

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2012年6月28日(28.06.2012)



(10) 国際公開番号

WO 2012/086636 A1

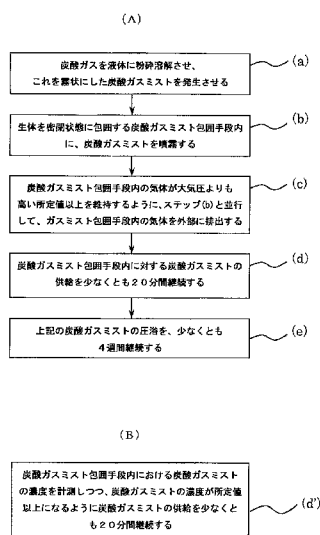
- (51) 国際特許分類:
A61H 33/14 (2006.01) A61H 33/06 (2006.01)
A61H 33/02 (2006.01) A61H 33/10 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2011/079486
- (22) 国際出願日: 2011年12月20日(20.12.2011)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2010-283832 2010年12月20日(20.12.2010) JP
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): アドバンス・バイオトロン株式会社(ADVANCE BIOTRON CO., LTD.) [JP/JP]; 〒3997502 長野県東筑摩郡筑北村東条1468番地 Nagano (JP).
- (72) 発明者; および
- (71) 出願人: 中村 正一(NAKAMURA, Shoichi) [JP/JP]; 〒3997502 長野県東筑摩郡筑北村東条1468番地 Nagano (JP).
- (74) 代理人: 西山 善章(NISHIYAMA, Yoshiaki); 〒1030027 東京都中央区日本橋2-12-9 日本橋グレイスビル3階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ユーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,

[続葉有]

(54) Title: CARBON DIOXIDE GAS MIST PRESSURE BATH METHOD AND CARBON DIOXIDE GAS MIST PRESSURE BATH APPARATUS FOR IMPROVING AND PROMOTING CIRCULATION OF BLOOD IN ISCHEMIC REGION OF ORGANISM

(54) 発明の名称: 生体の虚血領域の血行状態を改善又は促進するための炭酸ガスミスト圧浴方法及び炭酸ガスミスト圧浴装置

[図1]



- (a) Pulverize and dissolve carbon dioxide gas into liquid, and produce carbon dioxide gas mist by forming same into mist
- (b) Spray carbon dioxide gas mist into carbon dioxide gas mist enclosing means for enclosing organism in airtight state
- (c) Expel gas from carbon dioxide gas mist enclosing means to exterior thereof, performing in parallel with step (b) as necessary, in manner such that pressure of gas within carbon dioxide gas mist enclosing means is kept at or above prescribed value that is higher than atmospheric pressure
- (d) Continue to supply carbon dioxide gas mist enclosing means with carbon dioxide gas mist for at least 20 minutes
- (e) Continue carbon dioxide gas mist pressure bath for at least four weeks
- (d') Measure concentration of carbon dioxide gas mist in carbon dioxide gas mist enclosing means, and continue to supply carbon dioxide gas mist for at least 20 minutes in manner such that concentration thereof remains at or above prescribed value

(57) Abstract: Circulation of the blood in an ischemic region can be improved or promoted, and furthermore ischemic disease in an organism can be prevented, improved or treated, through either direct contact or contact through clothing of carbon dioxide gas with the skin or mucous membrane of an organism. The following steps are continued at least once per day for four weeks: (a) a step for pulverizing and dissolving carbon dioxide gas into a liquid, and producing a carbon dioxide gas mist by forming the same into a mist; (b) a step for spraying the carbon dioxide gas mist into a carbon dioxide gas mist enclosing means for enclosing the organism in an airtight state; (c) a step for expelling gas from the carbon dioxide gas mist enclosing means to the exterior thereof, performed in parallel with the step (b) as necessary, in a manner such that the pressure of the gas within the carbon dioxide gas mist enclosing means is kept at or above a prescribed value that is higher than the atmospheric pressure; (d) and a step for continuing to supply the carbon dioxide gas mist enclosing means with the carbon dioxide gas mist for at least 20 minutes.

(57) 要約: 炭酸ガスを生体の皮膚及び粘膜に直接又は被服を通して接触させることにより虚血領域の血行を改善又は促進し、以って生体の虚血性疾患の予防、改善又は治療する。(a)炭酸ガスを液体に粉碎溶解させこれを霧状にした炭酸ガスミストを発生させるステップと、(b)生体を密閉状態に包囲する炭酸ガスミスト包囲手段内に、前記炭酸ガスミストを噴霧するステップと、(c)前記炭酸ガスミスト包囲手段内の気体が大気圧よりも高い所定値以上を維持するように、必要に応じて、前記ステップ(b)と並行して、前記炭酸ガスミスト包囲手段内の気体を外部に排出させるステップと、(d)前記炭酸ガスミスト包囲手段内に対する前記炭酸ガスミストの供給を少なくとも20分間継続するステップを、少なくとも1日一回4週間継続する。

WO 2012/086636 A1

MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, 添付公開書類:
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, — 国際調査報告 (条約第 21 条(3))
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

明 細 書

発明の名称：

生体の虚血領域の血行状態を改善又は促進するための炭酸ガスミスト圧浴方法及び炭酸ガスミスト圧浴装置

技術分野

[0001] 本発明は、炭酸ガスを所定の条件で生体の皮膚や粘膜に直接又は被服を通して接触させることにより虚血領域の血行を改善又は促進し以って虚血性疾患（例えば、閉塞性動脈硬化症状や虚血性心疾患等）の予防、改善又は治療するための炭酸ガスミスト圧浴方法及び炭酸ガスミスト圧浴装置に関する。

背景技術

[0002] 炭酸ガス（二酸化炭素： CO_2 ）は、水に溶けやすい（水溶性）だけでなく油にも溶けやすい（脂溶性）という性質を併せ持つために、従来から、炭酸ガスが水と油の性質を併せ持つ生体の皮膚及び粘膜に触れることにより生体の皮下に浸透し、浸透部位の血管を拡張させて血液循環を改善する作用があることが知られている。

[0003] また、炭酸ガスは、生体の皮下に浸透することにより血管を拡張させて血行を促進させ、血圧降下、代謝の改善、疼痛物質や老廃物の排除促進等、様々な生理的効果を発揮する可能性がある。また、抗炎症、抗菌作用も有している。このため、近年、炭酸ガスは医療目的のみならず、健康増進、美容促進といった点からも広く注目を集めている。

[0004] 生体の組織中で炭酸ガスは、赤血球内のヘモグロビンに結合して運ばれた酸素を放出させる働きがある。炭酸ガス濃度の高いところでは、赤血球はより多くの酸素を放出する。このように、赤血球による細胞への酸素の供給は、主に炭酸ガスがコントロールしている。つまり、炭酸ガスなしでは、ヘモグロビンは酸素が結合したままの状態となり、細胞は酸素を受け取ることができなくなってしまう。また、 CO_2 は生体内の代謝においても重要な役割を担っている。このように、 CO_2 は細胞のエネルギー活動の結果出てくる単な

る老廃物ではなく、生体の中で種々の重要な役割を果たしていることが明らかにされつつある。

[0005] そこで、炭酸ガスを生体の皮膚及び粘膜に直接吸収させるために、従来から、浴槽の湯中に炭酸ガスを発生させる入浴剤の利用を始め、炭酸ガスを生体の皮膚及び粘膜に接触させるための種々の装置が提案されている（例えば、特許文献1乃至3を参照）。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：特開平7－171189号公報

特許文献2：特開2006－263253号公報

特許文献3：特開2009－183625号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 本願の発明者は、従来から知られた炭酸ガスの上記のような生体に於ける種々の生理作用、特に血行促進効果、血管拡張効果、代謝機能亢進作用に鑑みて、炭酸ガスの生体への接触を継続的に行った場合、虚血領域の血行の改善又は促進に効果があるのではないかと考えた。すなわち、皮下に浸透した炭酸ガスは組織（筋肉）や血液中に取り込まれる。

[0008] 炭酸ガスを多く含む血液は、所謂「酸欠」状態と認識され、血管を拡張させて血流増加を促すとともに、虚血領域に新たな血管形成（血管新生）をも促す。組織中ではCO₂を用いて代謝を促進し、血管新生をサポートしていると考えられる。

[0009] また、本願発明者による種々の実験の結果、炭酸ガスを単に生体の皮膚及び粘膜に接触させるだけでは、血液中に取り込まれる炭酸ガス濃度は低いことが判った。そこで、本願発明者は、炭酸ガスを血液中に効率良く取り込ませるために、炭酸ガスを霧状（ミスト）にする、すなわち炭酸ガスを液体の薄い皮膜のバブルの中に閉じ込めた状態にして（本願では、これを「炭酸ガ

スミスト」という）、生体の皮膚及び粘膜に所定の圧力（生体の内部圧以上）を加えて接触させることで血液中に取り込まれる炭酸ガス濃度を高くし、虚血領域を改善させることを発見したのである。

[0010] 尚、本予防、改善又は治療には、外科手術後あるいは人工臓器の埋め込み後の虚血領域も含まれる。

課題を解決するための手段

[0011] よって、本発明は、炭酸ガスを生体の皮膚及び粘膜に直接又は被服を通して接触させることにより虚血領域の血行を改善又は促進し、以って生体の虚血性疾患の予防、改善又は治療するための炭酸ガスミスト圧浴方法であって、（a）炭酸ガスを液体に粉碎溶解させこれを霧状にした炭酸ガスミストを発生させるステップと、（b）生体を密閉状態に包囲する炭酸ガスミスト包囲手段内に、前記炭酸ガスミストを噴霧するステップと、（c）前記炭酸ガスミスト包囲手段内の気体が大気圧よりも高い所定値以上を維持するように、必要に応じて、前記ステップ（b）と並行して、前記炭酸ガスミスト包囲手段内の気体を外部に排出させるステップと、（d）前記炭酸ガスミスト包囲手段内に対する前記炭酸ガスミストの供給を少なくとも20分間継続するステップと、前記ステップ（a）乃至（d）による炭酸ガスミストの圧浴を、少なくとも1日一回4週間継続するステップと、の各ステップを有することを特徴とする炭酸ガスミスト圧浴方法を提供するものである。

[0012] なお、本願においては、液体を粉碎し微細な液滴にして気体（炭酸ガス）と接触混合させることを、粉碎溶解という。

[0013] ところで、前記ステップ（d）は、前記炭酸ガスミスト包囲手段内における炭酸ガスミストの濃度を計測しつつ、前記炭酸ガスミストの濃度が所定値以上になるように前記炭酸ガスミストの供給を少なくとも20分間継続するステップであることを特徴とする（請求項2に記載の発明）。

[0014] また、前記ステップ（d）において、前記炭酸ガスミスト包囲手段内における気圧が所定値になるように前記炭酸ガスミストの供給量を制御することを特徴とする。

[0015] 前記炭酸ガスミストは、その粒径が10 μ メートル以下の炭酸ガスミストを含有することを特徴とする。また、前記ステップ(c)における前記炭酸ガスミスト包囲手段内の気圧は、1.01乃至2.5気圧であることを特徴とする。そして、前記ステップ(d)における前記炭酸ガスミスト包囲手段内における炭酸ガスミストの濃度は60%以上である、ことを特徴とする。

[0016] 本発明は、さらに、炭酸ガスを生体の皮膚及び粘膜に直接又は被服を通して接触させることにより虚血領域の血行を改善又は促進し、以って生体の虚血性疾患の予防、改善又は治療するための炭酸ガスミスト圧浴装置であって、生体を密閉状態に包囲するための炭酸ガスミスト包囲手段と、炭酸ガスを液体に粉碎溶解させこれを霧状にした炭酸ガスミストを発生させ、当該炭酸ガスミストを前記炭酸ガスミスト包囲手段内に供給する炭酸ガスミスト発生供給手段と、前記炭酸ガスミスト包囲手段内の気体を外部に排出させるための排出手段と、前記炭酸ガスミスト包囲手段内の気体を外部に排出させつつ、必要に応じて、前記炭酸ガスミスト包囲手段内の気圧が所定値範囲内になるように前記炭酸ガスミスト発生供給手段からの前記炭酸ガスミストの供給量を制御する制御手段と、の各手段を備えたことを特徴とする炭酸ガスミスト圧浴装置を提供するものである。

[0017] ここで、前記炭酸ガスミスト包囲手段内における炭酸ガスミストの濃度を計測する濃度検知手段をさらに備え、前記制御手段は、前記炭酸ガスミストの濃度が所定値以上になるように前記炭酸ガスミストの供給量を制御することを特徴とする。また、前記炭酸ガスミスト包囲手段内における気圧を計測する気圧検知手段をさらに備え、前記制御手段は、前記炭酸ガスミスト包囲手段内における気圧が所定値になるように前記炭酸ガスミストの供給量を制御することを特徴とする。

[0018] ところで、前記炭酸ガスミスト包囲手段は、前記炭酸ガスミストを内部に封印する空間を形成する、折り畳み可能なカバータイプ又は袋体タイプ若しくは固定据置型のボックスタイプである。ここで、前記炭酸ガスミスト包囲手段は、その内部に前記炭酸ガスミストを導入するための、内部に逆止弁を

有する炭酸ガスミスト供給口と、内部の気体を排出するための排出口と、生体が入り出すための出入口と、前記ボックス本体から生体の頭部を露出させるための開口と、を備えることを特徴とし、前記開口には、当該開口と生体の隙間からの炭酸ガスミストの漏出を防ぐ漏出防止手段を設けるようにしている。

発明の効果

[0019] 本発明は、以下詳しく説明するように、虚血領域における血行の改善又は促進に関する種々の動物実験の試験結果を得て、生体の皮膚及び粘膜に所定値以上の濃度の炭酸ガスミストを一定期間以上接触させることにより、虚血領域における血行の改善又は促進となることが確認されたのである。また、本発明の処置により、血中硝酸イオン (NO_3^-) は有意義に増加していることが確認されたのである。すなわち、 NO_3^- は、血中の内皮細胞由来弛緩因子 EDRF の本体とされる NO (一酸化窒素) 由来の比較的安定な酸化代謝産物であり、 NO は、血管内皮細胞から放出されていることから、高濃度 (80 乃至 100%) 炭酸ガスミスト圧浴処理による血流改善効果は、血管内皮機能が関与していることが明確に示唆されている。

[0020] なお、本願明細書に記載した生体の虚血領域の血行状態を改善又は促進を示す種々の動物実験の試験結果は、主に 8 週齢ウイスタットなどに対するものであるが、人体その他の哺乳類の生体に当て嵌まるものであることは、この種の他の多くの実験例と臨床データとの相関性から明らかである。

図面の簡単な説明

[0021] [図1] 本発明に係る炭酸ガスミスト圧浴方法のプロセスフローを示す図である。

[図2] 本発明に係る炭酸ガスミスト圧浴装置の第 1 実施例の概略を示す模式図である。

[図3] 図 2 に示す炭酸ガスミスト圧浴装置の、圧浴用カバーの概要を示す模式図である

[図4] 図 3 の圧浴用カバーを人体に適用した状態を示す模式図である。

[図5]霧吹き方式の炭酸ガスミスト生成手段を用いた炭酸ガスミスト圧浴装置（第1実施例）を示す模式図である。

[図6]図2に示す炭酸ガスミスト発生供給手段を複数備える炭酸ガスミスト圧浴装置を、例として馬に適用した状態を示す模式図である。

[図7]本発明の、虚血領域の血行を改善又は促進する炭酸ガスミスト圧浴装置の第2実施例の概略を示す模式図である。

[図8]図7に示す炭酸ガスミスト圧浴装置の、圧浴用カバーの概要を示す模式図である

[図9]図8の圧浴用カバーを人体に適用した状態を示す模式図である。

[図10]図7に示す炭酸ガスミスト圧浴装置の、圧浴用カバーの他の形状例を示す模式図である。

[図11]マウスの虚血作成直後および28日目のレーザードップラー血流計にて測定した血流を示す図である。

[図12]マウスの虚血作製直後及び4日・7日・14日・21日・28日がそれぞれ経過した血流の変化をI/N比にて示す図である。

[図13]虚血作製から28日経過後におけるマウスの虚血部組織（大腿内転筋）を取り出し、抗CD31抗体による免疫組織染色を行った結果を示す図である。

[図14]免疫組織染色後の1平方mm当りの毛細血管密度の定量解析を行った結果を示す図である。

[図15]マウスの虚血作成から4日経過後において合成される、VEGF（血管内皮成長因子）とGAPDH（グリセルアルデヒド3リン酸脱水酵素）の比を示す図である。

[図16]マウスの虚血作成から4日経過後において合成される、FGF（線維芽細胞増殖因子）とGAPDHの比を示す図である。

[図17]マウスの虚血作成から4日経過後において合成される、eNOS（内皮型NO合成酵素）とGAPDHの比を示す図である。

[図18]マウスの虚血作成から7日経過後において合成される、VEGFとG

A P D Hの比を示す図である。

[図19]マウスの虚血作成から7日経過後において合成される、F G FとG A P D Hの比を示す図である。

[図20]マウスの虚血作成から7日経過後において合成される、e N O SとG A P D Hの比を示す図である。

[図21]マウスの虚血作成から4日後の血漿中に含まれる硝酸の量を示す図である。

[図22]ラット下肢虚血モデル作成時の組織の酸素量を光の吸収測定をもとに計測した結果を示す図である。

[図23]ラット下肢虚血モデル炭酸ガスミスト処置中における、虚血6日後の組織の酸素量を光の吸収測定をもとに計測した結果を示す図である。

[図24]ラット下肢虚血モデル合成空気処置中における、虚血6日後の組織の酸素量を光の吸収測定をもとに計測した結果を示す図である。

[図25]ラット下肢虚血モデル合成空気処置中における、虚血6日後の組織の酸素量を計測した結果を示す図である。

[図26]ラット下肢虚血モデル炭酸ガスミスト処置中における、虚血6日後の組織の酸素量を計測した結果を示す図である。

[図27]「i T R A QとL C / M S / M Sによる同定タンパク質の数」と下肢虚血後の炭酸ガスミスト処置によるタンパク質への影響を示す図である。

[図28]炭酸ガスミストを発生させる手段の原理的な構成を説明する図である。

[図29]炭酸標準溶液の $^{12}\text{C O}_2$ と $^{13}\text{C O}_2$ のE I Cクロマトグラムによる測定結果を示す図である。

[図30]炭酸標準溶液のE I Cクロマトグラムによる測定結果に基づき作成した $^{12}\text{C O}_2$ の検量線を示す図である。

[図31]非処理No. 1ラットの血漿における $^{12}\text{C O}_2$ と $^{13}\text{C O}_2$ のE I Cクロマトグラムによる測定結果を示す図である。

[図32]非処理No. 4ラットの血漿における $^{12}\text{C O}_2$ と $^{13}\text{C O}_2$ のE I Cクロマ

トグラムによる測定結果を示す図である。

[図33] $^{13}\text{C O}_2$ ミスト処理を施したNo. 1 ラットの血漿における $^{12}\text{C O}_2$ と $^{13}\text{C O}_2$ のE I Cクロマトグラムによる測定結果を示す図である。

[図34] $^{13}\text{C O}_2$ ミスト処理を施したNo. 4 ラットの血漿における $^{12}\text{C O}_2$ と $^{13}\text{C O}_2$ のE I Cクロマトグラムによる測定結果を示す図である。

[図35]非処理No. 1ラットの心臓における $^{12}\text{C O}_2$ と $^{13}\text{C O}_2$ のE I Cクロマトグラムによる測定結果を示す図である。

[図36]非処理No. 4 ラットの心臓における $^{12}\text{C O}_2$ と $^{13}\text{C O}_2$ のE I Cクロマトグラムによる測定結果を示す図である。

[図37] $^{13}\text{C O}_2$ ミスト処理を施したNo. 1 ラットの心臓における $^{12}\text{C O}_2$ と $^{13}\text{C O}_2$ のE I Cクロマトグラムによる測定結果を示す図である。

[図38] $^{13}\text{C O}_2$ ミスト処理を施したNo. 4 ラットの心臓における $^{12}\text{C O}_2$ と $^{13}\text{C O}_2$ のE I Cクロマトグラムによる測定結果を示す図である。

[図39]非処理No. 1ラットの肝臓における $^{12}\text{C O}_2$ と $^{13}\text{C O}_2$ のE I Cクロマトグラムによる測定結果を示す図である。

[図40]非処理No. 4 ラットの肝臓における $^{12}\text{C O}_2$ と $^{13}\text{C O}_2$ のE I Cクロマトグラムによる測定結果を示す図である。

[図41] $^{13}\text{C O}_2$ ミスト処理を施したNo. 1 ラットの肝臓における $^{12}\text{C O}_2$ と $^{13}\text{C O}_2$ のE I Cクロマトグラムによる測定結果を示す図である。

[図42] $^{13}\text{C O}_2$ ミスト処理を施したNo. 4 ラットの肝臓における $^{12}\text{C O}_2$ と $^{13}\text{C O}_2$ のE I Cクロマトグラムによる測定結果を示す図である。

[図43]非処理No. 1ラットの筋肉における $^{12}\text{C O}_2$ と $^{13}\text{C O}_2$ のE I Cクロマトグラムによる測定結果を示す図である。

[図44]非処理No. 4 ラットの筋肉における $^{12}\text{C O}_2$ と $^{13}\text{C O}_2$ のE I Cクロマトグラムによる測定結果を示す図である。

[図45] $^{13}\text{C O}_2$ ミスト処理を施したNo. 1 ラットの筋肉における $^{12}\text{C O}_2$ と $^{13}\text{C O}_2$ のE I Cクロマトグラムによる測定結果を示す図である。

[図46] $^{13}\text{C O}_2$ ミスト処理を施したNo. 4 ラットの筋肉における $^{12}\text{C O}_2$ と $^{13}\text{C O}_2$

CO₂のE I Cクロマトグラムによる測定結果を示す図である。

[図47]試料別の¹²CO₂との検出量を棒グラフにて示す図である。

[図48]処理法別の¹²CO₂との検出量を棒グラフにて示す図である。

[図49]試料別の¹³CO₂との検出量を棒グラフにて示す図である。

[図50]処理法別の¹³CO₂との検出量を棒グラフにて示す図である。

[図51]試料別に¹²CO₂検出量に対する¹³CO₂との検出量の割合を棒グラフにて示す図である。

[図52]処理法別に¹²CO₂検出量に対する¹³CO₂との検出量の割合を棒グラフにて示す図である。

[図53]炭酸ガスミスト生成手段の別の構成例の構造を示す断面模式図である。

[図54]身体の局所の皮膚及び粘膜を覆う圧浴用カバーを用いた本発明に係る炭酸ガスミスト圧浴装置の第3実施例の概略を示す模式図である。

発明を実施するための形態

[0022] 以下、本発明の実施の形態について、図面を参照しながら詳細に説明する。

[0023] 最初に、本発明による、炭酸ガスミストを生体の皮膚に直接又は被服を通して接触させることにより虚血領域の血行を改善又は促進する炭酸ガスミスト圧浴方法について説明する。

[0024] 図1に、本発明に係る生体の虚血領域の血行を改善又は促進するための炭酸ガスミスト圧浴方法のプロセスフローを示す。後に（図2、図5において）詳しく説明する炭酸ガスミスト発生供給装置を用いて、図1の（A）部に示すように、炭酸ガスを液体に粉碎溶解させこれを霧状にした炭酸ガスミストを発生させるステップ（a）と、生体を密閉状態に包囲する炭酸ガスミスト包囲手段内に、前記炭酸ガスミストを噴霧するステップ（b）と、前記炭酸ガスミスト包囲手段内の気体が大気圧よりも高い所定値以上を維持するように、必要に応じて、前記ステップ（b）と並行して、前記炭酸ガスミスト包囲手段内の気体を外部に排出させるステップ（c）と、炭酸ガスミストの

濃度が所定値以上になるように、前記炭酸ガスミスト包囲手段内に対する前記炭酸ガスミストの供給を少なくとも20分間継続するステップ（d）と、の各ステップを有し、この炭酸ガスミストの圧浴を、少なくとも毎日4週間継続（e）することにより、生体の虚血領域の血行を改善又は促進する炭酸ガスミスト圧浴方法を提供するものである。

[0025] 上記のステップ（d）に変えて、前記炭酸ガスミスト包囲手段内における炭酸ガスミストの濃度を計測しつつ、前記炭酸ガスミストの濃度が所定値以上になるように前記炭酸ガスミストの供給を少なくとも20分間継続するようにしても良い（図1の（B）部に示すステップ（d'）に記載のとおり）。

[0026] なお、ステップ（e）においては、前記炭酸ガスミストの供給量を制御してこれを少なくとも20分間以上継続するが、好ましくは30分間以上継続するのが、虚血領域の血行を改善又は促進する上で最適である。

[0027] ここで、前記炭酸ガスミストは、その粒径が10 μ メートル以下の炭酸ガスミストを含有することを特徴とする。これにより、生体の毛穴若しくは皮膚及び粘膜から炭酸ガスミストが生体の皮下に効率良く浸透するのである。

[0028] また、前記炭酸ガスミスト包囲手段内の気圧は、1.01乃至2.5気圧であることを特徴とする。生体の体内圧力はほぼ大気圧（1気圧）と同程度であるので、本炭酸ガスミスト圧浴方法においては、炭酸ガスミストが大気圧よりも高い圧力で生体の皮膚及び粘膜に接触するようにして、炭酸ガスミストの生体の皮下への浸透性をさらに向上させているのである。

[0029] そして、本炭酸ガスミスト圧浴方法においては、炭酸ガスミスト包囲手段内における炭酸ガスミストの濃度は、60%以上としている。

[0030] 炭酸ガスミストを発生させる手段の原理的な構成を図28に示すと、水槽Tの水を、内部が炭酸ガス供給装置Gから炭酸ガス圧が印加されて炭酸ガス雰囲気中にある密閉容器C中に噴射することにより、炭酸ガスと水とを粉碎溶解して炭酸ガスミストを形成するものである。

[0031] 図2は、本発明の、虚血領域の血行を改善又は促進する炭酸ガスミスト圧

浴装置の第 1 実施例の概略を示す模式図である。図 2 に示すように炭酸ガスミスト圧浴装置 10 は、炭酸ガスミストの生成供給を行う炭酸ガスミスト発生供給手段 11 と、炭酸ガスミストを生体と共に密閉状態に包囲するための圧浴用カバー 12（炭酸ガスミスト包囲手段）と、この圧浴用カバー 12 内の炭酸ガスミストの濃度を計測する濃度計 13（濃度検知手段）と、圧浴用カバー 12 内の気体を外部に排出させると共に、炭酸ガスミストの濃度が所定値以上になるように炭酸ガスミスト発生供給手段 11 からの炭酸ガスミストの供給量を制御する制御装置 14（制御手段）と、を備えている。

[0032] まず、炭酸ガスミスト発生供給手段 11 は、炭酸ガスを供給する炭酸ガス供給手段 111 と、液体を供給する液体供給手段 112 と、これら炭酸ガス供給手段 111 からの炭酸ガスと液体供給手段 112 からの液体を粉碎溶解させた霧状のガスミスト（以下、炭酸ガスミストという）を生成、供給する炭酸ガスミスト生成手段 113 と、から構成される。

[0033] 炭酸ガス供給手段 111 は、例えばガスボンベ等からなり、炭酸ガスミスト生成手段 113 に炭酸ガスを供給する。この炭酸ガス供給手段 111 には、図示は省略するがガスの圧力調整のためのレギュレータが設けられている。また、ガスを加温するためのヒータと温度制御のための温度計を配置しても良い。

[0034] 液体供給手段 112 は、ポンプ等から構成され、炭酸ガスミスト生成手段 113 に液体を供給する。あるいは、例えばオゾン水生成装置等の、ガス混合水の供給手段であっても良い。

[0035] 供給する液体としては、水、イオン水、オゾン水、生理食塩水、精製水、滅菌精製水を用いるのが好適である。さらに、これらの液体に使用者の疾患、症状等に有効な薬剤を含有させても良い。薬剤とは、例えば、抗アレルギー剤、抗炎症剤、解熱鎮痛剤、抗真菌剤、抗インフルエンザウィルス剤、インフルエンザワクチン、ステロイド剤、抗ガン剤、血圧降下剤、化粧剤、増毛剤、発毛剤、育毛剤等が挙げられる。さらに、清涼作用のあるメンソールや、血行を促進させるビタミン E、皮膚組織に吸収されやすく美肌効果の高

いビタミンC誘導体、皮膚の角化作用を正常にし粘膜を保護するレチノール、粘膜への刺激を和らげるための麻酔薬、臭気を除去するためのシクロデキストリン、殺菌、消炎効果のある光触媒、又は光触媒とアパタイトの複合体、保水力に優れ肌の保湿効果を有するヒアルロン酸、細胞を活性化し免疫力を向上させるコエンザイムQ10、抗酸化物質や多量の栄養素を含むシードオイル、抗酸化作用、抗菌作用、抗炎症作用、鎮痛・麻酔作用、免疫作用等を有するプロポリス等を単独あるいは複数組み合わせる混合して、ガスの生理作用との相乗効果を生じさせることも可能である。あるいは、エタノール、グルコン酸クロルヘキシジン、両性界面活性剤、塩化ベンザルコニウム、酢酸アルキルジアミノエテルグリシン、次亜塩素酸ナトリウム、過酢酸、セスキ炭酸ナトリウム、シリカ、ポピドンヨード、炭酸水素ナトリウムを添加しても良い。さらに、炭酸塩と有機酸を主成分とする高濃度炭酸泉剤（有効成分の一例としては、硫酸塩、炭酸塩、有機酸、ジクロロイソシアヌル酸ナトリウム）、殺菌剤、洗浄剤等を添加しても良い。

[0036] なお、この液体供給手段112には、図示しないが液体を加温するためのヒータや温度制御のための温度計を配置するのが望ましい。

[0037] 炭酸ガスミスト生成手段113は、炭酸ガス供給手段111から供給されたガスと、液体供給手段112から供給された液体とを粉碎溶解した炭酸ガスミストを生成し、これを圧浴用カバー12へ供給する装置である。この際、生成するミストの粒径は10 μ メートル以下であるのが最適である。炭酸ガスミスト生成手段113としては、例えば、超音波式や霧吹き式、流体ノズルを用いた方式等、様々なミスト生成装置を適用することができる。

[0038] 次に、圧浴用カバー12は、生体（ここでは例として、人体）の皮膚及び粘膜を覆うと共に、炭酸ガスミストを内部に封入する空間を形成できるカバー本体121から構成される。図3に圧浴用カバー12の概要を、図4に圧浴用カバー12を人体に適用した状態を示している。これらの図に示すように、カバー本体121は生体のほぼ全身の皮膚及び粘膜を覆うことができる大きさの耐圧性、非通気性、非透湿性素材からなる袋状の部材から構成され

るのが好適である。その場合、折り畳んだり、着用した状態のまま椅子に腰をかける（図4参照）等、内部で自由に動けるように、柔軟な素材から構成されるのが望ましい。具体的な素材としては、例えば天然ゴム、シリコンゴム、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ塩化ビニリデン、ポリスチレン、ポリ酢酸ビニル、ポリ塩化ビニル、ポリアミド系樹脂、ポリテトラフルオロエチレン等からなるのが好適である。

