流比を測定することによって手術適応を評価するためである<sup>19)</sup>。肺血管抵抗が高い症例はEisenmenger症候群と診断され手術適応外

と診断される<sup>9)10)</sup>。またNO<sub>3</sub><sup>-</sup>は残存する肺血管機能評価に有用である可能性があり、今後も検討が必要と思われる。

酸素療法を施行した2例ともに血中ANP、BNPの低下、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>の上昇を認めた。これは酸素療法による肺動脈の拡張作用で肺微小血管と肺小動脈の内腔が広がったことで肺血管抵抗が緩和され肺高血圧が改善し右心室への負担も軽減したため、心室負荷の指標となるBNPが低下したと考えられる<sup>20)</sup>。肺血流の低下はeNOSの発現を減少させることが報告されておりNO<sub>3</sub><sup>-</sup>の上昇は肺動脈内腔の拡大による肺血流の増加によって上昇したものと考えられる<sup>21)–23)</sup>。

先天性心疾患による左右短絡で誘導される2次性肺高血圧の根治的な治療は外科的治療である。しかし喉頭軟化症などの合併奇形、感染症などによって早期に根治手術を行うことが困難な症例では、肺高血圧の進行を抑えEisenmenger症候群に至らないための治療が必要である。NOの産生が維持されれば平滑筋細胞の肥厚、遊走が抑制され肺高血圧の進行を防ぐことが理論的に可能である。NOの基質であるL-アルギニン、PGI<sub>2</sub>アナログ等<sup>24)</sup>の治療効果が*in vitro*で検討されている。

また川崎病とNOの関連性に関して近年いくつかの報告がなされている。池本らは急性期の川崎病において血中のNO代謝産物が上昇すると報告している<sup>25)</sup>。さらにAdewuyaらは川崎病による冠動脈瘤内にiNOSの発現を証明し、その発症に強く関与していると報告している<sup>26)</sup>。

またNOは動脈硬化を起している血管において産生が低下し、これによって血小板凝集、白血球の接着、血栓形成、内皮細胞の肥厚が引き起こされる。また血管平滑筋の肥厚による血管リモデリングが生じる因子となる<sup>27)28)</sup>。とくに血管内皮に発現しているeNOSによって生成されるNOは血管リモデリングに対して抑制的に働くとされている。事実、基礎実験においてeNOSの遺伝子導入で血管リモデリングを抑制した報告がある<sup>29)</sup>。また各種ストレスにより障害を受けた血管内皮機能はeNOSの発現を低下させ、NOの産生あるいはその効果が減弱し、逆にアンギオテンシン、エンドセリンなどの作用が増強する。これら

の相互作用によって炎症、血栓反応が増強し、さらに血管内皮障害が進行するとともに種々の増殖因子が活性化し、血管中膜平滑筋細胞の肥厚、遊走、血管内膜肥厚、間質の線維化による血管リモデリングを促進する<sup>30)</sup>。今回の我々の検討において川崎病発症後10年を経過した症例においてIMTの肥厚とNO<sub>3</sub><sup>-</sup>の低下を認めた。これは頸動脈において血管内皮、中膜の肥厚の存在と、前述のNOの産生量減少に伴う血管リモデリング増悪の可能性を示唆する所見と考えられた。また動脈硬化マーカーは1例を除き正常であり、脂質代謝異常がIMTの肥厚に関与している可能性は否定的であった。

巨大冠動脈瘤を合併する重症型川崎病では病初期から著明な血管内皮細胞の肥厚と線維化を生じ冠動脈狭窄が合併することがある<sup>31)32)</sup>。これは川崎病の長期的予後を左右する因子でありNOを介しての発症メカニズムを含めて今後、検討が必要である。

NOと血管新生に着目した治療方法も臨床応用直前の段階にある。内科領域では粥状硬化に伴う虚血性心疾患に対して血管内皮、中膜の肥厚の抑制、血管新生の促進を促すためにhepatocyte growth factor 遺伝子、vascular endothelial growth factor 遺伝子の導入が新しいstrategyとして注目されている<sup>33)34)</sup>。川崎病においては、その冠動脈狭窄病変に対して経皮的冠動脈形成術等のinterventional catheterization procedureが考慮されることがあるが、とくに年少者において冠動脈が細く手技的に困難でありワーファリン、塩酸チクロピジン、アスピリンによる抗凝固療法が唯一の選択肢となる。しかしながら患児のQOLを向上させる画期的な治療法とは言い難い。生体に対するNO合成酵素の導入も現在研究中であり、これらの遺伝子治療が川崎病に対しても有効である可能性がある。

