

(11) 공개번호 10-2024-0142604
(43) 공개일자 2024년09월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01N 1/02 (2006.01)

(52) CPC특허분류
A01N 1/0226 (2013.01)

(21) 출원번호 **10-2024-7031003(분할)**

(22) 출원일자(국제) **2018년08월24일**
심사청구일자 **2024년09월13일**

(62) 원출원 **특허 10-2020-7007478**
원출원일자(국제) **2018년08월24일**
심사청구일자 **2021년07월01일**

(85) 번역문제출일자 **2024년09월13일**

(86) 국제출원번호 **PCT/US2018/048028**

(87) 국제공개번호 **WO 2019/040921**
국제공개일자 **2019년02월28일**

(30) 우선권주장
62/550,463 2017년08월25일 미국(US)

(71) 출원인
말린크로트 파마슈티칼스 아일랜드 리미티드
아일랜드 더블린 15 블랜차즈타운 크루즈라스 컬리지 비즈니스 & 테크놀로지 파크

(72) 발명자
포텐시아노 짐
미국 63042 미주리주 하젤우드 맥도넬 블러바드 675 말린크로트 엘엘씨 내

(74) 대리인
양영준, 김윤기

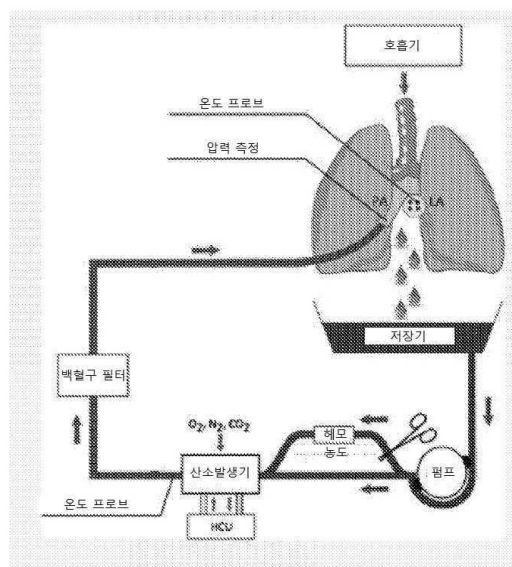
전체 청구항 수 : 총 27 항

(54) 발명의 명칭 기관 생존력을 개선시키는 방법

(57) 요약

본 명세서는 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 포함하는 조성물을 이 기관(들)에게 직접적으로 연속적으로 투여함으로써, 기관, 또는 기관들의 생존력을 개선시키는 방법을 제공한다.

대표도 - 도1



명세서

청구범위

청구항 1

20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 기관에 직접적으로, 연속적으로 투여하는 것을 포함하며, 이때 MnSOD 활성은, 본 명세서의 조성물과 접촉되지 않은 대조 기관과 비교하였을 때, 기관에서 증가되는, 허혈-재관류 손상을 갖는 기관에서 슈퍼옥시드 디스무타제 2 (SOD2 또는 망간-의존적 슈퍼옥시드 디스무타제 (MnSOD)) 활성을 증가시키는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, MnSOD 활성은, 유사한 조건 하에서 처리되지만 NO_x 가스를 직접적으로 및 연속적으로 투여 받지 않은 기관과 비교하여, 5% 내지 95%만큼 증가되는 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 조성물이 무세포 관류 유체를 포함하는 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 무세포 관류 유체가 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 포함하는 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 기관이 심장, 폐, 또는 신장인 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 조성물은 상기 기관의 생존력을 개선하는 데 필요한 시간 동안 투여되는 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 조성물은 5 내지 60분 또는 1 내지 12시간 동안 투여되는 방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 투여가 허혈의 시작과 동시에 또는 허혈의 시작 후 약 5 내지 30분 이내에 시작되는 방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 투여가 재관류 동안 시작되거나 또는 재관류가 시작된 후 1 내지 12시간 동안 계속되는 방법.

청구항 10

20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 기관에 직접적으로, 연속적으로 투여하는 것을 포함하며, 이때 본 명세서의 조성물과 접촉되지 않은 대조 기관과 비교하였을 때, 기관에서 니트로티로신 부가물 형성이 억제되는,

허혈-재관류 손상을 갖는 기관에서의 니트로티로신의 형성을 억제하는 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 니트로티로신 형성이, 유사한 조건 하에서 처리되지만 NO_x 가스를 직접적으로 및 연속적으로 투여 받지 않은 기관과 비교하여, 5% 내지 95% 억제되는 방법.

청구항 12

제10항에 있어서, 상기 조성물이 무세포 관류 유체를 포함하는 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 무세포 관류 유체가 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 포함하는 방법.

청구항 14

제10항에 있어서, 상기 기관이 심장, 폐, 또는 신장인 방법.

청구항 15

제10항에 있어서, 상기 조성물은 상기 기관의 생존력을 개선하는 데 필요한 시간 동안 투여되는 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 조성물은 5 내지 60분 또는 1 내지 12시간 동안 투여되는 방법.

청구항 17

제10항에 있어서, 투여가 허혈의 시작과 동시에 또는 허혈의 시작 후 약 5 내지 30분 이내에 시작되는 방법.

청구항 18

제10항에 있어서, 투여가 재관류 동안 시작되거나 또는 재관류가 시작된 후 1 내지 12시간 동안 계속되는 방법.

청구항 19

20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 기관에 직접적으로, 연속적으로 투여하는 것을 포함하며, 이때 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 투여하는 것이, 대조 기관과 비교하였을 때, 미토콘드리아 복합체 I, 복합체 II, 복합체 III, 복합체 IV 또는 이의 조합의 비활성화를 방지하는,

허혈-재관류 손상을 갖는 기관에서 미토콘드리아 복합체 I 활성, 복합체 II 활성, 복합체 III 활성, 복합체 IV 활성 또는 이의 조합의 비활성화를 방지하는 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 미토콘드리아 복합체 I, 복합체 II, 복합체 III, 복합체 IV 또는 이의 조합의 비활성화가, 유사한 조건 하에서 처리되지만 NO_x 가스를 직접적으로 및 연속적으로 투여 받지 않은 기관과 비교하였을 때, 5% 내지 95% 억제되는 방법.

청구항 21

제19항에 있어서, 상기 조성물이 무세포 관류 유체를 포함하는 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 무세포 관류 유체가 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 포함하는 것인 방법.

청구항 23

제19항에 있어서, 상기 기관이 심장, 폐, 또는 신장인 방법.

청구항 24

제19항에 있어서, 상기 조성물은 상기 기관의 생존력을 개선하는 데 필요한 시간 동안 투여되는 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 조성물은 5 내지 60분 또는 1 내지 12시간 동안 투여되는 방법.

청구항 26

제19항에 있어서, 투여가 허혈의 시작과 동시에 또는 허혈의 시작 후 약 5 내지 30분 이내에 시작되는 방법.

청구항 27

제19항에 있어서, 투여가 재관류 동안 시작되거나 또는 재관류가 시작된 후 1 내지 12시간 동안 계속되는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 교차 참조

[0002] 본 출원은 2017년 8월 25일자로 제출된 U.S. 가특허 출원 번호 62/550,463에 대해 우선권을 주장하며, 이 출원은 이들 전문이 여기에 참고자료로 편입된다.

[0003] 분야

[0004] 본 명세서에는 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 이 기관(들)에게 직접적으로 연속적으로 투여함으로써, 기관, 또는 기관들의 생존력을 개선시키는 방법을 제공한다.

배경 기술

[0005] 배경

[0006] 적절한 혈류가 부족한 세포, 조직, 기관 및 기관들은 산화 스트레스로 인해 허혈성 손상을 겪고, 결국 사멸한다. 허혈성 손상을 감소시키는 전통적인 방법은 영향을 받는(affected) 조직에 산소를 관류시키는 것을 포함하지만, 그러나 이 절차는 심각한 및/또는 영구적인 조직 손상, 이를 테면 뇌졸중 동안의 뇌 손상, 또는 심정지를 초래할 수 있다.

[0007] 조직 및 기관들에게 대사 상태의 감소를 유도함으로써, 허혈(ischemia) 및 재관류 손상(reperfusion injury)을 감소시키려는 시도가 있었다. 예를 들면, 이식 또는 식피술(grafting)을 위해 보존된 살아있는 조직의 내용에서, 이들의 대사 활성을 줄이는 공통적인 방법은 조직 또는 기관들을 생리학적 유체, 이를 테면, 염수에 담구고, 이를 차가운 환경에 방치하는 것이다. 그러나, 이러한 방법은 기관간 동안에 의존할 수 없으며, 기관 이식 및 사지 재부착의 성공은 기관 또는 사지가 온전한 유기체(organism)와 접촉하지 않은 시간과 반비례한다.

[0008] 따라서, 허혈 및/또는 재관류 손상이 있기 전, 개선된 생존력을 갖는 기관을 위한 방법이 당분야에서 여전히 요구된다.

[0009] 요약

[0010] 한 측면에서, 본 명세서에는 이식이 의도된 기관의 생존력을 개선시키는 방법이 포괄되는데, 상기 방법은 기관 관류(organ perfusion) 시스템 또는 환기(ventilation)을 통하여 해당 기관에 직접적으로 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 연속적으로 투여하는 것을 포함한다.

[0011] 또다른 측면에서, 본 명세서에는 허혈-재관류에 의해 손상된 기관의 생존력을 개선시키는 방법이 포괄되는데, 상기 방법은 기관 관류 시스템 또는 환기를 통하여 해당 기관에 직접적으로 최대 약 20 ppm의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 지속적으로 투여하는 것을 포함한다. 다양한 구체예들에서, 치료가 필요한 기관은 외상적 부상, 수술, 호흡 정지 또는 심장 정지로 인해 손상이 지속되는 기관이다. 특정 구체예들에서, 치료가 필요한 기관은 이식하려는 기관이다. 예시적인 구체예들에서, 치료를 요하는 기관은 기증자로부터 떼어낸 이식하려는 기관이다.

[0012] 또다른 측면에서, 본 명세서에는 허혈-재관류에 의해 손상된 기관의 생존력을 개선시키는 방법이 포괄되는데,

상기 방법은 (a) 당해 기관에 약 20 ppm 내지 약 40 ppm의 NO_x 가스를 포함하는 조성물 ("로딩 투여량")을 최대 약 1 시간 ("로딩 기간") 동안 투여하고, 그 다음 (b) 최대 약 20 ppm의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 기관 관류 시스템 또는 환기를 통하여 당해 기관에 직접적으로, 연속적으로 투여하는 것을 포함한다. 다양한 구체예들에서, 치료가 필요한 기관은 외상적 부상, 수술, 호흡 정지 또는 심장 정지로 인해 손상이 지속되는 기관이다. 특정 구체예들에서, 치료가 필요한 기관은 이식하려는 기관이다. 예시적인 구체예들에서, 치료를 요하는 기관은 기증자로부터 떼어낸 이식하려는 기관이다.

[0013] 또다른 측면에서, 본 명세서에는 이식하려는 기관의 생존력을 개선시키는 방법을 포괄하며, 상기 방법은 기관 관류 시스템 또는 환기를 통하여 해당 기관에 직접적으로 20ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 연속적으로 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 해당 기관은 뇌사 기증자에 존재한다. 다른 구체예들에서, 당해 기관은 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 투여 전, 기증자로부터 제거되었다. 예시적인 구체예들에서, 당해 기관은 폐, 신장, 또는 심장이다.

[0014] 또다른 측면에서, 본 명세서에는 이식하려는 기관의 생존력을 개선시키는 방법이 포괄되는데, 상기 방법은 (a) 당해 기관에 약 20 ppm 내지 약 40 ppm의 NO_x 가스를 포함하는 조성물 ("로딩 투여량")을 최대 약 1 시간 ("로딩 기간") 동안 투여하고, 그 다음 (b) 약 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 기관 관류 시스템 또는 환기를 통하여 당해 기관에 직접적으로, 연속적으로 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 해당 기관은 뇌사 기증자에 존재한다. 다른 구체예들에서, 당해 기관은 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 투여 전, 기증자로부터 제거되었다. 예시적인 구체예들에서, 당해 기관은 폐, 신장, 또는 심장이다.

[0015] 또다른 측면에서, 본 명세서에는 치료를 요하는 기관에서 허혈-재관류 손상을 치료하는 방법이 포괄되는데, 방법은 기관 관류 시스템 또는 환기를 통하여 해당 기관에 직접적으로 20ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 연속적으로 투여하는 것을 포함한다. 다양한 구체예들에서, 치료가 필요한 기관은 외상적 부상, 수술, 호흡 정지 또는 심장 정지로 인해 손상이 지속되는 기관이다. 특정 구체예들에서, 치료가 필요한 기관은 이식하려는 기관이다. 예시적인 구체예들에서, 치료를 요하는 기관은 기증자로부터 떼어낸 이식하려는 기관이다.

[0016] 또다른 측면에서, 본 명세서에는 치료를 요하는 기관에서 허혈-재관류 손상을 치료하는 방법이 포괄되는데, 상기 방법은 (a) 당해 기관에 약 20 ppm 내지 약 40 ppm의 NO_x 가스를 포함하는 조성물 ("로딩 투여량")을 최대 약 1 시간 ("로딩 기간") 동안 투여하고, 그 다음 (b) 약 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 기관 관류 시스템 또는 환기를 통하여 당해 기관에 직접적으로, 연속적으로 투여하는 것을 포함한다. 다양한 구체예들에서, 치료가 필요한 기관은 외상적 부상, 수술, 호흡 정지 또는 심장 정지로 인해 손상이 지속되는 기관이다. 특정 구체예들에서, 치료가 필요한 기관은 이식하려는 기관이다. 예시적인 구체예들에서, 치료를 요하는 기관은 기증자로부터 떼어낸 이식하려는 기관이다.

[0017] 또다른 측면에서, 본 명세서는 이식 방법을 제공하는데, 상기 방법은 (a) 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 최대 12 시간 동안 이식하려는 기관에 직접적으로 연속적으로 투여하고, 그리고 (b) 당해 기관을 수혜자에게로 이식하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 해당 기관은 뇌사 기증자에 존재한다. 다른 구체예들에서, 당해 기관은 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 투여 전, 기증자로부터 제거되었다. 예시적인 구체예들에서, 당해 기관은 폐, 신장, 또는 심장이다.

