



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2010년07월27일
 (11) 등록번호 10-0972702
 (24) 등록일자 2010년07월21일

(51) Int. Cl.
A61M 1/16 (2006.01) *A61M 1/02* (2006.01)
B01J 20/26 (2006.01) *B01J 20/28* (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2007-7024948
 (22) 출원일자(국제출원일자) 2006년03월31일
 심사청구일자 2007년10월29일
 (85) 번역문제출일자 2007년10월29일
 (65) 공개번호 10-2007-0116667
 (43) 공개일자 2007년12월10일
 (86) 국제출원번호 PCT/JP2006/306944
 (87) 국제공개번호 WO 2006/106972
 국제공개일자 2006년10월12일
 (30) 우선권주장
 JP-P-2005-00101466 2005년03월31일 일본(JP)
 (뒷면에 계속)
 (56) 선행기술조사문헌
 EP01579838 A1
 JP14172163 A
 US05407581 A1
 WO2004052270 A1

(73) 특허권자
도레이 카부시키가이샤
 일본 103 도쿄도 주오구 니혼바시 무로마찌 2쵸메
 1방 1코
 (72) 발명자
시마가끼, 마사아끼
 일본 5202101 시가켄 오쓰시 아오야마 5-7-5
야마무라, 야스후미
 일본 5200842 시가켄 오쓰시 소노야마 2-15-1-565
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
박보현, 장수길

전체 청구항 수 : 총 30 항

심사관 : 오승재

(54) 흡착재 및 체외 순환용 칼럼

(57) 요약

본 발명은 혈액 중에 존재하는 세포, 과립구나 단구 등의 활성화된 백혈구, 암세포를 비롯한 세포를 제거할 수 있음과 동시에, 잔존한 세포에 대하여 활성화를 촉진시키는 사이토카인류의 제거도 가능하고, 더구나 압력 손실 우려가 없이 형상 안정성이 높은 흡착재를 제공하는 것을 과제로 한다. 즉, 본 발명은 제타 전위가 -20 mV 이상이며, 혈액 중의 과립구·단구를 흡착하는 흡착재, 면역 억제성 단백질을 흡착하는 암 치료용 흡착재, 네트와 부직포의 2층 구조를 갖는 것을 특징으로 하는 흡착재, 및 상기 어느 흡착재든 충전하여 이루어지는 혈액 순환 칼럼을 제공하는 것이다.

(72) 발명자

사또, 가즈히사

미국 81001 콜로라도주 푸에블로 맥켄지 로드 1730

테라모또, 가즈오

일본 5200865 시가켄 오쓰시 난고 2-25-8

오오제끼, 다께시게

일본 5200842 시가켄 오쓰시 소노야마 2-10-

에이3-35

와다, 시게히사

일본 5208558 시가켄 오쓰시 소노야마 2-15-비4-25

(30) 우선권주장

JP-P-2005-00111651 2005년04월08일 일본(JP)

JP-P-2005-00111652 2005년04월08일 일본(JP)

특허청구의 범위

청구항 1

제타 전위가 -20 mV 이상이며, 혈액 중의 과립구, 단구 및 사이토카인을 흡착하는 흡착재이며, 관능기를 결합하여 이루어지는 수불용성 담체를 포함하고, 상기 수불용성 담체의 형상이, 섬유 직경이 3 μm 초과 10 μm 미만인 섬유 또는 중공사, 및 표면 돌기의 직경이 3 μm 초과 10 μm 미만인 비드로부터 선택되는 형상이고, 입과구 흡착률이 40 % 이하인 것을 특징으로 하는 흡착재.

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 사이토카인이 인터루킨-1(IL-1), 인터루킨-6(IL-6), 인터루킨-8(IL-8), 인터루킨-10(IL-10), TNF- α , 전환 성장 인자-베타(TGF- β), 혈관 신생 증식 인자(VEGF) 및 면역 억제 산성 단백(IAP)으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는 흡착재.

청구항 4

제1항에 있어서, 응고 제XIII 인자의 흡착률이 30 % 이하인 것을 특징으로 하는 흡착재.

청구항 5

제1항에 있어서, 제타 전위가 -15 mV 이상이며, 1 vol% 소 태아 혈청(FCS) 용해 생리 식염수 중에서 90 % 이상의 리포 다당(LPS) 흡착능을 갖는 것을 특징으로 하는 흡착재.

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 수불용성 담체의 형상이, 섬유 직경이 4 내지 8 μm 인 섬유 또는 중공사, 및 비드의 표면 돌기 직경이 4 내지 8 μm 인 비드로부터 선택되는 형상인 것을 특징으로 하는 흡착재.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 수불용성 담체의 형상이, 섬유 직경이 4.5 내지 8 μm 인 섬유 또는 중공사, 및 비드 입자의 표면 돌기 직경이 4.5 내지 8 μm 인 비드로부터 선택되는 형상인 것을 특징으로 하는 흡착재.

청구항 11

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 수불용성 담체의 형상이, 섬유 직경이 10 내지 50 μm 인 섬유 또는 중공사를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 흡착재.

청구항 12

제1항에 있어서, 수불용성 담체에 4급 암모늄염 및/또는 직쇄상 아미노기를 결합하여 이루어지는 흡착재.

청구항 13

제12항에 있어서, 4급 암모늄염이 N,N-디메틸헥실아민, N,N-디메틸옥틸아민, N,N-디메틸라우릴아민, 테트라에틸렌펜타민으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는 흡착제.

청구항 14

제1항에 기재된 흡착제이며, 친수성 아민 잔기를 결합한 수불용성 중합체를 포함하고, 잠재형 전환 성장 인자-메타 흡착능을 갖는 암 치료용 흡착제.

청구항 15

제14항에 있어서, 과립구 흡착률이 35 % 이상이며, 단구 흡착률이 35 % 이상인 것을 특징으로 하는 암 치료용 흡착제.

청구항 16

제14항에 있어서, 상기 친수성 아민 잔기를 결합한 수불용성 중합체가 막, 섬유 또는 입상물인 것을 특징으로 하는 암 치료용 흡착제.

청구항 17

제1항 또는 제14항에 있어서, 과립구 흡착률이 50 % 이상이며, 단구 흡착률이 50 % 이상인 것을 특징으로 하는 흡착제.

청구항 18

삭제

청구항 19

제1항에 있어서, 적어도 네트와 부직포의 2층 구조를 갖는 것을 특징으로 하는 흡착제.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 네트가 100 mm² 중에 10 mm² 이상의 공극을 갖는 네트인 것을 특징으로 하는 흡착제.

청구항 21

제19항에 있어서, 상기 네트의 공극 형상이 사각형인 것을 특징으로 하는 흡착제.

청구항 22

제19항에 있어서, 상기 2층 구조에 있어서 상기 네트의 구성재가 상기 부직포의 장축 또는 단축 방향에 대하여 각도 90도±10도의 방향을 이루는 것을 특징으로 하는 흡착제.

청구항 23

제19항에 있어서, 생리 활성 물질 및/또는 세포를 흡착하는 것을 특징으로 하는 흡착제.

청구항 24

제19항에 있어서, 상기 네트가 단섬유로 이루어지는 것을 특징으로 하는 흡착제.

청구항 25

제19항에 있어서, 상기 네트가, 그의 구성재가 서로 교차하는 부분이 접합되어 이루어지는 것을 특징으로 하는 흡착제.

청구항 26

제19항에 있어서, 부피 밀도가 0.02 g/cm^3 이상인 것을 특징으로 하는 흡착재.

청구항 27

제1항, 제14항 및 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 백혈구 제거 요법 또는 면역 부활 요법에 이용되는 것을 특징으로 하는 흡착재.

청구항 28

제1항, 제14항 및 제19항 중 어느 한 항에 기재된 흡착재를 용기에 충전하여 이루어지는 혈액 처리 칼럼.

청구항 29

제1항, 제14항 및 제19항 중 어느 한 항에 기재된 흡착재가 원통형 용기에 수납되어 있는 것을 특징으로 하는 혈액 처리 칼럼.

청구항 30

제28항에 있어서, 혈액을 순환시켜 사용되는 것임을 특징으로 하는 혈액 처리 칼럼.

청구항 31

제28항에 있어서, 생체와의 체외 순환 종료시부터 150 내지 180 시간 경과 후에, 체외 순환 전에 비해 임파구수의 증가와 과립구수의 감소를 나타내는 혈액 처리 칼럼.

청구항 32

제14항 내지 제16항 중 어느 한 항에 기재된 암 치료용 흡착재를 이용한 암 치료용 체외 순환 칼럼.

청구항 33

제29항에 있어서, 혈액을 순환시켜 사용되는 것임을 특징으로 하는 혈액 처리 칼럼.

청구항 34

제29항에 있어서, 생체와의 체외 순환 종료시부터 150 내지 180 시간 경과 후에, 체외 순환 전에 비해 임파구수의 증가와 과립구수의 감소를 나타내는 혈액 처리 칼럼.

청구항 35

제1항에 있어서, 상기 수불용성 담체가 폴리올레핀, 폴리에스테르, 불소화 중합체, 폴리술폰계 중합체, 폴리테트라미드, 폴리이미드, 폴리아미드, 폴리에테르, 폴리페닐렌술폰과이드, 폴리스티렌 및 아크릴 중합체로 이루어지는 군으로부터 선택되는 소재를 포함하는 담체인 흡착재.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 흡착재 및 체외 순환용 칼럼에 관한 것이고, 상세하게는 혈액 중에서 백혈구, 염증성, 면역 억제성 사이토카인, 액성 인자를 효율적으로 제거할 수 있어, 소위 백혈구 제거 요법, 면역 부활 요법, 암 치료 등에 바람직하게 이용되는 흡착재, 및 상기 흡착재를 이용한 체외 순환용 칼럼 등의 혈액 처리 칼럼에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 혈액 중에는 혈구, 사이토카인 외 액성 성분 등 여러 성분이 포함되고, 이들 혈액 성분은 체내 면역의 균형 조정에서 중요한 역할을 하고 있다.

[0003] 또한, 리포 다당으로 대표되는 엔도톡신은 혈액 중에서 발열, 혈압 저하, 혈관 내 응고, 하계만 인자(Hageman Factor)의 활성화 등 여러 생물 활성을 나타내는 인자이다. 특히 임상에서는, 예를 들면 외과 수술 후에 환자

혈액 중에 혼입되어 위독한 패혈증을 야기하는 경우가 있다. 환자 혈액 중에 혼입된 엔도톡신, 특히 중독 환자의 혈액에 혼입된 엔도톡신에 의해 자극을 받은 백혈구로부터 암 괴사 인자, 인터루킨-1, 인터루킨-6, 인터페론 등의 여러 사이토카인이나 산 과산화물이 방출되는 것으로 알려져 있다. 또한, 이들 과잉의 사이토카인은 생리적 악영향을 미치는 것으로 알려져 있다.

- [0004] 지금까지 혈액 중의 여러 성분을 제거하는 칼럼이 개발되어 있다. 예를 들면 백혈구 제거나 과립구 제거를 목적으로 한 칼럼(특허 문헌 1, 2)이나, 사이토카인 흡착을 목적으로 한 칼럼(특허 문헌 3, 4), 백혈구와 독소를 동시에 흡착하는 것을 목적으로 한 칼럼(특허 문헌 5, 6)을 들 수 있지만, 혈구가 정보 응답하는 액성 인자를 동시에 제거하는 것은 없었다. 또한, 제타 전위가 0 mV 이상인 소정의 여과재를 주요부로 하는 백혈구 제거 필터도 보고되었지만(특허 문헌 7), 혈구 제거에 대한 개시에 머물렀다. 따라서, 이들 종래 칼럼은 모두 잔존한 세포의 정상화가 불충분하였다.
- [0005] 한편, 혈액 성분 중 특히 잠재형 전환 성장 인자-베타(이하, TGF-β), 면역 억제 산성 단백, 인터루킨-10, 종양 괴사 인자(이하, TNF), 프로스타글란딘 E2 등의 여러 물질이나, B 세포, 매크로파지 등의 세포는 진행 암 환자에 있어서 이상 증식하여, 암 특이적 킬러 세포의 유도나 기능 발현을 저해하는 등 면역 기능을 억제하는 것이 보고되었다(비특허 문헌 1: 후지와라 오오미 저, 종양 면역학, p89-112, 쥬가이 이가꾸사, 1998년). 따라서, 특히 암 환자를 대상으로 하여 이들 면역 억제 물질을 제거하여 환자의 면역력을 향상시키고, 종양의 퇴축이나 증식 억제를 유도하기 위한 수단의 개발도 진행되었다.
- [0006] 이들 면역 억제 물질을 효율적으로 안전하게 제거하기 위한 기술로서, TGF-β(특허 문헌 8, 9), 암 태아성 항원(특허 문헌 10), 면역 억제 산성 단백(특허 문헌 11) 각각의 흡착을 목적으로 한 기술이 개시되었다. 그러나, 이들 면역 억제 물질을 하나의 흡착체로 효율적으로 제거하는 기술은 아직 개발되지 못하였다.
- [0007] 한편, 상술한 칼럼은 통상적으로 칼럼 내부에 각각 목적으로 하는 물질을 제거·흡착하기 위한 여과재 또는 흡착재(흡착 담체)를 가지고, 여러 물질, 형상의 것이 이용되었다. 예를 들면, 특허 문헌 1에서는, 혈구의 폐색 해소를 위해서 복수개의 섬유 직경으로 이루어지는 섬유를 혼합한 부직포를 이용한다. 그러나, 부직포 자체의 부피 밀도가 높고, 혈구 제거성 제거가 불충분하여, 여전히 혈액 순환시의 압력 손실 상승의 우려가 문제였다.
- [0008] 또한, 직경 2 mm 정도의 아세트산셀룰로오스 비드로 이루어지는 흡착 담체(특허 문헌 2)에 있어서는, 압력 손실의 우려는 그다지 없었지만, 흡착 표면적을 크게 할 수는 없으므로, 흡착 담체로서는 비효율적이었다. 때문에, 입경을 작게 하는 것은 압력 손실 증가로 연결되기 때문에, 채용하기 어려웠다.
- [0009] 특허 문헌 6에는, 폐색 방지 및 형태 유지성 유지의 관점에서 흡착 담체의 부피 밀도를 0.05 내지 0.15 g/cm³으로 조정하는 것이 개시되었지만, 이 흡착 담체는 실용성이 낮고, 특히 형태 안정성이 불충분하다는 문제점이 있었다.
- [0010] [비특허 문헌 1] 후지와라 오오미 저, 종양 면역학, p 89-112, 쥬가이 이가꾸사, 1998년
- [0011] [특허 문헌 1] 일본 특허 공개 (소)60-193468호 공보
- [0012] [특허 문헌 2] 일본 특허 공개 (평)5-168706호 공보
- [0013] [특허 문헌 3] 일본 특허 공개 (평)10-225515호 공보
- [0014] [특허 문헌 4] 일본 특허 공개 제2000-237585호 공보
- [0015] [특허 문헌 5] 일본 특허 공개 제2002-113097호 공보
- [0016] [특허 문헌 6] 일본 특허 공개 제2002-172163호 공보
- [0017] [특허 문헌 7] 일본 특허 공개 (평)6-142196호 공보
- [0018] [특허 문헌 8] 일본 특허 공개 제2003-339854호 공보
- [0019] [특허 문헌 9] 일본 특허 공개 제2004-248950호 공보
- [0020] [특허 문헌 10] 일본 특허 공개 제2003-310751호 공보
- [0021] [특허 문헌 11] 일본 특허 공개 제2003-111834호 공보

