

審議結果報告書

平成 20 年 6 月 2 日
医薬食品局審査管理課

[販 売 名] アイノフロー吸入用 800ppm
[一 般 名] 一酸化窒素
[申 請 者] アイノ セラピューティックス エルエルシー
[申請年月日] 平成 18 年 11 月 8 日

[審 議 結 果]

平成 20 年 5 月 26 日に開催された医薬品第一部会において、本品目を承認して差し支えないとされ、薬事・食品衛生審議会薬事分科会に上程することとされた。

なお、本品目は生物由来製品及び特定生物由来製品に該当せず、再審査期間は 10 年とし、原体及び製剤ともに劇薬に該当するとされた。

国内での治験症例が極めて限られていることから、製造販売後、一定数の症例に係るデータが集積されるまでの間は、全症例を対象に使用成績調査を実施することにより、本剤使用患者の背景情報を把握するとともに、本剤の安全性及び有効性に関するデータを早期に収集し、本剤の適正使用に必要な措置を講じるため、全例調査を行うことを承認条件とした。

審査報告書

平成 20 年 5 月 2 日

独立行政法人 医薬品医療機器総合機構

承認申請のあった下記の医薬品にかかる医薬品医療機器総合機構での審査結果は、以下のとおりである。

記

- [販 売 名] アイノフロー吸入用 800ppm
(アイノマックス吸入用 800ppm (申請時) から変更)
- [一 般 名] 一酸化窒素
- [申 請 者] アイノ セラピューティックス エルエルシー
選任製造販売業者 エア・ウォーター株式会社 (申請時)
- [申請年月日] 平成 18 年 11 月 8 日 (外国製造医薬品製造販売承認申請)
- [剤型・含量] アルミニウムボンベ (15.7L) 中、一酸化窒素として 800ppm 含有する吸入用ガス
- [申 請 区 分] 医療用医薬品 (1) 新有効成分含有医薬品
- [化学構造] $\cdot\ddot{N}=\ddot{O}:$
分子式: NO
分子量: 30.01
化学名: (日本名) 一酸化窒素
(英 名) Nitric Oxide
- [特 記 事 項] 希少疾病用医薬品 (平成 14 年 10 月 2 日指定)
- [審査担当部] 新薬審査第二部

審査結果

平成 20 年 5 月 2 日

- [販 売 名] アイノフロー吸入用 800ppm
(アイノマックス吸入用 800ppm (申請時) から変更)
- [一 般 名] 一酸化窒素
- [申 請 者] アイノ セラピューティックス エルエルシー
選任製造販売業者 エア・ウォーター株式会社 (申請時)
- [申請年月日] 平成 18 年 11 月 8 日 (外国製造医薬品製造販売承認申請)

[審 査 結 果]

有効性については、日本人を対象とした INOT12 試験において、本薬 20ppm 吸入投与により呼吸サポートの強度 (平均気道内圧と吸入酸素濃度 (FiO_2)) を反映した酸素化の指標である酸素化指数 (OI) の改善が認められ、海外の CINRGI 試験においても体外式膜型人工肺 (ECMO) 適用率がプラセボ群に比べて本薬 20ppm 群で有意に低値を示しており、本薬 20ppm の有効性は示されたと判断する。

安全性については、メトヘモグロビン (MetHb) 血症が特に懸念されるが、専用の吸入装置を用いて適切なモニタリング及び注意喚起のもとで使用されれば、大きな問題はないと考えられる。また、その他の有害事象についても、INOT12 試験において 11 例中 9 例 (81.8%) で 89 件の有害事象が認められたが、そのすべてが重篤な原疾患によるものと判断され、本薬との因果関係は否定されていること、海外臨床試験においても対照群と比較して特に問題となる有害事象は認められないことから、適切な注意喚起のもとで使用されれば、大きな問題はないと考えられた。

本薬の作用機序は、経口硝酸剤と同様一酸化窒素 (NO) による血管拡張作用であり、特段の新規性はないものの、NO ガスを吸入することにより、標的部位である肺血管に直接供給することで、効果的に薬剤を供給し、全身性の副作用を生じにくいという意味で既存の経口硝酸剤に比べて新規性が認められる。

