

表 題 小児先天性心疾患に伴う肺高血圧症に対する
ニトログリセリン静注薬の薬物動態／薬力学解析

論文の区分 博士課程

著 者 名 永野 達也

担当指導教員氏名 今井 靖 教授

所 属 自治医科大学大学院医学研究科
専攻 地域医療学系
専攻分野 内分泌代謝疾患・病態解析学
専攻科 臨床薬物治療学

2019年1月10日申請の学位論文

小児先天性心疾患に伴う肺高血圧症に対する
ニトログリセリン静注薬の薬物動態／薬力学解析

氏名：永野 達也

所属：自治医科大学大学院医学研究科

指導教員：今井 靖 教授

専攻：地域医療学系

専攻分野：内分泌代謝疾患・病態解析学

専攻科：臨床薬物治療学

2019年1月10日 申請の学位論文

目 次

	頁
研究目的	3
研究方法	
第 1 節 血液試料中 NTG 安定性の確認	5
第 2 節 研究デザイン	6
第 3 節 各評価項目・血中パラメータの測定	7
3-1. 血管抵抗の算出	7
3-2. 血中 NTG 濃度測定	7
3-3. 血中 NO 代謝物 (NO ₂ +NO ₃ ⁻) 濃度測定	8
3-4. 血中 cGMP 濃度測定	8
第 4 節 アルデヒドデヒドロゲナーゼ 2 (ALDH2) 遺伝子多型解析	9
第 5 節 統計解析	10
結果	
第 1 節 血液試料中 NTG 安定性の確認	10
第 2 節 臨床研究結果	11
2-1. 対象者の背景	11
2-2. 血中 NTG 濃度 (用量-濃度関係)	12
2-3. NTG の効果	13
2-4. 血中パラメータ	18
第 3 節 ALDH2 遺伝子多型解析	19
3-1. 遺伝子多型の分布	19
3-2. 遺伝子多型の影響	19
考察	22
結論	27
引用文献	28

研究目的

肺高血圧（pulmonary hypertension : PH）は肺の末梢動脈が狭小化し、肺動脈圧が高くなる病態である。PH を引き起こす原因としては、特発性、左心性心疾患に伴うもの、慢性閉塞性肺疾患などの肺疾患に伴うもの、など様々である。その中で、先天性心疾患に伴う PH のように肺動脈自身に病変が存在するものを、特に肺動脈性肺高血圧（pulmonary arterial hypertension: PAH）という（Table 1）。

Table 1 ニース分類

- | | |
|------------------|-----------------------|
| 1. 肺動脈性肺高血圧（PAH） | 3. 肺疾患および低酸素血症に伴う肺高血圧 |
| 1) 特発性 | 1) 慢性閉塞性肺疾患 |
| 2) 遺伝性 | 2) 間質性肺疾患 |
| 3) 薬物・毒物 | 3) 混合性障害 |
| 4) 各種疾患に伴う PAH | 4) 睡眠呼吸障害 |
| ①膠原病 | 5) 肺泡低換気障害 |
| ②先天性心疾患 | 6) 高所への慢性暴露 |
| ③肝臓病 | 7) 発育障害 |
| ④HIV 感染症 | 4. 慢性血栓塞栓性肺高血圧 |
| ⑤住血吸虫 | 5. その他の肺高血圧 |
| 1'. 肺静脈閉塞性疾患 | 1) 血液疾患 |
| 新生児遷延性肺高血圧 | 2) 全身疾患 |
| 2. 左心性心疾患に伴う肺高血圧 | 3) 代謝疾患 |
| 1) 収縮障害 | 4) その他 |
| 2) 拡張障害 | |
| 3) 弁膜症 | |
| 4) 左心流入路/流出路障害 | |

先天性心疾患は出生児の約 1%の頻度で出現する。左右シャントを有する先天性心疾患患者では、姑息術や修復術など何かしらの手術を行わなければ 3 分の 1 は肺高血圧症に至ると考えられている¹⁾。このような症例では心不全や肺合

併症を引き起こしやすく、肺高血圧発作が出現することもあるため、重症例の予後は不良である。

先天性心疾患患者において、肺血管の慢性（不可逆）変化を避けるために手術が以前よりも出生後の早期に行なわれるようになったこと、術中の **modified ultrafiltration** の施行、さらには周術期管理の向上により、PH の発症・術後肺高血圧発作（**PH crisis**）発生の頻度は低下傾向にある。しかし、新生児や肺静脈閉塞のある児、術前から肺血管抵抗が高い児などは **PH crisis** のリスクが高く²⁾、先天性心疾患の周術期管理において PH は重要な合併症の一つである。

PH の診断基準は、従来は安静時に右心カテーテル検査を用いて実測した肺動脈圧（**PAP**）の平均値（**mean PAP**）が **25 mmHg** 以上と定義されている³⁾。しかし、健常成人の **PAP** は収縮期で **15~30 mmHg**、平均圧で **14±3 mmHg** と報告されており⁴⁾、临床上は **mean PAP** が **20 mmHg** 以上の場合や、収縮期肺体血圧比（**P_P/P_S**）が **0.5** を超えるものを PH と考える基準もある^{5,6)}。2018 年に行われた肺高血圧国際会議では、PH の診断基準を **mean PAP** が **20 mmHg** 以上に変更することが提言された。

小児の PH は、特発性肺動脈性肺高血圧症や先天性心疾患によるものが多く、成人期の PH と比較して臨床症状や治療方法などで異なる点が存在する。特に周術期に関しては、小児患者を対象にした前向き研究やランダム化比較試験が少ないため、成人の肺高血圧治療戦略を参考にして小児患者の治療法が模索されている状況である。

PH の治療には **Nitric oxide (NO)** 吸入、**sildenafil** や **bosentan** 内服などの有効性が報告されているが^{2),7),8)}、周術期の管理においては内服薬よりも静注薬を用いる方が容易である。静注薬では **nitroglycerin (NTG)**、**nitroprusside**、**prostacyclin**、**alprostadil** などの血管拡張薬があるが、肺血管だけでなく体血管への影響も出るため有効性は報告により様々である^{9),10)}。また、血管拡張薬の静脈内投与は、内因性の **hypoxic pulmonary vasoconstriction (HPV)** の効果を下げするために換気血流不均衡を招き、低酸素血症をきたす可能性が指摘されている¹¹⁾。

NTG は、成人では冠動脈血流の改善に広く使用されている薬物である。体血管において、**NTG** は主に静脈に対する血管拡張作用を有するが、高用量では動脈も拡張させる¹²⁾。**nitroprusside** や **alprostadil** などの血管拡張薬に比べ、**NTG** は体血圧への影響が少ないこと¹³⁾、また、**NO** 吸入のように特別な装置を

必要とせず簡便に用いることができるため、現在当施設では周術期の PH に対して、NTG 静注を治療の第一選択とし、2~6 g/kg/min の範囲で経験的に使用している。しかし、小児に対する NTG の効果、適正投与量、有害作用等については未だデータが少ない。そこで小児肺高血圧に対する NTG の薬物動態/薬力学解析を行うために本臨床研究を計画した。

また、NTG は、体内で代謝される過程で NO を供給し、血管平滑筋細胞内の cGMP の増加を介して血管拡張作用を発揮する。この NTG からの NO 遊離には、2 型アルデヒド脱水素酵素 (ALDH2) が関与している^{14), 15)}。NTG は ALDH2 によって 1,2-二硝酸グリセリル (1,2-GDN) と NO に分解される。ALDH2 には遺伝子多型が存在し、日本を含む東アジア地域でその保有頻度が高い (ヘテロ接合体 *ALDH2**1/*2 + 異形型ホモ接合体 *ALDH2**2/*2 合わせて約 50%) と報告されている¹⁶⁾。*ALDH2**1/*2 および *ALDH2**2/*2 では ALDH2 の酵素活性が低下しており、その結果、NTG の生体内活性が低下して血管拡張作用が弱まると考えられている^{17), 18)}。一方で、*ALDH2* 遺伝子多型は NTG の効果に影響がないという報告もある¹⁹⁾。*ALDH2* 遺伝子多型と NTG の効果について更なる研究のため、今回の臨床研究に参加した小児を対象に *ALDH2* 遺伝子多型を調べ、NTG の薬物動態および治療効果に及ぼす影響についても検討した。

研究方法

第 1 節 血液試料中 NTG 安定性の確認

EDTA-2K の採血管にボランティアから採取した全血試料 (薬物は含まない) に、NTG を終濃度 100 ng/ml となるように添加し、(i) 添加後直ちに遠心処理、(ii) 氷上で 5 分間置いた後に遠心処理、(iii) 氷上で 20 分間置いた後に遠心処理、あるいは (iv) 37 °C で 20 分間インキュベートした後に遠心処理し、それぞれの血漿中 NTG 濃度を測定した。

第2節 研究デザイン

自治医科大学附属病院とちぎ子ども医療センターにて、手術を受ける予定である小児先天性心疾患患者のうち、肺高血圧症を合併している患児を対象として臨床介入研究を行なった。対象患者の組み入れ基準は、心内修復術後に肺/体血圧比 (P_P/P_S) ≥ 0.3 あるいは肺血管抵抗 (PVR) $\geq 3 \text{ Wood unit} \cdot \text{m}^2$ を呈するものとした。また、除外基準は姑息手術症例、単心室症例とした。本臨床研究のプロトコールは、本学附属病院臨床研究等倫理審査委員会にて審査を受け、実施の許可を得た (臨 B16-013)。また、本臨床研究の内容を大学病院医療情報ネットワークに登録した (UMIN000026382)。手術前の麻酔科外来受診時において、患児の両親に文書を用いて研究内容についての説明を行い、書面による同意を得て研究を行った。

循環動態観察のために術中に末梢動脈ライン、中心静脈ライン、術野から肺動脈 (PA) ラインおよび左房 (LA) ラインを留置し、それぞれの圧を連続モニタリングした。周術期において体血圧 (ABP)、中心静脈圧 (CVP)、肺動脈圧 (PAP)、肺/体血圧比 (P_P/P_S) および左房圧 (LAP) を記録し、血中 NTG 濃度と循環動態の変化の解析に使用した。