발명의 상세한 설명

- [0022] <발명의 개시>
- [0023] <발명이 해결하고자 하는 과제>
- [0024] 본 발명의 제1 과제는 과립구나 단구 등의 세포를 제거하면서 또한 잔존한 세포에 대하여 활성화를 촉진시키는 사이토카인류도 잔존한 액 성분 중에 남지 않도록 하는 것에 있다. 이를 위해서는, 세포 제거와 동시에 이상 증가하는 사이토카인도 제거할 수 있는 기능을 흡착체에 부여함으로써, 이들 문제점을 해결할 수 있다고 생각하였다. 즉, 본 발명은 세포와 사이토카인의 동시 흡착, 동시 제거에 바람직하게 사용할 수 있는 재료를 제공하는 것, 및 그것을 이용한 혈액 처리 칼럼을 제공하는 것을 제1 목적으로 하는 것이다.
- [0025] 또한, 본 발명자들은 체액 중에 존재하며 사이토카인 방출의 원인이 되는 엔도톡신, 과립구나 단구 표면에 부착된 엔도톡신 등의 흡착 제거, 또는 엔도톡신에 의한 과잉의 사이토카인 생산을 예방함으로써, 엔도톡신 함유 혈액의 상태를 개선하는 것이 중요하다고 하는 발견을 얻었다. 이러한 발견에 기초하여, 본 발명의 제1 과제로는, (1) 체액 중의 엔도톡신을 직접 흡착체에 흡착시켜 직접적으로 제거하는 것, 및 (2) 과립구 또는 단구를 흡착시켜, 과립구 또는 단구 등의 백혈구 성분에 대한 부착성 엔도톡신을 간접적으로 혈액 중에서 제거하는 것도 포함된다. 또한, (3) 상기 엔도톡신에서 기인하는 사이토카인도 제거하여 혈액 중의 사이토카인 농도의 상승을 예방하는 것도 포함된다.
- [0026] 통합하면, 상술한 본 발명의 제1 목적에는, 과립구나 단구 등의 세포 및 사이토카인류와, 엔도톡신 양자(兩者)의 흡착 및 양자의 제거에 바람직하게 사용할 수 있는 고기능 재료, 및 그것을 이용한 고기능 혈액 처리 칼럼을 제공하는 것도 포함된다.
- [0027] 본 발명의 제2 과제는 암 세포 증식에 관한 면역 억제 물질을 제거하는 것에 있다. 즉, 본 발명은 상술한 종래 기술의 문제점을 감안하여, 일반적으로 보급 가능하며, 체액 중으로부터 직접 TGF- β 나 면역 억제 산성 단백 등의 면역 억제 물질을 높은 효율로 선택적으로 흡착함과 동시에 체액 중의 백혈구를 제거하여 정상적인 백혈구 균형에 근접하게 할 수 있으면서, 또한 안전하게 체외 순환할 수 있는 재료를 제공하는 것을 제2 목적으로 한다. 이 제2 목적에는, 이러한 면역 억제 물질을 흡착시키는 재료를 충전한 암 치료용 칼럼의 제공, 및 상기 칼럼을 이용하여 암의 치료를 행하는 것도 포함된다.
- [0028] 본 발명의 제3 과제는 혈액 순환 칼럼으로서의 안정한 이용성을 확보하는 것에 있다. 즉, 본 발명은 상술한 종래 기술의 문제점을 감안하여, 혈액 중에 존재하는 세포, 특히 과립구나 단구 등의 활성화된 백혈구, 암세포 등을 제거하고, 더욱 바람직하게는 과잉으로 존재하는 사이토카인도 제거할 수 있다, 압력 손실이 적은 흡착 담체를 제공하는 것, 및 흡착 특성을 손상시키지 않고 담체 자체의 형상 안정성을 갖게 하는 것을 제3 목적으로 한다.
- [0029] <과제를 해결하기 위한 수단>
- [0030] 본 발명은 상기 제1 목적을 달성하기 위해서 하기 구성을 갖는다.
- [0031] (1) 제타 전위가 -20 mV 이상이며, 혈액 중의 과립구, 단구 및 사이토카인을 흡착하는 것을 특징으로 하는 흡착재.
- [0032] (2) 상기 혈액 분산액으로부터의 과립구 흡착률이 50 % 이상이며, 단구 흡착률이 50 % 이상인 것을 특징으로 하는 상기 (1)에 기재된 흡착재.
- [0033] (3) 임파구 흡착률이 40 % 이하인 것을 특징으로 하는 상기 (1) 또는 (2)에 기재된 흡착재.
- [0034] (4) 상기 사이토카인이 인터루킨-1(IL-1), 인터루킨-6(IL-6), 인터루킨-8(IL-8), 인터루킨-10(IL-10), TNF- α , 전환 성장 인자-베타(TGF- β), 혈관 신생 증식 인자(VEGF) 및 면역 억제 산성 단백(IAP)으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는 상기 (1) 내지 (3) 중 어느 하나에 기재된 흡착재.
- [0035] (5) 응고 제XIII 인자의 흡착률이 30 % 이하인 것을 특징으로 하는 상기 (1) 내지 (4) 중 어느 하나에 기재된 흡착재.
- [0036] (6) 제타 전위가 -15 mV 이상이며, 1 vol% 소 태아 혈청(FCS) 용해 생리 식염수 중에서 90 % 이상의 리포 다당(LPS) 흡착능을 갖는 것을 특징으로 하는 상기 (1)에 기재된 흡착재.
- [0037] (7) 수불용성 담체에 4급 암모늄염 및/또는 직쇄상 아미노기를 결합하여 이루어지는 상기 (1) 내지 (6) 중 어느 하나에 기재된 흡착재.

- [0038] (8) 형상이 섬유, 막, 중공사 및 비드로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 상기 (1) 내지 (7) 중 어느 하나에 기재된 흡착재.
- [0039] (9) 상기 수불용성 담체의 형상이 섬유상 또는 중공사 형상이며, 그의 섬유 직경이 3 μm 를 초과하는 것을 특징으로 하는 상기 (1) 내지 (8) 중 어느 하나에 기재된 흡착재.
- [0040] (10) 섬유 직경이 4 내지 8 μm 인 섬유 A 및 섬유 직경이 10 내지 50 μm 인 섬유 B를 포함하는 것을 특징으로 하는 상기 (9)에 기재된 흡착재.
- [0041] (11) 상기 섬유 A가 섬유 직경 4.5 내지 8 μm 의 섬유를 포함하는 것을 특징으로 하는 상기 (10)에 기재된 흡착재.
- [0042] (12) 상기 수불용성 담체의 형상이 비드형이며, 재료의 표면에 직경이 3 μm 를 초과하는 돌기 부분을 갖는 것을 특징으로 하는 상기 (1) 내지 (8) 중 어느 하나에 기재된 흡착재.
- [0043] (13) 백혈구 제거 요법에 이용되는 것을 특징으로 하는 상기 (1) 내지 (12) 중 어느 하나에 기재된 흡착재.
- [0044] (14) 상기 (1) 내지 (13) 중 어느 하나에 기재된 흡착재를 용기에 충전하여 이루어지는 혈액 처리 칼럼.
- [0045] (15) 혈액을 순환시키는 것을 특징으로 하는 (14)에 기재된 혈액 처리 칼럼.
- [0046] (16) 백혈구 제거 요법에 이용되는 것을 특징으로 하는 (14) 또는 (15)에 기재된 혈액 처리 칼럼.
- [0047] (17) 생체와의 체외 순환 종료시부터 150 내지 180 시간 경과 후에, 체외 순환 전에 비해 임파구수의 증가와 과립구수의 감소를 나타내는 상기 (14) 내지 (16) 중 어느 하나에 기재된 혈액 처리 칼럼.
- [0048] 본 발명은 상기 제2 목적을 달성하기 위해서 하기의 구성을 갖는다.
- [0049] (1) 친수성 아민 잔기를 결합한 수불용성 중합체를 포함하는 흡착재이며, 잠재형 전환 성장 인자-베타 흡착능 및 백혈구 흡착능을 갖는 암 치료용 흡착재.
- [0050] (2) 상기 친수성 아민 잔기를 결합한 수불용성 중합체가 막, 섬유 또는 입상물인 것을 특징으로 하는 상기 (1)에 기재된 암 치료용 흡착재.
- [0051] (3) 상기 (1) 또는 (2)에 기재된 암 치료용 흡착재를 이용한 암 치료용 체외 순환 칼럼.
- [0052] 본 발명은 상기 제3 목적을 달성하기 위해서 하기의 구성을 갖는다.
- [0053] (1) 적어도 네트와 부직포의 2층 구조를 갖는 것을 특징으로 하는 흡착 담체.
- [0054] (2) 상기 네트가 100 mm^2 중에 10 mm^2 이상의 공극을 갖는 네트인 것을 특징으로 하는 (1)에 기재된 흡착 담체.
- [0055] (3) 생리 활성 물질 및/또는 세포를 흡착하는 것을 특징으로 하는 (1)에 기재된 흡착 담체.
- [0056] (4) 상기 네트가 단섬유로 이루어지는 것을 특징으로 하는 (1) 내지 (3) 중 어느 한 항에 기재된 흡착 담체.
- [0057] (5) 부피 밀도가 0.02 g/cm^3 이상인 것을 특징으로 하는 (1) 내지 (4) 중 어느 한 항에 기재된 흡착 담체.
- [0058] (6) (1) 내지 (5) 중 어느 하나에 기재된 흡착 담체가 원통형 용기에 수납되어 있는 것을 특징으로 하는 혈액 처리 칼럼.
- [0059] (7) 혈액을 순환하여 사용하는 것을 특징으로 하는 (6)에 기재된 혈액 처리 칼럼.
- [0060] <발명의 효과>
- [0061] 본 발명에 따르면, 과잉으로 증식한 과립구나 단구 등의 인체에 불필요한 백혈구나 이들 세포에 대하여 정보 전달하는 사이토카인을 동시에 제거함으로써, 궤양성 대장염, 크론병, 자기 면역 질환 등의 경우의 혈액 처리나 치료에 유용한 흡착재 및 혈액 처리용 칼럼이 제공된다.
- [0062] 또한, 본 발명에 따르면, 과잉으로 증식한 과립구나 단구 등의 인체에 불필요한 백혈구나 이들 세포에 대하여 정보 전달하는 사이토카인을 동시에 제거하면서 또한 백혈구를 활성화시키는 LPS를 동시에 제거함으로써, 궤양성 대장염, 크론병, 자기 면역 질환 등의 혈액 처리나 치료에 유용한 흡착재 및 혈액 처리용 칼럼이 제공된다.
- [0063] 또한, 본 발명에 의해, 체액 중으로부터 직접 TGF- β 나 면역 억제 산성 단백 등의 면역 억제 물질을 높은 효율

로 선택적으로 흡착하고, 동시에 체액 중의 백혈구를 제거할 수 있는 암 치료용 흡착제 및 이것을 이용하는 암 치료용 체외 순환 칼럼이 제공된다. 따라서, 본 발명에 따르면 진행 암의 치료 또는 환자의 연명 및 QOL의 향상이 가능하다.

[0064] 또한, 본 발명에 따르면, 혈액 순환시의 압력 손실이 적고, 형상 안정성이 우수하며 각종 혈액 처리 칼럼에 바람직하게 사용할 수 있는 흡착 담체(흡착체)가 제공된다. 특히, 과잉으로 존재하는 인체에 불필요한 백혈구나 암세포 등과, 사이토카인 등의 생리 활성 물질을 동시에 제거하는 데 바람직하고, 자기 면역 질환, 암, 알레르기 등의 혈액 처리나 치료에 유용하다. 또한, 이 재료는 살레, 병, 막, 섬유, 중공사, 입상물 또는 이들을 이용한 조립물 등의 성형품 형태로, 친화성 크로마토그래프용 칼럼, 치료용 혈액 칼럼, 특히 체외 순환 칼럼으로서 바람직하게 사용할 수 있다.

[0065] <발명을 실시하기 위한 최선의 형태>

[0066] 계속해서, 본 발명에 대하여 더욱 상세하게 설명한다.

[0067] 흡착제의 기본적인 구성으로서, 수불용성 담체에 관능기를 고정화시킨 것, 또는 관능기를 고정화시킨 수불용성 담체를 기재에 코팅하거나 한 것이 바람직하다.

[0068] 본 발명에서 사용되는 수불용성 담체로서는, 물에 불용이며 관능기를 고정화시킬 수 있는 것이면 되고, 특별히 제한되지 않는다. 생체 적합성의 관점에서는, 폴리프로필렌이나 폴리에틸렌 등의 올레핀계 수지가 바람직하고, 폴리아미드나 폴리에틸렌테레프탈레이트로 대표되는 폴리에스테르가 바람직하다.

[0069] 본 발명의 흡착제에 있어서는 세포 표면에 있는 당 단백질 상의 시알산이나 인산을 인지하거나, 사이토카인 등에 결합한 당쇄 상의 시알산이나 인산 등을 인식하기 위해서, 제타 전위가 높은 것이 바람직하다. 통상적인 폴리프로필렌이나 폴리에틸렌, 폴리에틸렌테레프탈레이트 등의 고분자 재료는 제타 전위로서는 마이너스값을 갖고, 대략 -30 mV 정도이다. 따라서, 본 발명자들은 수불용성 담체에 특정 관능기, 예를 들면 4급 암모늄염 및/또는 직쇄상 아미노기를 고정화시킴으로써, 제타 전위를 -20 mV 이상으로 설정한 결과, 이들의 흡착 특성이 양호한 것을 발견하여, 본 발명에 도달하였다. 또한, 제타 전위는 -15 mV 이상이면 리포 다당(LPS)에 대한 흡착 특성이 한층 더 우수하기 때문에 바람직하고, -10 mV 이상이 되면 보다 효과가 높고, -2 mV 이상이 더욱 바람직하다.

[0070] 본 발명에서는 과립구, 단구 및 사이토카인에 대한 흡착능을 가지면서 동시에, LPS의 흡착능도 갖는 것이 바람직하다. LPS란, 후술하는 바와 같이 일반적으로 그람 음성균이 갖는 독소이다. LPS는 백혈구 상의 TLR-4 등의 수용체 단백질에 결합하여, 상기 단백질을 활성화시키는 것으로 알려져 있다. 과립구, 단구 및 사이토카인을 제거함으로써, 이들에서 기인하는 이상 상태를 경감시킬 수 있지만, 예를 들면 염증성 부위, 궤양 부위 등에서 진입한 균으로부터 발생한 LPS가 잔존하면, 환자 상태가 모처럼 정상 상태에 가까운 상태로 이행하였음에도 불구하고, 재차 이상 상태에 빠질 우려가 있다. 본 발명의 흡착제에, 백혈구나 사이토카인의 흡착능과 동시에 LPS도 제거하기 위한 바람직한 기구를 부여함으로써, 궤양성 대장염, 크론병, 자기 면역 질환 등의 경우에 양호한 효율로 혈액 처리나 치료에 유용하다. 또한, 이러한 다기능적 흡착제를 이용함으로써 치료용 칼럼의 컴팩트화를 도모하는 것이 가능하다.

[0071] 또한, 본 발명에 있어서 제타 전위란 흡착제 표면의 제타 전위를 말한다. 표면 제타 전위는 유동 전위 측정 장치에 의해서 유동 전위와 액체를 흐르게 하기 위해서 가해진 압력, 및 액체의 비도전율을 측정함으로써 계산하여 구할 수 있다. 본 발명의 흡착제는 제타 전위가 -20 mV 이상인 것이 바람직하고, -15 mV 이상인 것이 보다 바람직하고, -2 mV 이상인 것이 특히 바람직하다. 상한에 대해서는, 적혈구의 용혈 등을 방지하는 관점에서 10 mV 이하로 하는 것이 바람직하다.

[0072] 본 발명에 있어서 수불용성 담체의 형상은 특별히 한정되지 않지만, 가공성이나, 혈액 처리 칼럼으로 하였을 때의 압력 손실 등의 관점에서, 섬유, 막, 중공사 또는 비드 형상인 것이 바람직하다. 물론, 이들의 조합이라도 상관없다.

[0073] 또한, 본 발명에 있어서의 흡착제는 혈액 중의 과립구, 단구 및 사이토카인을 흡착하는 능력을 가지고, 특히 혈액으로부터의 과립구 흡착률이 50 % 이상인면서 또한 단구 흡착률이 50 % 이상인 것이 바람직하다. 여기서, 본 발명에 있어서의 흡착물이란, 혈구를 예로 든 경우, 흡착제를 충전한 칼럼에 혈액을 1회 통과시켰을 때의 통과 전후의 혈구량을 혈구 분석 장치에 의해 측정하여, 이하의 식으로부터 구해지는 것이다. 칼럼의 크기, 형상, 혈액의 통과 속도 등의 조건은 실시예에 준하여 적절하게 결정할 수 있다.

