

問題はないと考える。

4. 臨床に関する資料

(i) 臨床薬物動態及び臨床薬理の概要

<提出された資料の概略>

(1) 製剤間での生物学的同等性

臨床試験に使用された製剤の製造元は各試験で異なり、 社 ()、 社 ()、INO 社 (米国)、 社 () 等であったが、製剤間の生物学的同等性試験は NO の血中濃度測定ができないことから実施されなかった。しかし、 ^{15}NO 吸入時の吸収率は通常呼吸時に 80%以上であることが報告されており (Staub-Reinhalt Luft 30: 380-381, 1970)、NO が吸収されやすい単純な構造の分子であること、製剤が N_2 ガスとの混合ガスであることを考慮すると、製造元の相違による NO 代謝物の血中動態の違いはほとんどないと申請者は説明している。

(2) ヒト生体試料を用いた *in vitro* 試験

資料は提出されていない。

(3) 健康成人における薬物動態及び薬力学

吸収された NO は血管平滑筋を拡張させるが、血管内に入ると速やかに Hb と結合し、亜硝酸塩及び硝酸塩に代謝され、排泄されることから、NO の血中動態を検討することは困難である。NO により産生される MetHb は、NO 曝露を間接的に表すものと考えられることから、血中 MetHb 濃度が測定された (3. (iii) 薬物動態試験「審査の概要」を参照)。

1) MetHb の血中動態 (試験番号: CTN:NO- -006、5.3.3.1-1、評価資料)

非喫煙の外国人健康成人 12 例 (男性 7 例、女性 5 例) に NO/ N_2 と酸素 (30%) の混合ガスを NO 濃度 40ppm で 2 時間吸入した。血中 MetHb 濃度は、NO 吸入により $0.63 \pm 0.06\%$ (吸入開始前) から $1.13 \pm 0.12\%$ (吸入終了前 5 分) へ増加した。

2) 健康成人男性における硝酸塩の血中及び糞尿中動態及び環状グアノシンーリン酸 (以下、cGMP) 濃度の検討 (試験番号: ICR 013224、5.3.3.1-2、評価資料)

非喫煙の外国人健康成人男性 12 例に、20 又は 80ppm の ^{15}NO を 1 時間吸入した (実際の吸入量は 18ppm 及び 72ppm であった)。血漿中 ^{15}N -硝酸塩濃度は速やかに増加し、最高血中濃度到達時間 (以下、 $T_{\max}$) は吸入開始後約 1 時間 (吸入終了時点) であった。また、 ^{15}N -硝酸塩濃度は NO 吸入終了後急激に減少した。血漿中 ^{15}N -硝酸塩濃度は、吸入濃度にほぼ比例して増加し、20 及び 80ppm 群での ^{15}N -硝酸塩の最高血中濃度 (以下、 $C_{\max}$) はそれぞれ 7.3 ± 1.6 (平均値 $\pm$ 標準偏差、以下同様) 及び $31.9 \pm 12.9 \mu\text{mol/L}$ 、投与後 0 時間から無限大時間までの ^{15}N -硝酸塩の血中濃度-時間曲線下面積 (以下、 $\text{AUC}_{0-\infty}$) は、それぞれ 54.7 ± 18.4 及び $240.7 \pm 72.5 \mu\text{mol}\cdot\text{hr/L}$ であった。また、 ^{15}N -硝酸塩の $T_{\max}$ (両群ともに $1.0 \pm 0.1 \text{hr}$)、消失半減期 (以下、 $t_{1/2}$ 、 6.7 ± 0.1 及び $6.8 \pm 1.0 \text{hr}$)、クリアランス (CL/F) (2.9 ± 1.2 及び $2.8 \pm 1.3 \text{L/hr}$) 及び分布容積 (Vd/F) (26.6 ± 6.9 及び $27.2 \pm 9.9 \text{L}$) に吸入濃度の違いによる差はなかった。吸入開始後 72 時間における糞尿中 ^{15}N -硝酸塩の総排泄率はそれぞれ 55.0 ± 22.0 及び $47.8 \pm 11.8\%$ であった。

血漿 cGMP 濃度は、20ppm 群ではほとんど変動がみられなかったが、80ppm 群の一部の被験者では吸入開始後 1 時間までに増加した。

3) 健康成人における NO 吸入時の NO 代謝の検討 (試験番号: CTN-NO-008、5.3.3.1-4、参考資料)

NO 吸入試験として、外国人健康成人 8 例 (男性 4 例、女性 4 例) を対象に、NO 25ppm を 60 分間吸入し、吸入前を含め 10 分ごとに採血して、NO の代謝について検討した。NO 25ppm を 60 分間吸入させた時の血漿中硝酸塩濃度 (NO 吸入開始前: $26 \pm 2 \mu\text{mol/L}$ (平均値 $\pm$ 標準誤差、以下同様) $\rightarrow$ NO 吸入 60 分後: $38 \pm 2 \mu\text{mol/L}$ 、以下同様) 及び血中 MetHb 濃度 (総 Hb に対する MetHb の百分率: $0.35\% \rightarrow 0.64\%$) は、吸入時間に依存した増加したが、血漿中亜硝酸塩濃度 ($1.3 \pm 0.15 \mu\text{mol/L} \rightarrow 1.2 \pm 0.08 \mu\text{mol/L}$) に変動はなく、NOHb は検出されなかった。