NTG の持続投与は、術後 PICU 入室後より $2 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ の速度で開始した。NTG の投与速度の変更は、30 分以上の間隔を設けることとし、 P_P/P_S あるいは PVR に応じて 1 または $2 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ずつ緩徐に増量するプロトコールとした。ただし、肺高血圧発作が出現した場合は NTG の緩徐増量を中止し、急速増量を行なう方針とした。また、NTG の最大投与量は $10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ とした。PVR が NTG 投与開始前から 3 割以上低下した時点で NTG はそれ以上増量せず、その時点での投与速度を 1~2 日間程度維持し研究終了とした。

研究実施中は fentanyl+rocuronium 持続静注による深鎮静を行い、挿管人工呼吸管理とした。吸入酸素濃度 (FIO_2) は 0.6 で固定とし、 PaCO_2 40 mmHg の normocapnia を目標として呼吸管理を行った。併用薬としては、全症例とも術中人工心肺離脱後より dopamine $5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ および olprinone $0.3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ の持続投与を使用し、術後必要に応じて dexmedetomidine $0.5 \sim 1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ の追加投与を行った。

循環動態に関する評価項目は ABP、PAP、 P_P/P_S 、経肺圧較差 (transpulmonary pressure gradient: $\text{TPG} = \text{PAP} - \text{LAP}$)、PVR および体血管抵抗 (SVR) とし、NTG 投与開始前および増量後 30 分以上経過し各パラメータが

安定した時点の数値を採用した。また、NTG 投与開始前および投与量増減直前に末梢動脈ライン、PA ラインおよび LA ラインより採血 (約 1ml) を行なった。対象者より EDTA-2K 採血管に採取した血液を直ちに遠心処理し (3,500rpm、10min、4°C)、血漿を分離し、測定まで-80°Cで凍結保存した。得られた血漿を用いて NTG 濃度、NO 代謝物 ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) および cGMP 濃度を測定した。

さらに、本臨床研究への参加に同意が得られた患児を対象に、ALDH2 の遺伝子多型解析を行なった。遺伝子解析研究の内容についても、遺伝子解析研究倫理審査委員会で審査され、実施の許可を得た (遺 17-060)。麻酔科術前外来受診時あるいは手術後 PICU にて治療・管理中に、患児の両親に文書を用いて研究内容についての説明を行い、書面による同意を得て研究を行った。

第 3 節 各評価項目・血中パラメータの測定

3-1. 血管抵抗の算出

手術中に、研究協力者の心臓血管外科医が術野から直接肺動脈と左房に圧ラインを留置した。これに加え、術中および術後に吸入酸素濃度と呼気酸素濃度を測定できるマルチガスユニットを使用することで、Fick 法による PVR の算出が可能となった。

具体的には、肺動脈と左房に留置した圧ラインより採取した血液試料の血液ガス分析により、それぞれ肺動脈血および肺静脈血の酸素含有量が算出され、また吸気中と呼気中の酸素濃度および分時換気量より酸素消費量が算出される。Fick 法に従い、肺血流量 (Q_p) は

$$Q_p = \text{酸素消費量} / (\text{肺静脈酸素含有量} - \text{肺動脈酸素含有量})$$

から求められる。算出した Q_p を用いることによって、PVR は

$$\text{PVR} = (\text{mean PAP} - \text{LAP}) / Q_p$$

から算出される。同様に、体血圧と中心静脈圧を用いることにより SVR も算出される。術後は $Q_p = Q_s$ (体血流量) であり、

$$\text{SVR} = (\text{mean ABP} - \text{CVP}) / Q_s \text{ の式で求められる。}$$

3-2. 血中 NTG 濃度測定

液体クロマトグラフィー質量分析法を用いて NTG の血中濃度を測定する系を作成した。血漿 50 μl に内部標準物質 (NTG の安定同位体 $^{15}\text{N}_3$ -NTG) 5 μl 溶液を添加し、さらに MeOH 200 μl を加えた。Vortex にて十分に攪拌した後に遠心

処理し (15,000rpm、15min、4°C)、除タンパク処理を行なった。上清を採取し、そのうち 5 µl を液体クロマトグラフィー質量分析にかけた。

液体クロマトグラフィー装置は、送液ポンプ A・B (LC-30AD; 島津, 日本)、オートサンプラー (SIL-30AC; 島津, 日本)、カラムオーブン (CTO-20AC; 島津, 日本) から成り、質量分析計は LCMS-8030 (島津, 日本) を用いた。分析カラムには Triart PFP (1.9µm, 2.1 × 150 mm, YMC, 日本) を使用した。

移動相は A 液 (70%メタノール) および B 液 (0.2mM プロピオン酸/メタノール) から構成され、それぞれ流速 0.1 ml/min および 0.005 ml/min で通水した。なお、B 液は分析カラム後に混和する流路でシステムを構成した。

低濃度領域では 1 ng/ml、2.5 ng/ml、5 ng/ml と測定したが、各濃度において日内・日間それぞれの変動係数を算出したところ 2.5 ng/ml 以下では解析結果にバラツキがみられたため測定下限濃度は 5 ng/ml と判断した。5 ng/ml 以上の濃度においては変動係数はいずれも 0.1 以下であり、安定した測定系が得られていると考えられる。また、高濃度領域では上限 100 ng/ml までを定量可能範囲とした。

3-3. 血中 NO 代謝物 (NO₂⁻+NO₃⁻) 濃度測定

市販の Nitrate/Nitrite ELISA Kit (R&D systems, USA) を用いて Griess 法によって血漿中の NO₂⁻+NO₃⁻濃度を測定した。血漿を Reaction Diluent で 4 倍希釈した血漿サンプル 50 µl に、NADH 25 µl および Nitrate Reductase 25 µl を加え、96-well プレートにフィルムカバーをして 37 °C で 30 分間インキュベートした。その後 Griess Reagent I 50 µl、続いて Griess Reagent II 50 µl を各 well に加え室温で 10 分間静置し、波長 540 nm/960 nm の吸光度を測定した。

3-4. 血中 cGMP 濃度測定

市販の cGMP ELISA Kit (Cayman, USA) を用いて血中の cGMP 濃度を測定した。

まず血漿サンプルからのエタノール抽出を行った。血漿 50 µl にエタノール 200 µl を加え、vortex にて混和後、室温で 5 分間インキュベートした。その後 1500 rpm で 10 分間の遠心分離後、上清を分取し、窒素ガス下で 85°C に加温してエタノールを除去した。乾固した残渣にキット中の ELISA buffer 500 µl を加えて(最終的に 10 倍希釈となる)測定用サンプルとした。サンプルに Tracer

および抗血清を加え、96-well プレートにフィルムカバーをして室温で一晩(約 18 時間)インキュベートした。その後、wash buffer 300 μ l で 5 回洗浄し、最後に Ellman's reagent 200 μ l を加え、遮光して攪拌しながら 90 分間室温でインキュベートした。インキュベート後波長 420 nm の吸光度を測定した。

第 4 節 アルデヒドデヒドロゲナーゼ 2 (*ALDH2*) 遺伝子多型解析

ALDH2 遺伝子多型解析には、PCR で DNA を増幅し、反応生成物を制限酵素で切断する、制限酵素断片長多型 (PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism)法を用いた。

まず、QIAamp DNA blood Mini Kit (QIAGEN, Netherlands) を用いて、対象者から採取した血液から DNA を抽出した。血液 200 μ l に QIAGEN Protease 20 μ l および Buffer AL 200 μ l を添加し、56°C で 10 分間インキュベートした。その後、エタノール 200 μ l を加えてよく混和した混合液を、QIAamp Mini Spin Column に移した。遠心処理 (8,000 rpm、1 min) 後、濾液を破棄し、カラムに Buffer AW1 500 μ l を加えて再度遠心処理 (8,000 rpm、1 min) した。濾液を破棄し、カラムに Buffer AW2 500 μ l を加え、遠心処理 (14,000 rpm、3 min) 後、濾液を破棄した。最後に、column に Buffer AE 200 μ l を添加し、遠心処理 (8,000 rpm、1 min) して DNA を抽出した。

抽出した DNA 溶液(DNA 100-200 ng を含む)を下記の PCR 反応液に加えた。

10x buffer	4.0 μ l
dNTP	3.0 μ l
Primer Mix(sense and antisense, 10 μ M)	1.5 μ l
Takara Ex taq	0.2 μ l
DNase(-) water	30.3 μ l

混合液をサーマルサイクラーにセットし、PCR 反応 (初期変性を 98°C、10 秒で行い、増幅反応は 98°C で 10 秒+68°C で 50 秒を 1 サイクルとし、35 サイクル繰り返した) を行なった。PCR 後の反応液 10 μ l を制限酵素反応液 (1 反応あたり CutSmart 1.5 μ l、TspRI 0.5 μ l および DNase(-) water 3 μ l) に加えて、65°C で 1 時間インキュベートし DNA の切断反応を施した。制限酵素処理後の反応液を 3%アガロースゲルに添加し、100V で約 30 分通電して電気泳動した。泳動後のゲルに UV を照射してバンドパターンとそのサイズを確認した。バンドパターンにより、255 bp が野生型ホモ接合体(*ALDH2* *1/*1)、255 bp+323 bp が

変異アレルを持つヘテロ接合体(*ALDH2**1/*2)、および 323 bp が変異アレルのホモ接合体(*ALDH2**2/*2)と判別した。

第 5 節 統計解析

本研究の主要評価項目は、NTG 投与によって各血行動態パラメータ (ABP、PAP、Pp/Ps、TPG、PVR および SVR)がどのように変化するか、および血中 NTG 濃度推移と NTG の効果に及ぼす *ALDH2* 遺伝子多型の影響である。

各パラメータにおいて、NTG 投与前と投与後のある投与速度との比較は paired *t*-test で行った。また、各パラメータの投与開始前からの変化量について、*ALDH2* 遺伝子多型の影響を Group A (*ALDH2**1/*1 群) と Group B (*ALDH2**1/*2、*ALDH2**2/*2 群) で比較する際には un-paired *t*-test を使用した。評価数値は mean ± S.D. で表記し、 $p < 0.05$ を統計学的有意とした。

結 果

第 1 節 血液試料中 NTG 安定性の確認

NTG は半減期が短く、血球中の酵素によって速やかに代謝 (加水分解) されるため、その半減期は短く全血中では約 6 分とされている²⁰⁾。そこで臨床研究を開始するにあたり、採血から遠心分離までの想定される作業工程において NTG がどの程度分解されるか検討した。NTG 添加後に直ちに遠心分離したサンプル (0 分) の血中濃度を基準とすると、37°C で 20 分インキュベートしたサンプルでは、NTG 濃度は 65% 程度まで低下した (Fig. 1)。しかし、0°C (氷上) で 20 分インキュベートしても NTG 濃度はほとんど変化しなかった。なお、臨床研究の実施時は、対象症例からの採血後すぐに冷却遠心処理を行なっているので、血液試料中における NTG の分解はほとんどないと考えられる。