- [0074] 흡착률(%)=[(칼럼 통과 전의 혈액 중의 혈구량)-(칼럼 통과 후의 혈액 중의 혈구량)]/(칼럼 통과 전의 혈액 중의 혈구량)×100
- [0075] 또한, 본 발명의 흡착제는 혈구를 흡착하는 작용을 갖는 것이지만, 또한 여과 작용을 갖는 것일 수도 있다. 이 경우의 상기 흡착물의 산출 대상은 흡착에 의해 혈액 중에서 제거되는 혈구뿐 아니라 여과에 의해 제거되는 혈구도 포함된다.
- [0076] 과립구, 단구 등의 세포를 흡착 제거시키기 위해서는, 본 발명의 흡착제를 수불용성 담체로서 이용하는 것이 바람직하고, 그 중에서도 섬유, 중공사의 섬유 직경, 또는 비드 입자의 표면 돌기 직경(크기) 등(이하, 섬유 직경 등)이 3 μm를 초과하는 것이 바람직하다. 특히, 이것보다 직경이 작아지면, 임파구의 흡착 제거가 많아지기 때문에, 면역 기억 세포의 제거로 이어져 그다지 바람직하지 않다. 단, 섬유의 직경에 대해서는, 임파구의 흡착 제거율을 억제하기 위해서, 보다 바람직한 범위는 4 μm 이상이고, 보다 바람직한 범위는 4.5 μm 이상이다. 또한, 임파구의 제거율을 보다 억제하면서 또한 과립구나 단구의 제거율 저하로 연결되지 않도록 하는 관점에서는, 섬유의 직경을 5 μm 이상으로 하는 것이 보다 바람직한 경우도 있다. 그러나, 섬유의 직경이 8 μm를 초과하는 경우에는, 과립구, 단구의 제거율이 저하 경향을 나타내고, 섬유의 직경이 10 μm 이상이 되면 과립구나 단구의 제거율이 저하되기 때문에, 바람직하지 않다. 실용상 관점에서는 섬유의 직경이 20 μm 이하인 것이 바람직하다.
- [0077] 한편, 상기 섬유(섬유 A라 함)에 대하여, 주로 혈구 제거 이외의 목적, 즉 흡착제 강도를 일정 이상으로 유지할 목적 때문에, 보다 굵은 섬유를 섬유 구조체 등으로서 혼합하는 경우가 있다(섬유 B라 함). 이러한 섬유 B의 직경은 이것으로 한정되는 것이 아니라, 섬유 B의 섬유 직경은 10 μm 내지 50 μm인 것이 바람직하다. 10 μm를 하회하는 경우에는, 섬유 B의 혼합의 주된 목적인 강도 유지의 효과를 기대할 수 없는 경우가 있다. 50 μm를 상회하는 경우에는, 섬유 A와의 혼합이 곤란해진다.
- [0078] 임파구의 제거율(본 발명의 흡착제를 이용한 흡착률)은 면역 기억 세포의 저하로 연결되기 어려운 이유 때문에 40 % 이하인 것이 바람직하고, 또한 안전성 관점에서 바람직하게는 30 % 이하이다.
- [0079] 본 발명의 흡착제로서는, 상기 수불용성 담체에 관능기로서 4급 암모늄염 및/또는 직쇄상 아미노기를 고정화시킨 것이 바람직하다. 4급 암모늄염 및/또는 직쇄상 아미노기를 수불용성 담체에 고정화시키기 위한 반응성 관능기로서는, 할로메틸기, 할로아세틸기, 할로아세트아미드메틸기, 할로겐화 알킬기 등의 활성 할로겐기, 에폭시드기, 카르복실기, 이소시아나이드기, 티오이소시아나이드기, 산 무수물기 등을 들 수 있지만, 특히 활성 할로겐기, 그 중에서도 할로아세틸기는 제조가 용이할 뿐 아니라 반응성이 적절히 높고, 4급 암모늄염 및/또는 직쇄상 아미노기의 고정화 반응이 온화한 조건에서 수행할 수 있음과 동시에, 이 때 생기는 공유 결합이 화학적으로 안정하기 때문에 바람직하다.
- [0080] 고정화되는 관능기로서는 4급 암모늄염 및/또는 직쇄상 아미노기가 바람직하고, 이들은 암모니아, 1 내지 3급 아미노기가 중합체에 화학적으로 결합한 상태의 것을 의미한다. 또한, 1 내지 3급 아미노기로서는, 탄소수로 말하면, 질소 원자 1개당 탄소수 18 이하인 것이 반응물 향상을 위해서 바람직하다. 또한, 1 내지 3급 아미노기 중에서도, 질소 원자 1개당 탄소수 3 이상 18 이하, 특히 4 이상 14 이하의 알킬기를 갖는 3급 아미노기를 결합하여 형성된 4급 암모늄기를 고정화시킨 것이 사이토카인 흡착성의 관점에서 우수하다. 그와 같은 3급 아미노기의 구체적인 예로서는, 트리메틸아민, 트리에틸아민, N,N-디메틸헥실아민, N,N-디메틸옥틸아민, N,N-디메틸라우릴아민, N-메틸-N-에틸-헥실아민 등을 들 수 있다. 또한, 직쇄상 아미노기를 갖는 화합물의 예로서는, 테트라에틸렌헨타민 등을 들 수 있다.
- [0081] 본 발명에 있어서의 4급 암모늄염 및/또는 직쇄상 아미노기의 결합 밀도는 수불용성 담체의 화학 구조 및 용도에 따라 다르지만, 너무 적으면 그의 기능이 발현되지 않는 경향이 있고, 한편 너무 많으면, 고정화 후의 담체의 물리적 강도가 나빠지며, 흡착제로서의 기능도 저하되는 경향이 있기 때문에, 상기 밀도는 수불용성 담체의 반복 단위당 0.01 내지 2.0 몰, 보다 바람직하게는 0.1 내지 1.0 몰이 좋다. 또한, 4급 암모늄염 및/또는 직쇄상 아미노기를 고정화시키는 (4급화) 방법으로서, 요오드화 칼륨을 촉매로 하는 반응이 자주 이용되지만, 이것으로 한정되지 않고 공지된 방법에 의한 것이 가능하다.
- [0082] 본 발명의 흡착제가 흡착하는 사이토카인은 인터루킨-1(IL-1), 인터루킨-6(IL-6), 인터루킨-8(IL-8), 인터루킨-10(IL-10), 종양 괴사 인자-α(TNF-α), 전환 성장 인자-베타(TGF-β), 혈관 신생 증식 인자(VEGF) 및 면역 억제 산성 단백질(IAP)으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 사이토카인이다. 이들은 모두 백혈구 제거 요법의 적용 대상으로 하는 것을 생각할 수 있는, 제양성 대장염, 크론병, 만성 관절 류마티스 등의 면역 질환

에 있어서 그의 병태에 대한 관여가 지적되는 사이토카인 등이다.

- [0083] 이러한 흡착해야 할 사이토카인의 종류에 따라, 고정화시키는 4급 암모늄염 및/또는 직쇄상 아미노기를 적절하게 선택할 수 있다. 예를 들면, 인터루킨-1(IL-1), 인터루킨-6(IL-6), 전환 성장 인자-베타(TGF-β), 혈관 신생 증식 인자(VEGF), 면역 억제 산성 단백(IAP) 등은 N,N-디메틸헥실아민, N,N-디메틸옥틸아민, N,N-디메틸라우릴아민 등을 고정화시키면 흡착성을 부여할 수 있다. 또한, 인터루킨-8(IL-8), 인터루킨-10(IL-10), 종양 괴사 인자-α(TNF-α) 등은 아민 성분으로서 테트라에틸렌펜타민을 고정화시킴으로써 흡착성을 부여할 수 있다. 또한, 복수 종류의 관능기를 조합하여 고정화시킬 수도 있고, 예를 들면 4급 암모늄염 및 직쇄상 아미노기의 쌍방을 이용하는 것도 가능하다. 복수 종류의 관능기를 조합하여 이용함으로써, 흡착되는 사이토카인의 종류를 광범위하게 할 수 있기 때문에 바람직할 뿐 아니라, 원하는 사이토카인 흡착 특성을 높이는 등의 이점도 있다.
- [0084] 본 발명에서 이들 사이토카인의 흡착 제거성 평가는, 모두 천연형 단백질을 이용하여 EIA법(효소 면역 측정법)으로 측정된 것에 기초하는 것이다(조건은 37 °C에서 2 시간 진탕하고 배치 흡착시킴). 예를 들면, IL-6에 대해서는 실시예에 나타내는 배치 흡착법으로 측정된 흡착률이 50 % 이상인 것이 바람직하다. 또한, 잔존 세포에 대한 영향을 감소시키기 위해서는 60 % 이상의 흡착률이 있는 것이 바람직하다. 예를 들면, IL-1에 대해서는, 실시예에 나타내는 배치 흡착법으로 측정된 흡착률이 40 % 이상인 것이 바람직하다. 또한, 잔존 세포에 대한 영향을 감소시키기 위해서는 50 % 이상의 흡착률이 있는 것이 바람직하다.
- [0085] 상술한 바와 같이, 흡착제의 형상으로서 특별히 한정되지 않지만, 칼럼으로서 이용하는 경우에는, 비드, 섬유, 중공사, 또한 섬유를 편직한 편지(編地), 직물이나 부직포 등의 섬유 구조물이 바람직하다. 수불용성 담체가 그것만으로 형태 유지할 수 있다면 단독으로 사용도 가능하고, 형태 유지성이 낮으면 적당한 기재에 코팅 등의 방법으로 고정시키거나, 다른 흡착제와 혼합하여 하나의 칼럼으로서 이용할 수도 있다. 고정화 또는 혼합 등의 조작은 상기 형상으로 가공하기 전에 행할 수도 있다.
- [0086] 본 발명의 흡착제에 있어서는 형상은 특히 부직포로 하는 것이 바람직하다. 그 경우, 부직포의 부피 밀도는 너무 크면 폐색되기 쉽고, 반대로 너무 작으면 형태 유지성이 나빠지기 때문에, 0.02 g/cm³ 이상인 것이 바람직하고, 그 중에서도 0.02 g/cm³ 이상인 것이 바람직하고, 0.05 g/cm³ 이상인 것이 보다 바람직하다. 또한, 상한으로는 바람직하게는 0.15 g/cm³ 이하인 것이 사용된다.
- [0087] 본 발명에서 사용되는 부직포는 단독 섬유로 만들어지는 것일 수도 있지만, 특히 바람직하게는 해도(海島)형 복합 섬유로 만들어진다. 즉, 이러한 복합 섬유를 이용하여 공지된 방법에 의해서 부직포로 만든 후에, 형태 유지성을 양호하게 하기 위해서, 또한 부피 밀도를 조정하기 위해서, 이 부직포를 니들 편칭한 후 해(海) 성분을 용해시킴으로써 용이하게 제조할 수 있다.
- [0088] 또한, 부직포 형태를 취하는 경우에는, 후술하는 것과 같은 네트와의 2층 구조로 할 수 있고, 특히 네트를 부직포로 감싼 것과 같은 구조로 할 수도 있다. 이러한 구조를 취함으로써, 원통형으로 감거나 하여 칼럼을 형성하였을 때에 형태 유지성을 높일 수 있다.
- [0089] 수불용성 담체로서 바람직한 소재는 소수성 섬유, 즉 폴리에틸렌, 폴리프로필렌 등의 폴리올레핀이나, 폴리에틸렌테레프탈레이트, 폴리부틸렌테레프탈레이트 등의 폴리에스테르, 테플론을 비롯한 불소화 중합체이다. 이 외에도 표면 수식에 의해 각종 알킬기를 부가하여 소수성 부위를 제공한 것을 사용할 수 있다. 단독으로 사용할 수 있는 4급 암모늄염 및/또는 직쇄상 아미노기를 고정화시키는 중합체로서 바람직하지만, 구체적인 예로서는 폴리(p-페닐렌에테르술폰): $-\{(p-C_6H_4)-SO_2-(p-C_6H_4)-O\}_n-$ 이나 유텔·폴리술폰: $-\{(p-C_6H_4)-SO_2-(p-C_6H_4)-O-(p-C_6H_4)-C(CH_3)_2-(p-C_6H_4)-O\}_n-$ 외, $-\{(p-C_6H_4)-SO_2-(p-C_6H_4)-O-(p-C_6H_4)-O\}_n-$, $-\{(p-C_6H_4)-SO_2-(p-C_6H_4)-SO_2-(p-C_6H_4)-O\}_n-$, $-\{(p-C_6H_4)-SO_2-(p-C_6H_4)-O-(p-C_6H_4)-C(CF_3)_2-(p-C_6H_4)-O\}_n-$ 등으로 대표되는 폴리술폰계 중합체, 폴리에테르이미드, 폴리이미드, 폴리아미드, 폴리에테르, 폴리페닐렌술폰과이드, 폴리스티렌, 아크릴 중합체 등이며, 또한 아미노기를 공유 결합으로 고정화시킬 수 있는 반응성 관능기를 갖는 것이 사용된다. 그 중에서도 폴리술폰계 중합체는 안정성이 높고, 형상 유지성이 양호하기 때문에 바람직하게 이용된다.
- [0090] 구체적인 예로서는, 상술한 반응성 관능기를 결합시킨 클로로아세트아미드메틸화 폴리스티렌, 클로로아세트아미드메틸화한 유텔·폴리술폰, 클로로아세트아미드메틸화한 폴리에테르이미드 등이 사용된다. 또한, 이들 중합체는 유기 용매에 대하여 가용인 것이, 성형 용이성을 위해서 특히 바람직하게 사용된다.
- [0091] 본 발명의 흡착제는 이러한 4급 암모늄염 및/또는 직쇄상 아미노기를 갖는 중합체 자체, 즉 수불용성 담체 자체

를 섬유, 중공사 및 비드로 성형하여 제조하는 것 외에, 섬유, 중공사 및 비드, 특히 생산성 면에서 바람직하게는 부직포 등의 기재에 4급 암모늄염 및/또는 직쇄상 아미노기를 갖는 중합체를 코팅하여 제조할 수도 있다. 그 때, 상기 중합체를 용매, 예를 들면 염화메틸렌, 테트라히드로푸란, N,N-디메틸포름아미드 등에 용해시키고, 이 용액에 상기 부직포를 침지한 후, 상기 용매를 증발시킴으로써 용이하게 제조된다.

[0092] 또한, 4급 암모늄염 및/또는 직쇄상 아미노기를 수불용성 담체에 고정화시킬 때의 반응 용매로서는, 물, 메탄올, 에탄올, 이소프로판올, 디메틸술폭사이드, N,N-디메틸포름아미드, N,N-디메틸아세트아미드, N-메틸피롤리돈 등이 바람직하게 이용된다.

[0093] 또한, 본 발명의 흡착재 및 혈액 처리 칼럼은 그의 안전면을 고려하여, 혈액 처리하였을 때에 혈액 응고 인자 XIII(응고 제XIII 인자)의 활성이 저하되지 않는 것이 바람직하다. 특히 궤양성 대장염이나 크론병 환자에서는 혈액 응고 인자 XIII이 저하되는 경향이 있고, 본 인자가 결핍됨으로써 출혈이 발생할 위험이 있다. 혈액 응고 인자 XIII의 흡착률이 30 % 이하이면 안전하게 사용할 수 있지만, 20 % 이하인 것이 더욱 바람직하다. 이러한 흡착률은 실제로 처리되는 혈액량(본 발명에서는 혈액이란 전혈, 혈장, 혈청, 복수, 흉수를 가리킴)에 대하여, 사용되는 담체량의 비를 계산하고, 시트르산을 채혈한 건강한 자원 봉사자의 혈액으로부터 제조한 혈장을 이용하여 1 시간, 37 °C에서의 진탕 전후의 혈액 응고 인자 XIII 활성으로부터 구할 수 있다. 혈액 응고 인자 XIII 활성은 합성 기질법 등에 의해 측정할 수 있지만, 전문업자에게 측정을 위탁하는 것도 가능하다.

[0094] 본 발명의 흡착재 및 혈액 처리 칼럼은 1 vol% 소 태아 혈청(FCS) 용해 생리 식염수 중에서 90 % 이상의 리포 다당(LPS) 흡착능을 갖는 것일 수도 있다. 이와 같이 리포 다당 흡착능을 갖게 함으로써, 예를 들면 외과 수술 후에 환자 혈액 중에 혼입되거나, 염증성 부위·궤양성 부위 등에서부터 혼입된 엔도톡신에 의한 과잉의 사이토카인 생산을 예방할 뿐 아니라, 엔도톡신 자체를 효율적으로 흡착할 수 있어, 엔도톡신의 생물 활성에서 유래하는 발열, 쇼크, 혈관 내 응고, 임파구 활성화 등에 대한 예방, 치료 효과를 얻을 수 있다. 그 때문에, 엔도톡신의 생물 활성에서 유래하는 발열, 쇼크, 혈액 내 응고, 임파구 활성화 등에 대한 예방, 치료 효과를 얻을 수 있고, 특히 면역 부활 요법에서 유용한 흡착재가 된다. 또한, 과립구, 단구, 사이토카인 흡착능뿐 아니라 리포 다당 흡착능도 겸비시킴으로써, 하나의 흡착재에 의한 동시 처리가 가능해지는 점에서도 바람직하다.

[0095] 리포 다당이란 리피드 A의 구조를 포함하는 분자를 의미하고, 혈 중에 존재할 수 있는 LPS의 대표적인 것으로서, 그람 음성균이 갖는 독소를 들 수 있다.

[0096] 엔도톡신은 혈액 중에 과잉으로 존재하면, 백혈구로부터의 암 피사 인자, 인터루킨 1, 인터루킨 6, 인터페론 등의 여러 사이토카인이나 산 과산화물의 과잉 방출을 야기하는 것으로 알려져 있다. 본 발명의 흡착재 및 혈액 처리 칼럼이 또한, 본 발명의 흡착재에 LPS의 흡착능을 부여함으로써, 임파구, 특히 Th1 타입의 임파구가 활성화되는 것에서 기인한다고 추측되는, 인터페론 감마의 생산 향상 효과를 얻을 수도 있어, 면역 부활 요법에 있어서 유용하다. 이러한 임파구 활성화의 상세한 메카니즘은 불명확하지만, 흡착된 LPS에 처리 혈액 중의 혈구가 접촉되는 것에서 기인하는 것으로 추측된다.