[0039] 図4の袋状のカバー体は全身を覆っているが、炭酸ガスミスト圧浴により虚血領域の血行を改善又は促進を必要とする生体の部位のみを密閉状態に包囲しても良い。例えば、虚血性心疾患の予防、改善又は治療を行うには、上半身のみ密閉状態に包囲する袋状のカバー体であっても良く、また、主に下肢の大血管が閉塞する閉塞性動脈硬化症状の予防、改善又は治療を行うには、下半身のみ密閉状態に包囲する袋状のカバー体であっても良い。

[0040] 上記のようにここでは袋状のカバー本体121を図示したが、このほか後述するようにボックスタイプ等の形状を有していても良い。

[0041] カバー本体121には、内部に生体が入り出できるよう開閉部122が設けられると共に、生体の頭部をカバー12外部に露出するための開口部123が設けられている。さらに、カバー本体121の内部に炭酸ガスミストを導入するための供給口124と、カバー本体121内の炭酸ガスミストを排出する排出口125（排出手段）とを備えている。また、圧浴用カバー12内が一定圧力以上になると自動的に弁が開く安全弁（逃し弁）を設けるようにしても良い。

[0042] 開閉部122は、好適には耐圧性、非通気性、非透湿性の加工を施した線ファスナー（ジッパー）から構成される。そのほか、面ファスナー等であっても良い。

[0043] 開口部123は、生体の頭部をカバー12外部に露出するために設けられており、その周縁には隙間からの炭酸ガスミストの漏出を防ぐため、ゴム等の伸縮する素材からなる漏出防止手段で、開口部123を使用者の首にフィットさせている。漏出防止手段は、このほか紐やベルト、面ファスナー等を

用いても良い。

[0044] 供給口 124 は、圧浴用カバー 12 内に炭酸ガスミストを導入するためにカバー本体 121 と連通して設けられており、ここに炭酸ガスミスト供給管 119 を通して炭酸ガスミスト生成手段 113 を接続する。供給口 124 の内部には、炭酸ガスミストの逆流を防ぐための逆止弁が設けられている。

[0045] 排出口 125 は、圧浴用カバー 12 内の気体を排出することで内部の圧力や炭酸ガスミストの濃度を調整するための通気口である。この排出口 125 は、制御装置 14 の指令に基づき開閉する。

[0046] 濃度計 13 は、圧浴用カバー 12 内に設置され、カバー 12 内の炭酸ガスミストの濃度を計測し、その計測値を制御装置 14 に出力する。

[0047] 一方、制御装置 14 は、CPU、メモリ、ディスプレイを備えたコンピュータから構成され、圧浴用カバー 12 内の炭酸ガスミストの濃度を所定値以上（好適には 60% 以上）にし、さらにこれを維持するように、濃度計 13 の計測値に基づいて炭酸ガスミスト生成供給手段 11 や圧浴用カバー 12 の排出口 125 を制御する。このほか、圧浴用カバー 12 内の温度や圧力値等も制御するようにしても良い。また、制御装置 14 はタイマー機能を有し、設定した時間での炭酸ガスミスト圧浴を可能にする。

[0048] 以下、さらに具体的に本炭酸ガスミスト圧浴装置の一例について説明する。図 5 は、霧吹き方式の炭酸ガスミスト生成手段を用いた炭酸ガスミスト圧浴装置 10A（第 1 実施例）を示す模式図である。ここでは炭酸ガスミスト生成手段 113 の例として、霧吹き式の炭酸ガスミスト生成手段 113' を用いている。

[0049] 炭酸ガスミスト生成手段 113' には、液体供給手段 112 からの液体を貯留するための液体貯留部 114 と、炭酸ガス供給手段 111 から供給される炭酸ガスを先端開口から吐出するノズル 115A と、液体貯留部 114 に貯留された液体をノズル 115A の先端まで吸い上げる吸液管 115B と、ノズル 115A 及び吸液管 115B の先端開口と対向する位置に設けられるバッフル 116 とが形成されている。また、炭酸ガス供給手段 111 から炭

酸ガスミスト生成手段 113' 内に炭酸ガスを供給し、炭酸ガスをノズル 115A 周辺に導入すると共に炭酸ガスミストを排出する気流を作る炭酸ガス供給部 117A と炭酸ガス導入部 117B、炭酸ガスミストを収集して排出するための炭酸ガスミスト収集部 118A と炭酸ガスミスト導出部 118B とを備えている。炭酸ガスミスト導出部 118B から排出された炭酸ガスミストは、炭酸ガスミスト供給管 119 を通って圧浴用カバー 12 に供給される。

[0050] なお、この炭酸ガスミスト圧浴装置 10A では、圧浴用カバー 12 内に濃度計 13 のほか、圧力計 151 も設置している。制御装置 14 はこれらの計測値に基づいた制御を行う。例えば、圧浴用カバー 12 内の気圧は 1 気圧以上（より好適には 1.01 乃至 2.5 気圧）となるようにする。さらに、圧浴用カバー 12 内の気圧が所定値以上になった場合には、炭酸ガスミスト発生供給手段 11 を停止させる、排出口 125 から圧浴用カバー 12 内の炭酸ガスミストを排出する等の制御を行っても良い。

[0051] また、この炭酸ガスミスト圧浴装置 10A では、炭酸ガス供給手段 111 から炭酸ガスミスト生成手段 113' の炭酸ガス供給部 117A の間に、流量バルブ 141 を設けて炭酸ガスミスト生成手段 113' へのガス流量の調整を可能とすると共に、炭酸ガスミスト供給管 119 に、炭酸ガスミスト生成手段 113' の炭酸ガスミスト導出部 118B からの炭酸ガスミストと炭酸ガス供給手段 111 からの炭酸ガスを切り換える切替弁 142 を設け、圧浴用カバー 12 内の炭酸ガスミスト濃度の調節等を可能にしている。

[0052] 次に、本炭酸ガスミスト圧浴装置 10A を用いて炭酸ガスミスト圧浴を行う手順について説明する。まず、使用者は圧浴用カバー 12 の開閉部 122 を開いてカバー本体 121 内に入り、開口部 123 を首に対して適切に合わせてから開閉部 122 を閉じ、圧浴用カバー 12 内が密閉状態になるようにする。

[0053] 次いで、炭酸ガスミスト生成手段 113' の液体貯留部 114 に、液体供給手段 112 からの液体を注入し、次いで、炭酸ガス供給手段 111 から炭

酸ガスミスト生成手段 1 1 3' に炭酸ガスを供給する。

[0054] 炭酸ガスがノズル 1 1 5 A に供給されると、ノズル 1 1 5 A は図 5 に示すように先端に向かって狭窄されているため、炭酸ガスは流速を増して吐出される。液体はこのときの気流により発生する負圧で吸液管 1 1 5 B を吸い上げられ、吸液管 1 1 5 B の先端部（ノズル先端部）で炭酸ガスに吹き上げられてバッフル 1 1 6 に衝突し、ミストが生成される。炭酸ガスはさらに炭酸ガス供給部 1 1 7 A 及び炭酸ガス導入部 1 1 7 B から炭酸ガスミスト生成手段 1 1 3' 内に供給され、生成された炭酸ガスミストの排出圧を高める。生成された炭酸ガスミストは、炭酸ガスミスト収集部 1 1 8 A、炭酸ガスミスト導出部 1 1 8 B を通り炭酸ガスミスト供給管 1 1 9 から圧浴用カバー 1 2 に供給される。制御装置 1 4 は、濃度計 1 3、圧力計 1 5 1 の値に基づいて炭酸ガスミスト発生供給手段 1 1 と圧浴用カバー 1 2 の排出口 1 2 5 の制御を行う。そして予め設定されたタイマーの所定時間が経過するまで、炭酸ガスミスト圧浴が行われる。

[0055] ガスミスト供給管 1 1 9 は、その全部又は一部を管径の太い柔軟なジャバラ状の管で構成するのが好適である。ジャバラ状の管は、自在に曲がり、伸縮させることもできるため、使用者の動きを制限することもない。さらに、このジャバラ状の管の内側には、管の軸方向に溝を形成することで、ガスミスト供給管 1 1 9 内を流れるガスミストが液化した際に、液滴を集めて回収しやすくすることができる。

[0056] また、上記では一つの炭酸ガスミスト発生供給手段 1 1 から一つの供給口 1 2 4 を通して圧浴用カバー 1 2 に炭酸ガスミストを供給する例を示したが、これに代えて、複数の炭酸ガスミスト発生供給手段から複数の供給口を介して炭酸ガスミストを供給しても良い。また、上記では本炭酸ガスミスト圧浴装置 1 0 を適用する生体として人体を例に説明したが、人体に限らず動物（例えば、競走馬やペット等）であっても良い。

[0057] 図 6 は、複数の炭酸ガスミスト発生供給手段を備える炭酸ガスミスト圧浴装置を、例として馬に適用した状態を示す模式図である。なお、図 2 と同一

の部分については、同一の符号を付して詳細な説明は省略する。

[0058] 図6に示すように、炭酸ガスミスト圧浴装置20は、複数（ここでは例として二つ）の炭酸ガスミスト発生供給手段21A、21Bを備えている。そして、馬用の圧浴用カバー22は、カバー本体221が馬のほぼ全身を覆う大きさに形成され、開閉部222、開口部223を備えると共に、複数（ここでは例として二つ）の供給口224A、224Bと排出口225とを有している。

[0059] 供給口224A、224Bは、それぞれ炭酸ガスミスト発生供給手段21A、21Bとに接続されている。ここで、各炭酸ガスミスト発生供給手段21A、21Bでは、異なる液体から炭酸ガスミストを生成して、各種液体の作用を生体に及ぼすようにしても良い。

[0060] 上記では、袋状のカバー本体121からなる圧浴用カバー12について説明したが、圧浴用カバー12はこれに限らず種々の形状が適用可能である。図7は、固定据置が可能なボックスタイプの圧浴用カバーを備える炭酸ガスミスト圧浴装置（第2実施例）の概略を示す模式図である。図2と同一の部分については、同一の符号を付して詳細な説明は省略する。また、図8は本実施例に係るボックスタイプの圧浴用カバーの概略を、図9はこれを人体に適用した状態を示している。

[0061] 図7に示すように、炭酸ガスミスト圧浴装置30は、炭酸ガスミストの生成供給を行う炭酸ガスミスト発生供給手段11と、炭酸ガスミストを生体と共に密閉状態に包囲するための圧浴用カバー32（炭酸ガスミスト包囲手段）と、この圧浴用カバー32内の炭酸ガスミストの濃度を計測する濃度計13（濃度検知手段）と、圧浴用カバー32内の気体を外部に排出させると共に、炭酸ガスミストの濃度が所定値以上になるように炭酸ガスミスト発生供給手段11からの炭酸ガスミストの供給量を制御する制御装置14（制御手段）と、を備えている。さらに、圧力計151を設けて、制御装置14は、圧浴用カバー32内の気圧が所定値以上になった場合には、炭酸ガスミスト発生供給手段11を停止させる、排出口329から圧浴用カバー32内の炭

酸ガスミストを排出する等の制御を行うこともできる。また、圧浴用カバー 32 内が一定圧力以上になると自動的に弁が開く安全弁（逃し弁）を設けるようにしても良い。

[0062] ここで、圧浴用カバー 32 は、生体のほぼ全体を覆うことができる大きさの、ボックスタイプのカバー本体 321 から構成されている。即ち、上部 322、底部 323、及び複数（ここでは四つ）の側部 324（324A、324B、324C、324D）から形成される。このうち、一つの側部（ここでは例として 324A）は、使用者が圧浴用カバー 32 内に出入りするため、図 8（b）に示すような開閉可能な扉 325 になっている。この扉 325 には外部に取手 325A を設ける。また、図示は省略したが、カバー 32 内側からも扉 325 を開閉できるよう、内部にも取手を設けるのが好ましい。

[0063] カバー本体 321 の上部 322 には、使用者の頭部をカバー 32 外部に露出するための開口 326 が設けられている。この開口 326 は、余裕を持って頭部の出し入れが可能な程度の径を有する。さらに、開口 326 の周囲には、隙間からの炭酸ガスミストの漏出を防ぐため、漏出防止手段 327 が設けられる。ここでは、開口 326 の内側に、さらに開口 327A を有する非通気性素材（例えばポリエチレンシート等）を設けると共に、この開口 327A の縁にゴム等の伸縮する部材を取り付けて、使用者の首にフィットさせて炭酸ガスミストの漏出を防ぐ。なお、ゴムの代わりに紐やベルト、面ファスナー等を用いても良い。

[0064] 圧浴用カバー 32 は、炭酸ガスミスト供給管 119 に接続され、炭酸ガスミストを内部に導入するための供給口 328 を備えている。この供給口 328 の内部には、炭酸ガスミストの逆流を防ぐための逆止弁が設けられている。さらに圧浴用カバー 32 は、圧浴用カバー 12 内の気体を排出することで内部の圧力や炭酸ガスミストの濃度を調整するための排出口 329 を備えている。この排出口 329 は、制御装置 14 の指令に基づき開閉する。

[0065] なおここでは、使用者が座位で炭酸ガスミスト圧浴を行えるよう、圧浴用

カバー 3 2 内に椅子 3 3 0 を配置している。この椅子 3 3 0 は、使用者の座高に合わせて座面の高さを変えることができるものを用いるのが好ましい。

[0066] 本実施形態の圧浴用カバー 3 2 を用いて炭酸ガスミスト圧浴を行う際には、使用者はまずカバー 3 2 の扉 3 2 5 を開いてカバー本体 3 2 1 内に入り、開口 3 2 6 に対して頭部の位置が適切になるよう、椅子 3 3 0 の高さを調節する。次いで、椅子 3 3 0 に座って開口 3 2 6 に頭部を通し、さらに漏出防止手段 3 2 7 を首回りに適切にセットして炭酸ガスミストの漏出を防ぐ。それから扉 3 2 5 を閉めてカバー 3 2 内を略密閉状態にする。この状態で、炭酸ガスミスト発生供給手段 1 1 から炭酸ガスミストを供給して、炭酸ガスミスト圧浴が行われる。

[0067] なお、ここまでは圧浴用カバー 3 2 内に椅子 3 3 0 を設けて、使用者が座位で炭酸ガスミスト圧浴を行う例を図示したが、圧浴用カバー 3 2 は、他の姿勢で行うための形状に変形しても良い。図 1 0 に、他の姿勢で炭酸ガスミスト圧浴を行う場合の圧浴用カバー 3 2 の形状例を示す。

[0068] 図 1 0 (a) は、立位用の圧浴用カバー 3 2 a である。このように、立位用の圧浴用カバー 3 2 a は、縦長形状に形成される。カバー本体 3 2 1 a には、開口 3 2 6 a と漏出防止手段 3 2 7 a が設けられている。さらに、炭酸ガスミストの供給口 3 2 8 a、排出口 3 2 9 a、出入りのための扉 3 2 5 a が設けられる。

[0069] 図 1 0 (b) は、仰臥用の圧浴用カバー 3 2 b である。このように、仰臥用の圧浴用カバー 3 2 b は、横長形状に形成される。カバー本体 3 2 1 b には、開口 3 2 6 b と漏出防止手段 3 2 7 b が設けられている。さらに、炭酸ガスミストの供給口 3 2 8 b、排出口 3 2 9 b、出入りのための扉 3 2 5 b が設けられる。

[0070] なお、上記した第 1 実施例と同様に、圧浴用カバー 3 2 を適用する生体は人体に限らず、動物（例えば、競走馬やペット等）であっても良い。

[0071] 図 5 においては、図 2 の炭酸ガスミスト生成手段 1 1 3 の具体的な構成例として炭酸ガスミスト生成手段 1 1 3 ' 示したが、さらに、図 5 3 を参照し

つつ別の構成例の炭酸ガスミスト生成手段１３０を説明する。図５３は、炭酸ガスミスト生成手段１３０の構造を示す断面模式図であり、炭酸ガスミスト生成手段１３０は、予め内部に液体を貯留して、炭酸ガス供給手段１１１から供給されるガスの高速流により、液体とガスを粉碎溶解したガスミストを生成し、さらにガスを混合させてこれを図２などに示す圧浴用カバー１２に供給する。

[0072] 図５３に示すように、炭酸ガスミスト生成手段１３０は、ガス供給手段１１１と接続される接続部１３１と、接続部１３１からのガス流を分岐させる分岐部１３２と、液体を貯留する液体貯留部１３３と、分岐部１３２で分岐された一方のガス流を吐出するノズル１３４と、ノズル１３４先端に液体を送る送液管１３５Ａと、ノズル１３４が吐出するガス流によって吹き上げられた液体を衝突させてガスミストを生成するバッフル（衝突部材）１３６と、生成されたガスミストに上方からガスを合流させる合流部１３７と、分岐部１３２で分岐された他方のガス流を合流部１３７まで導くガス導入部１３８と、生成されたガスミストを収集し排出するガスミスト排出部１３９とを備え、これらが一体に形成されている。

[0073] 接続部１３１には、ガス供給手段１１１が直接、もしくはガスコード等を介して接続される。接続部１３１の構造は、ガス供給手段１１１に連結されたガスコード等や直接ガス供給手段１１１をワンタッチで接続可能なものであり、接続するガス供給手段１１１に従って様々な形態を適用することができる。

[0074] 接続部１３１を介してガス供給手段１１１から供給されたガスは、分岐部１３２で二手に分岐される。そして一方はノズル１３４に、他方はガス導入部１３８に向かう。ノズル１３４に向かったガスは、ノズル先端１３４Ａから吐出される。一方、ガス導入部１３８に向かったガスは、合流部１３７まで案内される。

[0075] 図５に示す炭酸ガスミスト生成手段１１３'の液体貯留部１１４は液体供給手段１１２から直接液体が供給される構造であるが、図５３の炭酸ガスミ

スト生成手段１３０においては、予め製造段階で所定の液体が貯留され、密封される。そして、使用時にこれを開封してガスミスト圧浴を行う。しかし、貯留する液体は、炭酸ガスミスト生成手段１１３'の液体貯留部１１４と同じであり、前述したように、水、イオン水、オゾン水、生理食塩水、精製水、滅菌精製水が用いられて、さらに、これらの液体に使用者の疾患、症状等に有効な物質を添加しても良い。

[0076] 液体貯留部１３３の底部中央には、ノズル１３４が配置されている。ノズル１３４は、液体貯留部１３３の底から隆起して、バッフル１３６に向かって絞られる略円錐筒状に形成されている。ノズル１３４の基端は分岐部１３２の一方の分岐と連結しており、ノズル１３４の先端開口１３４Ａからはガスを吐出可能である。

[0077] 吸液管１３５Ａは、ノズル１３４の外周面と、ノズル１３４より一回り大きい略円錐筒状の吸液管形成部材１３５との間に形成される。即ち、図５３に示すように、ノズル１３４に吸液管形成部材１３５を被せるように配置することにより、ノズル１３４の外周面と吸液管形成部材１３５の内周面との間に吸液管１３５Ａが形成される、図示は省略したが吸液管形成部材１３５の基端（略円錐筒状部の下部）には微小な爪状突起部が設けられているため、吸液管形成部材１３５の基端と液体貯留部１３３の底面には隙間が形成されており、この隙間から液体貯留部１３３に貯留された液体が吸液管１３５Ａによって吸い上げられる。また、吸液管形成部材１３５の先端部１３５Ｂは、ノズル１３４の先端開口１３４Ａの近傍で開口しており、ノズル１３４から吐出されるガス流に、吸液管１３５Ａが吸い上げた液体が突き当たるように構成されている。

[0078] 吸液管１３５Ａが吸い上げた液体は、ノズル１３４から吐出されたガス流に突き当たって吹き上げられ、ノズル１３４の先端開口１３４Ａに対向する位置に配置されたバッフル１３６に衝突して粉碎され、ガスミストが生成される。ここでは、バッフル１３６はバッフル支持部１３６Ａによって合流部１３７の内壁に固定されているが、吸液管形成部材１３５等に固定されても

良い。

- [0079] 一方、分岐部 132 でガス導入部 138 に分岐されたガスは、ガス導入部 138 に沿って合流部 137 に至る。ガス導入部 138 は、炭酸ガスミスト生成手段 130 下部に設けられた分岐部 132 から、炭酸ガスミスト生成手段 130 内側の側面を通して上部へ向かうガスの案内路であり、炭酸ガスミスト生成手段 130 に一体に形成されている。また、合流部 137 は、ノズル 134 の先端開口 134A 上でバッフル 136 を囲うように配置される円筒状の部材からなり、ガス導入部 138 と通じている。従って、分岐部 132 で分岐されガス導入部 138 へ導かれたガスは、合流部 137 で生成されたガスミストと上方から合流し、円筒状の合流部 137 の周囲に形成されたガスミスト排出部 139 へとガスミストを押し出す。
- [0080] ガス導入部 138 から合流部 137 へ供給されるガスは、ガス導入部 138 の径のサイズによって供給圧の調整ができる。ガス供給圧の調整によって、炭酸ガスミスト生成手段 130 のガスミスト供給量も調節可能になる。また、ガスミスト濃度（ガス中のミスト濃度）やミストの粒子サイズもガス導入部 138 の径サイズによって調節可能である。
- [0081] ガスミスト排出部 139 は、円筒状の合流部 137 の周囲に形成される空間で、ガス導入部 138 からのガスによって合流部 137 から追いやられたガスミストを収集しガスと共に排出する。ガスミスト排出部 139 に追いやられたガスミストは、炭酸ガスミスト生成手段 130 の上部に配置された開口である、ガスミスト排出口 139A から圧浴用カバー 12 へと排出される。ガスミスト排出口 139A と圧浴用カバー 12 の間は、ガスミスト供給管 119 によって接続されている。
- [0082] なお、炭酸ガスミスト生成手段 130 は、少なくとも液体貯留部 133 を含んだ部位を取り外し可能にして、他の新たな液体貯留部 133 と取替え可能に構成しても良い。即ち、炭酸ガスミスト生成手段 130 を組み立て式として、液体貯留部 133 を含んだ取替え部を他の部位と組み立てることによって、ガス導入部 138 が一体となった炭酸ガスミスト生成手段 130 が完

成する構成である。このように、液体貯留部 133 を取替え可能にすることにより、液体貯留部 133 を使い捨てにして衛生を保つ。また、液体貯留部 133 を取替え可能にすることにより、吸液管 135 A に液体を補給するための構成を省いている。なお、上記炭酸ガスミスト生成手段 130 は、製造段階で予め滅菌処理されているのが好ましい。

[0083] 上記炭酸ガスミスト生成手段 130 では、以下のようにガスミストを生成する。ガス供給手段 10 からガスがノズル 34 に供給されると、ノズル 134 は先端に向かって狭窄されているため、ガスは流速を増して吐出される。液体貯留部 133 の液体はこのときの気流により発生する負圧で吸液管 135 A を吸い上げられ、吸液管 135 A の先端部 135 B でガスに吹き上げられてバッフル 136 に衝突し、ガスミストが生成される。この衝突によって生成されるミストの粒径は微細であることが望ましく、具体的には $10\ \mu\text{m}$ 以下が最適である。このように微細に粉碎されたミストは、マイナスイオンの効果を発揮することができる。

[0084] ガスはさらに、分岐部 132 を経てガス導入部 138 から合流部 137 へと案内されて、生成されたガスミストの排出圧を高くする。生成されたガスミストは、分岐部 132 からのガスと混合されて、ガスミスト排出口 139 A から排出される。すなわち、図 5 にて説明すれば、ガスミストは炭酸ガスミスト供給管 119 を介して圧浴カバー 12 へ供給される。

[0085] これまで説明してきた圧浴用カバー 12、22、32、32 a 及び 32 b は、全て生体の頭部を除いた身体全体を収容するものであるが、身体の局所の皮膚及び粘膜を覆うものであっても良い。図 54 は、本発明による炭酸ガスミスト圧浴装置の第 3 実施例の概略を示す模式図である。ここでの圧浴用カバー 150 は、生体の局所（本図では例として、人体の前腕を図示）を覆って、ガスミスト及びガスを内部に封入する空間を形成する。圧浴用カバー 150 は、内側に配置される第一のカバー（内側カバー）161 と、外側に配置され、第一のカバー 161 全体を被覆して略密閉可能な第二のカバー（外側カバー）155 と、から構成される。そして、圧浴用カバー 150 は、

耐圧性、非通気性、非透湿性素材からなるのが好適であり、例えば、天然ゴム、シリコンゴム、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ塩化ビニリデン、ポリスチレン、ポリ酢酸ビニル、ポリ塩化ビニル、ポリアミド系樹脂、ポリテトラフルオロエチレン等から構成する。

[0086] 内側カバー１６１は、ガスミストの吸収率が高い部位を局所的に覆うための略袋状のカバーであると同時に、断熱用カバーとしても機能する。即ち、生体カバー部材１５０内が時間経過と共に温度上昇した後、常温で生成された比較的冷温のガスミストが供給されるが、すぐに温度上昇しないように内側カバー１６１は断熱素材から構成するのが好適である。この内側カバー１６１を装着することにより、ガスミスト圧浴中に供給されるガスミストの気化を防止することができる。内側カバー１６１は、特にガスミストを吸収させたい箇所や、手のひらや足の裏等、汗腺が多く汗をかきやすい部位に装着すると効果が高くなる。

[0087] 内側カバー１６１には、ガスミスト供給管１１９に接続してガスミスト及びガスを内部に導入するための供給口１５２が設けられている。この供給口１５２の内部には、図示しないが、ガスミスト及びガスの逆流を防ぐための逆止弁が設けられている。内側カバー１６１の端部は、ここでは開口１５４になっている。従って、内側カバー１６１に供給したガスミスト及びガスは、同時に開口１５４を通じて外側カバー１５５にも供給される。

[0088] 外側カバー１５５は、内側カバー１６１よりも大きく、生体の皮膚及び粘膜と、内側カバー１６１全体を覆うことができるカバーであり、略袋状に形成されている。外側カバー１５５の開口部には、生体への着脱を可能にすると共に、内部に封入したガスミスト及びガスの漏出を防ぐための止着部１５７が設けられている。止着部１５７は、例えば伸縮性のある面ファスナーにより構成されるのが好適である。あるいは、紐やゴム等を単独、又は組み合わせて用いても良い。さらに、外側カバー１５５は密閉性が必要となるため、止着部１５７の内側面に、生体の皮膚に粘着する素材を配置しても良い。この粘着素材は、例えばポリウレタンやシリコンゴム等からなる粘弾性ゲル

であるのが好ましい。さらに、この粘着素材は取り外し可能に設けられ、使用の都度あるいは粘性が低くなれば交換できる構成とするのが良い。

[0089] さらに外側カバー 155 には、内側カバー 161 の供給口 152 と連結させて、外側カバー 155 内を密閉しながら内側カバー 161 とガスミスト供給管 119 を接続させる連結部 158 が設けられている。さらに、外側カバー 155 には、図示しないが、カバー内からガスミスト及びガスを抜くためのガスミストの排出口や、カバー内の圧力を調整するための弁等を設けるのが好適である。カバー内の圧力調整は、手動で行われても良いが、後述する圧力計 171 の計測値に基づき、ガスミストの供給制御と共に制御装置 160 により自動的に行われるのが望ましい。また、外側カバー 155 内が一定圧力値以上になると自動的に弁が開く安全弁（逃し弁）を設けるようにしても良い。

[0090] なおここでは例として、連結部 158 を設け内側カバー 161 の供給口 152 と連結させる構成としたが、外側カバー 155 内を密閉しながら内側カバー 161 にガスミストを供給可能にする構成であれば、どのような形態を適用しても良い。

[0091] 外側カバー 155 内には、その内部の圧力を計測するための圧力計 171 が設置される。制御装置 160 は、外側カバー 155 内の圧力値を 1 気圧以上（より好適には、1.01～2.5 気圧）に保つため、この圧力計 171 の計測値に基づき、ガスミストの生成、供給を制御する。例えば、ガス供給手段 110 からのガスの供給を調整、停止したり、内側カバー 161 や外側カバー 155 からガスミスト及びガスを排出したりする。なお、本実施形態では内側カバー 161 が開口 154 によって開放された状態の圧浴用カバー 150 を用いているため、圧力計 171 は外側カバー 155 内に一つ設けるのみで足る。また、内側カバー 161 もしくは外側カバー 155 内（ここでは内側カバー 161 内）に、温度を計測するための温度計 172 を設置しても良い。制御装置 160 は、温度計 172 の計測値からガスミスト供給のオン・オフを行う。

[0092] このほか、圧浴用カバー 150 内には、酸素濃度、炭酸ガス濃度、湿度等を計測するセンサ類を設置して、制御装置 60 によってカバー内の環境を予め設定された各値の範囲内に制御するようにしても良い。

[0093] 制御装置 160 は、CPU、メモリ、ディスプレイを備えたコンピュータから構成される。そして、ガス供給手段 110 から供給されるガスの圧力調整やオン・オフ切替、ガスミストの供給のオン・オフ切替等々の各種制御を行い、最適な状態でガスミスト圧浴が行えるようにする。特に、圧浴用カバー 150 内に設置した圧力計 171、温度計 172 等のセンサ類の計測値から、圧浴用カバー 150 内がガスミスト圧浴を行う上で最適な状態に保たれるよう、各手段を調整する。圧浴用カバー 150 内の圧力値が所定値以上になった場合には、制御装置 160 によりガス供給手段 110 のガス供給を停止するように構成するのが好適である。なお上記の調整は、制御装置 160 を用いずに手動で行うようにしても良い。

[0094] 次に、本発明に係る炭酸ガスミスト圧浴処理による虚血領域の血行を改善又は促進を示す種々の動物実験の試験結果について、表及びグラフを参照しつつ詳しく説明する。

[0095] 実験に際し使用する個体は雄性の 8 乃至 10 週齢の野生型マウスで、これらマウスは、ペントバルビタールにて麻酔後、顕微鏡下にて左大腿部を切開して大腿神経は温存し、大腿動静脈を周囲組織から剥離して外科的に摘出する。なお、動脈摘出部位は大腿動脈の浅腹壁動脈分枝部位中枢側から膝窩動脈までで、その間に存在する大腿深動脈等の結紮（2カ所）処置を行って下肢虚血モデルを作製している。

[0096] そして、これら個体を、〔1〕無処置（NM）の個体群、〔2〕合成空気（80%窒素／20%酸素含有）をガスミスト圧浴手段内に加圧封入してミスト処置（AIRM）する個体群、〔3〕100%酸素ガスミストをガスミスト圧浴手段内に加圧封入してミスト処置（OM）する個体群、〔4〕100%炭酸ガスミストをガスミスト圧浴手段内に加圧封入してミスト処置（CM）する個体群、〔5〕100%炭酸ガスミスト処置に加えて一酸化窒素含

成酵素（NOS）阻害薬（L-NAME）を投与（CM+L）する個体群に区分する。

[0097] 炭酸ガスミスト処置は、毎日、麻酔下にて10分間行うが、マウスの下半身をポリエチレン袋で覆って輪ゴムにて入口部を締めてから袋内にガスミストを充満させて行う。

[0098] 個体の血流測定にはレーザードップラー血流計を使用し、このLDBF測定は下肢虚血モデル作成前から28日後まで経時的に行い、LDBF測定して得られた血流画像をコンピュータ上に取り込んで定量解析を行い、健常側に対する患側の血流比（I/N比）を算出している。また、28日後に虚血領域である大腿内転筋における毛細血管密度を、抗CD31抗体を用いた免疫組織染色を行った後、定量化している。

