

生理活性物質としての一酸化窒素 Nitric Oxide の働き Role of Nitric Oxide as Bioactive Substance

中島かおり, 内田さえ, 會川義寛

Kaori NAKAJIMA, Sae UCHIDA and Yoshihiro AIKAWA

(お茶の水女子大学 人間文化研究科 人間環境科学専攻)

1.はじめに

窒素酸化物 (NO_x) と聞けば, 一般には大気汚染, 光化学スモッグの原因というイメージが先行する. しかしながら, 近年では窒素酸化物の一種である一酸化窒素 (nitric oxide; NO) が生体内に広く分布し, 循環系, 神経系, 免疫系などにおいて重要な働きを担っていることが良く知られるようになった.

シンプルなガス状物質である NO が生体内で生理活性物質として働くという事実は多くの研究者の興味を引き, 1980~90年代にはNOに関する研究が盛んになった. 1992年にはNOが Science 誌の "Molecule of the Year" に選ばれている. そして, 1998年に Murad, Ignarro, Furchgott の3博士は「循環器系にお

ける信号伝達分子としての一酸化窒素 (NO) の発見」の功績に対してノーベル医学・生理学賞を受賞した.

本稿では, NO の生体内における役割について解説する.

2.NO の合成酵素

NO は, 生体内で, アミノ酸の一種である L-アルギニンが NO 合成酵素 (NO synthase; NOS) の働きにより L-シトルリンに変換される際に産生される (図 1). NOS の活性化には NADPH (還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド), FMN (フラビンモノヌクレオチド), FAD (フラビンアデニンジヌクレオチド) およびテトラヒドロビオプテリン (BH₄) が補酵素として働く. さらにカルモジュ