また、*in vitro* 試験として、健康成人 8 例から静脈血を採取し、100%酸素で 8~15 分間かけて酸素化した血液試料 (酸素飽和度 92.0~99.3%、動脈血とみなす) と、酸素化しない血液試料 (酸素飽和度 26.5~85.4%、静脈血とみなす) を亜硝酸塩 (亜硝酸ナトリウム、作用濃度 50~200 $\mu\text{mol/L}$) とインキュベーション (2 及び 15 分間) を行い、産生する硝酸塩、MetHb 及び NOHb 濃度を測定した。動脈血 (酸素飽和度 92.0~99.3%) では、亜硝酸塩の濃度に依存して硝酸塩の産生が認められ、インキュベーション時間の延長 (2 分 $\rightarrow$ 15 分) により産生量は増大した (亜硝酸 200 $\mu\text{mol/L}$ 使用時、2 分: 85 $\mu\text{mol/L} \rightarrow$ 15 分: 115 $\mu\text{mol/L}$ 、以下同様)。硝酸塩濃度に並行して血中 MetHb 濃度の増加 (80 $\mu\text{mol/L} \rightarrow$ 110 $\mu\text{mol/L}$) がみられたが、NOHb は検出されなかった。静脈血 (酸素飽和度 26.5~85.4%) も動脈血と同様に硝酸塩 (125 $\mu\text{mol/L} \rightarrow$ 185 $\mu\text{mol/L}$) 及び血中 MetHb 濃度 (145 $\mu\text{mol/L} \rightarrow$ 190 $\mu\text{mol/L}$) の産生が認められたが、産生量はいずれのインキュベーション時間においても動脈血より多かった。また、NOHb (45 $\mu\text{mol/L}$) が測定されたが、インキュベーション時間の延長による変動はいずれの亜硝酸塩濃度においてもみられなかった。

さらに、NO 代謝物の腎排泄に関する試験として、健康成人 8 例 (男性 2 例、女性 6 例) から動脈血及び尿を採取し、NO 代謝物の腎排泄が検討された。24 時間尿の尿中硝酸塩排泄量と血漿中硝酸塩濃度の比に基づき算出されたクリアランスは $19 \pm 4 \text{ mL/min}$ であった。

赤血球に取り込まれた亜硝酸塩は NO に還元され、NOHb を形成した後に硝酸塩に代謝され、赤血球における NOHb を介した硝酸塩への代謝が内因性 NO の主な代謝経路であると考えられた。

(4) 患者における薬物動態及び薬力学

1) 肺高血圧を伴う日本人新生児低酸素性呼吸不全患者における MetHb の血中動態 (試験番号: INOT12、5.3.5.2-1、評価資料)

日本人新生児の肺高血圧を伴う低酸素性呼吸不全患者 11 例に、NO 20ppm を 4 時間吸入し、吸入開始後 4 時間以降に $\text{PaO}_2 > 60 \text{ mmHg}$ 又は経皮的動脈血酸素飽和度 (以下、 SpO_2) $> 92\%$ の条件を満たした場合は本薬吸入濃度を 5ppm に減量した。また、NO は $\text{FiO}_2 = 0.4 \sim 0.6$ で $\text{PaO}_2 > 70 \text{ mmHg}$ になるまで 5ppm で維持し、臨床的に安定していることが確認されれば、NO 吸入濃度を徐々に減少しながら終了した。

新生児の血中 MetHb 濃度は、吸入開始 4 時間で $0.9 \pm 0.4\%$ (平均値 $\pm$ 標準偏差) であり、2%

を超える患者はいなかった。

2) 外国人新生児肺高血圧症患者における MetHb の血中動態 (試験番号: INO-01/02, 5.3.5.1-2, 評価資料)

心エコー検査で PPHN と診断された外国人新生児患者 155 例 (プラセボ群: 41 例、5ppm 群: 41 例、20ppm 群: 36 例、80ppm 群: 37 例) を対象とした NO 吸入の用量反応試験 (プラセボあるいは NO 濃度 5、20 又は 80ppm の 14 日間連続吸入による並行群間比較) で、吸入開始後 0~48 時間までの血中 MetHb 濃度が測定された。なお、血中 MetHb 濃度が連続した 2 時点で 7%を超えた場合は吸入を中止した。

新生児の平均血中 MetHb 濃度は NO の吸入濃度依存的に増加し、80ppm 群では吸入開始後 8 及び 12 時間に 5.04 ± 2.75 (平均値 $\pm$ 標準偏差、以下同様) 及び $5.08 \pm 2.32\%$ を示した。一方、吸入量 20ppm 以下では血中 MetHb 濃度の平均値は 1.05% (20ppm 群、吸入開始後 8 時間) が最大であった。

なお、80ppm 群では、36 例中 13 例 (36%) で血中 MetHb 濃度が 7%を超えた (80ppm 群の症例数は 37 例であったが、血中 MetHb 濃度の検討可能な例は 36 例であった)。これらの症例における血中 MetHb 濃度の平均ピーク到達時間は 10.46 ± 9.46 時間であった。血中 MetHb 濃度は、ほとんどの患者で吸入開始後 8 時間以内にピークに達したが、1 例の患者では吸入開始後 40 時間で到達した。5 及び 20ppm の吸入では血中 MetHb 濃度が 7%を超えた症例はなかった。

3) PPHN 患者における NO 吸入による酸素化指数への影響 (試験番号: CTN:NO-003, 5.3.4.2-1, 参考資料)

外国人 PPHN 患者及び小児肺高血圧症患者における NO の短期間吸入による安全性及び至適吸入濃度を検討することを目的として、試験開始時の酸素化指数 (以下、OI) が $15 \sim 40 \text{ cmH}_2\text{O/mmHg}$ の 42 例 (新生児: 26 例、小児: 16 例) を対象に、NO 濃度 0、3、10、30、60 及び 100ppm を 10 分間ずつ順次吸入させた。吸入終了時は、5 分間隔で吸入を漸減中止した。なお、 SpO_2 が 85 未満になった場合は吸入を中止した。

OI は、NO 吸入開始時 (0ppm) から 100ppm 吸入時まで、新生児では 30.0 ± 3.0 (平均値 $\pm$ 標準誤差、以下同様) $\rightarrow 19.6 \pm 2.0 \text{ cmH}_2\text{O/mmHg}$ に、小児では $29.0 \pm 3.8 \rightarrow 21.9 \pm 8.6 \text{ cmH}_2\text{O/mmHg}$ に低下した。NO 吸入は、PPHN 患者において 79%、小児肺高血圧症患者において 50%の症例で有効 (25%以上の OI の低下) であったが、酸素化の悪化 (OI の 25%を超える上昇) が 5 例 (新生児: 3 例、小児: 2 例) で認められた。また、OI の低下は、3ppm からみられたが、吸入濃度 (吸入濃度範囲 3~100ppm) と反応の強さは、個々の患者によって異なっていた。