[0097] LPS의 흡착량은 와코 준야꾸 제조 특시노미터(toxinometer)로 측정할 수 있다. 1 vol% FCS 첨가 생리 식염수 중에 규정량의 LPS를 혼합하여, 4 시간 37 °C 수욕 중에서 인큐베이션을 행한 상청 중에 잔존한 LPS량을 측정하고, 동일하게 특시노미터로 측정한 첨가액중의 LPS와의 차 및 비로부터 제거량 및 제거율을 구할 수 있다. 제거량은 100 pg/mg 이상인 것이 바람직하고, 더욱 바람직하게는 200 pg/mg 이상이다. 본 발명의 체액 중의 과립구 및/또는 단구와, 사이토카인을 동시에 흡착하고, 1 % FCS 용해 생리 식염수 중에서 LPS 흡착능을 갖는 능력은 각각 개개의 흡착재를 조합함으로써도 실현은 가능하다. 이 경우, 각 흡착재를 하나로 통합하여 칼럼에 충전한 형태일 수도 있고, 각각을 개개의 칼럼에 충전하여 카세트 타입의 형태로 할 수도 있다. 단, 카세트 타입의 경우에는, 콤팩트성이 희생되기 쉽고, 하나로 통합된 양태의 경우가 편리하다. 또한, 이것으로 한정하여 생각할 필요성은 없고, 필요에 따른 형태를 적절하게 선택하는 것이 가능하다.

[0098] 본 발명의 혈액 처리용 칼럼은 본 발명의 흡착재를 칼럼 용기에 충전함으로써 제조할 수 있다. 칼럼 용기로서는, 공지된 혈액 처리용 칼럼 용기를 사용할 수 있다. 칼럼의 구성으로서, 흡착재를 평판형으로 형성하고 이것을 겹쳐 충전한 칼럼, 흡착재가 원통 형상으로 감겨 이루어지는 원통형 필터가 양단부에 혈액 입구와 혈액 출구를 갖는 원통 용기에 수납되어 있는 칼럼, 흡착재가 원통형으로 감겨 이루어지는 중공 원통형 필터가 그의 양단부가 밀봉된 상태로 혈액 입구와 혈액 출구를 갖는 원통형 용기에 수납되어 있고 용기의 혈액 출구는 상기 중공 원통형 필터의 외주부로 통하는 부위에, 또한 용기의 혈액 출구는 상기 중공 원통형 필터의 내주부로 통하는 부위에 각각 설치되어 있는 칼럼이 바람직하다. 그 중에서도 원통 중공상 필터를 이용한 칼럼은, 혈액 중의 염증성 백혈구의 대부분이 원통 형상 필터의 외주부의 큰 면적을 갖는 부직포로 신속하게 제거되고, 제거되지 않

고 남은 근소한 염증성 백혈구도 원통 형상 필터의 내주부에 이르러, 그 작은 면적의 부직포이어도 충분히 제거되어, 효율적인 염증성 백혈구 제거가 가능하기 때문에, 가장 바람직하다. 특히 본 발명의 흡착재 형태를 부직포로 하는 경우에는, 암 치료용 체외 순환 칼럼 제조시에, 후술하는 네트와의 2층 구조, 바람직하게는 네트를 부직포로 감싼 것과 같은 구조로 만든 상태로 원통형으로 감거나 함으로써 형태 유지성을 높일 수 있다.

[0099] 본 발명의 혈액 처리용 칼럼은 백혈구 제거 요법이나 면역 부활 요법에 사용할 수 있다. 또한, 후술하는 바와 같이 본 발명의 혈액 처리용 칼럼을 이용하여 생체와의 체외 순환을 행하면, 체외 순환 종료시부터 150 내지 180 시간 경과 후에, 체외 순환 전에 비해 혈 중의 백혈구, 특히 과립구수가 감소하고, 임파구수가 증가된다. 이것은, 본 발명의 혈액 처리용 칼럼이 면역 상태를 교정하는 기능을 갖는 것을 시사한다. 특히, 진행 암 환자에서는 과립구 증가와 임파구 감소를 볼 수 있어 면역 상태가 억제되는 것으로 알려져 있지만, 본 칼럼을 이용함으로써 그 상태는 정상적인 상태로 교정된다. 이 효과는 체외 순환 후 장시간 계속되는 것이 아니라, 대체로 1 주간을 지나가면 다시 과립구 증가, 임파구 감소 경향이 나타나기 때문에, 1 주간에 1회 정도의 처치가 요구된다.

[0100] 한편, 본 발명의 흡착재는 암 치료에 사용할 수 있어, 본 발명은 이러한 암 치료용 흡착재도 제공하는 것이다. 이어서, 본 발명의 암 치료용 흡착재에 대하여 더욱 상세히 설명한다.

[0101] 본 발명에서 말하는 면역 기능 억제 단백질이란, 포유 동물의 면역 기능을 억제하는 단백질로서 혈액 중에 존재하는 것을 말하고, 예를 들면 TGF- β , 면역 억제 산성 단백질, 인터루킨-10, TNF- α 등을 가리킨다.

[0102] 본 발명의 흡착재를 암 치료용 흡착재로서 이용하는 경우에는, 면역 억제성 단백질(면역 기능 억제 단백질)을 흡착하는 것일 수 있고, 흡착 능력이 클수록 체외로 나가는 혈액량이 적기 때문에 바람직하다. 암 치료용 흡착재 및 후술하는 암 치료용 체외 순환 칼럼의 흡착 능력의 기준으로서, 혈 중의 TGF- β 인 잠재형 전환 성장 인자-베타(이하, 잠재형 TGF- β)가 기준 물질이 된다. 암 치료용 체외 순환 칼럼의 흡착 능력이 잠재형 TGF- β 로서, 암에 걸린 포유 동물의 체중 1 킬로그램당 100 ng 이상인 것이 바람직하고, 또한 진행 암에서는 혈 중 농도가 높아져 있기 때문에 250 ng 이상인 것이 바람직하다. 흡착재 1 그램당 잠재형 TGF- β 평형 흡착량에 칼럼 충전량 그램수를 곱한 것이 칼럼의 흡착 능력이 된다.

[0103] 본 발명에 있어서의 잠재형 TGF- β 평형 흡착량이란, 암에 걸린 래트의 혈청 1 mL에 암 치료용 흡착재 30 mg을 넣어 37 °C에서 4 시간 진탕하고, 상청 중의 TGF- β 농도를 측정하여, 흡착 전후의 농도차를 암 치료용 흡착재 증량(0.03 g)으로 나눔으로써 구한 값이다. 상청 중의 TGF- β 농도는 검체 혈청을 산으로 전처리하여 잠재형 TGF- β 를 유리형 TGF- β 로 만든 후, 항TGF- β 항체를 이용하는 효소 면역 분석법에 의해서 구할 수 있다. 예를 들면, 잠재형 TGF- β 의 경우에는, 실시예에 기재된 배치 흡착법의 조건에서 40 % 이상인 것이 바람직하다. 또한, 면역 억제 효과에 대한 영향을 감소시키기 위해서 50 % 이상의 흡착률이 있는 것이 바람직하다. TGF- β 농도의 측정에 있어서는, 시판용 분석 키트를 이용할 수 있다. TGF- β 로서는, TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 1.2, TGF- β 4, TGF- β 5 등, 서열의 차이로 수퍼패밀리가 있는 것으로 알려져 있다. 특히 이들 아미노산 서열의 상동성은 높고, 흡착재에 흡착될 때의 성질은 서로 비슷하다. TGF- β 의 성질은 기본적으로 TGF- β 1의 성질로 대표되고, 그의 정량을 위해서는 특히 TGF- β 1의 측정 키트가 범용되고 있다.

[0104] 본 발명에 있어서 암에 걸린 포유 동물이란 인간, 원숭이, 소, 말, 개, 고양이, 돼지, 양 등의 육생 포유 동물에서 종양이 생긴 것을 의미한다.

[0105] 이러한 본 발명의 암 치료용 흡착재는 암 치료용 체외 순환 칼럼으로서 이용할 수 있다. 본 발명의 암 치료용 체외 순환 칼럼에 채우는 면역 억제성 단백질을 흡착하는 암 치료용 흡착재량이 적을수록, 체외로 나가는 혈액량이 적기 때문에 바람직하지만, 너무 적으면 흡착 능력이 낮아져 효과가 없어지고, 너무 많으면 생체에 대한 부담이 커진다. 일반적으로 안전상, 체외 순환시에 체외 회로를 도는 혈액의 적정량은, 수혈을 위한 체혈이 허용되는 200 mL 이하이면 적정하다고 되어 있다. 체중 60 kg 인간의 전체 혈액량은 약 4.6 L이기 때문에, 체외로 나가는 혈액량이 전체 혈액량의 4 % 이하이면 허용된다고 알려져 있다. 한편, 흡착재를 칼럼에 충전한 경우, 혈액을 통과시키기 위해서는 공극률이 15 % 이상 필요하다. 이들 조건에서, 칼럼에 채우는 면역 억제성 단백질을 흡착하는 재료량은 암에 걸린 포유 동물의 체중 1 킬로그램당 0.05 그램 이상, 3.5 그램 이하인 것이 바람직하다.

[0106] 본 발명의 암 치료용 흡착재 및 암 치료용 체외 순환 칼럼은 혈 중에서 증가한 과립구나 단구 등의 백혈구 흡착 제거를 동시에 행할 수 있다. 과립구나 단구에 대해서는 높은 제거 성능을 갖는 것이 바람직하고, 시험관 내에서의 제거 평가로 35 % 이상인 것이 바람직하고, 50 % 이상의 제거율을 갖는 것이 더욱 바람직하다. 특히,

과립구 및 단구의 각 흡착률이 둘다 모두 50 % 이상인 것이 바람직하다. 이들 과립구나 단구를 흡착 제거시키기 위해서, 암 치료용 흡착제의 형태를 적절하게 선택하는 것이 바람직하다. 구체적으로는 암 치료용 흡착제의 형태를 섬유(복합사, 방적사 등도 포함한다. 또한, 단섬유일 수도 장섬유일 수도 있다.), 막, 중공사 또는 비드로 하는 것이 바람직하다. 섬유는 적절하게 섬유 구조물(직물, 편물, 부직포, 면상(綿狀) 등)로 만들어 사용할 수 있다. 그 중에서도 부직포 형태를 취하는 경우에는, 후술하는 네트와의 2층 구조로 할 수 있고, 특히 네트를 부직포로 감싼 것과 같은 구조를 취할 수 있다. 이러한 구조를 취함으로써, 원통형으로 감거나 하여 칼럼을 형성하였을 때에 형태 유지성을 높일 수 있다.

[0107] 특히, 과립구나 단구의 흡착 제거능 향상을 위해서는, 섬유, 중공사의 섬유 직경 또는 비드 입자의 표면 돌기 직경(크기) 등 (섬유 직경 등)이 3 μm 를 초과하는 것이 바람직하다. 특히 이보다 직경이 작아지면, 임파구의 흡착 제거가 많아지기 때문에, 면역 기억 세포의 제거로 이어져서 바람직하지 않다. 단, 섬유의 직경에 대해서는, 임파구의 흡착 제거율을 억제하기 위해서는, 4 μm 이상인 것이 바람직하고, 또한 4.5 μm 이상으로 하는 것이 보다 바람직하다. 또한, 임파구의 제거율을 보다 억제하고, 과립구나 단구의 제거율 저하로 연결되지 않도록 하는 관점에서는, 섬유의 직경을 5 μm 이상으로 하는 것이 보다 바람직한 경우도 있다. 그러나, 섬유의 직경이 8 μm 를 초과하는 경우에는, 과립구, 단구의 제거율이 저하 경향을 나타내고, 섬유의 직경이 10 μm 이상이 되면 과립구나 단구의 제거율이 저하되기 때문에 바람직하지 않다. 또한, 20 μm 이상으로 하면 더 저하되기 때문에, 실용상 20 μm 이하인 것이 바람직하다.

[0108] 단, 혈구 제거 이외의 목적으로 혼합한 섬유 구조체 등의 직경은 이것으로 한정되는 것은 아니다. 예를 들면, 상기 섬유(섬유 A라 함)에 대하여, 주로 혈구의 제거 이외의 목적, 즉 흡착제의 강도를 일정 이상으로 유지할 목적 때문에, 보다 굵은 섬유를 섬유 구조체 등으로서 혼합하는 경우가 있는데(섬유 B라 함), 이러한 섬유 B의 직경은 이것으로 한정되지 않지만, 10 μm 내지 50 μm 인 것이 바람직하다. 10 μm 를 하회하는 경우에는, 섬유 B의 혼합의 주된 목적인 강도 유지의 효과를 기대할 수 없는 경우가 있다. 50 μm 를 상회하는 경우에는, 섬유 A와의 혼합이 곤란해진다.

[0109] 임파구 제거율(본 발명의 흡착제를 이용한 흡착률)은 면역 기억 세포의 저하로 연결되기 어렵다는 이유 때문에 40 % 이하인 것이 바람직하고, 또한 안전성 관점에서 바람직하게는 30 % 이하이다. 특히 진행 암이나 말기 암에서는, 혈 중의 임파구수가 감소되기 때문에, 20 % 이하인 것이 더욱 바람직하다.

[0110] 본 발명의 암 치료용 체외 순환 칼럼의 제조는 본 발명의 암 치료용 흡착제를 칼럼 용기에 충전함으로써 달성된다. 그 때의 본 발명의 암 치료용 흡착제의 형태는 상기한 대로 부직포, 직물, 편물, 면상, 중공사, 비드 등의 형태를 채용할 수 있다. 용기의 형상은 특별히 한정되지 않고, 종래부터 체외 순환 칼럼에 사용되었던 것을 채용할 수 있지만, 원통형이 일반적이다. 이러한 원통형 용기를 이용하는 경우에는, 특히 본 발명의 암 치료용 흡착제 형태를 부직포로 하여, 후술하는 것과 같은 네트와의 2층 구조, 바람직하게는 네트를 부직포로 감싼 것과 같은 구조로 한 상태이며, 원통형으로 감은 것 등을 충전함으로써 형태 유지성을 높일 수 있다.

[0111] 본 발명의 암 치료용 흡착제는 친수성 아민 잔기를 결합한 수불용성 중합체를 포함한다. 친수성 아민 잔기를 결합한 수불용성 중합체의 제조는 수불용성 담체와 친수성 아민을 용매 중에서 반응시킴으로써 달성된다.

[0112] 사용되는 수불용성 담체의 구체적인 예로서는 폴리스티렌으로 대표되는 폴리(방향족 비닐 화합물), 폴리(p-페닐렌에테르술폰)이나 $-\{(p-C_6H_4)-C(CH_3)_2-(p-C_6H_4)-O-(p-C_6H_4)-SO_2-(p-C_6H_4)-O\}_n-$ (유텔 폴리술폰) 등으로 대표되는 폴리술폰계 중합체, 폴리에테르이미드, 폴리이미드, 폴리아미드, 폴리에테르, 폴리페닐렌술폰과이드 등이며, 또한 친수성 아민을 고정화시키기 위한 반응성 관능기를 갖는 것을 들 수 있다. 친수성 아민을 고정화시키기 위한 반응성 관능기로서는, 할로메틸기, 할로아세틸기, 할로아세트아미드메틸기, 할로젠화 알킬기 등의 활성 할로젠기, 에폭시드기, 카르복실기, 이소시아나이드기, 티오이소시아나이드기, 산 무수물기 등을 들 수 있다. 수불용성 중합체의 보다 구체적인 예로서는, 클로로아세트아미드메틸폴리스티렌, 클로로아세트아미드메틸화된 유텔·폴리술폰, 클로로아세트아미드메틸화된 폴리에테르이미드 등을 들 수 있다. 또한, 이들 중합체는 유기 용매에 대하여 가용이라면, 성형되기 쉬운 이점이 있다.

[0113] 본 발명에서 말하는 친수성 아민 잔기는, 단독으로 물에 용해되거나 또는 물을 용해시키는 친수성 아민이 중합체에 화학적으로 결합된 상태의 것을 의미한다. 또한, 친수성 아민 잔기를 형성하는 친수성 아민으로서, 탄소수로 말하면, 질소 원자 1개당 탄소수 18 이하인 것이 이것에 상당한다.

[0114] 또한, 친수성 아민 중에서도, 질소 원자 1개당 탄소수 3 이상 18 이하, 특히 4 이상 14 이하의 알킬기를 갖는 3급 아민으로부터 얻어지는 4급 암모늄기를 결합한 것이 우수하다. 그와 같은 3급 아민의 구체적인 예로서는,

트리메틸아민, 트리에틸아민, N,N-디메틸헥실아민, N,N-디메틸옥틸아민, N,N-디메틸라우릴아민, N-메틸-N-에틸-헥실아민 등을 들 수 있다. 또한, 친수성 아민을 구성하는 알킬기가 친수성기인 수산기나 에테르기를 포함하는 것, 예를 들면 N,N-디메틸-6-히드록시헥실아민이나 N,N-디메틸-4-메톡시부틸아민 등도 친수성 아민으로서 바람직하게 이용할 수 있다.