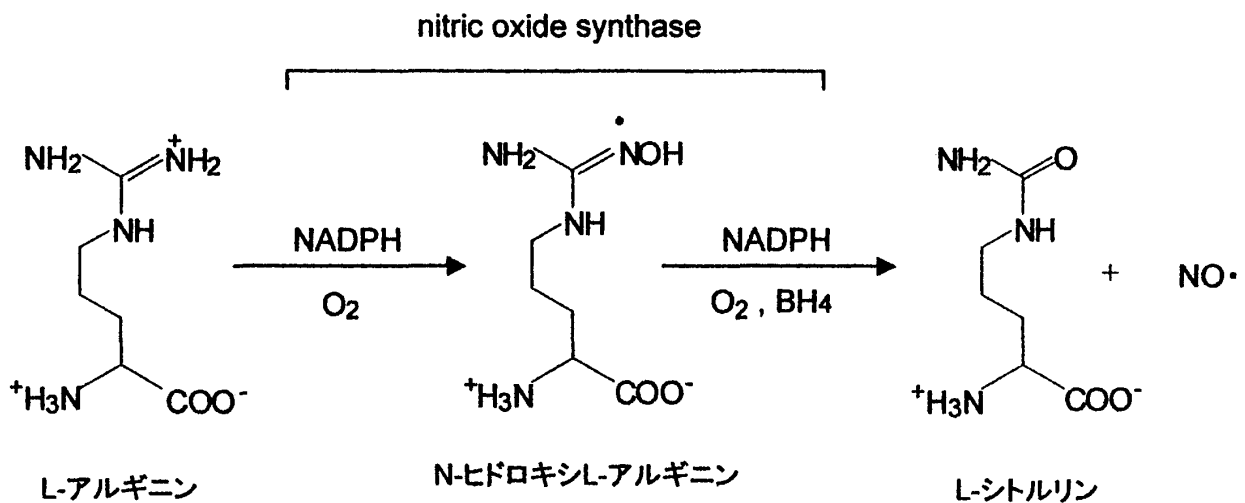


図 1 NO の生合成経路の模式図

リンも重要な役割を果たしており、酵素反応中の電子の転移を担っていると考えられている^{1)~4)}。

NOSには常時酵素活性をもつ構成型 (constitutive NOS: cNOS) と、通常は酵素活性が認められないが、細胞がサイトカインや細菌のリポポリサッカライドなどの刺激を受けると、酵素誘導を受け、一過性に NO を産生する誘導型 (inducible NOS: iNOS) がある。cNOS は細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇によって活性化されるのに対して、iNOS は Ca^{2+} 非依存性である。更に、cNOS には血管内皮型 (endothelial NOS: eNOS) と神経型 (neuronal NOS: nNOS) とがある。eNOS は、はじめ血管内皮細胞で、nNOS は、はじめ神経細胞で見出されたが、その後生体内の他の部位にも存在することが明らかにされてきている⁴⁾。eNOS は脳の海馬の錐体細胞にも存在し、また nNOS は骨格筋、腎臓の緻密斑細胞、肺の上皮細胞、膵臓の β 細胞などにも存在する。iNOS はマクロファージ、肝細胞、グリア細胞等に存在する。このように nNOS, iNOS, eNOS は生体内のさまざまな部位に存在することが分かってきたことから、それぞれ NOS1, NOS2, NOS3 とも呼ばれる⁵⁾。

3. 情報伝達における NO の特徴

一般に細胞間の情報伝達は、神経伝達物質やホルモンなどの化学伝達物質によって行われている。NO による細胞間の情報伝達は、従来の神経伝達物質やホルモンなどとは異なる特徴を持つ。従来の伝達物質は、細胞外に放出されると標的細胞の細胞膜上に存在する特異的な受容体に作用することにより情報が細胞内に伝えられ、生理機能が発現する (図2左)。しかし、NO は標的細胞に作用する場合

受容体を必要としない。NO は低分子で拡散性を有しているため、細胞膜を自由に透過して標的細胞質内に拡散し、可溶性グアニル酸シクラーゼ (guanylate

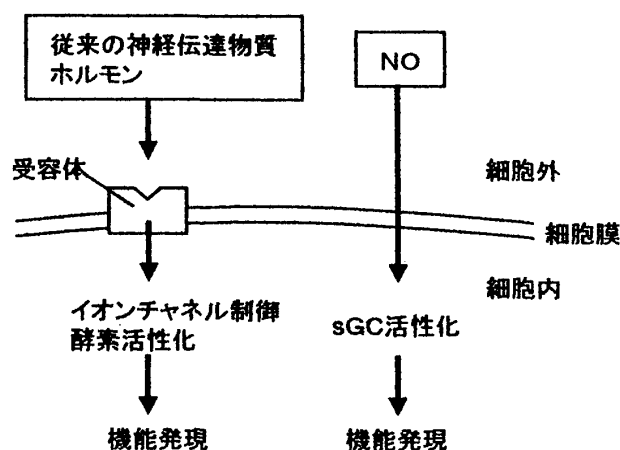


図2 NOによる情報伝達

sGC: 可溶性グアニル酸シクラーゼ

cyclase; GC) と呼ばれる酵素のヘム鉄に結合して活性化することによって細胞機能を発現させる (図2右)。

注) グアニル酸シクラーゼには、膜面分に存在するもの (細胞膜に結合して存在する) と可溶性画分に存在するもの (細胞質中に存在する) とがある。NO は細胞質中に存在する可溶性グアニル酸シクラーゼを活性化する。

• 産生された NO は亜硝酸イオン (NO_2^-) や硝酸イオン (NO_3^-) をはじめとする様々な窒素酸化物になる。NO の半減期は数秒である⁶⁾。

4. 循環系における NO の役割

血管をなるべく傷つけないように取り出し、*in vitro* でアセチルコリン (ACh) を添加すると血管平滑筋は弛緩する。しかし、血管内皮細胞をそぎ落として ACh を添加すると、同じ平滑筋が収縮する。従って、ACh が血管平滑筋に作用すると