(5) 薬物相互作用試験

1) ヘパリンナトリウム併用時の止血への影響 (試験番号: ICR 013402, 5.3.4.1-1, 評価資料)

ヘパリンナトリウム (以下、ヘパリン) を投与した 12 例の健康成人男性を対象に、NO を 30 分間吸入した際の血液凝固因子及び血小板への影響を評価することを目的として、①hpp/pnp/ppa/hnp 群、②hnp/ppa/pnp/hpp 群、③pnp/hnp/hpp/ppa 群、④ppa/hpp/hnp/pnp 群 (hpp: ヘパリン静注+プラセボ吸入+プラセボ経口、pnp: プラセボ静注+本薬吸入+プラセボ経口、

hnp：ヘパリン静注＋本薬吸入＋プラセボ経口、ppa：プラセボ静注＋プラセボ吸入＋アスピリン経口）の4種類の服薬期によるクロスオーバー比較試験が実施された。なお、各投与期の間に7～14日間の間隔が設けられた。12例中11例がすべての投与期を完了した。

ヘパリン静注により活性凝固時間（ACT）、活性化部分トロンボプラスチン時間（aPTT）及びプロトロンビン時間（PT）に対して明らかな延長作用がみられたが、このヘパリンの抗凝固作用に対し、NO吸入による相乗又は相加作用はみられなかった。アスピリン投与時に、出血時間の軽微な延長及び血小板凝集の抑制がみられたが、NO吸入及びヘパリン静注による影響はみられなかった。

なお、NO 80ppm の30分間吸入投与により、血中MetHb濃度を含む安全性指標の投与開始前からの著しい変動はみられなかった。

(6) 染色体異常に関する検討（試験番号：CTN:NO-006、5.3.4.1-2、評価資料）

非喫煙の外国人健康成人10例（男性5例、女性5例）に、NO/N₂と酸素（30%）の混合ガス（40ppm）を2時間吸入し、吸入直前及び吸入後1～2時間に採血した。採取した血液から末梢血リンパ球を分取培養し（37℃、約48時間）、細胞の分裂中期像の観察を行った。染色体構造異常は、女性では投与前1,500細胞中9細胞（0.60%）、投与後1,500細胞中10細胞（0.67%）、男性では投与前1,397細胞中11細胞（0.79%）、投与後1,469細胞中10細胞（0.68%）にみられ、染色体数異常は、女性では投与前1,504細胞中4細胞（0.27%）、投与後1,502細胞中2細胞（0.13%）、男性では投与前1,405細胞中8細胞（0.57%）、投与後1,472細胞中3細胞（0.20%）にみられたが、男女共にNO投与前後で有意な変化は認められなかった。

<審査の概要>

(1) 製剤の同等性について

機構は、製剤がN₂ガスとの混合ガスであることを理由に、臨床試験で使用されたNOの製造元が異なっているにもかかわらず、本薬及びその代謝物の血中濃度の違いが生じることはないとして申請者が考える理由を尋ねた。

申請者は、以下のように回答した。NOは、極めて反応性の高い分子であるが、N₂の環境の中では安定している。また、N₂そのものは不活性ガスであり、その他の賦形剤や保存剤は含まれていない。また、NOは直接肺胞上皮を通じて物理化学的に吸収されるので、受容体あるいは担体を必要とせず、吸収及び血中濃度を変える生物学的な要因は存在しない。さらに、MetHbへの分解も同様に内因性の酵素又は触媒を必要としない、速やかかつ物理化学的な分解である。以上のことから、製造元の相違による血中濃度の違いはないと判断した。

機構は、臨床試験に用いられた各製剤の不純物（二酸化窒素、亜酸化窒素等）の含量に違いはなかったのか申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。申請者が実施した試験で使用したガスの不純物は、全て規格値以下であり、これらを用いた試験間での製剤による試験結果への影響はない。申請者以外のメーカーにより製造されたNOガスには、本剤に認められない不純物を含む可能性があるものの、概して、各試験データの評価結果から、申請薬剤以外のNOを使用しても試験結果に影響をもたらすような兆候は認められなかった。

機構は、各臨床試験で使用された医療器具が異なること（容量校正流量計、NOMIUS、アイ

ノベント等)により NO 及び代謝物の薬物動態に影響を及ぼさないか、申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。試験ごとに使用した医療器具は同一ではないが、NO の濃度は被験者吸入直前に測定されていることから、器具の違いによる投与量への影響はない。加えて、それらの医療器具はあくまで NO を患者に投与するまでの手段であり、投与後、すなわち吸収後の薬物動態にまで器具が影響することはない。したがって、使用医療器具が異なることにより、NO 及び代謝物の薬物動態に影響が及ぶことはないとする。

機構は、以下のように考える。本来、実際に臨床適用（上市）する製剤と臨床試験で使用した製剤の異同について、生物学的同等性試験等により説明することが必要である。本薬は他の一般的な液剤又は固形製剤と異なり、ガスであるために溶出試験等により製剤の同等性を検証することは出来ないため、結果的に製品の規格試験等で同等性を説明することで止むを得ないものとするものの、申請者以外のメーカーにより製造された NO ガスに本剤に認められない不純物を含む可能性があることについて、試験結果から影響はなかったとする申請者の考察は不適切であるとする。

