



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0006820
(43) 공개일자 2017년01월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12M 1/26 (2006.01) C12M 1/12 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12M 1/264 (2013.01)
C12M 1/12 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0098071
(22) 출원일자 2015년07월10일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
주식회사 글로윈
세종특별자치시 소정면 매실로 190 ()
박중순
충청남도 천안시 동남구 목천읍 삼성5길 42, 121
동 806호 (원앙마을 부영아파트)
(72) 발명자
박중순
충청남도 천안시 동남구 목천읍 삼성5길 42, 121
동 806호 (원앙마을 부영아파트)
(74) 대리인
유중완

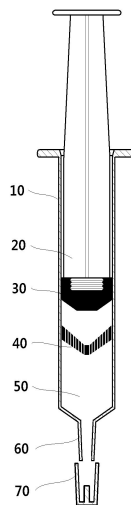
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 **혈소판 농축 방법 및 이를 위한 농축기구**

(57) 요약

개시된 혈소판 농축방법은 주사기의 실린더 내 피스톤 전방에 삽입되어 원심분리되는 혈액의 적혈구와 혈소판 및 혈장의 비중 차이를 이용하여 원심분리되는 적혈구와 혈소판 사이로 이동하는 필터부재가 삽입된 주사기로 채혈 후 원심분리하고 혈장의 상층부를 제거함으로써 그 하층부에 혈소판이 풍부하게 농축된 혈장을 얻는다. 따라서 주사기로 채혈 후 옮겨 담지 않고 그대로 1회의 원심분리하는 것으로써 고농도의 혈소판 농축이 가능한 것이다. 채취가 가능하다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류
C12M 1/265 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

혈액이 통과할 수 있는 다수의 모세관 구멍이 있고 혈액의 적혈구 비중보다 작고 혈소판 비중보다 큰 재질로 된 필터부재가 삽입된 주사기로 채혈하고, 채혈된 주사기 실린더를 마개로 막고 피스톤 로드를 제거한 상태로 원심분리기에 넣어 원심분리하여 그 필터부재 상층으로 분리되는 혈장의 상층부를 빼내고 그 하층부에 혈소판이 풍부한 혈장층을 획득하는 것을 특징으로 하는 혈소판 농축방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 채혈 전에 항응고제를 흡입하는 것을 포함하는 혈소판 농축방법

청구항 3

주사기의 실린더와 피스톤 및 피스톤에 분리 가능하게 연결되는 피스톤 로드를 포함하며, 상기 실린더 내 피스톤 앞쪽에 수용되어 채혈되는 혈액이 통과할 수 있는 다수의 모세관 구멍이 있고 채혈 후 원심분리되는 혈액의 적혈구와 혈장 사이의 경계 위치로 이동할 수 있는 비중을 갖는 재질로 되는 필터부재가 구비된 구성을 특징으로 하는 혈소판 농축기구.

청구항 4

청구항 3에 있어서, 상기 필터부재와 상기 피스톤 사이에 개재되어 채혈되는 혈액이 통과할 수 있는 다수의 모세관 구멍이 있고 채혈 후 원심분리되는 혈소판을 그 필터부재와의 사이에 가두기 위한 필터캡이 더 구비된 구성을 특징으로 하는 혈소판 농축기구.

청구항 5

청구항 3에 있어서, 상기 필터부재 저부가 원심분리 후 적혈구 상층부를 겔화하기 위한 겔화제로 코팅된 것을 특징으로 하는 혈소판 농축기구.

발명의 설명

기술분야

[0001] 이 발명은 혈소판 농축방법 및 이를 위한 농축기구에 관한 것으로 채혈한 혈액을 옮겨 담지 않고, 1회의 원심분리로 혈소판이 풍부한 혈장을 얻기 위한 것이다.

배경기술

[0003] 혈액은 대부분 적혈구와 혈장으로 이루어졌으며, 소량의 백혈구와 혈소판이 함유되어 있다. 이중 혈소판은 지혈에 관계하며, 수많은 단백질, 싸이토키인 및 생물학적 활성 인자를 포함하고 있어 창상 치유를 개시하고 조절하는 것으로 알려져 있다. 정상인의 경우 혈액 1 μ l당 혈소판 수가 150,000~400,000이며, 병적 요인으로 혈소판 수가 적은 경우도 있지만 대체로 노화가 이루어 질수록 혈소판 수도 감소한다.

