

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2014-518283

(P2014-518283A)

(43) 公表日 平成26年7月28日(2014.7.28)

(51) Int.Cl. F I テーマコード (参考)
AO1N 1/02 (2006.01) AO1N 1/02 4H011

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 37 頁)

<p>(21) 出願番号 特願2014-519262 (P2014-519262)</p> <p>(86) (22) 出願日 平成24年7月3日 (2012.7.3)</p> <p>(85) 翻訳文提出日 平成26年2月20日 (2014.2.20)</p> <p>(86) 国際出願番号 PCT/US2012/045426</p> <p>(87) 国際公開番号 W02013/006631</p> <p>(87) 国際公開日 平成25年1月10日 (2013.1.10)</p> <p>(31) 優先権主張番号 61/504,644</p> <p>(32) 優先日 平成23年7月5日 (2011.7.5)</p> <p>(33) 優先権主張国 米国 (US)</p> <p>(31) 優先権主張番号 61/504,640</p> <p>(32) 優先日 平成23年7月5日 (2011.7.5)</p> <p>(33) 優先権主張国 米国 (US)</p>	<p>(71) 出願人 507318956 ニュー・ヘルス・サイエンシーズ・インコーポレイテッド NEW HEALTH SCIENCES, INC. アメリカ合衆国20817-1818メリーランド州ベセスダ、スウィート230、ロックリッジ・ドライブ6903番</p> <p>(74) 代理人 100092093 弁理士 辻居 幸一</p> <p>(74) 代理人 100082005 弁理士 熊倉 禎男</p> <p>(74) 代理人 100084663 弁理士 箱田 篤</p>
--	--

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 赤血球の長期保存システムおよび使用方法

(57) 【要約】

輸血用製剤を最適化するために、赤血球が酸素枯渇または酸素および二酸化炭素枯渇処理され、嫌気性環境で保存される、赤血球の保存のためのシステムおよび方法が開示される。より具体的には、採取から輸血までの赤血球の長期保存のために、輸血の前に赤血球を最適化するシステムおよび方法が開示される。

【選択図】 図 1 8

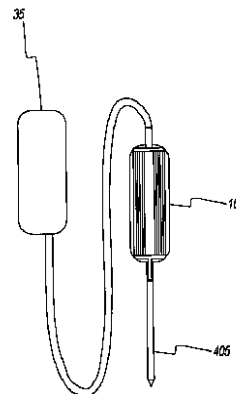


FIG. 18

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

赤血球(RBC)の調製方法であって、

全血を得ること；

全血からRBCを分離して濃縮RBCを調製すること；

場合により濃縮RBCに添加液を加えて濃縮RBC懸濁液を調製すること；

濃縮RBCまたは濃縮RBC懸濁液から酸素、二酸化炭素、または、酸素および二酸化炭素の両方(O/CD)を枯渇させてO/CD枯渇RBCを調製すること；

嫌気保存環境で前記O/CD枯渇RBCを保存してO/CD枯渇条件を維持すること、を含む前記方法。

10

【請求項 2】

添加液が、AS-1、AS-3、AS-5、SAGM、PAGG-SM、PAGG-GM、MAP、SOLX、ESOL、EAS61、OFAS1もしくはOFAS3またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

添加液がpH5.0~9.0を有する、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

添加液が抗酸化剤を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

記抗酸化剤がケルセチン、 α -トコフェロール、アスコルビン酸またはオキシダーゼ酵素阻害薬からなる群から選択される、請求項 4 に記載の方法。

20

【請求項 6】

O/CD枯渇RBCが、嫌気保存環境で冷蔵保存される、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の方法。

【請求項 7】

保存温度が1~6℃である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

嫌気保存環境で保存中に、O/CD枯渇RBCに栄養素または代謝サプリメントを添加することをさらに含む、請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の方法。

【請求項 9】

保存O/CD枯渇RBCを再酸素化して輸血のための酸素化したRBCを調製することをさらに含む、前記請求項 1 ~ 8 のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 10】

濃縮RBCまたは濃縮RBC懸濁液から酸素、二酸化炭素または酸素および二酸化炭素(O/CD)を枯渇させてO/CD枯渇RBCを調製することが、

ハウジングと、

前記ハウジング内に前記ハウジングの入口から出口まで延在する複数の中空繊維および/またはガス透過性フィルムもしくは繊維であって、酸素および二酸化炭素の両方に対して透過性である材料で形成され、RBCを受け取り、それを運ぶように適合された前記中空繊維および/またはガス透過性フィルムもしくは繊維と、

ハウジング内に、複数の中空繊維および/またはガス透過性フィルムもしくは繊維に隣接して収納されたある量の酸素吸着剤、二酸化炭素吸着剤または酸素吸収剤および二酸化炭素吸着剤、

40

とを含む酸素および/または二酸化炭素枯渇装置にRBCを通過させることを含む、請求項 1 ~ 9 のいずれかに記載の方法。

【請求項 11】

嫌気保存環境が、嫌気保存環境および二酸化炭素枯渇保存環境でO/CD枯渇RBCを維持するための酸素吸着剤および二酸化炭素吸着剤を含む二酸化炭素枯渇保存環境をさらに含む、請求項 1 ~ 10 のいずれかに記載の方法。

【請求項 12】

嫌気保存環境が、酸素枯渇および/または二酸化炭素枯渇条件にO/CD枯渇RBCを維持す

50

るために、酸素および二酸化炭素吸着剤を含む嫌気保存用バッグにO/CD枯濁RBCを保存することを含む、請求項1～11のいずれかに記載の方法。

【請求項13】

嫌気保存用バッグが、外部バッグおよびRBCと接触する内部バッグを含み、かつ、前記内部バッグと前記外部バッグとの間に配置される酸素および/または二酸化炭素吸着剤を含む、請求項12に記載の方法。

【請求項14】

全血、濃縮RBCまたは濃縮RBC懸濁液の白血球除去を更に含み、前記白血球除去が、酸素、二酸化炭素または酸素および二酸化炭素(O/CD)を枯濁させてO/CD枯濁RBCを調製する前または後に行われ、かつ、嫌気保存環境で保存する前、保存中または保存する後に行われる、請求項1～13のいずれかに記載の方法。 10

【請求項15】

濃縮RBCまたは濃縮RBC懸濁液の照射を更に含み、前記照射がRBCから酸素、二酸化炭素または酸素および二酸化炭素(O/CD)を枯濁させてO/CD枯濁RBCを調製する前または後に行われ、かつ、前記嫌気保存環境で保存する前、保存中または保存する後に行われる、請求項1～14のいずれかに記載の方法。

【請求項16】

全血、濃縮RBCまたは濃縮RBC懸濁液中の病原体の不活化を更に含み、前記不活化が、RBCから酸素、二酸化炭素または酸素および二酸化炭素(O/CD)を枯濁させてO/CD枯濁RBCを調製する前または後に行われ、かつ、前記嫌気保存環境で保存する前に行われる、請求項1～15のいずれかに記載の方法。 20

【請求項17】

全血、濃縮RBC、または濃縮RBC懸濁液のエディティングを更に含み、前記不活化がRBCから酸素、二酸化炭素または酸素および二酸化炭素(O/CD)を枯濁させてO/CD枯濁RBCを調製する前または後に行われ、かつ、前記嫌気保存環境で保存する前に行われる前記エディティングをさらに含む、請求項1～16のいずれかに記載の方法。

【請求項18】

嫌気保存環境での保存中または保存後にO/CD枯濁RBCに一酸化窒素(NO)またはNO前駆体分子を添加することをさらに含む、請求項1～17のいずれかに記載の方法。

【請求項19】

嫌気保存環境での保存後に、保存O/CD枯濁RBCの容量を低減させることをさらに含む、請求項1～18のいずれかに記載の方法。 30

【請求項20】

白血球除去が、全血、濃縮RBCまたは濃縮RBC懸濁液からの白血球の除去を含む、請求項14に記載の方法。

【請求項21】

白血球除去が、嫌気保存環境での保存前に行われる、請求項14に記載の方法。

【請求項22】

嫌気保存環境での保存前に全血、濃縮RBC、または濃縮RBC溶液をエディティングすることまたは前記嫌気保存環境での保存後に保存O/CD枯濁RBCをエディティングすることをさらに含む、請求項14に記載の方法。 40

【請求項23】

エディティングが、瀕死のRBCを同定および除去することを含み、かつ、エディティングが、全血からのRBCの分離前、全血からのRBCの分離後、前記嫌気保存環境での保存前または前記嫌気保存環境での保存後に行われる、請求項22に記載の方法。

【請求項24】

嫌気保存環境での保存中または保存後にO/CD枯濁RBCに一酸化窒素またはNO前駆体分子を添加することをさらに含む、請求項22に記載の方法。

【請求項25】

一酸化窒素の添加後にRBCの容量を低減させることをさらに含む、請求項24に記載の 50

方法。

【請求項 26】

酸素枯渇される前にRBCが照射される場合、照射の24時間以内に前記RBCから酸素が枯渇される、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 27】

照射がガンマ線またはX線照射である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 28】

エディティングが、瀕死のRBCを同定および除去することを含み、かつ、エディティングが、全血からのRBCの分離前、全血からのRBCの分離後、前記嫌気保存環境での保存前または前記嫌気保存環境での保存後に行われる、請求項 17 に記載の方法。

10

【請求項 29】

エディティングステップが、最も密度の高いRBCの10%を濾過することと；RBCの低張液を用いてRBCを浸透圧ショックに暴露し、前記ショックによって損傷を受けたRBCを除去することと；瀕死のRBCをトラップするためにフィルターを用い、前記フィルターに高アフィニティリガンドをつけて、瀕死のもしくは困窮したRBCを同定するのに適した所望の表面マーカーを有するRBCをトラップするかまたはポンプアレイ装置による処理によって変形能の低下したRBCを分離することとからなる群から選択されるプロセスによって瀕死のRBCを同定することを含む、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 30】

RBCをトラップするための所望の表面マーカーが、clustered Band-3またはホスファチジルセリンである、請求項 29 に記載の方法。

20

【請求項 31】

濃縮RBCから酸素および/または二酸化炭素(O/CD)を除去する前または後にRBCを照射すること、

嫌気保存環境での保存の前に全血、濃縮RBCもしくは濃縮RBC懸濁液をエディティングすることまたは嫌気保存環境での保存後に保存O/CD枯渇RBCをエディティングすること；

保存O/CD枯渇RBCの容量を低減させ、それによって再酸素化の前にRBCを濃縮すること；前記RBCが前記嫌気保存環境で保存されるとき、保存O/CD枯渇RBCに一酸化窒素を添加すること；および

低減した容量のO/CD枯渇RBCを再酸素化して、輸血のための酸素化したRBCを調製すること、

30

をさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 32】

酸素および/または二酸化炭素(O/CD)を除去してO/CD枯渇RBCを調製する前に全血、濃縮RBCまたは濃縮RBC懸濁液から白血球を除去すること；

酸素および/または二酸化炭素(O/CD)を除去してO/CD枯渇RBCを調製する前または後にRBCを照射すること；

酸素および/または二酸化炭素(O/CD)を除去してO/CD枯渇RBCを調製する前または後にRBC内の病原体を不活化すること；

嫌気保存環境での保存前に全血、濃縮RBCもしくは濃縮RBC懸濁液をエディティングすることまたは前記嫌気保存環境での保存後に保存O/CD枯渇RBCをエディティングすること；

40

保存O/CD枯渇RBCの容量を低減させ、それによって再酸素化の前にRBCを濃縮すること；前記RBCが前記気保存環境で保存されるとき、保存O/CD枯渇RBCに一酸化窒素を添加すること；および

低減した容量のO/CD枯渇RBCを再酸素化して、輸血のための酸素化したRBCを調製すること、

をさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 33】

赤血球(RBC)の長期保存システムであって、

RBCから白血球を除去するための装置；

50

RBCから酸素、二酸化炭素または酸素および二酸化炭素(O/CD)を除去するための装置

;

嫌気性条件にRBCを維持するための酸素吸着剤を含む、RBCを保存するための保存用バッグ;および

RBCを再酸素化するための装置;ならびに

前記RBCから白血球を除去するための装置と、前記RBCからO/CDを除去するための装置とを連結する配管、前記RBCからO/CDを除去するための装置と前記保存用バッグとを連結する配管;および前記保存用バッグと、RBCを再酸素化するための前記装置とを連結する配管、を含む前記システム。

10

【請求項34】

RBCから白血球を除去するための装置が、RBCを受容するための入口と、RBCを放出するための出口と、前記入口と前記出口との間に配置される、前記RBCから白血球を濾過するためのフィルターとを含む、請求項33に記載のシステム。

【請求項35】

RBCから酸素、二酸化炭素または酸素および二酸化炭素を除去するための装置が、ハウジングと;

前記ハウジング内にその入口から出口まで延在する複数の中空繊維および/またはガス透過性フィルムもしくは繊維であって、RBCを受容し、それを運搬するために適合された前記中空繊維および/またはガス透過性フィルムもしくは繊維と、

20

ハウジング内に、複数の中空繊維および/またはガス透過性フィルムもしくは繊維に隣接し、その中間に収納されたある量の酸素吸着剤、二酸化炭素吸着剤または酸素吸収剤および二酸化炭素吸着剤、とを含む請求項33に記載のシステム。

【請求項36】

保存用バッグが、輸液を受け取りための少なくとも1つのポートをさらに含む、請求項33に記載のシステム。

【請求項37】

輸液が、一酸化窒素またはNO前駆体、栄養素および代謝サプリメントを含む、請求項36に記載のシステム。

30

【請求項38】

バッグが、ガンマ線および/またはX線によって照射することができる、請求項33に記載のシステム。

【請求項39】

RBCを再酸素化するための装置が、RBCを受容するための入口と、RBCを放出するための出口とを備えるハウジング、RBCおよび酸素もしくは空気の通過のために中空繊維および/またはガス透過性フィルムもしくは繊維と前記ハウジングとの間に配置される、前記入口と前記出口との間の前記中空繊維および/またはガス透過性フィルムもしくは繊維、とを含む、請求項33に記載のシステム。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本願は、米国仮出願番号第61/410,684号(2010年11月5日出願)の利益を主張するものである米国特許出願番号第3/289,722号(2011年11月4日出願)のCIPである米国仮出願番号第61/250,661号(2009年10月12日出願)の利益を主張するものである米国特許出願第12/903,057号(2010年10月12日出願(放棄))のCONである米国特許出願番号第13/115,532号(2011年5月25日出願)のCIPである米国仮出願番号第61/311,693号(2010年5月5日出願)の利益を主張するものである米国特許出願番号第12/901,350号(2010年10月8日出願)のCIPである米国仮出願番号第61/504,640号(2011年7月5日出願)および米国仮出願番号第61

50

/504,644号(2011年7月5日出願)の出願日の利益を主張するものであり、そのそれぞれの内容は参照により本願に組み込まれる。

【0002】

開示の分野

本開示は、血液および赤血球の保存のためのシステムおよび方法に関する。より具体的には、本開示は、採取から輸血までの赤血球の長期嫌気保存のためのシステムおよび方法に関する。

