(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第3779726号
(P3779726)
(45)発行日　平成18年5月31日(2006.5.31)　(24)登録日　平成18年3月10日(2006.3.10)

(51)Int.Cl.　F I
A61K 33/00 (2006.01)　A61K 33/00
A61P 7/02 (2006.01)　A61P 7/02
A61P 9/10 (2006.01)　A61P 9/10　103

請求項の数 1　(全 9 頁)

(21)出願番号　特願平6-522387
(86)(22)出願日　平成6年3月31日(1994.3.31)
(65)公表番号　特表平9-500609
(43)公表日　平成9年1月21日(1997.1.21)
(86)国際出願番号　PCT/US1994/003561
(87)国際公開番号　WO1994/022499
(87)国際公開日　平成6年10月13日(1994.10.13)
審査請求日　平成13年4月2日(2001.4.2)
(31)優先権主張番号　08/043,653
(32)優先日　平成5年4月6日(1993.4.6)
(33)優先権主張国　米国(US)

(73)特許権者
ブリガム　アンド　ウィメンズ　ホスピタル
アメリカ合衆国，マサチューセッツ　０２１１５，ボストン，フランセス　ストリート　７５
(74)代理人
弁理士　丹羽　宏之
(72)発明者　フロステル，クラーエス　ゲー.
スエーデン国，エス―１６２　５１　ヴァリングビ，ソーデルベルガ―アレー　２８
(72)発明者　ヘーデンスティールナ，ゴーラン
スエーデン国，エス―１８２　６４　デュルスホルム，ヴェンデウァエゲン　７４

最終頁に続く

(54)【発明の名称】薬剤組成物を製造するためのガス状酸化窒素の使用法

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
酸化窒素が全身的循環系を経由して有効である、吸入により全身的血小板凝集および凝固または狭心症を含む急性冠状動脈症候群の全身的治療に適した薬剤組成物を製造するためのガス状酸化窒素の使用法。
【発明の詳細な説明】
発明の背景
生理的な条件下では、酸化窒素はきわめて不安定で、特に瞬間的に酸素、過酸化陰イオン、および酸化還元性金属と反応する性質がある（参考文献：Lancaster et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA｛プロスィーディングス・オブ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンセズＵＳＡ｝87:1223-1227(1990)；Ignarro et al,. Circ. Res. 65:1-21(1989)；およびGryglewski et al., Nature 320:454-456(1986)）
肺臓内における酸化窒素（以下主としてＮＯと略記する）の生成の結果は十分には解明されていないが、ＮＯの潜在的な有害作用は、酸素およびその他の反応性酸素生成物の高い環境濃度の下で容易に形成されるものである。非荷電官能基（ＮＯ°）の特殊な化学的反応性の直接的結果として、反対の結果が生成されるが、肺臓へのＮＯの導入は、このような反対効果と密接な関連性がある。この反対効果は、一般に、ＮＯ°の投与に関するＮＯ療法に対して障害を招来する。例えば、ＮＯ°と、肺臓内に高密度で存在するO_2との間、或は活性O_2との間の反応によって、NO_2および過酸化亜硝酸塩等の毒性の高い生成物が発生する。また、これらの反応の結果、ＮＯは急速に不活性化されるので、全ての有利

な薬理学的効果が消去される。（文献：Furchgott R.F. et al.,I.「内皮誘導弛緩因子と酸化窒素」；eds. Rubanyi；G.M., pp. (1990)；Gryglewski, R.J. et al., Nature 320: 454-456(1986)）