NTG 100ng/ml 添加時血中濃度(0min を 1 とした場合の比)

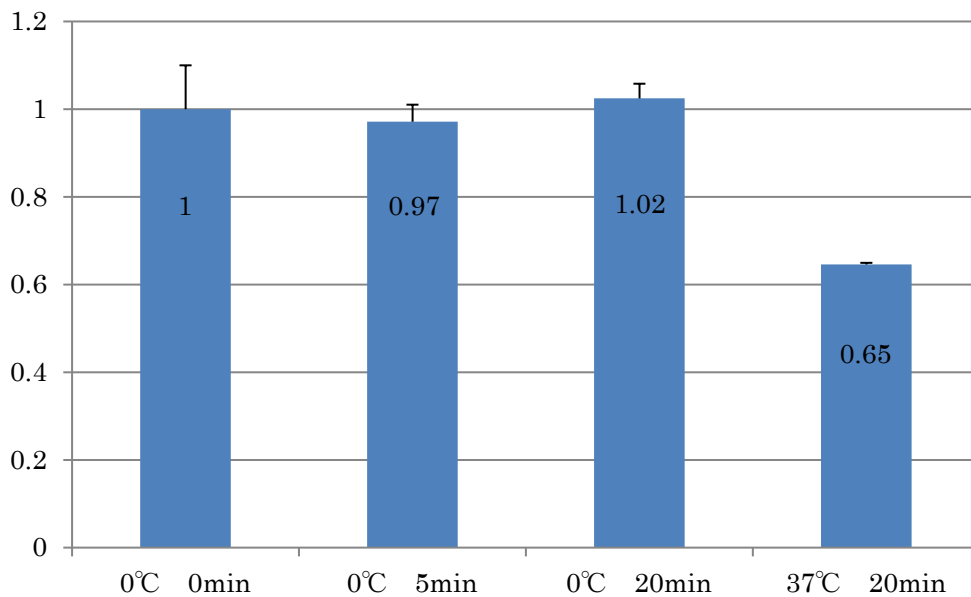


Fig.1 NTG の安定性

第 2 節 臨床研究結果

2-1. 対象者の背景

2017 年 3 月から 2018 年 8 月の期間に 19 症例から同意が得られ、本臨床研究に参加した (Table 2)。対象者の平均月齢は 2.3 ヶ月、平均体重は 4.5 kg、疾患は心室中隔欠損症 (VSD) が 11 例、心房中隔欠損症 (ASD)+心室中隔欠損症 (VSD) が 2 例、大血管転位症 (TGA) が 2 例、大動脈弓離断症 (IAA) が 1 例、三心房心臓が 2 例、両大血管右室起始症 (DORV) が 1 例であった。また、21trisomy の症例が 2 例存在した。

NTG 最大投与速度は、3 例が 4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 、3 例が 6 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 、6 例が 8 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 、6 例が 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ であった。

Table 2 臨床研究対象者の背景

	月齢 (M)	性別	体重 (kg)	診断名	最大投与量 ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$)
症例 1	2	F	4.0	ASD, VSD	6
症例 2	2	M	5.0	VSD	4
症例 3	2	M	3.9	VSD, 21trisomy	4
症例 4	3	F	4.6	VSD	6
症例 5	8	F	6.3	三心房心	6
症例 6	4	F	6.8	VSD	6
症例 7	0	F	3.2	IAA, VSD	10
症例 8	2	F	4.4	VSD	8
症例 9	3	M	6.2	VSD	8
症例 10	1	M	3.7	VSD	10
症例 11	2	F	4.3	VSD	8
症例 12	3	F	5.0	ASD, VSD	8
症例 13	0	F	3.5	TGA(I)	10
症例 14	1	M	3.9	VSD	10
症例 15	0	F	3.6	TGA(I)	10
症例 16	1	F	3.2	VSD, 21trisomy	8
症例 17	3	F	4.7	三心房心	8
症例 18	4	M	5.9	DORV, polysplenia	10
症例 19	1	F	4.1	VSD	4

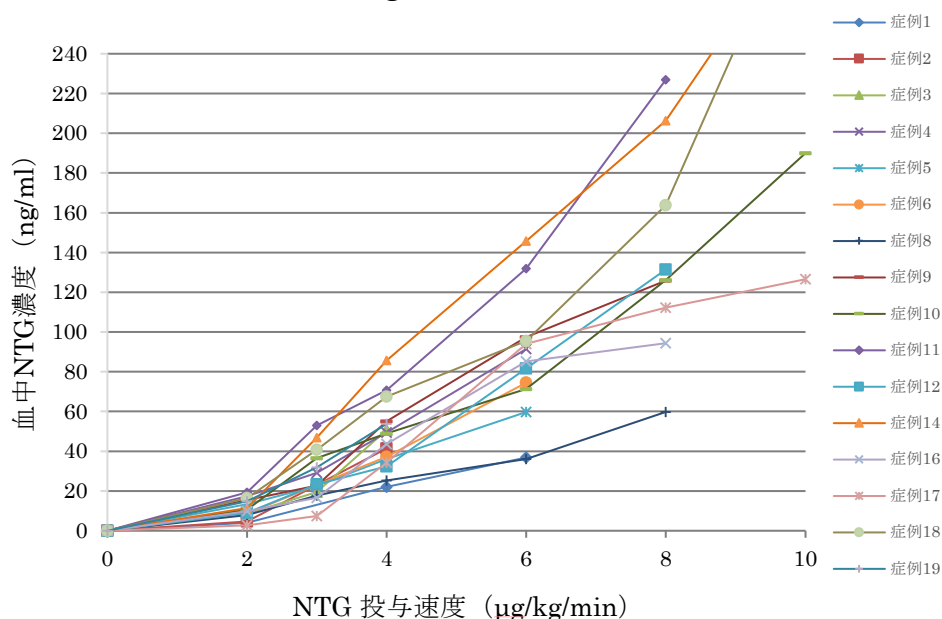
2-2. 血中 NTG 濃度 (用量-濃度関係)

NTG の投与速度と血中濃度の推移を Fig. 2 に示した。NTG の血中濃度は投与速度の増加に伴い直線的に上昇した。しかし、血中濃度上昇の程度には個人差が認められ、症例間の血中濃度の差は投与量の増加に伴い大きくなった。

症例 10 では NTG の投与速度を $10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ に増量後に HR が 180 bpm 以上と頻脈が出現したため、NTG を減量した。血中濃度を測定した結果、 $8 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ の時点で NTG 血中濃度が $126.1 \text{ ng}/\text{ml}$ であったが、 $10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ に増量後に $190.0 \text{ ng}/\text{ml}$ まで上昇していた。

本研究には、生後1ヶ月以内の新生児症例が3例含まれていたが（症例7, 13, 15）、この3症例ではいずれも液体クロマトグラフィー質量分析法で血液試料からNTG由来のシグナルが確認できず、血中NTG濃度が測定できなかった。

【Fig.2 血中NTG濃度】

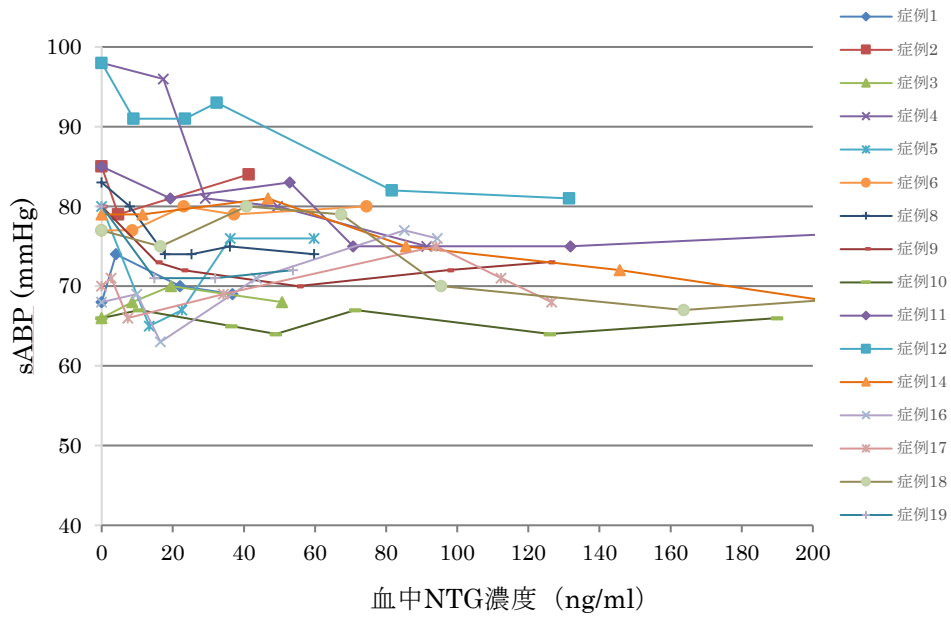


2-3. NTG の効果

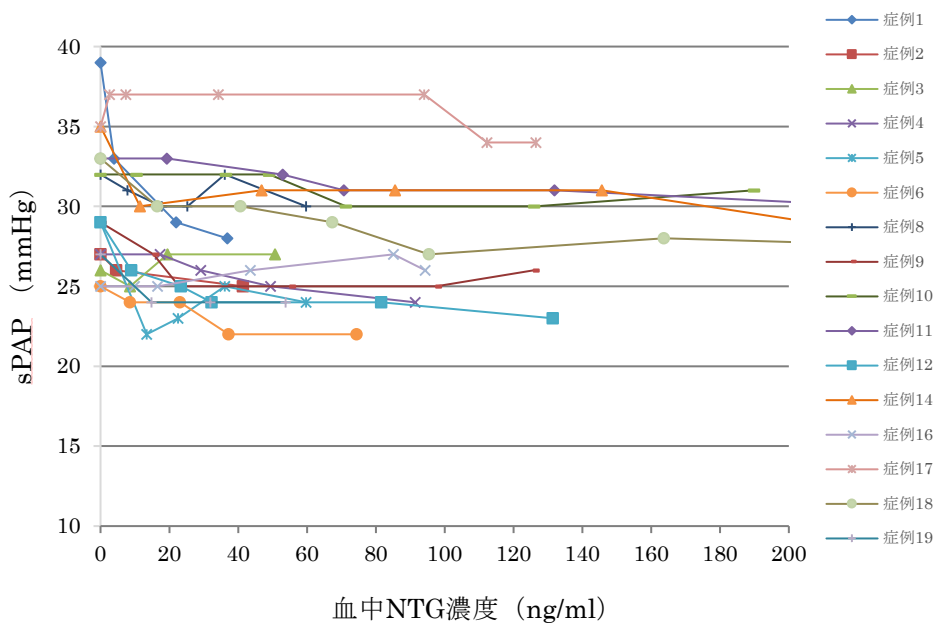
各血中NTG濃度測定時点におけるsABP、sPAP、Pp/Ps、TPG、SVRおよびPVRの変化について、症例ごとの推移をFig. 3に示した。