【背景技術】

【0003】

液体の血液の供給は、現在、従来の血液保存業務において用いられている保存システムによって制限されている。現行のシステムを用いる場合、濃縮赤血球調製物において氷点以上の温度(すなわち4℃)での約42日間の冷蔵保存後に保存血液の期限が切れる。期限が切れた血液は、使用することができず、最終的なレシピエントを害すると考えられるため、廃棄されなければならない。血液がだめになる主な理由の1つは、保存された後にその代謝活性が継続することである。例えば、2007年においては、四千五百万単位を超える赤血球(RBC)が採取され、世界中で保存された(米国では一千五百六十万)。冷蔵保存時に、RBCは保存障害によって徐々に損傷を受ける。現行の6週間の期限内に輸血された場合、保存RBCは品質が低下(RBCの一部の除去;O₂運搬能の低下)しているばかりでなく、多くの場合、輸血治療の副作用として現れる潜在的毒性を有する。これらの保存障害は、保存細胞と関連する生化学的および物理的パラメータの変化として観察される。これらの例は、代謝物レベルの低下(ATPおよび2,3-DPG)、表面積の低下、棘状赤血球症、ホスファチジルセリン暴露および変形能の低下などのin vitro測定パラメータを含む。

保存血液は、保存期間中に生じる溶血、ヘモグロビン分解およびアデノシン三リン酸(ATP)濃度低下によって部分的に引き起こされる定常的な劣化を受ける。これらおよび他の理由によって、輸血に必要な容易に入手できる高品質の血液の量が制限される。

【0004】

上記のように、RBCが、機械的ストレスおよび絶えず循環する循環環境を離れて、血液保存用バッグ中、氷点以上の温度(例えば標準的な保存条件である1~6℃)で冷蔵保存されるとき、老化過程は部分的に停止される。しかしながら、冷蔵保存下で栄養補給および廃棄物の除去が一定になされない場合、RBCは徐々に損傷を受け、生理機能の低下が起こる。

例として、長期保存中に以下の問題が生じる：

- ・RBCが長期間保存される場合、保存障害が蓄積し、RBCが劣化し、RBCの1%までが保存中に溶血を生じ、25%までが輸血直後に除去される。
- ・慢性的に輸血される患者において、生存能力のないRBCが鉄過剰症を引き起こす。
- ・輸血によって、必ずしも、組織灌流の増加という意図する結果が得られるとは限らない。
- ・RBC内のヘモグロビンは、2,3-DPGの減少によって、組織に酸素を十分には放出しない。
- ・変形能の喪失によって、RBCは毛細血管床に入って灌流することができない。

【0005】

長期間保存したRBCの輸血は、“新鮮な”赤血球の輸血と比較して、高い罹患率と長期の入院をもたらす恐れがある。新鮮な赤血球と比較して、6週間以上保存されたRBCでは、高い罹患率と長期の入院をもたらされる。例えば、‘古い’血液を用いた場合、心臓手術において否定的な臨床結果が生じる；外科患者における多臓器不全は輸血された赤血球の年齢を反映する；重症敗血症における古いユニットと死亡率の増加との間の相関；2,3-DPGの減少に起因するO₂利用改善の不全および血液粘度の増加と関連する心係数の低下。

輸血の無効性および否定的結果は、少なくとも一部分において、RBCの長期保存の障害効果に帰することができることをこの根拠は示唆している。特定のRBCのレシピエントによる即座の除去に加えて、RBC保存障害の結果は：(i)ATPの枯渇(前毛細血管細動脈を広げるRBCの能力の喪失)；(ii)2,3-DPGの枯渇(iii)変性ヘモグロビンとO₂との反応によって生じる反応性酸素種(ROS)によって引き起こされる酸化障害の蓄積；および(iv)一部分に

10

20

30

40

50

において膜および細胞骨格への酸化障害によって引き起こされるRBCの変形能の低下およびRBCの粘度の増加を含む。変形性の低いRBCは、毛管路から排除され、低い毛細血管占有率および組織灌流の低下が起きる。また、非変形性細胞の大量輸血は、臓器の毛細血管床を遮断することによって多臓器不全を引き起こす恐れがある。輸血後、2,3-DPGは、in vivoで、7時間ほどで正常濃度の~50%まで、2~3日間で正常濃度の~95%まで比較的急速に合成される。しかしながら、2,3-DPG枯渇細胞は直ちにはそのレベルを回復しないので、重症患者の損傷にはO₂運搬能が障害されているため、O₂運搬および組織灌流を必要とする。このような臨床状態における高い酸素運搬能を有するRBCの重要性を強調する多数の報告がある。

【0006】

凍結血液の保存は当該技術分野で公知である。しかしながら、このような凍結血液には制限がある。長年にわたって、一定の高い需要によって、かつまれなタイプの血液のために、血液銀行および軍隊によって凍結血液が用いられてきた。しかしながら、凍結血液は扱いが困難である。凍結血液は解凍しなければならないが、このことは緊急事態には実際的ではない。ひとたび血液が解凍されたら、その血液は48時間以内に使用されなければならない。Serebrennikovへの米国特許第6,413,713号は、0以下の温度で血液を保存する方法に関する。

Hamasakiらへの米国特許第4,769,318号およびSasakawaらへの米国特許第4,880,786号は、血液の保存および活性化のための添加液に関する。Bitenskyらへの米国特許第5,624,794号、Bitenskyらへの米国特許第6,162,396号および米国特許第5,476,764号は、酸素枯渇条件での赤血球の保存に関する。Bitenskyらへの米国特許第5,789,151号は血液保存添加液に関する。

血液の保存および活性化のための添加液は当該技術分野で公知である。例えば、冷蔵保存(すなわち4℃)後に、輸血直前または長期保存のための冷凍(すなわち、グリセロールを用いて-80℃)直前に、Rejuvesol(enCyte社、ブレインツリー、マサチューセッツ州から入手できる)が血液に添加される。Hessらへの米国特許第6,447,987号は、ヒト赤血球の冷蔵保存のための添加液に関する。

【0007】

血液保存状態におけるATPレベルの上昇および保存の効果が研究された。例えば、“Studies In Red Blood Cell Preservation-7. In Vivo and in Vitro Studies With A Modified Phosphate-Ammonium Additive Solution,” by Greenwalt et al., Vox Sang 65, 87-94 (1993)において、該著者らは、20mM NH₄Cl、30mM Na₂HPO₄、2mMアデニン、110mMデキストロース、55mMマンニトール(pH7.15)を含む実験添加液(EAS-2)が、現行の標準である5~6週間から、改善された標準である8~9週間にヒトRBCの保存期限を延長するのに有用であることを決定した。濃縮RBCは、1回の洗浄段階での上清の除去後の輸血に適している。Greenwaltらはまた、ATP濃度以外の他の因子が、50日間の保存後のRBCの生存能力の決定においてますます重要な役割を果たしていると考えられることを結論した。彼らは、“The Viability Of Human Blood Stored In Phosphate Adenine Media,” Transfusion 7, 401-408 (1967)におけるL. WoodおよびE. Beutlerの結果を引用し、ATP濃度と24時間のRBC生存測定との間の関係が、約8週間の保存後にはあまりはっきりしなくなると考えられることを彼ら自身の実験において見出している。E. BeutlerおよびC. Westは、赤血球のATP濃度と生存能力との間の関係が、“Storage Of Red Cell Concentrates In CPD-A2 For 42 and 49 Days,” J. Lab. Clin. Med. 102, 53-62 (1983)における長期保存後には弱いものであることを再度述べている。

“Effects Of Oxygen On Red Cells During Liquid Storage at +4℃,” by Hogman et al., Vox Sang 51, 27-34 (1986)において、該著者らは、ATPの赤血球含量が、2~3週間後において、環境空気保存でよりも、嫌気性チャンバ内でやや高く維持されていることを議論している。静脈血を冷蔵し、酸素透過性保存用バッグを窒素環境に置くことによって、保存中に追加の酸素を奪い、それによって徐々に酸素飽和度のレベルを低下させた。4℃での保存中に酸素濃度の低下が徐々に起きるが、完全には程遠く、約60%で開始して、

10

20

30

40

50

5週間で約30%のヘモグロビンの飽和度に到達した。保存細胞の全体的な質に関するこの手順の影響に関して何ら結論を引き出すことはできない。これらの著者らは、ヘモグロビンへの酸素依存性損傷およびヘモグロビン分解産物によって引き起こされる酸素媒介損傷に取り組みもしなかつたし、それらを顕著に減少させることもなかつた。

【0008】

多くの特許が、血液保存の種々の側面に取り組んでいる。このような特許の1つはSatoらへの米国特許第4,837,047号であり、これは、血液の品質を良い状態に維持して長期間血液を保存するための容器に関する。Satoらは、血液における二酸化炭素ガスの分圧を低レベルに維持することによって、保存血液の保存寿命を改善することを目的にしている。このような分圧は、外側の大気で正規化することによって外見上得ることができる。二酸化炭素ガスが血液から外部に容易に拡散することを可能にする目的で、該容器は、二酸化炭素ガスに対して高浸透性を有する合成樹脂フィルムからなっている。しかしながら、血液中の酸素とヘモグロビンとの相互作用によって引き起こされる問題には取り組まれていない。

10

Ishikawaらへのもう1つの特許、米国特許第5,529,821号は、容器への血液の付着を防ぐための、血液の保存のための容器および方法に関する。血液は、複数の層を備えるシート材料で構成される容器中に保存され、ここで血液に接触する第1シートは、実質的に活性化を抑制し、該層への血小板の付着を抑制する。しかしながら、同様に、血液中の酸素とヘモグロビンとの相互作用によって引き起こされる問題が取り組まれていない。

現行の技術を考慮すれば、輸血に関連する罹患率を最小限にするために、輸血に先立って、保存される赤血球の品質を改善し、このような赤血球の保存寿命を延ばすことが求められている。

20

【発明の概要】

【0009】

このような必要性に取り組むために、本開示は、輸血用調製物を最適化するために、赤血球が、例えば酸素および二酸化炭素枯渇処理され、嫌気性環境で保存される、赤血球の保存のためのシステムおよび方法を含み、かつ提供する。

本開示は、輸血の前に赤血球を最適化する、採取から輸血までの赤血球の長期保存のためのシステムおよび方法を含む。

本開示は、赤血球(RBC)の調製方法であって、全血を得ること、前記全血からRBCを分離して濃厚RBCを調製すること、酸素を枯渇させて酸素枯渇RBCを調製するかまたは酸素および二酸化炭素を枯渇させて酸素および二酸化炭素枯渇RBCを調製すること、嫌気保存環境で酸素枯渇または酸素および二酸化炭素枯渇RBCを保存して酸素枯渇または酸素および二酸化炭素枯渇条件を維持すること、を含む前記方法を提供し、かつ含む。

30

【0010】

本開示の側面において、本方法はさらに、濃厚RBCに添加液を加えて懸濁液を調製することを含むことができる。いくつかの側面において、添加液は、AS-1、AS-3、AS-5、SAGM、PAGG-SM、PAGG-GM、MAP、SOLX、ESOL、EAS61、OFAS1またはOFAS3を単独または組み合わせで含むことができる。他の側面において、添加液はpH5.0~9.0を有することができる。他の側面において、添加剤は抗酸化剤を含むことができる。本開示のいくつかの側面において、抗酸化剤はケルセチン、 α -トコフェロール、アスコルビン酸またはオキシダーゼ酵素阻害薬であることができる。

40

本開示の側面において、統合された血液保存システムおよび方法は、輸血用保存血液を調製するための、酸素および二酸化炭素除去システムと、血液保存システムと、輸血前の手順とを含むことができる。

さらに、本開示はまた、輸血に備えてRBCを最適化するするための白血球除去およびエディティング(editing)ステップを組み込むことができるシステムおよび方法を含む。白血球除去は、ウイルスを媒介し、発熱の原因となりうる白血球を除去することを含むことができる。エディティングは、障害を生じた徴候を示すRBCを除去することを含むことができる。

50

【0011】

従って、本開示はまた、自己血輸血および改善された異種血輸血ロジスティックスの業務に合致する方法で、少なくともヘモグロビン分解、赤血球溶解(溶血)ならびにATPおよび2-3 DPG枯渇の問題に取り組み、赤血球の冷蔵保存がそれらのその後の使用に有害でない期間の顕著な延長を達成する、血液保存のための新規手順を提供する。

本開示はさらに、輸血に備えて、保存前に、あるいは保存中/保存後に、照射の効果を促進し、赤血球を安定化させるシステムおよび方法を提供する。

本開示はさらに、輸血に備えて、保存前または保存中に赤血球中に存在する好気性菌および寄生体の増殖を抑制するためのシステムおよび方法を提供する。

本開示はさらに、非DEHP型保存用バッグ中で保存中に赤血球の溶血および形態変化を最小限にするためのシステムおよび方法を提供する。

本開示はさらに、輸血に備えて、保存前または保存中に、赤血球の安定化および病原体不活化の促進のためのシステムおよび方法を提供する。

本開示はさらに、例えばRBCのレシピエントの血管拡張を可能にするために、保存中、保存後および輸血の直前に、赤血球に一酸化窒素を供給するためのシステムおよび方法を提供する。

本開示はさらに、保存後、赤血球の容量を低減させ、輸血の直前にこのようなRBCを再酸素化するためのシステムおよび方法を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】本開示の血液嫌気保存システムを用いる、採取から輸血までの構成要素および方法の例示的なフローチャートを示す図である。

【図2】血液が採取され、成分が分離され、任意の添加液が濃厚RBCに添加され、白血球除去され、次いで嫌気保存される、本開示の図1に記載の例示的なシステムを示す図である。

【図3 a】OFAS3添加液での長期保存における、ATPに対する酸素枯渇ならびに酸素および二酸化炭素枯渇の効果を示す図である。

【図3 b】OFAS3添加液での長期保存における、DPGに対する酸素枯渇ならびに酸素および二酸化炭素枯渇の効果を示す図である。

【図4 a】図5のシステムに記載の組み合わせ白血球除去フィルターおよび O_2/CO_2 枯渇装置の、RBC入口部分の部分詳細斜視図を示す図である。

【図4 b】図5のシステムに記載の組み合わせ白血球除去フィルターおよび O_2/CO_2 枯渇装置の、RBC入口部分の部分詳細斜視図を示す図である。

【図5】本開示の保存前酸素、二酸化炭素酸素および二酸化炭素枯渇装置を示す図である。

【図6】図5の装置の枯渇装置の断面図を示す図である。

【図7 A】枯渇装置の実施形態の断面図を示す図である。

【図7 B】枯渇装置の実施形態の断面図を示す図である。

【図7 C】枯渇装置の実施形態の断面図を示す図である。

【図7 D】枯渇装置の実施形態の断面図を示す図である。

【図8】それぞれ、赤血球における酸素および二酸化炭素の開始分圧および最終分圧を示す図である。

【図9】RBCの流速の関数としてのRBCにおける酸素の最終分圧および、図5と同様な装置に16.5トルのRBC懸濁液を送り込んだ場合の、RBCの流速に従った枯渇の変化を示す図である。