さらにＮＯ°はヘモグロビンの酸化還元金属部位と反応して、メテモグロビンを生じ、酸素－ヘモグロビン間の結合を阻害して、血液の酸素保持能力を著しく低下させる。

それにも拘らず、２、３の研究者は、気管支縮小および可逆性血管縮小におけるＮＯの価値を論証している。PCT Publication No.WO 92/10228号明細書には、気体状の酸化窒素或は酸化窒素を放出する化合物の吸入による喘息等の気管支縮小症および肺動脈高血圧等の血管縮小症の治療および予防法が開示されている。それには多くの化合物が知られている。これらの研究者は、心臓の対向する両側から制御される全身回路および肺動脈回路との２つの回路から成る哺乳類循環系の特徴を論じている。彼らの論文によれば、（血液流に導入されたＮＯガスは、ヘモグロビンとの結合で急速に不活性化するので）吸入されたＮＯの気管支拡張効果は、換気気管支に限定され、また吸入されたＮＯの血管拡張効果は、血液流へのＮＯ経路の部位の近傍欠陥、即ち肺動脈毛細血管への血管に限定される。このことから彼らは以下の通り結論している。即ち彼らの気管支拡張と肺動脈血管拡張の方法の重要な利点の一つは、全身血圧を随伴して潜在的に危険なレベルに低下させることなく、気管支痙縮、および／または肺動脈高血圧を防止できると共に、この方法によれば、生体機関の潅流欠乏、静脈滞留、局所貧血、および全身的血管拡張に伴って発生する可能性のある心臓障害等の危険を伴うことなく、肺動脈高血圧の有効な快癒を可能とする。さらに具体的には、彼らの報告によれば、ＮＯとヘモグロビンとの急速な結合により、吸入されるＮＯによる血管拡張作用が、肺の血管内で局所的ないしは選択的作用に限定され、全身的循環系内の随伴的な血管拡張を伴わないとされている。

発明の概要

この発明によれば、酸化窒素およびその付加物、共役体、および酸化窒素を遊離するその他の化合物は、それが前記化合物または酸化窒素（あるいは異なる酸化還元形の一酸化窒素）を遊離する一つの付加物、共役体またはそれに類するものの一部として吸入経路により必要に応じて個体に投与された場合に、全身的および肺動脈塞栓の予防または治療に有効であり、全身の血小板凝集防止の効果を有し、さらに全身的抗凝血物質としても有効である。

【図面の簡単な説明】

第１図は、３ｐｐｍＮＯ（ｎ＝２）、３０ｐｐｍＮＯ（ｎ＝７）または３００ｐｐｍＮＯ（ｎ＝２）に１５分間露呈された１０頭の兎の出血時間比を表わすグラフで、出血時間比は括弧で表わされ、これは実際の出血時間をベースライン数値で割った値である。

詳細な説明

この発明の第一の見地は、塞栓予防または治療方法で、血小板凝集の予防または低減、および抗凝血療法に関し、吸入経路を介して、ＮＯおよび投与に際して有効量の酸化窒素を遊離する化合物より成る群から選択された化合物の治療学的有効量（またはそれらの化合物を含む医薬組成物）を、人体または動物に投与することから成る。

他の見地は、狭心症（angina pectoris）その他の冠動脈症候の予防または治療方法に関し、吸入経路を介して、ＮＯおよび投与に際して有効量の酸化窒素を遊離する化合物から成る群から選択された化合物の治療学的有効量（またはそれらの化合物を含む医薬組成物）を、人体または動物に投与することから成る。

この発明の他の見地は、急性呼吸系症候群の予防または治療方法に関し、吸入経路を介して、ＮＯおよび投与に際して有効量の酸化窒素を遊離する化合物から成る群から選択された化合物の治療学的有効量（またはそれらの化合物を含む医薬組成物）を、人体または動物に投与することから成る。この見地における治療効果は、ＡＲＤＳを生起させる増加圧力の一部が、投与により血小板凝集が低減されることによって認められる。

この発明の方法において重要な、酸化窒素遊離または投与する化合物は、例えばＳ－ニトロソチオール、Ｓ－ニトロソ－タンパク質、ＮＯＮＯｎａｔｅｓ［Ｘ⁻－（ＮＯ）⁻（ＮＯ）］であり、ここでＸ⁻は、塩基または以下の何れかのヌクレオフィルである：即ち、Ｎ