[0018] 또다른 측면에서, 본 명세서는 이식 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) 당해 기관에 약 20 ppm 내지 약 40 ppm의 NO_x 가스를 포함하는 조성물("로딩 투여량")을 최대 약 1 시간 ("로딩 기간") 동안 투여하고, 그 다음 (b) 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 이식하려는 기관에 최대 12 시간 동안 연속적으로 투여하고, 그리고 그 다음 (c) 당해 기관을 수혜자에게로 이식하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 해당 기관은 뇌사 기증자에 존재한다. 다른 구체예들에서, 당해 기관은 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 투여 전, 기증자로부터 제거되었다. 예시적인 구체예들에서, 당해 기관은 폐, 신장, 또는 심장이다.

[0019] 본 개시의 다른 측면들 및 서술된 것들은 아래에 더 자세하게 설명된다.

도면의 간단한 설명

[0020] 본 출원에는 컬러로 실행된 사진이 최소한 하나 포함되어 있다. 컬러 사진과 함께, 이 특허 출원 공개의 사본은

요청 및 필요한 요금의 지불시 특허청에서 제공될 것이다.

도 1은 EVLP 회로의 구체예의 예시이다.

도 2는 EVLP 회로의 구체예의 예시이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

상세한 설명

본 명세서는 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 이 기관(들)에게 직접적으로 연속적으로 투여함으로써, 기관, 또는 기관들의 생존력을 개선시키는 방법에 관한 것이다. 본 명세서에는 이식하려는 기관들, 뿐만 아니라 다른 원인으로 인한 허혈-재관류 손상된 기관의 생존력을 개선시키는 방법이 포괄된다. 이식된 기관들의 성능을 개선시키는 방법 및 이식 방법이 본 명세서에서 또한 제공된다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 " NO_x 가스"란 기체 질소 산화물을 지칭한다. 바람직한 구체예들에서, NO_x 가스는 기체 산화 질소 (gNO)이다. 조성물의 추가 성분들의 비-제한적인 예로는 불활성 희석제 가스 (가령, 헬륨, 네온 등등), 인간 알부민, 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판 및 산소 가스 (O_2)를 포함할 수 있다. NO_x 가스를 포함하는 조성물을 기관에 직접적으로 연속 투여한다는 것은 투여 기간 동안 중단없이, NO_x 가스가 당해 기관과 직접 접촉할 것이라는 것을 의미한다. 본 명세서는 기관의 유형에 제한되지 않는다. 적합한 기관의 비-제한적인 예로는 간, 신장, 췌장, 심장, 폐, 장, 흉선, 각막, 혈관 복합 동종 이식편 (가령, 얼굴, 손 등), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 당해 기관의 생존력은 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 해당 기관에 직접 연속적으로 투여하지 않은 방법에 의해 얻어진 장기와 비교하였을 때 개선될 것이다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "생존력(viability)"이란 의도된 목적을 위한 해당 기관의 적합성을 지칭한다. 기관의 생존력의 측정은 기관의 유형에 따라 달라질 수 있으며, 당업계에 공지되어있다.

본 개시 전체에 적용되는 몇몇 정의가 이제 제시될 것이다. 본원에서 사용된 바와 같이, "약(about)"이란 명시적으로 표시되는지 여부에 관계없이, 정수, 분수, 백분율 등을 비롯한 숫자 값을 나타낸다. 용어 "약"이란 일반적으로 인용된 값의 $\pm 0.5-1\%$, $\pm 1-5\%$ 또는 $\pm 5-10\%$ 의 수치 범위를 의미하며, 인용된 값과 동등한 것, 예를 들어, 동일한 기능 또는 결과를 갖는 것으로 간주될 것이다.

"포함하는(comprising)"이라는 용어는 "포함하지만, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다"라는 의미하고; 구체적으로, 상술한-조합, 그룹, 시리즈 및 이와 유사한 것등의 개방형(open-ended)-함입 또는 멤버십을 나타낸다. 본원에 사용된 용어 "포함하는" 및 "함유하는(including)"은 포괄적이고, 및/또는 개방형이며, 언급되지 않은 추가 요소 또는 방법 프로세스를 배제하지 않는다. "필수적으로 ~로 구성되는(consisting essentially of)"이라는 용어는 "~를 포함하는" 것보다는 더 제한적이지만, "~로 구성되는(consisting of)"것 만큼 제한적이지 않다. 구체적으로, 용어 "필수적으로 ~로 구성되는"이란 명시된 재료 또는 단계들 그리고 청구된 발명의 본질적인 특성에 실질적으로 영향을 미치지 않는 것들에 대해 멤버십이 제한된다.

본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "허혈-재관류 손상"이란 허혈, 재관류, 또는 이 둘 모두로 인하여 발생하는 손상을 지칭한다.

본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"는 치료요법적 조치 및 예방적 또는 방지적 조치 둘 모두 다를 의미하며, 여기서 목적은 바람직하지 않은 생리학적 변화 또는 질병/장애를 방지하거나, 또는 지연 감소(경감)시키는 것이다. 유익한 또는 바람직한 임상 결과는 탐지가능하거나, 또는 증상의 개선, 질병의 정도의 감소, 질병 상태의 안정화 (즉, 악화되지 않음), 질병의 진행 지연 또는 둔화, 질병 상태의 개선 또는 완화, 그리고 차도(부분적으로 또는 전체적으로)를 포함할 수 있지만, 이에 국한되지는 않는다. "치료"는 또한 치료를 받지 않을 때, 예상 생존과 비교하여 생존 연장을 의미할 수 있다. 치료를 필요로 하는 사람들은 이미 질병, 상태 또는 장애가 있거나, 해당 질병, 상태 또는 장애에 걸릴 경향이 있는 자, 또는 질병, 상태 또는 장애를 예방해야 하는 자들을 포함한다.

(a) NO_x 가스를 포함하는 조성물

본 명세서에 따르면, NO_x 가스를 포함하는 조성물을 기관에 직접적으로 연속적으로 투여한다. 본 명세서의 조성물은 가스 또는 액체일 수 있다. 본 명세서의 조성물은 액체인 경우, NO_x 가스는 이 액체에 용해된다. 달리 말

하면, "NO_x 가스를 포함하는 조성물, 이때 조성물은 액체"는 가용화된 NO_x 가스를 포함하는 액체이다. 유사하게, "20 ppm의 NO_x 가스를 포함하고, 액체인 상기 조성물"은 20 ppm의 산화 질소를 포함하는 액체이며, 이때 20 ppm의 산화 질소는 액체 속에 가용화된 NO_x 가스의 양이다. 더욱이, 상기 조성물이 액체인 구체예들에서, 기관에 직접적으로 투여되는 NO_x 가스의 양은 액체 안에 가용화된 NO_x 가스의 양이다. NO_x 가스는 당분야에 공지된 임의의 방법에 의해 만들어지고, 제공될 수 있다.

[0029] 일부 구체예들에서, 상기 조성물은 가스다. NO_x 가스에 추가하여, 상기 조성물은 비활성 희석제 가스(들)(가령, 헬륨, 네온, 등등), 질소, 산소, 및 물을 포함하나, 이에 국한되지 않은 하나 또는 그 이상의 추가 성분들을 더 포함할 수 있다. 예시적인 구체예에서, NO_x 가스는 gNO이다. 상기 조성물은 가스인 경우, 이 조성물은 인공 호흡기 또는 당 업계에 공지된 임의의 다른 방법을 통해 기관에 직접 투여될 수 있다. 상기 조성물은 호흡기(ventilator) 또는 당분야에 공지된 임의의 다른 방법을 통하여 기관에 직접적으로 투여될 수 있다.

[0030] 다른 구체예들에서, 상기 조성물은 관류 유체이다. 용어 "관류 유체(perfusion fluid)"란 조직 또는 기관들의 보존, 관류 또는 재관류에 이용되는 임의의 유체를 지칭한다. 관류 유체는 대개 멸균되며, 등장성이다. 가용화된 NO_x 가스에 추가하여, 관류 유체는 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 비롯한 하나 또는 그 이상의 추가 성분을 포함할 수 있으나, 이에 국한되지 않는다. 상기 관류 유체의 조성물은 기관들 간에 또한 가변적일 수 있다. 바람직한 구체예에서, 상기 관류 유체는 무세포(acellular) 관류 유체다. 이러한 용액에는 Celsior 용액, Krebs-Henseleit 용액, 일반 식염수 용액, University of Wisconsin 용액, St. Thomas II 용액, Collins 용액, Stanford 용액, Perfindex®, Steen Solution™ 또는 이들의 조합이 포함되나, 이에 국한되지 않는다. 예시적인 구체예에서, 상기 조성물은 무세포 관류 유체이며, NO_x 가스는 gNO이다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다. 기관으로 직접적으로 관류 용액을 투여하는 적합한 방법은 기관 관류 시스템을 포함하는 것들이 당분야에 공지되어 있지만, 이에 국한되지 않는다. 본 명세서는 임의의 특정 기관 관류 시스템에 의해 한정되지 않는다. 일반적으로 말하면, 기관 관류 시스템은 관류액(perfusate) 이동 및 제어를 위한 펌프, 시스템 온도를 제어하는 수단, 캐놀라 및 생리학적 파라미터를 측정하는 수단을 포함할 수 있다. 기관 관류 시스템의 비-제한적인 예는 U.S. 특허 번호 9,629,358에 기술되며, 이는 본원의 참고자료에 편입된다. 기관 관류 시스템의 비-제한적인 예는 또한 도 1 및 도 2에 기술된다.

[0031] 기관의 생존력을 개선시키기 위하여, 치료요법적 효과량의 NO_x 가스가 기관에 직접적으로 투여된다. 투여되는 조성물의 유형, 또는 유형들에 따라, NO_x 가스의 당해 기관에 직접 투여는 기관 관류 시스템, 호흡기, 또는 임의의 조합을 통하여 이루어질 수 있다. 기관 관류 시스템 및 호흡기가 조합에 의해 이용되는 구체예들에서, 기관 관류 시스템 및 호흡기를 동시에 이용하여 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 당해 기관에 직접적으로 투여할 수 있다. 대안으로, 또는 추가적으로, 2 가지 투여 방법 사이의 중첩되는 양(예를 들어, 중첩이 없거나, 몇 초, 몇 분 또는 몇 시간의 중첩)을 가변시키는 것을 포함하여 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 직접적으로 당해 기관에 투여하기 위하여 기관 관류 시스템 및 호흡기기 순차적으로 사용될 수 있다. 예를 들면, 먼저 호흡기를 사용한 다음, 관류 시스템으로 투여하거나, 또는 그 반대로 할 수 있다.

[0032] "치료요법적 효과량의 NO_x 가스"란 기관에 직접 투여되는 NO_x 가스의 양으로써, 이는 본원에서 정의된 당해 기관의 생존력을 개선시키는데 충분한 양이다. "치료요법적 유효량"을 구성하는 NO_x의 양은 다양한 요인에 따라 달라질 수 있지만, 당업자에 의해 결정될 수 있다. 하기에서 더 상술되는 것과 같이, 허혈-재관류 손상을 갖는 기관들의 치료를 위한 NO_x 가스의 치료요법적 효과량은 20 ppm 또는 그 미만이다. 이러한 치료요법적 효과량의 NO_x 가스를 단독으로 이용하거나, 또는 NO_x 가스의 로딩 투여량을 투여한 후, 이용할 수 있다. 로딩 투여량의 NO_x 가스는 허혈성 기관의 혈관확장을 증가시키기 위하여 이용될 수 있고, 본 명세서의 조성물은 기증자로부터 제거된 기관과 먼저 접촉할 때 특별히 적합할 수 있다. 그러나, 로딩 투여량에서 제공되는 NO_x 가스의 양은 전형적으로 연장된 기간(가령, 한 시간을 넘는 시간) 동안 허혈-재관류 손상을 안정적으로 치료하는데 이용될 수 있는 NO_x 가스의 양을 초과한다.

[0033] 하나 또는 그 이상의 구체예들에서, NO_x 가스는 추가 농도로 투여되고, 원하는 효과(가령, 해당 기관의 생존력 증가)를 얻고자 할 때, 임의선택적으로 필요에 따라 증가될 수 있다. 예를 들면, 초기 산화 질소 농도는 약

0.05 ppm 내지 약 50 ppm 또는 약 1 ppm 내지 약 50 ppm이며, 원하는 효과를 얻을 때 까지, 또는 산화 질소 한계치(threshold)에 도달될 때까지 임의선택적으로 점진적으로 증가된다. 예시적인 산화 질소 투여는 약 1 ppm의 초기농도에서 시작하고, 그 다음 원하는 NO_x 효과를 얻을 때 까지, 약 0.1 ppm 내지 약 5 ppm씩 증가될 수 있지만, 그러나 NO_x 농도는 50 ppm을 초과해서는 안되며 및/또는 메트헤모글로빈(methemoglobin) 수준이 약 5%에 이르거나, 또는 이를 초과해서는 안된다는 것을 확실히 해야한다. 대안으로, 예시적인 산화 질소 투여는 5 ppm의 초기농도에서 시작하고, 그 다음 원하는 NO_x 효과를 얻을 때 까지, 0.1 ppm 내지 5 ppm씩 증가될 수 있지만, 그러나 NO_x 농도는 50 ppm을 초과해서는 안되며 및/또는 메트헤모글로빈 수준이 약 5%에 이르거나, 또는 이를 초과해서는 안된다는 것을 확실히 해야한다. 또다른 예시적인 구체예에서, 산화 질소 투여는 10 ppm의 초기농도에서 시작하고, 그 다음 원하는 NO_x 효과를 얻을 때 까지, 0.1 ppm 내지 5 ppm씩 증가될 수 있지만, 그러나 NO_x 농도는 50 ppm을 초과해서는 안되며 및/또는 메트헤모글로빈 수준이 약 5%에 이르거나, 또는 이를 초과해서는 안된다는 것을 확실히 해야한다. 여전히 또다른 예시적인 구체예에서, 산화 질소 투여는 15 ppm의 초기농도에서 시작하고, 그 다음 원하는 NO_x 효과를 얻을 때 까지, 0.1 ppm 내지 5 ppm씩 증가될 수 있지만, 그러나 NO_x 농도는 50 ppm을 초과해서는 안되며 및/또는 메트헤모글로빈 수준이 약 5%에 이르거나, 또는 이를 초과해서는 안된다는 것을 확실히 해야한다. 여전히 또다른 예시적인 구체예에서, 산화 질소 투여는 20 ppm의 초기농도에서 시작하고, 그 다음 원하는 NO_x 효과를 얻을 때 까지, 0.1 ppm 내지 5 ppm씩 증가될 수 있지만, 그러나 NO_x 농도는 50 ppm을 초과해서는 안되며 및/또는 메트헤모글로빈 수준이 약 5%에 이르거나, 또는 이를 초과해서는 안된다는 것을 확실히 해야한다. 상기 각 구체예들에서, 5, 10, 15, 30 또는 60 분 동안 투여될 수 있다. 대안으로, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12 시간 동안 투여될 수 있다.