【図10】白血球除去および血漿分離構成要素を組み込んだ代替酸素/二酸化炭素枯渇装置を示す図である。

【図11 a】本開示に記載の代替血液バッグを示す図である。

【図11 b】本開示に記載の代替血液バッグを示す図である。

【図12 A】本開示に記載の血液保存用バッグの実施形態を示す図である。

10

20

30

40

50

【図12B】本開示に記載の血液保存用バッグの実施形態を示す図である。

【図13】本開示に記載の代替構成を示す図である。

【図14】容量低下の側面を示す図である。

【図15】本開示に従って保存したRBCのATPの比較を示す図である。

【図16】本開示に従って保存したRBCの2,3 DPGの比較を示す図である。

【図17】本開示に従って保存したRBCの溶血の比較を示す図である。

【図18】輸血の前にRBCを酸素化するための酸素化装置を備える輸血キットを示す図である。

【図19】白血球除去、酸素、二酸化炭素または酸素および/もしくは二酸化炭素枯渇を含む、本開示に記載の代替構成を示す図である。

10

【図20】白血球除去、酸素、二酸化炭素または酸素および/もしくは二酸化炭素枯渇ならびに、RBCの好気性および嫌気性条件下での異なる時点における照射を含む、本開示に記載の代替構成を示す図である。

【図21】白血球除去、酸素、二酸化炭素または酸素および/もしくは二酸化炭素枯渇ならびに、レシピエントへの輸血の直前の再酸素化を含む、本開示に記載の代替構成を示す図である。

【図22】白血球除去、酸素、二酸化炭素または酸素および/もしくは二酸化炭素枯渇ならびに、採取および保存時の種々の可能な時点での病原体不活化を含む、本開示に記載の代替構成を示す図である。

【図23】白血球除去、酸素、二酸化炭素または酸素および/もしくは二酸化炭素枯渇ならびに、保存時の種々の時点での一酸化窒素添加を含む、本開示に記載の代替構成を示す図である。

20

【発明を実施するための形態】

【0013】

発明の詳細な説明

赤血球(RBC)の輸血は、重度の貧血患者における組織および重要な末端器官の酸素化を改善することを目的とした救命治療である。輸血に用いられるRBCユニットの大部分は、添加剤/防腐薬溶液を含む酸素透過性ポリ塩化ビニル血液バッグ中、1~6で最大42日間まで保存される。

【0014】

30

例示的な定義:

供血者: 健常者または供血者から好ましくは全血が供血され、最終的にレシピエントに使用されるために、あとでの使用のために血液銀行で保管される。手術または他の治療を予定する被験者は、自己供血として知られるプロセスにおいて、自分自身のために血液を供血することができる。あるいはまた、異種血輸血として知られるプロセスにおいて、他人が使用するために血液が供血される。供血者から採取される全血試料または患者からの自己血輸血における全血試料の採取は、供血またはアフエーシスなどの当該技術分野で公知の技術によって達成され得る。

全血: 全血は、電解質、ホルモン、ビタミン、抗体などを含む血漿に懸濁した赤血球、白血球、血小板を含む血球の懸濁液である。

40

赤血球(RBC): *in vivo*でのヒト赤血球は動的状態にある。全血中では、白血球は、通常、4,300~10,800細胞/ μL の範囲で存在し、海面レベルでの通常のRBCの範囲は、男性では5,400,000/ μL (+0.8)であり、女性では4,800,000/ μL (+0.6)である。赤血球は、身体全体に酸素を運び、赤血球にその色を与える鉄含有タンパク質であるヘモグロビンを含む。血液量に対する赤血球のパーセントはヘマトクリットと呼ばれる。濃縮赤血球は、当該技術分野で公知の遠心分離技術を用いて全血から調製することができる。本開示の一側面において、濃縮赤血球は、後の輸血のために、保存システムに保存される血液成分であることができる。

【0015】

赤血球(RBC)の通常の寿命は120日間である。脾臓によって24時間ごとにRBCのおおよそ

50

.875%が破壊され、骨髄によって新しいRBCが作られる。その結果として、供血者から血液が採取されるとき、一定の割合の白血球および種々の齢の一連の細胞が存在する。

RBCの主な機能は、肺および組織における酸素と二酸化炭素の交換であり、体内の他の細胞とは異なり、酸化リン酸化において酸素には依存せず、ATP産生のための解糖にのみ依存する。ATPは、2,3-ジホスフォグリセリン酸(2,3-DPG)と共に、RBCの生存能力に不可欠であり、それらの遊離サイトゾル濃度は、解糖系における重要な酵素に対するフィードバック阻害に対するそれらの機能によってタイトに制御されている。冷蔵保存条件下では、数週間の保存にわたって、ATPおよび2,3-DPGの徐々の枯渇を克服するために、解糖系の脱抑制が望ましい。RBCにおけるヘモグロビン濃度は2,3-DPGおよびATPと同様であり、その脱酸素化状態は、オキシヘモグロビンと比較して、2,3-DPGおよびATPに高い親和性を有する結合ポックを備える。従って、この酸素を数%の占有まではがす(採取され処理されたとき、~60%ふさがれている)ことによって、2,3-DPGおよびATPの取り込みが起こり、遊離分子の濃度の低下が起こり、解糖系フラックスが上昇する。

10

【0016】

血小板:血小板は、血管の内層に固着することによって凝固プロセスを容易にする血液中の小さな細胞成分である。血小板は、赤血球と同様に、骨髄で作られ、循環系内で9~10日間生存し、次いで脾臓によって破壊される。血小板は、一般的には、遠心機を用いて血漿から血小板を分離することによって調製される。

血漿:血漿はタンパク質-塩溶液であり、赤血球、白血球および血小板が懸濁されている血液の液体部分である。血漿は90%が水であり、血液量の約55パーセントを構成する。血漿の主な機能の1つは、血液凝固および免疫を助けることである。血漿は、血液の液体部分を細胞から分離することによって得られる。一般的には、血漿は、遠心分離によって細胞から分離される。遠心分離は、全血の成分を血漿、白血球、血小板および濃縮赤血球に分離するためにいられるプロセスである。遠心分離中、軽い遠心分離に際して、血漿は最初に容器の上部に移動する。次いで容器から血漿を取り出す。2回目の遠心分離サイクル中に、白血球および血小板を除去して濃縮赤血球を調製する。本願は、従来用いられている器械類のコストを最小限にする、遠心機の使用に代わる効率的な選択肢を論ずる。

20

【0017】

本開示は、その最も一般的な形態において、供血者からの全血の受け取りからレシピエントへの輸血までの赤血球の調製および長期保存のための統合されたシステムおよび方法を提供し、かつ含む。例として、図1は、保存前段階A、嫌気性環境での保存段階Bおよび保存後段階Cを通じて、嫌気保存方法10およびシステム20を用いる、供血者15からの採取からレシピエント50への輸血までの構成要素および方法の例示的なフローチャートを示す。しかしながら、本開示を参照すれば理解されるように、開示されたシステムおよび方法の種々の組み合わせが本開示の範囲内であると考えられ、例示された構成要素および方法は、置換されることも、除去されることも、再配列されることも可能である。

30

例示として、方法10は、保存RBCの品質を高め、レシピエントへの輸血プロセスを最適化し、このような輸血と関連する罹患率を低下させるための、任意の添加剤添加と、保存前および保存中のRBCの酸素、二酸化炭素または酸素および二酸化炭素(一まとめにして、本明細書においてはO/CD)枯渇と、白血球除去、エディティング、病原体削減、照射および一酸化窒素処理を含む向上処理と、酸素添加とを含む保存システム20を説明する。

40

【0018】

再び、図面、特に図1を参照して、方法10は、供血者15からの採取からレシピエント50への輸血までの保存システム20を説明する。システム20は、3つの段階を有する方法であって、その間に種々のサブプロセスまたはステップが行われうる前記方法を示す。3つの段階は、一般に、保存前段階A、保存段階Bおよび保存後段階Cである。図1に示すように、最適の輸血結果を得るために、種々の段階において、血液保存プロセス20の種々のステップが行われうる。例えば、照射は、場合により、酸素除去前の保存前段階Aで、保存段階Bで、保存後段階Cで、保存段階Bおよび保存前段階Aの一部および保存後段階Cで、またはそれらの組み合わせで行われることができる。同様に、RBCのエディティング(例えば、瀕死

50

のRBCを除去すること)は、保存前段階Aで、保存後段階Cで、またはそれらの組み合わせなどで行われることができる。嫌気性環境は、このような嫌気性環境において行われなければならないRBCに利点を提供する、一酸化窒素添加、照射および病原体不活化などのステップとの相乗関係を有するが、これは以下で説明する。従って、本開示による血液保存処理のためのいくつかの異なる順序が存在する。

【0019】

保存前段階Aは、供血者からの採取から嫌気性環境での保存までの時間を含む。段階Aにおいて、供血者から全血を得て、血液成分、すなわち、血漿、血小板およびRBCを分離することができる。本明細書でさらに詳細に説明されるように、保存および/または処理の助けとなるために、任意の添加液を全血に添加することができる。保存前段階Aにおいて、病原体不活化、白血球除去およびエディティングなどの処理を行うことができる。段階Aにおいて、保存段階Bの前に、酸素、二酸化炭素、または酸素および二酸化炭素(O/CD)が枯渇される。酸素枯渇または酸素および二酸化炭素枯渇装置(OCDD)のいずれかによって、O/CDを枯渇させることができる。

保存段階Bは嫌気保存期間であり、ここでRBCは嫌気保存環境で保存される。

保存後段階Cは、嫌気保存環境での保存後であるが、レシピエントへの輸血前である段階である。保存後段階Cは、容量の低下、エディティング、緩衝液交換時の洗浄、一酸化窒素および酸素の一方または両方の添加などの処理を含むことができる。

【0020】

図面、具体的には図2を参照して、例示的な嫌気保存システムは参照番号25を用いて示され、参照符がつけられる。特定の実施形態において、システム25は、ディスプレイとして構築することができる。再び、システム25は例示的なシステムであり、従って、上記のように、種々の時間または種々の段階において種々のサブプロセスまたはステップを行うことができる。血液保存システム25は、酸素/二酸化炭素枯渇装置100(OCDD100)、嫌気性血液保存用バッグ200および任意の添加液バッグ250を含む。採取のプロセスと通常関連する構成要素は、瀉血針16、抗凝血薬を含む採取バッグ35および血漿を含むバッグ45である。配管は、種々の構成の血液保存システム25の種々の構成要素を連結することができる(一実施形態を示す)。OCDD100は、赤血球から、それを通過する酸素および二酸化炭素を除去する。システム25はまた、白血球除去フィルター400、エディティング装置500、照射装置600、病原体不活化装置700、容量低下装置800および、レシピエント50への輸血の直前に一酸化窒素を供給するための一酸化窒素装置900を含むことができる。システム25は、以下に説明するように、様々な構成のこのような装置400から900までのすべてまたはそれらの組み合わせを含むことができる。

システム25の構成要素は、通常の方法で連結される。管440は、採取バッグ35と白血球除去フィルター400とを連結する。管441は、溶液バッグ250と採取バッグ35とを連結する。管442は、血漿バッグ45と採取バッグ35とを連結する。管443は、白血球除去フィルター400とOCDD100とを連結する。管444は、OCDD100と血液保存用バッグ200とを連結する。血液保存システム25は、好ましくは、単回使用のディスプレイ低コストシステムである。

システム構成要素、すなわち、白血球除去フィルター400、エディティング装置500、照射装置600、病原体不活化装置700、容量低下装置800および一酸化窒素装置900は、輸血前にRBCに種々の処置を行う。処置によっては、このような処置は、好ましくは、OCDD通過前に、または保存用バッグ200に保存後に行われる。O/CDの枯渇後に、患者のための所望の結果を確実にするために、かつ一般に保存RBCを用いる輸血と関連する罹患率を避けるために、RBCを酸素枯渇、二酸化炭素枯渇または酸素および二酸化炭素枯渇環境で維持する。

【0021】

特定の側面において、必要に応じて、供血者15から得られた全血から濃縮RBCを採取した後に、例えばバッグ250から任意の添加液を濃縮RBCに添加して濃縮RBC懸濁液を調製することができる。添加液は、一般に、RBCの急速な劣化を防ぐのに役立つことができる。

添加液バッグ250は、嫌気保存に最適化された添加液を含むことができる。本明細書において取り込まれるいくつかの実施形態のそれぞれに関して、RBCからO/CDを枯渇させる前に、バッグ250から添加液を添加することができる。例として、添加液50～300ml/濃縮RBC1ユニット(450～500ml全血採血)を添加することができる。特定の側面において、濃縮RBC1ユニット当たり添加液100～110mlを添加することができる。他の側面において、濃縮RBC1ユニット当たり添加液50～100mlを添加することができる。本開示の一側面において、濃縮RBC1ユニット当たり添加液75～125mlを添加することができる。本開示のさらに他の側面において、濃縮RBC1ユニット当たり添加液90～120mlを添加することができる。

【0022】

例として、添加液は、アデニン、デキストロース、マンニトール、クエン酸イオンおよびリン酸二水素イオンの水溶液を含むことができる。あるいはまた、添加液は、AS-1、AS-3、AS-5、SAGM、PAGG-SM、PAGG-GM、EAS61、OFAS1、OFAS3、MAP、ESOL、SOLXおよびそれらの任意の組み合わせを含むことができる(Rossi's Principles of Transfusion Medicine 4th edition, Simon, T; Snyder, E, et al. Wiley-Blackwell; M Shimizu, H Fujii, H Mizoguchi, M Masuda, K Toyama, Rinsho Ketsueki et al., "Multicenter clinical evaluation of red cell concentrates stored up to 6 weeks in MAP, a new additive solution," The Japanese Journal 33:148 (1992); Dumont LJ, Yoshida T, AuBuchon JP, "Anaerobic storage of red blood cells in a novel additive solution improves in vivo recovery," Transfusion 49:458-64 (2009); "Prolonged cold storage of red blood cells by oxygen removal and additive usage" と題し、1998年8月4日に発行された米国特許第5,789,151号; "Additive Solution for Blood Preservation and Activation" と題し、1988年9月6日にHamasakiらに発行された米国特許第4,769,318号; および、"Blood Storage Device and Method for Oxygen Removal" と題し、2000年12月19日にBitenkyらに発行された米国特許第6,162,396号を参照のこと; そのそれぞれは、その全体が参照によって本願に組み込まれる)。

【0023】

添加液OFAS3は、アデニン、デキストロース、マンニトール、 NaH_2PO_4 、ならびに場合によりNaClおよび/または NH_4Cl を含む。添加液OFAS3は、好ましくは、以下の範囲を有する成分を含む: アデニン約0.5～4.0mmol/リットル、デキストロース約50～150mmol/リットル、マンニトール約20～70mmol/リットル、NaCl約0～100mmol/リットル、 NaH_2PO_4 約2～20mmol/リットルおよび NH_4Cl 約0～30mmol/リットル。好ましくは、OFAS3は、調整されたpH約5.5～7.5を有し、アデニン約2mmol/リットル、デキストロース約110mmol/リットル、NaCl約55mmol/リットルおよび NaH_2PO_4 約12mmol/リットルおよび調整されたpH約6.5を含む。OFAS3の追加の実施形態は、2011年12月6日に発行された米国特許第8,071,282号で提供され、その全体が参照により本願に組み込まれる。

表1

成分	範囲(mM)
アデニン	0.5～4.0
デキストロース	50～150
マンニトール	0～70
NaCl	0～100
NaH_2PO_4	2～20
NH_4Cl	0～30
有効容量オスモル濃度	100～300
調節pH	5.0～7.7
添加 (mL)	100～300