[0099] 図11は、各群の手術（虚血作成）直後および28日目にレーザードップラー血流計にて測定した血流を示す。図12は、各群の虚血作製直後及び4日・7日・14日・21日・28日がそれぞれ経過した血流の変化をI/N比にて示している。虚血直後は各群ともにI/N比は0.1以下であり、ほとんど血流が認められなかった。このときのそれぞれの個体数は（NM）群を14個体、（AIRM）群を15個体、（CM）群を18個体、（CM+L）群を8個体である。このデータには100%酸素ミストをガスミスト圧浴手段内に加圧封入してミスト処置する9個の個体群も加えている。

[0100] 虚血作製直後は、全ての群において、I/N比は0.05以下に低下した。（NM）群のI/N比は、虚血作製7日後に約0.35、14日後に約0.52、28日後に0.52、28日後に約0.6まで改善した。

[0101] （AIRM）群のI/N比は、虚血作製7日後に約0.5まで回復したが、14日目以降はNM群との差は認められない。100%酸素ミストの個体群も、（AIRM）群と略同様の傾向を示す。

[0102] （CM）群I/N比は、虚血作製7日後に約0.55、14日後に約0.7、28日後に0.78まで改善し、7日目以降、NM群と比べて有意な改善を認めた。（CM+L）群は炭酸ガスミスト処置を施しているもののL-

N A M E 投与により I / N 比は抑制されたことを示す。

[0103] なお、100%酸素ミスト処置群と A I R M 群との間には差が認められなかったため、他の結果における100%酸素ミスト処置に関するデータは省く。

[0104] 図13は、虚血作製から28日経過後における(NM)群、(A I R M)群、(C M)群、(C M + L)群の虚血部組織(大腿内転筋)を取り出し、抗C D 3 1抗体による免疫組織染色を行った結果である。図14は、図13に基づき(NM)群、(A I R M)群、(C M)群、(C M + L)群の1平方mm当りの毛細血管密度の定量解析を行った結果を示すもので(C M)群が一番高い値を示している。C M 群で観察された毛細血管密度の増加は、C M + L 群では観察されなかった。

[0105] 図15から図20までは、(NM)群、(A I R M)群、(C M)群、(C M + L)群の各群に関して、細胞内でのm R N A 発現(m R N A e x p r e s s i o n)の増減を相対的に示したものである。細胞は、m R N A (転写リボ核酸)に基づき各種タンパク質を合成するが、図15、図16、図17は、虚血作成から4日経過後において合成される、V E G F (血管内皮成長因子)とG A P D H (グリセルアルデヒド3リン酸脱水酵素)の比、F G F (線維芽細胞増殖因子)とG A P D H の比、e N O S (内皮型NO合成酵素)とG A P D H の比を、それぞれ示す。そして、図18、図19、図20は、虚血作成から7日経過後において合成される、V E G F とG A P D H の比、F G F とG A P D H の比、e N O S とG A P D H の比を、それぞれ示す。

[0106] G A P D H は細胞刺激などによって変動することが少ないタンパク質とされており、同時に測定するG A P D H との比を求めることで、V E G F ・ F G F ・ e N O S の相対的な量が示される。これら図15から図20までは、(C M)群は血管再生に重要な働きを有するV E G F、F G F が炭酸ガスミスト処置により他の群と比べて増加していることを示している。

[0107] 図21は、虚血から4日後の血漿中に含まれる硝酸の量を(NM)群、(

A I R M) 群、(C M + L) 群毎に示す。血管の拡張作用に有効な硝酸の含有が(C M) 群が一番高い。

[0108] 図22は、ラット下肢虚血モデル作成時の組織の酸素量を光の吸収測定をもとに計測したもので、オキシヘモグロビン(o x y H b)と、デオキシヘモグロビン(d e o x y H b)と、オキシヘモグロビンと総ヘモグロビンの比である組織酸素飽和度(S t O 2)を示している。測定開始後約4分で大腿動脈枝の結紮を行い、11分頃に本幹結紮を行うが、本幹結紮後はo x y H bが大幅に減少するため、組織酸素飽和度($S t O 2 = o x y H b / t o t a l H b$)も顕著に低下している。

[0109] 図23及び図24は、それぞれ炭酸ガスミスト処置中及び合成空気処置中における、虚血6日後の組織の酸素量を光の吸収測定をもとに計測したものであり、オキシヘモグロビン(o x y H b)と、デオキシヘモグロビン(d e o x y H b)と、オキシヘモグロビンと総ヘモグロビン(t o t a l H b)、組織酸素飽和度(S t O 2)にて示している。

[0110] 図25及び図26は、それぞれ合成空気処置中及び炭酸ガスミスト処置中における、虚血6日後の組織の酸素量を計測したものであり、オキシヘモグロビン(o x y H b)と、デオキシヘモグロビン(d e o x y H b)と、オキシヘモグロビンと総ヘモグロビン(t o t a l H b)にて示している。図25及び図26は炭酸ガスミスト処置が合成空気処置と比べてオキシヘモグロビンが増えていることを示している。

[0111] 図27は、「i T R A QとL C / M S / M Sによる同定タンパク質の数」と下肢虚血後の炭酸ガスミスト処置によるタンパク質への影響を示したものである。タンパク質の質量分析乃至同定分析するために、それぞれのタンパク質検体(試料)に対して安定同位体原子の配分の異なる4種類のi T R A Q (isobaric tags for relative and absolute quantitation) 試薬(114、115、116、117)で修飾し、修飾した試料を混合して質量分析のための試料とする。個々のペプチドのM S / M Sスペクトルには、アミノ酸配列を反映するシグナルと個々の試料に含まれていたタンパク質量を反映

するレポーターイオンが観測される。MS／MS解析において同定されたシグナル強度を比較検討することは、すなわち、それぞれのペプチドの量比を示すことを利用した比較定量することである。この手法により、細胞（特に骨格筋）内でのタンパク質発現レベルに対する炭酸ガスミストの有効性・機序を明らかにすることができる。

[0112] 本発明に係る炭酸ガスミスト圧浴処理による炭酸ガスの高い吸収効果は、動物実験による種々の試験結果で証明される。以下、この実験について、表及びグラフを参照しつつ説明する。

[0113] はじめに、地球上に存在する炭素の殆ど（存在比98.93%）は原子量12（ ^{12}C ）であるが、安定同位体として原子量13の炭素（ ^{13}C ）が1.07%存在する。安定同位体 ^{13}C は放射能を持たず、半永久的に安定な同位体である。そして、生体内に存在する CO_2 も、大気中と同様にその殆どが $^{12}\text{CO}_2$ である。

[0114] そこで、人工的に作製した高濃度（99%）の $^{13}\text{CO}_2$ を本発明に係る炭酸ガスミスト圧浴装置にてラットに皮膚吸収させて、二酸化炭素 CO_2 の2種類の同位体である呼吸由来の $^{12}\text{CO}_2$ と皮膚吸収由来の $^{13}\text{CO}_2$ を定量分析してラット組織中の炭酸挙動を調査することにより、効果的な皮膚吸収が行われたかを検証することができる。よって、実験は、本発明に係る炭酸ガスミスト圧浴装置にて $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理した群と未処理の群と分けて、皮膚から吸収された $^{13}\text{CO}_2$ の体内臓器への分布を分析するものである。

[0115] 分析は、 $^{13}\text{CO}_2$ による炭酸ガスミスト圧浴処理を施していないNo. 1及びNo. 2の二種類のラット（以下、非処理No. 1及び非処理No. 2と表示する）の血漿、心臓、肝臓及び筋肉の各組織と、炭酸ガスミスト圧浴処理を施したNo. 1及びNo. 2の二種類のラット（以下、 $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理No. 1及び $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理No. 2と表示する）の血漿、心臓、肝臓及び筋肉の各組織の凍結品である16検体を試料として用いて、16検体から炭酸（ $^{12}\text{CO}_2$ 、 $^{13}\text{CO}_2$ ）を検出する。以下、分析・試験の方法及び結果について順を追って説明していく。

[0116] (1) 分析・試験方法

(1. 1) 測定条件の設定

(1. 1. 1) 標準溶液の調製

炭酸ナトリウムを水に溶解して、任意の濃度の溶液を調整し、この一定量を測定用バイアルに採り、硫酸を加え密閉する。測定用バイアル内の炭酸量は、10、50、100、250、500 μg の5水準とし、これら操作は、窒素ガス雰囲気グローブボックス内で行った。

[0117] (1. 1. 2) 測定

測定用バイアルの気相部を、以下の条件にてガスクロマトグラム質量分析計にて測定した。

<測定条件>

・カラム：Pora BOND Q 長さ25m・内径0.25mm・膜厚3 μm

・カラム温度：40°C（8分）

・キャリアガス：He

・試料注入法：ヘッドスペース法（60°C、1分間加熱）

・イオン化法：電子衝撃イオン化法（EI法：70eV）

・測定モード：選択イオンモニタリング（SIM）

・モニターイオン：定量イオン m/z 44 ($^{12}\text{CO}_2$)、 m/z 45 ($^{13}\text{CO}_2$)

[0118] (1. 1. 3) 検量線の作成

標準溶液を測定し、濃度（ μg ／バイアル）を縦軸に、 m/z 44の抽出イオンカレント（EIC）クロマトグラムから検出された CO_2 の量を横軸にプロットして検量線を作成した。

[0119] (1. 2) ラット組織の分析

(1. 2. 1) 前処理方法

試料に水酸化ナトリウム溶液を加え解凍後、乳鉢で均一にし、この一定量を測定用バイアルに採り硫酸を加え密閉した。これら操作は、窒素ガス雰囲気

気のグローブボックス内で行った。乳鉢で均一にした後の動作は1試料につき1乃至3回繰り返した。

[0120] (1. 2. 2) 分析値算出方法

前処理後の測定用バイアルの試料の測定後、 m/z 44の CO_2 検量線により、測定した m/z 44及び m/z 45の CO_2 を定量した。そして、 CO_2 の検出量を試料量で除し、試料質量当たりの $^{12}CO_2$ 量及び $^{13}CO_2$ 量を求めた。

[0121] また、呼吸由来の CO_2 中に存在する天然同位体 (m/z 45) の影響を補正するために、 $^{12}CO_2$ 量から求めた $^{13}CO_2$ 量を、 $^{13}CO_2$ の検出量から差し引いて、皮膚吸収由来の、すなわちガスマスト処理により吸収された、 $^{13}CO_2$ 量を算出した。

[0122] (2) 分析・試験結果

(2. 1) 測定条件の妥当性

(2. 1. 1) 検量線の直線性

図29は、測定したEICクロマトグラムで、上段は $^{12}CO_2$ 量、下段は $^{13}CO_2$ 量のクロマトグラムである。クロマトグラムは、横軸が保持時間、縦軸が濃度を示し、正規分布の三角形部分の面積（ピーク面積）が測定された CO_2 の量となる。図30は、作成した $^{12}CO_2$ の検量線を示すもので、相関係数(R)が0.9987と直線に近似した二次曲線の検量線である。

[0123] (2. 1. 2)

繰り返し測定の再現性

炭酸量が500 μg の標準溶液の繰り返し測定の結果、日内再現性は相対標準偏差(RSD)が3乃至5%、試料測定間(10日間)再現性はRSDが11%であった。

[0124] そして、乳鉢で均一にした試料を、測定用バイアルに採取する前処理から測定までを繰り返した結果、全ての試料においてRSDは20%未満と高い再現性を示した。尚、標準溶液のRSDが3乃至5%であるのに対し、試料のRSDは20%未満の範囲である原因としては、試料の均一化不足や試薬

添加・密閉の試料毎の時間差等が原因と考えられるが、問題のない再現性レベルにある。

[0125] (2. 2) ラット組織の分析結果

図3 1 から図4 6 までは1 6 通りの各試料におけるE I Cクロマトグラムによる測定結果を示している。各図において、上段は $^{12}\text{C O}_2$ のクロマトグラムを示し、下段は $^{13}\text{C O}_2$ のクロマトグラムを示している。

[0126] そして、横軸が保持時間、縦軸が濃度を示す各クロマトグラムのピーク面積が測定された C O_2 の量であり、測定した m/z 4 4 (上段) 及び m/z 4 5 (下段) の C O_2 の値を、 m/z 4 4 の C O_2 検量線により定量する。

[0127] 表1 は、各試料での $^{12}\text{C O}_2$ 及び $^{13}\text{C O}_2$ の定量結果を表す。

[0128] [表1]

		単位: $\mu\text{g/g}$							
処理法	試料	血漿		心臓		肝臓		筋肉	
		$^{12}\text{CO}_2$	$^{13}\text{CO}_2$	$^{12}\text{CO}_2$	$^{13}\text{CO}_2$	$^{12}\text{CO}_2$	$^{13}\text{CO}_2$	$^{12}\text{CO}_2$	$^{13}\text{CO}_2$
非処理	No.1	860	7.6	290	3.3	450	4.7	150	<2.5
	No.2	960	8.4	270	3.1	280	3.1	320	3.5
$^{13}\text{CO}_2$	No.1	960	59	660	29	710	29	210	8.9
ミスト処理	No.2	1300	70	600	23	550	20	330	12
定量下限		50	2.5	50	2.5	50	2.5	50	2.5

[0129] 例えば、図3 1 のクロマトグラムは、非処理 No. 1 の血漿中における $^{12}\text{C O}_2$ の量を上段で示し、 $^{13}\text{C O}_2$ の量を下段で示すが、これら定量した結果を血漿の量で除し、求めた血漿の質量当たりの $^{12}\text{C O}_2$ 量が $860 \mu\text{g/g}$ 、そして $^{13}\text{C O}_2$ 量が $7.6 \mu\text{g/g}$ であることを表1 は示している。

[0130] もう一つ実例を挙げると、図3 3 のクロマトグラムは、 $^{13}\text{C O}_2$ ミスト処理 No. 1 の血漿中における $^{12}\text{C O}_2$ の量を上段で示し、 $^{13}\text{C O}_2$ の量を下段で示しており、これら定量した結果を血漿の量で除し、求めた血漿の質量当たりの $^{12}\text{C O}_2$ 量が $960 (\mu\text{g/g})$ 、そして $^{13}\text{C O}_2$ 量が $59 (\mu\text{g/g})$ であることを表2 2 は示している。

[0131] このようにして、表1 では、非処理及び $^{13}\text{C O}_2$ ミスト処理されたラットの血漿、心臓、肝臓及び筋肉の各組織でのクロマトグラムによる $^{12}\text{C O}_2$ と ^{13}C

O_2 の測定結果を $m/z\ 44$ の CO_2 検量線により定量し、定量した結果を血漿の量で除し、求めた血漿の質量当たりの $^{12}CO_2$ 量と $^{13}CO_2$ 量を示している。

[0132] ところで、表1に表すこの定量結果は、 $m/z\ 44$ の CO_2 検量線を用いて算出した値となっており、 $^{13}CO_2$ に関しては、呼吸由来の CO_2 中に存在する天然同位体 ($m/z\ 45$) を含む値となっている。そこで、表2は、表1に示す結果に基づいて $^{13}CO_2$ から呼吸由来の CO_2 に存在する天然同位体 $^{12}CO_2$ ($m/z\ 45$) を差し引くことで補正した $^{13}CO_2$ の検出値を示している。

[0133] [表2]

		単位: $\mu g/g$			
試料		血漿	心臓	肝臓	筋肉
処理法		$^{13}CO_2$	$^{13}CO_2$	$^{13}CO_2$	$^{13}CO_2$
非処理	No.1	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5
	No.2	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5
$^{13}CO_2$	No.1	48	22	21	6.5
ミスト処理	No.2	55	16	14	8.0
定量下限		2.5	2.5	2.5	2.5

[0134] このときの計算式は、 CO_2 の天然同位体比 ($m/z\ 44 : m/z\ 45$) は $0.984 : 0.0113$ であることから、次式で表される。

$$^{13}CO_2\text{検出量 (補正值)} = ^{13}CO_2\text{検出量} - ^{12}CO_2\text{検出量} \times 0.0113 / 0.984$$

[0135] 表2で示すように、炭酸ガスミスト圧浴処理を施していない非処理No. 1及びNo. 2のラットの血漿、心臓、肝臓及び筋肉の各組織の $^{13}CO_2$ の検出値定量下限の $2.5\ \mu g/g$ 未満を示しており、 $^{13}CO_2$ のガスミスト圧浴処理を施したNo. 1及びNo. 2のラットの同じ各組織の $^{13}CO_2$ の検出値より格段に低いことが明らかとなる。

[0136] 図47から図52までは、 $^{12}CO_2$ 検出量及び $^{13}CO_2$ 検出量 (補正值) を試料別と処理法別とにまとめたグラフを示している。

[0137] 図47は、非処理No. 1、非処理No. 2、 $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理No. 1及び $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理No. 2の各 $^{12}\text{CO}_2$ 検出量を、血漿、心臓、肝臓及び筋肉の各試料別に、それぞれ棒グラフで示している。このグラフにて、非処理と $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理とにおける $^{12}\text{CO}_2$ 検出量とを比較すると、各組織における $^{12}\text{CO}_2$ 検出量は $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理の試料で高い傾向を示すものの顕著な差は認められない。

[0138] 図48は、図47において、非処理と $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理の処理別に、非処理No. 1、非処理No. 2、 $^{13}\text{CO}_2$ 処理No. 1及び $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理No. 2における各 $^{12}\text{CO}_2$ 検出量を、血漿、心臓、肝臓及び筋肉の試料毎に棒グラフで示している。このグラフでも、 $^{12}\text{CO}_2$ 検出量は処理による顕著な差が無いことを示している。

[0139] 図49は、非処理No. 1、非処理No. 2、 $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理No. 1及び $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理No. 2の各 $^{13}\text{CO}_2$ 検出量（補正值）を、血漿、心臓、肝臓及び筋肉の各試料別に、それぞれ棒グラフで示している。このグラフは、非処理の場合には各組織での $^{13}\text{CO}_2$ 量は殆ど検出されないことを示している。そして、 $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理を施した場合に、血漿、心臓、肝臓及び筋肉の各組織で $^{13}\text{CO}_2$ が有効量検出されて、炭酸ガスミスト圧浴処理が効果的に行われていることを示している。

[0140] 図50は、図49において、非処理と $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理の処理別に、非処理No. 1、非処理No. 2、 $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理No. 1及び $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理No. 2の $^{13}\text{CO}_2$ 検出量を、血漿、心臓、肝臓及び筋肉の試料毎に棒グラフで示している。このグラフでも、非処理の場合には $^{13}\text{CO}_2$ 量は殆ど検出されないが、 $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理の場合には各組織に $^{13}\text{CO}_2$ ミストが有効量検出されていることを示している。

[0141] 図51は、非処理No. 1、非処理No. 2、 $^{13}\text{CO}_2$ 処理No. 1及び $^{13}\text{CO}_2$ 処理No. 2の各 $^{12}\text{CO}_2$ 検出量に対する $^{13}\text{CO}_2$ 検出量（補正值）の割合を棒グラフで示している。このグラフは、非処理の場合は、 $^{12}\text{CO}_2$ の検出量に対して $^{13}\text{CO}_2$ は殆ど検出されないことを示している。そして、 $^{13}\text{CO}_2$

ミスト処理を施した場合に、 $^{13}\text{C O}_2$ が血漿、心臓、肝臓及び筋肉の各組織で有効量検出されて、炭酸ガスミスト圧浴処理が効果的に行われていることを示している。

[0142] 図52は、図51において、非処理と $^{13}\text{C O}_2$ 処理の処理別に、非処理No. 1、非処理No. 2、 $^{13}\text{C O}_2$ 処理No. 1及び $^{13}\text{C O}_2$ 処理No. 2の各 $^{12}\text{C O}_2$ 検出量に対する $^{13}\text{C O}_2$ 検出量（補正值）の割合を棒グラフで示している。このグラフからも、非処理の場合は、 $^{12}\text{C O}_2$ の検出量に対して $^{13}\text{C O}_2$ は殆ど検出されず、一方、 $^{13}\text{C O}_2$ ミスト処理を施した場合には、 $^{13}\text{C O}_2$ が血漿、心臓、肝臓及び筋肉の各組織で検出されていることが分かる。

[0143] 次に、表3は、非処理群のラットの検体1乃至検体4及び $^{13}\text{C O}_2$ 処理群のラットの検体1乃至検体4についての、同様な実験結果をまとめたものである。

[0144] [表3]

試料		血漿			心臓			肝臓			(μg/g) 骨格筋		
		¹² CO ₂	¹³ CO ₂	Total CO ₂	¹² CO ₂	¹³ CO ₂	Total CO ₂	¹² CO ₂	¹³ CO ₂	Total CO ₂	¹² CO ₂	¹³ CO ₂	Total CO ₂
非処置群	検体1	861	7.6	868.6	293.3	3.3	296.6	450.7	4.7	455.4	152	1.5	153.5
	検体2	965	8.4	973.4	268.6	3.1	271.7	280.4	3.1	283.5	317.4	3.5	320.9
	検体3	983.8	6.8	990.6	604.5	5.8	610.3	689.1	5.7	694.8	217.1	2.2	219.3
	検体4	859.2	5.8	865.0	424.9	4.3	429.2	529.6	4.7	534.3	318.9	3.1	322.0
	平均	917.25	7.15	924.4	397.83	4.1	402.0	487	4.6	492.0	251.35	2.58	253.9
¹³ CO ₂ ミス ト処置群	検体1	960	59	1018.8	657.6	29.4	687.0	706.5	29.1	735.6	207.4	8.9	216.3
	検体2	1306	70	1376.2	598.4	23.1	621.5	545.4	19.8	565.2	332.4	11.8	344.2
	検体3	774.6	38	812.5	608.3	19.8	628.1	482.8	14.4	497.2	561.4	20.0	581.4
	検体4	823.7	29	852.7	610.3	15	625.3	626.5	14.3	640.8	275.5	8.2	283.7
	平均	966	49.0	1015.05	619	21.8	640.5	590	19.4	609.7	344.18	12.2	356.4
処置/非処置		1.05	6.85	1.10	1.56	5.29	1.59	1.21	4.26	1.24	1.37	4.75	1.40

[0145] 表3において、非処理群の検体1乃至検体4の各組織で検出される $^{13}\text{C O}_2$ と $^{12}\text{C O}_2$ のそれぞれの平均値の比率は、略0.01（例えば、血漿の場合は、 $7.15/917.25=0.008$ ）と大気中と同程度の値を示したのに対して、 $^{13}\text{C O}_2$ 処理群での同じ比率（例えば、血漿の場合は、 $49.0/966=0.05$ ）は血漿で非処理群の6倍以上、心臓・肝臓・骨格筋では何れも非処理群の3倍以上に増加している。

[0146] そして、非処理群の検体1乃至検体4の各組織で検出される総 C O_2 の平均値と、 $^{13}\text{C O}_2$ 処理群の検体1乃至検体4の各組織で検出される総 C O_2 の平均値との比率については、血漿では1.10（ $1015.05/924.4$

）倍と軽度の増加であったが、心臓では1.59（640.5／402.0）倍にも増加しており、臓器内での代謝機能促進に寄与している可能性が考えられる。

[0147] 上記した分析結果は、 $^{13}\text{CO}_2$ を本発明による炭酸ガスミスト圧浴処理にてラットに皮膚吸収させると、ラットの体内臓器には $^{13}\text{CO}_2$ が効果的に分布していることを示しており、このことから、本発明による炭酸ガスミスト圧浴処理を用いれば炭酸ガスが生体の皮膚から生体内に有効に取り込まれることが証明された。

[0148] よって、炭酸ガスミストを生体の皮膚及び粘膜に所定の圧力（生体の内部圧以上）を加えて接触させることで、血液中に炭酸ガスが効率良く取り込まれて炭酸ガス濃度を高くすることで虚血領域を改善させることができる。

[0149] 以上詳しく説明したように、本炭酸ガスミスト圧浴方法においては、（a）炭酸ガスを液体に粉碎溶解させこれを霧状にした炭酸ガスミストを発生させるステップと、（b）生体を密閉状態に包囲する炭酸ガスミスト包囲手段内に、前記炭酸ガスミストを噴霧するステップと、（c）前記炭酸ガスミスト包囲手段内の気体が大気圧よりも高い所定値以上を維持するように、必要に応じて、前記ステップ（b）と並行して、前記炭酸ガスミスト包囲手段内の気体を外部に排出させるステップと、（d）前記炭酸ガスミスト包囲手段内に対する前記炭酸ガスミストの供給量を制御するステップを、少なくとも毎日20分間以上4週間継続する。これによって、炭酸ガスミストを生体の皮膚に直接又は被服を通して接触させることにより虚血領域の血行を改善又は促進するのである。

産業上の利用可能性

[0150] 本発明は、炭酸ガスを生体の皮膚及び粘膜に直接又は被服を通して接触させることにより虚血領域の血行を改善又は促進し、以って生体の虚血性疾患の予防、改善又は治療する炭酸ガスミスト圧浴方法及びその炭酸ガスミスト圧浴装置に関するであり、産業上の利用可能性を有する。

符号の説明

- [0151] 1 0、1 0 A 炭酸ガスミスト圧浴装置
- 1 1 炭酸ガスミスト発生供給手段
 - 1 1 1 炭酸ガス供給手段
 - 1 1 2 液体供給手段
 - 1 1 3 炭酸ガスミスト生成手段
 - 1 1 3' 炭酸ガスミスト生成手段（霧吹き式）
 - 1 1 4 液体貯留部
 - 1 1 5 A ノズル
 - 1 1 5 B 吸液管
 - 1 1 6 バッフル
 - 1 1 7 A 炭酸ガス供給部
 - 1 1 7 B 炭酸ガス導入部
 - 1 1 8 A 炭酸ガスミスト収集部
 - 1 1 8 B 炭酸ガスミスト導出部
 - 1 1 9 炭酸ガスミスト供給管
 - 1 2 圧浴用カバー
 - 1 2 1 カバー本体
 - 1 2 2 開閉部
 - 1 2 3 開口部
 - 1 2 4 供給口
 - 1 2 5 排出口
 - 1 3 濃度計
 - 1 4 制御装置
 - 1 4 1 流量バルブ
 - 1 4 2 切替弁
 - 1 5 0 圧浴用カバー
 - 1 5 1 圧力計
 - 2 0 炭酸ガスミスト圧浴装置

2 1 A、2 1 B 炭酸ガスミスト発生供給手段

2 2 馬用の圧浴用カバー

2 2 1 カバー本体

2 2 2 開閉部

2 2 3 開口部

2 2 4 A、2 2 4 B 供給口

2 2 5 排出口

3 0 炭酸ガスミスト圧浴装置

3 2 圧浴用カバー

3 2 1 カバー本体

3 2 2 上部

3 2 3 底部

3 2 4 側部

3 2 5 扉

3 2 5 A 取手

3 2 6 開口

3 2 7 漏出防止手段

3 2 7 A 開口

3 2 8 供給口

3 2 9 排出口

3 2 a 立位用の圧浴用カバー

3 2 b 仰臥用の圧浴用カバー

3 2 1 a、3 2 1 b カバー本体

3 2 5 a、3 2 5 b 扉

3 2 6 a、3 2 6 b 開口

3 2 7 a、3 2 7 b 漏出防止手段

3 2 8 a、3 2 8 b 供給口

3 2 9 a、3 2 9 b 排出口

3 3 0 椅子

請求の範囲

- [請求項1] 炭酸ガスを生体の皮膚及び粘膜に直接又は被服を通して接触させることにより虚血領域の血行を改善又は促進し、以って生体の虚血性疾患の予防、改善又は治療するための炭酸ガスミスト圧浴方法であって、
- (a) 炭酸ガスを液体に粉碎溶解させこれを霧状にした炭酸ガスミストを発生させるステップと、
 - (b) 生体を密閉状態に包囲する炭酸ガスミスト包囲手段内に、前記炭酸ガスミストを噴霧するステップと、
 - (c) 前記炭酸ガスミスト包囲手段内の気体が大気圧よりも高い所定値以上を維持するように、必要に応じて、前記ステップ (b) と並行して、前記炭酸ガスミスト包囲手段内の気体を外部に排出させるステップと、
 - (d) 前記炭酸ガスミスト包囲手段内に対する前記炭酸ガスミストの供給を少なくとも20分間継続するステップと、
- 前記ステップ (a) 乃至 (d) による炭酸ガスミストの圧浴を、少なくとも1日一回4週間継続するステップと、
- の各ステップを有することを特徴とする炭酸ガスミスト圧浴方法。
- [請求項2] 前記ステップ (d) は、前記炭酸ガスミスト包囲手段内における炭酸ガスミストの濃度を計測しつつ、前記炭酸ガスミストの濃度が所定値以上になるように前記炭酸ガスミストの供給を少なくとも20分間継続するステップ、であることを特徴とする請求項2に記載の炭酸ガスミスト圧浴方法。
- [請求項3] 前記ステップ (d) において、前記炭酸ガスミスト包囲手段内における気圧が所定値になるように前記炭酸ガスミストの供給量を制御する、ことを特徴とする請求項1又は2に記載の炭酸ガスミスト圧浴方法。
- [請求項4] 前記炭酸ガスミストは、その粒径が10 μ メートル以下の炭酸ガス

ミストを含有することを特徴とする請求項2に記載の炭酸ガスミスト圧浴方法。

[請求項5] 前記ステップ(d)における前記炭酸ガスミスト包囲手段内における炭酸ガスミストの濃度は60%以上である、ことを特徴とする請求項4に記載の炭酸ガスミスト圧浴方法。

[請求項6] 前記ステップ(c)における前記炭酸ガスミスト包囲手段内の気圧は、1.01乃至2.5気圧であることを特徴とする請求項3に記載の炭酸ガスミスト圧浴方法。

[請求項7] 炭酸ガスを生体の皮膚及び粘膜に直接又は被服を通して接触させることにより虚血領域の血行を改善又は促進し、以って生体の虚血性疾患の予防、改善又は治療するための炭酸ガスミスト圧浴装置であって、

生体を密閉状態に包囲するための炭酸ガスミスト包囲手段と、

炭酸ガスを液体に粉碎溶解させこれを霧状にした炭酸ガスミストを発生させ、当該炭酸ガスミストを前記炭酸ガスミスト包囲手段内に供給する炭酸ガスミスト発生供給手段と、

前記炭酸ガスミスト包囲手段内の気体を外部に排出させるための排出手段と、

前記炭酸ガスミスト包囲手段内の気体を外部に排出させつつ、必要に応じて、前記炭酸ガスミスト包囲手段内の気圧が所定値範囲内になるように前記炭酸ガスミスト発生供給手段からの前記炭酸ガスミストの供給量を制御する制御手段と、