[0034]

하나 또는 그 이상의 구체예들에서, NO_x 가스는 추가 농도로 투여되고, 원하는 효과(가령, 해당 기관의 생존력 증가)를 얻고자 할 때, 임의선택적으로 필요에 따라 증가될 수 있다. 예를 들면, 초기 산화 질소 농도는 약 0.05 ppm 내지 약 35 ppm 또는 약 1 ppm 내지 약 35 ppm이며, 원하는 효과를 얻을 때 까지, 또는 산화 질소 한계치에 도달될 때까지 임의선택적으로 점진적으로 증가된다. 예시적인 산화 질소 투여는 약 1 ppm의 초기농도에서 시작하고, 그 다음 원하는 NO_x 효과를 얻을 때 까지, 약 0.1 ppm 내지 약 5 ppm씩 증가될 수 있지만, 그러나 NO_x 농도는 35 ppm을 초과해서는 안되며 및/또는 메트헤모글로빈 수준이 약 5%에 이르거나, 또는 이를 초과해서는 안된다는 것을 확실히 해야한다. 대안으로, 예시적인 산화 질소 투여는 5 ppm의 초기농도에서 시작하고, 그 다음 원하는 NO_x 효과를 얻을 때 까지, 0.1 ppm 내지 5 ppm씩 증가될 수 있지만, 그러나 NO_x 농도는 35 ppm을 초과해서는 안되며 및/또는 메트헤모글로빈 수준이 약 5%에 이르거나, 또는 이를 초과해서는 안된다는 것을 확실히 해야한다. 또다른 예시적인 구체예에서, 산화 질소 투여는 10 ppm의 초기농도에서 시작하고, 그 다음 원하는 NO_x 효과를 얻을 때 까지, 0.1 ppm 내지 5 ppm씩 증가될 수 있지만, 그러나 NO_x 농도는 35 ppm을 초과해서는 안되며 및/또는 메트헤모글로빈 수준이 약 5%에 이르거나, 또는 이를 초과해서는 안된다는 것을 확실히 해야한다. 여전히 또다른 예시적인 구체예에서, 산화 질소 투여는 15 ppm의 초기농도에서 시작하고, 그 다음 원하는 NO_x 효과를 얻을 때 까지, 0.1 ppm 내지 5 ppm씩 증가될 수 있지만, 그러나 NO_x 농도는 35 ppm을 초과해서는 안되며 및/또는 메트헤모글로빈 수준이 약 5%에 이르거나, 또는 이를 초과해서는 안된다는 것을 확실히 해야한다. 여전히 또다른 예시적인 구체예에서, 산화 질소 투여는 20 ppm의 초기농도에서 시작하고, 그 다음 원하는 NO_x 효과를 얻을 때 까지, 0.1 ppm 내지 5 ppm씩 증가될 수 있지만, 그러나 NO_x 농도는 35 ppm을 초과해서는 안되며 및/또는 메트헤모글로빈 수준이 약 5%에 이르거나, 또는 이를 초과해서는 안된다는 것을 확실히 해야한다. 상기 각 구체예들에서, 5, 10, 15, 30 또는 60 분 동안 투여될 수 있다. 대안으로, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12 시간 동안 투여될 수 있다.

[0035]

하나 또는 그 이상의 구체예들에서, NO_x 가스는 추가 농도로 투여되고, 원하는 효과(가령, 해당 기관의 생존력 증가)를 얻고자 할 때, 임의선택적으로 필요에 따라 증가될 수 있다. 예를 들면, 초기 산화 질소 농도는 약 0.05 ppm 내지 약 20 ppm 또는 약 1 ppm 내지 약 20 ppm이며, 원하는 효과를 얻을 때 까지, 또는 산화 질소 한계치에 도달될 때까지 임의선택적으로 점진적으로 증가된다. 예시적인 산화 질소 투여는 약 1 ppm의 초기농도에서 시작하고, 그 다음 원하는 NO_x 효과를 얻을 때 까지, 약 0.1 ppm 내지 약 5 ppm씩 증가될 수 있지만, 그러나 NO_x 농도는 20 ppm을 초과해서는 안되며 및/또는 메트헤모글로빈 수준이 약 5%에 이르거나, 또는 이를 초과해서는 안된다는 것을 확실히 해야한다. 대안으로, 예시적인 산화 질소 투여는 5 ppm의 초기농도에서 시작하고, 그

다음 원하는 NO_x 효과를 얻을 때 까지, 0.1 ppm 내지 5 ppm씩 증가될 수 있지만, 그러나 NO_x 농도는 20 ppm을 초과해서는 안되며 및/또는 메트헤모글로빈 수준이 약 5%에 이르거나, 또는 이를 초과해서는 안된다는 것을 확실히 해야한다. 또다른 예시적인 구체예에서, 산화 질소 투여는 10 ppm의 초기농도에서 시작하고, 그 다음 원하는 NO_x 효과를 얻을 때 까지, 0.1 ppm 내지 5 ppm씩 증가될 수 있지만, 그러나 NO_x 농도는 35 ppm을 초과해서는 안되며 및/또는 메트헤모글로빈 수준이 약 5%에 이르거나, 또는 이를 초과해서는 안된다는 것을 확실히 해야한다. 여전히 또다른 예시적인 구체예에서, 산화 질소 투여는 15 ppm의 초기농도에서 시작하고, 그 다음 원하는 NO_x 효과를 얻을 때 까지, 0.1 ppm 내지 5 ppm씩 증가될 수 있지만, 그러나 NO_x 농도는 20 ppm을 초과해서는 안되며 및/또는 메트헤모글로빈 수준이 약 5%에 이르거나, 또는 이를 초과해서는 안된다는 것을 확실히 해야한다. 상기 각 구체예들에서, 5, 10, 15, 30 또는 60 분 동안 투여될 수 있다. 대안으로, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12 시간 동안 투여될 수 있다.

[0036] 하나 또는 그 이상의 구체예들에서, NO_x 가스는 처음 시간 동안 초기 농도로 투여되고, 그리고 그 다음 원하는 효과 (가령, 해당 기관의 생존력 증가)를 얻기 위한 제 2 시간 동안 제 2의 더 낮은 농도로 투여된다. 예를 들면, NO_x 가스는 약 20 ppm 내지 약 40 ppm의 초기 농도로 최대 약 1 시간 동안 투여될 수 있고, 그리고 그 다음 기관 생존력을 증가시키기 위하여, 20 ppm 또는 그 미만으로 감소될 수 있다. 예시적인 산화 질소 투여는 약 20 ppm 내지 약 40 ppm의 초기 농도로 시작하고, 그리고 그 다음 산화 질소 농도가 20 ppm 또는 이보다 더 낮아질 때까지 초기 시간에 걸쳐 증분 감소될 수 있다. 감소율은 일정하거나, 또는 일정하지 않을 수 있다. 산화 질소 농도는 예를 들어, 산화 질소 마커의 모니터링에 기초하여, 필요에 따라 추가로 조정될 수 있다. 대안으로, 예시적인 산화 질소 투여는 약 20 ppm 내지 약 40 ppm의 초기 농도에서 시작하여, 초기 시간 동안 일정하게 유지된 다음, 20 ppm 또는 그 미만의 산화 질소 농도로 감소될 수 있다. 산화 질소 농도는 예를 들어, 산화 질소 마커의 모니터링에 기초하여, 필요에 따라 추가로 조정될 수 있다. 상기 각 구체예들에서, 산화 질소 투여의 총 시간 (초기 농도에서의 시간 + 감소된 농도에서의 시간)은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12 시간일 수 있다.

[0037] 상기 각 구체예들에서, 초기 산화 질소 농도, 산화 질소의 증가 또는 감소, 최대 산화 질소 농도 및/또는 산화 질소 또는 산화 질소 마커에 대한 임계치는 적용에 따라 및/또는 치료되는 특정 기관에 따라 달라질 수 있다. 증분량은 산화 질소 전달의 조정을 통하여 변화될 수 있다. 모니터링에 의해 산화 질소 또는 산화 질소 마커가 산화 질소 임계치를 충족하거나 또는 초과하는 것으로 나타난다면, 산화 질소를 또한 점진적으로 감소시킬 수 있다.

[0038] 상기 각 구체예들에서, NO_x 농도는 또한 마지막 NO_x 농도에 대해 특정 백분율로 점진적으로 조정될 수 있다. 이러한 증분 백분율에는 NO_x 농도에서 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 110%, 125%, 150%, 175% 및 200% 변화가 포함될 수 있다.

[0039] NO_x 농도 조절을 대신하여, 또는 그에 부가하여, 당해 기관에 직접적으로 전달되는 NO_x 가스의 양을 조절하는 임의의 수단, 이를 테면, NO_x 가스의 유속을 조정함으로써, NO_x 가스 투여는 조절될 수 있다.

[0040] 추가 구체예들에서, 산화 질소 투여는 산화 질소 또는 산화 질소 마커의 모니터링에 근거하여 조정된다. 본원에서 사용된 바와 같이, "산화 질소 마커(nitric oxide marker)"란 유체 안에 산화 질소 농도의 직접 또는 간접적 지표를 지칭한다. 예를 들면, 산화 질소 마커에는 다른 무엇보다 메트헤모글로빈 및 NO_x (가령, NO, 아질산 이온(NO₂⁻), 질산 이온(NO₃⁻), 등등)이 포함된다. 이러한 조정은 NO_x 전달 장치에 의해 수동 또는 자동으로 구현될 수 있다. NO 전달 장치는 또한 모니터링에 기초하여, 알람을 제공할 수 있다. 모니터링 장치가 NO 전달 장치와 별도의 구성 요소인 경우, 모니터링 장치는 임의의 적절한 유선 또는 무선 연결을 통해 NO 전달 장치로 모니터링 정보를 전송할 수 있다. 예를 들면, 유체 안에 산화 질소 또는 산화 질소 마커가 특정 한계치 미만이면, 유체의 산화 질소 또는 산화 질소 마커가 한계치를 충족할 때까지 NO의 전달은 증가될 수 있다. 유사하게, 유체 안에 산화 질소 또는 산화 질소 마커가 특정 한계치를 초과한다면, 투여되는 NO의 양이 감소될 수 있다. 산화 질소 또는 산화 질소 마커는 일정한 간격에서 연속적으로 또는 간헐적으로 모니터링될 수 있다.