【0024】

本明細書に記載のように、OFAS3は、高いATPレベルとすぐれたin vivo回復を示した。

図3aは、酸素枯渇または嫌気性OFAS3添加液中での長期保存時におけるATPに対する酸素と酸素および二酸化炭素の枯渇の効果を示す。図3bは、酸素枯渇または嫌気性OFAS3添加液中での長期保存時における2,3 DPGに対する酸素と酸素および二酸化炭素の枯渇の効果を示す。最も高い範囲は、ATPに関しては8日～30日であり、2,3 DPGに関しては0日～20日である。RBCは、このような期間中にレシピエント50に輸血されるのが理想的である。

【0025】

液体保存における許容される *in vivo* でのRBC回復期間を増加させるために、添加液および保存プロセスを改善するための試みが行われた。“Studies In Red Blood Cell Preservation-7. *In vivo* and *in vitro* Studies With A Modified Phosphate-Ammonium Additive Solution,” by Greenwalt et al., *Vox. Sang.* 65:87-94 (1993) において、該著者らは、20mM NH₄Cl、30mM Na₂HPO₄、2mM アデニン、110mM デキストロース、55mM マンニトール (pH7.15) を含む実験添加液(EAS-2)が、現行の標準である5～6週間から、改善された標準である8～9週間にヒトRBCの保存期限を延長するのに有用であることを決定した。しかしながら、該媒体中に保存された濃縮RBCは、直接には注入可能ではなく、添加液中にアンモニウムが存在するので、輸血前に洗浄段階で上清を除去する必要がある。 10

他の実施形態において、添加液は抗酸化剤を含むことができる。最小限の酸素条件下で活性であることができる抗酸化剤が特に好ましく、従って、嫌気保存環境においてそれらの作用は潜在的に相乗的である。例えば、抗酸化剤は、ケルセチンおよび他のフラボノイド、 α -トコフェロール、アスコルビン酸、エブセレン、オキシプリノール、ヒドロコルチゾンおよび他の酵素(オキシダーゼ)阻害薬分子ならびにそれらの組み合わせから選択することができる。抗酸化作用を有するフラボノイドであるケルセチンは、臨床投与されたとき、安全で抗酸化剤として有効に作用する。ケルセチンは、酸素ラジカルを除去し、*in vitro*での脂質過酸化反応を阻害し、赤血球膜損傷を抑制する。特定の実施形態において、抗酸化剤はフラボノールであることができる。他の側面において、フラボノイドはルチンまたはエピカテキンであることができる。アスコルビン酸は大変効果的な抗酸化剤であるが、酸化促進剤として機能する場合もある。しかしながら、その酸化促進剤活性には、比較的高い濃度(～10mM、保存血液中で有効であるのに必要な濃度)および鉄(遊離またはヘム)の存在および酸素が必要であるため、本開示の嫌気性条件は、抗酸化剤活性を気にする必要のない低い有効使用濃度を提供するのであろう。 20

【0026】

白血球除去

図1に示すように、全血、濃縮RBCまたはRBC懸濁液は、白血球除去400を受けることができる。白血球除去は、全血または赤血球から白血球を除去する一般的プロセスである。図のように、白血球除去は、酸素、二酸化炭素または酸素および二酸化炭素(O/CD)を枯渇させてO/CD枯渇RBCを調製する前または後に行われ、かつ、前記嫌気保存環境に保存中または保存後に行われることができる。 30

特定の側面において、図4aおよび4bでは、白血球除去フィルターとOCDDの組み合わせ400が示されている。白血球除去およびOCDDフィルターの組み合わせ400は、入口流ディストリビューター410、白血球除去媒体420、複数の中空繊維および/またはガス透過性フィルムもしくは繊維430ならびに複数の繊維および/またはガス透過性フィルムもしくは繊維430を保持するための繊維/フィルム支持体440を含む。複数の中空繊維および/またはガス透過性フィルムもしくは繊維430は、赤血球から酸素および/または二酸化炭素を除去するためのものであり、OCDD101と関連させて、以下でさらに詳細に説明する。 40

【0027】

白血球除去媒体420は、好ましくは、酸素枯渇、二酸化炭素枯渇または酸素および二酸化炭素枯渇のための複数の中空繊維および/またはガス透過性フィルムもしくは繊維430を白血球が通過する前にこのような白血球を捕捉するための繊維状またはフェルト状の濾過材(例えばPall社)である。本開示のいくつかの側面において、白血球除去媒体420は、LeukoGuard-6(登録商標)型フィルター媒体であることができる。一側面において、白血球除去媒体420は、Leukotrap(登録商標) Affinity Plus Prion and Leukocyte Reductio 50

n Filter媒体であることができる。一側面において、白血球除去媒体420はLeukotrap（登録商標）媒体であることができる。白血球除去媒体420は繊維状媒体、例えば米国特許第4,880,548号；第4,925,572号、第5,152,905号、第5,443,743号、第6,231,770号および第7,361,277号（そのそれぞれは、参照によりその全体が本願に含まれる）の開示に従って、メルトブロー繊維から製造される媒体を含むことができる。媒体のそれぞれは、予備成形体であることができ、上記の米国特許の開示に従って複数の層を含むことができる。繊維/フィルム支持体440は、垂直配置での複数の繊維/フィルム430を支持し、ポリウレタンなどの材料または同様な材料からなることができる。全血またはRBCのいずれかが、媒体420の白血球除去プロセスを通りぬける。

【0028】

10

方法10は、白血球除去フィルター400または白血球除去プロセスが、OCDDにおいて酸素および二酸化炭素が除去された後、あるいは酸素および/または二酸化炭素の枯渇後に、全血段階において、あるいはRBCが血漿および血小板から分離された後に場合により行われることができることを示している。いずれの場合においても、白血球除去は、血液保存用バッグ200にRBCを保存する前に行われることができる。

白血球除去の利点はいくつかある。白血球除去により、レシピエントにおける発熱の可能性を低下させ、RBCの保存特性を向上させ、白血球に含まれるウイルスの感染を低下させることができる。血液製剤中の白血球は免疫抑制効果を引き起こす場合があり、レシピエントに感染リスク増加の素因を作る場合があり、病原体感染のビヒクルとなる場合がある。白血球除去によって、RBCの保存障害を低下させ、一次同種免疫を抑制し、レシピエントにおける輸血反応の総数を低下させることができる。保存用バッグ200に保存する前にRBCから白血球を除去することによって、上記で強調した白血球の有害作用を避けることができ、それによって、保存RBCの品質を向上または高めさせることができる。

20

【0029】

酸素/二酸化炭素除去

本開示のいくつかの側面において、図2、5および6で示すように、OCDD101中でRBCを処理して酸素、二酸化炭素または酸素および二酸化炭素を除去することができる。OCDD101は、それを通してRBCがOCDD101に入り、OCDD101を出る、ハウジング104、入口ポート102および出口103をそれぞれ備えることができる。図6のOCDD101は、OCDDの一実施形態であり、コア109に酸素吸着剤110を含む。あるいは、OCDD101は、二酸化炭素吸着剤または酸素および二酸化炭素吸着剤の配合を含むことができる。OCDD101は、酸素、二酸化炭素または酸素および二酸化炭素透過性である、一連の中空繊維および/またはガス透過性フィルムもしくは繊維115（または膜）を備えるディスポーザブルハウジングで構成することができる。場合により、ハウジング104はまた、RBC回復を最大化させるための枯渇プロセスの完了後に装置から排出するときに空気を入れるためのベント114を備える。

30

【0030】

O/CD吸着剤110は、酸素、二酸化炭素または酸素および二酸化炭素に対して高い反応性を有する、無毒の無機および/または有機塩ならびに二価鉄イオンまたは他の材料の混合物であることができる。O/CD吸着剤110は、 O_2 に対する顕著な反応能力（例えば、5ml O_2/g を超える）を有する粒子からなることができ、OCDD101内部を、例えば pO_2 が0.08mmHg未満であることに相当する、0.01%未満に維持することができる。O/CD吸着剤110は固定されていないこともできるし、酸素透過性の囲い、容器、エンベロープなどにも含まれることもできる。例えば、脱酸素剤および脱二酸化炭素剤は、Multisorb Technologies社（バッファロー、ニューヨーク州）、またはMGC社（ニューヨーク、ニューヨーク州）によって提供されている。酸素吸着剤は、脱二酸化炭素の二次的機能を示すことができる。脱二酸化炭素剤は金属酸化物および金属水酸化物を含む。金属酸化物は、水と反応して金属水酸化物を生じる。金属水酸化物は、二酸化炭素と反応して水および炭酸金属を生じる。所望の結果を得るために、このような材料を所望の割合で混合することができる。

40

特定の側面において、本開示のOCDD101は、血液ユニットから酸素および/または100mLを処理し枯渇するように構成される。あるいはまた、RBCがOCDDを通過した後に、RBCにおける酸

50

素飽和度レベルは3トル未満に低下する。あるいはまた、RBC内の二酸化炭素レベルは、おおよそ10トルのレベルに枯渇される。

【0031】

再び図5および6を参照すれば、中空繊維および/またはガス透過性フィルムもしくは繊維115は、平らなシート状の膜として構築することができる。中空繊維および/またはガス透過性フィルムもしくは繊維115は、高いO/CD透過率であることができる非多孔質材料(ポリオレフィン、シリコン、エポキシ、ポリエステルなど)であることができ、膜は疎水性多孔質構造である。これらはポリマー(ポリオレフィン、テフロン(登録商標)、PVDF、ポリスルホン)または無機材料(セラミックス)で構築することができる。

【0032】

図7Bから7Dまでは、吸着剤110と中空繊維115とを交互にした代替りのOCDD構成(横断面図)を示す(図6の実施形態は図7Aに示す)。図6および図7Aの実施形態において、酸素の特性拡散時間はおおよそ7.5秒である。拡散時間は、吸着剤から繊維までの距離の逆二乗に比例するため、中空繊維に対する吸着剤材料の配置は重要である。吸着剤と繊維との距離が二分の一に低下した場合、拡散時間は四分の一に低下する。

表2

仕様例	外部ガス経路	外部ガス経路
シリアル番号例:	装置70	
繊維タイプ:	Celgard 200/150-66FPI	Celgard 200/150-66FPI
繊維の本数/ユニット:	5000	5000
繊維の有効長(cm):	13	28
繊維外径(ミクロン):	200	200
繊維内径(ミクロン):	150	150
繊維の全長	15	30
繊維の有効表面積(m ²):	0.4084	0.8796

【0033】

本明細書に開示された酸素/二酸化炭素枯渇装置において、複数のガス透過性フィルム/膜を複数の中空繊維/フィルムに変えることができる。フィルムおよび繊維は、それらが赤血球を受け取り、それらを運ぶことができる限り、カートリッジ内の任意の適切な配置で収納することができる。

迅速な拡散時間を可能にするように繊維に近接して吸着剤が配置された装置を用いることによって、最も低い酸素飽和度が得られる。酸素および/または二酸化炭素拡散を増加させる追加の因子は、吸着剤材料に暴露される繊維の有効表面積の増大である。

図5および図8について言えば、該グラフは、それを通過するRBCの分圧に対するOCDD101の効果を示す。OCDD101に入る前のポイントAにおいて、RBCの酸素分圧は16.8トルであり、ポイントBにおいて、酸素および二酸化炭素枯渇装置後の酸素分圧はおおよそ3トルである。ポイントAにおける二酸化炭素分圧はおおよそ20トルであり、OCDDをRBCが通過した後の該分圧はおおよそ3トルである。

【0034】

図9は、OCDD101を通過するRBCの質量流量の関数としてのRBCの酸素分圧を示す。ポート114から測定される中空繊維の周囲のガスの酸素分圧は、それを通過するRBCの流速に応じて1~0.5トルである。図8は、OCDD101によって提供される酸素枯渇を示す。出口の酸素センサーは、血液のpO₂測定の感度を増加させるために、窒素ガスでフラッシュしたバッグ内に密閉される。センサーの周囲のpO₂は、図9において‘環境空気’で示される。

OCDDは、RBCのオキシヘモグロビンから酸素を枯渇させるように働く。なぜなら、このような酸素の99%以上が、静脈血においてヘモグロビン結合酸素だからである。好ましくは、酸素飽和度は、採取の48時間以内に3トル未満に低下させられる。酸素枯渇は、好ましくは、室温で達成される。ヘモグロビンへの酸素の親和性は温度に大きく依存し、37

10

20

30

40

50

では分圧は26トルであるが、4 では~4トルまで低下する。さらにまた、O₂親和性におけるこの増加(Kaヘモグロビン-酸素結合定数)は、主にO₂放出速度(k-off)の低下に起因し、RBCが4 まで冷却された場合には、非実用的な低い酸素除去速度になる。従って、脱酸素には、RBCが1 ~6 の保存温度に冷却される前にそれを完了することが好ましいという制約がある。

【0035】

酸素枯渇に代えて、あるいはそれに加えて、赤血球のDPGレベルを上昇させるのに二酸化炭素枯渇は有益な効果を有する。二酸化炭素は、RBC内または血漿中にHCO₃⁻イオン(炭酸)と平衡して存在する。二酸化炭素は、RBC/血漿混合物中に主に炭酸として溶解し、RBC内の炭酸脱水酵素によって、CO₂と炭酸との間で迅速な平衡が保たれている。二酸化炭素はRBC膜を自由に通過するが、RBCおよび血漿中のHCO₃⁻は、陰イオン交換(バンド3)タンパク質によって急速に平衡化される。RBC懸濁液からCO₂が除去されるとき、RBC内部および懸濁化剤の既知のアルカリ化が起こる。このことは、RBC内部および外部のHCO₃⁻の除去によって生じる。サイトゾルのHCO₃⁻は炭酸脱水酵素によってCO₂に変換され、除去されるが、血漿のHCO₃⁻はRBC内の陰イオン交換タンパク質によって除去される。RBC内の高いpHは解糖速度を増加させ、それによってATPおよびDPGレベルが上昇することが知られている。ATPレベルはAr/CO₂中でより高い(p<0.0001)。DPGは、アルゴンパージを行ったアームのみにおいて2週間を超えて維持された(p<0.0001)。解糖速度の増加はまた、嫌気性条件の結果として、ヘモグロビンの脱酸素による遊離サイトゾルDPGの代謝調節および封鎖による重要な解糖系酵素の脱抑制によっても予測される。ヘモグロビンの完全な脱酸素にもかかわらず、対照アームおよびAr/CO₂アームの両方においてDPGは同じ速度で減少したが(p=0.6)、OFAS3添加剤によって、大変高レベルのATPが達成された。

OCDD中で二酸化炭素を枯渇させることによって、サイトゾル中のRBCのpHは上昇する。さらにまた、保存の最初の3週間は2,3-DPGレベルは増加し、ATPレベルは高レベルで維持される。これらの要素によって、段階Bにおいて、酸素枯渇保存で保存される前にRBCの生存能力が高められる。