血中NTG濃度の上昇に伴い、sABPおよびsPAPが低下傾向にある症例も存在するが、全体的に明らかな濃度依存性変化は認めなかった (Fig.3-A, B)。また、Pp/Psにおいても血中NTG濃度の上昇に伴う変化を認めなかった (Fig.3-C)。一方、mPAP-mLAPで算出されるTPGでは、血中NTG濃度の上昇に伴い低下傾向にあり (Fig.3-D)、同様にPVRも血中NTG濃度依存性に低下した (Fig.3-E)。SVRの推移には血中NTG濃度との関連性は認めなかった (Fig.3-F)。

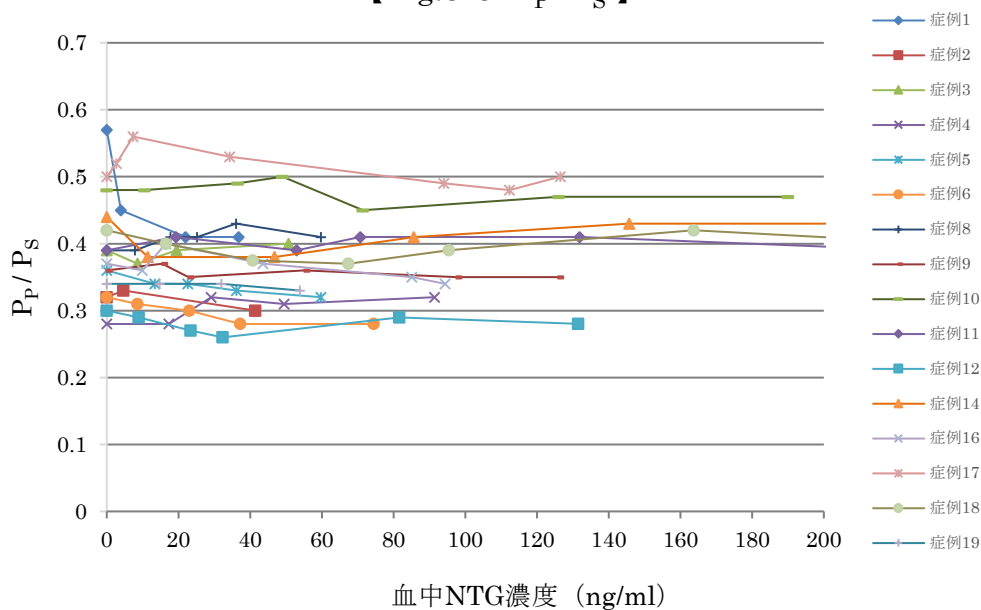
【Fig.3-A sABP】



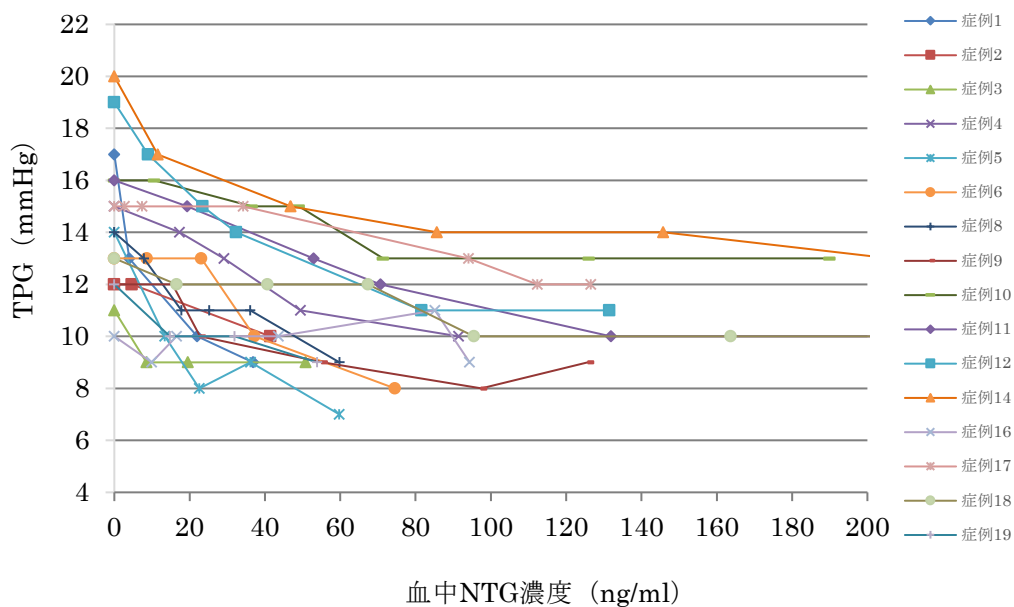
【Fig.3-B sPAP】



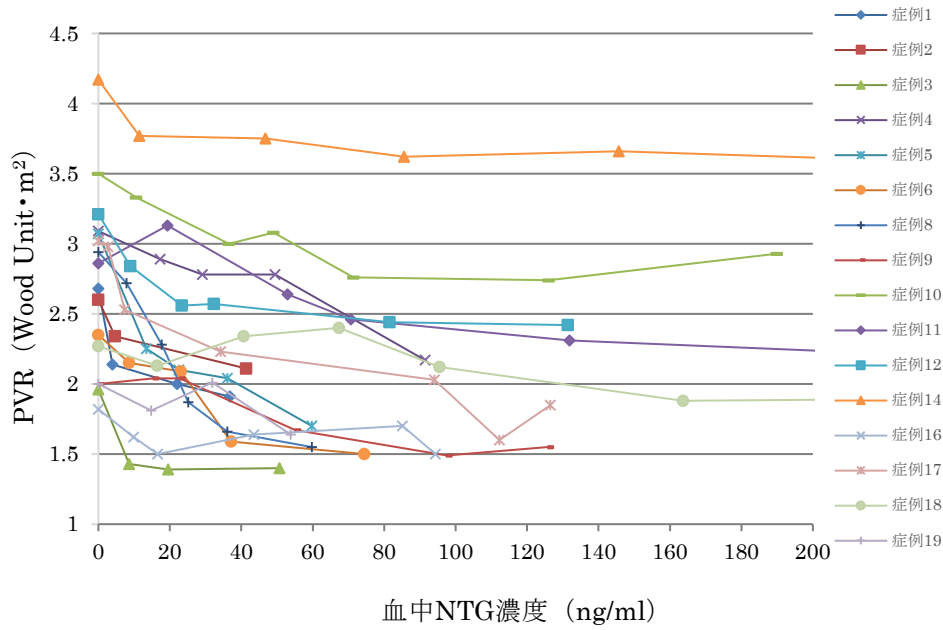
【Fig.3-C P_P/P_S 】



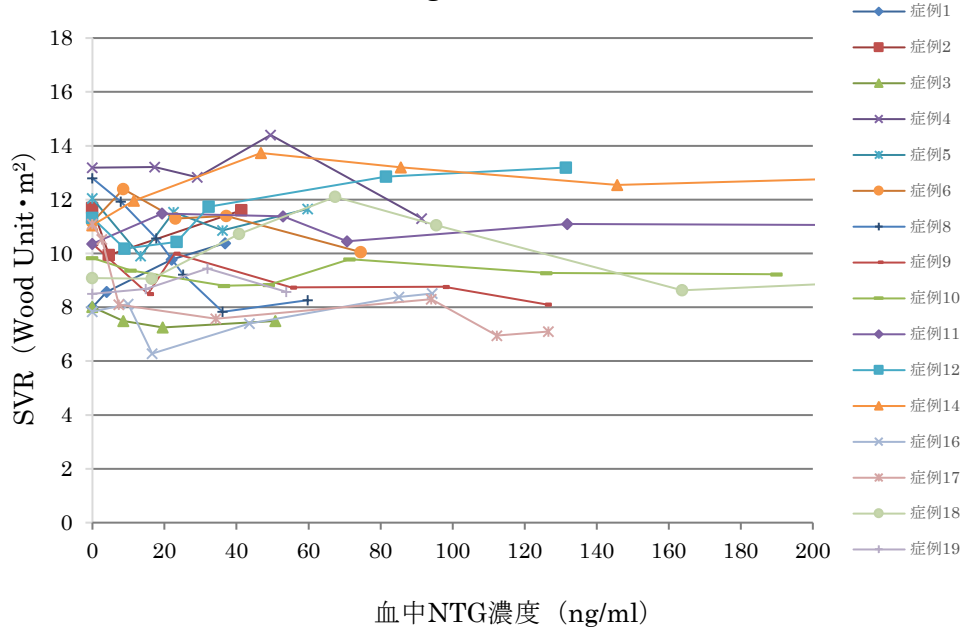
【Fig.3-D transpulmonary pressure gradient (TPG)】



【 Fig.3-E PVR 】



【 Fig.3-F SVR 】



血中 NTG 濃度が症例毎で大きく異なり血中濃度による比較、統計解析は困難であったため、前述の各パラメータについて NTG 投与前と全症例が組み入れられる最大投与速度として 4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 投与時で比較した (Table 3)。その結果、sABP、sPAP、TPG および PVR は NTG 4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 投与時において NTG 投与前よりも統計学的に有意に低下した。sABP および sPAP については、4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 投与時において投与前よりも統計学的に有意に低下していたが、それぞれの低下率は sABP で $-5.4 \pm 6.8\%$ 、sPAP で $-8.6 \pm 7.9\%$ であり、その変化は僅かであった。一方、 P_p/P_s および SVR については、NTG 投与前と 4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 投与時で有意な差は認められず、さらに各症例毎の NTG 最大投与速度時と投与前を比較しても、統計学的有意な変化は見られなかった。