しかし、NO が極めて単純な構造を持つ物質であり、製造方法においても製造者毎に全く異なる不純物が含まれている可能性は高くはないと推測されることから、臨床試験で使用された NO 製剤が市販予定製剤と生物学的に同等であることを示す成績としては不十分ではあるものの、国内 INOT12 試験及び海外 CINRGI 試験に用いられた NO 製剤は、ロット分析が行われ、市販予定製剤の規格値を満たすことが示されていること、海外 CINRGI 試験の一部及び海外 INO-01/02 試験で、他のメーカーにより製造された NO 製剤を用いており、その詳細は不明であるものの、いずれの試験においても専用吸入装置としてアイノベントが使用され、吸入時の NO 及び NO₂ 濃度がモニタリングされ、適切な NO 投与が確認できることから、各臨床試験における本薬の有効性及び安全性の一定の評価は可能であるとする。

(2) 血中 MetHb 濃度について

機構は、新生児肺高血圧症患者への NO 80ppm 吸入時における MetHb 濃度の平均ピーク到達時間 (10.46±9.46 時間) のばらつきが大きい理由について、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 80ppm 吸入時の MetHb 濃度のピーク到達時間は、36 例中、血中 MetHb 濃度が 7% を超えた 13 例の結果である。これらの症例は特に MetHb 還元酵素活性が低かったと考えられ、血中 MetHb 濃度は、NO 吸入による MetHb の生成速度と MetHb 還元酵素による消失速度の平衡状態で決まることから、特に活性の低い症例では NO 80ppm 吸入時の生成速度にどの程度対応できるかという個人差が MetHb 濃度に顕著に現れるため、各時点の測定値に大きなばらつきが発生すると考えられる。当該試験では連続した 2 時点で 7% を超えた場合 NO 吸入を中止したことから、吸入中止による MetHb 濃度の低下例も含まれており、ピーク到達時間を議論するのは困難とする。

機構は、NO の吸入濃度（吸入濃度範囲 3～100ppm）と薬理効果の強さが、個々の患者によって異なると考えられることについて、NO に対する薬理効果の個体差の原因を考察するよう、申請者に求めた。

申請者は、以下のように回答した。本薬は、吸入後すぐに肺胞上皮細胞を介して血管平滑筋に到達し、肺血管平滑筋を選択的に弛緩させ肺血管抵抗を低下させることで薬効を発揮するた

め、新生児仮死、胎便吸引症候群、呼吸窮迫症候群、敗血症、先天性横隔膜ヘルニア等の原疾患の差異などの病態生理学的差異により本薬が到達できる肺領域や到達時間に差が出てくることが推察され、本薬吸入による反応性が異なると考えられる。また、著しい肺胞虚脱のような NO が肺に到達しにくい状況では最適な換気法ではない従来型の人工換気法が用いられたために、呼吸機能が最適化されていない患者が含まれ、患者間での吸入濃度と薬理効果の強さの違いが顕著に出た可能性が考えられる。

機構は、以下のように考える。INO-01/02 試験において、①20ppm で NO を吸入した外国人新生児肺高血圧症患者では、最も高い平均血中 MetHb 濃度が 1.05% (最大 3.5%) であること、②20ppm から 80ppm までの濃度における血中 MetHb 濃度は測定されていないことから、用量相関性は判断できないが、80ppm では 20ppm に比べ血中 MetHb 濃度の上昇 (13/36 例 (36%) の症例で 7%超)、ピーク到達時間の延長及び大きな個体間変動が認められており、NO の吸入濃度の上昇に伴いリスクも増加することが示唆されること、③日本人新生児肺高血圧症患者を対象とした INOT12 試験では、20ppm 吸入時における最も高い平均血中 MetHb 濃度が 1.0% (最大 2.0%) であり、外国人新生児肺高血圧症患者と大きく異なることを踏まえると、安全性の観点から、本薬の用量を 20ppm とすることは適切である。なお、NO の吸入濃度と反応の強さが、個々の患者によって異なり、MetHb 濃度の平均ピーク到達時間のばらつきが大きいこと等を踏まえると、血中 MetHb 濃度のモニタリングは重要であると考え。 ((ii) <審査の概要> (3) 「安全性について」及び (5) 「用法・用量」の項参照)

(ii) 臨床的有効性及び安全性の概要

<提出された資料の概略>

本申請にあたり、評価資料として、海外で実施された第 I 相臨床試験 3 試験、国内試験 1 試験を含む第 III 相試験 3 試験の成績が提出された。また、参考資料として、臨床薬理試験 1 試験、第 II 相臨床試験 2 試験、第 III 相試験 2 試験、国内の自主臨床研究 1 試験、及び追跡調査 2 試験の成績が提出された。なお、評価資料とされた臨床試験及び参考資料の一部の成績を以下に記載する。

(薬物動態については「4. (i) 臨床薬物動態及び臨床薬理の概要」参照)

(1) 海外第 I 相臨床試験

1) 単時間吸入試験 (CTN:NO-006 試験、添付資料 5.3.3.1-1, 5.3.4.1-2 <19 年 月 月> 評価資料)

非喫煙の外国人健康成人 12 例 (男性 7 例、女性 5 例) を対象に、本薬を短時間吸入 (40ppm、2 時間) した時の白血球染色体に対する影響、cGMP 濃度との関係及び安全性を検討するために、非盲検試験がスウェーデン 1 施設で実施された。

安全性について、有害事象は認められず、臨床検査値異常変動として、血小板数及び GOT の統計学的に有意な減少が認められたが、臨床的に問題となるものではないと判断された。

2) 臨床薬理試験 (ICR013224 試験、添付資料 5.3.3.1-2 <19 年 月 月> 評価資料)

非喫煙の外国人健康成人男性を対象に、¹⁵NO 20 又は 80ppm 吸入後の ¹⁵NO の代謝物の同定、¹⁵NO 代謝体の薬物動態及び安全性を検討するために、非盲検試験が英国 1 施設で実施された。

¹⁵NO 20 又は 80ppm を 1 時間吸入することとされたが、実際にはそれぞれ 18 及び 72ppm が

吸入された。本試験には 12 例（20ppm 群：6 例、80ppm 群：6 例）が組み入れられ、全例が試験を完了し、安全性解析対象とされた。

安全性について、有害事象は、80ppm 群で 2/12 例（33.3%）3 件に認められ、その内訳は頭痛 2 件、悪心 1 件であった。重篤な有害事象及び治験薬の中止に至った有害事象は認められなかった。また、臨床上問題となる臨床検査値異常変動はみられなかった。