今後の課題としては川崎病の冠動脈狭窄が血管全層の炎症に伴うものに対して、動脈硬化に伴うものは血管平滑筋の肥厚がその病態の中心であることから発症機序の違いを明確にし治療法の開発に生かすことが挙げられる。

正常血圧の小児においてL-arginine 負荷による血中NO関連物質の誘導、血圧低下は認めな

かった。荒井らの報告<sup>35)</sup>では、腎性高血圧の患者にL-arginineを負荷したところ負荷後30~40分で平均15%の血圧低下が出現し、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>も有意に上昇している。Patelらは、L-arginineの枯渇によって発症した高血圧の場合には外因性L-arginineがNOを強く誘導する可能性を示している<sup>36)</sup>。正常血圧の環境下では外因性L-arginineはNOの産生にほとんど影響を及ぼさないと考えられる。また下垂体性低身長においてNO<sub>3</sub><sup>-</sup>は高値であった。下垂体に存在する成長ホルモン産生細胞であるGH<sub>3</sub>細胞において、成長ホルモンの分泌の過程で内因性NOが抑制的に働くという報告<sup>37)</sup>がある。これらの因果関係は明らかではないが、何らかの形で低身長の発症因子の1つとしてNOが関与している可能性が考えられた。

## 文 献

- 1) Forstemann U, Closs EI, Pollock JS, Nakane M, Schwarz P, Gath I, et al. Nitric oxide synthase isozymes: characterization, purification, molecular cloning and functions. *Hypertension* 1994; 23: 1121-31.
- 2) Nadaud S, Sobrier F. Molecular biology and molecular genetics of nitric oxide synthase genes. *Clin Exp Hypertens* 1996; 18: 113-43.
- 3) Nakazawa K, Kawashima S, Mikami S, Miwa Y, Hirata K, Suematsu M, et al. Endothelial constitutive nitric oxide synthase protein and mRNA. *Am J Pathol* 1996; 148: 1949-56.
- 4) Stuebe DJ, Marletta MA. Mammalian nitrate biosynthesis: mouse macrophages produce nitrite and nitrate in response to *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 7738.
- 5) Kleinert H, Schwarz PM, Forstermann U. Regulation of the expression of inducible nitric oxide synthase. *Biol Chem* 2003; 384: 1343-64.
- 6) Numaguchi K, Egashira K, Takemoto M, Kadokami T, Shimokawa H, Sueishi K, et al. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis causes coronary microvascular remodeling in rats. *Hypertension* 1995; 26: 957-62.
- 7) Garg UC, Hassid A. Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1989; 83: 1774-7.