Table 3 NTG 投与前と 4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 投与時の各パラメータの比較

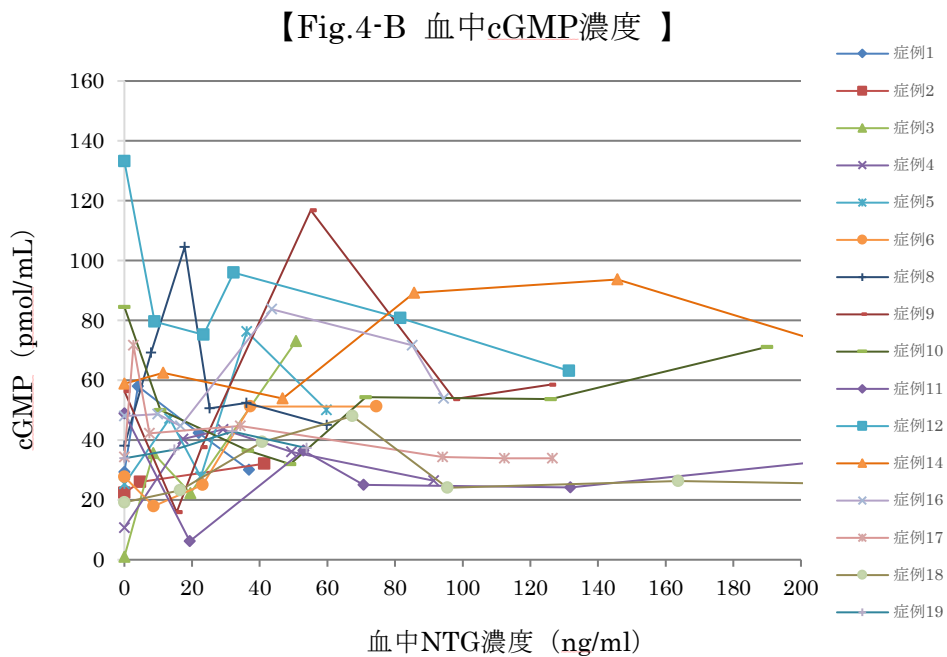
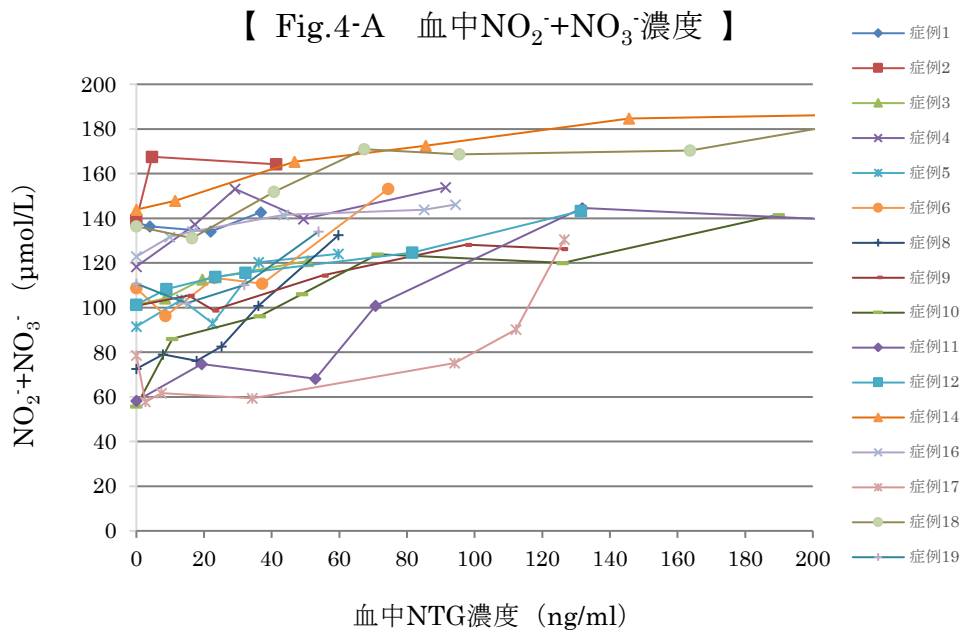
	NTG 投与前	NTG 4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$	<i>P</i>
sABP (mmHg)	77.3 \pm 9.9	72.8 \pm 8.4	0.003
sPAP (mmHg)	31.1 \pm 4.3	28.3 \pm 3.9	< 0.001
P_p/P_s	0.41 \pm 0.09	0.4 \pm 0.09	0.18
TPG (mmHg)	14.0 \pm 2.7	10.9 \pm 2.2	< 0.001
SVR (Wood Unit \cdot m ²)	10.4 \pm 1.6	10.1 \pm 2.0	0.39
PVR (Wood Unit \cdot m ²)	2.7 \pm 0.6	2.2 \pm 0.6	< 0.001

血中 NTG 濃度依存性に低下傾向にあった TPG および PVR においても、血中 NTG 濃度 80~100 ng/ml を境に効果はほぼ横ばいになっていた。血中 NTG 濃度 100 ng/ml 以上においては、TPG および PVR を含め各パラメータに明らかな変化はなく、NTG はおおよそ 100 ng/ml を境界に、これ以上血中濃度が上昇してもそれ以上の効果は認められなかった。

NTG の副作用としては、添付文書にも記載されているように、低血圧、頻脈、メトヘモグロビン血症や肺内シャントの増加による低酸素血症があげられている¹⁾。本研究で臨床上問題となる合併症は、一例で頻脈が見られたのみであった。体血圧は軽度低下したが、治療を要するような低血圧の発生はなかった。

2-4. 血中パラメータ

各血中 NTG 濃度における NO 代謝物 ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) および cGMP の血中濃度を測定した (Fig. 4)。



NO₂⁻+NO₃⁻は NTG の血中濃度上昇に伴いわずかに上昇傾向にあるように見えるが、個々の症例をみると NTG の血中濃度が上昇しても NO₂⁻+NO₃⁻の血中濃度は必ずしも上昇しておらず、全体的に一定の変化を示さなかった (Fig. 4-A)。同様に、cGMP の血中濃度も個体間の変動がさらに大きく、この推移にも NTG の血中濃度との関連性は認めなかった (Fig. 4-B)。

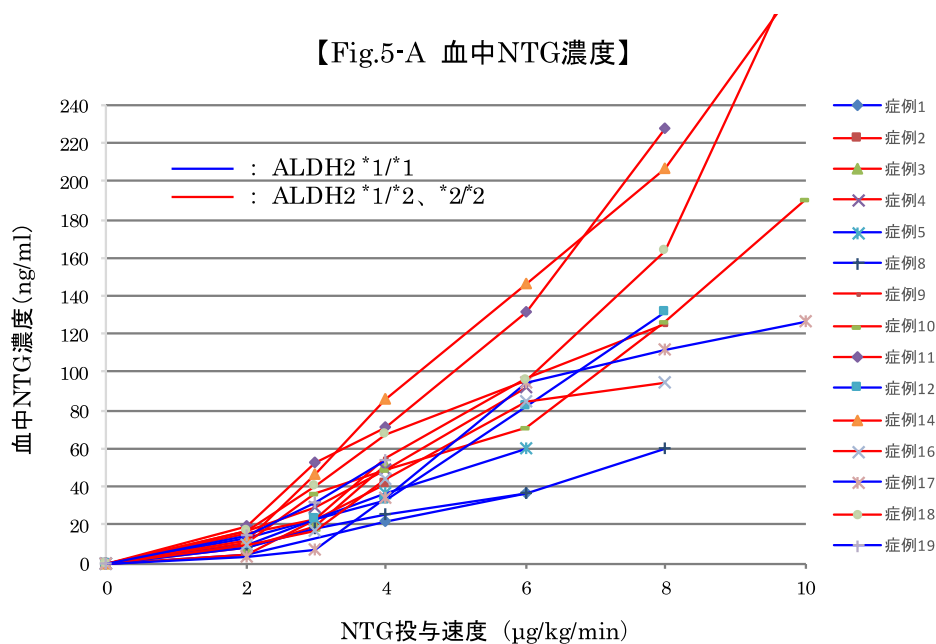
第 3 節 ALDH2 遺伝子多型解析

3-1. 遺伝子多型の分布

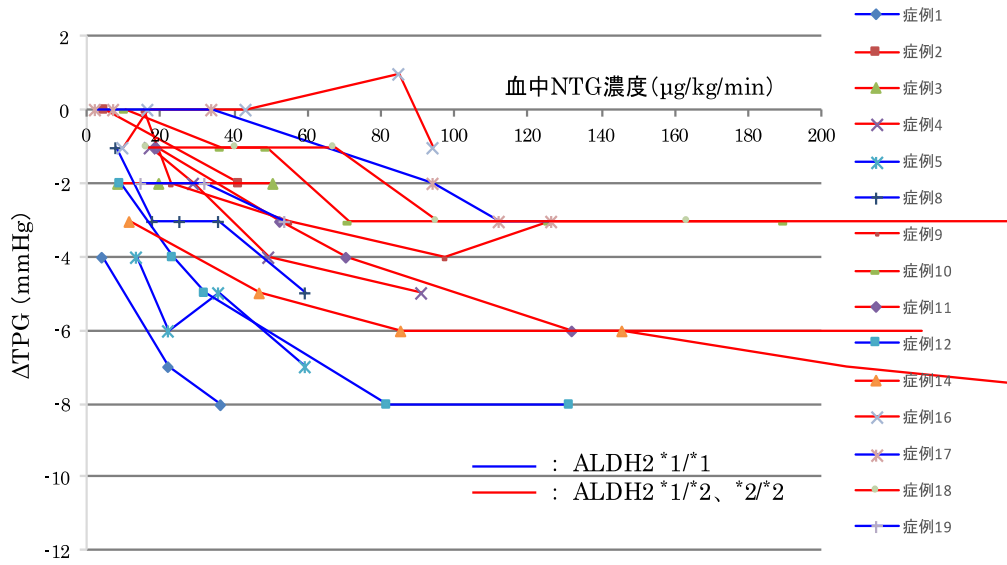
NTG の臨床研究に参加した 19 例のうち、遺伝子解析研究の同意が得られた 18 例を対象に遺伝子解析を行なった。18 例中 9 例が *ALDH2* *1/*1、7 例が *ALDH2* *1/*2、2 例が *ALDH2* *2/*2 であり Hardy-Weinberg の法則に従っていた。