－ヒドロキシ－Ｎ－ニトロソアミノ機能性を有する化合物、ニトロプルッシドとかチオレートリガンドを有する鉄ニトロシル等のニトロシル類、チオ亜硝酸塩、チオ硝酸塩、ＳＩＮ　１等のシドノニミン類、フロクサン、ニトログリセリン、ニトロソニウム塩、有機ニトロ塩、有機亜硝酸塩とその関連化合物。Ｓ－ニトロソチオールの実例としては、Ｓ－ニトロソ－Ｎ－アセチルシステイン、Ｓ－ニトロソ－カプトプリル、Ｓ－ニトロソ－グルタチオン、Ｓ－ニトロソ－パンタチオン誘導体、Ｓ－ニトロソ－ペニシラミン、長鎖式親脂質性ニトロソチオール、およびＳ－ニトロソ－システイン、Ｓ－ニトロソ－ホモシステイン、Ｓ－ニトロソ－ジチオール類である。また特殊の前記Ｓ－ニトロソ－タンパク質は、例えばＳ－ニトロソ－アルブミン等である。

長炭素直鎖の親脂質性ニトロソチオール類は、一般式$CH_3(CH_2)_xSNO$で表示され、ｘは整数である。Ｓ－ニトロソ－ジチオール類は、付加チオール基を有し、ｘを整数として一般式$HS(CH_2)_xSNO$で表示される。

シドノニミンの実例は、ＳＹＮ－１、３－モーフォリノシドノニミンに限定されない。有機亜硝酸塩の実例は、ニトログリセリン、２硝酸イソソルバイド、４硝酸エリスリトールおよび４硝酸ペンタエリスリトール等である。鉄－ニトロシル化合物は、一般式$X_xFe_yNO)_z$で、Ｘは低分子量またはタンパク質チオール、または燐酸基、アスコルビン基、陰イオンタンパク質等の非チオレート陰イオン、または硫酸ヘパリン等のグリコアミノグリカンで、ｘ，ｙ，ｚは、同一または異なる整数である。

発明の追加実施例は、酸化窒素を放出する化合物が、薬学的に許容し得る医薬組成物の一部として投与される方法に関する。

肺に対して酸化窒素または酸化窒素を放出する薬剤の投与は、手持ち、可搬式換気器、正圧呼吸装置または呼吸系投与用の他の既知の装置、および方法によって可能である。

特殊な病患または症状の処理において有効な、この発明の治療的使用量は、その病患または症状によって異なり、標準臨床技術によって決定される。標準的に使用される精密な処方も、化合物の選定、病患または病状の軽重度に応じて異なり、実際者の判断および各患者の環境によって決定される。但し、呼吸系投与の適正処方範囲は、一般に、体重１キログラム当り、活性化合物量として約１．０ピコグラムから約１．０ミリグラムである。有効処方量は、試験管試験、または動物モデル試験装置で得られた処方特性曲線から外挿して求められる。処方範囲は、文献ZepalおよびFrostell, SUPRA,と同等またはそれ以上が、治療学的に使用可能である。

実施例　１　血液凝固時間に対するＮＯ吸入の効果

兎と人間

３ないし３００ｐｐｍ処方のＮＯ吸入から来される兎での、並びに３０ｐｐｍＮＯに露呈された３人の人体においての、血小板凝固の短時間効果に集中して研究された。研究は、スエーデンのウプサラ大学病院の臨床生理学部において実施された。

材料と方法

ａ）兎

平均体重３．１±０．２ｋｇの雌雄両ニュージーランド白兎（ｎ＝１１）について試験した。挿管前に神経弛緩麻酔剤（１）を投与し、実験期間中維持された。シーメンス９００Ｃ換気装置（シーメンス－エルマ、ルンド、スエーデン）による人口換気で３０分間の安定期の後、二重潮流容積を配布して、肺の損傷組織を再切開した。拡張圧力限界（Ｐｍａｘ）を２５ｃｍH_2Oに設定した。吸気機構定数、すなわち吸気抵抗（Ｒｒｓ）、肺柔軟性（Ｃｒｓ）、平均動脈圧力（ＭＡＰ）、心拍数、終点潮流CO_2（ＥｔCO_2）および周縁酸素飽和度（ＳｐO_2）、が、ベースラインおよび吸入期間終了点において求められた。窒素（N_2）中のＮＯの百万分の１０００部（即ちｐｐｍ）ＮＯは、スエーデン、リディンゴ、ＡＧＡメディカルガスＡＳから入手した。吸気気体中の所望ＮＯ濃度は、前記（１）中の記載と同様に、N_2と酸素と低圧気体供給口にある空気とにＮＯを混合して得られた。