以上、医薬品医療機器総合機構における審査の結果、本品目は、以下の効能・効果及び用法・用量で承認して差し支えないと判断した。

【効能・効果】 新生児の肺高血圧を伴う低酸素性呼吸不全の改善

【用法・用量】 ・出生後 7 日以内に吸入を開始し、通常、吸入期間は 4 日間までとする。なお、症状に応じて、酸素不飽和状態が回復し、本治療から離脱可能となるまで継続する。

・本剤は吸入濃度 20ppm で開始し、開始後 4 時間は 20ppm を維持する。

・酸素化の改善に従い、5ppm に減量し、安全に離脱できる状態になるまで吸入を継続する。

【承認条件】 国内での治験症例が極めて限られていることから、製造販売後、一定数の症例に係るデータが集積されるまでの間は、全症例を対象に使用成績調査を実施するこ

とにより、本剤使用患者の背景情報を把握するとともに、本剤の安全性及び有効性に関するデータを早期に収集し、本剤の適正使用に必要な措置を講じること。

審査報告（１）

平成 20 年 4 月 4 日

I. 申請品目

- [販 売 名] アイノフロー吸入用 800ppm
(アイノマックス吸入用 800ppm (申請時) から変更)
- [一 般 名] 一酸化窒素
- [申 請 者 名] アイノ セラピューティックス エルエルシー
選任製造販売業者 エア・ウォーター株式会社 (申請時)
- [申 請 年 月 日] 平成 18 年 11 月 8 日 (外国製造医薬品製造販売承認申請)
- [剤 型 ・ 含 量] アルミニウムボンベ (15.7L) 中、一酸化窒素として 800ppm 含有する吸入用ガス
- [申請時効能・効果] 新生児の肺高血圧を伴う低酸素性呼吸不全の改善
- [申請時用法・用量] ・本剤は吸入濃度 20ppm で開始し、開始後 4 時間は 20ppm を維持する。
・酸素化の改善に従い、5ppm に減量し、安全に離脱できる状態になるまで吸入を継続する。
・出生後 7 日未満に吸入を開始し、吸入期間は最長 14 日とする。
- [特 記 事 項] 希少疾病用医薬品 (平成 14 年 10 月 2 日指定)

II. 提出された資料の概略及び医薬品医療機器総合機構における審査の概要

本申請において、申請者が提出した資料及び独立行政法人医薬品医療機器総合機構（以下、機構）からの照会事項に対する申請者の回答の概略は、下記のようなものであった。

1. 起原又は発見の経緯及び外国における使用状況等に関する資料

一酸化窒素（以下、NO又は本薬）は、アセチルコリンによる血管弛緩に関与する内皮由来血管弛緩因子であり、低濃度のNO吸入は選択的に肺血管を拡張させることから、肺機能が十分発達している正期産又は正期産に近い新生児の肺高血圧を伴う低酸素性呼吸不全に対する効果的な治療法と考えられ、NO吸入の臨床応用が開始されるようになった。

アイノフロー吸入用800ppm（以下、本剤）は、1999年に■■■■社（■■■■）の子会社である■■■■社（■■■■）によりNOの医薬品としての開発が開始され、アイノ セラピューティックス エルエルシー（以下、INO社、米国）が吸入用NOの開発を引き継ぎ、1999年に米国で、正期産又は正期産に近い（在胎期間>34週）新生児の肺高血圧を伴う低酸素性呼吸不全を適応として承認され、2007年12月現在、米国及び欧州を含む34ヵ国において承認されている。

本邦では、治験国内管理人に任命された■■■■社により、本剤及び欧米で承認されている吸入用医療機器（NO管理システム）AW-ME01（アイノベント）を用いた開発が行われ、国内臨床試験成績及び海外で実施された主要臨床試験成績から本剤の有効性及び安全性が確認されたため、INO社より2009年■■月に「新生児の肺高血圧を伴う低酸素性呼吸不全の改善」の効能で、外国製造医薬品製造販売承認申請がなされた。本申請に際し、■■■■

社が製造販売業許可を取得していないため、エア・ウォーター株式会社が選任製造販売業者として選任された。なお、20 年 月に、社を国内管理人とし、外国製造医薬品製造承認申請が行われたが、申請資料の整備を必要としたため、20 年 月 日に申請が取り下げられた経緯がある。