[0004] 1970년대부터 혈소판 풍부 혈장(Platelet rich plasma)에 대한 연구가 이루어지기 시작하여 상악안면 수술, 창상, 화상과 같은 외과적 치료, 스포츠 관련 손상 치료, 통증, 탈모치료, 치과 영역에 이르기까지 널리 사용되며

일반 대중에게 PRP치료, PRP 프롤로, 자가혈치료 등으로 알려지게되었다.

[0005] 그러나 일부 그릇된 사용이나 시술로 인한 부작용과 남용으로 만병통치의 기술로 오인되기도 하였으며, 특히 성형외과적 목적의 사용에 있어서 소비자 불만이 많이 발생하였다는 것은 주지의 사실이다.

[0006] 기존의 방법으로 대한민국 공개특허 10-2010-0095151(하기 특허문헌 1), 대한민국 등록특허 10-1114712(하기 특허문헌 2)와 10-0917795(하기 특허문헌 3) 및 10-1043227(하기 특허문헌 4) 등은 2회에 걸친 원심분리를 수행하는 방법으로 개인마다 적혈구의 양에 차이가 발생하여 적혈구를 제거하거나 밸브를 조절하기 위한 시간이 오래 걸린다는 단점을 갖고 있다. 또한, 대한민국 등록특허 10-1209625(하기 특허문헌 5)는 비중차를 이용하여 분리하는 용기로 화학물질이 부가되어 있어 적혈구의 상층부가 겔화되어 혈장과의 분리가 용이하다는 장점을 갖고 있으나 혈소판 농축용이 아닌 검사, 진단용의 기구일 뿐이다. 대한민국 등록실용신안 20-0455871(하기 특허문헌 6)은 혈액분리기구 본체의 일정한 구간에 0.05~0.5 μ m 메쉬의 필터를 구비하고 그 아래에 1~5 μ m 메쉬필터를 구비하며 혈액을 본체 하부에서 투입하는 것으로 하고 있으나 메쉬의 눈막힘 현상과 낮은 투입 압력으로 필터층 상층부까지 혈액의 투입이 불가하며, 원심분리를 하여도 혈액의 분리가 일어날 수 없다는 모순을 내포하고 있다. 대한민국 등록특허 10-1087653(하기 특허문헌 7)은 채혈한 혈액을 1차 원심분리하여 적혈구 층과 혈장층을 분리한 후 1 피스톤의 밸브를 열고 적혈구가 통과 못하는 필터를 장착하여 1 피스톤을 적혈구 층까지 밀어 넣고 0.2 μ m 필터를 장착한 2 피스톤을 1 피스톤 상부에 장착하고 2차 원심분리하는 과정을 거쳐 혈소판 풍부 혈장을 얻는다고 되어 있어 조작이 복잡하고 20분 이상의 원심분리 시간이 소요된다는 단점이 있다. 또 대한민국 등록특허 10-1026599(하기 특허문헌 8)는 용기 본체에 혈장층의 이동을 막는 마감부를 구비하고, 적혈구와 혈장 및 혈소판이 포함된 높이를 조절할 마감부를 돌려 혈소판을 유출부 선단까지 밀어 올려 혈소판 풍부 혈장을 얻는 방식이나 마감부에서의 혈액 누출 가능성이 높고, 마감부 조절이 쉽지 않고 특히 유동이 있을 경우 혈소판이 적혈구 층으로 침강되기 쉬워 혈소판의 높은 농축이 어렵다.