- [0115] 본 발명에 있어서의 친수성 아민 잔기의 결합 밀도는 수불용성 중합체의 화학 구조에 따라 다르지만, 너무 적으면 그의 기능이 발현되지 않는 경향이 있고, 한편 너무 많으면, 고정화 후의 수불용성 중합체의 물리적 강도가 나빠지고, 흡착재로서의 기능도 저하되는 경향이 있기 때문에, 상기 밀도는 수불용성 중합체의 반복 단위 1 몰당 0.01 내지 2.0 몰, 보다 바람직하게는 0.1 내지 1.0 몰이 좋다.
- [0116] 본 발명의 암 치료용 흡착재의 표면적은 흡착재 1 그램당 0.1 평방미터 이상인 것이 바람직하고, 보다 바람직하게는 0.3 평방미터 이상이다. 단, 무한하게 크게 할 수는 없기 때문에, 실제상 한계가 있고, 10 평방미터 이하인 것이 바람직하다. 이러한 표면적은 수은 포로시메트리(porosimetry)법으로 구할 수 있다.
- [0117] 본 발명의 암 치료용 흡착재는, 친수성 아민 잔기를 결합한 수불용성 중합체를 막, 섬유, 입상물 등의 형태로 성형하거나, 또는 친수성 아민 잔기를 결합한 수불용성 중합체를 막, 섬유, 입상물 등의 형태를 갖는 기재에 피복시키거나, 또는 수불용성 중합체의 막, 섬유, 입상물 등의 성형품에 친수성 아민 잔기를 결합시키거나 함으로써 얻을 수 있다.
- [0118] 친수성 아민 잔기를 결합한 수불용성 중합체의 성형품 제조에는, 수불용성 중합체의 성형품에 친수성 아민의 용액을 접촉시키는 불균일계 반응의 방법과 수불용성 중합체 용액과 친수성 아민 용액을 혼합하여 반응시킨 후, 성형하는 균일계 반응의 방법이 있다. 불균일계 반응 방법의 일례로서는, 클로로아세트아미드메틸화 폴리술폰의 섬유 또는 중공사 등의 성형품을 디메틸헥실아민이나 폴리알킬렌아민 등의 이소프로판올 용액 중에 침지하고, 0 내지 100 °C의 온도에서 반응시킴으로써 용이하게 달성된다. 균일계 반응에 의한 방법의 일례를 서술하면, 클로로아세트아미드메틸화 폴리술폰의 용액 중에 대응하는 폴리아민을 첨가하여 0 내지 100 °C의 온도에서 반응시킴으로써 달성된다. 그의 양에는 특별히 제한은 없지만, 가용성 중합체를 얻기 위해서는 할로아세트아미드메틸기에 대하여 1배 몰 이상 이용하는 것이 바람직하다. 특히, 폴리아민의 경우에는, 가용성 중합체를 얻기 위해서는 친수성 아민을 크게 과잉으로 이용하는 것이 바람직하다.
- [0119] 또한, 반응 용매로서는 물, 메탄올, 에탄올, 이소프로판올, 디메틸술폰, N,N-디메틸포름아미드(DMF) 등의 극성이 높은 용매의 경우가 반응이 빠르게 진행되는 이점이 있다. 불균일계 반응에서는, 친수성 아민이 용해되는 용매이면 되고, 특별히 제한은 없다. 균일계에서 반응시키는 경우에는, 수불용성 담체와 친수성 아민을 둘 다 모두 용해시키는 용매, 구체적으로는 테트라히드로푸란, 디메틸술폰, N,N-디메틸포름아미드, N,N-디메틸아세트아미드, N-메틸피롤리돈 등이 바람직하게 이용된다. 또한, 성형품을 표면 처리하는 방법도 가능하고, 그를 위해서는 물, 메탄올, 에탄올 등의, 폴리술폰을 용해시키지 않고 친수성 아민을 용해시키는 용매가 바람직하게 이용된다.
- [0120] 본 발명에 있어서의 친수성 아민 잔기를 결합한 수불용성 중합체를 폴리에스테르 섬유, 나일론 섬유, 폴리페닐렌술폰과이드 섬유 등의 성형품 표면에 코팅하면, 간단하면서 저가로 표면적이 큰 고차원 성형품이 얻어지는 이점이 있다. 코팅은, 본 발명에 있어서의 친수성 아민 잔기를 결합한 수불용성 중합체를 염화메틸렌이나 테트라히드로푸란 등의 저비점 용매에 용해시킨 것에 나일론 편지나 직물을 침지시킨 후, 용매를 휘발시킴으로써 용이하게 달성할 수 있다. 또한, N,N-디메틸포름아미드 등의 용매에 용해시킨 것을 물 등의 중합체의 빈용매에 넣은 습식 코팅법도 이용할 수 있다. 코팅되는 성형품의 중합체는 폴리아미드, 폴리우레탄, 폴리이미드, 폴리술폰, 폴리염화비닐, 폴리에스테르 등, 본 발명에 있어서의 친수성 아민 잔기를 결합한 수불용성 중합체와의 접착성이 양호한 것이면 어느 것이나 좋고, 그의 종류에는 특별히 제한은 없지만, 나일론, 폴리에테르이미드 등의 아미드계 중합체가 접착성이 특히 양호하기 때문에, 바람직하게 이용된다.
- [0121] 상기 성형이나 기재에 대한 피복에 있어서 성형품이나 기재의 형태로 채용되는 섬유로서 중공사를 이용하는 것도 바람직하다. 이 경우, 여과 기능을 구비한 흡착재를 만들 수 있기 때문에, 인공 투석기로서 또는 혈장 분리기로서 사용하면서 면역 억제 물질 및 백혈구를 제거할 수 있는 이점이 있다.
- [0122] 본 발명의 암 치료용 체외 순환 칼럼은 암에 걸린 환자의 암 진행을 억제하거나, 암 환자의 삶의 질(이하, QOL) 향상을 도모할 목적으로, 암 환자, 특히 진행 암 환자의 체외 순환 치료에 이용된다. 또한, 본 발명의 암 치료용 흡착재는 암 절제 수술시에 출혈된 혈액을 복귀시킬 때에, 면역 억제성 단백질을 제거해 둘 목적으로도 사용할 수 있다.

- [0123] 한편, 본 발명은 상술한 바와 같은 흡착재 중 바람직한 형태로 되어 있는 것을 비롯한 부직포를 네트와 조합하여 이루어지는 흡착재(흡착 담체)도 제공하는 것이다. 즉, 본 발명은 적어도 네트와 부직포의 2층 구조를 갖는 흡착재(흡착 담체)도 제공하는 것이고, 이하에 상세히 설명한다.
- [0124] 본 발명은 상기 과제, 즉 혈액 중에 과잉으로 존재하는 백혈구나 암세포 등의 세포와, 사이토카인 등의 생리 활성 물질을 모두 동시에 높은 효율로 선택적으로 흡착 제거하면서 또한 안전하게 체외 순환시킬 수 있는 흡착재에 대하여 예의 검토하여, 종래 기술의 흡착재에 대한 문제가 부피 밀도가 너무 큰 것에 있는 것과, 단순히 부피 밀도가 작은 부직포를 얻었다고 해도 형태 유지성을 수반하지 않으면 결국은 폐색 등을 일으키는 것에 착안하여, 완수된 것이다. 즉, 종래 기술보다 보다 부피 밀도를 작게 하면서도 형상 안정성을 갖게 하는 것에 성공하였다.
- [0125] 생리 활성 물질로서는, 상술한 사이토카인 외에도, 화학주성 인자, 항체, 보체, 림포카인, 기타 액성 인자 등 생물 유래의 단백질이나 지질, 당질, 호르몬류 등을 포함하여, 특히 구조 해석이나, 패턴 해석 등을 위한 제거 작업, 치료 목적 등의 타겟으로서 선정된 물질은 대상이 된다. 그 외에도, 생체에 악영향을 미치는 세균, 세균 독소, 바이러스 등도 생리 활성 물질로서 취급한다. 세포에 대해서는, 주로 혈구 세포, 암화 세포 등이고, 혈액이나 림프액, 복수, 흉수 등의 삼출액 중에 나오는 물질을 대상으로 한다. 연구시에 배양 세포, 효모, 세균류도 대상이 된다.
- [0126] 본 발명에 있어서의 부직포 소재로서는, 폴리아미드, 폴리에스테르, 폴리아크릴로니트릴계 중합체, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌 등의 공지된 중합체를 사용할 수 있다. 이들 중합체의 단독사라도, 심초형, 해도형 또는 사이드 바이 사이드(side-by-side)형 복합사라도 상관없다. 또한, 섬유는 단면 형상은 원형 단면이라도, 그 이외의 이형 단면이라도 괜찮다. 부직포의 제조 방법으로서, 공지된 부직포의 제조 방법, 예를 들면 습식법, 카딩법, 에어레이법, 스펀 본드법, 멜트 블로우법 등을 사용할 수 있다.
- [0127] 또한, 이러한 부직포를 구성하는 섬유의 직경은 목적으로 하는 흡착 성능을 고려한 후에 정해져야 하는 것이다. 예를 들면, 과립구의 제거를 위해서는 3 μm 을 초과하는 것이 바람직하고, 그 중에서도 4 μm 이상인 것이 바람직하고, 보다 바람직하게는 5 μm 내지 10 μm 인 것이 사용된다. 이 외에, 이보다 굵은 섬유를 동시에 혼합한 부직포로 할 수도 있다. 한편, 0.5 내지 4 μm 의 섬유를 이용하면 임파구의 제거에도 바람직하게 사용할 수 있다. 또한, 0.5 μm 미만의 섬유를 이용하면, 생리 활성 물질의 제거 효율을 높이는 것이 가능해진다.
- [0128] 여기서 나타난 직경은 원주형의 것만 적용되는 것이 아니라, 예를 들면 타원이나 구형, 다각형의 것에도 적용된다. 최외층을 연결하여 생긴 도형의 면적을 구하고, 그 면적에 상응하는 원의 직경을 구한다. 예를 들면, 5개의 돌기 부분이 존재하는 별 모양을 예로 들면, 그 5개의 정점을 연결하는 도형을 생각하고, 그 면적을 산출하여, 대응하는 원의 직경을 본 발명에서 말하는 직경으로 한다.
- [0129] 또한, 이러한 본 발명의 부직포로서 바람직한 양태는 상술한 과립구, 단구 및 사이토카인을 흡착하는 흡착재 및 암 치료용 흡착재 중, 부직포 형태의 것을 들 수 있다.
- [0130] 본 발명에 있어서 상술한 부직포는 네트와 조합하여 적층 구조를 구성할 수 있다. 부직포와 네트의 2층 구조일 수도 있지만, 부직포 사이에 네트를 끼운 형상, 즉 부직포-네트-부직포의 샌드위치 구조(3층 구조)를 취하는 것이 보다 바람직하다. 물론, 후술하는 부피 밀도를 고려하여, 압력 손실에 영향이 없는 범위에서 또한 다층 구조로 하는 것도 가능하다.
- [0131] 본 발명에 있어서의 네트의 소재는 폴리아미드, 폴리에스테르, 폴리아크릴로니트릴계 중합체, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌 등의 공지된 중합체를 사용할 수 있다. 후술하는 바와 같이, 부직포와 일체화한 후에 관능기 도입을 위한 유기 합성 반응에 사용하는 경우에는, 사용되는 용매의 종류나 반응 온도에 따라서 적절하게 소재를 선택할 수 있다. 특히, 생체적 합성면에서는 폴리프로필렌이 특히 바람직하다.
- [0132] 복수개의 섬유가 합사된 상태나 방적사로 네트 구조가 형성되어 있으면, 합사된 사상(絲狀) 사이 등을 혈액 등의 피처리 매체가 통과함으로써 압력 손실 상승의 우려가 있기 때문에, 네트는 단사(모노 필라멘트)로 형성되어 있는 것이 바람직하다. 또한, 단사이면, 1개당 기계적인 강력도 유지하기 쉽다.
- [0133] 네트의 구성으로서 특별히 한정되지 않고, 결절망, 무결절망, 라셀망 등을 사용할 수 있다. 이 중, 특히 네트를 형성하는 구성재, 예를 들면 단사가 교차하는 부분이 접합되어 있는 것을 바람직하게 사용할 수 있다. 이러한 네트를 이용함으로써, 단사 등 구성재의 움직임이 없어, 접합되지 않은 네트와 비교하여 형태 유지성, 취급성이 향상된 흡착 담체를 얻을 수 있다. 네트는 구성되는 단사끼리 접합되어 있을 수도 있다. 접합 방법으

로서는, 결절, 열에 의한 접착 등이 있지만, 열에 의한 접착에 의한 방법이면, 두께를 제어하기 쉬우면서 저가로 실시되기 때문에 바람직하다. 네트의 공극(메쉬) 형상도 특별히 한정되지 않고, 직사각형 등의 사각형, 마름모형, 귀갑형 등의 각종의 것을 사용할 수 있다. 그 중에서도 사각형, 특히 직사각형의 것은 부직포를 적층하였을 때의 강도나 취급성이 향상되기 때문에 바람직하다. 또한, 네트 구성재의 부직포에 대한 위치적인 관계를, 예를 들면 네트의 공극 형상이 사각형인 경우, 부직포의 장축 또는 단축 방향에 대하여 각도 90도±10도의 방향을 이루도록 함으로써, 부직포를 적층하였을 때의 강도나 취급 성능이 보다 향상된다.

[0134] 네트를 구성하는 단사의 직경은 바람직하게는 50 μm 이상 1 mm 이하이고, 동일하게 네트의 두께는 50 μm 이상 1.2 mm 이하이다. 이 이상 큰 범위에서도 가능하지만, 단위 부피당 흡착체 그 자체의 분량을 감소시키므로, 바람직하지는 않다.

[0135] 네트를 이용함으로써 부직포에 형태 유지성을 부여할 수 있어, 부피 밀도가 작더라도 형태가 안정한 흡착 담체로 할 수 있다. 또한, 네트 자체가 압력 손실에 영향을 주기 때문에, 네트는 가능하면 개공부가 큰 것이 바람직하다. 이를 위해서는 100 mm² 중에 10 mm² 이상의 공극을 갖는 것이 바람직하고, 특히 바람직하게는 3 mm변(角) 정도의 개공부를 가지면, 형태 유지성도 양호해지므로, 바람직하게 사용할 수 있다.

[0136] 흡착재의 두께에 대해서는 한정되지 않지만, 0.1 mm 이상 10 cm 이하인 것이 취급상 바람직하다. 예를 들면, 도레이사 제조의 "트레믹신" (등록 상표)과 같은 방사류형(radical flow type)의 모듈에 조립하는 경우에는, 중심 파이프에 감기 위해서, 두께는 1 cm 이하인 것이 바람직하다. 이들은 취급법에 따라 결정된다.

[0137] 본 발명에 있어서의 네트와 부직포의 2층 구조를 갖는 흡착재의 부피 밀도는 0.02 내지 0.15 g/cm³인 것이 바람직하고, 보다 바람직하게는 0.05 내지 0.15 g/cm³인 것이 사용된다. 부피 밀도를 크게 하면 백혈구나 세포 등의 큰 물질을 여과하는 능력이 향상되지만, 너무 크면 혈액 순환시에 폐색되기 쉬워지기 때문에, 상기 범위가 바람직하다. 0.15 g/cm³을 초과하는 것은 굳이 본 발명의 구성, 즉 네트와 부직포의 적층 구조를 취하지 않고 부직포만으로도 형태 안정성은 유지되지만, 물론 본 발명에 있어서 0.15 g/cm³을 초과하는 부피 밀도를 채용해도 상관없다. 부피 밀도의 측정은, 예를 들면 이하와 같이 하여 행할 수 있다. 흡착체를 3 cm변의 정방형으로 절단한 후, 1 mm 두께의 폴리프로필렌제 판을 얹었을 때의 흡착체의 두께를 5회 측정하고, 그의 평균값을 두께로 한다. 이 소편(小片)의 무게를, 부피로 나눔으로써 부피 밀도를 구하고, 이것을 5 샘플에서 실시하여 평균값을 부피 밀도로 한다.

[0138] 상술한 대로, 본 발명에서 부직포를 이용하는 경우에는, 주로 부직포 부분에 의해서 백혈구나 암세포 등을 흡착 및 여과에 의해서 제거할 수 있다. 또한, 부직포 부분의 소재나 섬유 직경을 적절하게 선택함으로써, 이들 백혈구나 암세포 등과 함께 사이토카인 등의 생리 활성 물질도 흡착·제거하는 것이 가능하다. 백혈구나 암세포 등과 함께 사이토카인 등의 생리 활성 물질도 효율적으로 흡착·제거하기 위해서는, 상기 흡착 담체에 특정 관능기를 도입, 고정화시키는 것이 바람직하다. 흡착 담체, 특히 부직포 부분을 구성하는 소재를 적절하게 선택함으로써, 특정 관능기를 도입하지 않고도 사이토카인 등의 생리 활성 물질의 흡착·제거능을 갖게 할 수는 있지만, 이들 관능기의 도입에 의해서 생리 활성 물질을 보다 효율적으로 흡착할 수 있게 된다.