【0036】

図10に、装置の本体を介した無酸素ガスまたは無酸素ガスおよび二酸化炭素の流れ(円柱の左側に突出している2つのポート)が、白血球除去フィルター710、OCDD720、血漿セパレータ730と組み合わせて用いることができるOCDD装置750のさらなる実施形態を示す。多機能OCDD750は、一般には遠心機を用いることが必要な、供血者15から受け取る全血の遠心分離の必要性を取り除く。これら3つの装置を1つの装置に結合することによって、コストが高く扱いにくい装置である分離用遠心機の必要性が取り除かれる。血漿は、さらなる処理のためのさらなる採取バッグにポート740を介して流れる。従って、この実施形態において、供血者から全血を採取することができ、白血球を除去することができ、酸素および/または二酸化炭素を除去することができ、血漿および血小板を除去し、装置を通してRBCを通過させることができる。次いで、保存またはレシピエントへの輸血のために、装置を通して添加液が添加された後に、採取バッグ200にRBCが保管される。採取システム10およびシステム100の一部としての多機能OCDD750によって、即座の保存またはレシピエントへの輸血のための、全血から保存RBCへの迅速な変換が可能になる。

【0037】

エディティング

酸素および/または二酸化炭素がRBCから除去される前に、全血またはRBCをエディティングすることができる。RBCのエディティングは、輸血プロセスを生き延びる可能性が低いまたは輸血後短時間で死ぬ可能性が高い血球を同定し除去するプロセスである。瀕死のRBCまたは死んだ赤血球もしくは死にかけている赤血球のエディティングは、例えばフィルター状エディティング装置500を用いて実施することができる。エディティングは、例えば図1に示すように、保存プロセス中の種々の時点において行うことができる。例えば、エディティングは、O/CD枯渇の前および嫌気保存環境への保存前に全血またはRBCに行うことができる。図1は、酸素および/または二酸化炭素が除去される前にエディティ

ング装置によって行われるエディティングステップを示すが、その代わりに、保存プロセスの種々の段階でエディティングを行うことができる。例えば、エディティングは、保存用バッグ200に保存後、輸血の直前に行うことができる。

【0038】

輸血された患者の罹患率死亡率の主要な原因が、任意の病原体感染に無関係の生存能力のない血液部分であるため、エディティングは重要であることができる。障害を生じたRBCまたは、輸血直後に脾臓の細網内皮系によって除去されるRBCは、すでに障害を生じたレシピエントを苦しめる脅威となりうる。輸血後、最初の24時間以内に、輸血された細胞の25%までもがレシピエントによって除去される。これらの除去された細胞は、レシピエントの鉄過負荷に直ちに寄与するため有害であり、これは、慢性的に輸血されるかまたは大量に輸血される患者の重要なパラメータになりうる。また、これらの細胞は、変形能の低下または凝集体形成によって毛細管閉塞を引き起こし、組織灌流の低下および臓器不全さえも引き起こす恐れがある。従って、輸血前にこれらの生存性の低いRBCを除去することができれば、実質的利点が期待される。

10

【0039】

赤血球をエディティングするために用いることができるいくつかの技術が存在する。第1の技術は、新しいRBCと古いRBCの浮力特性に基づく、保存前に古いRBCと新しいRBCとを分離する遠心分離プロセスである。

第2の技術は、緩衝液交換ステップと組み合わせ、保存の前または後に、弱い細胞を溶血させるために浸透圧ショックなどの生体力学的なストレスを用いる。用いた生体力学的なストレスによって、弱い細胞が直ちに同定され、より強いRBCと迅速に対比され、機械的分離が可能になる。弱いRBCは、レシピエントの罹患率死亡率、特にすでに障害を生じたまたは過負荷がかかった免疫系を有する個体の罹患率死亡率に寄与する。レシピエントに届いたRBCの25%までもがすでに死んでおり、レシピエントに有害作用を起こす恐れがある。RBCのエディティングによって、それらの数を50%~75%減らすことができる。

20

第3の技術は、RBCの変形能に適用される。互い違いに配置されたピラーを含むバンブアレイマイクロ流体装置(Huang, L.R., et al., "Continuous particle separation through deterministic lateral displacement," Science 304(5673): 987-90 (2004) 参照によりその全体が本願に組み込まれる)は、変形性のRBCがピラーを通過するのを可能にするが、変形性のRBCはピラーを通過することができず、別々のチャンネルに振り分けられる。

30

【0040】

RBCのエディティングのためのさらなる技術は、特定の表面マーカを示すRBCを除去するためにフィルターシステムを用いる。ホスファチジルセリンまたは凝集タンパク質3などの既知の表面マーカを示すRBCは、高アフィニティリガンドで修飾されたフィルター表面によってトラップされ得る(例えば、特定の表面マーカタンパク質に対するアネキシンIVまたは抗体)。

さらなる技術は、標的表面マーカを示すRBCが凝集体を形成するようにコンジュゲートされて多量体化分子となる、第2の技術における同じ高アフィニティリガンドを用いる。次いで、これを濾過または遠心分離によって分離することができる。

40

【0041】

照射

RBCに供することができるさらなる処理段階は、照射、例えばガンマ線またはX線照射のいずれかによる照射である。RBCの照射は、輸血関連合併症を避けるために重要である。輸血関連移植片対宿主疾患(TA-GVHD)は、まれではあるが、重度免疫不全血液レシピエントにおける輸血治療と関連する致死性合併症であることがほとんどである(例えば、骨髄移植レシピエント、侵襲性化学療法を受けている患者、早産新生児)。TA-GVHDの予防には、供血者の血液からのTリンパ球の増殖能の完全除去または停止を必要とする。例えば、白血球除去フィルターは、TA-GVHDの予防には適切ではない。なぜなら、白血球除去フィルターは、リンパ球を完全には除去できないからである。従って、TA-GVHD予防には、X線照射によるリンパ球不活化が好ましい。

50

【0042】

線照射は、DNAの直接損傷および水のガンマ放射線分解中に生じる反応性酸素種(ROS)、すなわちヒドロキシルラジカルによる損傷によってTリンパ球の増殖を阻止する。RBCはDNAを含有していないが、線照射によって生じるROSは、RBCへの顕著な損傷を引き起こすことが示されている。観察される主な損傷は：i)溶血の増加；ii)K⁺漏出の増加；iii)輸血後生存の減少；およびiv)変形能の低下を含む。このような損傷は、RBCの保存によって引き起こされる損傷と類似しているが、その過度の形態である。RBCの障害を生じた状態は、このような障害を生じたRBCを投与する医師には公知であり、FDAは、線照射後の短縮保存期限(14日間)および/または照射ユニットの総保存期限(28日間)に関して、このようなRBCの使用制限を義務づけている。

10

血液成分の照射は、輸血関連移植片対宿主疾患を予防するためにこのような血液を投与されるのが望ましい患者のカテゴリーの増加によってますます興味を受けている。しかしながら、照射はまた、このような血液が輸血されたときに有害作用を起こしうる保存障害の増強ももたらす。RBCに対する放射線の主な有害副作用は、ROSによって引き起こされる酸化障害であることは、当該技術分野で公知である。

酸素の存在下でのRBCに対する放射線障害は、二通りの形で起こりうる；

i)照射中および照射直後に生成するROSによって障害が起こりえる。ROSは近傍のタンパク質および脂質を攻撃することができるばかりでなく、酸素を燃料に用いる脂質およびタンパク質の過酸化サイクルを開始することもできる。

ii)上記i)で生じたMet-Hbおよびその変性産物は、触媒として作用してRBCのその後の冷蔵保存中にROS媒介酸化障害をさらに引き起こす。これは、O₂を用いるときの保存障害の発症の強化バージョンである。

20

【0043】

ROSは、血液銀行での冷蔵保存中にRBCの劣化を引き起こす主な犯人である。嫌気性条件でRBCを保存することによって、ROSによって引き起こされるこのような損傷が顕著に低下する。従って、RBCへのガンマ線およびX線照射ステップの有害影響または悪影響は、酸素および/または二酸化炭素除去ならびにその後の嫌気保存の予防効果によって実質的に相殺される。従って、RBCの照射は、好ましくは、図2のOCDD100における酸素除去後に行われる。さらに、線照射およびX線照射は、RBCが保存用バッグ200に保存されるとき、あるいは保存後に、輸血前の酸素添加前に行われることができる。

30

酸素、二酸化炭素または酸素および二酸化炭素除去は照射前に行われるが、照射が酸素除去前に行われる場合は(図1)、RBCに対する影響を限定するために、酸素除去は、その後24時間以内に行われなければならない。

【0044】

病原体不活化

RBCの採取後に、供血者の血液中に存在する恐れがあり、輸血を受けるレシピエント50にうつる可能性のある、感染性病原体の除去のための処置を行うことができる。感染性病原体は、ウイルス、特にレトロウイルス、細菌、真菌などの微生物ならびに自己複製するタンパク質(プリオン)および核酸などの非微生物病原体を含む。病原体の不活化または除去と呼ばれるプロセスによって、RBCからこのような危険な感染性病原体が除去される。しかしながら、病原体の不活化または除去の化学過程もまた、潜在的にRBCに障害を与え

40

る。病原体不活化プロセスは、化学療法および光療法またはリボフラビン療法および光療法を含むことができる。一側面において、病原体の不活化または除去は、全血および、全血から分離されたRBCを嫌気保存環境に保存する前に、OCDD通過前に、OCDD通過後に、ならびに保存前に行うことができる。

【0045】

RBCは嫌気性環境で保存されるため、好気性菌および寄生体の増殖は妨げられる。エルシニア・エンテロコリチカ(*Yersinia enterocolitica*)、セラチア・リクファシエンス(*Serratia liquefaciens*)およびスタフィロコッカス(*Staphylococcus*)株などの細菌

50

は嫌気性であり、増殖のために酸素を必要とする。プラスモジウム・ファルシパルム (Plasmodium falciparum) (マラリア原虫)、babsea(バベシア症)およびトリパノソーマ・クルージ (Trypanosoma cruzi) (シャーガス病)などの寄生体は、米国で報告された供血後の感染症である。これらは微好気性微生物であり、それらの生活環においてさまざまな酸素濃度に暴露される。それらは、低酸素環境で十分に生存するが、RBC保存中に発揮される嫌気性条件には適応できない。

嫌気性条件下でROS産生が低下するので、病原体不活化のためのT細胞不活化と比較して用量および/または時間を増加させてガンマ線またはX線を用いることができる。

【0046】

血液保存用バッグ

図2および11aに、本開示の実施形態による血液保存用バッグ200を示す。血液バッグ200は、内部血液適合性バッグ250(好ましくはポリ塩化ビニル(PVC))および外部バリアフィルムバッグ255を備える。バッグ250の材料はRBCと適合する。内部バッグ250と外部酸素バリアフィルムバッグ255との間に、吸着剤110を含むポケットが配置される。バリアフィルムバッグ255は、内部バッグ250の全表面にラミネートされる。吸着剤110はサシェ260に含まれ、サシェ260は、代わりに容器、囲い、エンベロープ、ポーチ、ポケットなどとも呼ばれる。吸着剤110は、最適には、バッグ200に導き入れる配管440とそれからのポート415の間に位置し、特に内部バッグと外部酸素バリアフィルムバッグ255の間に位置する。この位置選定によって、これらの2つのバッグの間に配置される酸素が除去または吸収されることが確実となる。理想的には、吸着剤は、サシェ260内にRBCとは接触しないで位置する。吸着剤は酸素吸着剤を含むこともできるし、酸素および二酸化炭素の両方を同時に枯渇させることを吸着剤110に可能にするように、二酸化炭素吸着剤と混合することもできる。

図11bについて言えば、保存用バッグ202はバッグ200に類似している。しかしながら、バッグ202はラミネートバッグである。バッグ202は、内部PVC血液バッグ210と、外部バリアバッグ216と、血液バッグ210と外部バリアバッグ216との間の吸着剤層215とを備える。

【0047】

図12Aにおいて、サシェ210は吸着剤110を含む。小さなサシェ210は、PVCバッグ205の内側に密閉され、好ましくは、高い酸素透過性を有する生体適合性材料であるシリコンまたはシロキサン材料でできている。サシェ210は、 O_2 透過性が律速段階でなくなることを確実にする厚さ0.13mm未満の壁厚さを有する。PVCバッグ205もまた二酸化炭素吸着剤を含むことができる。再び、吸着剤110は、酸素吸着剤、二酸化炭素吸着剤ならびに酸素および二酸化炭素吸着剤であることができる。

図12Bにおいて、RBCは、RBC保存のための嫌気保存環境を維持するために第2バッグ301を備える保存用バッグ307に保存される。第2バッグ301は、RBCを嫌気状態に維持するために十分な酸素バリアとして機能する、PVC血液バッグ305の無能力を償う、透明な酸素バリアフィルム(例えばナイロンポリマー)を備えることができる。第2バッグ301は、酸素バリアフィルム、好ましくはナイロンポリマーまたは低い酸素透過性を有する他の透明な柔軟性のフィルムでできていることができる。バッグ307は、酸素吸着剤、二酸化炭素吸着剤または酸素および二酸化炭素吸着剤である吸着剤110を含む吸着剤サシェ310を含む。

【0048】

図12Aおよび12Bを参照して、血液保存用バッグ201および301は、RBCを嫌気保存環境に長期保存期間保存するように配置される。内部血液保存用バッグ205および305は、好ましくは、DEHP可塑剤を含むPVCでできている、RBCと接触する。DEHP可塑剤を含むPVCは、シリコンと比較して、酸素に対しておおよそ200倍透過性が低い。また、内部保存用バッグは、DEHP可塑剤を含まないPVCまたは他のDEHP可塑剤を含まないポリマーでできていることもできる。DEHPはRBC膜に対して感染防御効果を示すが、RBCが嫌気保存される場合は、この効果は必要がない。

しかしながら、PVCは、保存期間を通じてRBCを嫌気状態に維持するための酸素バリアとしては不十分である。従って、血液保存用バッグ201および301は、内部血液バッグ205お

10

20

30

40

50

よび305の外表面にラミネートされた透明な外部酸素バリアフィルム206、306(例えばナイロンポリマー、酸化アルミニウムコーティングされたナイロンなど)で製作することができる。本アプローチおよび図1に示すアプローチは、血液接触表面のための一般に容認されたプラスチック材料(DEHP/PVCの場合には、細胞安定化のためにDEHPを供給する)を用いると同時に、長期保存中にバッグへの酸素の侵入を防ぐ。

あるいはまた、210/110または310の代わりに、205/206または305/306の間に透明な有機酸素吸着剤フィルムをラミネートすることもできる。

本開示のOCDD101および種々の保存用バッグは様々な組み合わせで使用することができる。例えば、図1のOCDD101は、図11、11b、12Aまたは図12Bの血液バッグと共に使用することができる。他の組み合わせおよび配置は、十分に本開示の範囲内である。

10

【0049】

バッグ200に保存中に、嫌気保存され二酸化炭素枯渇中のRBCに種々の成分を添加することができる。添加剤に加えて、代謝サプリメントもまた赤血球に添加することができる。代謝サプリメントは、主保存用バッグ内に配置された計量装置によって指定された回数および割合もしくは頻度でRBCに添加することもできるし、事前接続PVCバッグを介して添加することもできる。代謝サプリメントは、4 で保存中にRBCに添加される。採取したばかりの血液でみられる2-3DPGおよびATPレベルよりも上のレベルでは、赤血球保存は、4 では、現行の6週間期限を超えて、12~20週間まで延長される。代謝サプリメントはピルビン酸、イノシン、アデニンを含み、場合によりリン酸水素ナトリウムおよび/または第一リン酸ナトリウムを含む。さらに、栄養素補給は、場合により、限定するものではないが、保存媒体に還元型グルタチオンアナログ、ビタミンCおよびビタミンEを含む抗酸化剤を提供するサプリメントを含むことができる。現行の冷蔵保存技術は、本開示の代謝防御システムと対照的に、本質的に、RBCの早期老化プロセスである。現行の赤血球冷蔵保存では、適切な細胞グルタチオンレベルが維持されない。グルタチオン補充によって、RBCの保存期間を延長することができる。グルタチオン補充の量およびタイミングは、必要に応じて、好都合に決定され最適化することができる。