2. 物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法に関する資料

<提出された資料の概略>

本薬は、分子量 30.01 の無色の気体である。本剤は、本薬の濃度が 800ppm となるように窒素（以下、N₂）と混合し、調製される。

(1) 原薬

1) 製造方法

本薬は、NO 生成用のカラム（以下、反応カラム）、生成した NO の カラム（以下、 カラム）、 及び を接続させた装置において、下記の した 5 工程により製造される。

第一工程： を で し、 を得る。

第二工程： （ ）を した （℃）で させ、 を経由して に流し込む。

第三工程： を 反応カラムに、 を、 を調節しながら 反応カラムに導入し、 により NO 及び を生成させる。生成した を 反応カラムから し、NO は 反応カラムから カラムに に導入する。一方、 として生成する （以下、 ）は、 カラムに を に導入して させ、 として カラムから排出する。

第四工程：NO を、 を調節しながら カラムから に導入し、 により をかけて大部分の を した後、 （℃）で NO に する を し、 （℃）で残りの 及び を する。

第五工程（包装工程）：NO を充てん用 により内容積 L の耐圧金属性密封容器に kPa 下で充てんする。

なお、反応カラム及び カラムは、直径 cm、長さ m の 管に を させる目的で として を したものであり、当該 NO 製造システムにおいて、各々 つのカラムを に接続し、ガスの に、 及び （ ）カラムとしている。

第 及び第 工程が重要工程とされ、工程管理項目及び管理値が設定されている。

2) 特性

① 構造決定

本薬の化学構造は、質量スペクトル（原薬を N₂ で希釈したものを使用）、赤外吸収スペク

トル（以下、IR）、元素分析により確認されている。

② 物理的・化学的性質

本薬は、既知の物質であることから、性状、溶解性、融点、比体積、沸点、密度、臨界温度、臨界圧、モル比熱及び熱伝導率について、文献値から引用している。

3) 原薬の管理

規格及び試験方法として、確認試験（ガスクロマトグラフィー（以下、GC）、IR）、純度試験（IR 及び GC）及び定量法（IR）が設定されている。

4) 原薬の安定性

安定性試験として、耐圧金属性密封容器に充てんした本薬の長期保存試験（25℃、24 ヶ月）、加速試験（40℃、24 ヶ月）、及び温度に対する苛酷試験（55℃、24 ヶ月）が実施された。バルブの外観、純度試験（IR、GC）及び定量法（IR）の各試験が、長期保存試験、加速試験及び温度に対する苛酷試験の全測定点において実施された。長期保存試験では、二酸化硫黄以外のすべての不純物（NO₂、亜酸化窒素、二酸化炭素、アルゴン＋N₂）に経時的な増加傾向が認められ、そのうち NO₂ は 24 ヶ月目で 3 ロット中 2 ロットが規格値を超えていた。加速試験では、二酸化硫黄以外のすべての不純物に経時的な増加傾向が認められ、そのうち NO₂ は 12 ヶ月目で 3 ロットすべてが規格値を超えていた。温度に対する苛酷試験では、二酸化硫黄以外のすべての不純物に経時的な増加傾向が認められ、そのうち NO₂ は 1 ロットが 6 ヶ月目で、残りの 2 ロットが 12 ヶ月目で規格値を超えた。なお、二酸化硫黄は各試験のすべての測定時期において検出されなかった。

以上の安定性試験成績から、耐圧金属性密封容器充てんし、25±5℃下で保存した時の本薬の有効期間を 1 年とした。

(2) 標準品又は標準物質

本薬標準物質の規格及び試験方法として、確認試験（GC、IR）、純度試験（IR、GC）及び定量法（マスバランス法、IR）が設定されている。

(3) 製剤

1) 製剤及び処方

本剤は、原薬である NO を N₂ で希釈し、アルミニウム製円筒ボンベに充てんした製剤である。

2) 製剤設計

本剤は、肺高血圧を伴う低酸素性呼吸全の改善を目的として、吸入ガス剤として開発された。また、担体ガスとしては、NO に対して化学的に不活性かつ酸化等により引き起こされる NO の分解過程にも影響を及ぼさない N₂ が選択された。

3) 製造方法

本剤は下記の 5 工程により製造される。

第一工程（**■**工程）：NO を内容積**■**L の**■**型耐圧金属性密封容器に充てんした後、更に**■**を **■**kPa **■**の**■**で充てんし、中間製品（**■**% NO）を得る。