[0007] 즉 기존의 방법에서 나타나는 내용을 요약하면 개인별 적혈구 비율의 차이 조절의 어려움, 적혈구내로 혈소판의 침강 또는 혈장층에 분산됨에 따른 혈소판의 낮은 농축비율, 혈액을 옮겨담거나 조절과정에서 감염으로부터의 안전성 확보, 채혈에서부터 혈소판 농축까지 시간의 지연에 대한 문제를 완벽히 해결한 제품이 없었다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0009] (특허문헌 0001) KR 10-2010-0095151 A (2010/08/30)
- (특허문헌 0002) KR 10-1114712 B1 (2012/02/02)
- (특허문헌 0003) KR 10-0917795 B1 (2009/09/10)
- (특허문헌 0004) KR 10-1043227 B1 (2011/06/15)
- (특허문헌 0005) KR 10-1209625 B1 (2012/12/03)
- (특허문헌 0006) KR 20-0455871 Y1 (2011/09/22)
- (특허문헌 0007) KR 10-1087653 B1 (2011/11/22)
- (특허문헌 0008) KR 10-1026599 B1 (2011/03/25)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 이 발명은 혈소판 농축 혈장을 이용한 치료에서 자가혈의 채혈에서부터 혈소판 농축 혈장을 얻기까지 혈액을 옮겨 담지 않고 별도의 혈액 누출이 없어 오염 및 감염의 위험으로부터 안전하며, 개인에 따른 적혈구의 비율차이나 혈소판 농도차를 극복하고 1회의 원심분리로 혈소판 농축 비율의 조절이 가능한 혈소판 농축 분리용 멸균된 1회용 의료기구를 제공하는데 그 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기 목적을 달성하는 이 발명의 혈소판 농축방법은 혈액이 통과할 수 있는 다수의 모세관 구멍이 있고 혈액의 적혈구 비중보다 작고 혈소판 비중보다 큰 재질로 된 필터부재가 삽입된 주사기로 채혈하고, 채혈된 주사기 실린더를 마개로 막고 피스톤 로드를 제거한 상태로 원심분리기에 넣어 원심분리하여 그 필터부재 상층으로 분리되는 혈장의 상층부를 빼내어 그 하층부에 혈소판이 풍부한 혈장층을 획득하는 것을 그 특징으로 하며, 바람직하게는 상기 채혈 전에 항응고제를 흡입하는 단계를 포함할 수 있다.

[0013] 또한, 상기 목적을 달성하는 이 발명의 혈소판 농축기구는 주사기의 실린더와 피스톤 및 피스톤에 분리 가능하게 연결되는 피스톤 로드를 포함하며, 상기 실린더 내 피스톤 앞쪽에 수용되어 채혈되는 혈액이 통과할 수 있는 다수의 모세관 구멍이 있고 채혈 후 원심분리되는 혈액의 적혈구와 혈장 사이의 경계 위치로 이동할 수 있는 비중을 갖는 재질로 되는 필터부재가 구비된 구성을 그 특징으로 하며, 바람직하게는 원심분리되는 혈소판을 그 필터부재와의 사이에 가두기 위한 필터캡을 더 구비할 수 있으며, 또한 바람직하게는 상기 필터부재 저부를 원심분리 후 적혈구 상층부를 겔화하기 위한 겔화제로 코팅할 수 있다.

발명의 효과

[0015] 일반적으로 혈액을 원심분리하면 비중 차이에 따라 밑에서부터 위로 적혈구와 혈소판 및 혈장이 층을 이루어 분리되는데, 이 발명에서 사용된 상기 농축기구의 필터부재는 그 재질의 비중에 의해 원심분리에 따라 이동하여 적혈구와 혈소판 사이의 경계에 놓이며, 혈소판 위에는 혈장이 최상층을 이룬다. 따라서 최상층의 혈장층을 다른 주사기 또는 피펫으로 채집 걸어 넘으로써 필터부재 위에 농축된 혈소판이 풍부한 혈장층을 용이하게 획득할 수 있는 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0017] 도 1은 이 발명에 따른 혈소판 농축 기구의 구성을 나타낸 구성도
- 도 2는 이 발명에 따른 모세관 구멍이 있는 필터부재와 필터캡을 보인 사시도
- 도 3은 이 발명에 따른 혈소판 농축 기구 사용방법에 대한 개념도
- 도 4는 이 발명에 따른 혈소판 농축 기구의 다른 사용방법 개념도
- 도 5는 이 발명에 따른 혈소판 농축 기구의 또 다른 사용 방법 개념도
- 도 6은 이 발명에 따른 혈소판 농축 기구를 이용하여 원심분리한 사진

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 첨부된 도면을 참조하여 실시 예를 중심으로 상세히 설명하지만, 이 발명이 실시예에 의해 제한되거나 한정되는 것은 아니며, 이 발명을 설명함에 있어서, 공지된 기능 혹은 구성에 대해 구체적인 설명은 생략될 수 있다.