3) 臨床薬力学 (PD) 試験 (ICR013402 試験、添付資料 5.3.4.1-1 <19■■年■■月～■■月> 評価資料)

外国人健康成人男性 12 例（1 群 3 例）を対象に、ヘパリン投与と本薬吸入の併用による血液凝固能及び血小板凝集能に及ぼす影響並びに安全性を検討するために、①hpp/pnp/ppa/hnp 群、②hnp/ppa/pnp/hpp 群、③pnp/hnp/hpp/ppa 群、④ppa/hpp/hnp/pnp 群（hpp：ヘパリン静注＋プラセボ吸入＋プラセボ経口、pnp：プラセボ静注＋本薬吸入＋プラセボ経口、hnp：ヘパリン静注＋本薬吸入＋プラセボ経口、ppa：プラセボ静注＋プラセボ吸入＋アスピリン経口）の 4 種類の服薬期によるクロスオーバー比較試験がスウェーデン 1 施設で実施された。なお、各服薬期の間は 7～14 日間の休薬期間が設けられた。本薬（80ppm）及びそのプラセボ（医療用エアー）の吸入時間は 30 ± 1 分間とし、アスピリン（300mg）及びそのプラセボの経口投与 15 分後から、ヘパリン（1,000IU/mL）又はプラセボ静注、及び本薬又はプラセボ吸入が実施された。第 1 期間（hpp）終了後脱落した 1 例を除き、全例が安全性解析対象とされた。

安全性について、有害事象は、②hnp/ppa/pnp/hpp 群に割り付けられた 1 例において、第 3 期間の pnp 併用時にグレード I の嘔吐がみられたが、薬剤を中止するなどの処置は行われなかった。また、臨床上問題となる臨床検査値異常変動はみられなかった。

(2) 第Ⅲ相臨床試験

1) INOT12 試験（添付資料 5.3.5.2-1 <20■■年■■月～20■■年■■月> 評価資料）

正期産又は正期産に近い日本人新生児の肺高血圧を伴う低酸素性呼吸不全患者を対象に、本薬の有効性及び安全性を評価するとともに、海外試験（INO-01/02、CINRGI 及び NINOS 試験）及び研究会臨床研究の結果の結果と比較する目的で、多施設共同非盲検試験が国内 10 施設で実施された。組入れ基準は、①在胎期間が 34 週以上、②本薬吸入開始時点で出生後 168 時間（7 日）未満、③ $FiO_2=1.0$ における人工呼吸管理下においても $PaO_2 < 80\text{mmHg}$ で病態の改善が認められず、i) 心エコー上で動脈管又は卵円孔レベルでの右-左シャント又は両方向性シャントが確認される、ii) 上肢と下肢における SpO_2 の実質的な較差により肺高血圧が臨床的に確認できる、のいずれかにあてはまる患者とされた。なお、肺低形成が疑われる患者、先天性心疾患を有する患者（動脈管開存又は微小な心室中隔欠損は除く）、重度の多発奇形を有する患者、及び i) $OI > 40\text{cmH}_2\text{O/mmHg}$ 、ii) 平均動脈圧 $< 35\text{mmHg}$ 、iii) 心拍数 $> 180\text{bpm}$ あるいは心拍数 $< 60\text{bpm}$ 、のいずれかの重篤な状態が吸入開始時に既に 6 時間以上持続している患者は除外された。

用法・用量は、下記の 1) から 3) の順序に従って最長 14 日間吸入することとされた。

- 1) 20ppm を AW-ME01（アイノベント：本剤専用の人工呼吸器）により吸気回路内に注入して吸入開始する。吸入開始後 4 時間以降に $PaO_2 > 60\text{mmHg}$ 又は $SpO_2 > 92\%$ の条件を満たした場合は本剤吸入濃度を 5ppm に減量する。

2) FiO_2 を減量する。本薬は $\text{FiO}_2=0.4\sim0.6$ で $\text{PaO}_2>70\text{mmHg}$ になるまで 5ppm で維持する。

3) 臨床的に安定していることが確認されれば本薬吸入濃度を徐々に減量しながら終了する。終了前には FiO_2 を 0.1 増量してもよい。

本試験には、目標症例数 10 例に対し 11 例が組み入れられ、全例が安全性解析対象とされた。体重（平均値 $\pm$ 標準偏差、以下同様） $3.2\pm0.5\text{kg}$ 、在胎期間 39.3 ± 1.9 週、基礎疾患（重複あり）は PPHN 0 例、胎便吸引症候群（Meconium aspiration syndrome : MAS）5 例、肺炎又は敗血症 2 例、呼吸窮迫症候群（Respiratory distress syndrome : RDS）3 例、その他（肺低形成を含む）1 例であった。このうち 1 例は試験登録後、総肺静脈還流異常と診断され、除外基準に抵触したため有効性解析対象から除外され、有効性解析対象は 10 例とされた。

有効性の主要評価項目とされた本薬吸入開始直前から吸入開始後 30 分及び 24 時間の OI（平均値 $\pm$ 標準偏差）の推移は、吸入開始前 $35.5\pm35.6\text{cmH}_2\text{O}/\text{mmHg}$ に比し、開始後 30 分 $14.2\pm16.7\text{cmH}_2\text{O}/\text{mmHg}$ （ $p=0.002$: Wilcoxon の符号付き順位検定、以下同様）、開始後 24 時間 $8.2\pm6.8\text{cmH}_2\text{O}/\text{mmHg}$ （ $p=0.002$ ）であり、酸素化の病状が重度（吸入前）から軽度（吸入後 24 時間）に改善された。

有害事象は 11 例中 9 例（81.8%）に合計 89 件認められた。いずれの有害事象についても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た。なお、2 例以上で認められた事象は、血清アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）増加 3 例（27%）、血便排泄、浮腫、アシドーシス、無気肺、発疹、各 2 例（18%）であった。