- [0041] 하나 또는 그 이상의 구체예들에서, 이러한 모니터링은 메트헤모글로빈 및/또는 NO의 모니터링을 포함할 수 있다. 이러한 산화 질소 마커는 맥박산소측정법(pulse oximetry) 또는 광학 측정, 또는 공동-관련된 NO 또는 NO 마커를 직접 또는 간접적으로 측정하는 임의의 다른 수단과 같은 기술을 통해 직접적으로 측정될 수 있다. 예를 들면, 또다른 측정 기술은 유체 NO_x 수준을 측정하기 위해 관류 유체에 프로브를 배치하는 것과 관련되고, 관류 유체의 실시간-분석을 제공할 수 있다.
- [0042] 하나 또는 그 이상의 구체예들에서, 산화 질소 또는 산화 질소 마커는 산화 질소 또는 산화 질소 마커의 측정치를 산화 질소 한계치에 비교함으로써 모니터링된다. 산화 질소 한계치는 메트헤모글로빈혈증이 발생하지 않도록 하는 안전성 한계일 수 있다. 예를 들면, 산화 질소 한계치는 메트헤모글로빈 수준, 이를 테면, 적혈구 세포에 대한 메트헤모글로빈의 백분율일 수 있다. 예시적인 구체예들에서, 산화 질소 한계치의 범위는 약 1% 내지 약 15% 메트헤모글로빈, 또는 약 3% 내지 약 10% 메트헤모글로빈이다. 따라서, 만일 메트헤모글로빈 수준이 수용가능한 범위에 준하거나, 또는 초과할 경우, 이를 테면, $\leq 3\%$, $\leq 4\%$, $\leq 5\%$, $\leq 6\%$, $\leq 7\%$, $\leq 8\%$, $\leq 9\%$, $\leq 10\%$, $\leq 11\%$ 또는 $\leq 12\%$ 인 경우, 산화 질소 투여는 조정될 수 있다.
- [0043] NO₂ 수준은 또한 상기 관류 유체에서 모니터링될 수 있다. 유체의 재순환으로 인해 NO₂가 유체에 축적될 수 있다. NO₂ 농도가 특정 한계치 이상으로 상승한다면, NO 전달 장치는 NO 투여를 조정하거나, 및/또는 경보를 제공할 수 있다. NO₂는 또한 환원제, 세정기(scrubber), 베이스 또는 다른 적절한 수단을 사용하여 제거될 수 있다.
- [0044] **(b) 허혈-재관류 손상**
- [0045] 용어 "허혈-재관류 손상"이란 허혈, 재관류 또는 이 둘 모두로 인하여 발생하는 손상을 지칭한다. 허혈은 기관으로의 부적절한 혈액 공급을 말하며, 조직 또는 기관의 영역으로의 혈액 공급이 차단되면 허혈성 손상이 발생한다. 장기 또는 조직으로의 혈액의 흐름을 복원하는 행위는 재관류로 지칭되며, 재관류 손상은 허혈 후 조직 또는 장기로의 혈액의 흐름을 복원한 결과로서 발생한다. 허혈은 유기체가 겪는 부상 또는 질병의 결과일 수 있다. 허혈 또는 저산소증을 유발할 수 있는 특정 질환의 예는 외상성 손상 또는 수술, 호흡기 또는 심장 정지, 중양, 심장 질환 및 신경계 질환을 포함하지만, 이에 국한되지는 않는다. 허혈성 또는 저산소성 상태를 초래할 수 있는 특정 상해의 예는 화상, 베인 상처(cutting wounds), 절단(amputations), 총상 상처 또는 외과적 외상과 같은 외부 공격(insults)을 포함하지만, 이에 국한되지는 않는다. 또한, 부상은 순환계의 급격한 감소를 초래하는 뇌졸중이나 또는 심장 마비와 같은 내부 공격을 포함한다. 다른 부상으로는 감기나 또는 방사선에 노출되는 것과 같은 비-침습적 스트레스로 인한 순환 감소, 또는 심장 수술 중 또는 기증자 장기를 수혜자에게 우송 및 이식을 위하여 기관을 제거하기 전, 장기 기증자를 치료할 때, 계획된 순환 감소가 포함된다.
- [0046] 본 명세서의 한 측면은 치료를 요하는 기관에서 허혈-재관류 손상을 치료하는 방법을 포괄한다. 상기 방법은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 당해 기관에 직접적으로, 연속적으로 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 조성물은 1 ppm 내지 20 ppm의 산화 질소를 포함한다. 다른 구체예들에서, 상기 조성물은 약 1 ppm 내지 약 10 ppm의 산화 질소, 약 5 ppm 내지 약 15 ppm의 산화 질소, 또는 약 10 ppm 내지 20 ppm를 포함한다. 다른 구체예들에서, 상기 조성물은 약 1ppm, 약 2 ppm, 약 3 ppm, 약 4 ppm, 약 5 ppm, 약 6 ppm, 약 7 ppm, 약 8 ppm, 약 9 ppm, 약 10 ppm, 약 11 ppm, 약 12 ppm, 약 13 ppm, 약 14 ppm, 약 15 ppm, 약 16 ppm, 약 17 ppm, 약 18 ppm, 약 19 ppm, 또는 약 20 ppm의 산화 질소를 포함한다. NO_x 가스를 포함하는 적합한 조성물은 단락 (a)에서 기술된다. 바람직한 구체예들에서, 상기 조성물은 관류 유체, 더욱 바람직하게는 무세포 관류 유체다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다. 다양한 구체예들에서, 치료가 필요한 기관은 외상적 부상, 수술, 호흡 정지 또는 심장 정지로 인해 손상이 지속되는 기관이다. 특정 구체예들에서, 치료가 필요한 기관은 이식하려는 기관이다. 예시적인 구체예들에서, 치료를 요하는 기관은 기증자로부터 떼어낸 이식하려는 기관이다.
- [0047] 5, 10, 15, 30 또는 60 분 동안 투여될 수 있다. 대안으로, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 또는 그 이상의 시간 동안 투여될 수 있다. 당해 기관이 이식을 목적으로 하는 구체예들에서, NO_x 가스의 투여는 바람직하게는 총 12 시간을 초과하지 않는다. 특정 구체예들에서, 투여는 허혈과 동시에 시작된다. 다른 구체예들에서, 허혈이 시작된 후 어느 시점에서 투여가 시작되지만, 가능한 한 허혈의 시작과 근접한 시점에 시작하는 것이 바람직하다. 예를 들면, 투여는 허혈 시작 후 약 5, 10, 15, 20, 25, 또는 30 분 시점에 시작될

수 있다. 투여는 재관류 동안 또한 시작될 수 있고, 또는 대안으로 재관류 시작 후에 지속될 수 있다. 일부 경우에서, 재관류 시작 후, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 또는 12 시간 이상 동안 투여가 지속될 수 있다.

[0048] 허혈-재관류 손상의 효과적인 치료는 당분야에 공지된 임의의 방법, 가령, 세포 기능의 측정 (가령, 대사 능력, ATP 함량 등), 세포 손상의 측정 (가령, 조직학적 평가, 단백질 산화, 형태학적 변화 등), 염증 측정 및/또는 기관 기능 측정을 포함하지만, 이에 국한되지 않는 방법에 의해 평가될 수 있다.

[0049] 추가 구체예들에서, 치료를 요하는 기관내 허혈-재관류 손상을 치료하는 방법은 추가 단계를 포함할 수 있는데, 이때 약 20 ppm 내지 약 40 ppm의 NO_x 가스 ("로딩 투여량")를 포함하는 조성물은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 투여 직전, 최대 약 1 시간 ("로딩 기간") 동안 투여된다. 예를 들면, 상기 로딩 투여량은 약 10 분, 약 15 분, 약 20 분, 약 30 분, 또는 약 10 분 내지 약 30 분 동안 투여될 수 있다. 또다른 실시예에서, 상기 로딩 투여량은 약 30 분, 약 35 분, 약 40 분, 약 40 분, 약 45 분, 약 50 분, 약 55 분, 약 60 분, 또는 30 분 내지 60 분 동안 투여될 수 있다. 산화 질소 농도를 제외하고, 두 조성물은 동일할 수 있다. 대안으로, 두 조성물이 상이할 수 있다. 로딩 투여량에서 산화 질소의 농도는 산화 질소 농도가 20 ppm 또는 이 보다 더 낮아질 때까지, 로딩 기간에 걸쳐 충분히 감소될 수 있다. 감소율은 일정하거나, 또는 일정하지 않을 수 있다. 대안으로, 로딩 용량에서 산화 질소의 농도는 로딩 기간 동안 일정하게 유지될 수 있고, 그리고 이어서 20 ppm 또는 그 미만의 산화 질소 농도로 감소될 수 있다. 바람직한 구체예들에서, 두 조성물은 동일하고, 조성물은 관류 유체, 바람직하게는 무세포 관류 유체다. 예시적인 구체예들에서, 당해 기관은 심장, 폐 또는 신장이며, 당해 기관은 이식을 목적으로 한다.

[0050] 본 명세서의 또다른 측면은 허혈-재관류에 의해 손상된 기관의 생존력을 개선시키는 방법이 포괄된다. 상기 방법은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 당해 기관에 직접적으로, 연속적으로 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 조성물은 1 ppm 내지 20 ppm의 산화 질소를 포함한다. 다른 구체예들에서, 상기 조성물은 약 1 ppm 내지 약 10 ppm의 산화 질소, 약 5 ppm 내지 약 15 ppm의 산화 질소, 또는 약 10 ppm 내지 20 ppm를 포함한다. 다른 구체예들에서, 상기 조성물은 약 1ppm, 약 2 ppm, 약 3 ppm, 약 4 ppm, 약 5 ppm, 약 6 ppm, 약 7 ppm, 약 8 ppm, 약 9 ppm, 약 10 ppm, 약 11 ppm, 약 12 ppm, 약 13 ppm, 약 14 ppm, 약 15 ppm, 약 16 ppm, 약 17 ppm, 약 18 ppm, 약 19 ppm, 또는 약 20 ppm의 산화 질소를 포함한다. NO_x 가스를 포함하는 적합한 조성물은 단락 (a)에서 기술된다. 바람직한 구체예들에서, 상기 조성물은 관류 유체, 더욱 바람직하게는 무세포 관류 유체다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다. 허혈 및/또는 재관류에 의해 손상된 기관의 생존력을 향상시키는 것은 미토콘드리아 기능의 보존, 또는 산화적 손상의 감소를 포함할 수 있다. 세포 기능의 측정 (가령, 대사 능력, ATP 함량 등), 세포 손상의 측정 (가령, 조직학적 평가, 형태학적 변화 등등), 염증 측정 및/또는 기관 기능 측정을 포함하지만, 이에 국한되지 않는 기관의 생존력을 평가하기 위한 당업계에 공지된 다른 수단이 또한 사용될 수 있다.

[0051] 한 구체예에서, 본 명세서는 허혈-재관류 손상이 있는 기관에서 미토콘드리아 기능을 보존하는 방법을 포괄한다. 미토콘드리아 기능은 본원에서 사용된 바와 같이, 미토콘드리아의 커플링 상태의 지표인 호흡 조절 비율 (RCR)에 의해 측정될 수 있다. 일반적으로, RCR은 ADP가 정상 상태 농도로 인산화된 후 (상태 4) 산화 속도에 대하여 과량의 기질 및 아데노신 디포스페이트 (상태 3)의 존재 하에서 산화 속도를 나타낸다. 일부 구체예들에서, 미토콘드리아 기능은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 기관에 직접 투여함으로써 허혈-재관류 손상을 갖는 기관에서 유의적으로 보존된다. 본원에서 사용된 바와 같이, "유의적으로 보존된다"라는 것은 본원에서 기술된 NO_x 가스로 처리된 기관과 허혈-재관류를 겪지 않았던 대조 기관 사이의 미토콘드리아 기능의 차이가 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 미만, 또는 95% 미만을 지칭한다. 환언하자면, 유의적으로 보존된다는 것은 유사한 허혈-재관류 손상을 받았지만, 직접적 연속적 NO_x 가스가 투여되지 않았던 유사한 기관과 비교하여 미토콘드리아 기능의 개선을 지칭할 수 있다. NO_x 가스를 포함하는 적합한 조성물은 단락 (a)에서 기술된다. 바람직한 구체예들에서, 상기 조성물은 관류 유체, 더욱 바람직하게는 무세포 관류 유체이며, 당해 기관은 심장, 폐, 또는 신장이다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다.

[0052] 다른 구체예들에서, 본 명세서는 허혈-재관류 손상을 갖는 기관에 대한 산화성 손상을 감소시키는 방법을 포함

한다. 일반적으로 말하자면, 상기 방법은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 당해 기관에 직접적으로, 연속적으로 투여하는 것을 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "감소된 산화성 손상(decreased oxidative damage)" 또는 "축소된(reduced) 산화성 손상"은 유사한 조건 하에서 처리되었지만, NO_x 가스의 직접적인 그리고 지속적인 투여를 받지 않은 기관과 비교하여 측정될 수 있다. 예를 들자면, 산화성 손상은 유사한 조건 하에서 처리되었지만, NO_x 가스의 직접적인 그리고 지속적인 투여를 받지 않은 기관과 비교하여, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 95% 감소될 수 있다. 특정 구체예에서, 미토콘드리아 반응성 산소 중 (mtROS)은 비-처리 대조군과 비교하여, 직접적 연속적으로 NO_x가 투여된 허혈-재관류 손상을 갖는 기관 내에서 감소된다. NO_x 가스를 포함하는 적합한 조성물은 단락 (a)에서 기술된다. 바람직한 구체예들에서, 상기 조성물은 관류 유체, 더욱 바람직하게는 무세포 관류 유체이며, 당해 기관은 심장, 폐, 또는 신장이다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다.

[0053] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 허혈-재관류 손상을 갖는 기관에서 수퍼옥시드 디스무타제 2 (SOD2 또는 망간-의존적 수퍼옥시드 디스무타제 (MnSOD)) 활성을 증가시키는 방법을 포괄한다. 상기 방법은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 당해 기관에 직접적으로, 연속적으로 투여하는 것을 포함하며, 이때 MnSOD 활성은 본 명세서의 조성물과 접촉되지 않은 대조 기관과 비교하였을 때, 당해 기관에서 증가된다. 예를 들자면, MnSOD 활성은 유사한 조건 하에서 처리되었지만, NO_x 가스의 직접적인 그리고 지속적인 투여를 받지 않은 기관과 비교하여, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 95% 증가될 수 있다. MnSOD 활성 측정 방법은 당업계에 공지되어 있다. NO_x 가스를 포함하는 적합한 조성물은 단락 (a)에서 기술된다. 바람직한 구체예들에서, 상기 조성물은 관류 유체, 더욱 바람직하게는 무세포 관류 유체이며, 당해 기관은 심장, 폐, 또는 신장이다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다.

[0054] 다른 구체예들에서, 본 명세서는 허혈-재관류 손상을 갖는 기관에서 니트로티로신 형성을 억제하는 방법을 포괄한다. 상기 방법은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 당해 기관에 직접적으로, 연속적으로 투여하는 것을 포함하며, 이때 본 명세서의 조성물과 접촉되지 않은 대조 기관과 비교하였을 때, 당해 기관에서 니트로티로신 부가물 형성이 억제된다. 예를 들자면, 니트로티로신 형성은 유사한 조건 하에서 처리되었지만, NO_x 가스의 직접적인 그리고 지속적인 투여를 받지 않은 기관과 비교하여, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 95% 억제될 수 있다. 니트로티로신의 형성 부가물 측정 방법은 당업계에 공지되어 있다. NO_x 가스를 포함하는 적합한 조성물은 단락 (a)에서 기술된다. 바람직한 구체예들에서, 상기 조성물은 관류 유체, 더욱 바람직하게는 무세포 관류 유체이며, 당해 기관은 심장, 폐, 또는 신장이다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다.

[0055] 특정 구체예들에서, 본 명세서는 허혈-재관류 손상을 갖는 기관에서 미토콘드리아 복합체 I 활성, 복합체 II 활성, 복합체 III 활성, 복합체 IV 활성, 또는 이의 조합의 비활성화를 방지하는 방법을 포괄한다. 상기 방법은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 당해 기관에 직접적으로, 연속적으로 투여하는 것을 포함하고, 이때 20ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스의 투여로 대조 기관과 비교하였을 때, 미토콘드리아 복합체 I, 복합체 II, 복합체 III, 복합체 IV, 또는 이의 조합의 비활성화가 방지된다. 한 구체예에서, 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 당해 기관에 직접적 지속적인 투여로 미토콘드리아 복합체 I 활성의 비활성화를 방지한다. 다른 구체예에서, 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 당해 기관에 직접적 지속적인 투여로 미토콘드리아 복합체 II 활성의 비활성화를 방지한다. 여전히 또다른 구체예에서, 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 당해 기관에 직접적 지속적인 투여로 미토콘드리아 복합체 III 활성의 비활성화를 방지한다. 다른 구체예에서, 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 당해 기관에 직접적 지속적인 투여로 미토콘드리아 복합체 IV 활성의 비활성화를 방지한다. 바람직한 구체예에서, 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 당해 기관에 직접적 지속적인 투여로 미토콘드리아 복합체 I과 미토콘드리아 복합체 II 활성의 비활성화를 방지한다. 또다른 바람직한 구체예에서, 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 당해 기관에 직접적 지속적인 투여로 미토콘드리아 복합체 II과 미토콘드리아 복합체 III 활성

의 비활성화를 방지한다. 예를 들자면, 상기 각 구체예들에서, 활성의 비활성화는 유사한 조건 하에서 처리되었지만, NO_x 가스의 직접적인 그리고 지속적인 투여를 받지 않은 기관과 비교하여, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 95% 억제될 수 있다. 미토콘드리아 복합체 I 활성, 복합체 II 활성, 복합체 III 활성, 또는 복합체 IV 활성을 측정하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. NO_x 가스를 포함하는 적합한 조성물은 단락 (a)에서 기술된다. 바람직한 구체예들에서, 상기 조성물은 관류 유체, 더욱 바람직하게는 무세포 관류 유체이며, 당해 기관은 심장, 폐, 또는 신장이다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다.