第二工程（**■**工程）：中間製品（**■**%NO）を内容積**■**L の 88 型耐圧金属性密封容器（**■**、**■**）に充てんした後、更にN₂を **■**kPa **■**のゲージ圧下で充てんし、NO 濃度 800ppm の製剤を得る。

第三工程（包装工程）：本剤の容器及びバルブ部分をそれぞれシュリンクラップで包装し、ラベル及び添付文書を取り付ける。

第四工程（最終製品の試験検査工程）：肉眼により、外観に汚れ、破損等がないことを確認し、必要に応じて規格及び試験方法に示された試験を実施する。

第五工程（保管工程）：本剤を 40℃を超えない温度で保管する。

なお、第**■**工程（**■**工程）及び第**■**工程（**■**工程）が重要工程とされ、工程管理項目が設定されている。

4) 製剤の管理

規格及び試験方法として、確認試験（オゾンを用いた化学発光法）、純度試験（非分散型紫外線吸収法）及び定量法（非分散型赤外線吸収法）が設定されている。

5) 製剤の安定性

安定性試験として、88 型耐圧金属性密封容器に充てんした本剤の長期保存試験（25℃、24 ヶ月）、加速試験（40℃、24 ヶ月）、及び温度に対する苛酷試験（55℃、24 ヶ月）が実施された。外観（バルブ）、純度試験（24 ヶ月まで：化学発光法、36 ヶ月より非分散型紫外線吸収法に変更予定）及び定量法（24 ヶ月まで：化学発光法、36 ヶ月より非分散型赤外線吸収法に変更予定）が、長期保存試験、加速試験及び温度に対する苛酷試験の全測定点（一部ロットにおいて分析装置故障のため欠測値有り）において測定された。長期保存試験、加速試験及び温度に対する苛酷試験において、24 ヶ月保存時においては、すべての項目に経時的な変化は認められなかった。また、本申請に用いる容器とはバルブの種類の異なる容器（CGA626 型ストレートバルブ）に本剤を充てんした際に、5 年間の安定性が示されている。

現在継続中の 3 ロットの長期保存試験及び加速試験成績を踏まえ、「安定性データの評価に関するガイドラインについて」（平成 15 年 6 月 3 日医薬審発第 0603004 号）及び高圧ガス保安法に基づき、88 型耐圧金属性密封容器に充てんし、40℃以下で保存した本剤の有効期間を 3 年とした。なお、安定性試験（長期保存試験、加速試験及び苛酷試験）は 60 ヶ月まで継続して実施する予定である。

<審査の概要>

(1) 原薬の安定性試験について

機構は、安定性試験において、十分な試料量を確保するために、試験検体として 2 本のボン

べを使用し、1本目（一次検体）から0、1、4、6、9ヵ月の測定用試料を、2本目（二次検体）から0、12、18、24ヵ月の測定用試料を採取していることに関して、ポンペの変更により、不純物量（純度試験）に大きな変化がみられたことを踏まえ、その理由及びこのような方法を用いたことの妥当性について、申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。NOは高圧・高濃度で保管すると、不均化反応により不純物であるNO₂や亜酸化窒素が生成する。この反応速度は容器内の圧力・温度に依存するという物理化学的特徴を有することから、12ヵ月目から測定を開始する2本目は、1本目より長期間高圧で保管されるため不均化反応が進み、不純物がより多く発生したと考えられる。また、測定試料採取による圧力低下は原薬の安定性に影響することから、長期保存試験においては高圧状態を維持した検体を用いることが望ましいため、試験検体を短期と長期に分けた検討方法は妥当と考えた。

機構は、以下のように考える。9ヵ月保存時（一次検体）のデータと比較して、高圧状態を保った12ヵ月保存時（二次検体）のNO₂及び亜酸化窒素の割合は高く、高圧状態に保つことにより不均化反応が進行し、不純物が増加するという申請者の考察は理解するものの、当該主張を裏付けるためには、検体が採取された原薬と、検体を採取することなく高圧状態を維持した原薬の同一測定時期における比較結果、及びより長期間高圧状態を保った際のデータがあることが望ましい。しかし、本薬においては、開始時から12ヵ月保存時まで高圧状態を保った際の安定性試験成績が規格に適合していることから、当該方法を用いた試験成績から有効期間を1年と設定することについては、特に問題はないと考える。