出血時間は、標準化切開法（ミニランセット、ＣＣＳ、ボルランゲ、スエーデン）を適用して、マートン、トーマス（２）記載の通り、兎の耳テンプレートモデル中で反復測定し

た。血液を、濾紙上に血液色が視認されなくなるまで、１０秒間隔で濾紙を使用して、ブロットした。耳静脈から採血してシンプラスチン（商品名）凝固時間（試験管内測定）、フィブリノーゲン（繊維素原）濃度、および血小板数算定を、出血時間測定の直後に実行した。

我々の規定は、１）ベースライン；２）ＮＯの３ｐｐｍ（ｎ＝２）、３０ｐｐｍ（ｎ＝７）、および３００ｐｐｍ（ｎ＝２）の各々の吸入１５分後の、並びに３）ＮＯ吸入から３０分後の、各出血時間の測定と採血とであった。ＮＯ吸入中の測定は１５分後に開始し、その測定が完了するまでＮＯ吸入を継続した。

ｂ）人体試験

ウプサラ大学人類倫理委員会は、ボランティア人体内への８０ｐｐｍ以下のＮＯ吸入による３０分以下の短時間露呈を認可している。これらの人体は、軽食供与の少なくとも２時間後に試験され、主体的に肺健全で、椅子に座して覚醒状態で試験された。現在何等医療を受けて居らず、試験前の少なくとも１０日間はアスピリンを飲用していない。SpO_2および心拍計により心拍数を測定した。

これら人物は鼻部クリップを使用し、マウスピースを経由して、１０リットルタンクと一方向弁から成る不呼吸回路に接続され、呼気ガスと混じらないように吸気された。呼気ガスは捕捉、除去された。吸気は一方向弁および、装置内に発生するNO_2ガスを除去するソーダ石灰容器を通過させ、さらに吸気をマウスピースから吸入させた。容器補正された流量計を使用することにより、N_2中のＮＯ１０００ｐｐｍはN_2およびO_2と混合され、FIO_2が０．２１の混合気とされた。FIO_2数値は、ベックマン分析器（ストックホルム、ベックマン、インストルメンツＡＢ製ＯＭ１１）で連続的に監視された。人体は呼吸を開始して３分間経過した後、ベースライン測定を実施し、窒素流を低減してN_2中にＮＯを追加添加して所望のＮＯ濃度となるようにした。装置は前記（４）に記載のものと同様である。ＮＯおよびNO_2の濃度は、化学発光法（スイスのＴｅｃａｎ　５０２を使用）によってオンラインチェックを行った。静脈血の試料は、出血時間測定の直前に採取し、分析して血小板計数、繊維素原濃度および試験管的凝固時間を求めた。出血時間は、標準切開法（米国、オーガノン、タイカ製、シンプラストンＩＩ）により左前腕の腹側部で測定した。血液を、１０秒間隔で濾紙を使用してブロットし、濾紙上に血液色が視認されなくなるまで継続した。

取り決めにより、出血時間の測定と採血とを、１）ベースラインで；２）ＮＯ３０ｐｐｍの吸入の１５分後で、並びに３）ＮＯ吸入の終了から６０分後の各々において実施することにした。ＮＯ吸入は、出血時間の測定が完了するまで継続して行った。