[0139] 부직포를 형성하는 섬유는, 특히 바람직하게는 심(core)이 폴리프로필렌, 초(shell)가 폴리스티렌 등의 다심 핵도형 복합 섬유로 만들어진다. 소재의 조합은 제사성(製絲性)이 양호하면, 어떠한 조합도 실현할 수 있지만, 특히 초에 폴리스티렌을 이용하면 초 구조에 관능기 도입이 행해지기 쉽기 때문에, 특히 바람직하다. 이 경우, 아미드메틸화법을 적용함으로써, 아미노기를 갖는 관능기를 간편하게 도입할 수 있다. 종래부터, 환상 펩티드(폴리믹신 B, 폴리믹신 S), 폴리에틸렌이민, 4급 암모늄염 등의 도입이 행해졌다. 그의 구체적인 예로서, 아미노기를 갖는 환상 펩티드 잔기, 폴리알킬렌이민 잔기, 벤질아미노기, 1급, 2급, 3급 알킬아미노기를 사용할 수 있다. 그 중에서도 바람직하게는 아미노기를 갖는 환상 펩티드 잔기, 폴리알킬렌이민 잔기, 더욱 바람직하게는 아미노기를 갖는 환상 펩티드 잔기가 생리 활성 물질에 대한 흡착 성능이 높아서 좋다.

[0140] 보다 구체적으로는 아미노기를 갖는 환상 펩티드는 2개 이상 50개 이하, 보다 바람직하게는 4개 이상 16개 이하의 아미노산으로 이루어지는 환상 펩티드이며, 그의 측쇄에 1개 이상의 아미노기를 갖는 것이면 되고, 특별히 제한은 없다. 그의 구체적인 예로서는, 폴리믹신 B, 폴리믹신 E, 콜리스틴, 글라미시딘 S 또는 이들의 알킬 또는 아실 유도체 등을 사용할 수 있다.

[0141] 또한, 본 발명에서 말하는 폴리알킬렌이민 잔기란, 폴리에틸렌이민, 폴리헥사메틸렌이민 및 폴리(에틸렌이민·데카메틸렌이민) 공중합체로 대표되는 폴리알킬렌이민, 또는 그 질소 원자의 일부를 n-헥실브로마이드, n-데카

닐브로마이드, n-스테아틸브로마이드 등으로 대표되는 할로젠화 탄화수소의 단독 또는 혼합물로 알킬화한 것, 또는 부티르산, 발레르산, 라우릴산, 미리스트산, 레놀레산, 스테아틸산 등의 지방산으로 아실화한 것을 의미한다.

[0142] 본 발명의 넷트와 부직포의 2층 구조를 갖는 흡착재의 제조 방법으로서, 미리 따로따로 제조한 부직포와 넷트를, 서멀 본드법, 캘린더법, 니들 펀치법 등의 공지된 웹 접착 방법으로 적층 구조로 만드는 방법이 있다. 또한, 다른 방법으로서, 적층 구조로 만들기 위해서, 미리 예비 펀칭을 실시한 면상물을 제조하고, 그 사이에 넷트를 끼워 펀칭하여 부직포-넷트-부직포의 샌드위치층 구조를 갖는 흡착 담체를 만드는 방법이 있는데, 이 방법의 경우가 보다 간편하여, 바람직하다. 예비 펀칭한 면상물을 한쪽면 1매 넷트 구조로 중첩시키는 것도 가능하다.

[0143] 본 발명의 체외 순환용 칼럼은 상기 넷트와 부직포의 2층 구조를 갖는 흡착재(흡착 담체)를 용기, 특히 바람직하게는 원통형 용기에 충전함으로써 제조할 수 있다. 칼럼의 구성으로서, 흡착 담체를 평판형으로 형성하고, 이것을 복수층이라도 겹쳐 충전한 칼럼, 흡착 담체를 심재에, 또는 심재없이 원통 형상으로 감아 구성한 원통형 필터가 양단부에 혈액 입구와 혈액 출구를 갖는 원통형 용기에 수납되어 있는 칼럼, 흡착 담체가 원통형으로 감겨 형성되는 중공 원통형 필터가 그의 양단부가 밀봉된 상태로 혈액 입구와 혈액 출구를 갖는 원통형 용기에 수납되어 있고, 용기의 혈액 출구는 상기 중공 원통형 필터의 외주부로 통하는 부위에, 또한 용기의 혈액 출구는 상기 중공 원통형 필터의 내주부로 통하는 부위에 각각 설치되어 있는 칼럼 등이 바람직하다. 그 중에서도 원통 중공상 필터를 이용한 칼럼은 혈액 중의 염증성 백혈구의 대부분이 원통 형상 필터 외주부의 대면적의 부직포로 신속히 제거되고, 제거되지 않고 남은 근소한 염증성 백혈구도 원통 형상 필터의 내주부에 이르러, 그의 소면적의 부직포로도 충분히 제거되어, 효율적인 염증성 백혈구 제거가 가능하기 때문에, 가장 바람직하다. 예를 들면, 원통 형상 중공 필터를 제조하는 경우, 샌드위치 구조로 한 부직포에 있어서 넷트 단섬유의 길이 방향이 부직포 각 절단면에 대하여 수직이 되도록 부직포를 제조함으로써, 간단하게 부직포에 강한 인장 강도를 갖게 할 수 있고, 상기 부직포를 심재에 감는 경우에도 취급성이 향상된다.

[0144] 이상 설명한 본 발명의 각종 흡착재는 체외 순환 칼럼 등의 혈액 처리 칼럼으로서 이용할 수 있다. 체외 순환 칼럼으로서 이용하는 경우, 칼럼 용기에 충전하는 흡착재량, 혈액의 순환 속도에도 의존하지만, 통상은 1 시간부터 2 시간의 생체와의 체외 순환 실시 후, 개시시부터 150 내지 180 시간 후에, 체외 순환 전에 비해 임파구 수의 증가와 과립구 수의 감소를 실현할 수 있다. 따라서, 본 발명의 흡착재 및 혈액 처리용 칼럼은 백혈구 제거 요법 및 면역 부활 요법에 있어서 유용하다.

실시예

[0145] 이하, 실험예에 의해 본 발명을 더욱 구체적으로 설명한다.

[0146] 실시예 1 및 비교예 1 (제타 전위의 측정)

[0147] 표면 제타 전위는 유동 전위 측정 장치(ZP-10B(시마즈 세이사쿠쇼 제조))에 의해서, 유동 전위와 액체를 흐르게 하기 위해서 가해진 압력, 및 액체의 비도전율을 측정함으로써 계산에 의해 구하였다. 유동액은 1 mM KCl 수용액을 사용하고, pH 6±1, 온도 20±5 °C에서 측정하였다.

[0148] (사이토카인 흡착 평가)

[0149] 소 태아 혈청에 인간 천연형 IL-1, IL-6을 첨가하여 각각 500 pg/ml로 제조하였다. 이 혈청에 흡착 담체를 첨가하여 37 °C 2 시간 동안 진탕하고, 상청을 채취하여 샘플로 하였다. 담체:혈청량=30 mg:1 ml의 고액비(固液比)로 통일하고, 진탕 전후의 사이토카인량을 구하여 제거율을 측정하였다.

[0150] [제조예 1]

[0151] (부직포)

[0152] 36 도(島)의 해도 복합 섬유로서, 도가 또한 심초 복합에 의해 이루어지는 것을, 다음 성분을 이용하여 방사 속도 800 m/분, 연신 배율 3배의 제사 조건에서 얻었다.

[0153] 도의 심 성분; 폴리프로필렌

[0154] 도의 초 성분; 폴리스티렌 90 중량%, 폴리프로필렌 10 중량%

[0155] 해(海) 성분; 에틸렌테레프탈레이트 단위를 주된 반복 단위로 하고, 공중합 성분으로서 5-나트륨술포이소프탈산

을 3 중량% 포함하는 공중합 폴리에스테르

[0156]

복합 비율(중량비); 심:초:해=44:44:12

[0157]

이 섬유 85 중량%와 직경 20 μm 의 폴리프로필렌 15 중량%로 이루어지는 시트형 물질을 제조한 후, 니들 펀칭 함으로써 부직포를 얻었다. 다음에, 이 부직포를 90 °C 수산화나트륨 수용액으로 처리하고, 해 성분인 에틸렌 테레프탈레이트 단위를 주된 반복 단위로 하여, 공중합 성분으로서 5-나트륨술포이소프탈산을 3 중량% 포함하는 공중합 폴리에스테르를 용해시킴으로써, 심초 섬유의 직경이 5 μm 이며, 부피 밀도가 0.05 g/cm^3 (총 단위 중량 250 g/m^2)인 부직포를 제조하였다(부직포 1).

[0158]

(중간체)

[0159]

다음에, 니트로벤젠 600 mL와 황산 390 mL의 혼합액에 파라포름알데히드 3 g을 20 °C에서 용해시킨 후, 0 °C로 냉각시키고, 75.9 g의 N-메틸- α -클로로아세트아미드를 첨가하여 5 °C 이하에서 용해시켰다. 이것에 5 g의 상기 부직포 1을 침지하여 실온에서 2 시간 정치하였다. 그 후, 섬유를 추출하고, 크게 과잉인 냉메탄올 중에 넣어 세정하였다. 섬유를 메탄올로 잘 세정한 후, 수세하고, 건조시켜 7.0 g의 α -클로로아세트아미드메틸폴리스티렌 섬유(중간체 A1)를 얻었다. 제타 전위는 -21 mV였다.

[0160]

(흡착체(흡착재, 흡착 담체))

[0161]

N,N-디메틸옥틸아민 50 g과 요오드화 칼륨 8 g을 360 mL의 DMF에 용해시킨 용액에 5 g의 중간체 A1을 침지하고, 85 °C의 욕 중에서 3 시간 가열하였다. 섬유를 이소프로판올로 세정한 후, 1 몰/L 농도의 식염수에 침지한 후, 수세하고, 진공 건조시켜 8.3 g의 디메틸옥틸암모늄화 섬유(흡착체 A1)를 얻었다. 제타 전위는 -1 mV였다.

[0162]

또한, N,N-디메틸헥실아민 50 g과 요오드화 칼륨 8 g을 360 mL의 DMF에 용해시킨 용액에 5 g의 중간체 A1을 침지하고, 85 °C의 욕 중에서 3 시간 가열하였다. 섬유를 이소프로판올로 세정한 후, 1 몰/L 농도의 식염수에 침지한 후, 수세하고, 진공 건조시켜 9.3 g의 디메틸라우틸암모늄화 섬유(흡착체 A2)를 얻었다. 제타 전위는 1.2 mV였다.

[0163]

[실시에 1]

[0164]

건강한 자원 봉사자의 혈액 50 ml를 헤파린 채혈하고, 그 중에 500 pg/ml가 되도록 인간 천연형 IL-1, IL-6을 용해시키고, 이하의 검토를 행하였다.

[0165]

흡착재 A1 및 흡착재 A2를 각각 150 mg 내용적 2 ml의 칼럼에 충전하여 37 °C에서 1 시간, 상기 혈액 25 mL를 순환시킨 후, 혈구의 조성을 자동 혈액 분석기로 조사하고, 또한 IL-1, IL-6의 양을 EIA법으로 정량하였다. 순환 전후의 차로부터 흡착물을 산출하였다. 흡착체 A1에서는 임파구 흡착률 19.5 %, 과립구 흡착률 78 %, 단구 흡착률 85 %이고, IL-1 흡착률, IL-6 흡착률은 각각 37 %, 32 %였다. 동일하게, 건강한 자원 봉사자 혈액을 이용하여 제조한 시트르산 혈장으로, 응고 인자 XIII의 활성 저하를 본 결과(가부시끼가이샤 SRL에 합성 기질법에 의한 측정을 위탁하였다. 이하의 응고 인자 XIII의 측정에 있어서도 동일하다.) 12 %였다. 흡착재 A2에서는, 임파구 흡착률 21 %, 과립구 흡착률 75 %, 단구 흡착률 83 %이고, IL-1 흡착률, IL-6 흡착률은 각각 37 %, 40 %였다. 동일하게, 건강한 자원 봉사자 혈액을 이용하여 제조한 시트르산 혈장으로 응고 인자 XIII의 활성 저하를 본 결과 16 %였다.

[0166]

별도로, 사이토카인 흡착 평가를 행한 결과, 흡착재 A1에서 흡착률은 IL-1, IL-6에서 각각 56 %, 88 %, 흡착재 A2에서 흡착률은 IL-1, IL-6에서 각각 74 %, 93 %였다.

[0167]

[비교예 1]

[0168]

중간체 A1을 이용하여, 실시예 1과 동일한 시험을 행하였다(혈액량은 25 ml). 임파구 흡착률은 19.5 %, 과립구 흡착률은 78 %, 단구 흡착률은 78 %이고, IL-1 흡착률, IL-6 흡착률은 각각 2 %, 3 %였다. 동일하게, 건강한 자원 봉사자 혈액을 이용하여 제조한 시트르산 혈장으로 응고 인자 XIII의 활성 저하를 본 결과 16 %였다. 별도로, 사이토카인 흡착 평가를 행한 결과, 흡착률은 IL-1, IL-6에서 각각 12 %, 13 %였다.

[0169]

이상의 실시예 1 및 비교예 1의 결과로부터 분명한 바와 같이, 제타 전위 -20 mV 이상의 흡착제인 본 발명은 높은 효율로 혈액 중의 과립구 및 단구를 흡착할 수 있고, 또한 사이토카인도 동시에 높은 효율로 흡착할 수 있다.

[0170] 실시예 2 내지 7

[0171] 과립구·단구 흡착률과 섬유 직경의 상관을 얻기 위해서, 건강한 정상 인간의 혈액(Ht=43 %)을 이용하여 이하의 절차로 흡착 시험을 행하였다.

[0172] (과립구·단구 흡착률의 측정과 섬유 직경의 상관)

[0173] 섬유 직경이 각각 2 μm, 3 μm, 4 μm, 6 μm, 10 μm, 17 μm인 폴리에틸렌테레프탈레이트로 이루어지는 섬유를 용융 방사하여 준비하고, 20 mg/ml의 고액비가 되도록 건강한 인간 혈액 중에 침지하여(배치 흡착 시험) 37 °C로 유지하고, 매분 3회의 전도(轉倒) 혼화를 5 분간 행하였다. 이 후, 섬유를 제거하고, 침지 전의 전혈 중 및 침지 후의 전혈 중의 과립구(호중구 값을 대용함), 단구, 임파구수를 각각 시스멕스사 제조 혈구 계산기(XT1800iv)를 이용하여 측정하고, 흡착률을 측정하였다. 각 혈구 흡착률(제거율)을 표 1에 나타낸다.

표 1

5분 제거율 평균

	섬유 직경(μm)	호중구(Av)	임파구(Av)	단구(Av)
실시예 2	2	17.53	2.03	26.20
실시예 3	3	25.87	2.34	28.60
실시예 4	4	33.03	2.57	44.01
실시예 5	6	25.13	1.55	38.39
실시예 6	10	32.52	4.48	53.05
실시예 7	17	6.05	-0.45	12.76

[0174]

[0175] (흡착률과 섬유 직경의 상관 고찰)

[0176] 과립구·단구 흡착률과 섬유 직경의 상관을 얻기 위해서, 건강한 인간의 혈액(Ht=43 %)을 이용하여 상술한 바와 같은 배치 흡착 시험을 행하였다. 이 검토에서는, 칼럼에서의 순환에 대하여, 1/2 정도의 제거율로서 얻어진다. 이 결과, 표 1로부터 분명한 바와 같이, 검토를 행한 이러한 범위의 섬유 직경에서는 임파구 흡착률은 저율이면서 또한 그다지 변동이 없는 것, 과립구(호중구)·단구의 제거율을 칼럼에서 50 % 이상의 고율로 계속될 수 있는 범위가 섬유 직경이 약 3 μm를 초과하는 영역인 것을 알았다.

[0177] 실시예 8 내지 10 및 비교예 2 내지 4

[0178] 이하의 실시예에서는, 제타 전위와 리포 다당 흡착능의 관계, 및 인터페론 감마의 생산 촉진 효과에 대하여 조사하였다.

[0179] (제타 전위의 측정)

[0180] 표면 제타 전위의 측정은 상기 실시예 1과 동일한 조건에서 행하였다.

[0181] (사이토카인 흡착 평가)

[0182] 사이토카인 흡착 평가는 소 태아 혈청에 인간 천연형 IL-1, IL-6을 첨가하여 각각 500 pg/ml로 제조하였다. 이 혈청에 흡착 담체를 첨가하여 37 °C 2 시간 동안 진탕하고, 상청을 채취하여 샘플로 하였다. 담체:혈청량=30 mg:1 ml의 고액비로 통일하고, 진탕 전후의 사이토카인량을 구하여 제거율을 측정하였다. 정량은 EIA법을 이용하고, 시판용 키트(IL-1: R&D 시스템사 제조, 인간 IL-1β ELISA 키트, IL-6: 가마쿠라 테크노사이언스 제조)를 이용하여 행하였다.

[0183] (인터페론 감마 생산 평가)

[0184] 자원 봉사자 혈액 10 mL를 이용하여, 흡착체를 0.3 g 충전한 내용적 2 ml의 폴리프로필렌제 원통형 칼럼에 혈유속 2 ml/분으로 통과시키고, 흡착체 자극 혈액을 얻었다. 칼럼 통과 유무의 혈액을 각각 피콜(Ficoll) 밀도구배 원심법으로 임파구 분획을 분리하였다. 흡착체 접촉 전의 혈액과 접촉 후 8 시간 후의 임파구 농축액을 1 내지 10 μg의 PHA(피토헤마글루티닌-L: 와코 준야꾸 제조)로 자극하여, 자극 전후의 인터페론 감마의 농도를 측정하였다. 정량은 EIA법을 이용하여 시판용 키트(엔도겐사(ENDOGEN) 제조, 인간 인터페론 감마 ELISA 키트)를 이용하여 행하였다. (자극 후 인터페론 감마 농도/자극 전 인터페론 감마 농도)를 구하여, 인터페론 감마 생산 활성으로 하였다.