3-2. 遺伝子多型の影響

Fig.2 および Fig.3 で示した結果のうち、血中 NTG 濃度、TPG および PVR の変化について、Group A (野生型ホモ接合体 *ALDH2* *1/*1 群)と Group B (ヘテロ接合体および変異型ホモ接合体 *ALDH2* *1/*2 + *ALDH2* *2/*2 群)に分けて比較した (Fig. 5)。また、全症例が組み入れられる最大投与速度として NTG 4 μg/kg/min 投与時における血中 NTG 濃度と、各パラメータ (sABP、sPAP、TPG および PVR)の NTG 投与開始前からの変化量を 2 群間で比較検討した (Fig. 6)。



【Fig.5-B ΔTPG】



【 Fig.5-C ΔPVR 】

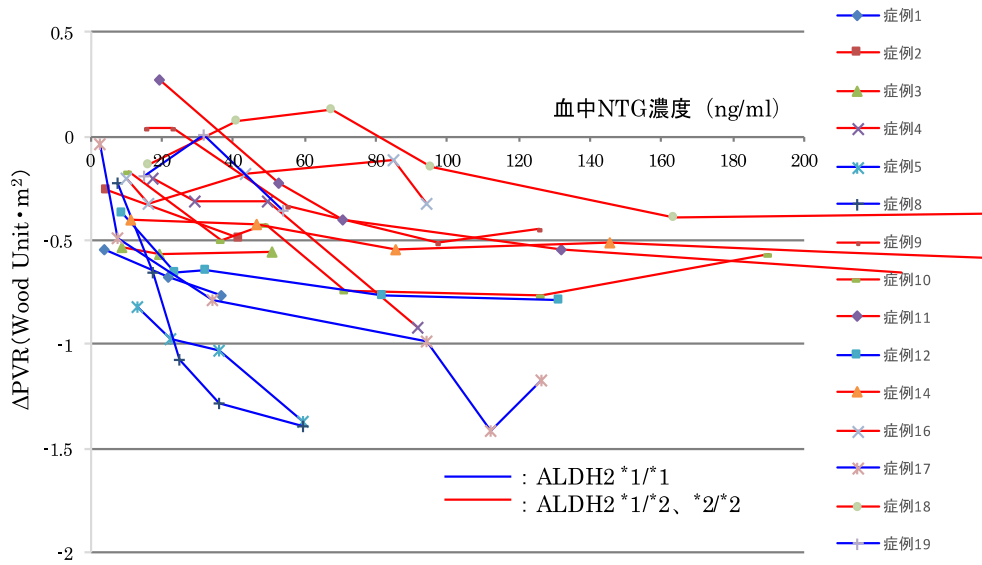
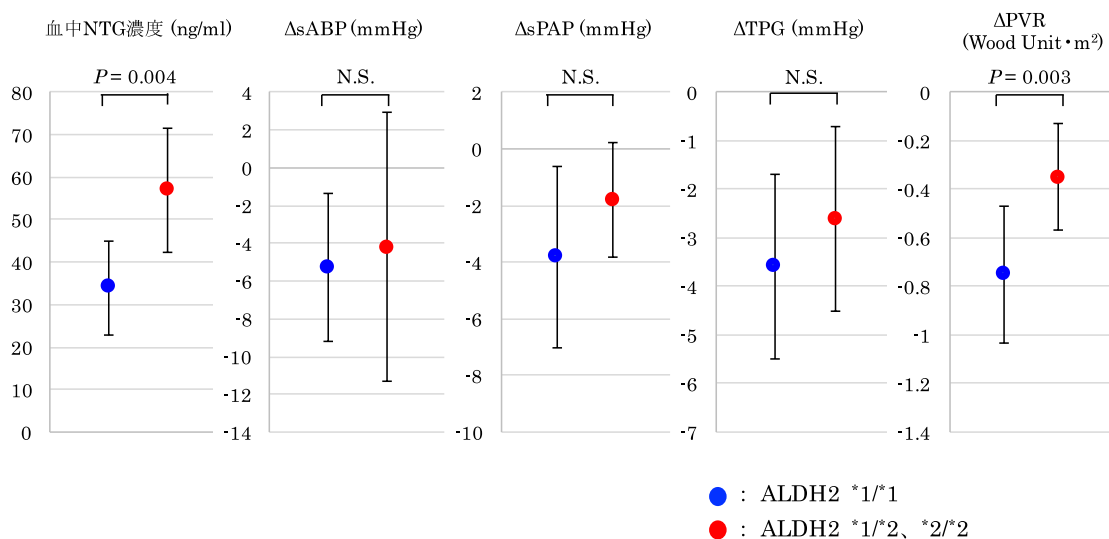


Fig.6 Group A と Group B の各パラメータの変化量の比較
(NTG4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 投与時)



Group B では Group A に比べ、各 NTG 投与速度時点において血中 NTG 濃度が高値になる傾向があり、投与速度の増量に伴い各群の血中濃度の差は大きくなった (Fig. 5-A)。NTG 4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 投与時の各群の血中 NTG 濃度を比較すると、それぞれ $57.0 \pm 14.6 \text{ ng/ml}$ (Group B) および $34.0 \pm 11.1 \text{ ng/ml}$ (Group A) であり、Group B で有意に高値であった ($p=0.004$, Fig. 6)。

TPG 変化量 (ΔTPG)には、Group A と、Group B の間で明らかな差を認めなかった (Fig. 5-B)。NTG 4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 投与時の各群の ΔTPG を比較すると、Group A で大きく低下する傾向にあったが、統計学的に有意差はなかった (Group A: $-3.6 \pm 1.9 \text{ mmHg}$ vs. Group B: $-2.6 \pm 1.9 \text{ mmHg}$, $p = 0.28$, Fig. 6)。

PVR 変化量 (ΔPVR) については、Group A の方が Group B よりも血中 NTG 濃度の上昇に伴う低下の程度が大きく (Fig. 5-C)、NTG 4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 投与時で比較すると Group A の方が ΔPVR は有意に大きかった (Group A: $-0.75 \pm 0.28 \text{ Wood Unit}\cdot\text{m}^2$ vs. Group B: $-0.35 \pm 0.22 \text{ Wood Unit}\cdot\text{m}^2$, $p = 0.003$, Fig. 6)。

sABP および sPAP に関しては、その変化量に遺伝子多型の影響は認めなかった (Fig. 6)。

考 察

本研究では、PH を合併した先天性心疾患の小児の術後管理に NTG を経静脈的に持続投与し、継時的に血行動態、薬物動態を調査した。血中 NTG 濃度は投与速度の増加に伴い直線的に上昇し、NTG 投与によって PVR と TPG は有意に低下した。小児先天性心疾患において、NTG による血行動態の変化を血中 NTG 濃度と関連づけて評価した研究は過去に報告がなく、本研究によって初めて明らかにした。また、NTG の代謝酵素の一つである ALDH2 の遺伝子多型によって NTG の生体内利用が低下することで、血中 NTG 濃度は上昇し NTG の効果は減弱することが示された。小児における、ALDH2 遺伝子多型の NTG の効果に及ぼす影響についても過去には報告がなく、本研究で初めて明らかになった。

先天性心疾患の周術期管理において PH は重要な合併症の一つであり、PH に対する薬物治療としては、NO 吸入、sildenafil や bosentan などの肺血管拡張薬の内服が推奨されている^{2), 7), 8)}。一方、NTG など血管拡張薬の静注に関しては、肺血管拡張において有効であるといった報告はあるが^{13), 21)}、肺血管特異性がなく体血圧も下げるために使用しにくいという考えもあり^{2), 22)-24)}、その使用の有効性に関してはコンセンサスがない。NTG、nitropurusside および alprostadil など、静注で用いる血管拡張薬の効果を検討した研究は古くから行われているが、その多くは心臓カテーテル検査中に行なわれているものである^{13), 21), 22), 25)}。また、PAP や TPG のモニタリングは周術期において有用であるが、その侵襲性の高さからデータは多くない。本研究のように、PH を合併した先天性心疾患の小児の術後管理に NTG を使用し、継時的に血行動態、薬物動態を調査した報告は少ない。

本研究では、まず液体クロマトグラフィー質量分析法を用いて血中 NTG 濃度を測定する系を作成した。NTG は血中での分解が早い薬物であるが、事前に血液試料中 NTG の安定性を確認し、本研究では対象症例から採血後すぐに冷却遠心処理を行なっているため、NTG の分解はほとんどないと考えられる。血中 NTG 濃度は投与速度の増加に伴い直線的に上昇することが確認されたが、血中濃度上昇の程度には個人差があり、投与速度の増加に伴いその差は大きくなっていった。過去に大林らは、ガスクロマトグラフィーを用いて血中 NTG 濃度測定を行った研究を報告しており、NTG を 1~2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ の投与速度で 24 時間持続投

与を行なった場合、動脈血中 NTG 濃度は 41.5 ± 9.0 ng/ml であった²⁶⁾。また、緑川らは、小児を対象に NTG を $5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ で持続静注した場合の血中 NTG 濃度測定を行っており、投与 120 min 後の血中濃度は 30 ng/ml 以下であったと報告している²⁷⁾。今回の研究で得られた血中 NTG 濃度は、これら過去の報告と比べると高値である。これは、今回の研究では NTG をより高用量で持続投与したためであることと、NTG 濃度測定方法としてガスクロマトグラフィー法より測定の感度および精度が高い液体クロマトグラフィー質量分析法を採用しているためと考えられる。現在、液体クロマトグラフィー質量分析法は治療薬物モニタリングでの血中薬物濃度測定などにも用いられ、血中濃度測定においては代表的な手法の 1 つと考えられる。また、対象者が全て 1 歳未満の小児であったことも影響しているかもしれない。