[0019] 도 1은 이 발명에 따른 혈소판 농축 기구의 구성을 나타낸 구성도이다. 도 2는 이 발명에 따른 모세관을 갖는 필터부재의 사시도 이며 도 3 및 도 4는 이 발명에 따른 혈소판 농축 기구의 사용방법에 대한 설명을 위한 도면이다.

[0020] 도 1과 같이 구성되어 있는 혈소판 농축 기구는 일반적인 채혈용 주사기와 그 형태가 동일하지만 피스톤 로드를 풀어 낼수 있으며, 실린더 내부공간에 직경 0.1~1mm의 모세관(41)이 필터부재(40) 단면적의 15~30%가 형성된 필터부재(40)가 내재된 것이며, 필터부재(40)의 재질은 혈액이나 항응고제 등과 반응성이 없고, 비중은 약 1.04~1.06인 것이다. 또한, 한정하는 것은 아니지만 필터부재(40)의 저부에 유기 겔화제를 코팅하여 원심분리 후 적혈구의 상층부 표면이 겔화되어 필터부재의 유동을 막을 수 있도록하거나, 필터부재(40)의 저부 표면에 요철을 많이 주어 적혈구와의 부착력을 증대 시키는 방안과, 필터부재(40) 상부에 혈소판의 유동을 막는 일종의 격벽인 다공의 유동방지 필터캡(42)을 포함한다. 이와 같은 격벽은 혈소판의 침전이 용이하도록 하는 기능을 겸비한 것으로 일종의 경사판 역할을 수행하게 하는 것으로 그 형상은 원형, 다각형도 가능하여 2에 도시한 것으

로 한정하는 것은 아니다. 즉 상부에 혈소판이 퇴적되지 않도록 표면적을 최소화한 것이 바람직하다.