[0056] 상기 각 구체예들에서, 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포화하는 조성물은 당해 기관의 생존력을 증가시키는 데 필요한 시간동안 투여될 수 있다. 예를 들자면, 일부 구체예들에서, 5, 10, 15, 30 또는 60 분 동안 투여될 수 있다. 다른 구체예들에서, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 또는 그 이상의 시간 동안 투여될 수 있다. 당해 기관이 이식을 목적으로 하는 구체예들에서, NO_x 가스의 투여는 바람직하게는 총 12 시간을 초과하지 않는다. 특정 구체예들에서, 투여는 허혈과 동시에 시작된다. 다른 구체예들에서, 허혈이 시작된 후 어느 시점에서 투여가 시작되지만, 가능한 한 허혈의 시작과 근접한 시점에 시작하는 것이 바람직하다. 일부 구체예들에서, 투여는 허혈 시작 후 약 5, 10, 15, 20, 25, 또는 30 분 시점에 시작한다. 투여는 재관류 동안 또한 시작될 수 있고, 또는 대안으로 재관류 시작 후에 지속될 수 있다. 일부 경우에서, 재관류 시작 후, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 또는 12 시간 이상 동안 투여가 지속될 수 있다.

[0057] 추가 구체예들에서, 상기에서 기술된 방법은 추가 단계를 포함할 수 있는데, 이때 약 20 ppm 내지 약 40 ppm의 NO_x 가스 ("로딩 투여량")를 포함하는 조성물은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 투여 직전, 최대 약 1 시간 동안 투여된다. 예를 들면, 상기 로딩 투여량은 약 10 분, 약 15 분, 약 20 분, 약 30 분, 또는 약 10 분 내지 약 30 분 동안 투여될 수 있다. 또다른 실시예에서, 상기 로딩 투여량은 약 30 분, 약 35 분, 약 40 분, 약 40 분, 약 45 분, 약 50 분, 약 55 분, 약 60 분, 또는 30 분 내지 60 분 동안 투여될 수 있다. 산화 질소 농도를 제외하고, 두 조성물은 동일할 수 있다. 대안으로, 두 조성물이 상이할 수 있다. 로딩 투여량에서 산화 질소의 농도는 산화 질소 농도가 20 ppm 또는 이보다 더 낮아질 때까지, 최대 약 1 시간 기간에 걸쳐 증분으로 감소될 수 있다. 감소율은 일정하거나, 또는 일정하지 않을 수 있다. 대안으로, 로딩 용량에서 산화 질소의 농도는 최대 약 1 시간 기간에 걸쳐 일정하게 유지될 수 있고, 그리고 이어서 20 ppm 또는 그 미만의 산화 질소 농도로 감소될 수 있다. 바람직한 구체예들에서, 두 조성물은 동일하고, 조성물은 관류 유체, 바람직하게는 무세포 관류 유체다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다. 예시적인 구체예들에서, 당해 기관은 심장, 폐, 또는 신장이다.

[0058] **(c) 이식하려는 기관의 생존력을 개선시키는 방법**

[0059] 허혈-재관류 손상을 갖는 기관에는 이식하려는 기관이 포괄된다. 그런 이유로, 본 명세서에는 이식하려는 기관의 생존력을 개선시키는 방법들이 포괄된다. 이러한 방법은 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 기관 관류 시스템 또는 환기를 통하여 최대 12 시간 동안 기관에 직접적으로 연속적으로 투여하는 것을 포함한다. 다른 방식으로 말하면, 기관은 기관 조달 시점부터 수용자에게 식피될 때까지 중단없이, NO_x 가스와 직접 접촉될 것이다. 조달이란 본원에서 사용된 바와 같이, 기관 기증자의 식별 뿐만 아니라 기관 제거 모두 다를 지칭하고, 어느 용어와도 상호 호환적으로 사용될 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 조성물은 당해 기관이 기증자로부터 수거된 후에 투여된다. 다른 구체예들에서, 상기 조성물은 당해 기관이 기증자 내에 있는 동안 투여된다. 이들 구체예에서, 기증자는 뇌사 기증자, 또는 비-심장 박동 기증자일 수 있다. 일부 실시예에서, 5, 10, 15, 30 또는 60 분 동안 투여될 수 있다. 다른 예에서, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12 시간 동안 투여될 수 있다. NO_x 가스를 포함하는 적합한 조성물은 단락 (a)에서 기술된다. 바람직한 구체예들에서, 상기 조성물은 관류 유체, 더욱 바람직하게는 무세포 관류 유체다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다. 이론에 구속되지 않고, 본 개시의 방법은 기존 이식 기준을 만족시키지 않은 기관의 생존력을 개선함으로써 이식에 이용 가능한 기관의 수를 늘림으로써, 더 많은 기증자(가령, 한계 뇌사(marginal brain dead) 기증자, 비-심장 박동 기증자 등)로부터 더 많은 장기를 이용할 수 있게 할 것이다. 이식하려는 기관의 생존력을 개선시키는 것은 부분적으로 당해 기관에서 미토콘드리아 기능을 보존하거나, 또는 산화성 손상을 감소시키는 것을 포괄할 수 있다. 세

포 기능의 측정 (가령, 대사 능력, ATP 함량 등), 세포 손상의 측정 (가령, 조직학적 평가, 형태학적 변화 등등), 염증 측정 및/또는 기관 기능 측정을 포함하지만, 이에 국한되지 않는 기관의 생존력을 평가하기 위한 당업계에 공지된 다른 수단이 또한 사용될 수 있다. 예시적인 구체예들에서, 당해 기관은 심장, 폐, 또는 신장이다.

[0060] 한 구체예에서, 본 명세서는 이식하려는 기관에서 미토콘드리아 기능을 보존하는 방법을 포괄한다. 미토콘드리아 기능은 본원에서 사용된 바와 같이, 미토콘드리아의 커플링 상태의 지표인 호흡 조절 비율 (RCR)에 의해 측정될 수 있다. 일반적으로, RCR은 ADP가 정상 상태 농도로 인산화된 후 (상태 4) 산화 속도에 대하여 과량의 기질 및 아데노신 디포스페이트 (상태 3)의 존재 하에서 산화 속도를 나타낸다. 일부 구체예들에서, 미토콘드리아 기능은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 기관에 직접 투여함으로써 이식하려는 기관에서 유의적으로 보존된다. 본원에서 사용된 바와 같이, "유의적으로 보존된다"라는 것은 본원에서 기술된 NO_x 가스로 처리된 기관과 NO_x 가스로 처리안된 대조 기관 사이의 미토콘드리아 기능의 차이가 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 미만, 또는 95% 미만임을 지칭한다. 환원하자면, 유의적으로 보존된다는 것은 유사한 허혈-재관류 손상을 받았지만, 직접적 연속적 NO_x 가스가 투여되지 않았던 이식을 목적으로 하는 유사한 기관과 비교하여 미토콘드리아 기능의 개선을 지칭할 수 있다. NO_x 가스를 포함하는 적합한 조성물은 단락 (a)에서 기술된다. 바람직한 구체예들에서, 상기 조성물은 관류 유체, 더욱 바람직하게는 무세포 관류 유체이며, 당해 기관은 심장, 폐, 또는 신장이다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다.

[0061] 특정 구체예에서, 본 명세서는 이식하려는 기관에 산화성 손상을 감소시키는 방법을 포괄한다. 예를 들자면, 미토콘드리아 반응성 산소 종 (mtROS)은 이식하려는 기관 안에서 감소될 수 있다. 이러한 방법은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 당해 기관에 직접적으로, 연속적으로 투여하는 것을 포함한다. 직접, 연속 투여는 기관이 기증자로부터 제거되기 전에, 수송/보관 동안, 수혜자에게 이식하는 동안, 수혜자에게 이식-후에 또는 이들의 임의의 조합에서 이루어질 수 있다. 바람직한 구체예들에서, 기관은 당해 기관의 제거 시점부터 수용자에게 식피될 때까지 중단없이, NO_x 가스와 직접 접촉될 것이다. 본원에서 사용된 바와 같이, "감소된 산화성 손상" 또는 "축소된 산화성 손상"은 유사한 조건 하에서 처리되었지만, NO_x 가스의 직접적인 그리고 지속적인 투여를 받지 않은 기관과 비교하여 측정될 수 있다. 예를 들자면, 산화성 손상은 유사한 조건 하에서 처리되었지만, NO_x 가스의 직접적인 그리고 지속적인 투여를 받지 않은 기관과 비교하여, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 95% 감소될 수 있다. 특정 구체예에서, 미토콘드리아 반응성 산소 종 (mtROS)은 비-처리 대조군과 비교하여, 직접적 연속적으로 NO_x가 투여된 허혈-재관류 손상을 갖는 기관 내에서 감소된다. NO_x 가스를 포함하는 적합한 조성물은 단락 (a)에서 기술된다. 바람직한 구체예들에서, 상기 조성물은 관류 유체, 더욱 바람직하게는 무세포 관류 유체이며, 당해 기관은 심장, 폐, 또는 신장이다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다.

[0062] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 이식하려는 기관에서 수퍼옥시드 디스무타제 2 (SOD2 또는 망간-의존적 수퍼옥시드 디스무타제 (MnSOD)) 활성을 증가시키는 방법을 포괄한다. 상기 방법은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 당해 기관에 직접적으로, 연속적으로 투여하는 것을 포함하며, 이때 MnSOD 활성은 본 명세서의 조성물과 접촉되지 않은 대조 기관과 비교하였을 때, 당해 기관에서 증가된다. 예를 들자면, MnSOD 활성은 유사한 조건 하에서 처리되었지만, NO_x 가스의 직접적인 그리고 지속적인 투여를 받지 않은 기관과 비교하여, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 95% 증가될 수 있다. 직접, 연속 투여는 기관이 기증자로부터 제거되기 전에, 수송/보관 동안, 수혜자에게 이식하는 동안, 수혜자에게 이식-후에 또는 이들의 임의의 조합에서 이루어질 수 있다. 바람직한 구체예들에서, 기관은 당해 기관의 제거 시점부터 수용자에게 식피될 때까지 중단없이, NO_x 가스와 직접 접촉될 것이다. MnSOD 활성 측정 방법은 당업계에 공지되어 있다. NO_x 가스를 포함하는 적합한 조성물은 단락 (a)에서 기술된다. 바람직한 구체예들에서, 상기 조성물은 관류 유체, 더욱 바람직하게는 무세포 관류 유체이며, 당해 기관은 심장, 폐, 또는 신장이다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간

알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다.

[0063] 다른 구체예들에서, 본 명세서는 이식하려는 기관에서 니트로티로신 형성을 억제하는 방법을 포괄한다. 상기 방법은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 당해 기관에 직접적으로, 연속적으로 투여하는 것을 포함하며, 이때 본 명세서의 조성물과 접촉되지 않은 대조 기관과 비교하였을 때, 당해 기관에서 니트로티로신 부가물 형성이 억제된다. 예를 들자면, 니트로티로신 형성은 유사한 조건 하에서 처리되었지만, NO_x 가스의 직접적인 그리고 지속적인 투여를 받지 않은 기관과 비교하여, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 95% 억제될 수 있다. 직접, 연속 투여는 기관이 기증자로부터 제거되기 전에, 수송/보관 동안, 수혜자에게 이식하는 동안, 수혜자에게 이식-후에 또는 이들의 임의의 조합에서 이루어질 수 있다. 바람직한 구체예들에서, 기관은 당해 기관의 제거 시점부터 수용자에게 식피될 때까지 중단없이, NO_x 가스와 직접 접촉될 것이다. 니트로티로신의 형성 부가물 측정 방법은 당업계에 공지되어 있다. NO_x 가스를 포함하는 적합한 조성물은 단락 (a)에서 기술된다. 바람직한 구체예들에서, 상기 조성물은 관류 유체, 더욱 바람직하게는 무세포 관류 유체이며, 당해 기관은 심장, 폐, 또는 신장이다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다.