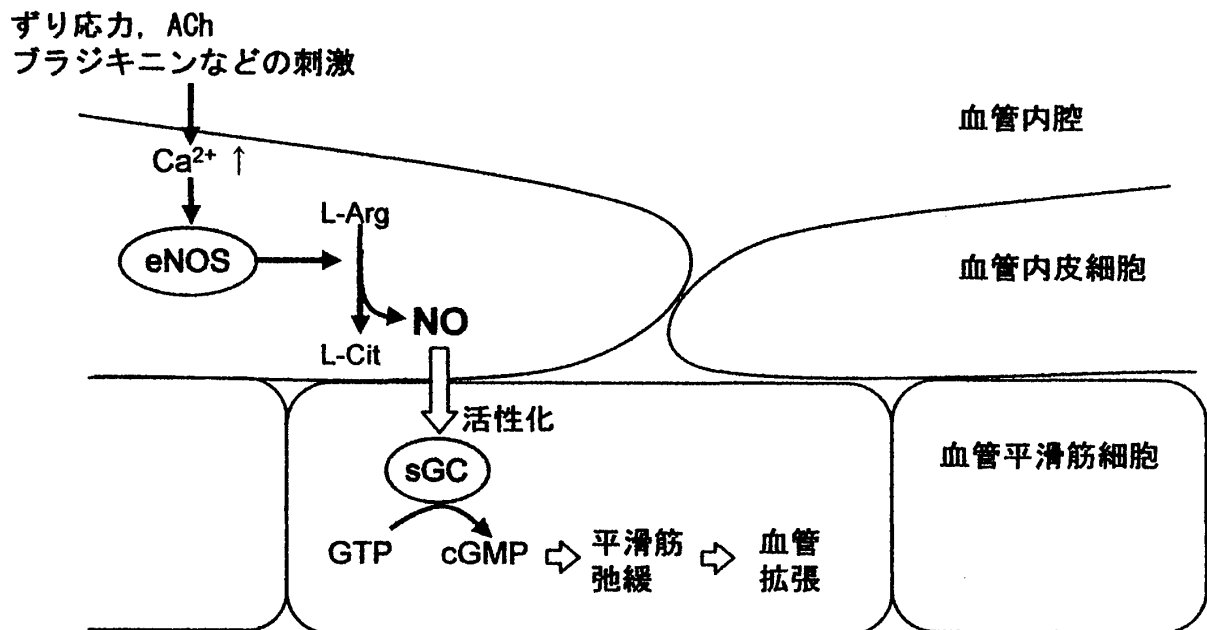


図3 血管内皮細胞におけるNOの役割

eNOS: 血管内皮型 NO 合成酵素, sGC: 可溶性グアニル酸シクラーゼ, cGMP: サイクリックGMP, L-Arg: L-アルギニン, L-Cit: L-シトルリン

平滑筋は収縮するが、AChが血管内皮細胞に作用すると、内皮細胞から血管平滑筋を弛緩させる作用をもつ物質を放出させることが見出された⁷⁾。この物質は内皮細胞由来弛緩因子 (endothelium-derived relaxing factor; EDRF) と呼ばれ、後にNOであることが明らかとなった^{8,9)}。Furchgott, Murad および Ignaro のノーベル医学・生理学賞の受賞はこれらの研究によるものである。

NOによる血管弛緩反応は次のような機構による。血流による物理的刺激(ずり応力)またはAChやブラジキニンなどの化学的刺激により、Ca²⁺が細胞内に流入して血管内皮細胞内に局在するeNOSが活性化して、NOが生合成される。拡散性に血管平滑筋細胞に到達したNOは可溶性GCを活性化し、cyclic GMP (cGMP)を産生する。細胞内でcGMP

濃度が上昇すると、cGMP依存性蛋白質リン酸化酵素(Gキナーゼ)が活性化され、ミオシンホスファターゼが活性化し、血管平滑筋は弛緩する(図3)。これはニトログリセリンなどNO放出薬の抗狭心症作用の機序でもある。