統計

各対のデータに対してｔ－試験（ドイツ、エルクラート、ジャンデル　サイエンティフィックのＳｉｇｍａＳｔａｔ分析法）を使用して統計的分析を行った。

結果

ａ）兎

結果によれば、吸気にＮＯを添加しても、心拍数、ＭＡＰ、$EtCO_2$、SpO_2、Ｐｍａｘ、Ｒｒｓ、Ｃｒｓに影響を与えない（データは省略する）。試験期間中の血小板計数、繊維素原濃度、および試験管的凝固時間に関しては、顕著な変化は認められない（データは省略する）。ベースライン条件下では、４９±６秒で、３０ｐｐｍのＮＯ吸入１５分後には７２±９秒に増加した（比率１．５４±０．２、ｐ＝０．０１５）。最終的に、ＮＯ吸入の終了から３０分後には、出血時間は５３±４秒（比率１．１３±０．２）となった。３ｐｐｍの微量ＮＯに露呈された２頭の兎は、平均出血時間比率は１．４８に増加し、次いでＮＯ終了３０分後にはベースラインに復帰した。他の２頭の兎における３００ｐｐｍのＮＯの吸入では、出血時間比率は２．４４に増加し、ＮＯ終了３０分後でも高く、比率３．１９に維持され、第一図の通りである。

ｂ）人体試験

ＮＯ吸入中において、被験者は何ら不快感を経験しなかった。心拍数またはSpO_2は、試験中変化はなかった。血小板計数、繊維素原濃度、および試験管的凝固時間に関して、

試験中に顕著な変化はなかった（データは表示せず）。ＮＯ３０ｐｐｍを呼吸１５分後の出血時間比率は１．４に増加し、次いでＮＯ終了６０分後にはベースラインに復帰した。これを第１図に示す。

表　1

試験前、３０ｐｐｍＮＯ吸入１５分後のＮＯ吸入中、および吸入終了６０分後の出血時間（秒）を示す。括弧内は出血率で、実際の出血時間をベースライン数値で割った値である。

	試験前	吸入中	吸入後
被試験体　1	610	910(1.51)	641(1.05)
被試験体　2	262	381(1.42)	280(1.04)
被試験体　3	327	487(1.31)	392(1.05)

兎および人体において、ＮＯの吸入により出血時間が延長されることが判明した。特に兎の３０ｐｐｍＮＯ吸入１５分後の延長が顕著で、また奉仕者人体において同一時間に対する同一の処方において明らかに論証されている。

ＮＯの処方量は、試験中の化学発光法によってオンライン評価された。効果は、ＮＯを遮断してから３０分以内に復帰可能であった。この効果は、処方に依存するらしく、３０分間露呈後の２頭の兎での３００ｐｐｍＮＯにおいては、その効果は、ＮＯ遮断から３０分後でも依然として存在した（第１図参照）。

血小板が肺動脈回路を通過するときには、それら血小板が変化して吸入されたＮＯの一部を吸収することができるので、これらの血小板の周期的なＧＭＰ定数の増大により、凝集と凝着の傾向をかなり抑制することができる（４）。３００ｐｐｍＮＯを吸収した際のＮＯによる延長（３０分以上）効果を検討すると、この効果を生じるための追加の機構がなければならない。ＮＯの吸入は、血液中のＮＯまたはＮＯを遊離する化合物の停滞を増大させることになり、これにより、ＮＯ吸入中止後の長分時間にわたってＮＯが徐々に放出される可能性がある。

参考文献

１．フレックネル：実験室動物麻酔。Academic Press 1987; 128-129.

２．モートン他：抗スロンボ剤としてのデルマタン硫酸塩とヘパリンとの相互効果に関する研究。Thromb Haemosts 1987; 58:839-842.

３．ホグマン他：酸化窒素吸入は兎のメタコリン誘導気管支縮小を緩和する。Eur Respir J 1993; 6:177-180.

４．スタムラー、ロスカルゾ：有機硝酸塩関連の対血小板効果と、心室病患との関連性。J Am Coll Cardiol 1991; 18:1529-1536.