本研究では、新生児症例の 3 症例ではいずれも液体クロマトグラフィー質量分析法で血中 NTG 濃度が測定できなかった。この理由は不明だが、NTG 投与によって TPG や PVR は低下しており NTG の効果は認められた (NTG $4 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 投与時の TPG および PVR の変化量はそれぞれ、症例 7 で -3 mmHg および -1.0 Wood Unit $\cdot\text{m}^2$ 、症例 13 で -3 mmHg および -0.6 Wood Unit $\cdot\text{m}^2$ 、症例 15 で -3 mmHg および -0.3 Wood Unit $\cdot\text{m}^2$)。液体クロマトグラフィー質量分析法による物質定量では、対象化合物をイオン化させるために試料中の塩濃度や夾雑物質に大きく干渉される。また、本定量で検量線作成用に使用した血漿は成人由来のものである。したがって、新生児では NTG 濃度測定を阻害する何らかの物質が、乳幼児よりも血中に多く存在する、あるいは、NTG の代謝・排泄が非常に早く血中濃度測定が困難である、などの要因が考えられる。

血中 NTG 濃度の推移が症例毎で大きく異なるため統計解析は困難であるが、各々の症例において血中 NTG 濃度が上昇しても sABP、sPAP および P_p/P_s は明らかな変化が認められなかった。NTG 投与前と $4 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 投与時で比較した場合、sABP および sPAP において統計学的に有意な低下を認めたが、その変化率は sABP で -5.4 ± 6.8 %、sPAP で -8.6 ± 7.9 % と僅かであった。一方、TPG および PVR には血中 NTG 濃度の上昇に伴い低下傾向が認められた。これは NTG 投与により肺動脈が拡張し、肺循環に血液が流れやすくなっていることを示唆している。PH の周術期管理では PAP を低下させ PH crisis を予防することが重要であり、これらの結果から PH の周術期管理において NTG 投与は有効であると考えられる。

PVR が血中 NTG 濃度の上昇に伴い低下する一方、SVR には NTG 投与による有意な変化を認めなかった。NTG を投与しても SVR が低下していないこと、および sABP の低下が僅かであったことから、体動脈に対する NTG の影響は少なく、低血圧など体循環における有害反応を起こしにくいと考えられる。NTG 静注は肺血管選択性がないため血圧低下の危険があると考えられているが²⁾、²²⁾⁻²⁴⁾、NTG、nitroprusside および epoprostenol の血管拡張作用を比較した過去の研究では、NTG の方が体血圧を下げにくいという報告もある^{26), 28)}。本研究の結果は、この報告と矛盾しない結果であると考えられる。今回の結果から、NTG は肺血管および体血管の両方を拡張させるが、肺血管拡張作用の方がより強いと考えられる。つまり、肺循環に血液が流れやすくなる一方で体血圧の低下は軽度であるために、PH の管理において NTG は望ましい薬剤と考えられる。

NTG は体内で代謝され NO を産生し、血管平滑筋細胞内の cGMP の増加を介して血管拡張作用を発揮する。NTG の血管拡張作用発現のメディエーターとして血中 NO 代謝物 ($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$)、cGMP 濃度を測定したが、今回の検討では血中 NTG 濃度とこれらメディエーターの変化に一定の関係は認められなかった。この結果は、NTG により肺動脈が拡張し TPG および PVR が低下したという結果と一致しない。しかし、これらのサンプル採取は末梢動脈の採血から行っているため、この結果は肺循環血中の NO 代謝物 ($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$) および cGMP 濃度を正確に反映していない可能性がある。肺動脈から採血したサンプルで同様の測定を行なった場合、血中 NTG 濃度との相関が認められるかもしれない。

過去に、成人を対象として NTG を持続静脈投与し血中 cGMP 濃度を測定した報告がある²⁹⁾。この研究では、末梢動脈血中 cGMP 濃度は NTG 投与量に依存的に減少し、静脈血中ではわずかに増加している。またこの研究では、NTG 投与前の末梢動脈血中 cGMP 濃度は $6.7 \pm 1.1 \text{ pmol/ml}$ であった。この値と本研究の値を比較すると、本研究での小児の末梢動脈血中 cGMP 濃度 (NTG 投与前 $50.8 \pm 37.1 \text{ pmol/ml}$) はかなり高濃度であることが分かる。小児では成人に比べ cGMP 濃度が高値であること、そして末梢動脈血中 cGMP 濃度が NTG の濃度依存的に増加しないことは、小児では成人よりも末梢動脈が拡張しやすい環境下にあることを示唆している。つまり、高用量の NTG を投与しても小児では体血圧が下がり過ぎない (有害事象なく安全に使用できる) 要因の一つかもしれない。

本臨床研究のデータ収集後、NTGは1～2日間程度4～8 µg/kg/minで維持し、NTG貼付剤や肺血管拡張薬の内服薬を併用しながらNTG持続静注を減量中止した。NTG減量後にPAPが急上昇しPH crisisを起こした症例が2例存在した。これらの症例はNTG再増量やNO吸入、fentanyl+rocuronium再投与による深鎮静などによってcrisisを乗り切った。

血中NTG濃度100 ng/ml以上においては各パラメータに明らかな変化はなく、NTGはおおよそ100 ng/mlを境界に、それ以上にはTPGおよびPVRに及ぼす効果は増強しないと考えられた。

血中NTG濃度の上昇は個人差が大きいため、100 ng/mlに達するための投与量を一概に定義することは困難だが、通常6～8 µg/kg/minまでは有害事象なく使用できると考えられる。

NTGの血中濃度と効果を検討していく中で、その薬物動態と薬力学には個人差が大きいことが明らかとなった。NTGは、体内で代謝される過程でNOを供給し、血管拡張作用を発揮するが、このNTGからのNO遊離には、ALDH2が関与しており、過去に、このALDH2の遺伝子多型とNTGの薬効との関連が報告されている^{17),18)}。また、血中NTG濃度が約1 µM (= 227.1 ng/ml)以下の場合、NTGの生体内活性は主にALDH2に依るものであるとの報告もあり³⁰⁾、本研究において、NTGの薬物動態及び治療効果に影響を及ぼす要因としてこのALDH2に注目した。

ALDH2遺伝子多型は日本人では約50%に見られると報告されており¹⁶⁾、本研究でもヘテロ接合体ALDH2*1/*2と変異型ホモ接合体ALDH2*2/*2を合わせた割合は50%(9/18)であり、その頻度は過去の報告と一致していた。野生型ホモ接合体ALDH2*1/*1は全て女児であり、遺伝子多型の有無に明らかな性別差が見られたが、過去に性別による差異に関する報告はない。本研究の症例数が18と少なかったためこのような結果になった可能性があり、より多くの症例で検討すれば、今回のような性別差は小さくなると予想される。

ALDH2の触媒によるNTG代謝は、NTG代謝の一部を担っており、遺伝子多型ALDH2*1/*2、ALDH2*2/*2によるALDH2の酵素活性低下はNTG代謝低下の原因になり、その結果血中NTG濃度の上昇につながると考えられる。

今回の研究では、ALDH2遺伝子に変異を有するGroup BにおけるNTG 4 µg/kg/min投与時の血中NTG濃度は、変異のないGroup Aに比べ有意に高値であり、投与速度6 µg/kg/minの時点でも同様にGroup Bの方が血中NTG濃

度は高値であった ($p=0.03$)。NTG 8 および 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 投与時では、症例数が少なくなるため統計学的解析は困難であったが、同様に Group B の方が血中 NTG 濃度は高値であった (Fig. 5-A)。

一方、PVR の低下は NTG 4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 投与時において Group B の方が Group A に比べ有意に小さくなっていった。また、sPAP および TPG においても、有意差は認めなかったが Group B で変化が小さくなる傾向にあった。各症例における NTG 最大投与速度(4~10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$)時で PVR、sPAP および TPG を比較しても、同様の結果であった。これは、*ALDH2* 遺伝子に変異を有する Group B では、血中 NTG 濃度は高値になるが、薬効は減弱する、ということを示している。*ALDH2* は肺組織にも発現しており、*ALDH2* 遺伝子多型が肺血管に対する NTG の薬効に影響を及ぼすことは十分考えられる。

過去の *in vitro* の研究では、血中 NTG 濃度が約 $1\mu\text{M}$ (= 227.1 ng/ml) 以下の場合、NTG の生体内活性は主に *ALDH2* に依るものであると報告されている³⁰⁾。今回の研究では、NTG 8 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 投与時までは、ほぼ全ての症例において血中 NTG 濃度は 227.1 ng/ml 以下であることから、NTG が NO と 1,2-GDN に分解されて生体内利用される過程において、*ALDH2* が主に作用していると考えられる。これらの知見より、*ALDH2* 遺伝子多型 *ALDH2**1/*2 および *ALDH2**2/*2 では NTG の生体内利用が低下するために、血中 NTG 濃度が高くなるものと考えられる。

NTG の血管拡張作用における *ALDH2* 遺伝子多型の影響については、本研究と異なる報告がある。Xia らは、対象者に NTG を舌下投与し心拍出量と体血管抵抗を測定したところ、*ALDH2* 遺伝子に変異のない群では心拍出量が増加したが、変異アレルを持つ群では逆に心拍出量が低下し、体血管抵抗の低下は変異のない群の方が大きくなったと報告している³¹⁾。一方、NTG を舌下投与した後上腕動脈の拡張作用を調べたところ、*ALDH2* 遺伝子変異の有無で血管拡張作用に差はなかった、という報告もある¹⁹⁾。これらの結果の違いは、対象者の選定、NTG 投与量、血管拡張作用の評価方法の違いなどに依る可能性がある。本研究では、*ALDH2* 遺伝子多型が血中 NTG 濃度や血管拡張作用に影響を及ぼすという結果を示したが、過去の報告と比較して 1) 対象者が 1 歳未満の小児に限られている、2) NTG を持続静脈投与している、3) 様々な NTG 投与速度で測定している、4) 血管抵抗を算出している、5) 血中 NTG 濃度を測定している、という点が異なっている。

本研究の結果から、小児において NTG の薬物動態／薬力学には個人差があり、その要因として *ALDH2* 遺伝子多型の影響が考えられた。遺伝子変異のある小児では NTG の血管拡張作用は減弱する傾向にあり、投与速度を上昇させても血中 NTG 濃度が上昇する一方で十分な薬効が得られない可能性がある。そのため、臨床においては、このような症例に対しては NO 吸入や肺血管拡張薬の内服など、NTG の代謝を必要としない治療法を積極的に併用する必要があると考える。

本研究にはいくつかの limitation がある。1 つ目は症例数が 19 (*ALDH2* 遺伝子多型解析は 18) と少ないことである。2 つ目は、既に述べたように、血中 NO 代謝物 ($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$) と cGMP 濃度を測定するためのサンプル採取を末梢動脈の採血から行なっていることである。そのため、今回の $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$ および cGMP 測定結果が肺循環血中の濃度を正確に反映していない可能性がある。3 つ目は対象者が全て 1 歳未満の乳児に限られていることである。今回の結果は、年長児や成人に当てはまらない可能性がある。