NOはEDRFとしての役割の他に、神経伝達物質として血流調節に寄与している。末梢動脈等にノルアドレナリンやAChの受容体拮抗薬では抑制されないNANC (non-adrenergic non-cholinergic) 神経が存在していることは以前から知られていた。その神経伝達物質が何であるかは長い間不明であったが、1990年代にその一部がNOであることが明らかとなった¹⁰⁾。NOを神経伝達物質とするNANC神経による血管の支配は脳動脈、腎動脈、腸間膜動脈、子宮動脈、陰茎動脈などで知られている¹¹⁾。

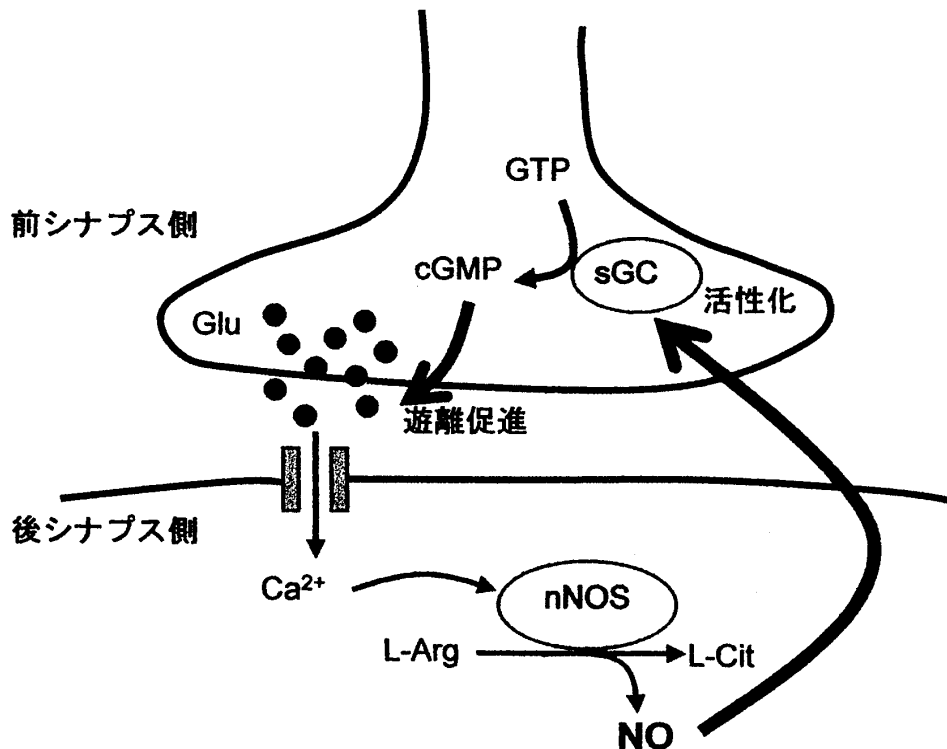


図4 長期増強におけるNOの役割

sGC: 可溶性グアニル酸シクラーゼ, cGMP: サイクリック GMP, nNOS: 神経型 NO 合成酵素, L-Arg: L-アルギニン, L-Cit: L-シトルリン, Glu: グルタミン酸

インポテンツ治療薬として話題になったシルデナフィル(商品名:バイアグラ®)はcGMPの分解酵素を阻害することによりNANC神経に支配されている血管平滑筋の弛緩を増強する薬剤であり、陰茎海綿体の血液貯留を起し、勃起を誘発する。シルデナフィルの成功は、NO-cGMP系の制御が、疾患の治療、薬剤の開発としても大きな可能性をもっていることを示した。

5. 中枢神経系におけるNOの役割

中枢神経系においてNOが内在性の伝達物質として働いていることは、1988年のGarthwaiteらが小脳の培養細胞系でNO様物質の遊離を測定した報告によって明らかとなった¹²⁾。