[0064] 특정 구체예들에서, 본 명세서는 이식하려는 기관에서 미토콘드리아 복합체 I 활성화, 복합체 II 활성화, 복합체 III 활성화, 복합체 IV 활성화, 또는 이의 조합의 비활성화를 방지하는 방법을 포괄한다. 상기 방법은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 당해 기관에 직접적으로, 연속적으로 투여하는 것을 포함하고, 이때 20ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스의 투여로 대조 기관과 비교하였을 때, 미토콘드리아 복합체 I, 복합체 II, 복합체 III, 복합체 IV, 또는 이의 조합의 비활성화가 방지된다. 한 구체예에서, 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 당해 기관에 직접적 지속적인 투여로 미토콘드리아 복합체 I 활성화의 비활성화를 방지한다. 다른 구체예에서, 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 당해 기관에 직접적 지속적인 투여로 미토콘드리아 복합체 II 활성화의 비활성화를 방지한다. 여전히 또다른 구체예에서, 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 당해 기관에 직접적 지속적인 투여로 미토콘드리아 복합체 III 활성화의 비활성화를 방지한다. 다른 구체예에서, 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 당해 기관에 직접적 지속적인 투여로 미토콘드리아 복합체 IV 활성화의 비활성화를 방지한다. 바람직한 구체예에서, 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 당해 기관에 직접적 지속적인 투여로 미토콘드리아 복합체 I과 미토콘드리아 복합체 II 활성화의 비활성화를 방지한다. 또다른 바람직한 구체예에서, 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 당해 기관에 직접적 지속적인 투여로 미토콘드리아 복합체 II과 미토콘드리아 복합체 III 활성화의 비활성화를 방지한다. 예를 들자면, 상기 각 구체예들에서, 활성화의 비활성화는 유사한 조건 하에서 처리되었지만, NO_x 가스의 직접적인 그리고 지속적인 투여를 받지 않은 기관과 비교하여, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 95% 억제될 수 있다. 직접, 연속 투여는 기관이 기증자로부터 제거되기 전에, 수송/보관 동안, 수혜자에게 이식하는 동안, 수혜자에게 이식-후에 또는 이들의 임의의 조합에서 이루어질 수 있다. 바람직한 구체예들에서, 기관은 당해 기관의 제거 시점부터 수용자에게 식피될 때까지 중단없이, NO_x 가스와 직접 접촉될 것이다. 미토콘드리아 복합체 I 활성화, 복합체 II 활성화, 복합체 III 활성화, 또는 복합체 IV 활성을 측정하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. NO_x 가스를 포함하는 적합한 조성물은 단락 (a)에서 기술된다. 바람직한 구체예들에서, 상기 조성물은 관류 유체, 더욱 바람직하게는 무세포 관류 유체이며, 당해 기관은 심장, 폐, 또는 신장이다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다.

[0065] 상기 각 방법에서, 기관 관류 시스템을 통하여 당해 기관에 직접적으로 NO_x 가스를 포함하는 조성물은 기관 관류 시스템, 호흡기, 또는 이의 임의의 조합을 통하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12 시간 동안 투여될 수 있다. 기관 관류 시스템 및 호흡기가 조합에 의해 이용되는 구체예들에서, 기관 관류 시스템 및 호흡기를 동시에 이용하여 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 당해 기관에 직접적으로 투여할 수 있다. 대안으로, 또는 추가적으로, 2 가지 투여 방법 사이의 중첩되는 양(예를 들어, 중첩이 없거나, 몇 초, 몇 분 또는 몇 시간의 중첩)을 가변시키는 것을 포함하여 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 직접적으로 당해 기관에 투여하기 위하여 기관 관류 시스템 및 호흡기기 순차적으로 사용될 수 있다. 예를 들면, 먼저 호흡기를 사용한 다음, 관류 시스템으로

투여하거나, 또는 그 반대로 할 수 있다.

[0066]

추가 구체예들에서, 상기에서 기술된 방법은 추가 단계를 포함할 수 있는데, 이때 약 20 ppm 내지 약 40 ppm의 NO_x 가스 ("로딩 투여량")를 포함하는 조성물은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 투여 직전, 최대 약 1 시간 동안 투여되며, 이때 NO_x 가스의 투여는 총 12 시간을 초과하지 않는다. 예를 들면, 상기 로딩 투여량은 약 10 분, 약 15 분, 약 20 분, 약 30 분, 또는 약 10 분 내지 약 30 분 동안 투여될 수 있고, 상기 조성물은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물은 그 다음 약 11.8 시간 또는 그 미만 동안 투여될 것이다. 또다른 실시예에서, 상기 로딩 투여량은 약 30 분, 약 35 분, 약 40 분, 약 40 분, 약 45 분, 약 50 분, 약 55 분, 약 60 분, 또는 30 분 내지 60 분 동안 투여될 것이며, 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물이 그 다음 11.5 시간 또는 그 미만 동안 투여될 것이다. 산화 질소 농도를 제외하고, 두 조성물은 동일할 수 있다. 대안으로, 두 조성물이 상이할 수 있다. 로딩 투여량에서 산화 질소의 농도는 산화 질소 농도가 20 ppm 또는 이보다 더 낮아질 때까지, 최대 약 1 시간 기간에 걸쳐 증분으로 감소될 수 있다. 감소율은 일정하거나, 또는 일정하지 않을 수 있다. 대안으로, 로딩 용량에서 산화 질소의 농도는 최대 약 1 시간 기간에 걸쳐 일정하게 유지될 수 있고, 그리고 이어서 20 ppm 또는 그 미만의 산화 질소 농도로 감소될 수 있다. 바람직한 구체예들에서, 두 조성물은 동일하고, 조성물은 관류 유체, 바람직하게는 무세포 관류 유체다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다. 예시적인 구체예들에서, 당해 기관은 심장, 폐, 또는 신장이다.

[0067]

(d) 이식하려는 기관의 이식-후 수능을 개선시키기 위한 목적

[0068]

본 명세서의 또다른 측면은 이식하려는 기관의 이식-후 수능을 개선시키기 위한 방법을 포괄한다. 상기 방법은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 기관 관류 시스템을 경유하여 당해 기관에 직접적으로 최대 12 시간 동안 연속 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시예에서, 5, 10, 15, 30 또는 60 분 동안 투여될 수 있다. 다른 예에서, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12 시간 동안 투여될 수 있다. NO_x 가스를 포함하는 적합한 조성물은 단락 (a)에서 기술된다. 바람직한 구체예들에서, 상기 조성물은 관류 유체, 더욱 바람직하게는 무세포 관류 유체다. 이식하려는 기관의 이식-후 성능 개선은 미토콘드리아 기능을 보존하거나, 또는 산화성 손상을 감소시키는 것을 포괄할 수 있다. 세포 기능의 측정 (가령, 대사 능력, ATP 함량 등), 세포 손상의 측정 (가령, 조직학적 평가, 형태학적 변화 등등), 염증 측정 및/또는 기관 기능 측정을 포함하지만, 이에 국한되지 않는 기관의 생존력을 평가하기 위한 당업계에 공지된 다른 수단이 또한 사용될 수 있다. 예시적인 구체예들에서, 당해 기관은 심장, 폐, 또는 신장이다.

[0069]

한 구체예에서, 본 명세서는 이식된-후 기관에서 미토콘드리아 기능을 보존하는 방법을 포괄한다. 미토콘드리아 기능은 본원에서 사용된 바와 같이, 미토콘드리아의 커플링 상태의 지표인 호흡 조절 비율 (RCR)에 의해 측정될 수 있다. 일반적으로, RCR은 ADP가 정상 상태 농도로 인산화된 후 (상태 4) 산화 속도에 대하여 과량의 기질 및 아데노신 디포스페이트 (상태 3)의 존재 하에서 산화 속도를 나타낸다. 일부 구체예들에서, 미토콘드리아 기능은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 기관에 직접 투여함으로써 이식된-후 기관에서 유의적으로 보존된다. 본원에서 사용된 바와 같이, "유의적으로 보존된다"라는 것은 본원에서 기술된 NO_x 가스로 처리된 기관과 NO_x 가스로 직접적으로, 연속적으로 처리안된 대조 기관 사이의 미토콘드리아 기능의 차이가 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 미만, 또는 95% 미만임을 지칭한다. 환언하자면, 유의적으로 보존된다는 것은 유사한 허혈-재관류 손상을 받았지만, 직접적 연속적 NO_x 가스가 투여되지 않았던 유사한 기관과 비교하여 미토콘드리아 기능의 개선을 지칭할 수 있다. NO_x 가스를 포함하는 적합한 조성물은 단락 (a)에서 기술된다. 바람직한 구체예들에서, 상기 조성물은 관류 유체, 더욱 바람직하게는 무세포 관류 유체이며, 당해 기관은 심장, 폐, 또는 신장이다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다.

[0070]

다른 구체예들에서, 본 명세서는 이식된-후 기관에서 산화성 손상을 감소시키는 방법을 포함한다. 일반적으로 말하자면, 상기 방법은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 당해 기관에 직접적으로, 연속적으로 투여하는 것을 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "감소된 산화성 손상" 또는 "축소된 산화성 손상"은 유사한 조건 하에서 처리되었지만, NO_x 가스의 직접적인 그리고 지속적인 투여를 받지 않은 기관과 비교하여 측

정될 수 있다. 예를 들자면, 산화성 손상은 유사한 조건 하에서 처리되었지만, NO_x 가스의 직접적인 그리고 지속적인 투여를 받지 않은 기관과 비교하여, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 95% 감소될 수 있다. 특정 구체예에서, 미토콘드리아 반응성 산소 종(mtROS)은 비-처리 대조군과 비교하여, 직접적 연속적으로 NO_x가 투여된 이식된-후 기관 내에서 감소된다. NO_x 가스를 포함하는 적합한 조성물은 단락 (a)에서 기술된다. 바람직한 구체예들에서, 상기 조성물은 관류 유체, 더욱 바람직하게는 무세포 관류 유체이며, 당해 기관은 심장, 폐, 또는 신장이다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다.

[0071] 추가 구체예들에서, 상기에서 기술된 방법은 추가 단계를 포함할 수 있는데, 이때 약 20 ppm 내지 약 40 ppm의 NO_x 가스 ("로딩 투여량")를 포함하는 조성물은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 투여 직전, 최대 약 1 시간 동안 투여되며, 이때 NO_x 가스의 투여는 총 12 시간을 초과하지 않는다. 예를 들면, 상기 로딩 투여량은 약 10 분, 약 15 분, 약 20 분, 약 30 분, 또는 약 10 분 내지 약 30 분 동안 투여될 수 있고, 상기 조성물은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물은 그 다음 약 11.8 시간 또는 그 미만 동안 투여될 것이다. 또다른 실시예에서, 상기 로딩 투여량은 약 30 분, 약 35 분, 약 40 분, 약 40 분, 약 45 분, 약 50 분, 약 55 분, 약 60 분, 또는 30 분 내지 60 분 동안 투여될 것이며, 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물이 그 다음 11.5 시간 또는 그 미만 동안 투여될 것이다. 산화 질소 농도를 제외하고, 두 조성물은 동일할 수 있다. 대안으로, 두 조성물이 상이할 수 있다. 로딩 투여량에서 산화 질소의 농도는 산화 질소 농도가 20 ppm 또는 이보다 더 낮아질 때까지, 최대 약 1 시간 기간에 걸쳐 증분으로 감소될 수 있다. 감소율은 일정하거나, 또는 일정하지 않을 수 있다. 대안으로, 로딩 용량에서 산화 질소의 농도는 최대 약 1 시간 기간에 걸쳐 일정하게 유지될 수 있고, 그리고 이어서 20 ppm 또는 그 미만의 산화 질소 농도로 감소될 수 있다. 바람직한 구체예들에서, 두 조성물은 동일하고, 조성물은 관류 유체, 바람직하게는 무세포 관류 유체다. 예시적인 구체예들에서, 당해 기관은 심장, 폐, 또는 신장이다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다.

[0072] (e) 이식 방법

[0073] 또다른 측면에서, 본 명세서는 이식 방법을 제공한다. 상기 방법은 (a) 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물을 최대 12 시간 동안 이식하려는 기관에 직접적으로 연속적으로 투여하고, 그리고 (b) 당해 기관을 수혜자에게로 이식하는 것을 포함한다. 5, 10, 15, 30 또는 60 분 동안 투여될 수 있다. 대안으로, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12 시간 동안 투여될 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 조성물은 1 ppm 내지 20 ppm의 산화 질소를 포함한다. 다른 구체예들에서, 상기 조성물은 약 1 ppm 내지 약 10 ppm의 산화 질소, 약 5 ppm 내지 약 15 ppm의 산화 질소, 또는 약 10 ppm 내지 20 ppm를 포함한다. 다른 구체예들에서, 상기 조성물은 약 1ppm, 약 2 ppm, 약 3 ppm, 약 4 ppm, 약 5 ppm, 약 6 ppm, 약 7 ppm, 약 8 ppm, 약 9 ppm, 약 10 ppm, 약 11 ppm, 약 12 ppm, 약 13 ppm, 약 14 ppm, 약 15 ppm, 약 16 ppm, 약 17 ppm, 약 18 ppm, 약 19 ppm, 또는 약 20 ppm의 산화 질소를 포함한다. NO_x 가스를 포함하는 적합한 조성물은 단락 (a)에서 기술된다. 바람직한 구체예들에서, 상기 조성물은 관류 유체, 더욱 바람직하게는 무세포 관류 유체다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다. 예시적인 구체예들에서, 당해 기관은 심장, 폐, 또는 신장이다.

[0074] 특정 구체예들에서, 이식하려는 기관은 상기 단계 (a) 전에, 기증자로부터 제거되었다. 이들 구체예에서, 허혈이 시작된 후 어느 시점에서 투여가 시작되지만, 가능한 한 허혈의 시작과 근접한 시점에 시작하는 것이 바람직하다. 예를 들면, 투여는 허혈 시작 후 약 5, 10, 15, 20, 25, 또는 30 분 시점에 시작될 수 있다. 투여 시점은 재관류의 시작에 상응하거나 또는 상응하지 않을 수 있다.

[0075] 추가 구체예들에서, 상기 방법은 추가 단계를 포함할 수 있는데, 이때 약 20 ppm 내지 약 40 ppm의 NO_x 가스 ("로딩 투여량")를 포함하는 조성물은 20 ppm 또는 그 미만의 NO_x 가스를 포함하는 조성물의 투여 직전, 최대 약 1 시간("로딩 기간") 동안 투여된다. 예를 들면, 상기 로딩 투여량은 약 10 분, 약 15 분, 약 20 분, 약 30 분, 또는 약 10 분 내지 약 30 분 동안 투여될 수 있다. 또다른 실시예에서, 상기 로딩 투여량은 약 30 분, 약 35 분, 약 40 분, 약 40 분, 약 45 분, 약 50 분, 약 55 분, 약 60 분, 또는 30 분 내지 60 분 동안 투여될 수 있다. 산화 질소 농도를 제외하고, 두 조성물은 동일할 수 있다. 대안으로, 두 조성물이 상이할 수 있다. 로딩

투여량에서 산화 질소의 농도는 산화 질소 농도가 20 ppm 또는 이보다 더 낮아질 때까지, 로딩 기간에 걸쳐 증분으로 감소될 수 있다. 감소율은 일정하거나, 또는 일정하지 않을 수 있다. 대안으로, 로딩 용량에서 산화 질소의 농도는 로딩 기간 동안 일정하게 유지될 수 있고, 그리고 이어서 20 ppm 또는 그 미만의 산화 질소 농도로 감소될 수 있다. 바람직한 구체예들에서, 두 조성물은 동일하고, 조성물은 관류 유체, 바람직하게는 무세포 관류 유체다. 추가 구체예들에서, 상기 무세포 관류 용액은 카프릴레이트 나트륨, N-아세틸-DL-트립토판, 및 인간 알부민을 임의선택적으로 포함하는, Steen Solution™이다. 예시적인 구체예들에서, 당해 기관은 심장, 폐, 또는 신장이다.