実施例　2

カロリンスカ大学人類倫理委員会は、先鋭な肺動脈高血圧に罹患した患者への酸化窒素吸入の使用を認可している。装置の詳細は付録に記載した。

患者は、月満ちて出生した体重３．１キログラムの女児嬰児で、地方病院で出生した。投与直後に、左胸郭の呼吸音がなく、船状骨腹部および異常心音のため、先天性の心弁ヘルニアと診断された。初期アプガル（Apgar）スコアーは、１、５、１０分において、それぞれ２－６－８であった。直ちに我々の新生児集中看病装置に移された（２０ｋｍ）。到着後、顔面マスク上に追加酸素で７０－７５％の周辺酸素飽和で自然呼吸させた。鼻気管

挿管、機械的換気、酸・塩基調整および容積変換より成る標準手段で手術前安定化が達成された。胸部Ｘ線写真によりＣＤＨの診断が検証され、脾、心室および小腸、および左胸郭内の横行結腸が発見された。到着から外科手術までの時間は、３時間であった。この嬰児に、フェンタニル２５マイクロｇ／ｋｇ、ミダゾラム０．１５ｍｇ／ｋｇおよびパンクロニウム０．１５ｍｇ／ｋｇを使用して麻酔を実行し、空気中の酸素（５０－７０％O_2）で機械的に換気された。左心弁内の典型的な爾後欠陥が観察され、これは縫合された。ドレインを左胸膜内に内置した。手術後ＮＩＣＵが再認定され、十分に沈静化された。５０％吸気酸素分圧力（FIO_2）を使用して、適切なガス交換が達成され、尖頭吸気圧力（ＰＩＰ）／正端呼気圧力（ＰＥＥＰ）の比は、２０対２、呼吸サイクルは毎分４０で、吸気対呼気比率は１：２であった。この時点で、心臓活性薬剤は不必要であった。

安定した８時間の循環とガス交換の後、酵素発生の劣化が認められ、この劣化は、補助換気を強化し、酸－塩基の均衡の細心な修正を加えても、進行は止らなかった。換気設定を$FIO_2$１．０からＰＩＰ／ＰＥＥＰ　３６／４に呼吸数を８０／分に増加しても、２０時間後の術後的な改善を図れなかった。エコー心電図により全身的右心室血圧の増大（即ち三尖弁不全噴射で推定される右心室と右心房間の血圧傾斜が６５㎜Ｈｇであること）を伴う肺動脈高血圧が裏付けられた。肺動脈内の速度形態は典型的なノッチングを示し、加速時間の全般にわたる予備期間の比率が増大した（ＰＥＴ／ＡＴ＝２．５）。次いでプロスタサイクリン（毎分５－２０マイクログラム／Ｋｇ）の注入を利用した薬剤による肺動脈拡大が図られた。全身血圧を支持するために、５％アルブミンの１０ｍｌ／Ｋｇの容積負荷とドーパミン注入（毎分７－１５マイクロｇ／Ｋｇ）が投与された。８時間の最適とはいえないが許容し得るガス交換後に、酸素発生に顕著な減少が見られ、それが４５分間継続した。最終的に周辺動脈飽和が測定され、喘ぎを伴うチアノーゼが認められた。前後２０分間にわたる１００％O_2による手動換気を反復したが、症状は改善されなかった。内部気管は取外されなかった。胸郭全体の呼吸音は不変であった。動脈血管経過血液ガスで重症の新陳代謝酸性症（塩基過剰、－２９ｍモル・リットル）が明示され、炭酸過剰と出動脈管圧力は僅か１６ｍｍＨｇを示した。但し、明白は呼吸疾患にも拘らず、動脈圧は依然維持され、心拍数は毎分１００以上であった。

酸化窒素の吸入

在来の治療は不成功で、循環器障害は危急と見られたので、ＮＯ吸入を加えてガス交換を再生させることにした。重症の新陳代謝酸性症を回避するために、呼吸にＮＯ２０ｐｐｍを混入し、トリス炭酸ナトリウム緩衝液（トリボネート［商品名］、スエーデン、ウプサラ、ファルマチア社製）を１０分間供給した。２０分間に亙る徐々のSpO_2増加が観察され、動脈血試料採取の反復によりによりガス交換の再生が確認された。この期間中、プロスタサイクリン注入は中断し、ＮＯ投与も１０ｐｐｍに減らした。