- [0021] 도 3에서 도시한 바와 같이, 이 발명에 따른 혈소판 농축 기구의 사용방법은 혈소판 농축 기구의 피스톤 로드를 전진시켜 필터부재(40)가 캡결합부(60)까지 밀려간 상태에서 캡결합부(60)에 주사침을 체결하고, 피스톤 로드(20)를 후퇴시켜 항응고제를 채혈량의 1/10~1/15를 취한 후 혈액을 채취한다. 이 때 필터부재(40)는 항응고제 및 채혈된 전혈보다 무거우므로 캡 결합부(60) 가까이 위치하게 되며, 항응고제와 전혈이 잘 섞이도록 하는 역할을 하므로 항응고제와 전혈이 잘 섞이도록 별도의 교반이나 흔들여 줄 필요가 없다.
- [0022] 채혈 후 기구를 역방향으로 하여 캡 결합부(60)가 상부로 오도록 한 후 주사침을 제거하고 캡 결합부(60)에 하부 캡(70)을 체결하여 혈액의 누출이 없도록 한 후 피스톤 로드(20)를 탈착한 후 다시 하부 캡(70)이 지면을 향하도록 원심분리기에 넣은 다음 원심분리를 수행한다. 이때 원심분리기 로터의 무게 균형을 맞추기 위하여 원심분리기 축 반대편에도 동일한 무게의 혈액 채취 시료 또는 무게 추를 넣고 원심분리기의 회전수와 시간을 조절하고 원심분리를 수행한다.
- [0023] 원심분리기의 회전수와 시간은 일반적으로 혈액분리 기구의 직경 대비 피스톤의 길이가 1:5 정도일 경우, 선행적 실험으로 3,000~3,800 rpm으로 하며, 시간은 6~10분 범위로 하지만 혈액의 점도가 높은 경우, 혈액의 침강속도가 낮은 경우, 빈혈 증세가 있는 경우, 여성의 경우 회전 속도와 분리시간을 5~20% 상향 값으로 하여 원심분리를 수행하는 편이 혈소판 농축 효율이 높다.
- [0024] 원심분리 후 혈소판 농축 기구를 충격이 가해지지 않도록 주의하여 원심분리기에서 꺼내면 적혈구는 침강되어 캡 결합부(60)에서부터 필터부재(40) 하단부에 위치하게 되며, 특별한 경우를 제외하고 필터부재(40)의 모세관(41)까지 적혈구로 채워지게 된다. 전술한 바와 같이 필터부재(40)의 하단부 표면에 유기 겔화제가 코팅되어 있는 경우 상층부의 적혈구를 겔화시키기 때문에 필터부재(40)의 유동이 적어 필터부재(40) 상부에 침강된 혈소판의 유동이 적게 된다. 즉 필터부재(40)의 상층부에는 혈소판과 혈장이 존재하며 피스톤(30) 부위에는 혈소판이 하부로 침강되어 혈장만이 존재하며 필터부재(40) 상부에 가까울수록 혈소판이 농축되는 정도가 높다. 혈소판과 혈장은 비중 차이가 크지 않아 작은 충격에도 잘 유동 되지만 필터캡(42)이 설치되어 원심분리 시 필터부재(40) 상부 표면의 오목한 부분에 고농도로 혈소판이 농축되게 되며, 필터부재(40) 상부에 농축된 혈소판의 비말을 막고 혈소판의 응집 침강 속도를 높이게 된다.
- [0025] 피스톤(30)을 실린더(10)에서 제거한 후 필터부재 상층부에 존재하는 혈장을 혈장층 표면에서부터 주사기 또는 피펫으로 흡인하는 과정으로 전체 혈장의 2/3~4/5 까지 채취한다.
- [0026] 혈장의 제거 후 필터부재(40) 상부에서 필터캡(42) 사이에 남은 용액은 혈소판이 4~8배 농축된 혈장으로 주사기를 이용하여 용이하게 채취하여 시술에 사용할 수 있다.
- [0027] 도 4는 항응고제를 사용하지 않는 방법으로 혈소판이 농축된 피브린 겔을 얻는 방법으로, 도 3에 설명한 내용과 동일한 원리가 작용 되므로 순서에 입각하여 간략히 서술하면 다음과 같다. 다만, 이 방법에서 사용되는 기구에는 필터캡(42)이 없는 상태이다.
- [0028] 도 3의 방법과 마찬가지로 피스톤 로드를 전진시킨 상태에서 주사침을 결합하고 피스톤 로드를 후퇴시켜 혈액을 채취한다.
- [0029] 주사침을 제거하고 하부 캡(70)을 결합하고, 피스톤 로드를 분리 제거한 후 원심분리를 수행한다. 이때 원심분리기의 회전수와 시간은 3000~3800 rpm 이며 시간은 3~8분 범위이다..
- [0030] 원심분리 후 기구를 꺼내면 필터부재(40) 하부에는 적혈구가 농축되어 있으며, 필터부재 상부에는 응고된 형태의 겔과 섬유소가 존재하지 않은 혈청으로 분리된다.
- [0031] 피스톤을 기구에서 분리한 후 주사기 또는 피펫을 이용하여 혈청을 채취해 낸다.
- [0032] 핀셋과 같은 기구를 이용하여 필터부재(40) 상부의 피브린 겔을 채취하여 시술에 사용한다.

실시예 1

- [0034] 상기와 같은 기구를 이용하여, 도 3의 방법에서 설명한 방법으로 혈소판 농축을 수행하였다.
- [0035] 건장한 성인 남자로 혈액을 채취하여 혈소판 수치를 검사한바 220,000개/ μ l 였으며, 본 기구를 이용하여 항응고

제를 2ml 채취하고, 이어서 혈액을 15ml 채혈하였다.

[0036] 주사침을 제거하고 혈액의 누출이 없도록 하부캡을 체결하고, 피스톤 로드를 분리 제거한 후 원심분리기에 넣고 3200 rpm, 7분으로 원심분리기를 조정한 후 원심분리를 수행하였다.

[0037] 피스톤을 기구에서 분리 제거한 후 주사기를 이용하여 필터부재(40) 상부의 혈장층을 채취하였다.