(2) 製剤の規格及び試験方法について

機構は、純度試験の試験方法に設定されている非分散型紫外線吸収法及び定量法の試験方法に設定されている非分散型赤外線吸収法と、安定性試験の純度試験及び定量法の試験方法に設定された化学発光法の同等性に関して、定量法については、実生産スケールで製造されたロットでの両試験法の実測値に基づく比較結果があるものの、純度試験については、実生産スケールで製造されたロットでの両試験法の実測値に基づく比較結果が示されていないことを踏まえ、純度試験に用いられた非分散型紫外線吸収法と化学発光法の同等性について、申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。試験に用いた3ロットの製剤のNO₂濃度は、いずれもバリデーションに用いた化学発光法の定量限界である■■■■ppm未満であり、平均実測値の算出が不可能であることから、実生産スケールで製造されたロットを用いて非分散型紫外線吸収法と化学発光法の厳密な比較を実施することは不可能である。そこで、両試験方法のバリデーションに用いたNO₂標準混合ガスのうち、本剤の規格値5ppm以下を満たす■■■■ppm NO₂標準混合ガスを用いて両試験方法でのNO₂濃度の実測値を比較し、両試験方法の同等性を確認している。

機構は、以下のように考える。化学発光法の定量限界の問題を考慮すれば、実生産スケールで製造されたロットでの比較結果がないことは止むを得ない。本剤の規格値である5ppmを超えないNO₂濃度（■■■■ppm）で実施された実測値に基づく両試験法の比較結果があること、及びバリデーション結果から、両試験方法の良好な直線性が示されていることに鑑み、両試験方法の同等性は示されたと考える。

(3) 「性状」の設定について

機構は、原薬及び製剤の物理的、化学的性質及び形態を表す指標として、規格及び試験方法に「性状」の項を設定することの必要性について、申請者に見解を求めた。

申請者は、以下のように回答した。本薬は無色のガスであることが知られており、肉眼で本薬と大気中のガスを識別することは不可能である。また、本薬は空気に触れると酸素と速やかに反応して有毒な NO_2 (有臭、赤茶色) を生成することから、 NO_2 の吸入等の危険性が高く、更に、高濃度 NO の曝露による窒息等、測定者に対する安全性の問題も懸念される。以上より、試験の困難さ、及びそれに比して得られる情報量の少なさを勘案し、原薬の規格及び試験方法については「性状」の項は設定していない。また、本剤は、本薬を N_2 で希釈して製した製剤であり、 N_2 の性状は「無色のガスで、においはない」とされていることから、製剤についても原薬と同様の理由から、規格及び試験方法に「性状」の項は設定しない。

機構は、以下のように考える。本来、「性状」は、本薬の本質を示す重要な情報であり、原薬、標準物質及び製剤の規格及び試験方法には「性状」の項が設定されていることが望ましいと考える。しかしながら、本薬の特性に由来する安全性の問題及びそれに伴う試験実施の困難さを考慮すると、「性状」以外の規格及び試験方法により本薬の品質の担保が可能であれば、規格及び試験方法に「性状」の項を設定することは必要であるが、適否判定の基準にする必要はないと考える。

以上を踏まえ、機構は、原薬、標準物質及び製剤の規格及び試験方法に「性状」の項を設定することについて、申請者に再度検討するよう求めた。

なお、当該結果については、審査報告 (2) で報告する。

3. 非臨床に関する資料

(i) 薬理試験成績の概要

<提出された資料の概要>

NO の吸入投与による肺血管拡張作用について、既に数多く報告されていることから、効力を裏付ける試験は、新たに実施されず、公表論文により本薬の薬理作用が検討された。また、安全性薬理試験として、イヌを用いた高濃度の NO 吸入の心血管系及び呼吸器系に対する作用が検討された。

(1) 効力を裏付ける試験

1) ラット低酸素負荷モデル (J Appl Physiol 75: 1278-1284, 1993、J Clin Invest 94: 578-584, 1994、参考資料)