中枢神経系に関するNOの作用としては、海馬の長期増強や小脳の長期抑圧などのシナプス可塑性および脳虚血等にお

ける神経細胞死への関与などが知られている。

5.1 長期増強とNO

記憶・学習と関連する現象として良く知られている長期増強(Long Term Potentiation; LTP)は、シナプス前ニューロンの刺激によって誘発されるシナプス後電位が、シナプス前ニューロンに高頻度刺激を与えた後ではしばらくの間増強する、すなわちシナプス伝達の効率が長期間促進される現象をいう。

LTPは海馬のCA1野切片を用いた研究が多く報告されているが、NOはこのLTPのメディエーターとして働くことが示唆されている。^{13,14)}海馬CA1野錐体細胞に投射する神経線維束を高頻度刺激すると、神経伝達物質としてグルタミン酸が分泌される。このグルタミン酸がシナプス後のグルタミン酸受容体(NMDA

受容体)を刺激することにより、細胞内に Ca^{2+} が流入し、NOSが活性化される。錐体細胞内で産生されたNOは細胞外に拡散して、逆行性にシナプス前終末に作用し、シナプス前終末の可溶性GCを活性化する。シナプス前終末で産生されたcGMPが、シナプス前終末における伝達物質の遊離を促進し、LTPを誘導すると推定されている(図4)¹⁵⁾。

5.2 神経細胞死とNO

脳虚血時に神経細胞死が生じるメカニズムにおいて、NOが関与していることが知られている^{16,17)}。虚血時には、興奮性伝達物質であるグルタミン酸が過剰に遊離され、グルタミン酸受容体(NMDA受容体およびnon-NMDA受容体)が活性化することにより、 Ca^{2+} が細胞内に流入する。持続的に細胞内が高 Ca^{2+} 状態に維持されることにより、nNOSが活性化され、一時に多量のNOが神経細胞で産生される。NOは、cGMP産生促進などの生理的応答を引き起こすが、同時に過剰なNOがラジカル反応により細胞膜やDNAの損傷を引き起こし、神経細胞死を誘発する。NO自身の毒性はそれほど強くはないが、スーパーオキシド($\text{O}_2^{\cdot-}$)と反応することにより、非常に毒性の強いペルオキシナイトライト(ONOO^-)が生成される。ペルオキシナイトライトは瞬時に開裂してヒドロキ

シラジカル(OH^{\cdot})を生成する(図5)。このヒドロキシラジカルは非常に毒性の高いラジカル種であり、NOの神経毒性の原因として想定されている^{16,17)}ほか、脂質の過酸化、DNA開裂などといった強い細胞毒性を示す¹⁸⁾。

一方、NOはNMDA受容体の調節部位の一つである酸化還元部位に結合して、NMDA受容体機能を抑制することにより、NOの過剰産生を抑制し、グルタミン酸による神経細胞死を防御する方向にも働くことも知られている¹⁹⁾。

6. 免疫系におけるNOの役割

外来性の細菌等の感染に対する生体防御機構の一つとして、細菌成分のリポポリサッカライドや $\text{INF}\gamma$ (インターフェロン γ)や $\text{TNF}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ (インターロイキン-1 β)などの炎症性サイトカインによってマクロファージなどに存在するiNOSが誘導されて大量のNOを産生する²⁰⁾。産生されたNOは活性酸素($\text{O}_2^{\cdot-}$)と反応することによって、毒性を発揮し、異物を排除しようとする役割を持つ。

7. おわりに

以上述べてきたように、NOは生体内で広く分布し、血管系、神経系、免疫系などでさまざまな役割を果たしている。NOは血管平滑筋を弛緩して循環系を調節したり、生体防御系機構に関与するように生体にとって不可欠な役割をもつと同時に、神経細胞死を誘発するという、生体にとって悪い作用を併せ持つことは興味深い。