の各手段を備えたことを特徴とする炭酸ガスミスト圧浴装置。

[請求項8] 前記炭酸ガスミスト包囲手段内における炭酸ガスミストの濃度を計測する濃度検知手段と、をさらに備え、

前記制御手段は、前記炭酸ガスミストの濃度が所定値以上になるように前記炭酸ガスミストの供給量を制御する、ことを特徴とする請求項7に記載の炭酸ガスミスト圧浴装置。

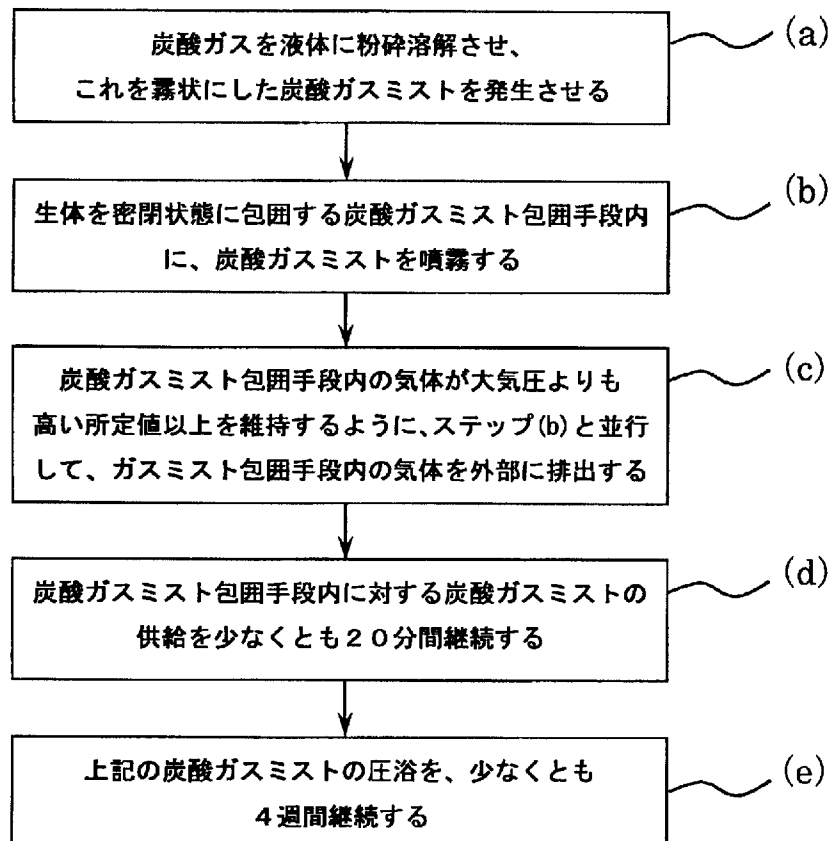
- [請求項9] 前記炭酸ガスミスト包囲手段内における気圧を計測する気圧検知手段と、をさらに備え、
前記制御手段は、前記炭酸ガスミスト包囲手段内における気圧が所定値になるように前記炭酸ガスミストの供給量を制御する、ことを特徴とする請求項8に記載の炭酸ガスミスト圧浴装置。
- [請求項10] 前記炭酸ガスミスト発生供給手段は、その粒径が10 μ メートル以下の炭酸ガスミストを発生させることを特徴とする請求項7に記載の炭酸ガスミスト圧浴装置。
- [請求項11] 前記制御手段は、前記炭酸ガスミスト包囲手段内における炭酸ガスミストの濃度を60%以上に維持することを特徴とする請求項7に記載の炭酸ガスミスト圧浴装置。
- [請求項12] 前記制御手段は、前記炭酸ガスミスト包囲手段内の気圧を、1.0乃至2.5気圧に維持することを特徴とする請求項9に記載の炭酸ガスミスト圧浴装置。
- [請求項13] 前記炭酸ガスミスト包囲手段は、前記炭酸ガスミストを内部に封印する空間を形成する、折り畳み可能なカバータイプ、袋体タイプ又は固定据置型のボックスタイプの何れかの包囲手段である請求項7に記載の炭酸ガスミスト圧浴装置。
- [請求項14] 前記炭酸ガスミスト包囲手段は、
その内部に前記炭酸ガスミストを導入するための、内部に逆止弁を有する炭酸ガスミスト供給口と、
内部の気体を排出するための排出口と、
生体が入り出すための出入口と、前記ボックス本体から生体の頭部を露出させるための開口と、
を備えることを特徴とする請求項13に記載の炭酸ガスミスト圧浴装置。
- [請求項15] 前記開口には、当該開口と生体の隙間からの炭酸ガスミストの漏出を防ぐ漏出防止手段を設けることを特徴とする請求項14に記載の炭

酸ガスミスト圧浴装置。

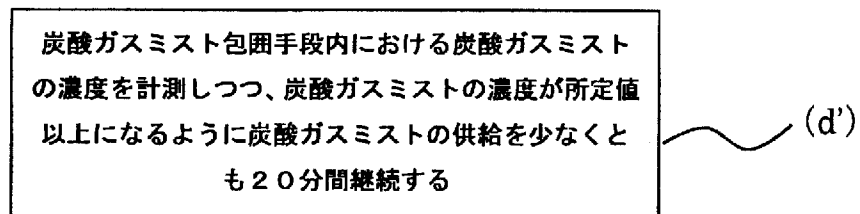
[請求項16] 前記ボックスタイプの炭酸ガスミスト包囲手段は、その内部に椅子を備えることを特徴とする請求項13に記載の炭酸ガスミスト圧浴装置。

[図1]

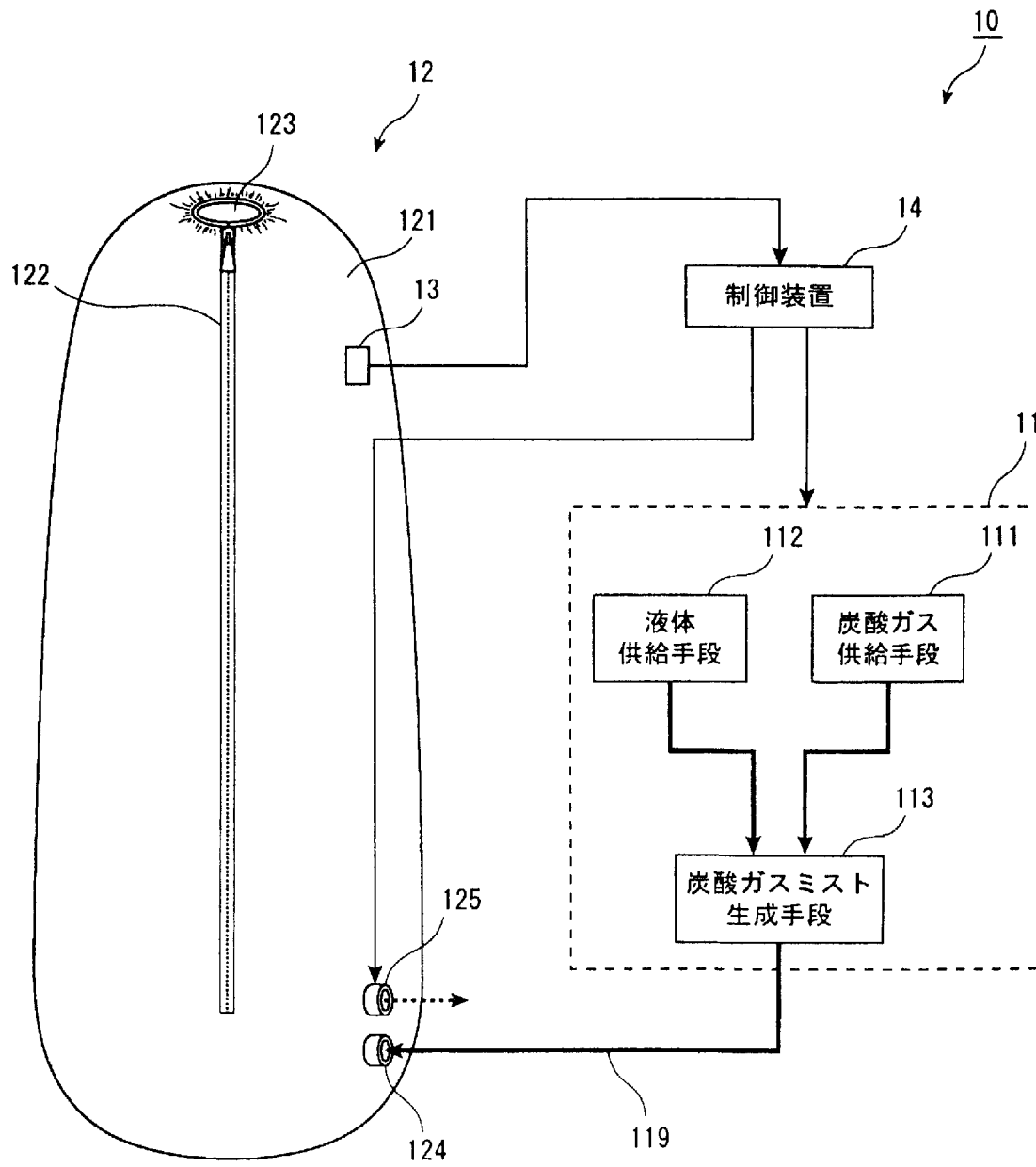
(A)



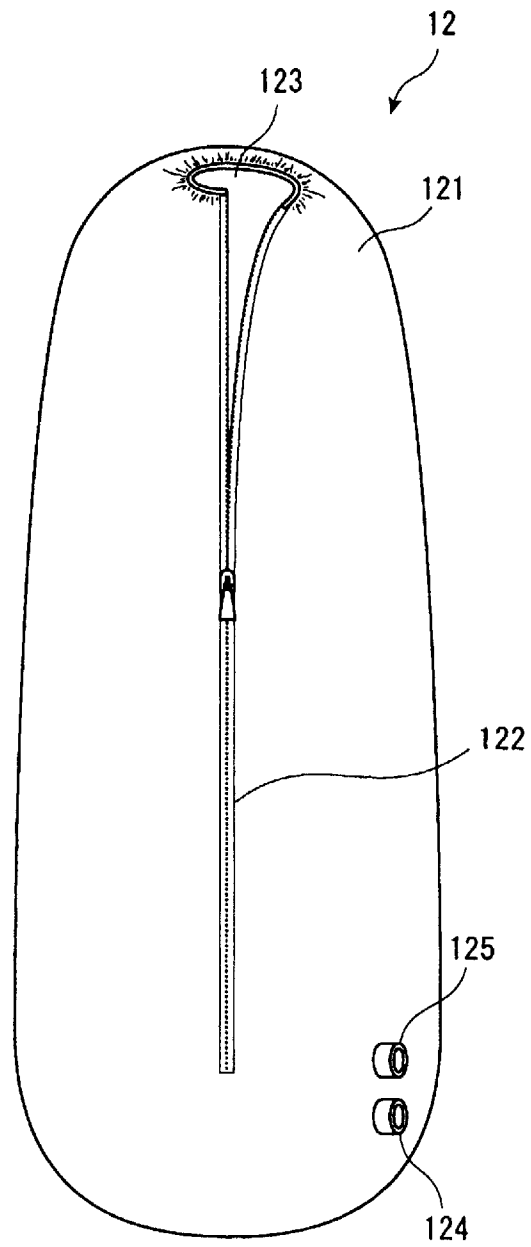
(B)



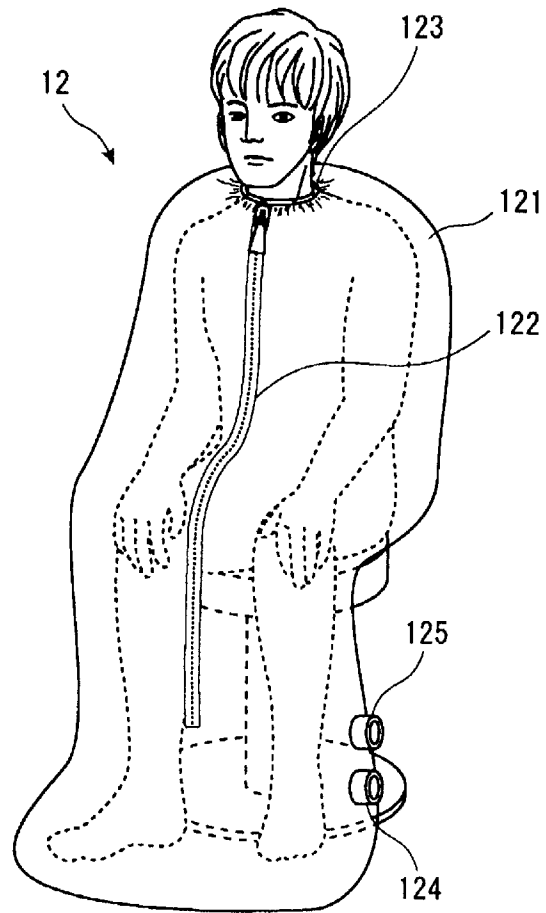
[図2]



[図3]

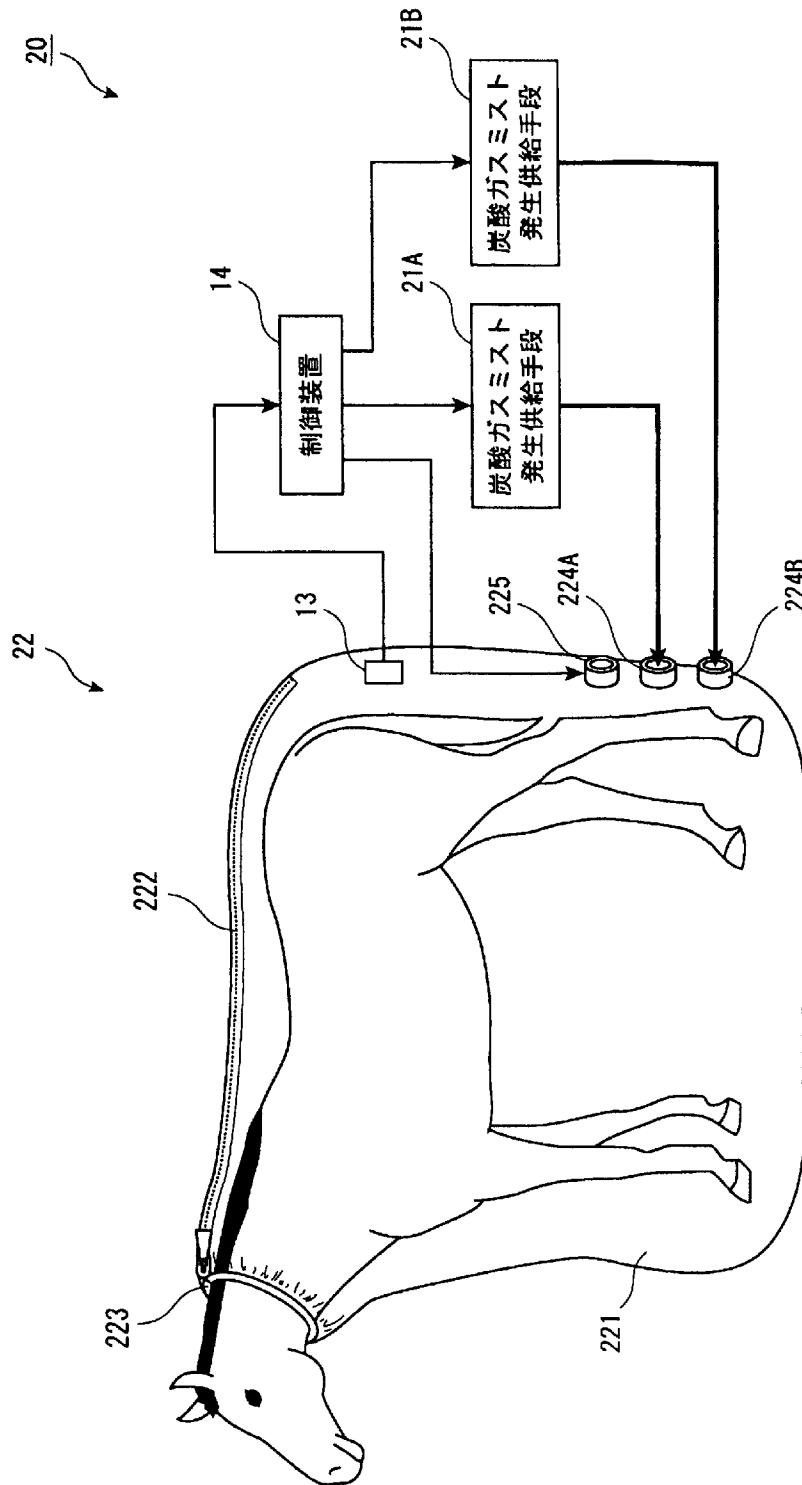


[図4]

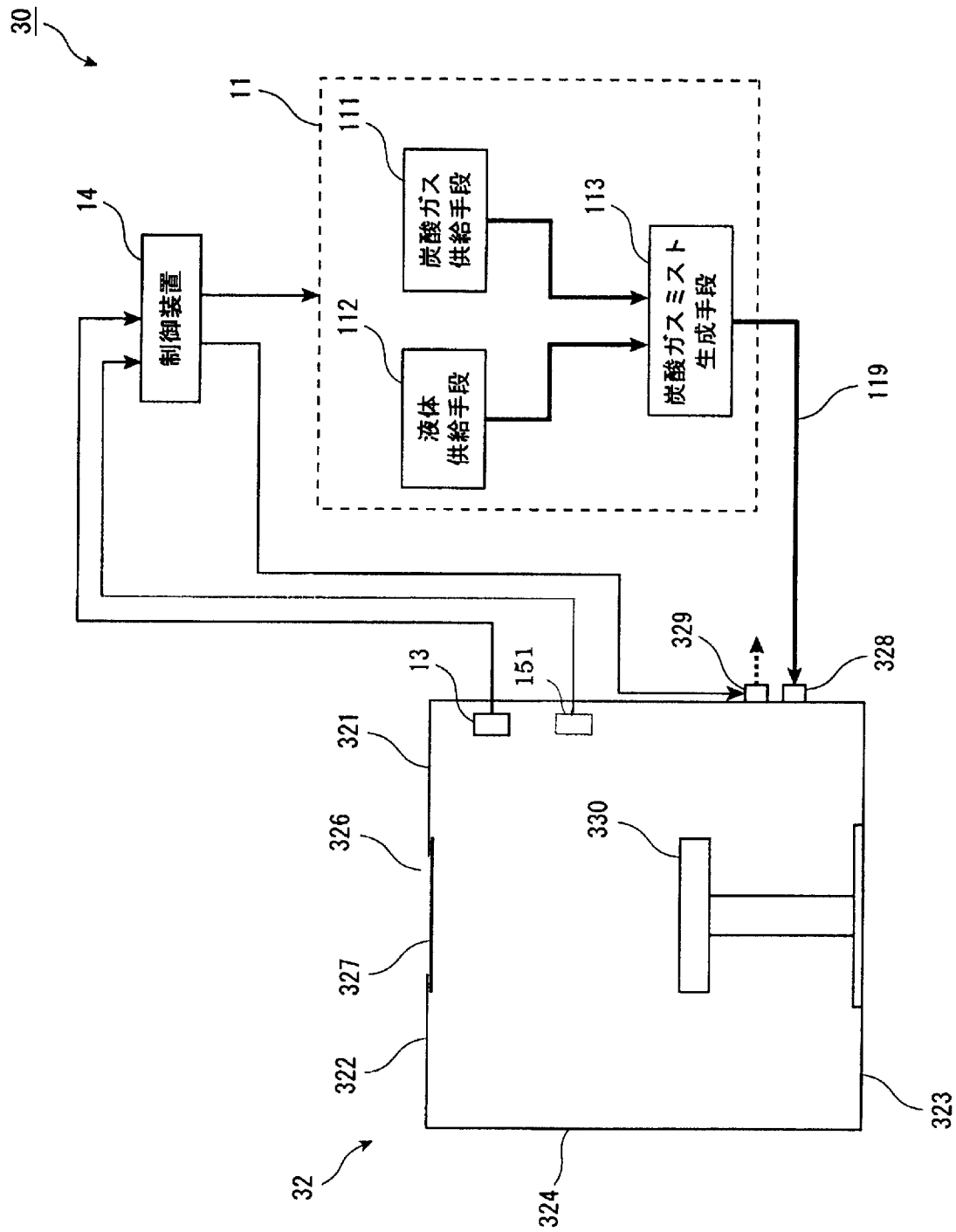


[illegible]

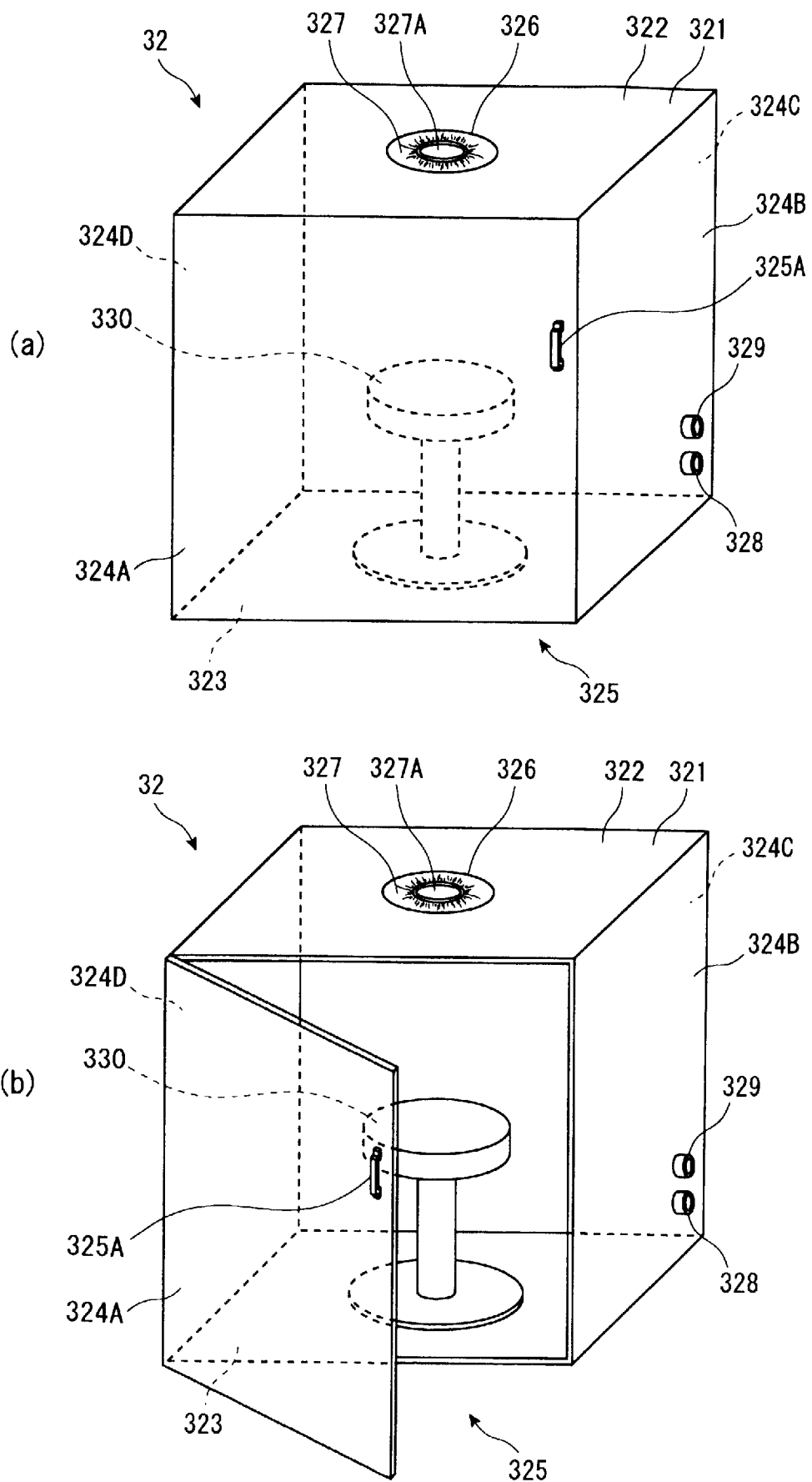
[図6]



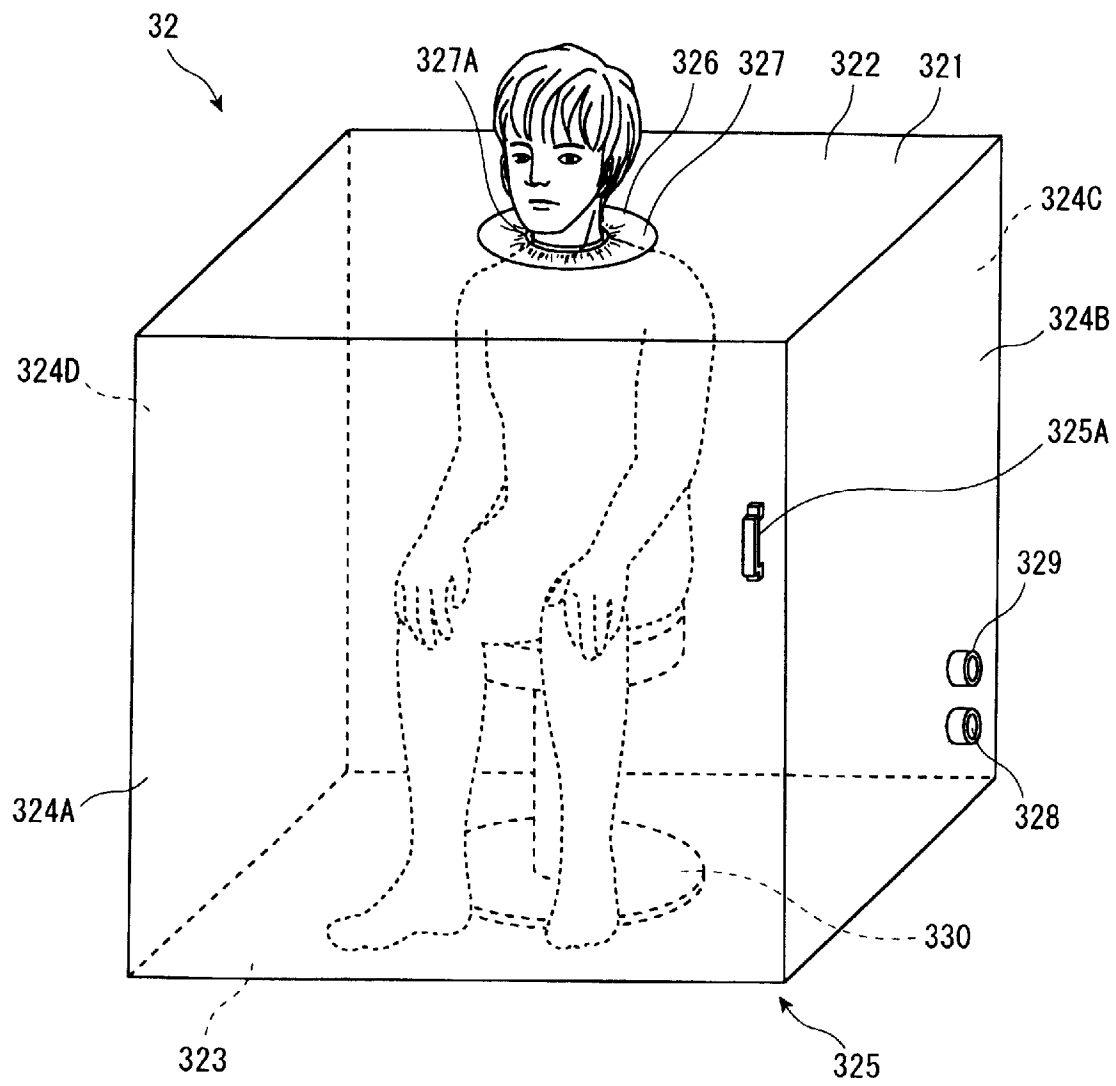
[図7]



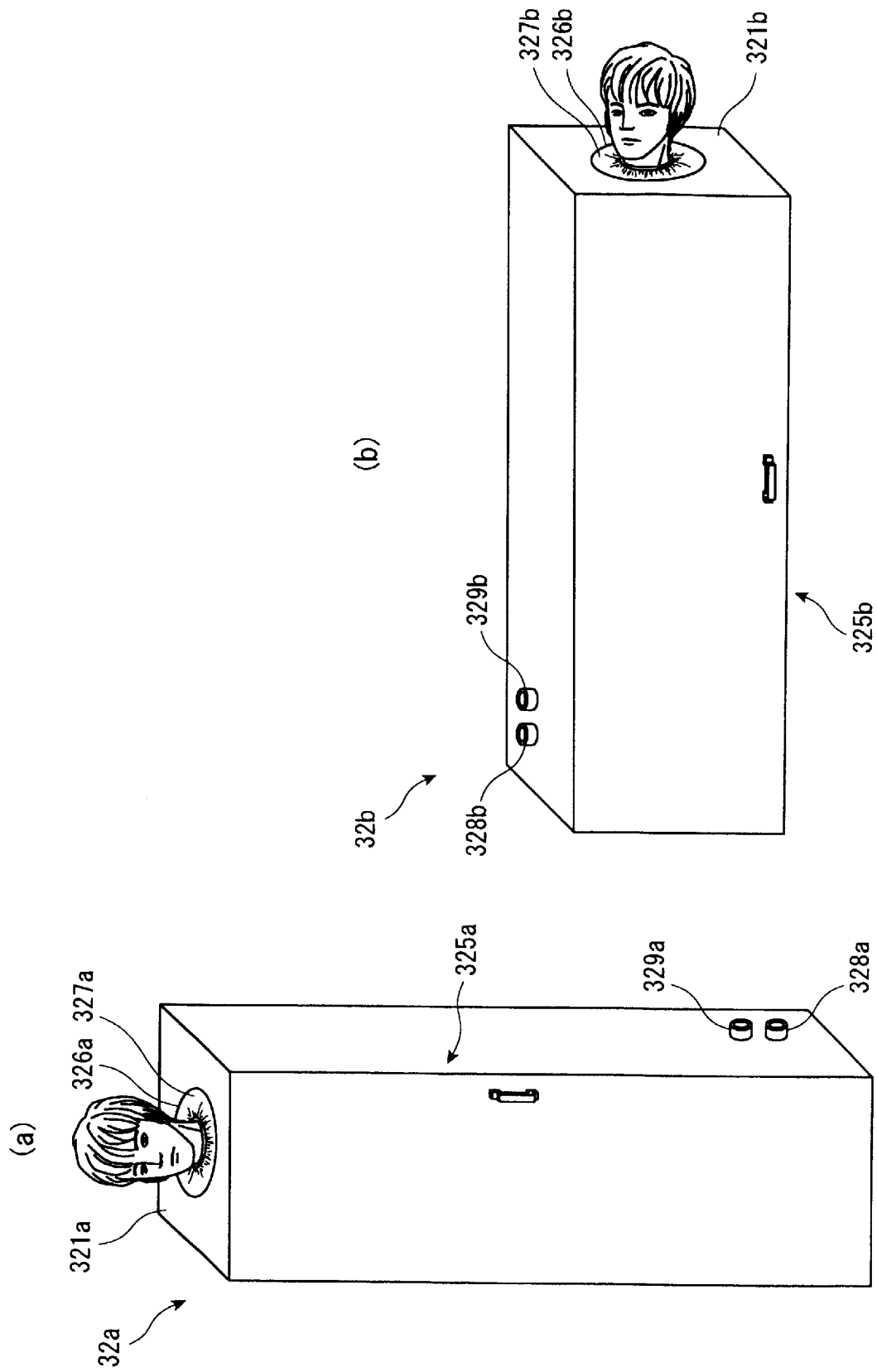
[図8]