20

【0050】

図面、具体的には図13について言えば、ディスプレイザブル血液嫌気保存システムの他の実施形態が示されており、参照番号1000で示され、参照されている。この血液保存システムは、採取バッグ1010と、白血球除去フィルター1064ならびに酸素および/または二酸化炭素枯渇部分1066を含む酸素/二酸化炭素枯渇装置1060組み合わせと、嫌気性血液保存用バッグ1070とを含む。システム1000はまた、液体血漿および/または血小板のための採取バッグ1030も含む。組み合わせOCDD1060は、それを通過する赤血球から酸素および二酸化炭素を除去するばかりでなく、赤血球から過剰な白血球を濾過する。図14の実施形態は、単回使用のディスプレイザブル低コストシステムを提供する。配管は、血液保存システム1000の種々の構成要素を連結する。管1042連結バッグ1010は採取バッグ1010とバッグ1030とを連結し、配管1044はバッグ1030とバッグ1040とを連結する。管1055は、組み合わせOCDD 580と添加剤バッグ1040とを連結する。

30

【0051】

本開示の特定の実施形態において、本システムは、保存中の血球が代謝を続けることを認識する。保存期間を通じて、できるだけ代謝速度を低下させ、なおかつ輸血のために品質の高い健全な生存細胞を維持することが望ましい。一実施形態において、本開示は、本質的代謝を独特に保護し、冷蔵保存された赤血球の保存期間を長引かせ、高品質な血液製品を提供する。さらにまた、冷蔵は、in vivoでのmet-Hb還元必須である酵素を可逆的に無能化し、赤血球の環境において損傷を与えるO₂の溶解性を増し(ほぼ2倍に)、解糖速度を低下させることによってATPレベルを低下させる(4 では、その速度は、37 で見られる速度の約1%である)。赤血球のATP濃度の減少は、有棘赤血球(すなわち赤血球の不安定な形態)生成、膜小水疱形成速度の増大、赤血球表面積の低下および脾臓マクロファージによる栓塞の加速をもたらす。小水疱形成は冷蔵保存期間を通じて継続し、有棘赤血球形成によって増悪し、膜面積の減少によって赤血球の生存が減少する。

40

50

【0052】

酸素除去は、RBCの良好な生存能力を維持する任意の温度で行うことができる。好ましくは、酸素は、RBC生存能力が維持される限り、約1 ~ 約37 で除去される。本開示の血液保存装置の一実施形態において、RBCは、血液製剤の保存のための業界の慣行に従った方法で冷蔵して保存することができ、好ましくは1 ~ 10 の温度で、より好ましくは約4 で保存することができる。このような保存期間は約6 ~ 約20週間またはそれ以上であり、好ましい保存期間は、RBCの品質が維持される限り、約6 ~ 約15週間である。

【0053】

輸血前

保存RBCを患者またはレシピエントに輸血する前に、レシピエントによるRBCの受容性を最大化し、RBCの状態を最適化するための種々のプロセスを行うことができる。

小さいか、またはその患者の循環系がRBCの大量の流入を処理することができない患者においては、RBCの容量を輸血の直前に低減させなければならない。このような問題に直面しなければならない患者は、うっ血性心不全を患っている患者または新生児患者を含む。容量低減は、種々の方法を用いて行うことができる。

【0054】

RBCがしばらくの間保存される場合、RBCは、一般に、保存用バッグ、例えば図11a、11b 12Aおよび12Bのバッグに保存することができる。いくつかの側面において、保存用バッグは、バッグの上半分に親水性膜コンパートメント、例えば図14のバッグ208の親水性膜コンパートメントを備えることができる。一側面において、バッグ208は、RBC細胞を保持し、それが流れ出ることを防ぐための4ミクロン未満でなければならない膜孔径を有する親水性膜207を備えることができる。膜207が、低いヘマトクリットを有するある濃度のRBCで充填された場合、血漿および添加液は膜を介して下部のコンパートメント206に通過し、膜207にRBCが濃縮される。下部コンパートメントの上部分は、輸血中に流体が漏れ出ないようにチェックバルブ209を必要とする。上記のように、酸素、二酸化炭素ならびに酸素および/または二酸化炭素の継続的枯渇のために、バッグ208は吸着剤101を備えることができる。

【0055】

より慣習的には、低いヘマトクリットのRBCの一部を、親水性繊維/フィルム、例えばOC CD100の繊維/フィルムを備える小さな中空繊維/フィルム装置に流入させることができる。RBCの一部は、繊維/フィルム内腔に流入し、液体および液体部分は繊維/フィルム壁を通過する。繊維/フィルム壁を横切る圧力差を用いて、RBCと流体流を調節する。これは、輸血の前にRBCを濃縮するもう1つの方法である。

あるいはまた、RBCは、RBCの慣性を用いる多数のマイクロ流体チップを通過させることによって濃縮することができる。マイクロ流路チップは、RBCの慣性を利用して、RBCを複数の狭いチャンネルに通らぬけさせて、複数のチャンネルを一時にただ1つの細胞が通過できるようにする。細胞はチャンネルの中央に入り、それらは中央出口ポートを通じて出、流体、血漿および添加剤は、中央ポートに隣接したポートに出ることができる。マイクロ流体チップは容量を拡大することができる。マイクロ流体チップは、支持体に配置される少なくとも1つの網目構造体ユニットを含むことができる。マイクロ流体装置は、RBCが網目構造体ユニットを介して移動することを可能にする吸引圧を有する。

【0056】

輸血の直前に必要なさらなる処理段階は、血流制御機能を高めるためのRBCへの一酸化窒素(NO)の導入である。銀行保存血を用いる輸血は、十分に認められる利点を提供するばかりでなく、場合によっては、一部のレシピエントには有害である。輸血された血液の予想より低い有効性の背後にある主な理由の1つは、RBC内のヘモグロビン(Hb)分子に隔離された一酸化窒素(NO)の分解によって引き起こされるRBCの血流制御機能の消失であると仮定される。採取後、3時間ほどでRBCにおけるNOは消失し、その血流制御活性は、NO補充化合物の添加によって復帰されることが、最近の報告で示された。従って、輸血の直前および保存後に、血液バッグ200に保存中にRBCにNOを導入することは、輸血から最適の利点を

10

20

30

40

50

受け取るうえでレシピエントを助けるであろう。嫌気性条件においてNOの安定性が増加するため、一酸化窒素は、例えば、輸血の前に保存用バッグ200の嫌気性環境に添加される。さらに、輸血の前の酸素の添加の前の保存後段階CにおいてNOを添加することができる。酸素の存在下でのその固有の不安定性によって、NO添加は、事前の酸素除去を必要とする。さらに、NOは、輸血の直前にNOガス、NO前駆体試薬または亜硝酸塩の形態で添加されなければならない。NOは、輸血セットの一部として、ガスまたは硝酸塩または他の前駆体化学物質の形態で、上記材料を注入するための小さなバッグまたはカートリッジを用いて、保存用バッグ200におけるRBCに添加することができる。

【0057】

輸血の直前に、RBCを酸素化するためにRBCに酸素を供給することができる。酸素の添加は、ガンマ線およびX線照射ならびに一酸化窒素添加後の保存後段階C中に、好ましくは臨床での輸血の直前に実施されなければならない。ガンマ線およびX線照射ならびに一酸化窒素の添加のプロセスにおける酸素の存在は、上記のようにRBCに有害である。

他の療法と組み合わせた、保存前のRBCからの酸素除去および/または二酸化炭素除去の利点は、輸血前の保存RBCの結果にプラス効果を示す。

【0058】

図15、16および17は、提案された保存システムおよび本開示のプロセスによって提供される利点を示す。破線で表されるフェーズ1において、RBCは不活性ガスでフラッシングされて酸素が除去され、嫌気性キャニスター中で9週間保存される。実線で表されるフェーズ2において、RBCはOCDD100中で酸素枯渇、二酸化炭素枯渇または酸素および二酸化炭素枯渇され、嫌気保存用バッグ200で9週間保存される。フェーズ2は、RBCのATPレベルが、3週間~9週間において顕著に高いことを示している。高レベルのATPを維持することによって、RBCは、高い代謝レベルを維持する前毛細血管細動脈を拡張する能力を維持する。さらにまた、広範囲の添加剤の存在下で、初めに酸素濃度を枯渇させ、二酸化炭素レベルを維持することによって、最初の4週間の保存中にATPをブーストし、顕著に刺激することができる。図15は、1~6で酸化障害を低下させ、長期間、高レベルのATPを維持することによって、RBCの保存期限が実質的に増加することを示す。

【0059】

図16は、フェーズ2の嫌気性条件下で、保存の開始時に二酸化炭素を枯渇させることによって2,3 DPGが高レベルに維持されることを示す。新しい血液に匹敵する十分な酸素運搬能を有する高2,3 DPG血液の輸血は、重体で即座の酸素の必要性のある患者に著しい利点を提供する。3週間目以後に2,3,DPGが低下する速度は典型的である。

図17を参照すれば、フェーズ1における溶血と比較して、フェーズ2において溶血は顕著に低い。特に、溶血は、6週間~9週間の保存において顕著に低い。溶血は、すべての輸血された患者にとって関心事であり、特に、慢性輸血治療下にある患者にとって関心事である。鎌状赤血球症(SCD)、 α -および β -サラセミアなどの遺伝性ヘモグロビン症患者は、毎年30ユニット以上の反復する定期的な輸血を必要とする。これらの患者のRBCは欠損ヘモグロビンを有し、それらはガス輸送において適切に機能せず、多くの場合限定された寿命のRBCを有する。これらの患者自身のRBCは、慢性輸血治療からのRBCと共に、身体の鉄の収容力に負荷をかけすぎる恐れがある。長期の鉄の過負荷は毒性が高く、それに起因する合併症は、患者が継続的な鉄キレート療法下に置かれない場合には、それが病的状態の主な起源となる。慢性的に輸血される患者の過剰な鉄の主要な供給源の1つは、輸血直後に破壊される生存能力のないRBC(蓄積された保存障害の結果として)由来のヘモグロビンである。生存能力のないRBCの数を減らすことによって、高い24時間回復を示すRBCの嫌気保存は、これらの患者への過剰な鉄の添加を減少させる。

【0060】

RBC保存寿命は、小胞形成の程度、溶血の程度および総細胞ATPレベルによって測定することができる。小胞形成が低く、溶血が低く、高いATPレベル、好ましくは約2~3 μmol ATP/Hb (g) が維持されている場合に長期の保存寿命が得られる。これらのパラメータのすべては、当業者に公知の慣用法によって測定することができる。例えば、総ヘモグロビ

10

20

30

40

50

ンに対して、上清ヘモグロビンの分画を算出することによって、溶血の程度に関して細胞試料をアッセイすることができる。ATPレベルを測定するために、例えば、RBCは、Technical Bulletins 336-W and 35--(Sigma Chemical社、セントルイス、ミズーリ州)に記載されている方法に従ってATPをアッセイすることができる。

【0061】

本明細書において、改善されたもしくは長期の保存期限または改善されたRBCの保存とは、現行の標準である約6週間に対して長期間の生存RBCの保存のことを言う。本開示の特定の実施形態において、実質的な酸素除去は約7~15週間の長期保存寿命を有するRBCを提供する。本開示の他の実施形態において、実質的な酸素除去は、特に本開示によって提供される保存溶液に細胞が懸濁される場合に、最大20週間またはそれ以上の長期保存寿命を示すRBCを提供する。他の側面において、実質的な酸素除去は、約10~15週間の長期保存寿命を示すRBCを提供する。他の側面において、長期保存寿命は10~20週間または10~25週間であることができる。他の側面において、保存寿命は、RBC解糖系の2,3-DPGフィードバック阻害を阻害することによって長期化することができる。

RBCの保存後に測定されるin vitroパラメータは、RBCのin vivo生存を測定するための手段を提供する。in vivo生存を評価するための慣用法は、レシピエントにおける輸血24時間後の細胞生存率を決定することである。米国において、一般的には、許容されるRBC製品を提供するために、細胞生存の平均百分率は、おおよそ75%またはそれ以上である必要がある。小胞形成、溶血の程度およびATPレベルの3つのパラメータは、in vivo細胞生存率を予測するために、当該技術分野で個々にルーチンに用いることができる。

【0062】

図18を参照すると、RBCが輸血される直前に、このようなRBCは、輸血前に酸素を添加しなおすための装置107に連結されたさらなるバッグ35内に入れられることができる。重要なことには、任意のガンマ線もしくはX線照射または、上記で取り込まれた有害な保存障害の発症をさけるための一酸化窒素の添加後に、酸素をRBCに添加しなおすことができる。装置107は装置OCDDと類似している。しかしながら、この装置はO₂/CO₂吸着剤材料を備えず、その代わりに中空繊維を含む内部空間に純粋な酸素または空気を含む。本使用は、輸血された血液を再酸素化する肺の能力が適切ではないかまたは鎌状赤血球貧血である場合の大量輸血などの特別な場合のためである。酸素が添加しなおされれば、針405を用いる輸血を行うことができる。

図19を参照すると、図1の可能な構成は、嫌気保存用バッグに保存する前のRBCの酸素枯渇およびRBCの白血球除去を説明する。図19は、供血者から、またはアフエレーシスによって得ることができる全血が、血漿成分、血小板およびRBCに分離することができることを示す。酸素枯渇、二酸化炭素枯渇または酸素および二酸化炭素枯渇前に白血球除去されたか、または酸素枯渇、二酸化炭素枯渇または酸素および二酸化炭素枯渇後に白血球除去されたRBCに添加液を添加することができる。

図20は、白血球除去、酸素、二酸化炭素または酸素および/もしくは二酸化炭素枯渇を含む、図1のフローチャートの構成を説明する。図20は、全血または成分分離後の白血球除去ステップを示し、この時点でRBCから白血球除去することができる。さらに、白血球除去は、酸素および二酸化炭素枯渇装置でもある組み合わせ白血球除去装置1060を用いて行うことができる。線照射またはX線照射は、段階A、段階Bまたは段階Cにおける種々の時間に行うことができる。ガンマ線およびX線照射は、OCDD装置100における酸素除去後の嫌気性条件中に、嫌気保存用バッグ200に保存中に、または輸血前の酸素添加前の保存後段階において行われることができる。照射は、好ましくは、嫌気性環境において行われる。なぜなら、嫌気性環境は酸化反応の燃料を除去することによって、酸化障害を最小限にするからである。あるいはまた、嫌気性条件が存在する前にガンマ線またはX線照射が行われる場合、RBCは、その直後に、好ましくは24時間以内に酸素枯渇を受けなければならない。

【0063】

図21は、白血球除去、酸素、二酸化炭素または酸素および/もしくは二酸化炭素枯渇な

らびにレシピエントへの輸血の直前の再酸素化を含む、図1のフローチャートの構成を説明する。輸血の直前の酸素の添加は、RBCのレシピエントに有益である。酸素添加は、大量輸血のレシピエント、特に鎌状赤血球症を患っているレシピエントに有益である。