- ① 雄性 SD 系ラット摘出肺において、低酸素負荷 (N_2 ガス) による肺動脈圧及び肺血管抵抗上昇は、 NO (20~1,000ppm) の吸入により有意に抑制され、用量依存性の肺血管収縮抑制作用が認められた (n=10)。
- ② 雄性 Wistar 系ラットにおいて、3 週間低酸素負荷 (吸入酸素濃度 (以下、 FiO_2) =0.1~0.12) による肺動脈圧上昇は、 NO (5~40ppm) の吸入により用量依存的に低下した。心拍数及び全身動脈圧に対する影響はみられなかった。正常酸素負荷群では 40ppm の NO 吸入で肺動脈圧に対する影響はみられなかった (n=5)。
- ③ 低酸素状態下 ($\text{FiO}_2=0.1$) の雄性 Wistar 系ラットに 10ppm の NO を 2 週間持続的に吸入した (n=12~15)。持続的低酸素負荷により右室自由壁/左室自由壁+中隔重量比は増大

し、右室肥大が認められたが、NO 吸入ラットでは、低酸素負荷単独ラットと比較して右室自由壁/左室自由壁+中隔重量比が有意に低下した。

2) イヌ低酸素負荷モデル (J Appl Physiol 76: 1350-1355, 1994、Chest 105: 1842-1847, 1994、参考資料)

- ① イヌ (麻酔下) において、高酸素 ($FiO_2=0.5$) 状態下での血行動態には、NO (17~47ppm) 吸入による変化はみられなかった。低酸素 ($FiO_2=0.16$) 状態下の平均肺動脈圧及び肺血管抵抗は NO (17~47ppm) 吸入により用量依存的に低下し、28 及び 47ppm の NO で有意に低下した ($n=11$)。
- ② 低酸素状態下のイヌ (麻酔下) において、低酸素負荷 ($FiO_2=0.11$) により平均肺動脈圧、心拍出量、肺血管抵抗及び平均動脈圧は上昇した。40ppm の NO 吸入により平均肺動脈圧及び肺血管抵抗は有意に低下したが、心拍出量に変化はなく、平均動脈圧は低下傾向を示した。しかし、80ppm の NO 吸入による平均肺動脈圧及び肺血管抵抗の更なる低下はみられなかった ($n=6$)。

3) ヒツジ低酸素負荷モデル (Br J Anaesth 73: 511-516, 1994、Circulation 83: 2038-2047, 1991、J Appl Physiol 74: 1287-1292, 1993、参考資料)

- ① ヒツジ (麻酔下) において、NO (8~512ppm) 吸入は、低酸素負荷 ($FiO_2=0.12$) により上昇した平均肺動脈圧及び肺血管抵抗を用量依存的かつ有意に抑制した ($n=9$)。
- ② 無麻酔ヒツジにおいて、NO (40 又は 80ppm) 吸入は、低酸素負荷 ($FiO_2=0.06\sim0.08$) により上昇した平均肺動脈圧及び肺血管抵抗を有意に抑制したが、心拍出量の上昇に対して影響を及ぼさなかった ($n=5$)。
- ③ ヒツジ (麻酔下) において、NO (20ppm) 吸入は、低酸素負荷 ($FiO_2=0.10$) により上昇した平均肺動脈圧をベースライン値 ($FiO_2=0.21$) まで回復させたが、低酸素負荷により低下した動脈血酸素分圧 (以下、 PaO_2) 及び肺胞気動脈血酸素分圧較差に対して影響しなかった。また、低酸素負荷により上昇した換気血流比は、NO 吸入によりベースラインまで低下したが、平均大動脈圧は低酸素及び NO 吸入による影響を受けなかった。以上の結果より、20ppm の NO 吸入は全身血行動態に影響することなく、低酸素負荷による肺高血圧を改善することが示された。さらに、NO 吸入は従来の血液ガス分析によるガス交換能の指標には影響しなかったが、多種類不活性ガス排出試験 (以下、MIGET: Multiple inert gas elimination technique) で換気血流比の改善が示された ($n=8$)。

4) ブタ低酸素負荷モデル (J Appl Physiol 76: 1794-1801, 1994、参考資料)

仔ブタ (麻酔下) において、低酸素負荷 ($FiO_2=0.1$) により上昇した平均肺動脈圧は、最低濃度である 5ppm の NO 吸入により有意に低下したが、NO 濃度の増加 (5~40ppm) による更なる低下はみられなかった。低酸素負荷により上昇した肺血管抵抗は、NO 吸入により用量依存的に低下した。低酸素負荷により低下した PaO_2 に対する NO 吸入の影響はみられなかった。同様に、高酸素状態下 ($FiO_2=0.3$) でも、平均肺動脈圧は 5ppm から軽度な低下を示し、 PaO_2 は 5ppm から有意な上昇を示したが、ともに NO 濃度の増加による作用増強はみられなかった ($n=6$)。