次の７５分間は、換気補助を$F10_2$が０．７となる様に、尖頭空気路圧力ＰＥＥＰを２０／０ｃｍH_2Oに、呼吸数を毎分７０に、それぞれ減少させることができた。エコー心電図の反復により、ＰＥＰ／ＡＴの減少（１．２５）を除けば、従来の診断に匹敵する発見が可能となった。

機能的な２：１心房心室遮断（補正ＱＴ値で０．５４秒）と高血圧とが結合した周期によって複雑化した、重症の過カルシウム血症は、人工呼吸と循環とガス交換の再生後に現われた。

ＮＯ吸入を中断する最初の試みは、処置開始４０分後に実行された。この時点で電解質と酸－塩基不均衡が修正され、FIO_2もまさしく０．２５に低減されていた。エコー心電図によるモニターと平行して中断試験を実行した。５ｐｐｍＮＯにより三尖弁不全の低減と、右の心室心房間の最大圧力差の減少（３５ｍｍＨｇ）が認められた。肺動脈の速度形態は、もはやノッチングのないことを示し、ＰＥＰ／ＡＴは正常化（０．８）された。動脈管は閉塞した。ガス交換またはエコー心電図要素の変化は、ＮＯ吸入中断１５分以内には見られなかった。顕著な肺動脈高血圧は依然認められたので、さらに１５分間ＮＯ吸入中断を決定した。この期間中、FIO_2をさらに低下させることができた。第２回の中断試験中にガス交換の不具合は検出されなかったので、ＮＯ治療は中止した。５時間後に、

ドーパミンの注入を中止することができた。
全期間にわたり、左側肺形成不全以外に、例えばの肺動脈病患は、反復胸部Ｘ線検査でも認められなかった。回復段階の終端におけるフォロウアップエコー心電図において、推定尖頭傾斜３０ｍｍＨｇの限定周辺弁膜ＶＳＤが確かめられた。
嬰児は５日後に抜管され、３週間後に退院した。
プラズマＳ－ニトロソタンパク質レベル
（ａ）　ＮＯガス５ｐｐｍ吸入後３０分後のＳ－ニトロソタンパク質のプラズマレベルは５．９ミクロンであった。
（ｂ）　Ｓ－ニトロソタンパク質のプラズマレベルは吸入ＮＯ中断後降下し、ＮＯ中断３０分後のレベルは５．３であった。
（ｃ）　ＮＯ中断１２０分後のプラズマレベルは２．１ミクロンであった。
このデータによれば、吸入されたＮＯ気体は、プラズマ（血液）Ｓ－ニトロソタンパク質の溜まり場またはタンクとなり、ＮＯ投与中断後時間が経つと減少することが判る。
実施例　３
材料と方法
この研究は、ウプサラ大学人類倫理委員会およびスエーデン薬剤規制事項局によって認可された。４グループに分けた成人３１人について試験され、２、３の場合の、詳細を以下に示す。
第１群：　無喫煙の血圧反応性主体（ｎ＝６）、平均年令３９±９、男性１名、女性５名。
第２群：　無喫煙の血圧反応性主体（ｎ＝６）、平均年令３１±１０、男性３名、女性３名。過剰反応性は、試験の数日前でのメタコリン刺激(provocation)試験後の気流路伝導度の減退として捉えられた。被験者は、何等、予防剤または治療の一部としての薬剤を飲用せず。
第３群：　患者（ｎ＝６）は、安定状態において慢性気管支炎と診断され、連続医療中で、ｓＧａｗ値は１．２（ｋＰａ’ｓ）より小、平均年齢５６±１２、男性３名、女性３名。
第４群：　患者（ｎ＝１０）は、安定状態において喘息と診断され、連続医療中で、ｓＧａｗ値は１．２（ｋＰａ’ｓ）より小、平均年令４１±１１、男性７名、女性７名。
ＮＯを含む吸気ガスの混合、投与およびモニタリング
試験中、主体は体血量測定装置に座し、鼻クリップを装着し、マウスピースを介して、１０リットルタンクバッグと吸気を呼気から分離する一方向弁より成る非再呼吸回路に連結された。呼気気体は、O_2とN_2との混合気で、正確な吸気O_2分圧（FIO_2）を生成した。このFIO_2は、ベックマンO_2分析装置（Stockhokm, Beckmann Instruments AB, 製の機器名ＯＭ　１１）で連続的にモニターされ、試験中２１％O_2となるように維持された。容積補正された流量計を使用し、N_2に混合されたＮＯの量を変化させて純N_2と置換させ、FIO_2を２１％一定とした状態において所要の呼気ＮＯ濃度を得た。一方向弁の付近に設置されたソーダ石灰入りの容器を通じて吸入気体を通過させ、NO_2を吸収させてその含有量を最少に保った。N_2中のＮＯは、AGA Specialgas(Lidingo, Swedenに所在)から、純N_2中に２４０ｐｐｍのＮＯを含む混合物として入手した。化学発光分析(Monitor Labs, Englewood, Co. 製の機器名Model　8841)の結果、ＮＯ濃度は、この混合気中ではNO_2に対して８０ｐｐｍ±５％で、NO_2吸収容器の出口では０．３ｐｐｍ以下であった。
プラズマＳ－ニトロソタンパク質のレベル(levels)
ＮＯ吸入前のプラズマＳ－ニトロソタンパク質の時間的増加は、
（ａ）ＮＯ吸入前のガスプラズマレベル＝２．５ミクロン
（ｂ）ＮＯ吸入後のガスプラズマレベル＝３．４６ミクロン
このデータにより、吸収されたＮＯガスによって、ＮＯの吸入投与の際の全身血液流中の酸化窒素プラズマ（血液）Ｓ－ニトロソタンパク質の滞留または貯留による蓄積が起ることが確認された。