図22は、白血球除去、酸素、二酸化炭素または酸素および/もしくは二酸化炭素枯渇ならびに採取および保存における種々の可能な時点での病原体不活化を含む、図1のフローチャートの構成を説明する。病原体不活化は、そのプロセス中の反応性酸素種の生成によってRBCを害する恐れがある。嫌気性環境は、その後の保存期間中にROSによるRBC損傷を低下させる。

図23は、白血球除去、酸素、二酸化炭素または酸素および/もしくは二酸化炭素枯渇ならびに保存中、種々の可能な時点での一酸化窒素添加を含む、図1のフローチャートの構成を説明する。一酸化窒素は、NO-前駆体、NOガスまたは硝酸塩として、嫌気性RBCに添加することができる。一酸化窒素およびヘモグロビン-NO化合物は、嫌気性条件下ではそれほど不安定ではない。

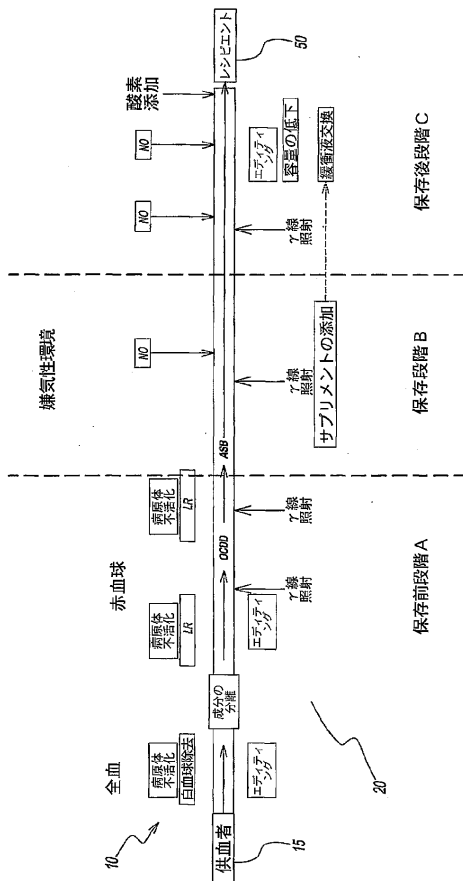
10

【0064】

図19~23のそれぞれにおいて、図1および本開示を通じて説明した他のプロセスもまた、このような図に対して提供され得る。

上述の記載は例示として種々の実施形態を説明しているが、本願の精神と範囲を逸脱しないで種々の変更および修飾を実施することができることは当業者には明らかであろう。

【図1】



【図2】

FIG. 1

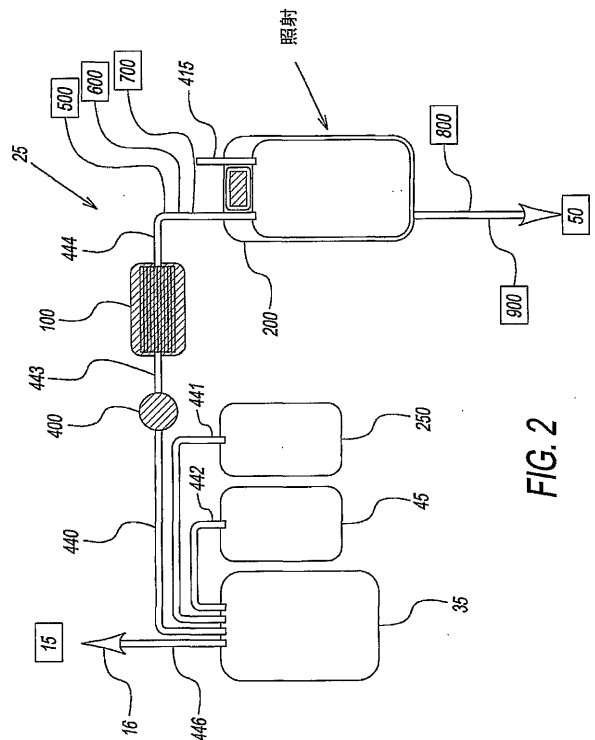


FIG. 2

【 図 3 a 】

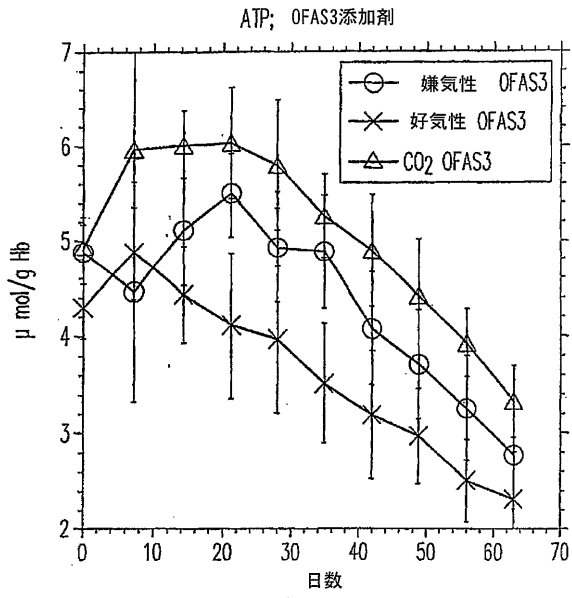


FIG. 3a

【 図 3 b 】

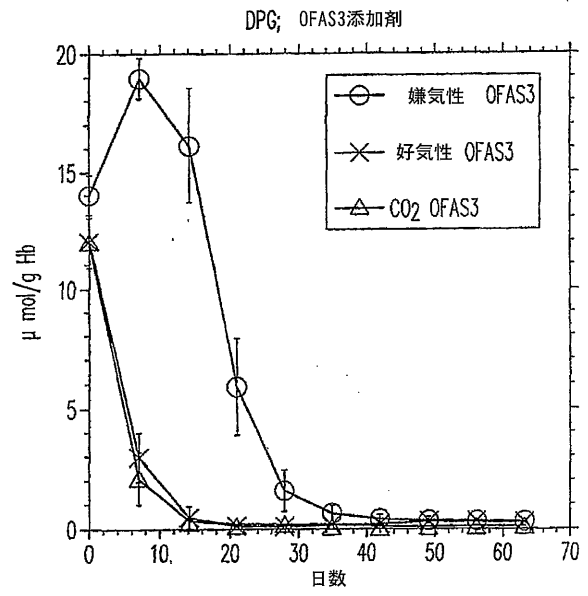


FIG. 3b

【 図 4 a 】

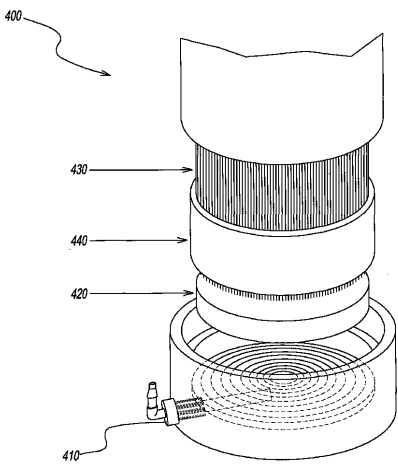


FIG. 4a

【 図 4 b 】

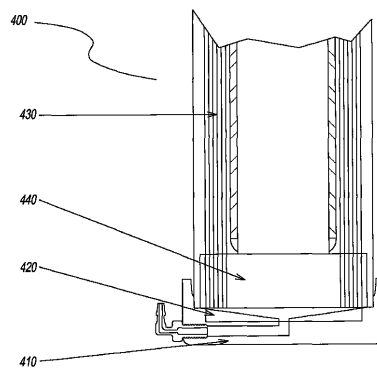


FIG. 4b

【 図 5 】

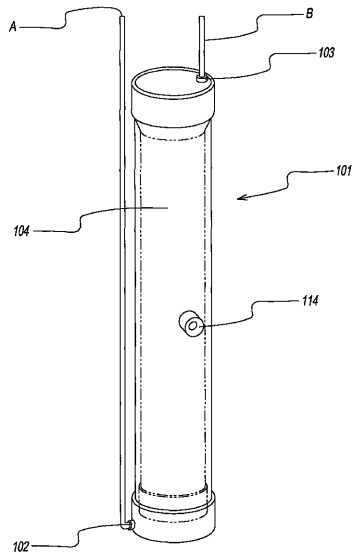


FIG. 5

【 図 6 】

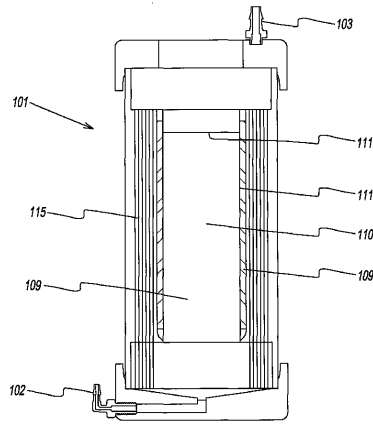
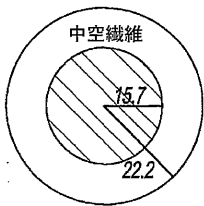