[0076] **실시예**

[0077] 하기 실시예들은 본 발명의 다양한 반복을 설명한다.

[0078] **실시예 1: 폐 이식 프로토콜**

[0079] 이 연구에는 수정된 표준 폐 기증자 포함 기준에 따라, 총 20 개의 폐 (gNO 및 관류액이 있는 8개의 폐, 관류액만 있는 8 개의 폐, 환기된 gNO 및 관류액이 있는 4 개의 폐)가 포함된다. 3-지(arm) 연구에는 관류액에 첨가된 gNO, 관류액 단독, 환기된 gNO 및 관류액 (파일릿 연구)이 포함된다. 무 세포 관류 액 (Steen 용액)이 있는 XVivo 관류 장치 시스템이 사용될 것이다. 폐의 최대 저온 허혈 시간은 8-10 시간일 것이다. 생체외(Ex-Vivo) 폐 관류 기간은 최대 12 시간일 것이다. 폐의 건강은 등급 시스템, 바이오마커 평가 및 조직병리학적 평가에 의해 평가된다.

[0080] **등급 시스템(Grading System)**

[0081] 등급화 시스템에는 3 가지 변수의 복합 측정 값을 사용하는 0-10 등급 (집계 점수)이 포함된다. 세 가지 변수는 1) 4 가지 범주를 사용하여, 0-4로 가중된 델타 PaO₂이다: 0=<350mmHg; 1=≥350-<400Hg; 2=≥400-<450 mm Hg; 3=≥450-<500mmHg; 4=≥500mmHg, 2) 가중치가 0-4 인 폐의 정적 준수 (기준선으로부터 변화): 0 = 개선이 없거나, 또는 순응도의 악화도 없음; 1=1-3% 개선; 2 = 4-7% 개선; 3=8-11%개선 그리고 4=순응도에서 12-15% 개선, 그리고 3) 0-2로 가중 된 폐 혈관 저항 (PVR): 0 = PVR에 변화가 없거나 또는 PVR의 증가 없음; 1= PVR에서 1-7% 감소; 2 = PVR에서 8-15% 감소.

[0082] **바이오마커 평가**

[0083] 손상 평가 분자 단백질 (DAMPs), 고 이동성 그룹 상자-1 (HMGB1), S100A8 (MRP8, 칼그라눌린 A), S100A9 (MRP14, 칼그라눌린 B), 및 혈청 아밀로이드 A (SAA)들이 평가될 바이오마커일 것이다. 관심대상 사이토킨은 TNF 알파-1, IL1-베타, IL-6, NLRP3, IL-10 및 기증자 세포 유리(Donor Cell Free) DNA이다.

[0084] **조직병리학적 평가**

[0085] 평가되는 조직병리학적 매개변수는 간질성 및 폐포 내 부종, 히알린 막 형성, 및 혈관 완전성/손상의 증거 (CD31 착색)이다.

[0086] **기증자 폐 조달**

[0087] 기증자로부터 기관을 회수한 후의 현재 임상 관행은 수혜자에게 이식될 때까지 저온 보존을 위한 것이다. 회수하는 동안 폐는 국소 냉각 및 폐 환기와 함께, 낮은 칼륨 텍스트란 보존 용액을 사용하여 차가운 폐 플러시(flush)를 거친다. 그 다음 폐는 정적 팽창된 상태(static inflated state)로 4℃에서 이송된다. 저체온증은 허혈 (섭씨 37도에서 대사를 5 %)에 직면하여, 세포 생존 능력의 유지와 함께, 대사 활성을 감소시켜, 본질적으로 세포 사멸 과정을 늦춘다. 따라서, 저온 보존은 종래 기술의 폐 보존의 중심이다. 그러나, 기관 대사 기능이 현저히 감소하여, 주요한 폐 평가 및 회복 가능성이 배제된다.

[0088] 이 연구의 기증자 폐 조달 기술은 다음과 같다. 기관지경술(bronchoscopy) 및 중앙 흉골절개술(sternotomy)을 수행한다. 심낭과 여러 공간을 개봉한다. 양쪽 폐를 모두 모집하고, 100 % FiO₂ 투입(challenge)에서 PO₂를 평가한다. 전신적으로 해파린화한다. 주요 폐동맥 대동맥 (PA)에 펄스-스트링(pursestring)을 배치한다. 펄스-스트링을 통해 PA에 캐놀러를 삽입시킨다(cannulate). 캐놀라에 공기-제거하고, 공기-제거된 Perfadex 튜빙에 연결한다(Perfadex 백은 중력 (비-가압)을 통해서만 비워내야 하며(drain), 상기 백은 폐보다 1 미터 이상 더 높아서는 안된다). 500 mcg의 Alprostadil을 주요 PA에 직접 투여한다. 상대 정맥(Superior Vena Cava: SVC), 좌우 심방을 결찰시키고, 대동맥을 교차-연결시킨다.

- [0089] 4 리터의 Perfadex를 전향(antegrade)으로 전달한다. 우심방과 좌심방 모두에서 유출액(effluent)의 활발하고 신속하게 배액(drainage)되도록 한다. 양쪽 폐 모두에 국소적으로 얼음을 둔다(그러나, 한 사이클당 하나의 폐만 사용). 4-6 ml/kg/분의 일회 호흡량에서 실내 공기 FiO₂와 분당 10 회 호흡 속도로 환기를 유지한다. 주입이 완료되면, 심장을 잘라낸다. 심장이 이식되는 경우, PA 분기점에서 PA를 절개한다. 분기 PAs 분할하지 않는다. 심장이 이식되지 않는 경우, 폐동맥관에 바로 근접한 RVOT에서 PA를 절개한다. 좌심방 커프는 그대로 유지한다. 차가운 Perfadex (총 2 리터)를 폐정맥으로 역행(retrograde) 주입한다. 횡격막 수준에서 심낭을 양측으로 자르고, 횡격막으로부터 심낭을 완전히 분리되도록 옮긴다. 아래쪽 폐 인대를 양측으로 절개한다. 후방 종격(mediastinum)으로부터 머리방향 용골까지 후방 심낭을 해부한다. 기도(trachea)를 머리방향 윤상 연골(cricoid cartilage) 수준까지 해부한다. 기관내 튜브를 후두 수준까지 집어넣는다. 50% FiO₂에서 전체 폐 용량의 50% 까지 폐를 팽창시킨다. 2 개의 스테이플 로드(staple loads)와 함께, 윤상 연골 위의 기도를 분할한다. 횡격막을 향해 후방 종격 (식도) 꼬리로부터 후방 기도를 해부한다. 대동맥 활(aortic arch)로부터 PA를 해부하고, 동맥관 인대(ligamentum arteriosum)를 분할한다. 폐를 제거하고, 얼음이 채워진(iced) Perfadex 용액에 보관한다. 이식을 위해 심장이 조달된 경우, 기증자의 하행 대동맥을 10cm 잘라내고, 폐와 동일한 차가운 Perfadex 용액 백에 넣는다. 이것은 나중에 폐 동맥의 재건에 사용될 것이다.
- [0090] 생체외(Ex-Vivo) 폐 관류 (EVLP)
- [0091] EVLP의 주요 원리는 기증자 기관의 온도, 수분 및 무균성을 유지하는 밀폐된 용기 안에서 신체 외부에서 폐를 관류 및 환기시키는 것으로 구성된다. EVLP 회로는 폐동맥 (PA)에 들어가기 전, 막 가스 교환기와 백혈구 고갈 필터를 통과하면서 관류액을 순환시키는 원심 펌프로 구성된다. 이 시스템은 심장 외과적 수술 체외-회로 (EC)에 사용되는 시스템과 상당히 유사하다. 무세포 Steen 용액은 EVLP 프로세스를 위한 관류액으로 이용될 것이다.
- [0092] 간단히 EVLP 프로세스는 다음과 같다. 폐는 환기가 이루어지는 동안 폐를 안정된 위치에 고정하고, 따뜻하고 습한 환경을 제공하기 위해, 특수 덮개가 덮힌 플라스틱 챔버에 넣어둔다. 관류액 용액 (원심 펌프로 추진됨)은 폐동맥 (PA)에 위치한 캐놀라를 통해 폐로 들어간다. 폐로부터의 복귀 흐름은 중력에 의해 폐정맥 (PV)을 통하는 수동적 흐름이며, 상기 관류 용액은 펌프 및 막 산소 공급기를 통해 재순환되기 전에 저장소에 수집된다. 가스 산소발생기는 산소 (6 %), 이산화탄소 (8 %) 및 질소 (86 %)의 특수 가스 혼합물이 있는 탱크에 연결된다. 상기 호흡기는 폐까지 숨길(airway)을 제공하고, 기도 흉부 튜브에 연결된다.
- [0093] 폐 이식편 (기관 수거 동안 냉각되고, 정적 저온 보존을 거친다)은 45 분에 걸쳐 점진적으로 다시 따뜻하게 된다. 폐 관류는 낮은 유속 (.10-.15 l/분)으로 시작하여, 재가온(rewarming)과 병행하여 점차적으로 증가되며, 예상 심박출량의 40-50 % (70ml/kg/분)로 폐동맥으로 전달된다. 기관 조달 후, 허혈-재관류 손상 (IRI)에 의해 모세관-폐포 장벽이 약해졌으므로 PA 압력은 낮게 (<15-20mmHg) 유지되어야 하고, IRI가 완전성을 손상시키면서, 폐포 모세관 막의 투과성이 증가되고, 폐부종을 형성으로 이어질 수 있다.
- [0094] 재가온 단계 동안, 이식편으로의 O₂ 공급은 막 산소 공급기에 의해 전달되고, 이어서 PA에서의 일반적인 측정에 가까운 pCO₂ 및 pH를 전달한다. 카테터는 EVLP 프로세스를 통해 PA 및 좌심방 (LA) 압력을 지속적으로 측정하는 부위에 배치된다. 관류액의 온도가 섭씨 32도 (일반적으로 관류 시작 후 약 30 분)에 도달하면 폐의 기계적 환기가 시작된다.
- [0095] 다음은 EVLP 프로세스의 19 단계 진행이다. 이것은 완전한 프로토콜이 아닌, 신속한 참조 지침이다.
- [0096] 단계 1. XPS로의 폐 수송. UNOS 표준을 준수한다.
- [0097] 단계 2. 폐의 캐놀러화. LA 캐놀라 (녹색)는 심방 개구부에 근접하도록 다듬어졌으며, 러닝(running) 폴리프로필렌 봉합사로 봉합되었다. PA 캐놀라 (노란색), PA 내강(lumen)을 열고, XVIVO 캐놀라를 삽입한다. 폐동맥이 재건을 필요로 하는 경우, 기증자 하행 대동맥 세그먼트를 폐동맥으로 꿰매어, 상기와 같이 캐놀러화한다. 제대(umbilical) 테이프 또는 실크 타이를 사용하여 캐놀라를 그루브(grove)를 위에 고정하고, 하부 압력 라인 아래 캐놀라에 되 묶는다. 삽관하고, 수축을 방지하기 위해 기도를 클램프 고정한다. ET 튜브를 기도에 삽입하고, 제대 테이프 또는 실크 타이로 제자리에 고정한다.
- [0098] 단계 3. 백 테이블 플러시(Back table flush). 1 리터 차가운 Perfadex를 역행 플러시하고, 캐놀러 주변의 누출을 점검한다. ET 튜브 고정을 유지한다.