臨床検査値異常について、本試験では対象が新生児で且つ極めて重篤な状態にあることから、異常値の判定については基準値を定めず、各責任医師の判断で評価することとされた。投与終了時に 3 例（直接ビリルビン上昇 1 例、血小板数低下 2 例）の臨床検査値異常が認められ、それぞれ閉鎖性黄疸、新生児血小板減少症、血小板減少症の有害事象とされたが、本薬との因果関係は否定された。バイタルサインに臨床問題となる変動はみられなかった。

死亡例は 1 例であり、当該症例は、有効性解析対象から除外された症例で、本薬にはほとんど反応せず、並行して体外式膜型人工肺（Extracorporeal membrane oxygenation : ECMO）の適用及び外科的処置が実施されたが、最終的に死亡に至った。また、重篤な有害事象は、5 例 8 件認められ、その内訳は、先述の総肺静脈還流異常 1 例、重度の低酸素血症の悪化及び低血圧 1 例、三尖弁閉鎖不全症 1 例、脳浮腫 1 例、僧帽弁閉鎖不全症、中等度肺出血及び重度の乏尿 1 例であった。いずれの症例も本薬吸入との因果関係は否定された。

投与開始時から投与完了又は終了時までの血中 MetHb 濃度の最大値は 2.0%であった。また、吸気中 NO_2 濃度の最大値は 0.4ppm であった。

2) INO-01/02 試験（添付資料 5.3.5.1-2 <19■年■月～19■年■月> 評価資料）

INO-01/02 試験の 1 年後追跡調査（添付資料 5.3.5.4-4 <19■年■月～19■年■月> 参考資料）

PPHN 患者を対象に、本薬吸入の有効性、用量反応性、治療期間及び安全性を検討するために、多施設共同無作為化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験が米国 25 施設で実施された。組入れ基準は、①心エコー検査による動脈管レベルの右-左シャント又は両方向性のシャントの確認、あるいは上肢と下肢で SpO_2 に 10%以上の較差の確認により PPHN と診断され

た患者、② $\text{FiO}_2=1.00$ 、平均気道内圧 $10\text{cmH}_2\text{O}$ 以上の人工呼吸下で、 PaO_2 が $40\sim 100\text{mmHg}$ 、③出生後 72 時間以内、④在胎期間が 37 週以上、⑤出生時の体重が在胎期間 37 週以上の場合 $2,500\text{g}$ 以上、在胎期間 39 週以上の場合 $2,000\text{g}$ 以上の患者とされた。なお、グレードⅡ～Ⅳの脳室内出血又はクモ膜下出血のある患者、心エコー検査で確認された先天性心疾患（卵円孔開存、動脈管開存、三尖弁閉鎖不全、心室中隔の小欠損を除く）を有する患者、肺低形成（先天性横隔膜ヘルニアを含む）と診断された患者、血管拡張薬の静注を受けている患者等は除外された。用法・用量は 5、20 又は 80ppm の本薬もしくはプラセボ（ N_2 ）を、以下の 1）～4）の条件の 1 つに該当するまで最長 14 日間吸入することとされた。

- 1) 酸素化の改善（ $\text{FiO}_2 < 0.60$ 及び平均気道内圧 $< 10\text{cmH}_2\text{O}$ のときに $\text{PaO}_2 \geq 60\text{mmHg}$ ）
- 2) 治療無効（本薬吸入後 30 分における $\text{PaO}_2 < 40\text{mmHg}$ 、昇圧治療後の平均動脈圧 $< 35\text{mmHg}$ 又は死亡）
- 3) NO_2 濃度 $> 3\text{ppm}$ が 30 分間持続
- 4) 30 分間の間隔をあけた連続した 2 時点で $\text{MetHb} > 7\%$

吸入を中止する場合は吸入ガス濃度を 20% ずつ漸減し、各吸入濃度 30 分以上の間隔で、4 時間以内に実施することとされた。

本試験の目標症例数は当初 320 例であったが、1997 年 5 月に NINOS 試験の結果が発表され、本試験で除外されていた HFOV 及びサーファクタントの投与が多く施設で行われるようになり、症例の収集が非常に困難になったため、1996 年 6 月に本試験の終了を決定し、155 例（本薬 5ppm 群：41 例、 20ppm 群：36 例、 80ppm 群：37 例、プラセボ群：41 例、以下同順）が有効性及び安全性の解析対象とされた。これらのうち試験が完了した症例は、22 例、19 例、10 例、18 例であり、投与が中止された症例のうち中止理由が「無効」であった症例は、11/19 例、10/17 例、22/27 例、14/23 例であった。なお、組み入れられた患者の基礎疾患（重複あり）は、PPHN 5 例、6 例、13 例、5 例、胎便吸引症候群 26 例、17 例、17 例、26 例、肺炎又は敗血症 11 例、9 例、10 例、13 例、呼吸窮迫症候群 4 例、7 例、2 例、4 例、その他 6 例、8 例、8 例、5 例であった。

有効性の主要評価項目とされた 28 日以内の死亡、ECMO 適用並びに PPHN に関わる主要後遺症である神経学的異常及び気管支肺異形成症が発生した症例の割合（以下、発生率）を下表に示す。これら 4 種類の事象の発生率は、いずれもプラセボ群と本薬群との間に有意差は認められず、いずれかの事象が 1 つ以上発生した割合は、プラセボ群 56%（23/41 例）と本薬群 50%（52/104 例）であり、差は認められなかった。これは早期登録中止により解析対象例が減少したことによる可能性が考えられた。