FIG. 6

【 図 7 A 】

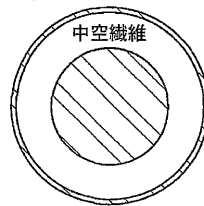


中心コアに吸着剤
現行OCDD
プロトタイプ

7.5 秒

FIG. 7A

【 図 7 B 】

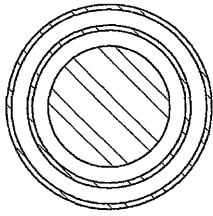


中心コアおよび周辺部
に吸着剤

4.0 秒

FIG. 7B

【 図 7 C 】

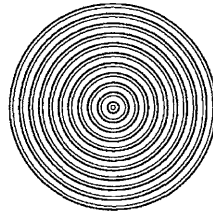


三層の吸着剤

3.1 秒

FIG. 7C

【 図 7 D 】



中空繊維と交互になった
吸着剤シート

2.9 秒

FIG. 7D

【 図 9 】

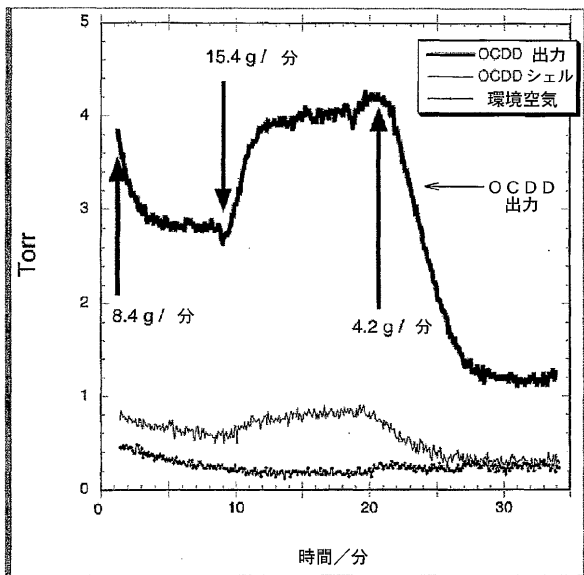


FIG. 9

【 図 10 】

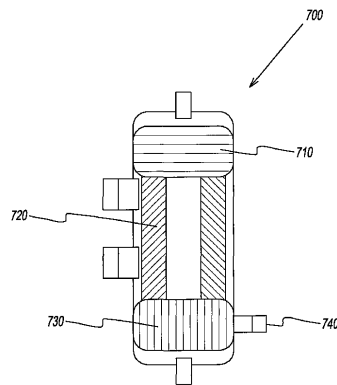


FIG. 10

【 図 1 1 a 】

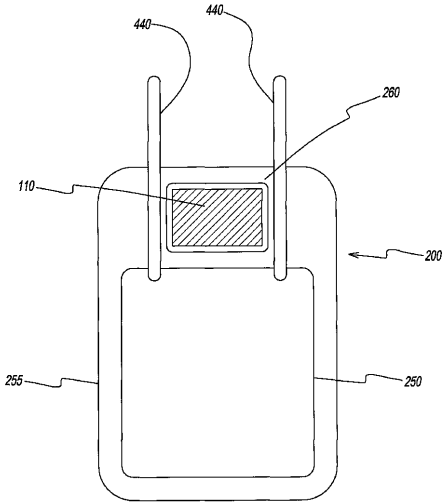


FIG. 11a

【 図 1 1 b 】

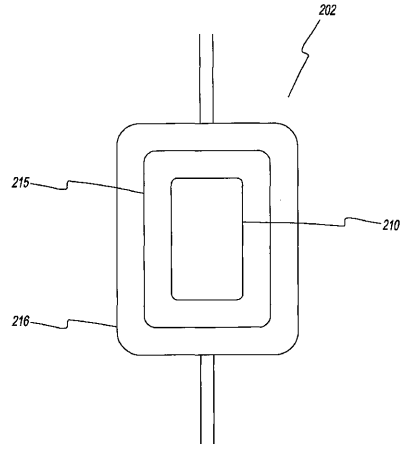


FIG. 11b

【 図 1 2 A 】

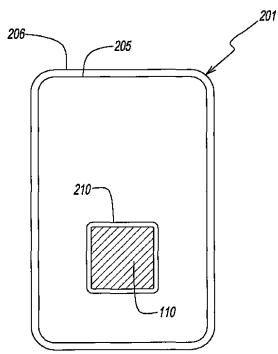


FIG. 12A

【 図 1 2 B 】

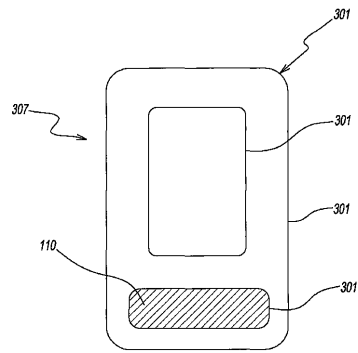


FIG. 12B

【 図 1 3 】

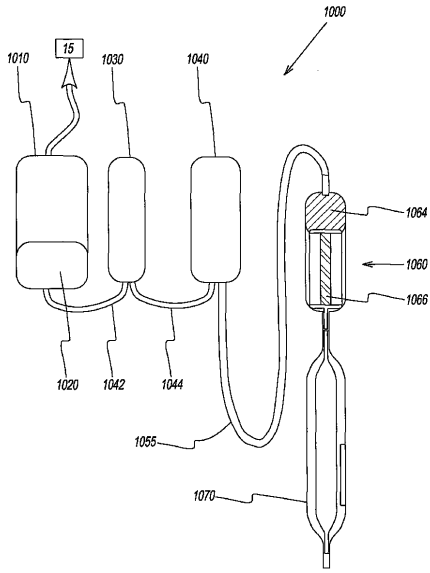


FIG. 13

【 図 1 4 】

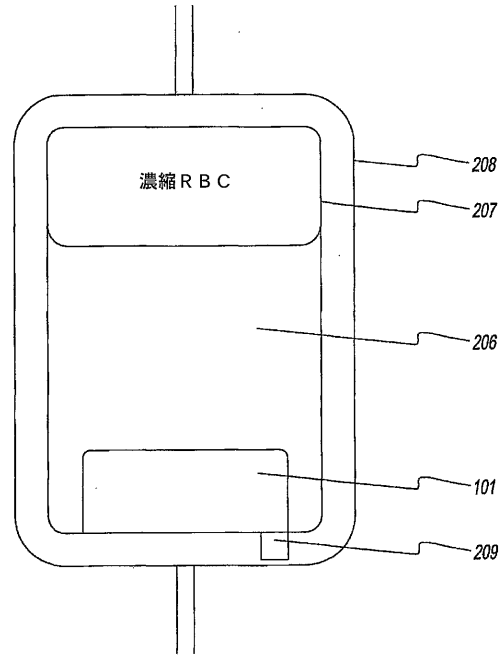


FIG. 14

【 図 1 5 】

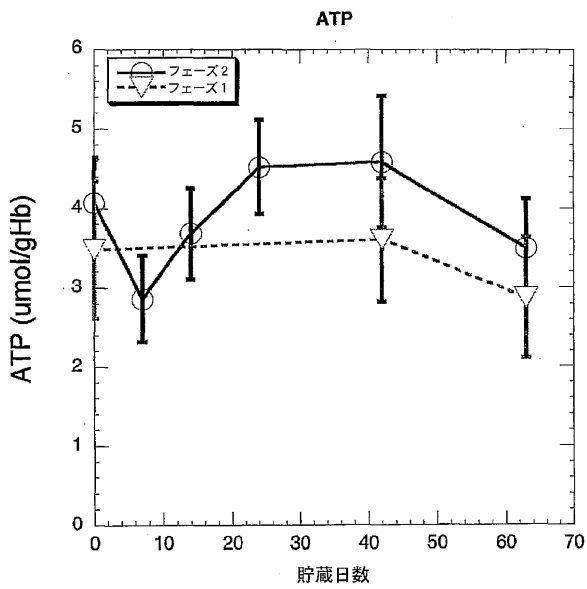


FIG. 15

【 図 1 6 】

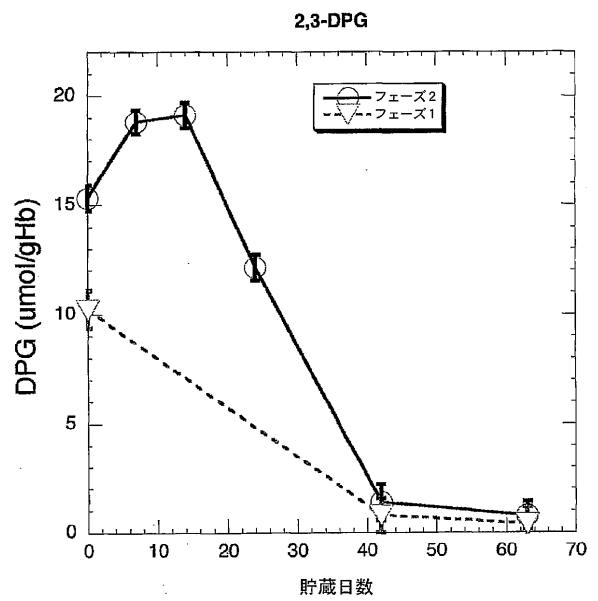


FIG. 16

【 図 1 7 】

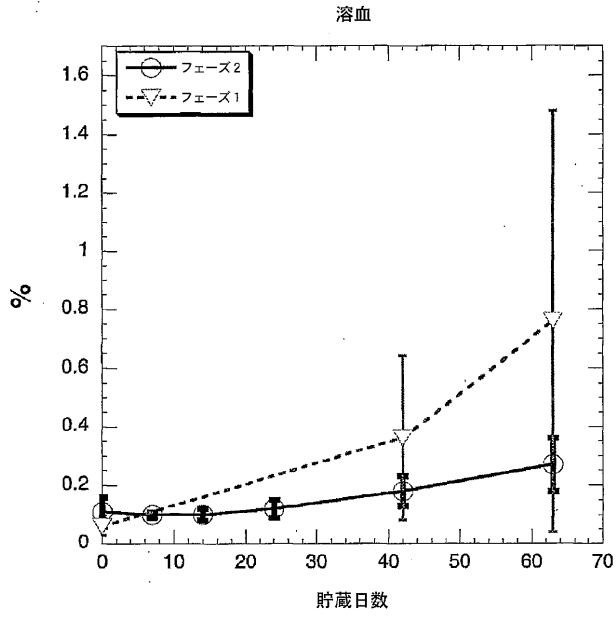


FIG. 17

【 図 1 8 】

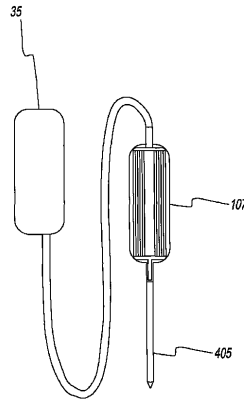
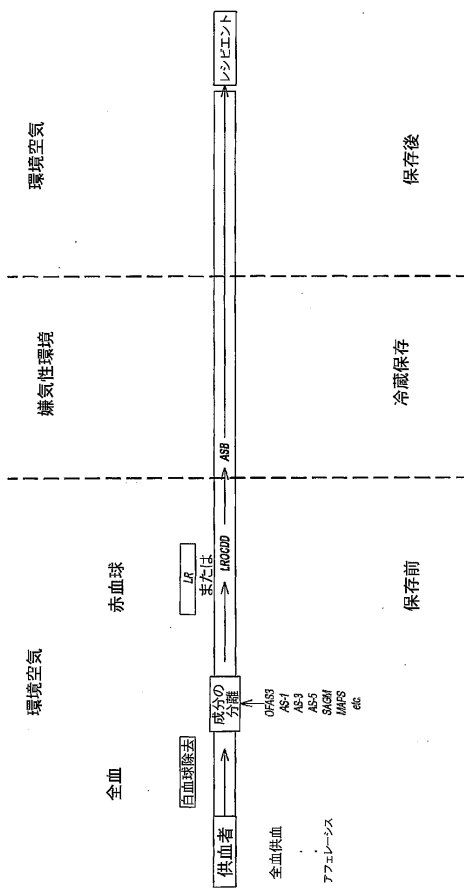


FIG. 18

【 図 1 9 】



【 図 8 】

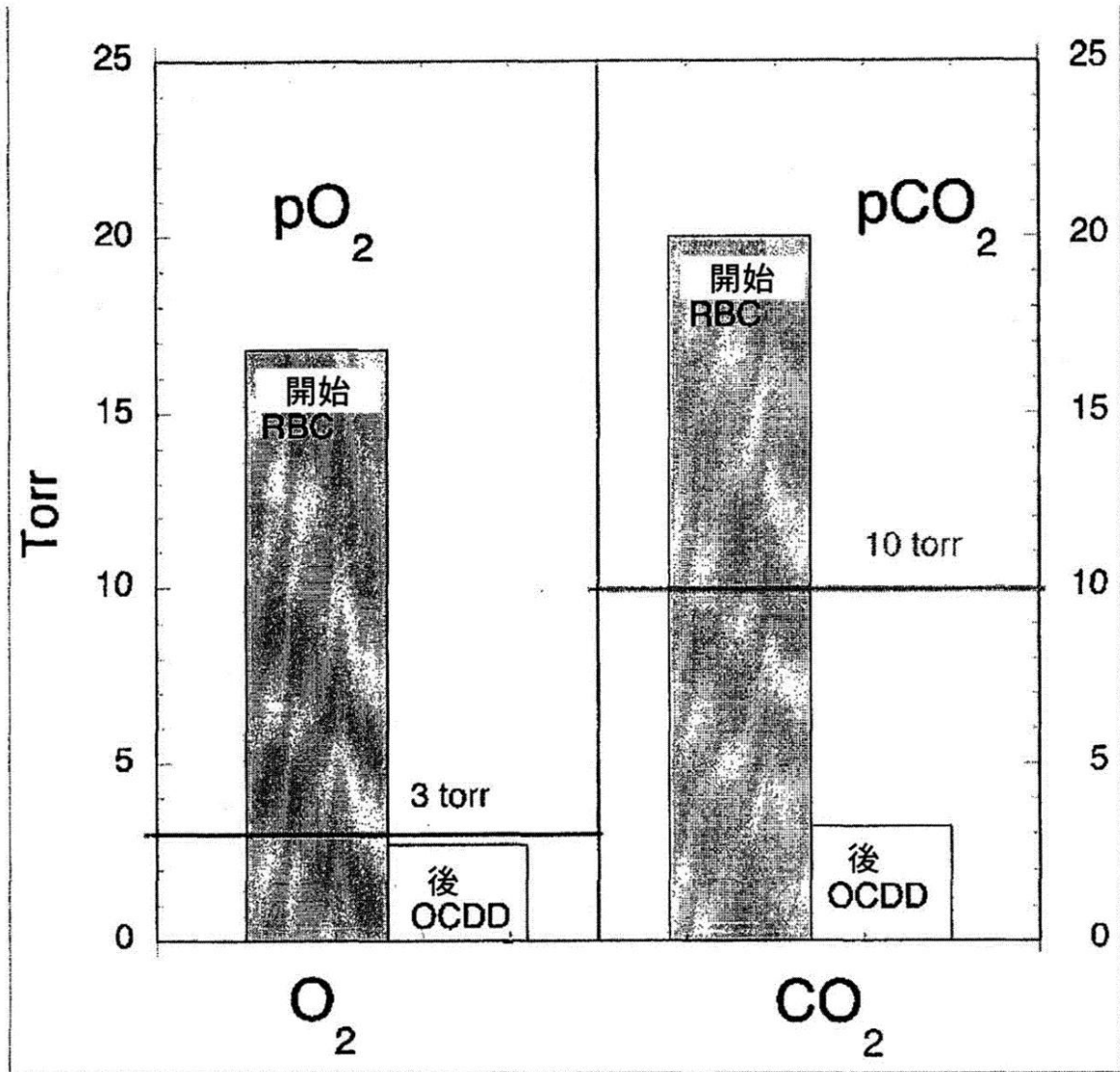


FIG. 8

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 12/45426

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A01N 1/02 (2012.01) USPC - 435/2 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) IPC(8): A01N 1/02 (2012.01) USPC: 435/2		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PubWEST, Google Scholar: Red blood cell, storage, quercetin, preparation, alpha-tocopherol, irradiating, irradiation, editing, whole blood, storage, transfusion, packed, RBC, nitric oxide, reoxygenate, volume, educe, nitric oxide, oxygenate, deformed, compromised, remove, reduce, concentrate, additive, antioxidant, pH, AS-1, AS-3, AS-5, SAGM, PAGG-		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2005/0208462 A1 (BITENSKY et al.) 22 September 2005 (22.09.2005); para [0003], [0009], [0013], [0024], [0041]	1-3, 6-7
Y		4-5, 31, 32
Y	US 5,037,419 A (VALENTINE et al.) 06 August 1991 (06.08.1991); col 2, ln 26-31; col 12, ln 19-20	4-5
Y	US 2001/0049089 A1 (DOTTORI) 6 December 2001 (06.12.2001); para [0006]	31, 32
Y	US 2004/0168982 A1 (BITENSKY et al.) 02 September 2004 (02.09.2004); para [0039]	31, 32
Y	EP 1109447 B1 (HESS et al.) 29 October 2003 (29.10.2003); para [0030]	31, 32
Y	US 2008/0160107 A1 (MCCANEY et al.) 03 July 2008 (03.07.2008); abstract; para [0009]	31, 32
Y	US 6,358,678 B1 (BAKALTCHEVA et al.) 19 March 2002 (19.03.2002); abstract	31, 32
Y	US 2003/0106861 A1 (GIBBS et al.) 12 June 2003 (12.06.2003); para [0071]	32
Y	US 5,360,734 A (CHAPMAN et al.) 01 November 1994 (01.11.1994); col 1, ln 38-44; col 2, ln 51-53	32
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* Special categories of cited documents:		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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	
"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)	"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	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 09 November 2012 (09.11.2012)	Date of mailing of the international search report 26 NOV 2012	
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 12/45426

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. <input type="checkbox"/>	Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. <input type="checkbox"/>	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. <input checked="" type="checkbox"/>	Claims Nos.: 8-30 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: This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.	
Group I claims 1-7, 31, and 32 directed to a method for preparing red blood cells (RBCs).	
Group II claims 33-39 directed to a system for extended storage of red blood cells (RBCs).	
The inventions listed as Groups I and II do not relate to a single inventive concept under Rule 13.1 because under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:	
*****Continued in Supplemental Box*****	
1. <input type="checkbox"/>	As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. <input type="checkbox"/>	As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. <input type="checkbox"/>	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. <input checked="" type="checkbox"/>	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.: 1-7, 31, and 32 directed to a method for preparing red blood cells (RBCs).
Remark on Protest	<input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee. <input type="checkbox"/> 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. <input type="checkbox"/> No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 12/45426

Continuation of Box III:

The special technical features of the Groups are delineated as above. Apart from the utilization of red blood cells, the Groups share no common technical features. The special technical features of Group I are obtaining whole blood; separating RBCs from the whole blood, to form packed RBCs; optionally adding an additive solution to the packed RBCs to form a suspension of packed RBCs; depleting oxygen, carbon dioxide or oxygen and carbon dioxide (O/CD) from the packed RBCs, or suspension of packed RBCs, to form O/CD depleted RBCs; storing the O/CD depleted RBCs in an anaerobic storage environment to maintain in an O/CD depleted condition. However, this does not represent an improvement over the prior art of US 2005/0208462 A1 to Bitensky et al. that teaches a method for preparing red blood cells (RBCs) (abstract; para [0003], [0009]) comprising obtaining whole blood (para [0013]); separating RBCs from the whole blood, to form packed RBCs (para [0013]); optionally adding an additive solution to the packed RBCs to form a suspension of packed RBCs (para [0013]); depleting oxygen from the packed RBCs to form O depleted RBCs (para [0003], [0013]); storing the O depleted RBCs in an anaerobic storage environment to maintain in an O depleted condition (para [0013], [0041]). Group II requires the special technical features of a device for removing white blood cells from RBCs; a device for removing oxygen, carbon dioxide, or oxygen and carbon dioxide (O/CD) from RBCs; a storage bag for storing RBCs that comprises an oxygen sorbent for maintaining the RBCs in an anaerobic condition; and a device for re-oxygenating the RBCs; and tubing connecting said device for removing white blood cells from RBCs to said device for removing O/CD from RBCs, tubing connecting said device for removing O/CD from RBCs to said storage bag; and tubing connecting said storage bag to said device for re-oxygenating the RBCs. None of these special technical features are required by Group I.

Therefore the inventions listed as Groups I and II do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because they do not share a same or corresponding special technical feature. This ISA will establish the ISR for the first Group mentioned, specifically, Group I claims 1-7, 31, and 32 without additional fees. In order for all inventions to be examined, the appropriate examination fees must be paid.

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), 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

(74)代理人 100093300
弁理士 浅井 賢治

(74)代理人 100119013
弁理士 山崎 一夫

(74)代理人 100123777
弁理士 市川 さつき

(74)代理人 100111501
弁理士 滝澤 敏雄

(72)発明者 吉田 達郎
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02465 ウェスト ニュートン コモンウェルス ア
ベニュー 1736

(72)発明者 ヴェルヌッチ ポール
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 01862 ビレリカ ダイアー ストリート 7
Fターム(参考) 4H011 CA01 CB07 CD02 CD06