【参考文献】

- 1) Bredt DS & Snyder H: Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron* 8, 3-11,

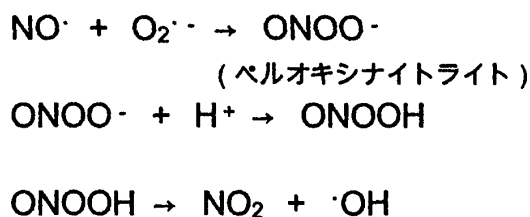


図5 NOと活性酸素の反応

- 1992.
- 2) Brecht DS & Snyder H: Nitric oxide: A physiologic messenger molecule. *Ann Rev Biochem* 63, 175-195, 1994.
 - 3) Klatt P et al: Characterization of heme-deficient neuronal nitric-oxide synthase reveals a role for heme in subunit dimerization and binding of the amino acid substrate and tetrahydrobiopterin. *J Biol Chem* 271, 7336-7342, 1996.
 - 4) 中根正樹: NO 合成酵素の生化学. In 「NO」, 戸田昇編, メジカルビュー社, 東京, pp.14-27, 1995.
 - 5) Moncada, S et al: XIV. International Union of Pharmacology Nomenclature in Nitric Oxide Research. *Pharmacological Reviews* 49, 137-142, 1997.
 - 6) 戸田 昇: NO 発見のいきさつ. In 「NO」, 戸田昇編, メジカルビュー社, 東京, pp. 2-12, 1995.
 - 7) Furchgot, RF & Zawadzki JV: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288, 373-376, 1980.
 - 8) Ignarro LJ et al: Endothelium-derived relaxing factor produce and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 84, 9265-9269, 1987.
 - 9) Murad F et al: Guanylate cyclase: activation by azide, nitro compounds, nitric oxide, and hydroxyl radical and inhibition by hemoglobin and myoglobin. *Adv Cyclic Nucleotide Res* 9, 145-158, 1978.
 - 10) Toda N & Okamura T: Role of nitric oxide in neurally induced cerebroarterial relaxation. *J Pharmacol Exp Ther* 258, 1027-1032, 1991.
 - 11) 岡村富夫, 安屋敷和秀, 戸田 昇: NO 作動性神経による血管系の機能調節, *実験医学*, 17, 935-940, 1999.
 - 12) Garthwaite J et al: Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intercellular messenger in the brain. *Nature* 336, 385-388, 1988.
 - 13) Doyle C et al: The selective neuronal NO synthase inhibitor 7-nitro-indazole blocks both long-term potentiation and depotentiation of field EPSPs in rat hippocampal CA1 *in vivo*. *J Neurosci* 16, 418-424, 1996.
 - 14) Izumi Y et al: Inhibition of long-term potentiation by NMDA-mediated nitric oxide release. *Science* 257, 1273-1276, 1992.
 - 15) O'Dell TH et al: Tests of the roles of two diffusible substances in long-term potentiation: Evidence for nitric oxide as a possible early retrograde messenger. *Proc Natl Acad Sci USA* 88, 11285-11289, 1991.
 - 16) 赤池昭紀: 神経に対する NO 作用の二面性. *ファルマシア* 33, 502-506, 1997.
 - 17) Choi DW: Nitric oxide: foe or friend to the injured brain? *Proc Natl Acad Sci USA* 90, 9808-9812, 1993.
 - 18) 鈴木敬一郎, 谷口直之: NO: 活性酸素, 抗酸化酵素とのクロストーク. In 「NO の生理作用と疾患」, 谷口直之, 鈴木敬一郎編, 羊土社, pp.12-17, 1999.
 - 19) Lipton SA et al: A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature* 364, 626-632, 1993.
 - 20) 赤池孝章, 前田浩: NO の生理活性(1) 感染, 炎症, 免疫と NO. *消化器内科*, 14, 671-680, 1999.