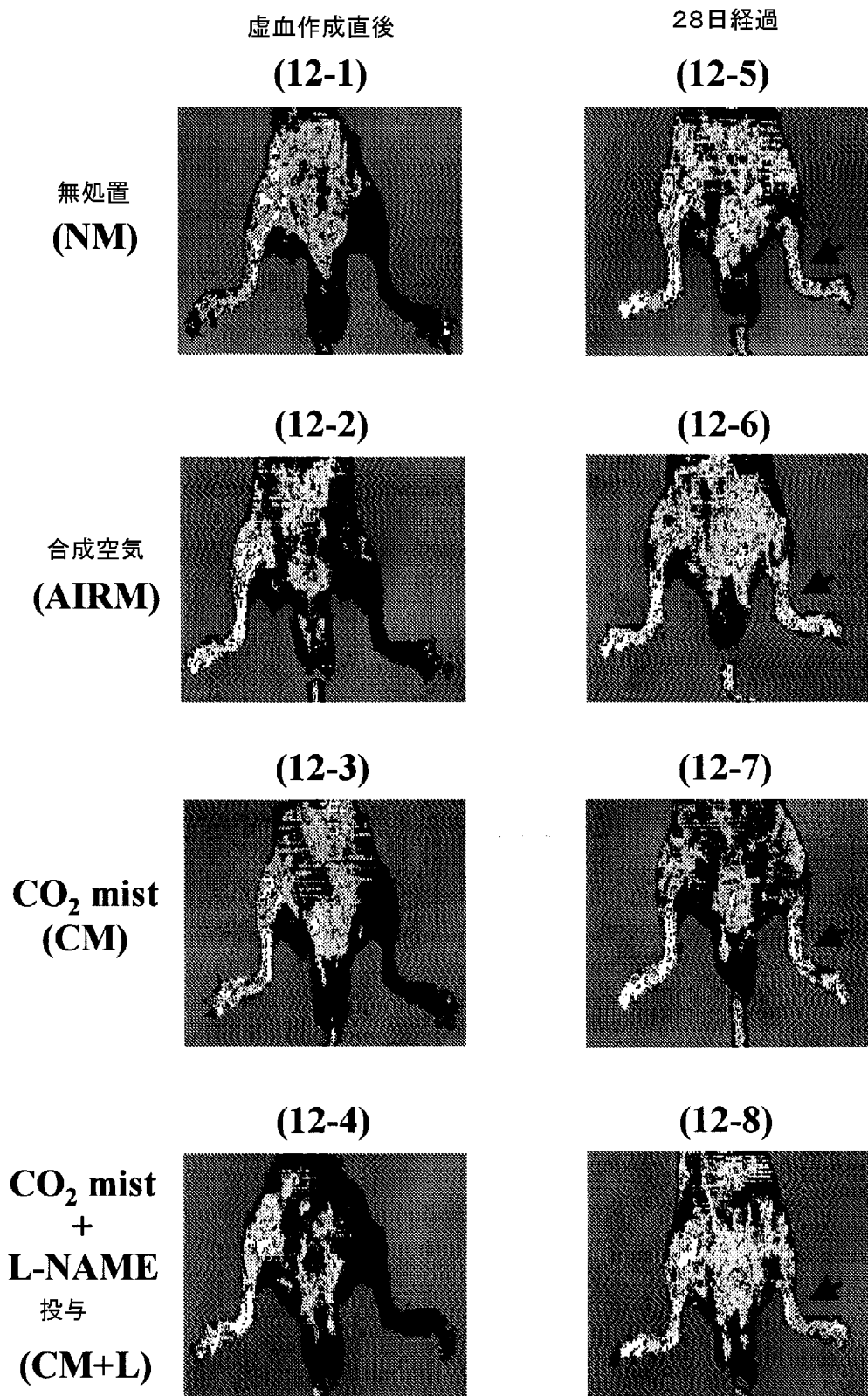
[図9]



[図10]



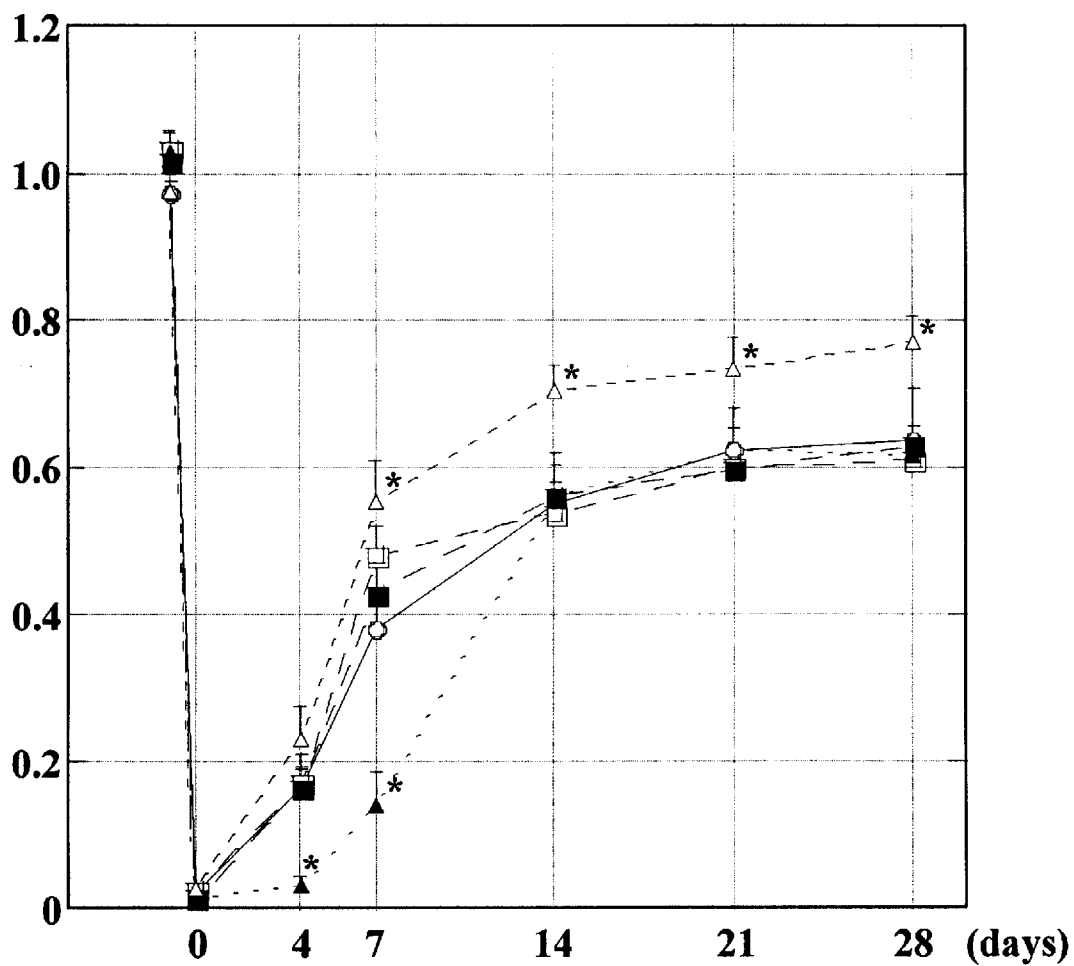
[図11]



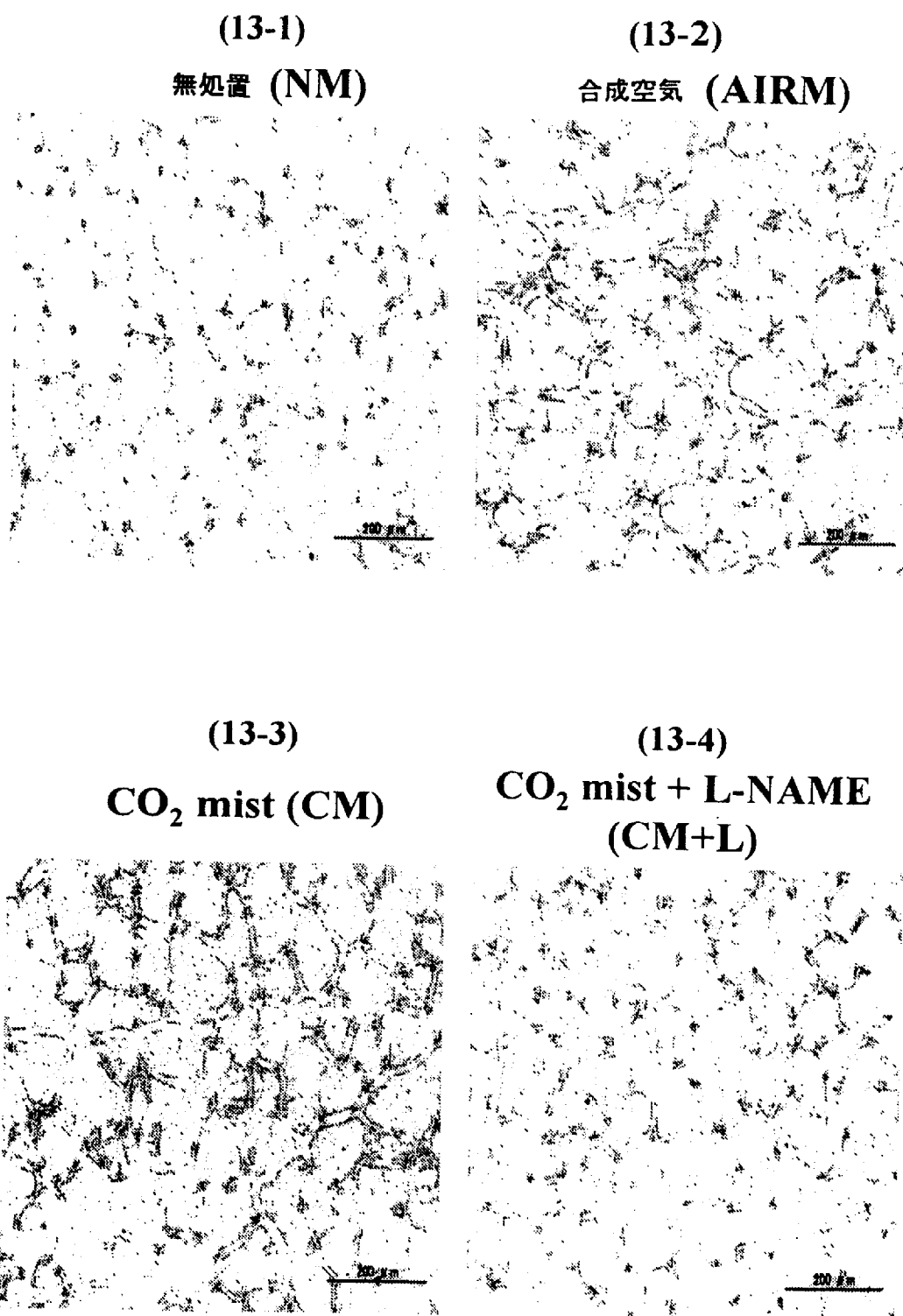
[図12]

- 無処置 (NM): n=14
 -□- air mist (AIRM): n=15
 -■- O₂ 100% mist: n=9
 --△-- CO₂ 100% mist (CM): n=18
 ----▲---- CO₂ mist + L-NAME (CM+L): n=8
 (1mg/ml in drinking water)

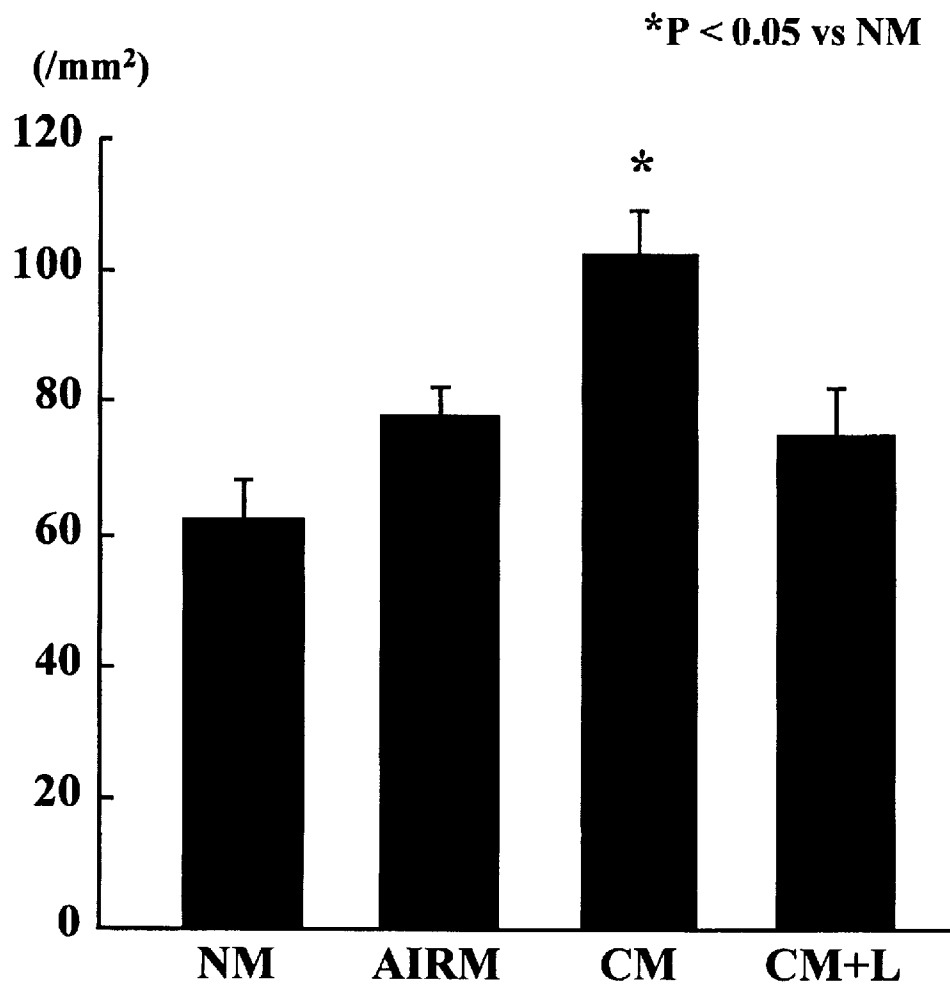
* p<0.05 vs control at each time point



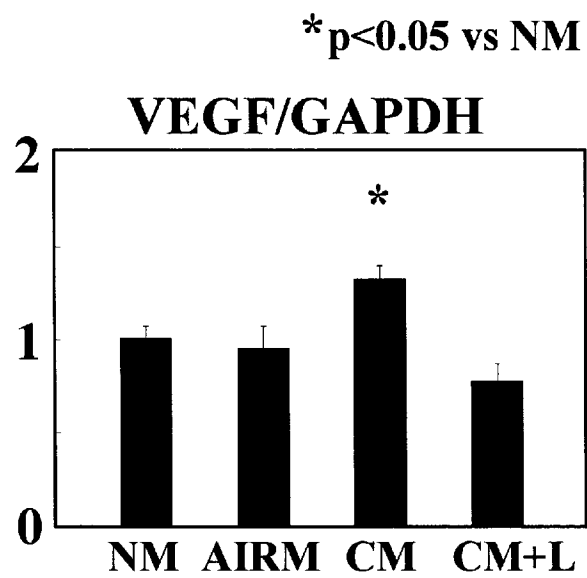
[図13]



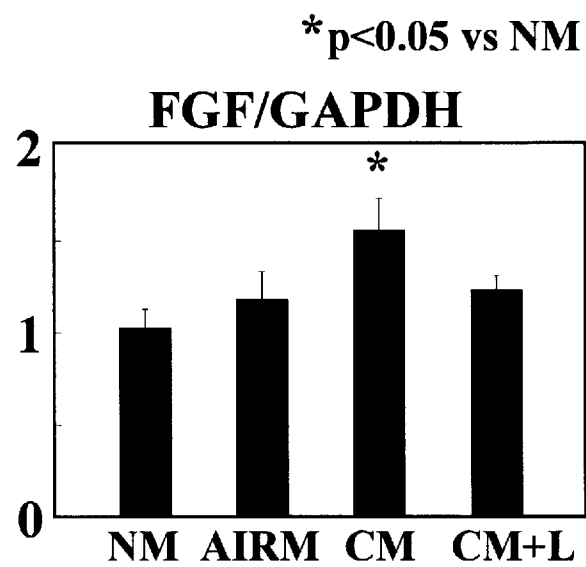
[図14]



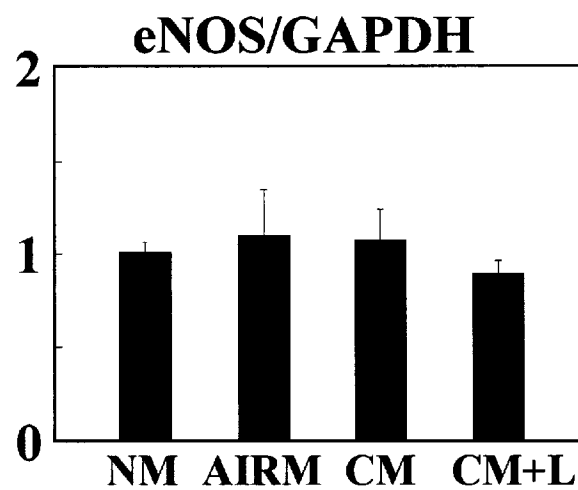
[図15]



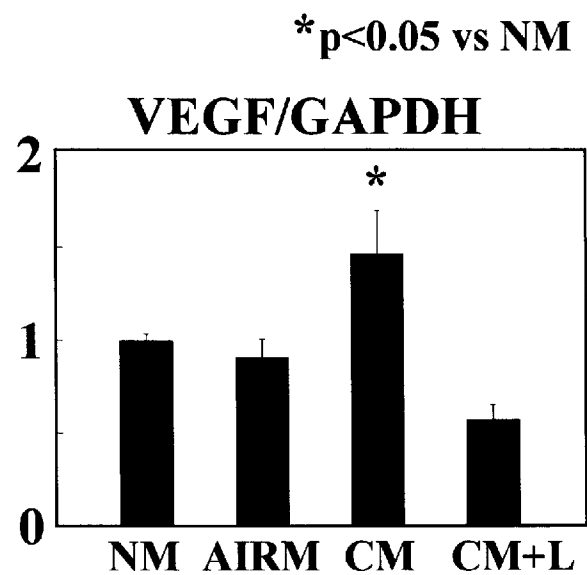
[図16]



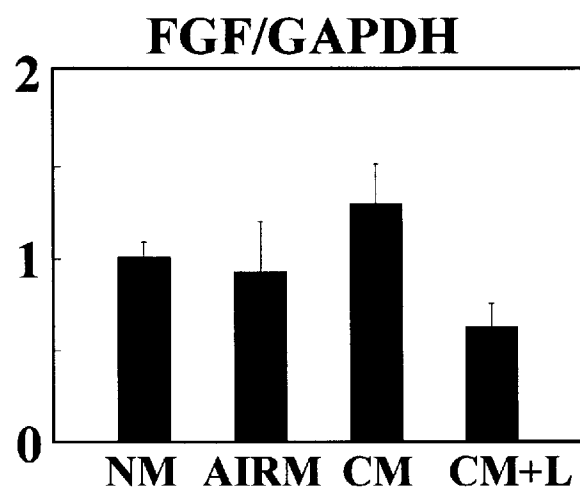
[図17]



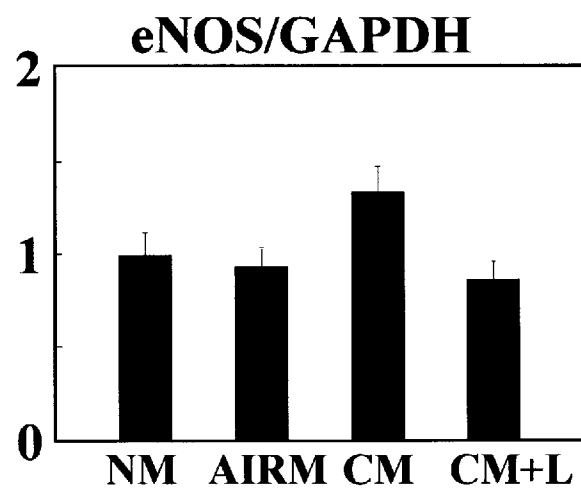
[図18]



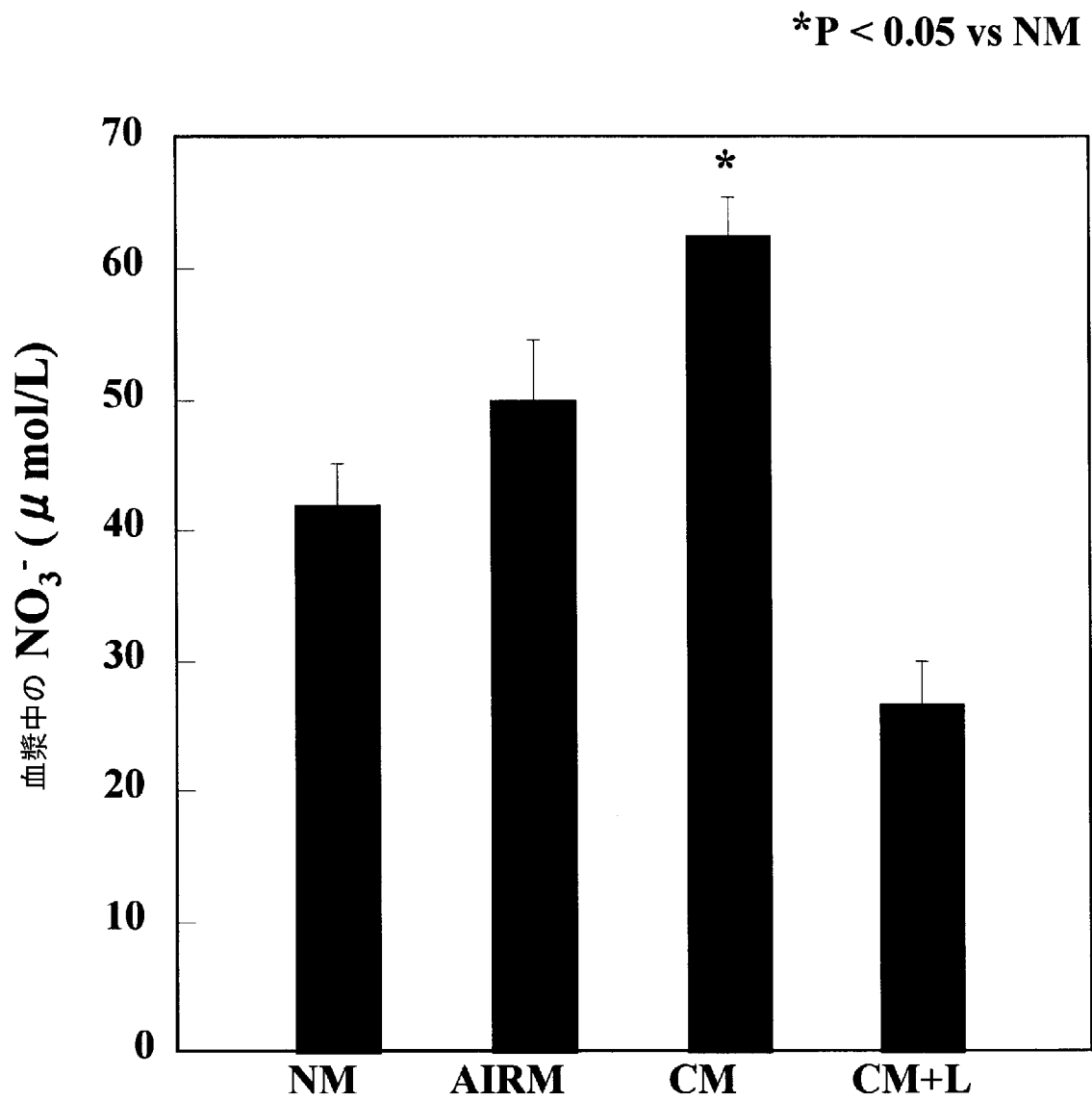
[図19]



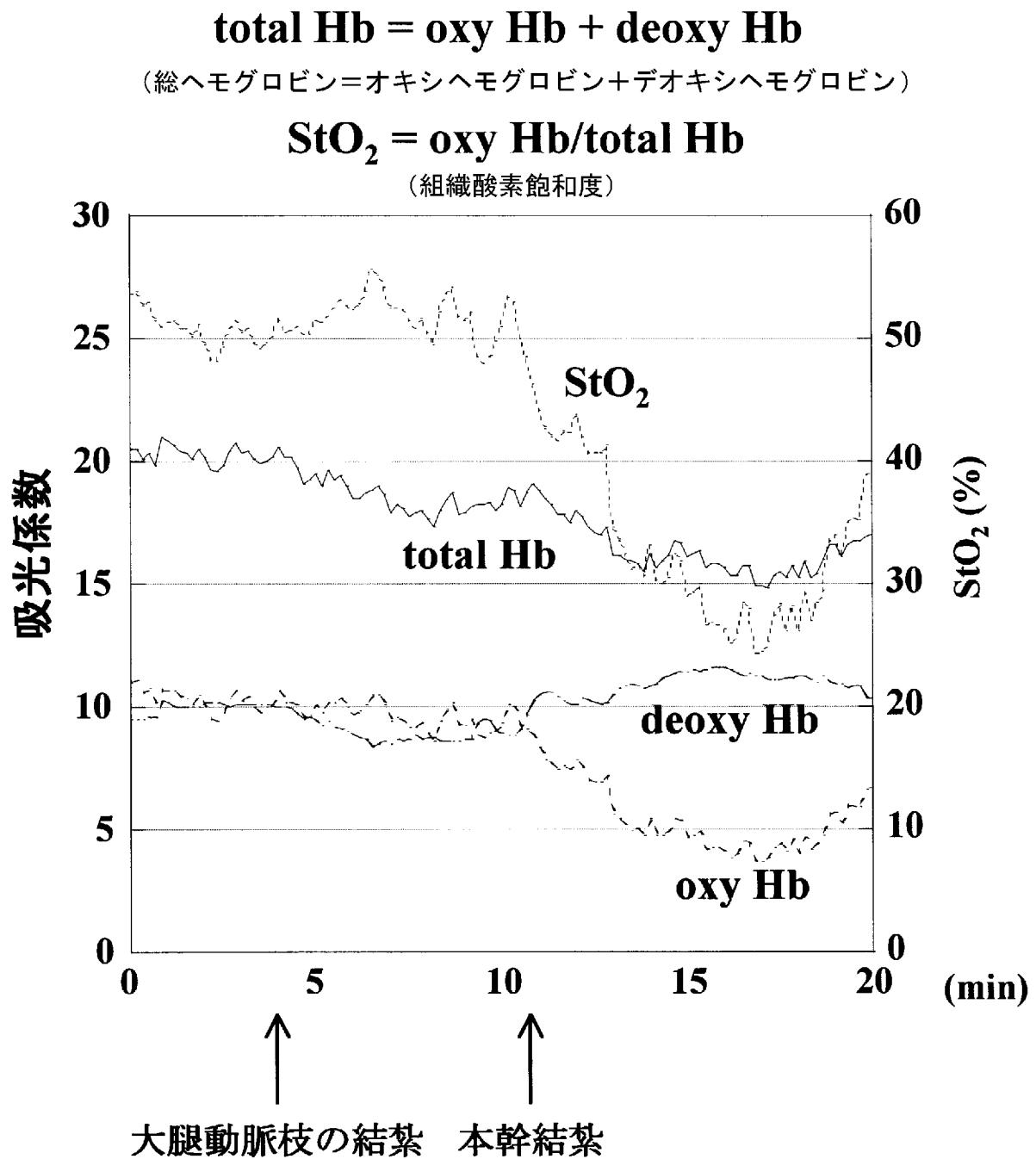
[図20]



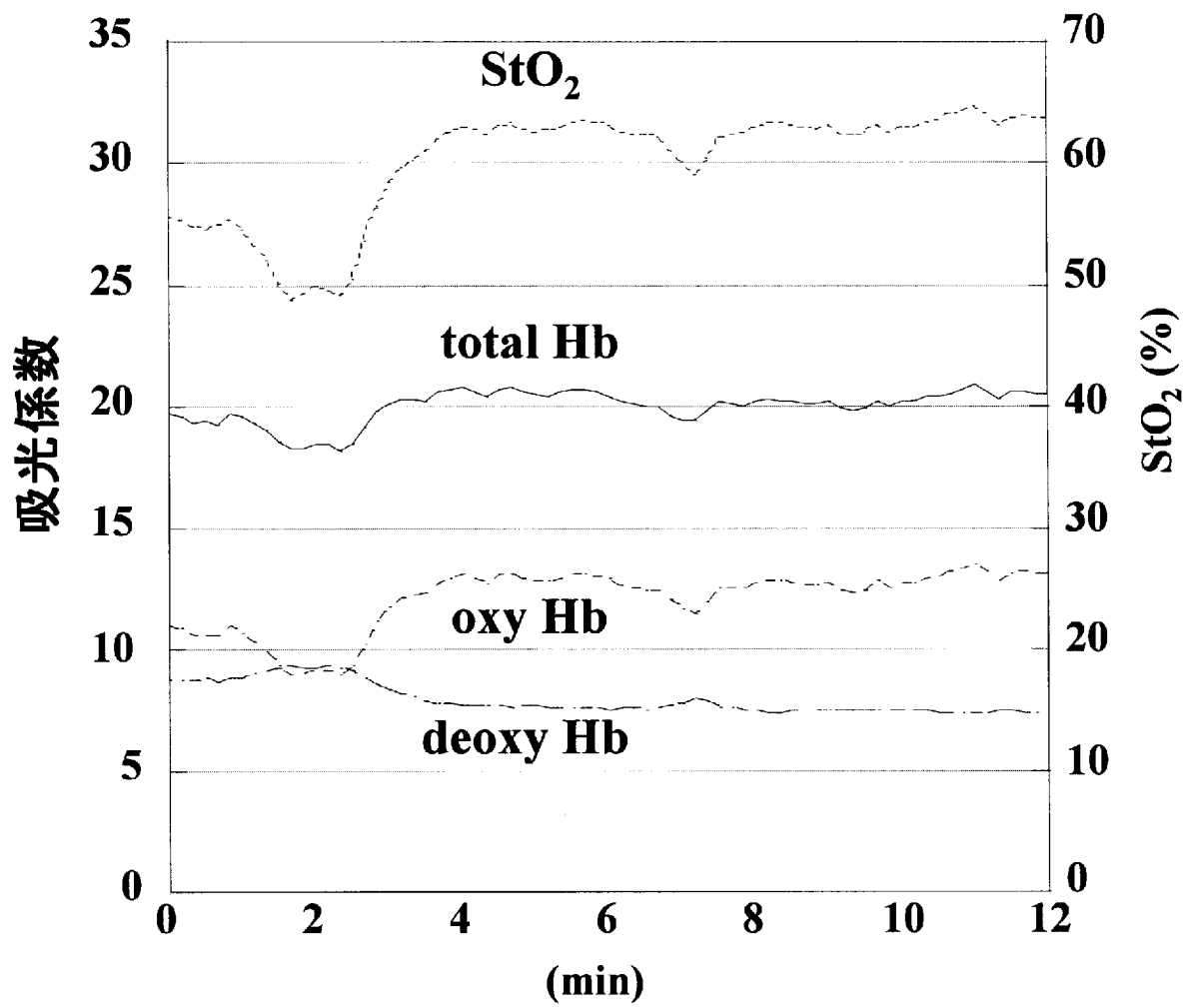
[図21]