5) ヒツジ新生児低酸素負荷モデル (Circ Res 72: 246-254, 1993、参考資料)

ヒツジ新生児において、NO (80ppm) 吸入は低酸素負荷 ($FiO_2=0.10$) により上昇した平均肺動脈圧及び肺血管抵抗を低下させ、低下した肺血流量を上昇させた ($n=7$)。また、これらの平均肺動脈圧、肺血管抵抗及び肺血流量に対する NO の作用は 8% CO_2 吸入による呼吸性アシドーシスにより減弱されなかった ($n=9$)。

6) 化学的負荷による肺血管収縮モデル (J Appl Physiol 75: 1278-1284, 1993、Circulation 83: 2038-2047, 1991、Respir Physiol 97: 301-307, 1994、参考資料)

- ① 雄性 SD 系ラットの摘出肺に、全血又は Greenberg-Bohr (GB) 緩衝液を灌流し、アンジオテンシン II ($1\mu g/0.1mL$ を 3~4 回灌流液中に bolus 投与) により肺動脈圧及び肺血管抵抗を上昇させた。全血灌流時及び GB 緩衝液灌流時のいずれにおいても、アンジオテンシン II 投与による肺動脈圧及び肺血管抵抗の上昇は、NO (20~1,000ppm) 吸入により用量依存的に抑制された。また、アンジオテンシン II による肺血管収縮に対する NO の抑制作用は、すべての濃度で、全血灌流時と比較して GB 緩衝液灌流時において強く認められた ($n=10$)。これは NO が赤血球で代謝され、失活するためと考えられた。
- ② トロンボキサン A_2 類似物質である U-46619 ($0.4\sim 0.8\mu g/kg/min$ 、静脈内投与) 誘発肺高血圧症ヒツジにおいて、上昇した平均肺動脈圧及び肺血管抵抗は、NO 吸入により 5ppm から有意かつ用量依存的に低下し、40~80ppm ではほぼプラトーに達した。U-46619 による肺血管収縮に対する NO の抑制作用は、吸入後速やかに発現し、吸入中止後速やかに消失した ($n=8$)。
- ③ モノクロタリン ($40mg/kg$ 、皮下投与誘発肺高血圧症ラットを重度肺高血圧群 (平均肺動脈圧 40mmHg 以上) 及び中等度肺高血圧群 (平均肺動脈圧 40mmHg 未満) に分け、NO (20~100ppm) 吸入した時、いずれの群においても 20ppm の濃度から有意な平均肺動脈圧の低下がみられた。NO による平均肺動脈圧低下作用は、20~60ppm において用量依存的であり、60ppm 以上ではほぼ一定であった。モノクロタリン非投与ラットでは、NO 吸入による平均肺動脈圧の変化はみられなかった ($n=6$)。

7) 物理的負荷による肺血管収縮モデル (Crit Care Med 24: 1388-1395, 1996、J Heart Lung Transplant 15: 700-708, 1996、参考資料)

- ① 幼若ヒツジ摘出肺に血液を灌流させ、肺血流量安定化 ($50mL/kg/min$) 後、肺を膨脹させた。肺過膨脹により、肺血管抵抗はベースライン時と比較してそれぞれ 34% (中等度) 及び 65% (重度) 上昇したが、NO 吸入 (80ppm) により、肺過膨脹時の肺血管抵抗はそれぞれ 31% 及び 23% 低下した ($n=6$)。
- ② 麻酔下のビーグル犬において、マイクロビーズ ($50\sim 100\mu m$) 肺動脈内反復注入により上昇した平均肺動脈圧、肺血管抵抗 及び肺血管抵抗/全身血管抵抗比は、NO (22~25ppm) 吸入により有意に低下したが、ベースラインまでは低下しなかった。また、増加した局所収縮性も減弱する傾向がみられたが、増大した右室圧変化速度及び右室流出路の拡張末期径には NO 吸入による有意な変化はみられなかった ($n=8$)。