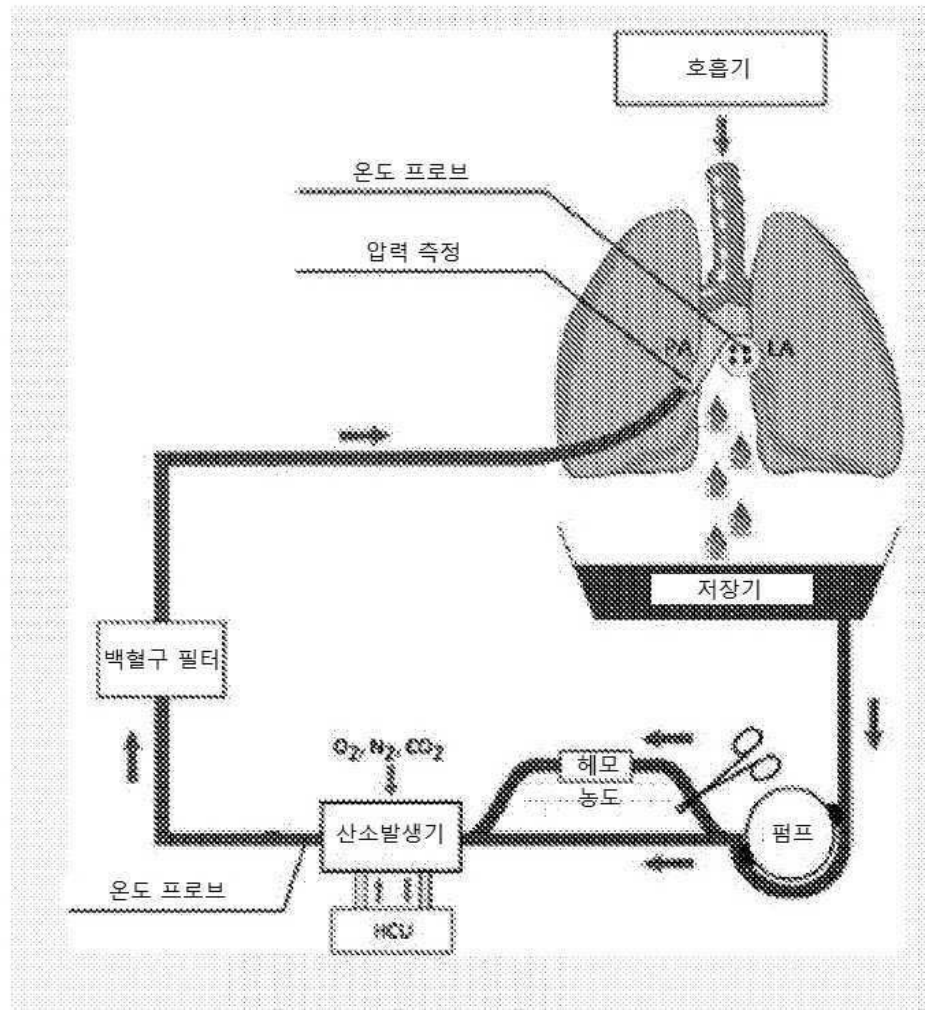
- [0099] 단계 4. 시스템 설치. PGM를 사용하여 XPS에서 관류 회로를 설치한다. 플라스틱을 제거하여 돔(dome)을 개방한 다음, 백 테이블에 첫번째 층의 블루 래핑(wrapping)한다. 블루 테이블 위에 있는 XPS의 상단 바에 투명한 U 드레이프(drape)를 배치하고, 블루 테이블을 덮는 XPS 상에 w/ 클립을 고정하여, 우측에서 U 드레이프의 "U"가 개방된 상태로 유지시켜, 튜브가 통과할 수 있도록 한다. 멸균된 방식으로 Xvivo 기계의 블루 테이블 상에 돔의 두 번째 블루 층을 개방한다. 빨간색 3/8 인치 드레인(drain) 라인을 돔의 뒷면에 연결하고, 1/4 라인을 기둥 외부 주위로 통과시키고 빨간색 롤러 펌프에 넣는다. 드레인 백을 밀어내고, 주황색 및 빨간색 라인을 백에 부착한다. 저장기 상단으로부터 스톱콕(stopcock)으로 리턴 라인을 추가한다. 빨간색 라인의 스톱콕을 저장기로 열고, 드레인 백으로 개방한다. 변환기를 설정하고, 멸균 식염수로 플러시하고, 히터/쿨러에 파란색 튜브를 추가한 다음, 정맥 가스 라인을 Quadrox 후면에 추가한다. 충분한 양의 O2와 트리(tri) 가스가 있는지 확인한다.
- [0100] 단계 5. 시스템 제거(purge). 저장기에 1500ml의 STEEN을 넣고, 약물 (헤파린 10,000 단위, 메틸프레드니솔론 500mg, 세프트아지딘(Ceftazidime) 1gm)을 추가하고 Cardiohelp 및 히터 쿨러 (23으로 설정)를 먼저 켜 다음, UPS와 터치 스크린 및 호흡기를 켜다. Quadrox 뒷면의 노란색 캡, 저장기의 임의의 투명한 캡 및 백혈구 필터의 파란색 캡을 제거함으로써, 관류 회로를 제거한다. Cardiohelp를 1000RPM으로 늘리고, Cardiohelp를 3000RPM으로 1-분 증가시킨 후, 회로 누출을 점검한다. 몇 분 후, Cardiohelp를 5000RPM으로 늘리고, 1 분 동안 작동 되도록 둔 후, 모든 공기가 라인에서 빠져 나왔는지 확인하고, RPM을 250 미만으로 줄인다.
- [0101] 단계 6. 데이터 설정 로깅(Data set up logging). 터치 스크린의 설정 페이지에서 필요한 정보를 입력하고, 알람이 울리도록(6.8) PH를 허용가능한 수준으로 변경한다. 서비스 페이지에서 녹색 PGM 캘리브레이션(calibration) 버튼을 누르고, PGM 패키지에 있는 캘리브레이션 숫자를 기준으로 PH 및 PO2를 채운다. 메인 화면에서 타이머를 설정한다 (1 및 2에 카운트-업하고, # 3에 카운트-다운 (10 분 동안 # 3 설정)). 호흡기에서, 셋업, 모드 (S) CMV+를 누르고, 확인을 누른다. 스프레드(sheet) 시트에서 매개 변수를 입력하고, 확인을 누른다. 플로우 시트(flow sheet)의 매개 변수마다 알람을 설정한다. XPS 뒷면의 I/O 패널에서 폐 회로 우측에 들숨(Inhale) 포트를, 그리고 좌측에 날숨(exhale) (파란색 팁) 포트를 배치한다. 유량 센서 튜브연결, 투명한 것은 흰색에, 그리고 파란색은 파란색에 연결한다. 정맥 가스 혼합 라인을 연결한다. 고압 O₂ 라인을 연결한다. 가슴 필터(Humidifying filter)는 유량 센서와 ET-T 사이의 회로 폐단에 들어간다. 사전-점검(Pre-op)을 수행하고, 시스템을 누른 다음 테스트 & 교정을 누른다. 각 교정 캘리브레이션을 선택하고, 한번에 하나씩 테스트한다. 조임(tightness) & 다음 단계를 누르고, 유량 센서 및 다음 단계를 누르고, O₂ 쉘 & 테스트 필요 없음.
- [0102] 단계 7. 역방향 플러시. 멸균 튜브 클램프를 사용하여, 관류 회로의 흐름을 되돌리고(redirect), 유동은 LA 들어가고, PA로 나간다. 750RPM에서 시작하고, PA 캐놀라를 채우기에 충분한 유량이 될 때까지 RPM을 천천히 증가시키고, STEEN 용액에 혈액이 없어 질 때까지 씻어내고, 그 양은 대략 250 cc이어야 한다. 이 STEEN 용액을 재순환 펌프가 있는 덤프 백(dump bag)으로 향하게 한다. 혈액이 제거되면, LA 측에 캐놀라와 회로를 부착하여, 폐에 STEEN 용액이 가득 차도록 한다. LA 캐놀라를 통과하여 PA 캐놀라를 채우는데 충분한 STEEN이 있어야 하고, 그런 다음 재순환 펌프의 방향이 저장기로 가도록 재설정한다. 멸균 클램프를 PA 캐놀라 상단에 재-배치하고, 회로에 부착한다. 클램프 브리지 (유일한 클램프이어야 함).
- [0103] 단계 8. 캘리브레이션(Calibration). 관류 유량 센서 및 압력 센서를 보정한다(calibrate). (폐에 역행용으로 회로에 배치하기 전에, 유량 센서를 수행할 수 있다). 압력 센서는 역행 및 폐가 회로에 있는 직후에 이루어져야 한다, (캐놀라가 폐와 압력 스톱콕을 만나는 유량 레벨의 상단은 모두 동일한 수준이어야 하고, 압력 센서 라인으로부터 시린지를 당겨 STEEN으로 채우고, 스톱 콕을 움직여 염수에서 차단한다).
- [0104] 단계 9. 전향(Antegrade). 타이머 1을 시작하고 (관류 타이머), 첫 시간 설정에 대해서는 EVLP 워크업 시트를 따른다.
- [0105] 단계 10. 첫 시간 설정(1st hour step up). 10 분마다 Cardiohelp에 변경이 있을 것이며, 각각 최대 값에 도달할 때까지, 히터 쿨러가 변경될 것이다. 온도가 32℃에 도달할 때까지 환기를 시작할 수 없다. 32℃에서 브런치(bronch)가 수행될 수 있다. 호흡기가 시작되는 동시에 트리-가스 스위프(sweep)를 시작해야 한다.
- [0106] 단계 11. 폐 원기회복(recruitment). O₂ 투입(challenge)과 혼동하지 않기 위해, 폐 원기회복은 호흡기의 호기(expiratory) 키를 15 초 동안 수동으로 유지하는 것이다. 이 키는 날숨(expiration)을 유지하기 위하여, 들숨(inspiration) 다음 눌러야 한다.

- [0107] 단계 12. O₂ 투입. O₂ 투입은 호흡기의 설정만 변경하고, EVLP 워크업 시트의 원기회복 설정에 따른다. (Vt의 경우 IBW x 10 곱하기, FiO₂는 100%로 증가, BPM 최대 10)
- [0108] 단계 13. 가스 뽑아내기(draw). O₂ 투입 마지막 순간에 변환기에서 동맥 및 정맥류 관류액 샘플을 채취해야 한다. 메인 스크린에서 회색 PH 버튼을 누르면, 가스 값이 고정된다. (실험실로부터 결과를 돌려받을 때, PH에 대해 LA 및 PA 모두에서 핀 포인트(pin point) 교정을 수행한다). 적절한 정보를 기록한 다음, 호흡기에서 일반 설정으로 재설정한다 (이 시점에서 알람 및 설정은 높게(high) 그대로 둔다).
- [0109] 단계 14. X-레이. O₂ 투입이 완료된 후, 향후 x-레이에 대한 기준선 비교를 위해 x-레이를 수행해야 한다.
- [0110] 단계 15. Steen 회식. 원기회복, 투입, 가스 배출 및 x-레이가 완료된 후 (또는 X-레이 동안) STEEN의 회식이 필요할 것이다. 터치 스크린에서 +/- 펌프 제어 창을 한다. "제거(remove)" 버튼을 터치하고, 제거 버튼이 잠길 때까지 손가락을 아래로 민다 (클램프 방법을 사용하는 경우, 대신 클램프를 제거한다). 저장기에 수준이 떨어지는 것을 확인한다. 충분한 양의 STEEN을 제거한 후, "제거" 버튼을 눌러 끈다 (클램프 방법을 사용하는 경우, 클램프를 다시 둔다). 3 ~ 4 병의 신선한 STEEN을 추가한다. 또다른 투여량의 약물도 첨가될 수 있다.
- [0111] 단계 16. 다음 3-5 시간 동안 폐를 유지하고, 평가한다. 각 시각의 50 분 시점에서 단계 12 및 13 (핀 포인트 캘리브레이션 빼고)을 반복한다.
- [0112] 단계 17. 이식을 위해 폐를 제거하기 전, 약 1 시간 동안 단계 14를 반복한다. 첫 번째 x-레이와 두 번째 x-레이를 비교하면, 폐가 이식 가능한지 여부를 결정하는 데 도움이 될 것이다.
- [0113] 단계 18. 6 시간의 관류 후 단계 15를 반복한다.
- [0114] 단계 19. 빠른 냉각. 폐가 이식에 사용가능한 경우, 히터/쿨러를 15℃로 설정하고, 32℃에서 폐가 50 % 팽창될 때, ET 튜브를 클램프 고정하고, 폐를 관류 회로에서 분리시키고, 2 리터의 차가운 Perfadex로 플러시한 후, Perfadex이 든 멸균 백에 넣는다. (표준 기증자 조달 프로토콜에 유사함).
- [0115] 단계 20. XPS를 청소하고, 보관한다. 소독제로 XPS 표면을 닦고, 토글(toggle) 스위치를 위로 올려 보관하고, 충전을 위하여 콘센트에 꽂아둔다. 매 10 분의 투입이 끝날 때마다 가스 빼기를 해야 한다.
- [0116] 참고용으로 도 1 및 도 2 참고, 이들은 잠재적인 시스템 회로도들을 보여준다.
- [0117] **실시예 2.** 흡입된 산화 질소는 심장 마비 시도의 블라인드, 무작위화, 제어된 어린 돼지 질식 모델에서 대뇌 미토콘드리아 기능을 향상시킨다.
- [0118] **개요**
- [0119] 소아 심정지(CA) 후 신경학적 손상은 여전히 흔하다. 흡입된 산화 질소 (iNO)는 CA에 의해 촉발되는 2 차 뇌 손상의 중요한 교차점인 뇌 미토콘드리아 기능 장애를 완화시킬 수 있을 것이다. 질식과 심정지 후, CPR 동안 20ppm iNO 처치를 받고, 4시간의 자발순환 회복-후(post-return of spontaneous circulation)(ROSC) 동물은 위약과 비교하였을 때, 호흡기 조절 증가(RCR) 및 미토콘드리아 반응성 산소 종(mtROS)의 감소로 나타난 바와 같이, 개선된 뇌 혈류(CBF)를 가지며, 개선된 미토콘드리아 기능을 가질 것이다.
- [0120] **방법**
- [0121] 4-주령의 돼지는 7 분 동안 질식을 겪고, 후 심실 세동을 받았다. 가이드라인 CPR은 흉부 직경의 $\geq 1/3$ 의 압박 깊이 (CD)로 수행되었으며, 표준 에피네프린은 10 분 동안, 또는 ROSC까지 지속되었으며, 프로토콜화된 사후-관리 (ROSC) 치료를 받았다. 맹검(blinded) 방식으로, 대상들을 무작위화하였다 (CPR 기간 1분에 iNO 20 ppm이 개시됨, n = 10 또는 위약, n = 10). 모의군(Shams) (n=4)은 CA 또는 CPR을 겪지 않았다. 침습적 임상 및 비침습적 광학 기기를 사용하여 기준 및 연속 CBF 측정을 수행하였다. 대뇌 피질 및 해마 조직을 고-해상도 호흡 측정법으로 분석하여 미토콘드리아 기능을 평가하였다. 적용가능한 경우 T-검정 및 ANOVA를 사용하였다. 중측 혈류역학 변수는 개체-내 상관 관계를 제어하기 위해 일반화된 추정 방정식을 사용하여 비교되었다.
- [0122] **결과**
- [0123] 위약군의 7/10 및 iNO 군의 iNO 10/10 (p = 0.21)이 생존하였다. CPR 동안 그리고 ROSC-후 치료군 간에 침습성 또는 비침습성 CBF에 유의적인 차이는 없었다. 피질 및 해마 RCR은 유의적으로 더 높았고 (p = .04, 0.007), iNO 처리된 동물에서 mtROS 생성은 유의적으로 더 낮았다 (p <0.001, p = 0.03). iNO와 위약군 간에 전신 또

는 폐 혈액학에는 차이가 없었지만, CPR 동안 iNO 동물의 평균 폐 동맥 압력이 더 낮은 경향이 있었다 (28.1 ± 9.8 v. 42.6 ± 6.0 , $p = 0.14$). iNO는 뇌 미토콘드리아 기능 (RCR 증가)을 유지하고, 어린 CA의 돼지 모델에서 mtROS 생산을 제한한다. 허혈-재관류 손상 및 심정지에서 iNO의 이러한 잠재적 신경보호 효과를 평가하기 위한 추가 연구가 필요하다.

도면

도면1



도면2