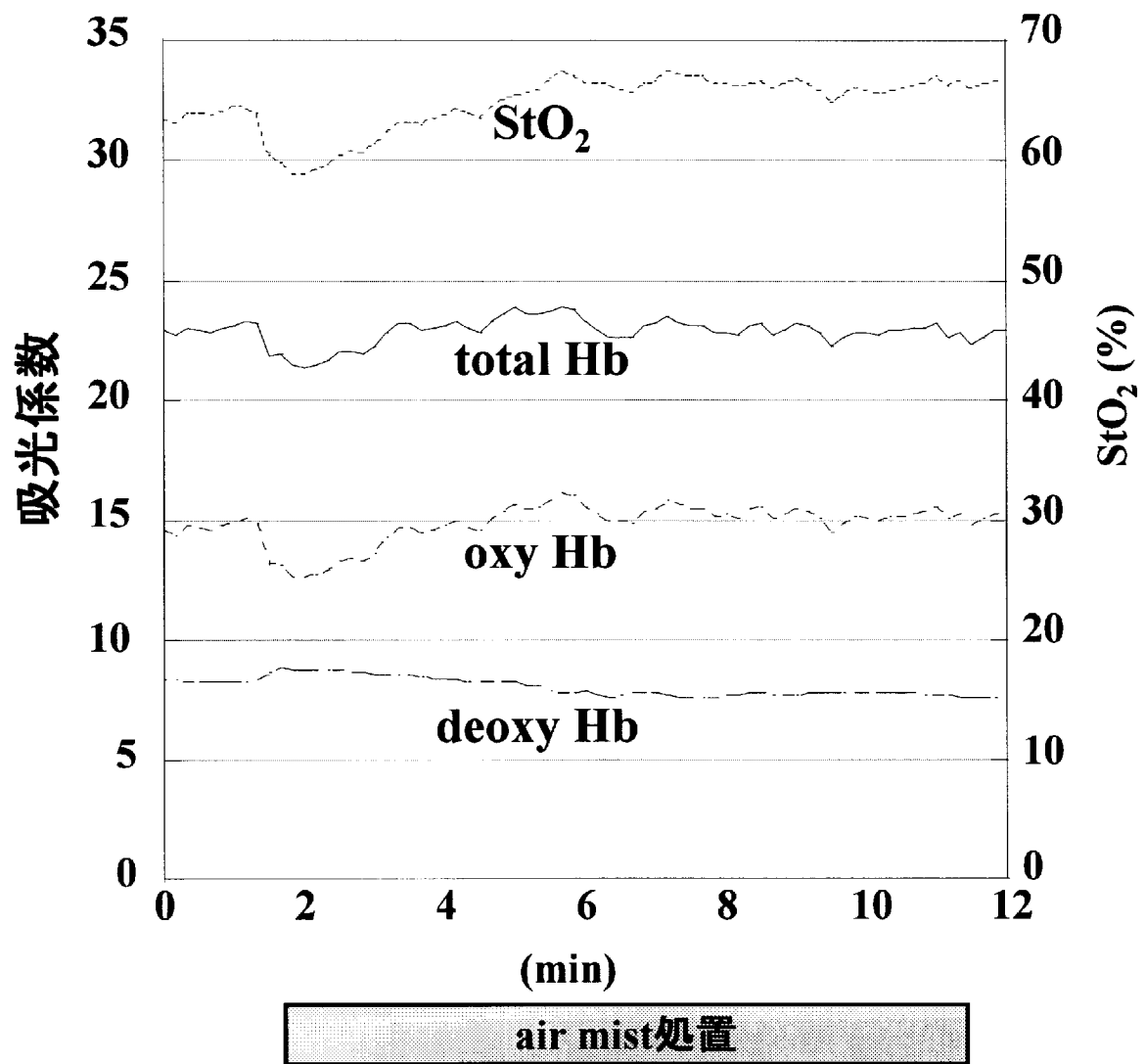
[図22]



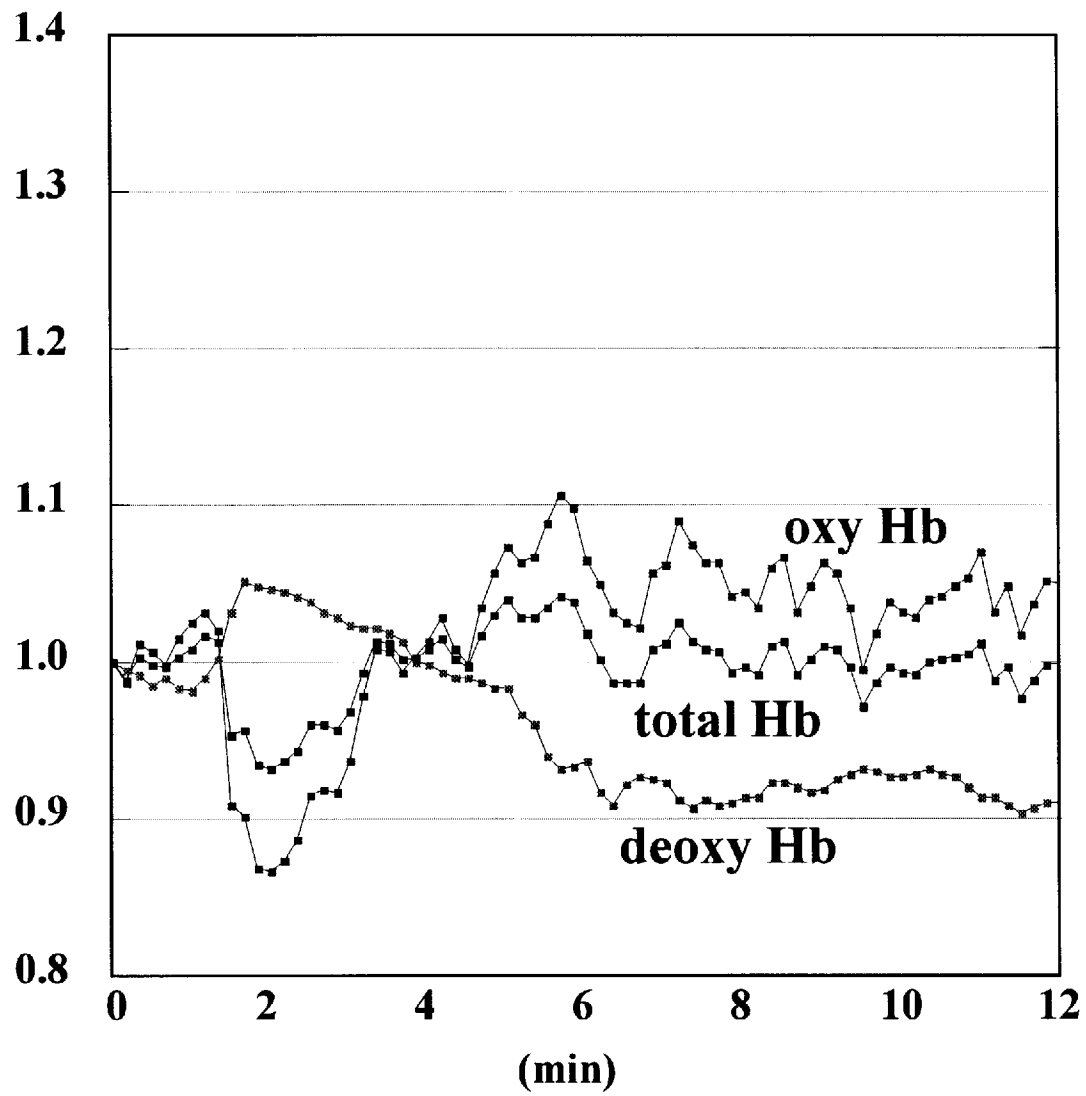
[図23]

CO₂ mist 処置

[図24]

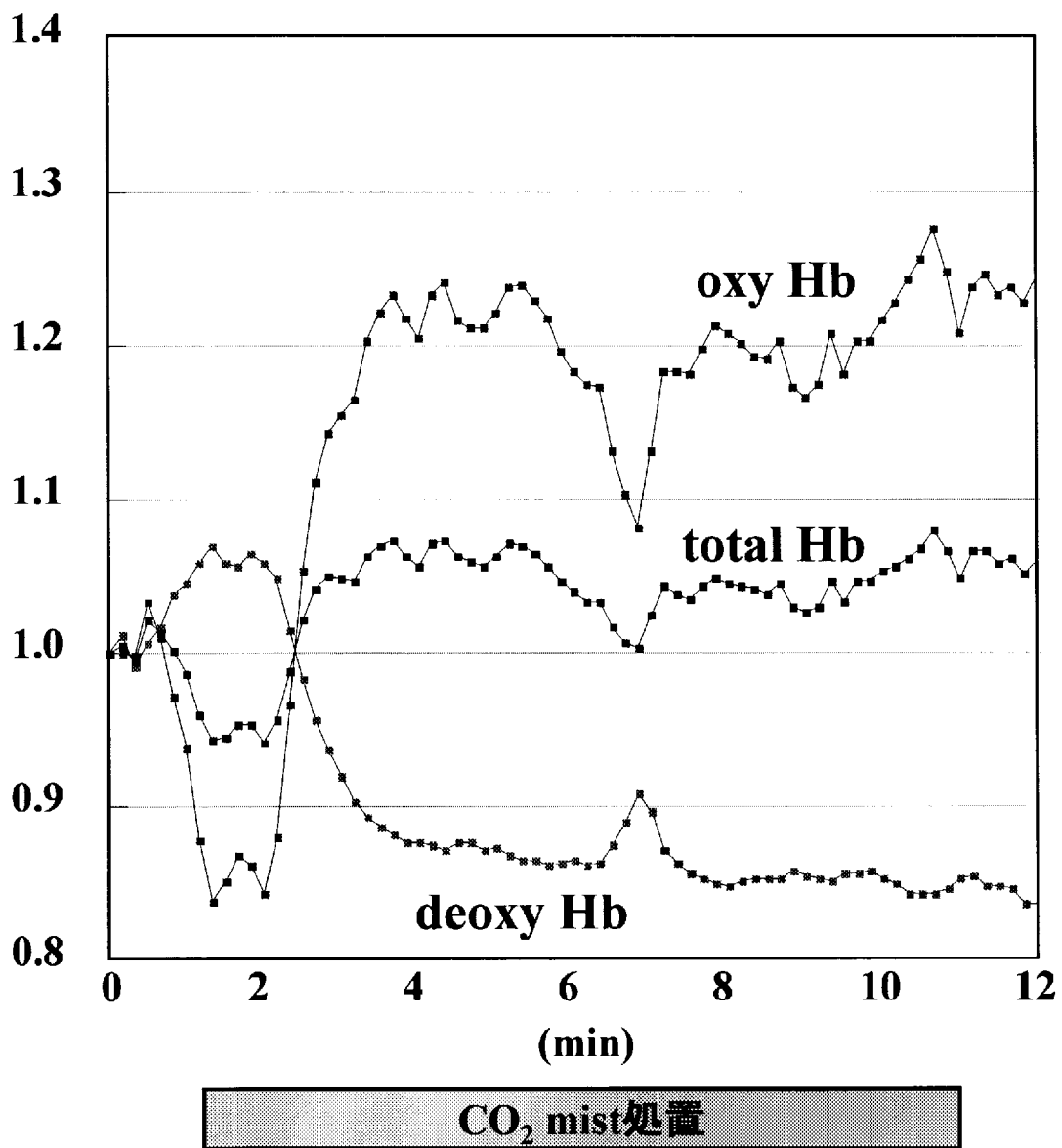


[図25]



air mist処置

[図26]



[図27]

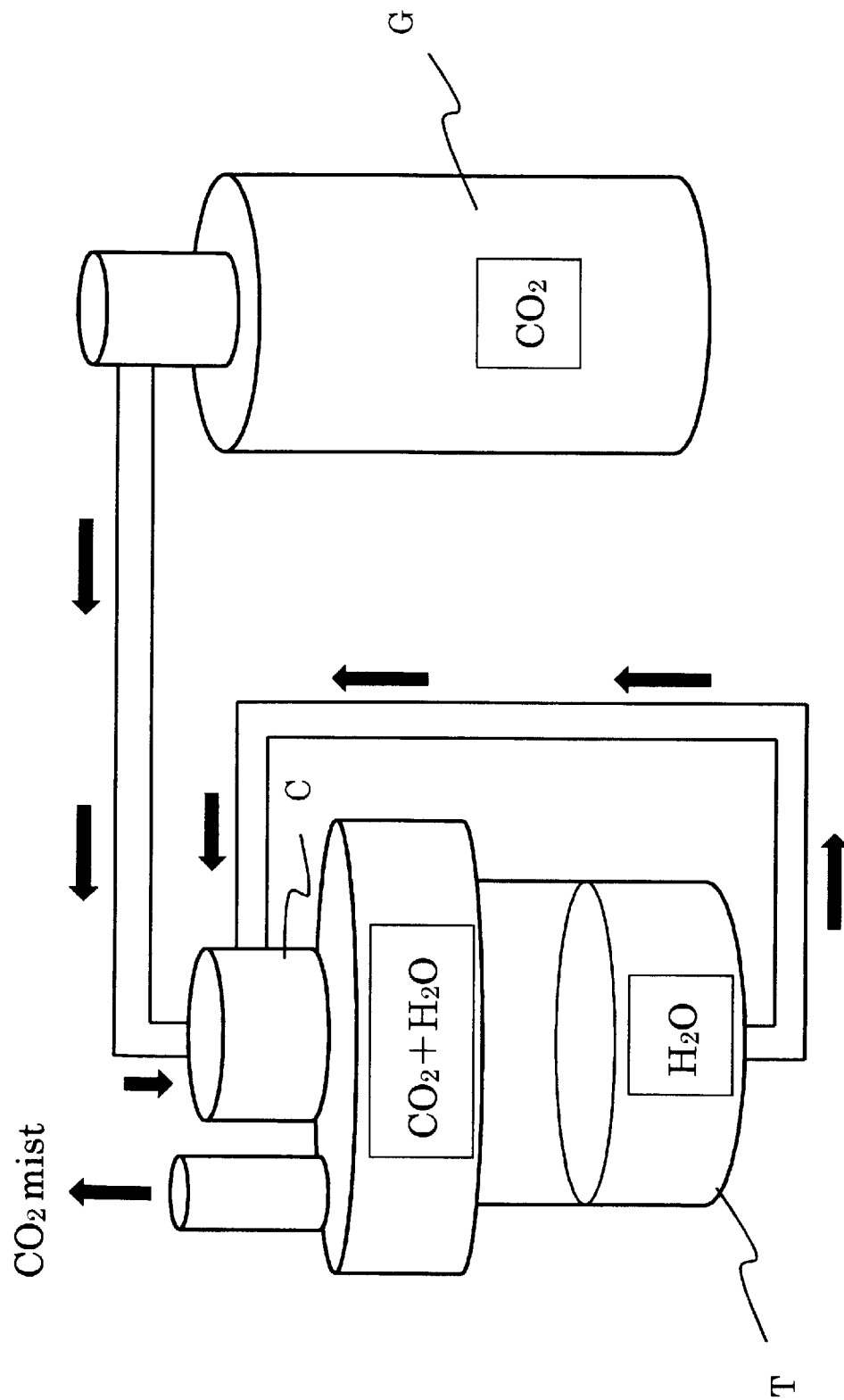
	処置	CO ₂ mist
114	-	-
115	-	+
116	+	-
117	+	+



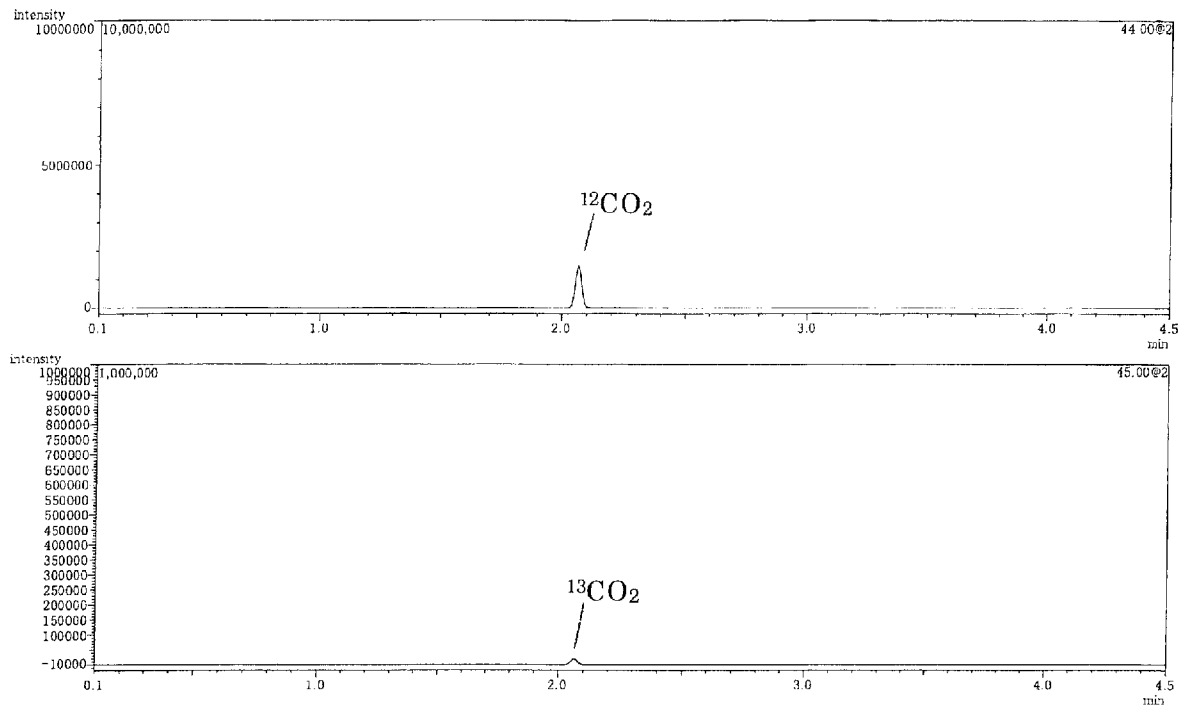
同化されたタンパク質：278

116/114 (処置で ↑) > 120% 108 120%-150% 30 150%-200% 30 200%-300% 34 > 300% 14	117/116 > 120% 3 (CO₂ mist で上昇) タンパク質1に結合のPDGFA 熱ショックタンパク質1 スタスミン1 < 80% 13 (CO₂ mist で下降) ビメンチン 熱ショックタンパク質1 (ベータ版) アネキシンA2 : :
116/114 (処置で ↓) < 80% 72 75%-80% 32 50%-75% 39 < 50% 1	117/116 > 120% 14 (CO₂ mist で上昇) タンパク質キナーゼ阻害剤 (アルファ版) パルプアルブミン トロポミオシン2 (ベータ版) 脂肪酸結合タンパク質3 : : < 80% 2 (CO₂ mist で下降) BTK阻害剤 キネシンファミリーメンバー20A

[図28]

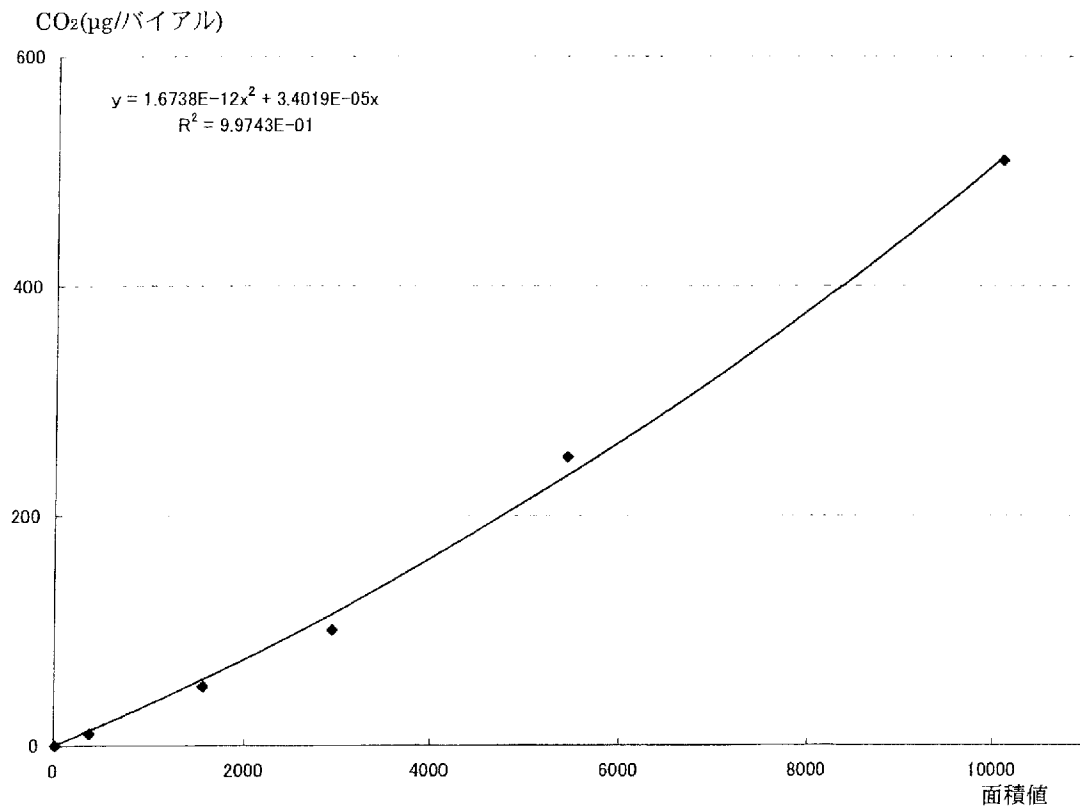


[図29]



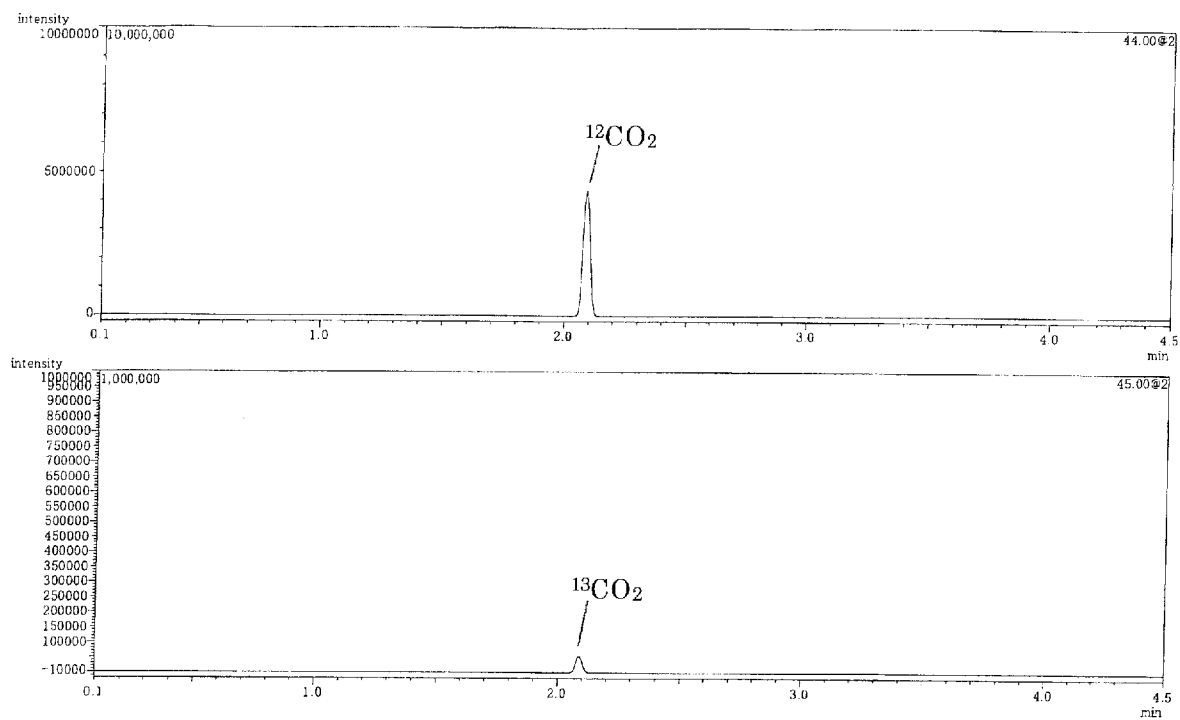
CO₂ 標準溶液(試料中濃度 500 $\mu\text{g/g}$ 相当)の EIC クロマトグラム【 m/z 44(上段)、 m/z 45(下段)】

[図30]



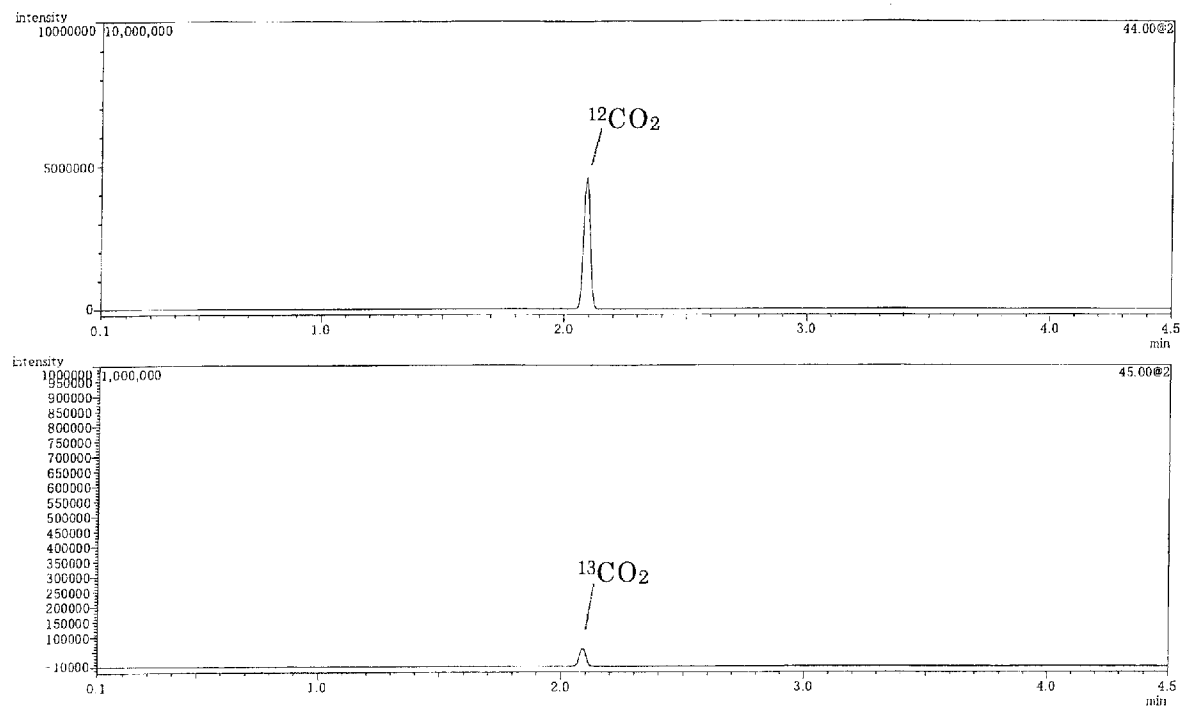
$^{12}\text{CO}_2$ 検量線 (m/z 44)

[図31]



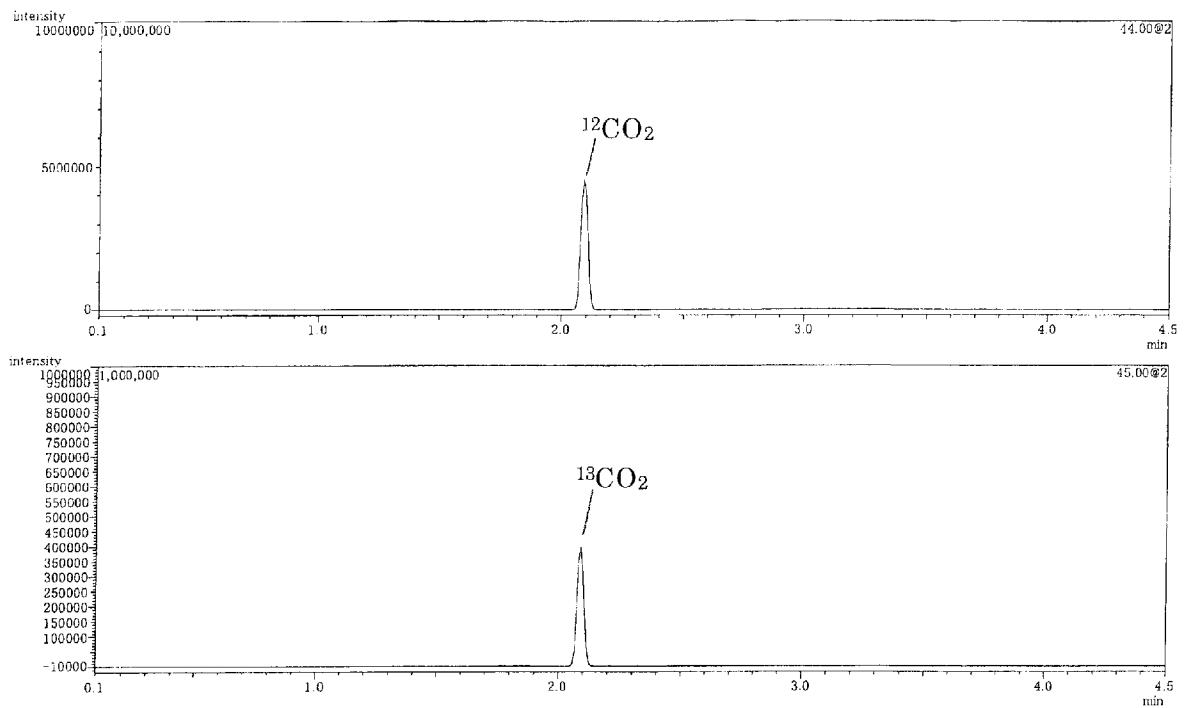
試料：血漿(No.1) 非処理 の EIC クロマトグラム 【 m/z 44(上段)、 m/z 45(下段)】

[図32]



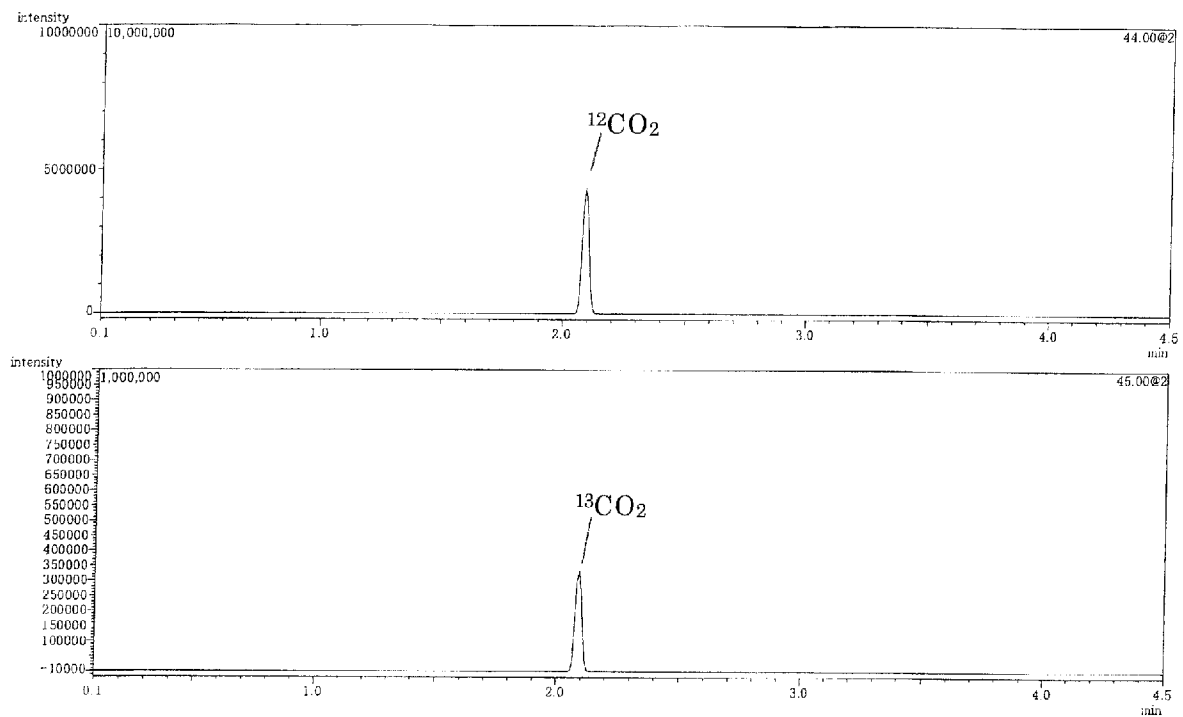
試料：血漿(No.2) 非処理 の EIC クロマトグラム 【 m/z 44(上段)、 m/z 45(下段)】