表：有効性評価項目の発生率

	プラセボ	本薬 5ppm	本薬 20ppm	本薬 80ppm	本薬（合計）
28 日以内の死亡	1/41 (2%)	2/40 (5%) [0.54]	4/36 (11%) [0.13]	3/37 (8%) [0.26]	9/113 (8%) [0.22]
ECMO 適用	14/41 (34%)	10/41 (24%) [0.33]	9/36 (25%) [0.38]	6/37 (16%) [0.07]	25/114 (22%) [0.12]
神経学的異常 ¹	10/39 (26%)	5/34 (15%) [0.25]	11/32 (34%) [0.43]	7/31 (23%) [0.77]	23/97 (24%) [0.81]
気管支肺異形成症 ²	5/40 (13%)	9/38 (24%) [0.20]	3/31 (10%) [0.71]	3/34 (9%) [0.61]	15/103 (15%) [0.75]

上記事象が1つ以上発生	23/41 (56%)	18/36 (50%) [0.60]	21/35 (60%) [0.73]	13/33 (39%) [0.16]	52/104 (50%) [0.51]
-------------	-------------	-----------------------	-----------------------	-----------------------	------------------------

例数 (%)

1: 超音波、MRI、CT スキャンによる脳室内出血又は脳梗塞の診断、又は痙攣発作の診断。

2: 吸入開始後 28 日に胸部 X 線で異常所見があり酸素吸入療法を必要とするか、又は退院時に気管支拡張薬を必要とする重篤な反応性気道疾患を有する。

[]: p 値 (Cochran-Mantel-Haenszel 検定によるプラセボ群と NO 吸入群との比較)

また、副次評価項目とされた OI の本薬吸入開始後 24 時間又は中止時点の開始前からの変動 (平均値±標準偏差) は、下表の通りであった。

表：試験薬吸入開始前から吸入開始後 24 時間の OI の変動

	プラセボ	本薬 5ppm	本薬 20ppm	本薬 80ppm	本薬 (合計)
症例数	41	41	36	37	114
平均値±標準偏差 ^a	-1.60±7.99	-4.67±7.69	-4.78±10.15	-5.59±7.41	-5.0±8.40
範囲 ^a	-21.78~14.68	-25.36~13.65	-36.20~13.67	-23.58~8.17	-36.20~13.67
P 値 ^b	-	0.05	0.10	0.02	0.01

^a cmH₂O/mmHg、^b Wilcoxon 順位和検定 (両側、正規近似、連続補正あり)

主な有害事象 (いずれかの群で 5%以上発現) は下表の通りであった。

表：いずれかの群において 5%以上に認められた有害事象

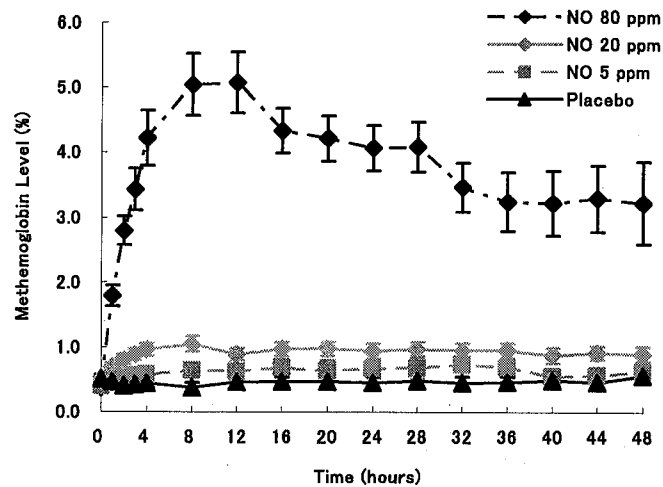
	プラセボ	本薬 5ppm	本薬 20ppm	本薬 80ppm
症例数	41	41	36	37
有害事象発生病例数 (例)	12 (29.3%)	12 (29.3%)	13 (36.1%)	22 (59.5%)
MetHb 血症	0	0	0	13 (35%)
気胸	1 (2%)	4 (10%)	3 (8%)	3 (8%)
痙攣	2 (5%)	2 (5%)	3 (8%)	2 (5%)
肺障害	2 (5%)	2 (5%)	1 (3%)	1 (3%)
敗血症	2 (5%)	1 (2%)	1 (3%)	1 (3%)
感染	0	2 (5%)	1 (3%)	0
不整脈	0	2 (5%)	0	0

例数 (%)

死亡例はなく、重篤な有害事象は 80ppm 群で 2 例 (持続性直接型高ビリルビン血症、低酸素性虚血性脳症)、20ppm で 1 例 (脳梗塞)、プラセボ群で 3 例 (喉頭軟化症及び水頭症、痙攣発作、左下肺葉肺炎) に認められた。持続性直接型高ビリルビン血症を除いて、治験薬との関連はなしと判断された。

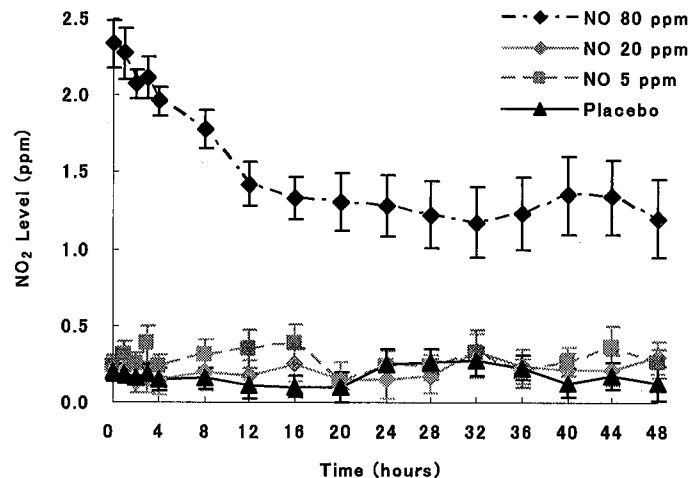
下図に示すように、血中 MetHb 濃度は、本薬吸入によりすべての患者で増加したが、5 及び 20ppm では 1%を大きく超えることはなかった。80ppm では、平均血中 MetHb 濃度が約 5%に増加し、本試験で MetHb 血症と定義した血中 MetHb 濃度 7%超の症例は、血中 MetHb 濃度の検討が可能であった 36 例のうち 13 例 (36%) に認められた。しかし、いずれも本薬濃度を減量するか又は吸入を中止することにより、7%以下まで減少した。なお、血中 MetHb 濃度が増加した患者の大半は最初の 8 時間以内にピークを示したが、1 例は治療開始後 40 時間