結 論

本研究では先天性心疾患に肺高血圧を合併した小児を対象に、術後に NTG を静脈内投与して NTG の薬物動態／薬力学を解析し、肺高血圧に対する治療効果を検討した。小児への NTG 静脈内投与は、 $6 \sim 8 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ の範囲内では有害事象なく、TPG および PVR を低下させ PH の周術期管理において有益であった。NTG は投与速度に比例して血中濃度が上昇し、肺血管を拡張させ肺循環を改善させる一方で体血管への影響は僅かであった。血管拡張作用が肺血管においてより効果的であり、体血圧の低下は軽度であることから、NTG は PH の管理において望ましい薬剤と考えられる。NTG の代謝酵素の 1 つである *ALDH2* には遺伝子多型が存在し、遺伝子変異のある (*ALDH2* *1/*2 および *ALDH2* *2/*2) 小児では、変異のない (*ALDH2* *1/*1) 小児に比べて、NTG の生体内利用が低下するため、血中 NTG 濃度は高くなり、血管拡張作用は低下することが示された。*ALDH2* 遺伝子多型は NTG の薬物動態／薬力学に影響すると考えられ、遺伝子変異のある症例に対しては、NO 吸入や肺血管拡張薬の内服など、NTG の代謝を必要としない治療法の積極的な導入が望ましいと考える。

謝 辞

本論文は自治医科大学大学院医学研究科臨床薬理学講座在籍中の研究成果をまとめたものである。同講座教授今井靖先生、前教授藤村昭夫先生には指導教官として本研究の実施の機会を与えて頂き、御指導を頂きました。ここに深謝の意を表します。同講座牛島健太郎先生、相澤健一先生には研究の遂行・論文の作成の細部にわたり御指導を頂きました。ここに深謝の意を表します。本研究に日頃より御協力頂き有益な御助言を頂いた麻酔科教授竹内護先生、小児手術集中治療部多賀直行先生、片岡功一先生、大塚洋司先生、岩井英隆先生、橘木浩平先生、小児先天性心臓血管外科教授河田政明先生、吉積功先生、鶴垣伸也先生に深謝の意を表します。臨床薬理学講座の各位には日頃より本研究の遂行にあたり御協力を頂きました。ここに深謝の意を表します。

引用文献

- 1) Mulder BJ. Changing demographics of pulmonary arterial hypertension in congenital heart disease. *Eur Respir Rev.* 19: 308-13、2010
- 2) Floh AA, Krawczeski CD, Schwartz SM. Peri-operative care of the child with congenital heart disease. *Pediatric Critical Care Medicine.* Volume 4. Second ed: 329-51、2014
- 3) Badesch DB, Champion HC, Sanchez MA, Hoeper MM, Loyd JE, Manes A, McGoon M, Naeije R, Olschewski H, Oudiz RJ, Torbicki A. Diagnosis and assessment of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 54: S55-66、2009
- 4) Kovacs G, Berghold A, Scheidl S, Olschewski H. Pulmonary arterial pressure during rest and exercise in healthy subjects: a systematic review. *Eur Respir J.* 34: 888-94、2009
- 5) Rich S, Dantzker DR, Ayres SM, Bergofsky EH, Brundage BH, Detre KM, Fishman AP, Goldring RM, Groves BM, Koerner SK, Levy PC, Reid LM, Vreim CE, Williams GW. Primary pulmonary hypertension. A national prospective study. *Ann Intern Med.* 107: 216-23、1987
- 6) Tulloh RM. Congenital heart disease in relation to pulmonary hypertension in pediatric practice. *Paediatr Respir Rev.* 6: 174-80、2005
- 7) Schwartz BG, Kloner RA. Drug interactions with phosphodiesterase-5 inhibitors used for the treatment of erectile dysfunction or pulmonary hypertension. *Circulation.* 122: 88-95、2010

- 8) Galie N, Seeger W, Naeije R, Simonneau G, Rubin LJ. Comparative analysis of clinical trials and evidence-based treatment algorithm in pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 43: 81S-88S, 2004
- 9) Baines PB, Selby A. Pulmonary hypertension, persistent fetal circulation, and Eisenmenger Syndrome. *Pediatric Cardiac Anesthesia 4th ed:* 536-550, 2005
- 10) Guglin M, Mehra S, Mason TJ. Comparison of drugs for pulmonary hypertension reversibility testing: A meta-analysis. *Pulmonary Circulation.* 3: 406-13, 2013
- 11) Mookherjee S, Fuleihan D, Warner RA, Vardan S, Obeid AI. Effects of sublingual nitroglycerin on resting pulmonary gas exchange and hemodynamics in man. *Circulation.* 57: 106-10, 1978
- 12) Ilbawi MN, Idriss FS, Deleon SY, Berry TE, Duffy CE, Paul MH. Hemodynamic effects of intravenous nitroglycerin in pediatric patients after heart surgery. *Circulation.* 72: 101-7, 1985
- 13) Pearl RG, Rosenthal MH, Schroeder JS, Ashton JP. Acute hemodynamic effects of nitroglycerin in pulmonary hypertension. *Ann Intern Med.* 99: 9-13, 1983
- 14) Chen Z, Zhang J, Stamler JS. Identification of the enzymatic mechanism of nitroglycerin bioactivation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 99: 8306-11, 2002
- 15) Lang BS, Gorren AC, Oberdorfer G, Wenzl MV, Furdui CM, Poole LB, Mayer B, Gruber K. Vascular bioactivation of nitroglycerin by aldehyde dehydrogenase-2: reaction intermediates revealed by

- crystallography and mass spectrometry. *J Biol Chem.* 287: 38124-34, 2012
- 16) Amamoto K, Okamura T, Tamaki S, Kita Y, Tsujita Y, Kadowaki T, Nakamura Y, Ueshima H. Epidemiologic study of the association of low-Km mitochondrial acetaldehyde dehydrogenase genotypes with blood pressure level and the prevalence of hypertension in a general population. *Hypertens Res.* 25: 857-64, 2002
 - 17) Li,Y, Zhang D, Jin W, Shao C, Yan P, Xu C, Sheng H, Yu J, Xie Y, Zhao Y, Lu D, Nebert DW, Harrison DC, Huang W, Jin L. Mitochondrial aldehyde dehydrogenase-2 (ALDH2) Glu504Lys polymorphism contributes to the variation in efficacy of sublingual nitroglycerin. *J Clin Invest.* 116: 506-11, 2006
 - 18) Mackenzie IS, Maki-Petaja KM, McEniery CM, Bao YP, Wallace SM, Cheriyan J, Monteith S, Brown MJ, Wilkinson IB. Aldehyde dehydrogenase 2 plays a role in the bioactivation of nitroglycerin in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 25: 1891-5, 2005
 - 19) Miura T, Nishinaka T, Terada T, Yonezawa K. Vasodilatory effect of nitroglycerin in Japanese subjects with different aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) genotypes. *Chemico-Biological Interactions.* 276: 40-5, 2017
 - 20) Armstrong JA, Slaughter SE, Marks GS, Armstrong PW. Rapid disappearance of nitroglycerin following incubation with human blood. *Can J Physiol Pharmacol.* 58: 459-62, 1980
 - 21) Torres MJ, Delgado JJF, Sanz SJ, Gonzalez MA, Sanchez SV, Gamez DS, Escribano SP, Saenz de la CC. Effect of different pharmacologic agents to reverse severe pulmonary hypertension among end-stage

- heart failure patients. *Transplant Proc.* 41: 2477-9, 2009
- 22) Murali S, Uretsky BF, Reddy PS, Tokarczyk TR, Betschart AR. Reversibility of pulmonary hypertension in congestive heart failure patients evaluated for cardiac transplantation: comparative effects of various pharmacologic agents. *Am Heart J.* 122:1375-81, 1991
- 23) Muikku O, Hynynen M, Salmenpera M, Harjula A, Heinonen J. Pulmonary vascular effects of trinitroglycerin and isosorbide dinitrate after cardiopulmonary bypass. *Br J Anaesth.* 71: 720-4, 1993
- 24) Mandal B, Kapoor PM, Chowdhury U, Kiran U, Choudhury. Acute hemodynamic effects of inhaled nitroglycerin, intravenous nitroglycerin, and their combination with intravenous dobutamine in patients with secondary pulmonary hypertension. *Ann Card Anaesth.* 13: 138-44, 2010
- 25) Sulica R, Dinh HV, Dunsky K, Fuster V, Poon M. The acute hemodynamic effect of IV nitroglycerin and dipyridamole in patients with pulmonary arterial hypertension: comparison with IV epoprostenol. *Congest Heart Fail.* 11: 139-44, 2005
- 26) 大林靖典、橋本賢治、堀江元、井上亨、蔦本尚慶、伊藤誠、三ツ浪健一、本村正一、木之下正彦. ニトログリセリンの動静脈血中濃度と冠動脈、血行動態への作用. *臨床薬理.* 20: 193-4, 1989
- 27) 緑川由紀夫、山田寛一、宮澤典子、三島茂、鈴木玄一. ニトログリセリンテープの小児麻酔への応用. *臨床麻酔.* 11: 993-5, 1987
- 28) Yaster M, Simmons RS, Tolo VT, Pepple JM, Wetzel RC, Rogers MC. A comparison of nitroglycerin and nitroprusside for inducing hypotension in children: a double-blind study. *Anesthesiology.* 65:

175-9、1986

- 29) 大林靖典、木之下正彦、蔦本尚慶、小野進、中川雅博. Nitroglycerin 投与による血中濃度と血中 Cyclic GMP の産生. *臨床薬理*. 24: 481-91、1993
- 30) Chen Z, Foster MW, Zhang J, Mao L, Rockman HA, Kawamoto T, Kitagawa K, Nakayama KI, Hess DT, Stamler JS. An essential role for mitochondrial aldehyde dehydrogenase in nitroglycerin bioactivation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 102: 12159-64、2005
- 31) Xia JQ, Song J, Zhang Y, An NN, Ding L, Zhang Z. Effect of aldehyde dehydrogenase 2 gene polymorphism on hemodynamics after nitroglycerin intervention in Northern Chinese Han Population. *Chin Med J*. 128: 180-5、2015