[図33]



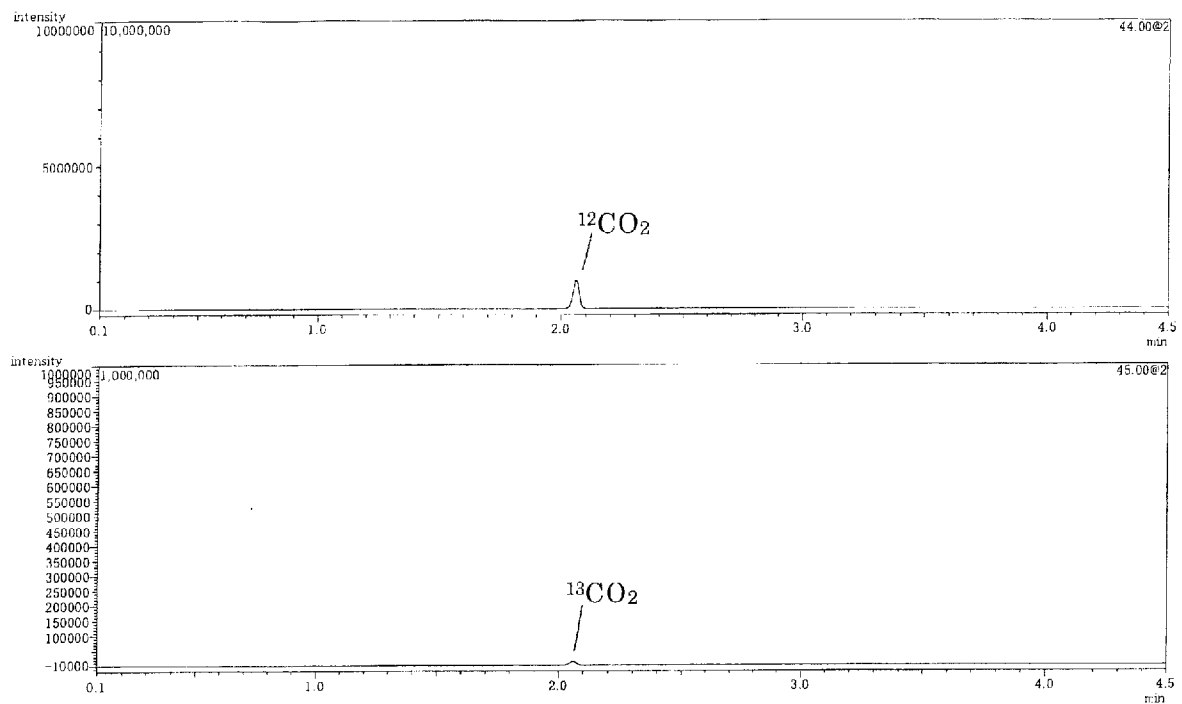
試料：血漿(No.1) $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理 の EIC クロマトグラム 【 m/z 44(上段)、 m/z 45(下段)】

[図34]



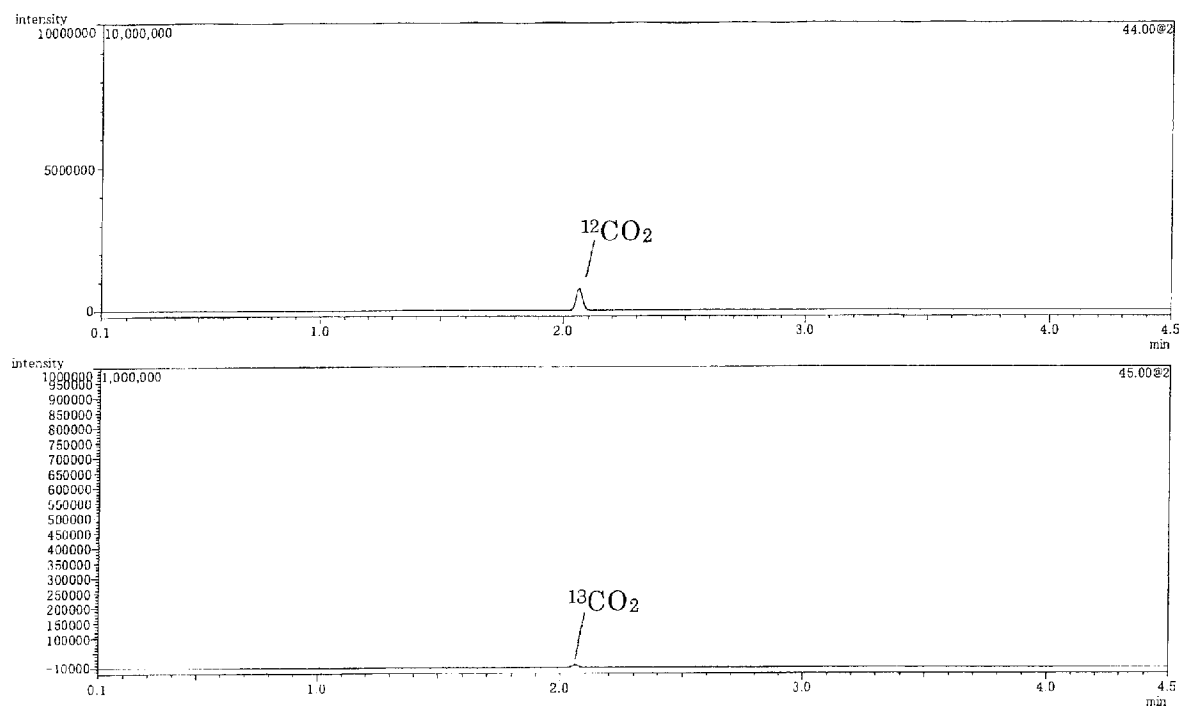
試料：血漿(No.2) $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理 の EIC クロマトグラム 【 m/z 44(上段)、 m/z 45(下段)】

[図35]



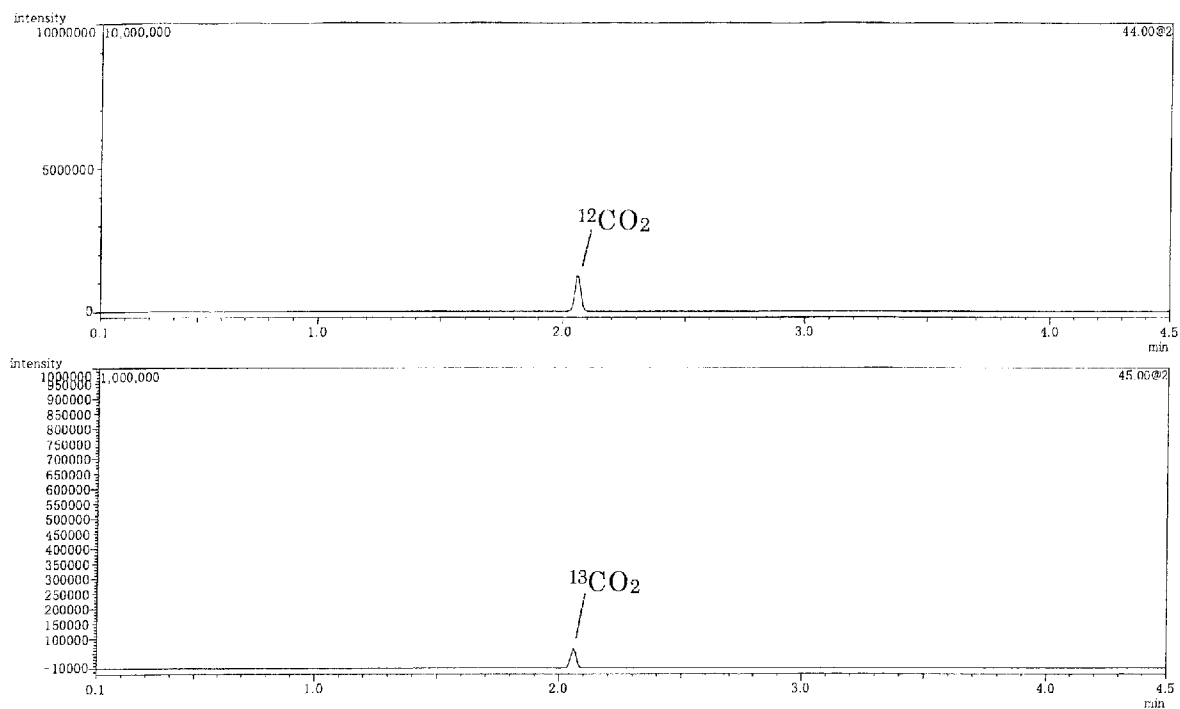
試料：心臓(No.1) 非処理 の EIC クロマトグラム【 m/z 44(上段)、 m/z 45(下段)】

[図36]



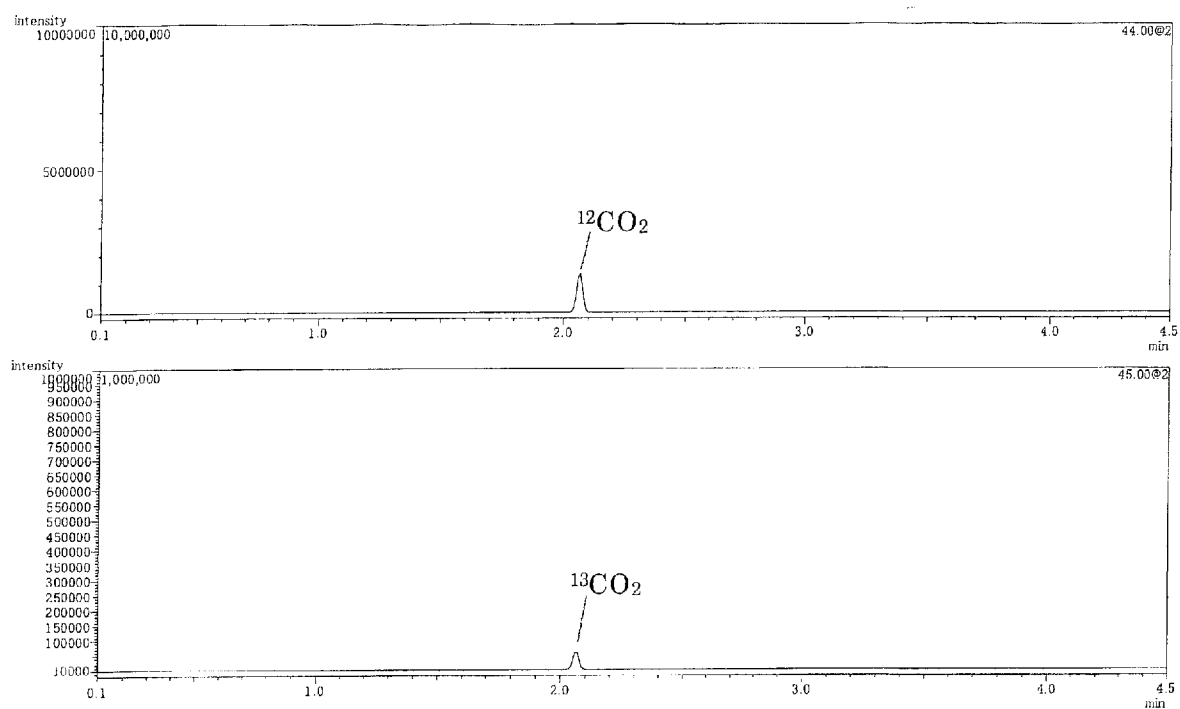
試料：心臓(No.2) 非処理 の EIC クロマトグラム【 m/z 44(上段)、 m/z 45(下段)】

[図37]



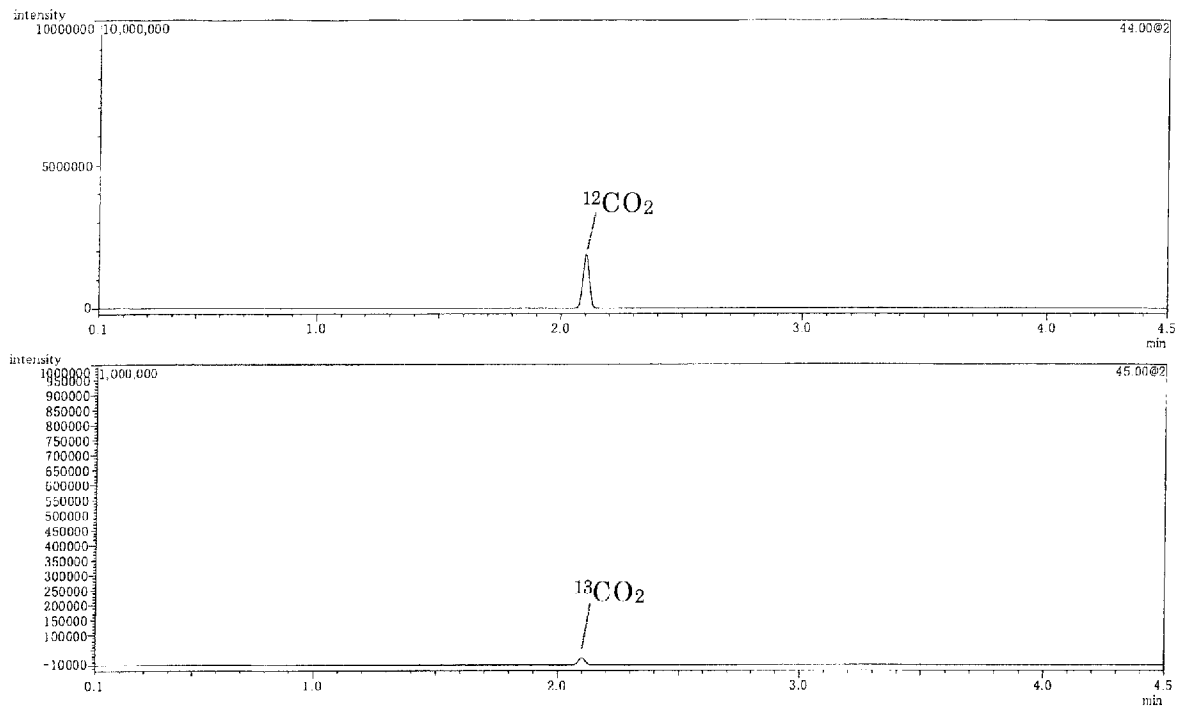
試料：心臓(No.1) $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理 の EIC クロマトグラム 【 m/z 44(上段)、 m/z 45(下段)】

[図38]



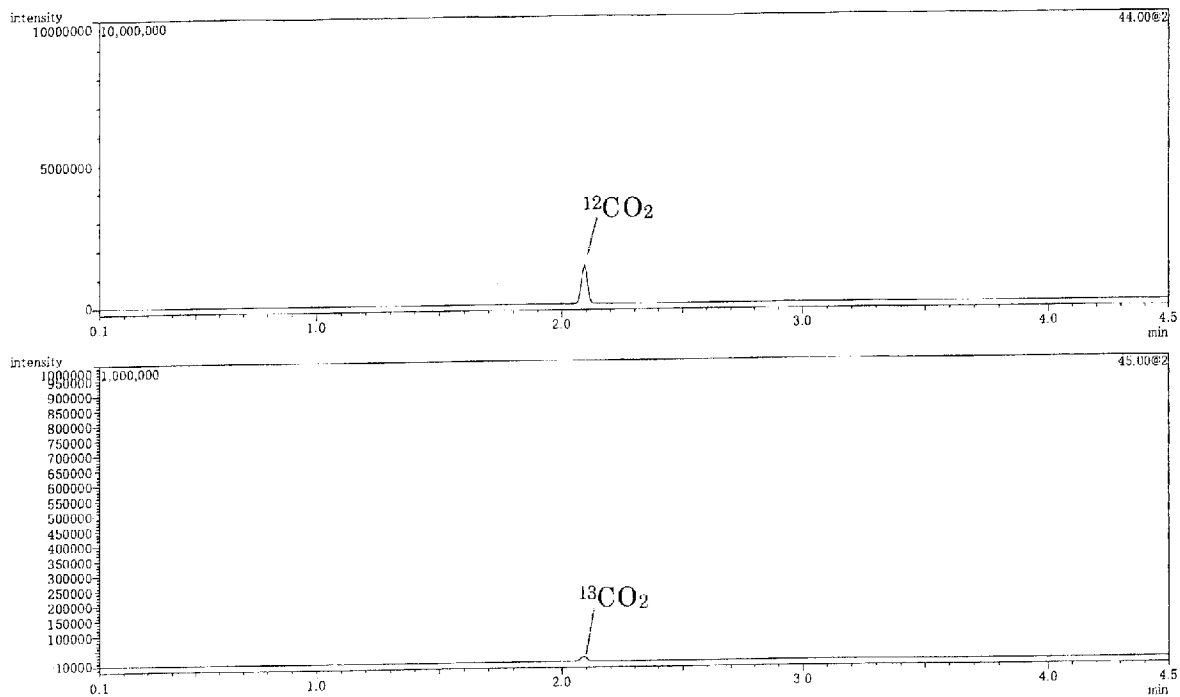
試料：心臓(No.2) $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理 の EIC クロマトグラム 【 m/z 44(上段)、 m/z 45(下段)】

[図39]



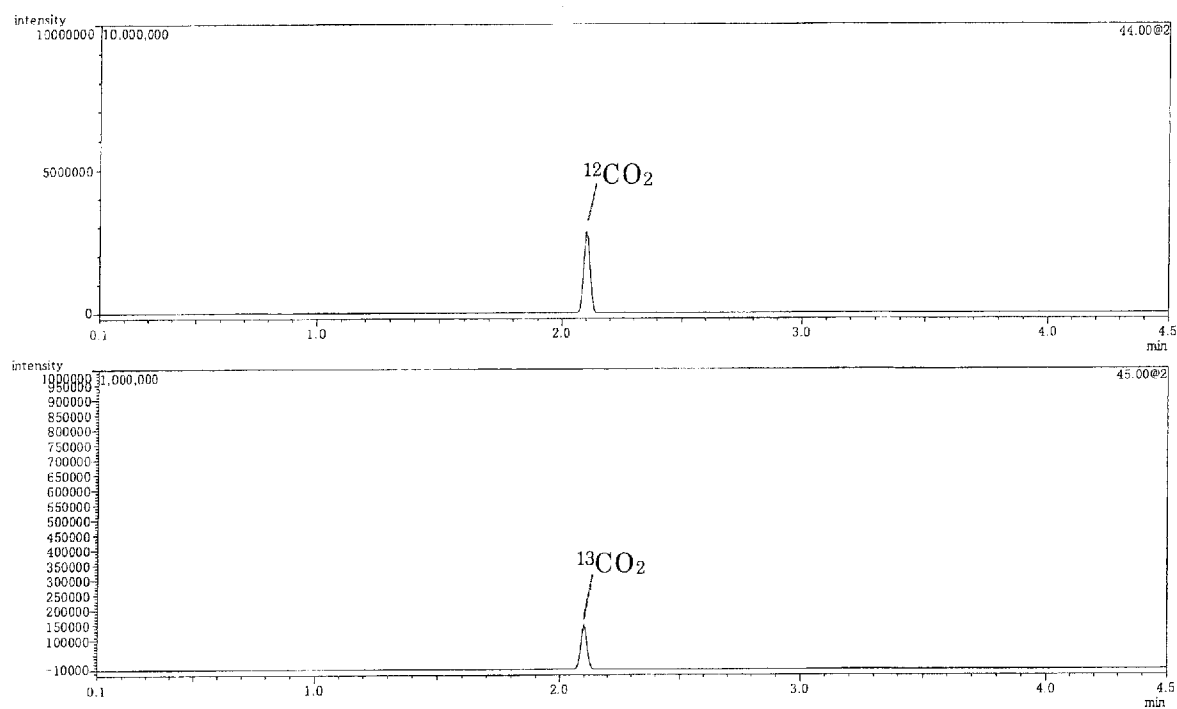
試料：肝臓(No.1) 非処理 の EIC クロマトグラム 【 m/z 44(上段)、 m/z 45(下段)】

[図40]



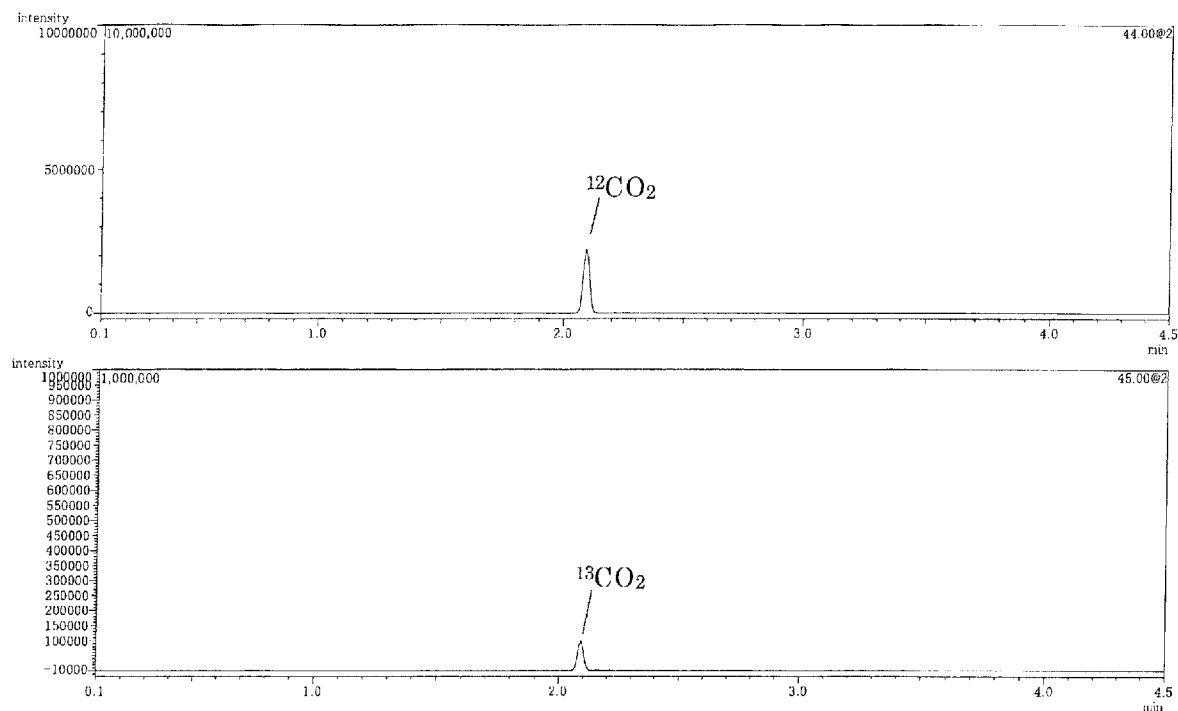
試料：肝臓(No.2) 非処理 の EIC クロマトグラム 【 m/z 44(上段)、 m/z 45(下段)】

[図41]



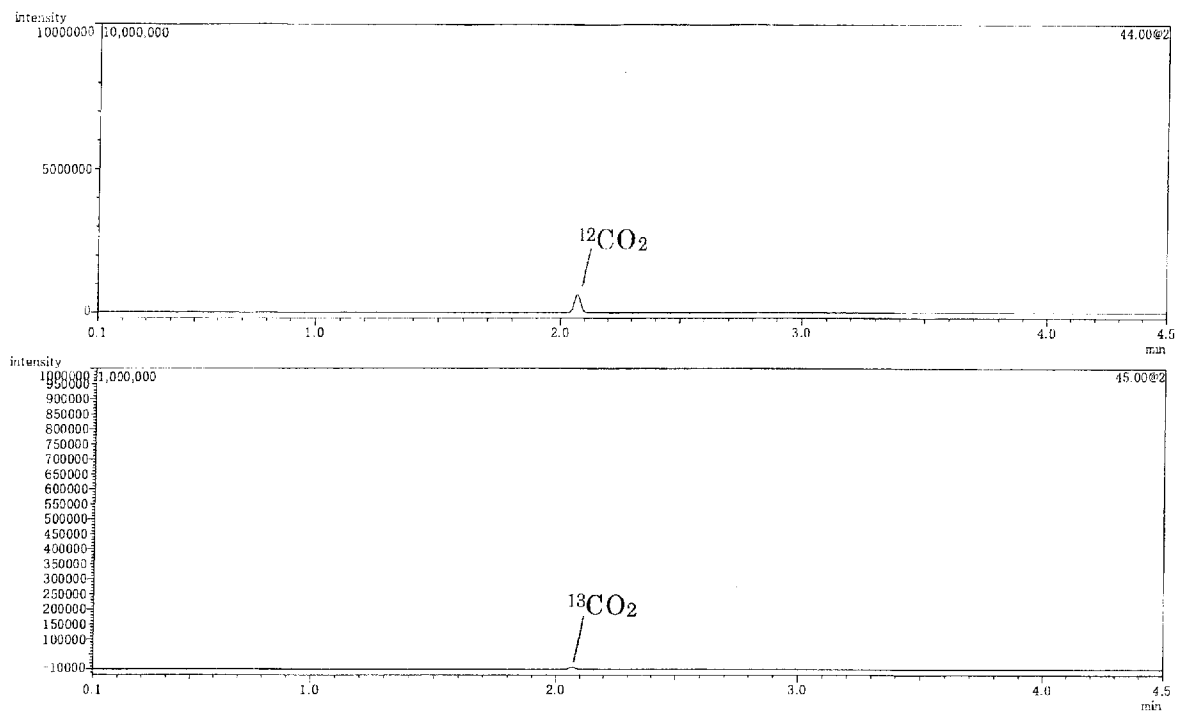
試料：肝臓(No.1) $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理 の EIC クロマトグラム【 m/z 44(上段)、 m/z 45(下段)】

[図42]



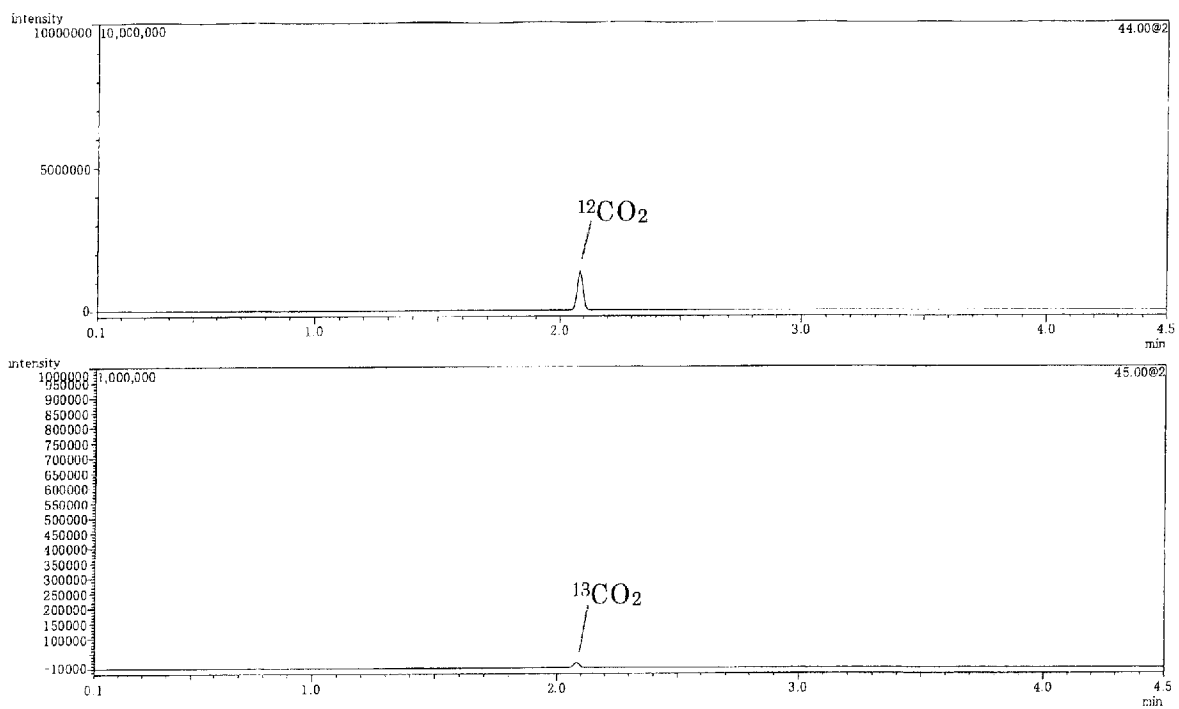
試料：肝臓(No.2) $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理 の EIC クロマトグラム【 m/z 44(上段)、 m/z 45(下段)】

[図43]



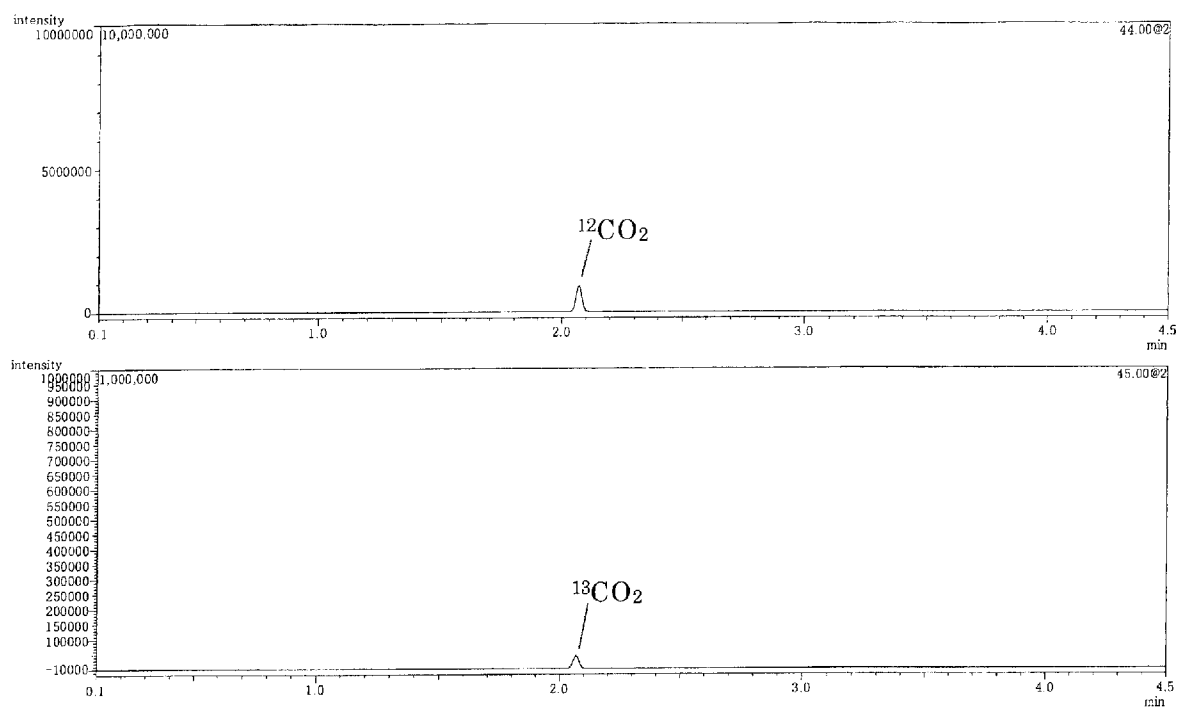
試料：筋肉(No.1) 非処理 の EIC クロマトグラム 【 m/z 44(上段)、 m/z 45(下段)】