8) 敗血症/エンドトキシンショックモデル (Am Rev Respir Dis 147: 1080-1086, 1993, Surgery 116: 313-321, 1994, Br J Pharmacol 114: 363-368, 1995, 参考資料)

- ① 麻酔下の幼若ブタに、B 群レンサ球菌 (Group B Streptococcus、以下、GBS) 1.5×10^9 CFU/kg/h を 240 分間持続注入し、敗血症を惹起させた。GBS 注入開始後 30 分及び 210 分からそれぞれ 30 分間 NO (150ppm) を吸入 ($FiO_2=0.21$) させ、肺及び全身の血行動態並びに換気血流比の不均等に対する影響を検討した ($n=5$)。なお、本実験の前に低酸素 ($FiO_2=0.12$) による肺血管収縮に対する NO 吸入の影響を併せて検討した。低酸素による平均肺動脈圧及び肺血管抵抗の上昇に対し、NO 吸入は完全な抑制作用を示した。GBS 注入により、平均肺動脈圧及び肺血管抵抗は上昇したが、NO 吸入は早期 (GBS 注入開始後 30~60 分) 及び後期 (GBS 注入開始後 210~240 分) のいずれの上昇も抑制した。全身動脈圧及び全身血管抵抗に NO 吸入による影響は認められなかった。GBS 注入により、特に後期相で換気血流比の不均等が認められたが、NO 吸入による改善はみられなかった。
- ② ブタにリポ多糖 (*Escherichia coli* lipopolysaccharide、以下、LPS) 200 μ g/kg を投与し、敗血症による肺高血圧及び低酸素血症を惹起させた。LPS 注入終了後 40 分から NO (40ppm) を 2 時間吸入させたところ、肺動脈圧及び肺血管抵抗が有意に低下し、酸素化 (PaO_2/FiO_2 比) を改善した。また、MIGET で換気血流比の改善が示された ($n=6$)。NO 吸入による酸素化及び換気血流比の改善は、NO の血管平滑筋弛緩作用により、肺内シャントの血液が正常な換気領域へ移行したものと考えられた。
- ③ ブタに LPS (15 μ g/kg/min、180 分間持続注入) を投与したエンドトキシンショックモデルにおいて、LPS 注入開始前 30 分から LPS 注入終了まで NO (50ppm) を投与したところ、LPS による平均動脈圧の低下には影響しなかったが、平均肺動脈圧及び肺血管抵抗の二相性の上昇を有意に抑制し、心拍出量低下を有意に遅延させた。また、 PaO_2 の低下及び動脈血炭酸ガス分圧 (以下、 $PaCO_2$) の上昇を抑制した。さらに、LPS 投与群の死亡率は 58% であったが、NO 吸入群では死亡は認められなかった ($n=6\sim7$)。

9) 新生児遷延性肺高血圧症モデル (J Pediatr 122: 743-750, 1993, J Pediatr 123: 947-952, 1993, 参考資料)

- ① ヒツジ胎児の動脈管を妊娠 126 日目に結紮し、妊娠 136 日目に分娩させた新生児に人工換気下 ($FiO_2=0.8$) で NO (6~100ppm) を吸入させた ($n=6$)。通常、動脈管結紮動物においては出生後の肺動脈圧低下が認められなかったが、NO 吸入により、全身動脈圧に影響を及ぼすことなく用量依存的に肺動脈圧及び肺血管抵抗が低下し、肺血流量、 PaO_2 及びヘモグロビン (以下、Hb) 酸素飽和度を用量依存的に上昇した。
- ② ヒツジ胎児の動脈管を妊娠 122 日目に結紮し、妊娠 135 日目に分娩させた新生児に人工換気下 ($FiO_2=0.92$) で NO (80ppm) を吸入 (23 時間) させた ($n=6\sim7$)。対照群では 7 例全例が試験終了時まで死亡したが、NO 吸入動物は 6 例中 1 例が死亡したのみであった。 PaO_2 は NO 吸入開始後 15 分には対照と比較して有意に高値を示し、時間の経過とともに上昇した。また、NO 吸入によりメトヘモグロビン (以下、MetHb) 濃度 (総 Hb 量に対する MetHb の百分率) が増加したが、吸入開始後 4 時間以降 $3.0 \pm 0.4\%$ でプラトーに達した。