で到達した。したがって、80ppm では、少なくとも治療開始から 48 時間は細心の注意を払い、頻繁に血中 MetHb 濃度をモニタリングする必要があると考えられた。



図：血中 MetHb 濃度の推移（平均値±標準誤差）

吸入開始後 48 時間までの吸気中の平均 NO₂ 濃度は、プラセボ群、5 及び 20ppm 群のいずれも 0.5ppm 未満であったが、80ppm 群では吸入後 30 分で 2.33ppm を示した（下図）。なお、80ppm 群の 1 例で NO₂ 濃度の増加（>3ppm）により吸入が中止された。



図：吸気中 NO₂ 濃度の推移（平均値±標準誤差）

INO-01/02 試験の 1 年後追跡調査

INO-01/02 試験の対象患者 155 例中、1 年後の生存例で追跡可能であった患者 132 例に対し、精神・神経発達状態、成長パラメータ、バイタルサイン及び臨床検査値に関する調査が実施された。

1 年後の死亡率は、プラセボ群 4.9% (2/41 例) に対し、本薬群 8.8% (10/114 例：5ppm 群 2/41 例、20ppm 群 5/36 例、80ppm 群 3/37 例) であったが、両群間に有意差は認められなか

った ($p=0.43$: Cochran-Mantel-Haenszel 検定)。また、本薬吸入に起因すると考えられる死亡例は認められなかった。

プラセボ群並びに本薬 5、20 及び 80ppm 群の 1 年後の成長に関するパラメータ (平均値 $\pm$ 標準偏差)は、体重 10.1 ± 1.29 、 10.3 ± 1.69 、 10.5 ± 1.84 及び 10.1 ± 1.58 kg、身長 75.9 ± 3.79 、 77.5 ± 5.62 、 78.0 ± 6.03 及び 77.0 ± 5.12 cm、頭囲 46.5 ± 2.09 、 46.2 ± 2.41 、 46.7 ± 2.81 及び 45.9 ± 1.72 cm であり、身体的な成長に関し、各群間で臨床的に問題となる差は認められなかった。

また、生後 1 年時の精神・神経の発達状態の調査 (神経学的検査、脳性麻痺の発生率、Bayley の精神運動発達指数、聴力検査、総合評価)を行ったところ、精神・神経発達状態の評価においても各群間で差は認められなかった。なお、比較試験終了後のてんかん発作は、プラセボ群 0/36 例 (0%)、本薬 5ppm 群 0/36 例 (0%)、20ppm 群 4/29 例 (13.8%)、80ppm 群 3/31 例 (10.3%) にみられた。

臨床検査値について、本薬吸入開始後 28 日までの臨床検査値 (Na、Ca、Cl、重炭酸塩、クレアチニン、BUN、総ビリルビン、直接ビリルビン、AST、アラニンアミノトランスフェラーゼ (以下、ALT)、Hb、ヘマトクリット、赤血球数、白血球数、白血球分画、血小板数)について追加調査を行ったところ、本薬群では、3 例に合併症による重篤な溶血がみられ、このため総ビリルビン及び直接ビリルビンが高値を示したが、プラセボ群との間に差は認められなかった。その他の血液学的検査及び血液生化学的検査では、両群間に臨床問題となる差は認められなかった。

3) CINRGI 試験 (添付資料 5.3.5.1-1 <19■■年■■月～19■■年■■月> 評価資料)

PPHN 患者を対象に、ECMO 適応患者数並びに本薬吸入の有効性及び安全性を検討するために、多施設共同無作為化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験が米国 18 施設で実施された。組入れ基準は、①在胎期間が 34 週以上、②出生後 96 時間 (4 日) 以内、③最適な換気状態で OI が $25\text{cmH}_2\text{O}/\text{mmHg}$ を超える重度肺不全患者、④血液ガスを測定する動脈内カテーテルを留置している患者、⑤心エコー検査により先天性心疾患のないことが確認されている患者、⑥ i) 上肢と下肢で SpO_2 に 5%以上の較差がある、又は ii) 新生児肺疾患に対する最も効果的な治療によっても臨床的に酸素化が著しく安定しないことを確認することにより臨床的に肺高血圧症と診断された患者とされた。なお、緊急に ECMO を要する患者、致死的な先天異常を有する患者、重大な出血性素因を有する患者、抗痙攣薬投与中の活動性痙攣発作を有する患者又は長時間の重度の窒息状態の既往を有する患者等は除外された。

用法・用量は、20ppm より本薬吸入を開始し、4 時間以降 24 時間までに $\text{PaO}_2\geq 60\text{mmHg}$ かつ pH 7.35～7.55 であれば吸入濃度を 5ppm に減量し、 FiO_2 が 0.7 未満となるか、96 時間又は生後 7 日までのいずれか早い時期まで吸入を継続することとされた。ただし、吸入中止後に $\text{PaO}_2\geq 60\text{mmHg}$ を維持するために $\text{FiO}_2>0.8$ にする必要がある場合には、本薬吸入が再開された。最初の吸入開始後 24 時間以内に再開する場合は 20ppm で、24 時間以降の場合は 5ppm で再開された。本薬吸入を再開しても効果がみられない場合や ($\text{FiO}_2=1.0$ で $\text{PaO}_2<60\text{mmHg}$)、血中 MetHb 濃度 $>4\%$ 又は吸気中 NO_2 濃度 $>5\text{ppm}$ の場合は吸入を中止することとされた。プラセボには N_2 が使用された。

割付けられた 212 例の原因疾患は、胎便吸引症候群 69 例 (本薬群 : 34 例、プラセボ群 : 35 例)、肺炎又は敗血症 45 例 (本薬群 : 24 例、プラセボ群 : 21 例)、呼吸窮迫症候群 16