- 8) Boockvar KS, Granger DL, Poston RM, Maybodi M, Washington MK, Hibbs JB Jr, et al. Nitric oxide produced during murine listeriosis is protective. *Infect Immun* 1994; 62: 1089-100.
- 9) 姫野和家子, 赤木禎治. 手術不適応先天性心疾患患児の管理. *小児科* 2002; 43: 357-63.
- 10) 丹羽公一郎, 立野 滋. Eisenmenger 症候群. *小児内科* 2002; 34(増刊): 178-82.
- 11) Kotake F, Kobayashi J, Sonoda M, Komoda T. Nitric oxide-related compounds in patients with congenital heart defects and pulmonary hypertension. *Pediatr Int* 2000; 42: 249-54.
- 12) 高橋 啓. 心血管の病理: 小児血管炎の病理. *川崎病病理と臨床* 2003; 21: 926-27.
- 13) Giugliano D, Marfella R, Verrazzo G. The vascular effect of L-arginine in humans. *J Clin Invest* 1997; 99: 433-8.
- 14) Bode SM, Boeger R, Alfke H. L-arginine induces nitric oxide-dependent vasodilation in patients with critical limb ischemia. *Circulation* 1996; 93: 85-90.
- 15) Gaile N. Primary pulmonary hypertension. Insights into pathogenesis from epidemiology. *Chest* 1998; 114: 184-94.
- 16) Moncada S. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329: 2002-12.
- 17) Maruyama Y. Continuous low dose NO inhalation does not prevent monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Am J Physiol* 1997; 272: 517-24.
- 18) Tworetzky W. Pulmonary blood flow alters nitric oxide production in patients undergoing device closure of atrial septal defects. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 463-67.
- 19) 朝野晴彦. 心室中隔欠損症. *臨床医* 2001; 27: 1067-70.
- 20) Nagaya N, Nishikimi T, Uematsu M, Satoh T, Kyotani S, Sakamaki M, et al. Plasma brain natriuretic peptide as a prognostic indicator in patients with primary pulmonary hypertension. *J Cardiol* 2001; 37: 110-1.
- 21) Lopes JM, Carvalho M, Moreira ME, Cabral JO. Nitric oxide in the treatment of neonatal pulmonary hypertension. *J Pediatr* 1996; 72: 133-8.
- 22) Du J, Qi J, Zhao B, Li W. Nitric oxide synthase mRNA expression and localization in pulmonary artery of hypoxic pulmonary hypertensive rats. *Chin Med Sci J* 1999; 14: 184.
- 23) Le-Cras TD, Tyler RC, Horan MP. Effects of chronic hypoxia and hemodynamics on endothelial nitric oxide synthase expression in the adult rat lung. *J Clin Invest* 1998; 101: 795-801.
- 24) 丸山一男. Vascular remodeling と NO. 血管と内皮 1999; 9: 63-9.
- 25) Ikemoto Y, Teraguchi M, Ono A, Kino M, Yoshimura K, Kobayashi Y. Serial changes of plasma nitrate in the acute phase of Kawasaki disease. *Pediatr Int* 2003; 45: 421-5.
- 26) Adewuya O, Irie Y, Bian K, Onigu-Otite E, Murad F. Mechanism of vasculitis and aneurysms in Kawasaki disease: role of nitric oxide. *Nitric Oxide* 2003; 8: 15-25.
- 27) Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329: 2002-12.
- 28) Drexler H. Endothelial dysfunction: clinical implication. *Prog Cardiovasc Dis* 1997; 39: 287-324.
- 29) von der Leyen HE, Gibbons GH, Morishita R, Lewis NP, Zhang L, Nakajima M. Gene therapy inhibiting neointimal vascular lesion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 1137-41.
- 30) Oemar BS, Werner A, Garnier JM, Do DD, Godoy N, Nauck M. Human connective tissue growth factor is expressed in advanced atherosclerotic lesions. *Circulation* 1997; 95: 831-9.
- 31) Suzuki A, Miyagawa-Tomita S, Nakazawa M, Yutani C. Remodeling of coronary artery lesions due to Kawasaki disease. *Jpn Heart J* 2000; 41: 245-56.
- 32) Suzuki A, Miyagawa-Tomita S, Komatsu K, Nishikawa T, Sakomura Y, Horie T. Active remodeling of the coronary arterial lesions in the late phase of Kawasaki disease. *Circulation* 2000; 101: 2935-41.
- 33) Asahara T, Chen D, Tsurumi Y, Kearney M, Rossow S, Passeri J, et al. Accelerated restitution of endothelial integrity and endothelium-dependent function after phVEGF165 gene transfer. *Circulation* 1996; 94: 3291-302.
- 34) Hayashi S. Autocrine-pacacrine effects of over-expression of hepatocyte growth factor gene on growth of endothelial cells. *Biochem*



- Biophys Res Commun 1996 ; 220 : 539-45.
- 35) 荒井純子, 窪田研二, 原 陽子, 佐中 孜, 二瓶 宏. 腎不全患者における L-arginine 負荷後の降圧について. 腎不全 1998 ; 10 : 19-22.
- 36) Patel A, Layne S, Watts D, Patel, Kirchner KA. L-arginine administration normalizes pressure natriuresis in hypertensive Dahl rats. Hypertension 1993 ; 22 : 863-9.
- 37) Tsumori M, Murakami Y, Koshimura K. Growth hormone-releasing hormone and gonadotropine-releasing hormone stimulate nitric oxide production in 17 beta-estradiol rat anterior pituitary cells. Endocrine 2002 ; 17 : 215-8.