【図１】

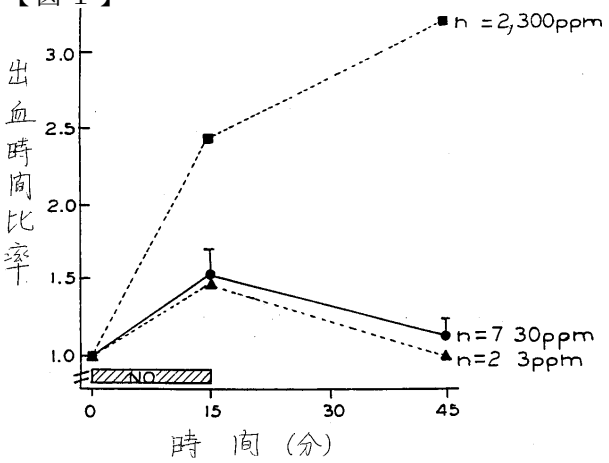

FIG. 1

フロントページの続き

(72)発明者 ホグマン，マリーアン，エー.
スエーデン国，エス－７４０ ５０ アルンダ，サリンゲ
(72)発明者 ロスカルゾ，ジョセフ
アメリカ合衆国，マサチューセッツ ０２０２６，ベッダム，パセラ ドライブ ５０
(72)発明者 スタムラー，ジョナサン，エス.
アメリカ合衆国，ノースカロライナ ２７７１０，チャペル ヒル，ロングウッド ドライブ １０９

審査官 八原 由美子

(56)参考文献 特開昭６０－２０８９１７（ＪＰ，Ａ）
Rolf Rossaint et al., The New England Journal of Medicine, １９９３年 2月, Vol.328, No.6, p.399-405
S. Moncada et al., Pharmacological Reviews, １９９１年, Vol.43, No.2,p.109-142

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)
A61K 33/00
A61P 7/02
A61P 9/10
CA(STN)
MEDLINE(STN)