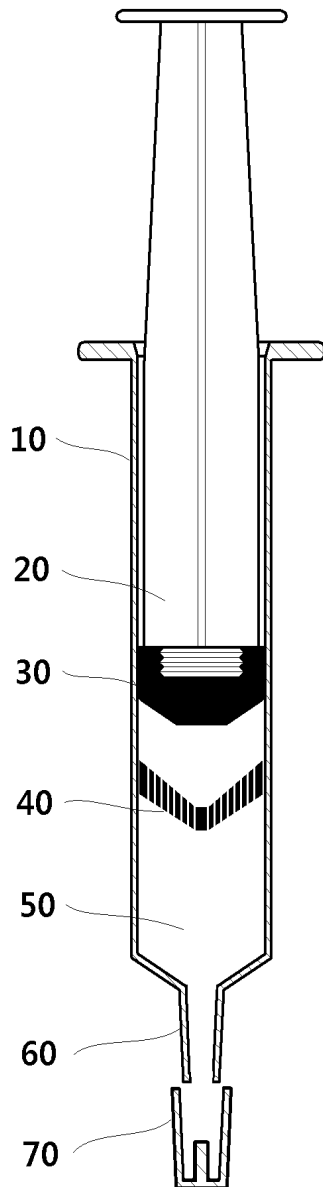
[0038] 필터부재(40) 상부와 필터캡(42) 사이에 존재하는 층을 채집하여 혈소판 수치를 검사한 결과 1,180,000개/ μ l로 나왔다.

부호의 설명

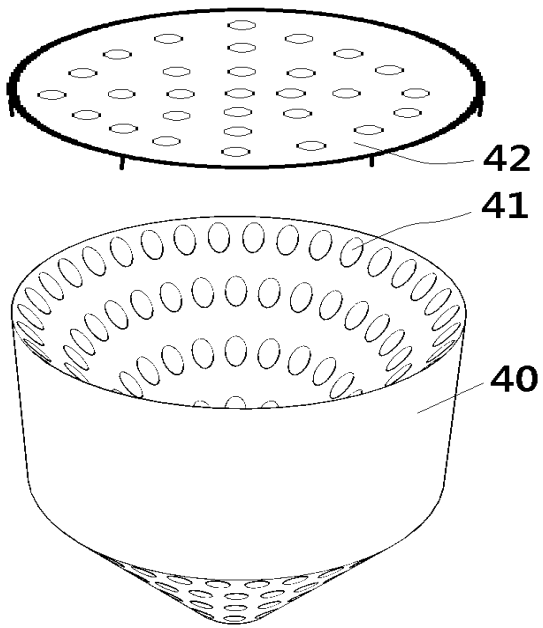
[0040] 10: 실린더, 20: 피스톤 로드, 30: 피스톤, 40: 필터부재, 41: 모세관 구멍, 42: 필터캡, 50: 실린더 내부공간, 60: 캡 결합부, 70: 하부 캡, 80: 연결 어댑터