- [0185] (혈구수의 측정)
- [0186] 혈액 중의 혈구수 정량, 헤마토크릿값의 측정은 시스맥스사 XT-1800iV를 이용하여 행하였다.
- [0187] (LPS의 측정)
- [0188] LPS의 흡착량은 와코 준야꾸 제조의 투시노미터로 측정하였다. 1 vol% FCS 첨가 생리 식염수 중에 10 ng/ml가 되도록 와코 준야꾸 제조 LPS(카탈로그 번호: 120-04531)를 분산시키고, 300 mg의 흡착제와 4 시간, 37 °C의 조건에서 수욕 중에서 배양하였다. 상청 중에 잔존한 LPS량을 측정하고, 동일하게 투시노미터로써 측정하였다. 첨가액 중의 LPS와의 차 및 비로부터 제거량 및 제거율을 구하였다. 규격값은 제거율 90 % 이상, 흡착량은 100 pg/mg 이상인 LPS 흡착능을 갖는 것이다.
- [0189] [제조예 2]
- [0190] (부직포)
- [0191] 36 도의 해도 복합 섬유로서, 도가 또한 심초 복합에 의해 이루어지는 것을, 다음 성분을 이용하여 방사 속도 800 m/분, 연신 배율 3배의 제사 조건에서 얻었다.
- [0192] 도의 심 성분; 폴리프로필렌
- [0193] 도의 초 성분; 폴리스티렌 90 중량%, 폴리프로필렌 10 중량%
- [0194] 해 성분; 에틸렌테레프탈레이트 단위를 주된 반복 단위로 하여, 공중합 성분으로서 5-나트륨술포이소프탈산을 3 중량% 포함하는 공중합 폴리에스테르
- [0195] 복합 비율; 심:초:해=44:44:12(중량비)
- [0196] 이 섬유 75 중량%와 직경 20 μm 의 폴리프로필렌 25 중량%로 이루어지는 시트형 물질을 제조한 후, 니들 펀칭 함으로써 부직포를 얻었다. 다음에, 이 부직포를 90 °C 수산화나트륨 수용액으로 처리하고, 해 성분인 에틸렌 테레프탈레이트 단위를 주된 반복 단위로 하고, 공중합 성분으로서 5-나트륨술포이소프탈산을 3 중량% 포함하는 공중합 폴리에스테르를 용해시킴으로써, 심초 섬유의 직경이 4.5 μm 이며, 부피 밀도가 0.03 g/cm^3 (총 단위 중량 200 g/m^2)인 부직포를 제조하였다(부직포 2).
- [0197] (중간체)
- [0198] 다음에, 니트로벤젠 600 mL와 황산 390 mL의 혼합액에 파라포름알데히드 3 g을 20 °C에서 용해시킨 후, 0 °C로 냉각시키고, 75.9 g의 N-메틸을- α -클로로아세트아미드를 첨가하여 5 °C 이하에서 용해시켰다. 이것을 20 °C로 승온한 후 즉시 5 g의 상기 부직포 2를 침지하여 실온에서 2 시간 정치하였다. 그 후, 섬유를 취출하고, 크게 과잉인 냉매탄올 중에 넣어 세정하였다. 섬유를 메탄올로 잘 세정한 후, 수세하고, 건조시켜 7.0 g의 α -클로로아세트아미드메틸화 폴리스티렌 섬유(중간체 A2)를 얻었다. 제타 전위는 -23 mV였다.
- [0199] (흡착체)
- [0200] N,N-디메틸옥틸아민 50 g과 요오드화 칼륨 8 g을 360 mL의 메탄올에 용해시킨 용액에 5 g의 중간체 A2를 침지하고, 50 °C의 욕 중에서 3 시간 가열하였다. 섬유를 이소프로판올로 세정한 후, 1 몰/L 농도의 식염수에 침지한 후, 수세하고, 진공 건조시켜 8.1 g의 디메틸옥틸암모늄화 섬유(흡착체 A3)를 얻었다. 제타 전위는 -0.3 mV였다.
- [0201] 또한, N,N-디메틸헥실아민 50 g과 요오드화 칼륨 8 g을 360 mL의 메탄올에 용해시킨 용액에 5 g의 중간체 A3를 침지하고, 50 °C의 욕 중에서 3 시간 가열하였다. 섬유를 이소프로판올로 세정한 후, 1 몰/L 농도의 식염수에 침지한 후, 수세하고, 진공 건조시켜 7.3 g의 디메틸헥실암모늄화 섬유(흡착체 A4)를 얻었다. 제타 전위는 2.2 mV였다.
- [0202] [실시예 8]
- [0203] 건강한 자원 봉사자의 혈액 50 mL를 헤파린 채혈하고, 그 중에 500 pg/ml가 되도록 인간 천연형 IL-1, IL-6을 용해시키고, 이하의 검토를 행하였다.
- [0204] 흡착제 A3 및 흡착제 A4를 각각 150 mg 내용적 2 ml의 칼럼에 충전하여 37 °C에서 1 시간 상기 혈액 25 mL를 순환시킨 후, 혈구의 조성을 자동 혈액 분석기(시스맥스사 제조 XT-1800iV)로 조사하고, 또한 IL-1, IL-6량을 EIA

법으로 정량하였다. 흡착체 A3에서는, 임파구수 14.5 % 감소, 과립구 72 % 감소, 단구 82 % 감소가 보였고, IL-1, IL-6은 각각 33 %, 52 % 감소하였다. 흡착체 A4에서는, 임파구수 21 % 감소, 과립구 75 % 감소, 단구 83 % 감소가 보였고, IL-1, IL-6은 각각 37 %, 40 % 감소하였다.

[0205] LPS 제거율에 대해서는, 흡착체 A3에서 98 %, 흡착체 A4에서 97 %였다.

[0206] 별도로, 사이토카인 흡착 평가를 행한 결과, 흡착체 A3의 제거율은 IL-1, IL-6의 각각에서 56 %, 88 %, 흡착체 A4의 제거율은 IL-1, IL-6의 각각에서 74 %, 93 %였다.

[0207] [실시에 9]

[0208] (체의 순환 치료)

[0209] 흡착체 A3을 0.3 g, 내경 1 cm, 내용적 2 mL의 폴리프로필렌제 원통형 칼럼에 충전하여 체외 순환 칼럼을 제조하였다. 12 주령의 WKAH:Hkm 래트(수컷)의 등쪽 피하에 4-디메틸아미노아조벤젠 유발 간암 세포 KDH-8(야노론, 훗카이도이시, 68권 5호, 654-664(1993))를 1×10^6 개 접종하였다. 암 세포는 100 %의 확률로 정착하였다. (통상, 접종 1 주간 후부터 종양이 커지고, 접종 후 5.5 주간에 사망하였다.) 체외 순환 칼럼은 체외 순환 전에 1000 단위의 헤파린나트륨을 포함하는 생리 식염수로 예비 세정하고, 또한 500 mL의 생리 식염수로 세정하여 이용하였다.

[0210] KDH 세포 접종 2 주간 후의 래트에 체외 순환 치료를 행하였다. 대퇴동맥으로부터 채혈하여 체외 순환 전의 과립구 및 임파구수를 자동 혈액 분석기에 의해 확인한 결과, 과립구는 9300개/ μ L, 임파구는 8100개/ μ L였다. 체외 순환 칼럼을 통과시킨 후, 대퇴정맥에 반혈(返血)하는 회로를 제조하고, 2 mL/분의 혈류로 1 시간 체외 순환시켰다. 체외 순환 중에는 헤파린나트륨 주사액(아지노모토(주) 제조)을 200 U/h의 속도로 지속 주입하였다. 체외 순환 칼럼은 체외 순환 전에 1000 단위의 헤파린나트륨을 포함하는 생리 식염수로 예비 세정하고, 또한 500 mL의 생리 식염수로 세정하여 이용하였다. 체외 순환 실시 후, 봉합 등의 처치를 행하여 160 시간 후에 채혈을 행하고, 자동 혈액 분석기에 의해 과립구 및 임파구수를 측정된 결과, 과립구는 6700개/ μ L, 임파구는 11400개/ μ L로, 처치 전에 비해 임파구는 증대하였고, 과립구는 감소되었다. 이 래트를 3 주간 더 사육한 후, KDH 세포 접종 2 주간 후와 동일한 수법으로 체외 순환을 행하였다. 체외 순환 전의 과립구 및 임파구수를 자동 혈액 분석기로 확인한 결과, 과립구는 28000개/ μ L, 임파구는 7400개/ μ L였다. 체외 순환 160 시간 후에 채혈을 행하여, 자동 혈액 분석기에 의해 과립구 및 임파구수를 측정된 결과, 과립구는 26700개/ μ L, 임파구는 8400개/ μ L이고, 처치 전에 비해 임파구는 증대하고, 과립구는 감소되었다.

[0211] [비교예 2]

[0212] 중간체 A2를 이용하여, 실시예 8과 동일한 시험을 행하였다(혈액량은 25 ml). 그 결과, 임파구수 19.5 % 감소, 과립구 78 % 감소, 단구 78 % 감소가 보였고, IL-1, IL-6은 각각 2 %, 3 % 감소하였다. LPS 제거율에 대해서는 78 %였다. 별도로, 사이토카인 흡착 평가를 행한 결과, 제거율은 IL-1, IL-6 각각에서 12 %, 13 %였다.

[0213] [비교예 3]

[0214] 중간체 A2를 0.3 g, 내경 1 cm, 내용적 2 mL의 폴리프로필렌제 원통형 칼럼에 충전하고, 실시예 8과 동일한 수법으로 KDH 세포 접종 2 주간 후의 래트에 체외 순환을 실시하였다. 대퇴동맥으로부터 채혈하여 체외 순환 전의 과립구 및 임파구수를 자동 혈액 분석기로 확인한 결과, 과립구는 10300개/ μ L, 임파구는 8400개/ μ L였다. 봉합 등의 처치를 행하여, 160 시간 후에 채혈을 행하고, 자동 혈액 분석기에 의해 과립구 및 임파구수를 측정된 결과, 과립구는 15200개/ μ L, 임파구는 8100개/ μ L이고, 처치 전에 비해 임파구는 감소되고, 과립구는 증대하였다.

[0215] [실시에 10]

[0216] 인간 말초혈을 이용하고 흡착체 A4를 이용하여 인터페론 감마 생산능의 평가를 행하였다. 흡착체 미처리인 경우에는, 인터페론 감마 농도비가 20.4배였다. 이에 대하여 처리시에는 35.2배가 되어, 면역 활성이 향상된 것을 알 수 있었다.

[0217] [비교예 4]

[0218] 인간 말초혈을 이용하고 중간체 A2를 이용하여 인터페론 감마 생산능의 평가를 행하였다. 흡착체 미처리인 경우에는, 인터페론 감마 농도비가 20.1배였다. 이에 대하여 처리시에는 21.2배가 되어, 면역 활성 상태는 변화

가 없는 것을 알 수 있었다.

- [0219] 실시예 11
- [0220] [제조예 3]
- [0221] (부직포)
- [0222] 36 도의 해도 복합 섬유로서, 도가 또한 심초 복합에 의해 이루어지는 것을, 다음 성분을 이용하여 방사 속도 800 m/분, 연신 배율 3배의 제사 조건에서 얻었다.
- [0223] 도의 심 성분; 폴리프로필렌
- [0224] 도의 초 성분; 폴리스티렌 90 중량%, 폴리프로필렌 10 중량%
- [0225] 해 성분; 에틸렌테레프탈레이트 단위를 주된 반복 단위로 하고, 공중합 성분으로서 5-나트륨술포이소프탈산을 3 중량% 포함하는 공중합 폴리에스테르
- [0226] 복합 비율; 심:초:해=44:44:12(중량비)
- [0227] 이 섬유 50 중량%와 직경 20 μm 의 폴리프로필렌 50 중량%로 이루어지는 시트형 물질을 제조한 후, 니들 펀칭 함으로써 부직포를 얻었다. 다음에, 이 부직포를 90 $^{\circ}\text{C}$ 수산화나트륨 수용액으로 처리하고, 해 성분인 에틸렌 테레프탈레이트 단위를 주된 반복 단위로 하여, 공중합 성분으로서 5-나트륨술포이소프탈산을 3 중량% 포함하는 공중합 폴리에스테르를 용해시킴으로써, 심초 섬유의 직경이 4.5 μm 이며, 부피 밀도가 0.03 g/cm^3 (총 단위 중량 200 g/m^2)인 부직포를 제조하였다(부직포 A3).
- [0228] (중간체)
- [0229] 다음에, 니트로벤젠 600 mL와 황산 390 mL의 혼합액에 파라포름알데히드 3 g을 20 $^{\circ}\text{C}$ 에서 용해시킨 후, 0 $^{\circ}\text{C}$ 로 냉각시키고, 75.9 g의 N-메틸올- α -클로로아세트아미드를 첨가하여 5 $^{\circ}\text{C}$ 이하에서 용해시켰다. 이것을 20 $^{\circ}\text{C}$ 로 승온 후 즉시 5 g의 상기 부직포 3을 침지하여 실온에서 2 시간 정치하였다. 그 후, 섬유를 추출하고, 크게 과잉인 냉매탄올 중에 넣어 세정하였다. 섬유를 메탄올로 잘 세정한 후, 수세하고, 건조시켜 6.3 g의 α -클로로아세트아미드메틸화 폴리스티렌 섬유(중간체 A3)를 얻었다. 제타 전위는 -26 mV였다.
- [0230] (흡착제)
- [0231] N,N-디메틸옥실아민 50 g과 요오드화 칼륨 8 g을 360 mL의 메탄올에 용해시킨 용액에 5 g의 중간체 A3를 침지하고, 50 $^{\circ}\text{C}$ 의 욕 중에서 3 시간 가열하였다. 섬유를 이소프로판올로 세정한 후, 1 몰/L 농도의 식염수에 침지한 후, 수세하고, 진공 건조시켜 6.8 g의 디메틸옥틸아민 4급화 섬유(흡착제 A5)를 얻었다. 제타 전위는 -12.3 mV였다.
- [0232] [실시예 11]
- [0233] 건강한 자원 봉사자의 혈액 50 mL를 헤파린 채혈하고, 그 중에 500 pg/ml가 되도록 인간 천연형 IL-1, IL-6을 용해시키고, 이하의 검토를 행하였다.
- [0234] 상기 제조예 3에서 제조한 흡착제 A5를 150 mg을 내용적 2 mL의 칼럼에 충전하고, 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 1 시간 상기 혈액 25 mL를 순환시킨 후, 혈구의 조성을 자동 혈액 분석기(시스맥스사 제조 XT-1800Vi)에 의해 조사하고, 또한 IL-1, IL-6량을 EIA법으로 정량하였다. 그 결과, 흡착제 A5에서는 임파구수 10.5 % 감소, 과립구 61 % 감소, 단구 67 % 감소가 보였고, IL-1, IL-6은 각각 24 %, 38 % 감소되었다.
- [0235] LPS 제거율에 대해서는 흡착제 A5에서 90 %였다.
- [0236] 별도로, 사이토카인 흡착 평가를 행한 결과, 흡착제 A5의 제거율은 IL-1, IL-6의 각각에서 44 %, 61 %였다.
- [0237] 이상의 실시예 8 내지 11 및 비교예 2 내지 4의 결과로부터, 제타 전위가 -20 mV 이상인 흡착제인 본 발명은 높은 효율로 혈액 중의 과립구 및 단구를 흡착할 수 있고, 또한 -15 mV 이상이면 LPS의 흡착이나 사이토카인도 동시에 높은 효율로 흡착할 수 있는 것이 밝혀졌다. 체외 순환 치료 후의 과립구나 임파구수의 변동은 메카니즘은 알 수 없지만, 정상 상태라고 생각되는 비율로 변화되는 것을 알았다.
- [0238] 실시예 12 내지 15 및 비교예 5 내지 8