[図44]



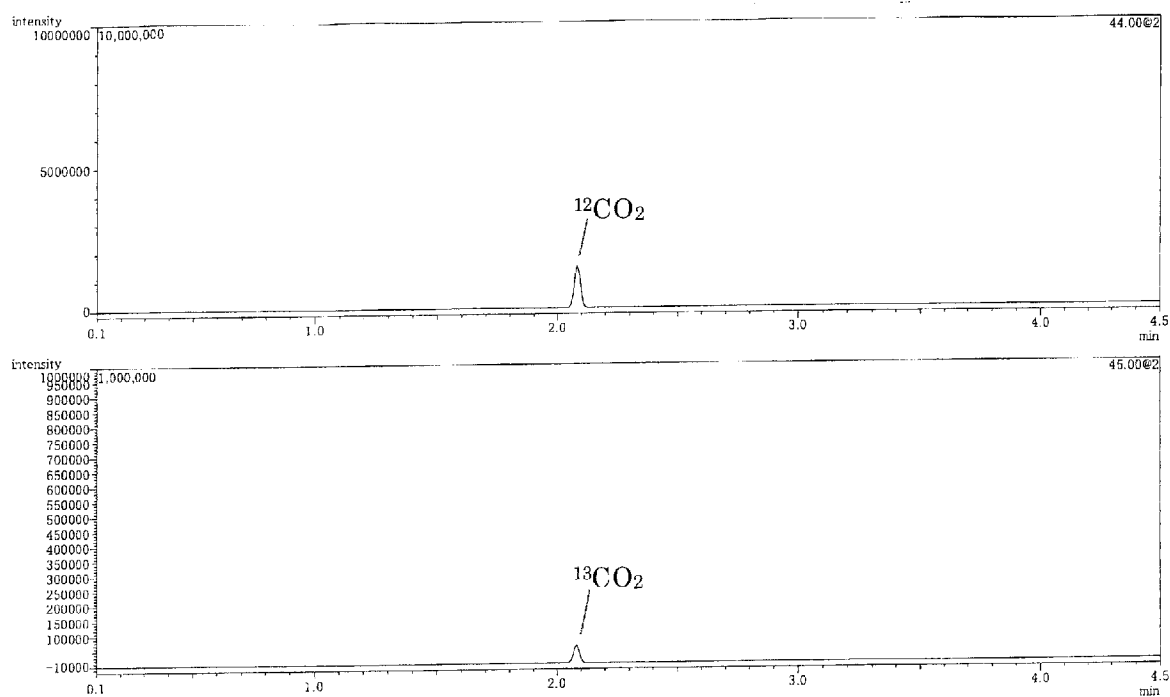
試料：筋肉(No.2) 非処理 の EIC クロマトグラム 【 m/z 44(上段)、 m/z 45(下段)】

[図45]



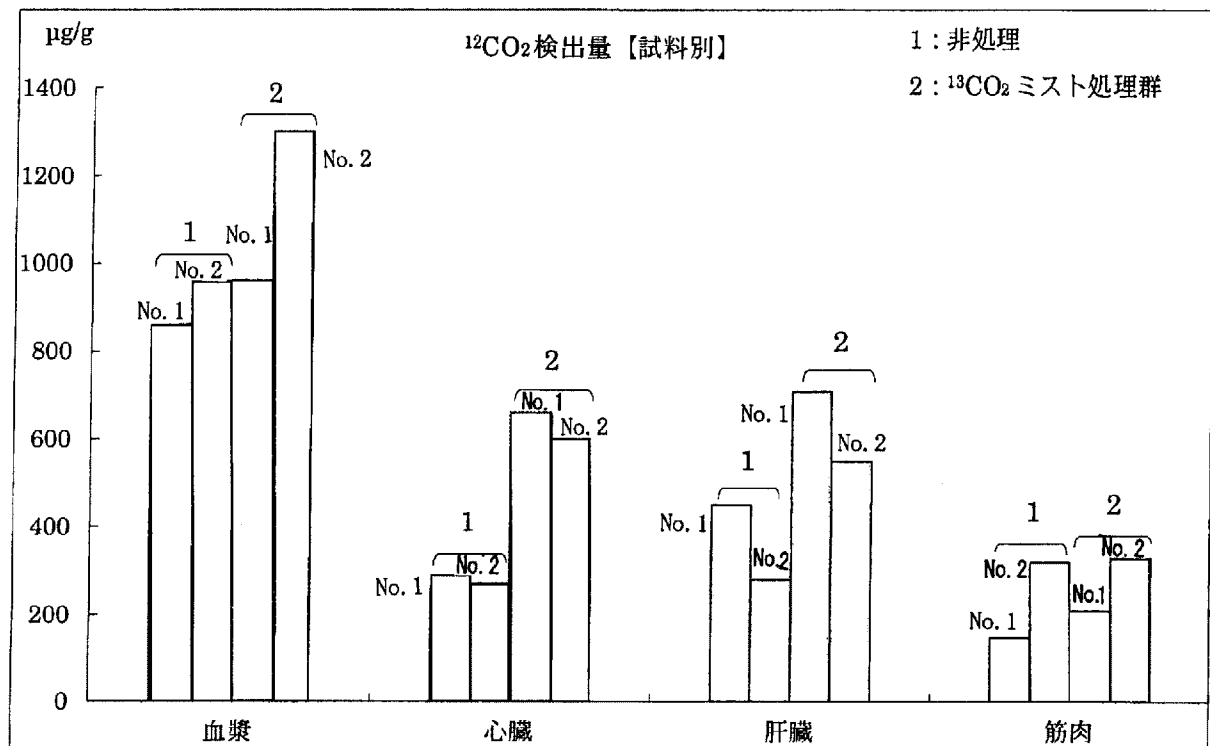
試料：筋肉(No.1) $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理 の EIC クロマトグラム 【 m/z 44(上段)、 m/z 45(下段)】

[図46]

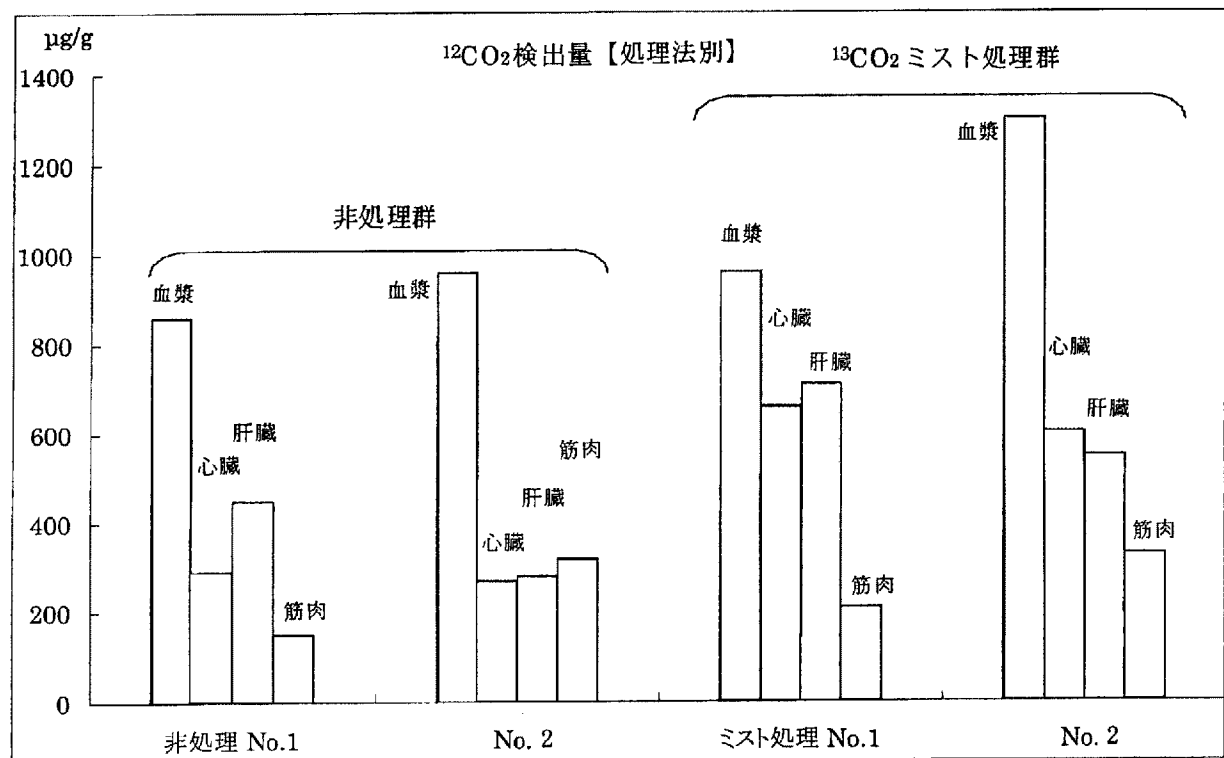


試料：筋肉(No.2) $^{13}\text{CO}_2$ ミスト処理 の EIC クロマトグラム 【 m/z 44(上段)、 m/z 45(下段)】

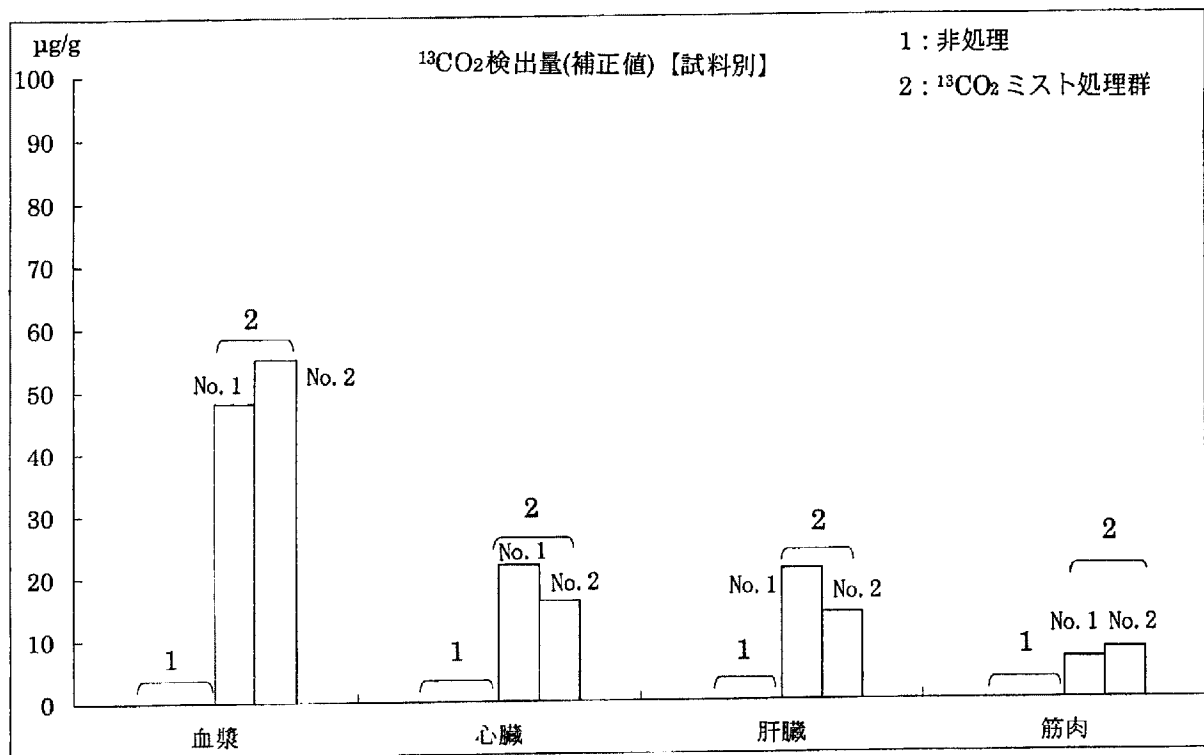
[図47]



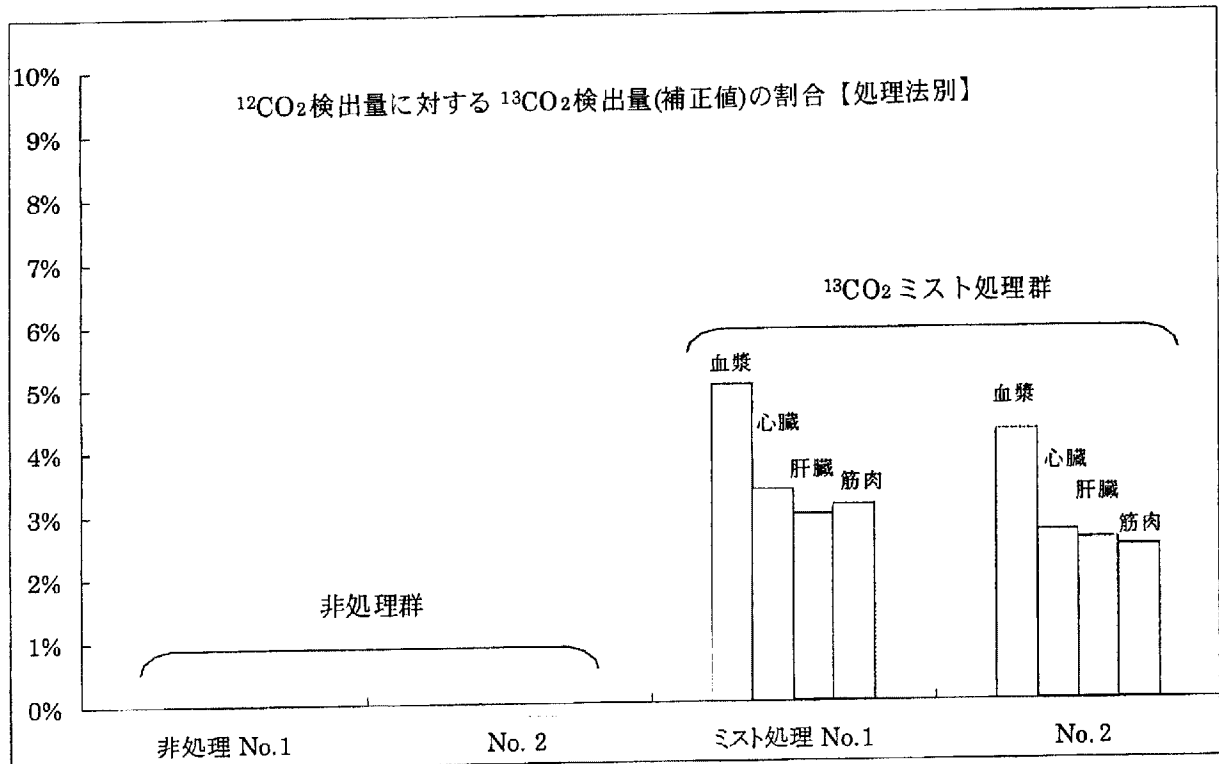
[図48]



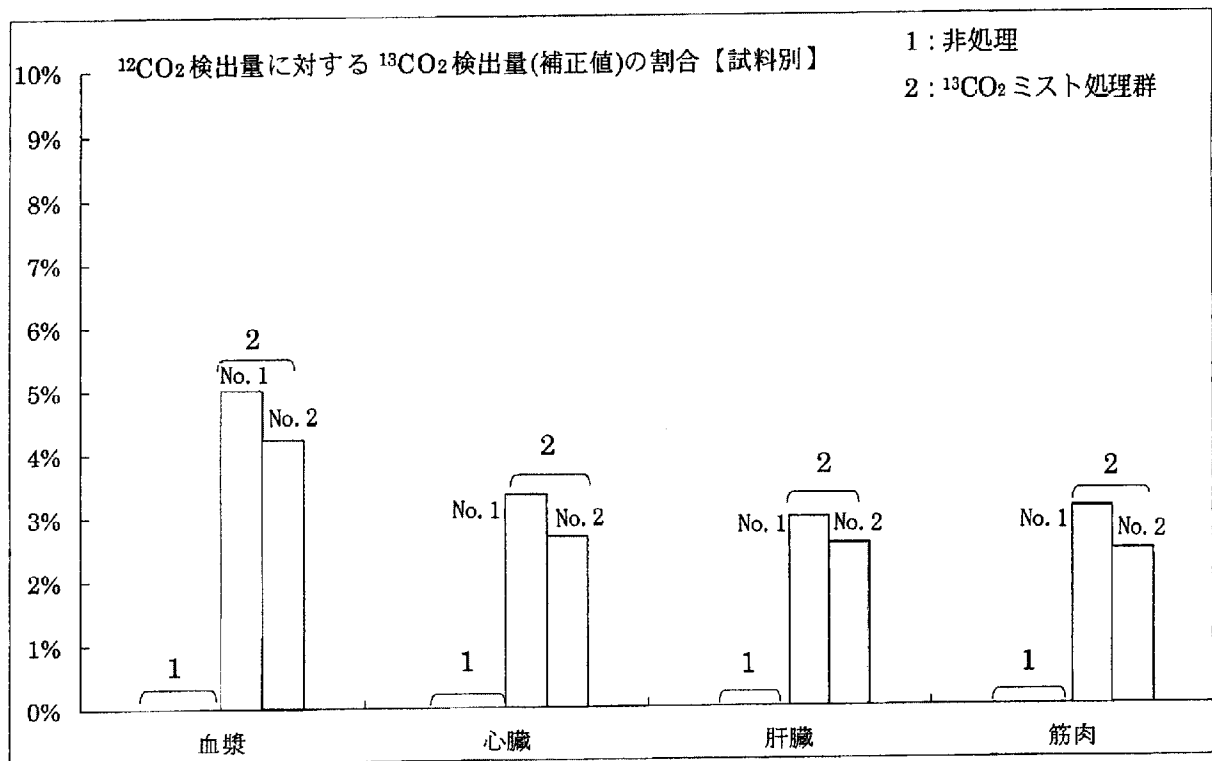
[図49]



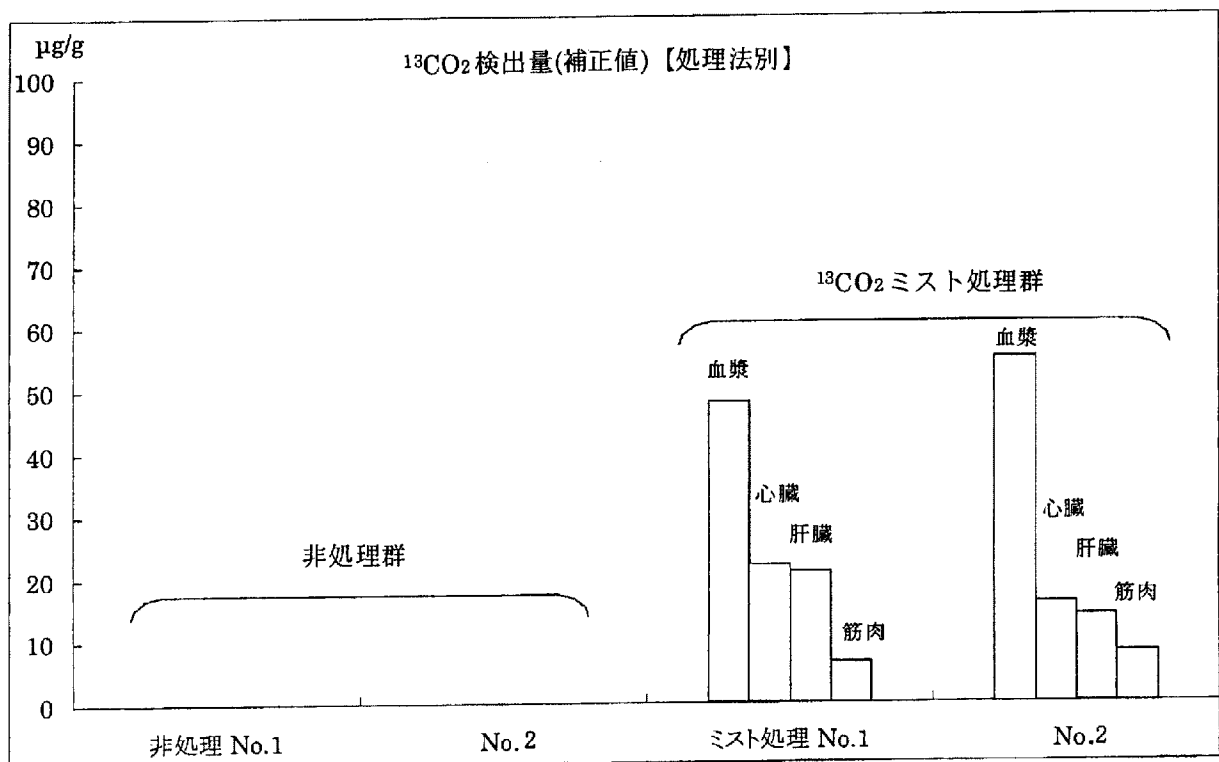
[図50]



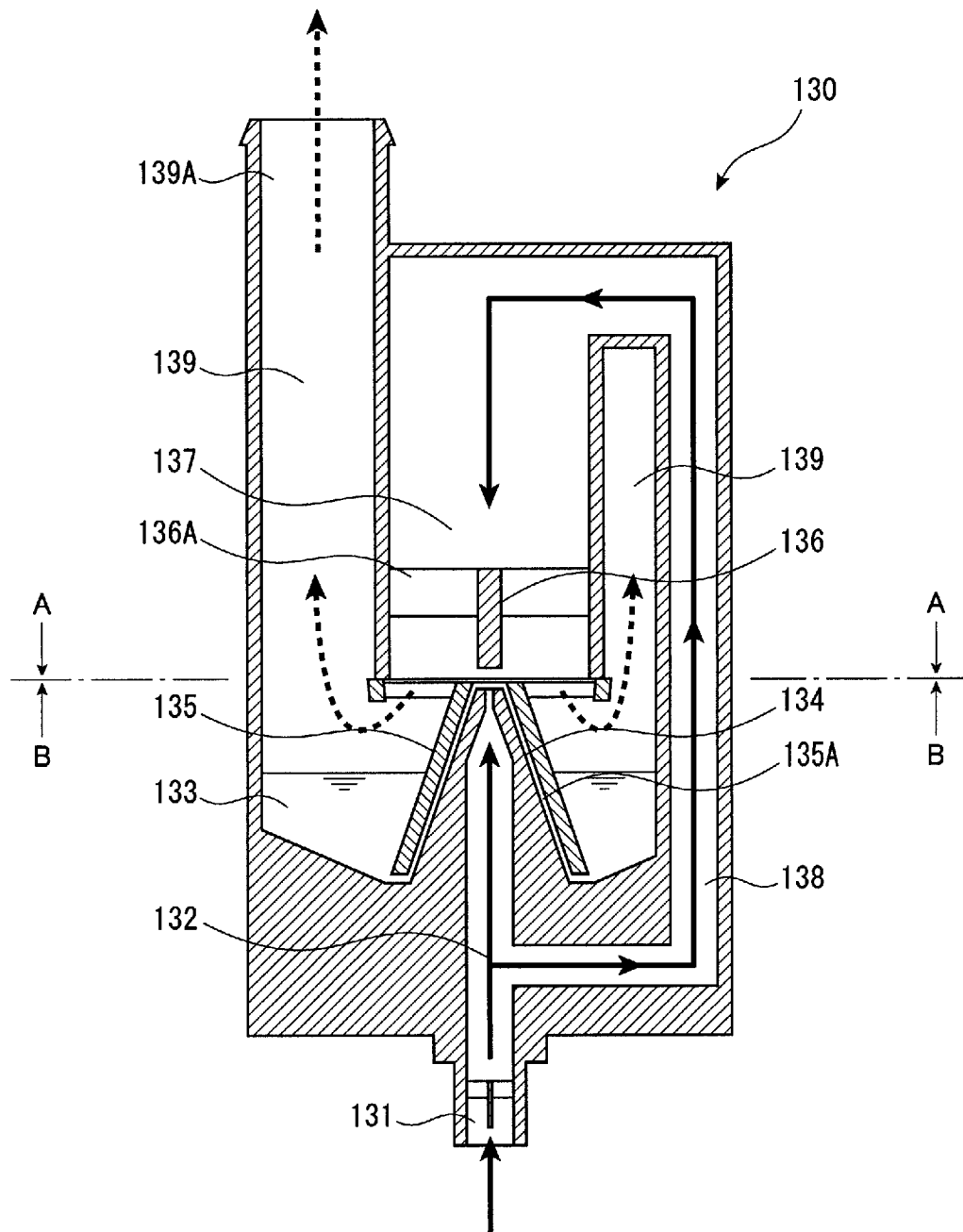
[図51]



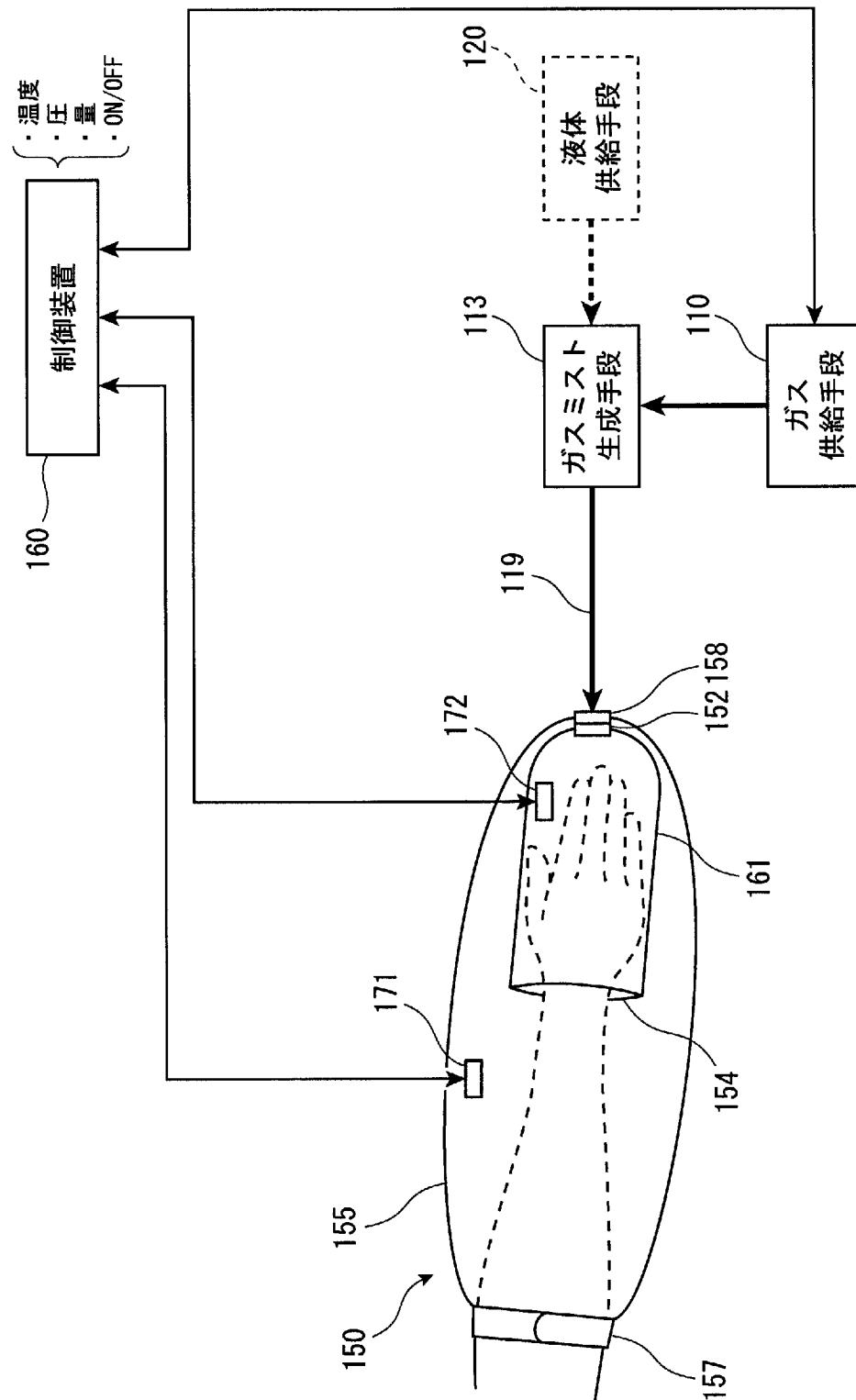
[図52]



[図53]



[図54]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/079486

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61H33/14(2006.01)i, A61H33/02(2006.01)i, A61H33/06(2006.01)i, A61H33/10(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61H33/14, A61H33/02, A61H33/06, A61H33/10

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2012
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2012	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2012

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 3163837 U (Shoichi NAKAMURA), 04 November 2010 (04.11.2010), entire text; all drawings (Family: none)	7 8-16
Y	WO 2009/157538 A1 (Shoichi NAKAMURA), 30 December 2009 (30.12.2009), paragraph [0069] & US 2010/0286750 A1 & EP 2236116 A1	8-16
Y	JP 3163836 U (Shoichi NAKAMURA), 04 November 2010 (04.11.2010), entire text; all drawings (Family: none)	13-16

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
16 January, 2012 (16.01.12)

Date of mailing of the international search report
24 January, 2012 (24.01.12)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/079486

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 1-6
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 1 to 6 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of PCT Rule 39.1(iv), to search.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61H33/14(2006.01)i, A61H33/02(2006.01)i, A61H33/06(2006.01)i, A61H33/10(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61H33/14, A61H33/02, A61H33/06, A61H33/10

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 2 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 2 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 2 年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X Y	JP 3163837 U (中村 正一) 2010.11.04, 全文, 全図 (ファミリーなし)	7 8 - 1 6
Y	WO 2009/157538 A1 (中村 正一) 2009.12.30, 段落【0069】 & US 2010/0286750 A1 & EP 2236116 A1	8 - 1 6
Y	JP 3163836 U (中村 正一) 2010.11.04, 全文, 全図 (ファミリーなし)	1 3 - 1 6

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

1 6 . 0 1 . 2 0 1 2

国際調査報告の発送日

2 4 . 0 1 . 2 0 1 2

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

田中 玲子

3 E

9 2 4 2

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 3 4 4

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求項 1-6 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
請求項 1-6 は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT規則39.1(iv)の規定により、国際調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求項 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求項 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。