도면

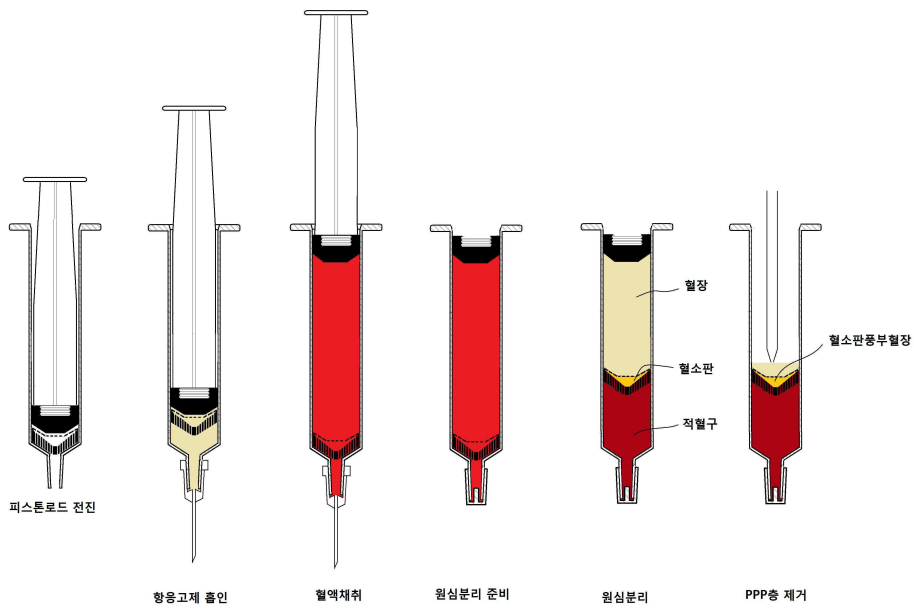
도면1



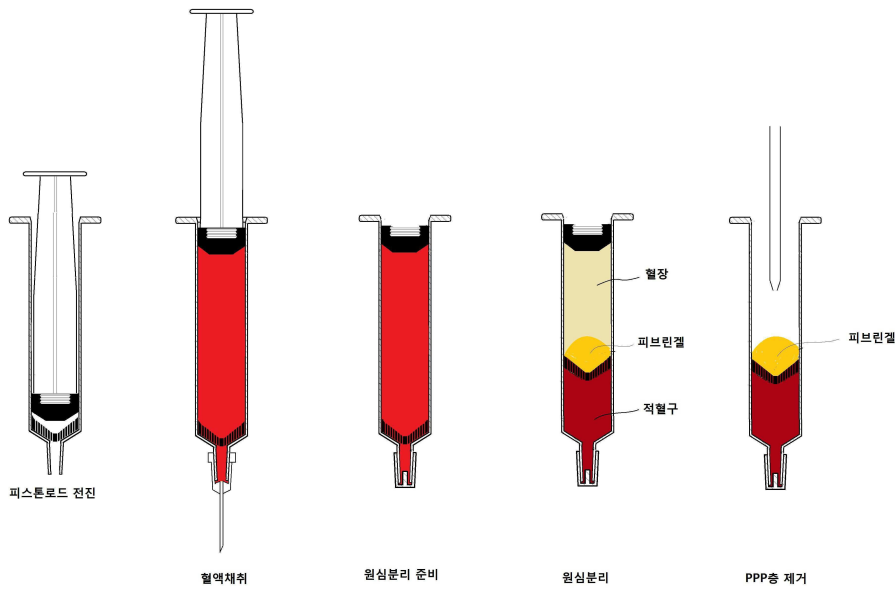
도면2



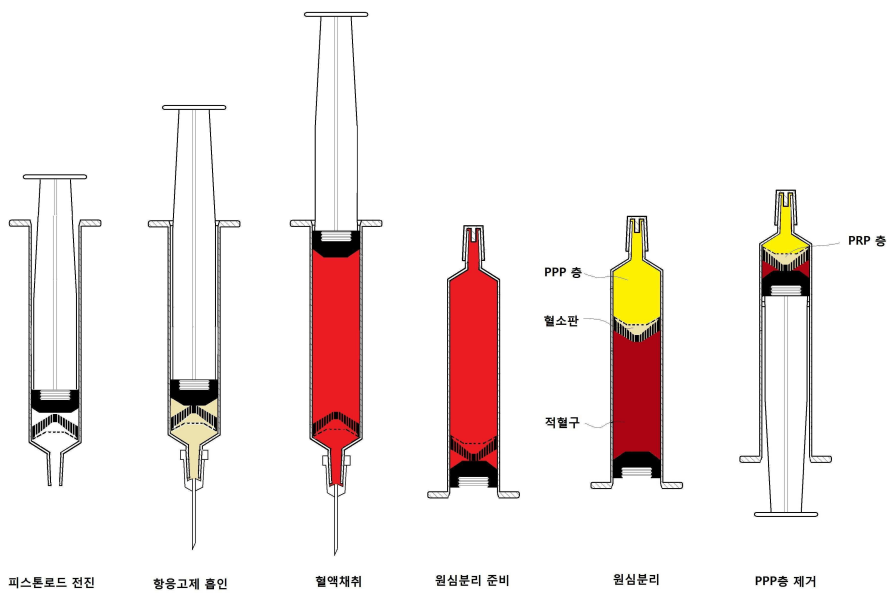
도면3



도면4



도면5



도면6