- [0239] 각 실시예 중의 평가 방법 및 실시 절차 및 조건은 이하에 따랐다.
- [0240] 1. 혈액 중의 성분 분석
- [0241] TGF- β 농도는 젠자임·테크네사의 인간 TGF- β 1 면역 분석 키트를 사용하여 구하였다. 또한, 면역 억제 산성 단백질의 농도는 산코 준야꾸사 제조의 래트 IAP 플레이트를 사용하여 구하였다. 알부민 농도는 알부민 분석 키트인 알부민 B-테스트 와코로 구하였다.
- [0242] 2. 흡착제의 TGF- β 평형 흡착능
- [0243] 5 마리의 암에 걸린 래트의 혈청을 모아서 암에 걸린 래트 혈청 30 mL를 제조하였다. 이 혈청 1 mL에 흡착제 50 mg을 넣어 37 °C에서 4 시간 진탕하였다. 상청 중의 TGF- β 농도를 측정하고, 흡착 전후의 농도차를 흡착제 중량(0.05 g)으로 나눈 값을 TGF- β 평형 흡착능으로 하였다.
- [0244] 3. 흡착제의 제조
- [0245] (수불용성 중합체)
- [0246] 36 도의 해도 복합 섬유로서, 도가 또한 심초 복합에 의해 이루어지는 것을, 다음 성분을 이용하여 방사 속도 800 m/분, 연신 배율 3배의 제사 조건에서 얻었다.
- [0247] 도의 심 성분; 폴리프로필렌
- [0248] 도의 초 성분; 폴리스티렌 90 중량%, 폴리프로필렌 10 중량%
- [0249] 해 성분; 에틸렌테레프탈레이트 단위를 주된 반복 단위로 하고, 공중합 성분으로서 5-나트륨술포이소프탈산을 3 중량% 포함하는 공중합 폴리에스테르
- [0250] 복합 비율(중량비); 심:초:해=45:45:10
- [0251] 이 섬유 85 중량%와 직경 17 μ m의 폴리프로필렌 15 중량%로 이루어지는 시트형 물질을 제조한 후, 니들 편칭 함으로써 부직포를 얻었다. 다음에, 이 부직포를 95 °C 수산화나트륨 수용액으로 2 시간 처리하여, 해 성분인 에틸렌테레프탈레이트 단위를 주된 반복 단위로 하고, 공중합 성분으로서 5-나트륨술포이소프탈산을 3 중량% 포함하는 공중합 폴리에스테르를 용해시킴으로써, 심초 섬유의 직경이 5 μ m이며, 부피 밀도가 0.07 g/cm³(총 단위 중량 250 g/m²)인 부직포를 제조하였다.
- [0252] (중간체)
- [0253] 다음에, 니트로벤젠 600 mL와 황산 390 mL의 혼합액에 파라포름알데히드 3 g을 20 °C에서 용해시킨 후, 0 °C로 냉각시키고, 75.9 g의 N-메틸올- α -클로로아세트아미드를 첨가하여 5 °C 이하에서 용해시켰다. 이것에 5 g의 상기 부직포를 침지하여 실온에서 2 시간 정치하였다. 그 후, 섬유를 취출하고, 크게 과잉인 냉매탄올 중에 넣어 세정하였다. 섬유를 메탄올로 잘 세정한 후, 수세하고, 건조시켜 7.0 g의 α -클로로아세트아미드메틸화 폴리스티렌 섬유(중간체 C1)를 얻었다.
- [0254] (흡착제)
- [0255] N,N-디메틸옥틸아민 50 g과 요오드화 칼륨 8 g을 360 mL의 DMF에 용해시킨 용액에 5 g의 중간체 C1을 침지하고, 85 °C의 욕 중에서 3 시간 가열하였다. 섬유를 이소프로판올로 세정한 후, 1 몰/L 농도의 식염수에 침지한 후, 수세하고, 진공 건조시켜 8.3 g의 디메틸옥틸암모늄화 섬유(흡착제 C1)를 얻었다.
- [0256] 또한, N,N-디메틸헥실아민 50 g과 요오드화 칼륨 8 g을 360 mL의 DMF에 용해시킨 용액에 5 g의 중간체 C1을 침지하고, 85 °C의 욕 중에서 3 시간 가열하였다. 섬유를 이소프로판올로 세정한 후, 1 몰/L 농도의 식염수에 침지한 후, 수세하고, 진공 건조시켜 9.3 g의 디메틸라우릴암모늄화 섬유(흡착제 C2)를 얻었다.
- [0257] (술포화 섬유: 비교 섬유)
- [0258] 또한, 파라포름알데히드 500 mg을 용해시킨 황산 50 mL에 5 g의 부직포 1을 침지하여 95 °C에서 1 시간 가열한 후, 수세, 1 몰/L 농도의 식염수에 의한 세정, 수세, 건조를 순서대로 행하여 7.3 g의 술포화 섬유(비교 흡착제 C1)를 얻었다.
- [0259] (암에 걸린 래트의 제조)

[0260] 12 주령의 WKAH:Hkm 래트(수컷)의 등쪽 피하에 4-디메틸아미노아조벤젠 유발 간암 세포 KDH-8{야노 론, 훗카이 도이시, 68권 5호, 654-664(1993)}을 2×10^8 개 접종하였다. 암 세포는 100 %의 확률로 생착하였다. (통상, 접종 1 주간 후부터 종양이 커지고, 접종 후 5.5 주간에 사망하였다.)

[0261] (체외 순환 칼럼의 제조)

[0262] 내경 1 cm 내용적 2 mL의 폴리프로필렌제 원통형 칼럼에 흡착체 C1, 흡착체 C2, 비교 흡착체 C1 또는 직경 25 μ m의 폴리에틸렌테레프탈레이트 섬유로 이루어지는 부직포를 각각 충전하여 암 치료용 체외 순환 칼럼을 제조하였다. 흡착체를 각 0.38 g 충전한 것을 각각 실시예 12(흡착체 C1), 실시예 13(흡착체 C2), 비교예 2(비교 흡착체 C1), 비교예 3(직경 25 μ m의 폴리에틸렌테레프탈레이트 섬유)으로 하였다. 동일하게 흡착체를 각 0.18 g 충전한 것을 각각 실시예 14(흡착체 C1), 실시예 15(흡착체 C2), 비교예 4(비교 흡착체 C1), 비교예 5(직경 25 μ m의 폴리에틸렌테레프탈레이트 섬유)로 하였다. 각 실시예의 흡착체의 제타 전위는 모두 -20 mV 이상이었다.

[0263] (암에 걸린 래트의 제조와 체외 순환)

[0264] 암 치료용 체외 순환 칼럼은 체외 순환 전에 1000 단위의 헤파린나트륨을 포함하는 생리 식염수로 예비 세정하고, 500 mL의 생리 식염수로 더 세정하여 이용하였다.

[0265] KDH 세포 접종 2 주간 후에 2 mL/mL의 혈류로 60 분간 체외 순환시켰다. 대퇴동맥으로부터 채혈하여 흡착체 칼럼을 통과시킨 후 대퇴정맥으로 반혈시켰다. 체외 순환 중에는 헤파린나트륨 주사액(다케다 야쿠히 고교(주))을 100 U/hr의 속도로 지속 주입하였다.

[0266] 체외 순환 전과 후의 래트 혈액을 채취하고, 혈청 중의 TGF- β 농도를 측정함과 동시에 암 세포 접종 후의 생존 일수를 관찰하여 표 2의 결과를 얻었다.

[0267] (시험관 내 혈구 제거 평가)

[0268] 건강한 자원 봉사자로부터 25 mL의 혈액을 채취하고, 즉시 10 U/mL의 헤파린을 부여하여 이하의 순환을 3 시간 이내에 실시하였다. 혈액을 37 $^{\circ}$ C로 유지하고, 2 mL/분의 유량으로 용량 2 mL의 칼럼(흡착체를 직경 1 cm로 편칭 소정량 충전)을 이용하여 90 분 순환시키고, 칼럼 처리 후의 혈액 중의 백혈구를 혈구 계수 장치로써 분석하여 임파구수, 과립구수(호중구), 단구의 제거율을 계산하였다. 기준이 되는 제거율은 60 분 시점의 값으로 한다.

표 2

	암 치료용 흡착체 충전량 (g)	래트 체중 (kg)	혈청 중 TGF- β 농도 (ng/ml)	과립구 제거율 (%)	단구 제거율 (%)	임파구 제거율 (%)	혈 중 장재형 TGF- β 제거율 (%)	암 세포 접종 후 수명 (주)
실시예 12	0.38	0.31	33	78	88	19	61	7.3
실시예 13	0.38	0.32	36	68	84	17	72	8.6
실시예 14	0.18	0.34	35	52	66	12	26	6.7
실시예 15	0.18	0.31	33	52	68	13	39	7.3
비교예 5	0.38	0.33	33	58	59	12	3	4.3
비교예 6	0.38	0.31	34	21	16	11	6	4.7
비교예 7	0.18	0.37	35	44	22	12	3	4.3
비교예 8	0.18	0.32	36	18	14	10	3	4.3

[0269]

[0270] 실시예 12 내지 13은 TGF- β 의 혈중 농도가 저하되었고, 비교예에 비해 수명도 연장되었다. 실시예 12 내지 15와 비교예 5 내지 8에서는 체외 순환 후의 TGF- β 의 혈중 농도와 암 세포 접종 후 수명이 반비례하는 것을 알 수 있었다. 또한, TGF- β 의 혈중 농도 저하는 흡착체의 사용량에 비례하여 일어나는 것을 알 수 있었다. 비교예에서는 TGF- β 의 혈중 농도가 저하되지 않고, 암 세포 접종 후 수명도 짧았다. 또한, 치료하지 않은 경우의 수명은 5.5 주이기 때문에, 비교예 5 내지 8로부터 TGF- β 의 흡착능이 낮은 칼럼으로 체외 순환시키면, 오히려 수명이 짧아지는 것을 알 수 있었다.

[0271] 실시예 16, 17 및 비교예 9, 10

[0272] [실시예 16]

- [0273] (흡착 담체)
- [0274] 36 도의 해도 복합 섬유로서, 도가 또한 심초 복합에 의해 이루어지는 것을, 다음 성분을 이용하여 방사 속도 800 m/분, 연신 배율 3배의 제사 조건에서 얻었다.
- [0275] 도의 심 성분; 폴리프로필렌
- [0276] 도의 초 성분; 폴리스티렌 90 중량%, 폴리프로필렌 10 중량%
- [0277] 해 성분; 에틸렌테레프탈레이트 단위를 주된 반복 단위로 하고, 공중합 성분으로서 5-나트륨술폰이소프탈산을 3 중량% 포함하는 공중합 폴리에스테르
- [0278] 복합 비율(중량비); 심:초:해=42:43:15
- [0279] 이 섬유 85 중량%와 직경 20 μm 의 폴리프로필렌 15 중량%로 이루어지는 부직포를 제조한 후, 이 부직포 2매로, 개공부가 2 mm변인 폴리에스테르제 네트(두께0.4 mm, 단사 직경 0.3 mm)를 사이에 끼워, 부직포 절단면에 대하여 기울기가 90도가 되도록 세팅하고, 니들 펀칭함으로써 3층 구조의 흡착 담체를 얻었다. 다음에, 이 부직포를 90 °C 수산화나트륨 수용액으로 처리하여 해 성분인 에틸렌테레프탈레이트 단위를 주된 반복 단위로 하고, 공중합 성분으로서 5-나트륨술폰이소프탈산을 3 중량% 포함하는 공중합 폴리에스테르를 용해시킴으로써, 심초 섬유의 직경이 5 μm 이며, 부피 밀도가 0.02 g/cm³(충 단위 중량 150 g/m²)인 흡착 담체를 제조하였다(흡착 담체 B1). 일정 속도로 권취한 결과, 안정한 권취가 가능하고, 동 형상의 원통형 필터가 얻어졌다.
- [0280] (중간체)
- [0281] 다음에, 니트로벤젠 600 mL와 황산 390 mL의 혼합액에 파라포름알데히드 3 g을 20 °C에서 용해시킨 후, 0 °C로 냉각시키고, 75.9 g의 N-메틸올- α -클로로아세트아미드를 첨가하여 5 °C 이하에서 용해시켰다. 이것에 5 g의 상기 흡착 담체 B1을 침지하여 실온에서 2 시간 정지하였다. 그 후, 섬유를 추출하고, 크게 과잉인 냉메탄올 중에 넣어 세정하였다. 섬유를 메탄올로 잘 세정한 후, 수세하고, 건조시켜 7.0 g의 α -클로로아세트아미드메틸화 폴리스티렌 섬유(중간체 B1)를 얻었다.
- [0282] (관능기를 도입한 흡착재(흡착 담체))
- [0283] N,N-디메틸옥틸아민 50 g과 요오드화 칼륨 8 g을 360 mL의 DMF에 용해시킨 용액에 5 g의 상기 중간체 B1을 침지하고, 85 °C의 욕 중에서 3 시간 가열하였다. 섬유를 이소프로판올로 세정한 후, 1 몰/L 농도의 식염수에 침지한 후, 수세하고, 진공 건조시켜 8.3 g의 디메틸옥틸암모늄화 섬유(관능기를 도입한 흡착 담체 B1)를 얻었다.
- [0284] 또한, 이와는 별도로, N,N-디메틸라우릴아민 50 g과 요오드화 칼륨 8 g을 360 mL의 DMF에 용해시킨 용액에 5 g의 상기 중간체 B1을 침지하고, 85 °C의 온수욕 중에서 3 시간 가열하였다. 섬유를 이소프로판올로 세정한 후, 1 몰/L 농도의 식염수에 침지한 후, 수세하고, 진공 건조시켜 9.3 g의 디메틸라우릴암모늄화 섬유(관능기를 도입한 흡착 담체 B2)를 얻었다.
- [0285] 얻어진 관능기를 도입한 흡착 담체 B1 및 B2는 모두 네트를 포함하기 때문에, 변형되지 않고, 양호한 형상을 유지하였다.
- [0286] [비교예 9]
- [0287] 실시예 16에서 제조한 해도 복합 섬유를, 네트를 이용하지 않고 니들 펀칭한 것 이외에는 동일하게 하여 부직포를 제조하였다. 다음에, 이 부직포를 90 °C 수산화나트륨 수용액으로 처리하여 해 성분인 에틸렌테레프탈레이트 단위를 주된 반복 단위로 하고, 공중합 성분으로서 5-나트륨술폰이소프탈산을 3 중량% 포함하는 공중합 폴리에스테르를 용해시킴으로써, 심초 섬유의 직경이 5 μm 이며, 부피 밀도가 0.02 g/cm³(충 단위 중량 150 g/m²)인 부직포를 제조하였다(부직포 B1). 이 부직포는 가로 방향으로의 강력이 작고, 중간체 및 흡착체의 합성 중에 신장이 발생하였기 때문에, 부피 밀도를 일정하게 유지할 수 없었다.
- [0288] [실시예 17]
- [0289] 건강한 자원 봉사자의 혈액 50 mL를 헤파린 채혈하고, 그 중에 500 pg/ml가 되도록 인간 천연형 인터루킨-6(이하, IL-6)을 용해시키고, 이하의 검토를 행하였다.
- [0290] 흡착재(관능기를 도입한 흡착 담체 B1) 150 mg을 내용적 2 mL의 칼럼에 충전하고, 37 °C에서 1 시간 상기 혈액

25 mL를 순환시킨 후, 혈구의 조성을 자동 혈액 분석기로 조사하고, 또한 IL-6량을 EIA법으로 정량하였다. 임파구수 12.5 % 감소, 과립구 67 % 감소가 보였고, IL-6도 35 % 감소하였다. 이 때 압력 손실 상승도 보이지 않았다.

[0291] [비교예 10]

[0292] 비교예 10에서 제조한 부직포를, 실시예 17과 동일하게 동량 칼럼에 충전하고, 나머지 25 ml의 혈액을 이용하여 검토를 행하였다.

[0293] 이 때 압력 손실 상승이 45 분 동안 일어나 200 mmHg를 넘었기 때문에 중단하였다. 임파구수 31.5 % 감소, 과립구 69 % 감소가 보였고, IL-6도 35 % 감소하였다.

[0294] [실시예 18]

[0295] 실시예 16과 동일하게 부직포를 제조할 때, 개공부가 2 mm변인 폴리에스테르제 네트(두께 0.4 mm, 단사 직경 0.3 mm)를 사이에 끼워, 부직포의 절단면에 대하여 기울기가 110도가 되도록 세팅하였다. 일정 속도로 권취한 결과, 부직포의 신장이 확인되고, 권취 장력이 안정되지 않았다. 부직포의 두께도 일정하지 않아, 동 형상의 원통형 필터를 얻을 수 없었다.

[0296] 이 부직포 150 mg을 내용적 2 ml의 칼럼에 충전하여 37 °C에서 1 시간 상기 혈액 25 mL를 순환시킨 후, 혈구의 조성을 자동 혈액 분석기로 조사하고, 또한 IL-6의 양을 EIA법으로 정량하였다. 그 결과, 임파구수 12.5 % 감소, 과립구 67 % 감소가 보였고, IL-6도 35 % 감소하였다. 이 때 압력 손실 상승도 보이지 않았다.

산업상 이용 가능성

[0297] 본 발명에 의해 혈액 중의 백혈구, 염증성, 면역 억제성 사이토카인을 효율적으로 흡착 제거하면서 또한 혈액 중의 유용 성분의 제거율을 낮추는 것이 가능한 흡착제가 제공된다. 이러한 본 발명의 흡착제는 백혈구 제거 요법, 면역 부활 요법, 암 치료 등의 각종 용도에 제공할 수 있다.

[0298] 또한, 이러한 재료는 살레, 병, 막, 섬유, 중공사, 입상물 또는 이들을 이용한 조립물 등의 성형품 형태로 친화성 크로마토그래프용 칼럼, 치료용 혈액 칼럼, 특히 체외 순환 칼럼으로서 바람직하게 사용할 수 있다.