

(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2017-513636

(P2017-513636A)

(43) 公表日 平成29年6月1日 (2017. 6. 1)

(51) Int. Cl.	F 1	テーマコード (参考)
A 6 1 M 1/36 (2006.01)	A 6 1 M 1/36 1 6 1	4 C O 7 7
	A 6 1 M 1/36 1 6 5	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 32 頁)

(21) 出願番号 特願2016-564198 (P2016-564198) (86) (22) 出願日 平成27年4月17日 (2015. 4. 17) (85) 翻訳文提出日 平成28年11月21日 (2016. 11. 21) (86) 国際出願番号 PCT/US2015/026340 (87) 国際公開番号 W02015/164198 (87) 国際公開日 平成27年10月29日 (2015. 10. 29) (31) 優先権主張番号 61/984, 013 (32) 優先日 平成26年4月24日 (2014. 4. 24) (33) 優先権主張国 米国 (US)	(71) 出願人 516315694 エクスセラ メディカル コーポレイショ ン アメリカ合衆国, カリフォルニア 9 4 5 5 3, マルチネス, アーノルド ドライブ 7 5 7, スイート ビー (74) 代理人 100099759 弁理士 青木 篤 (74) 代理人 100077517 弁理士 石田 敬 (74) 代理人 100087871 弁理士 福本 積 (74) 代理人 100087413 弁理士 古賀 哲次 <div style="text-align: right;">最終頁に続く</div>
---	---

(54) 【発明の名称】 高流量を用いて血液から細菌を除去するための方法

(57) 【要約】

本発明は、吸着媒体を用いて、全血、血清又は血漿から、相当量の細菌（例えば、ヘパラン硫酸に対して親和性を有さない又は低い親和性を有する細菌を含む、グラム陰性菌及びグラム陽性菌）を除去するための方法を提供する。当該方法は高い体積流量及び高線流速を伴う体外処置に使用することができる。

Minimum Bead Size as a Function of Linear Flow and Column Height - Rigid Media Only

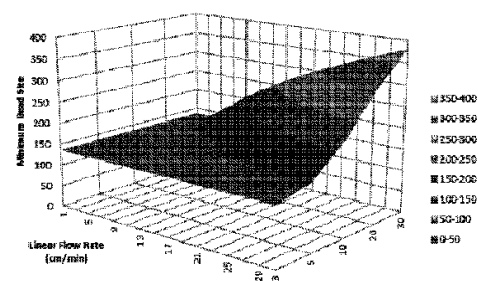


FIG. 4

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

細菌に感染している疑いがある対象から採取した試料から細菌を除去するためのエクソ・ビボ (ex vivo) の方法であって、当該方法が以下、

当該対象から採取した試料を吸着媒体と接触させ、細菌及び当該吸着媒体を含む接着複合体の形成をさせ；そして

当該接着複合体から当該試料を分離して、減少した量の細菌を有する試料を生成すること、

を含む、方法。

【請求項 2】

10

前記試料が、全血、血清及び血漿からなる群から選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記試料が全血である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記吸着媒体が、多糖類の吸着剤を含まない親水性表面を有する高表面積の固体基質である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記固体基質が複数の硬質ポリマービーズを含む、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記硬質ポリマービーズが、ポリウレタン、ポリメチルメタクリレート、ポリエチレン又はエチレンと他のモノマーとの共重合体、ポリエチレンイミン、ポリプロピレン、及びポリイソブチレンからなる群から選択されるメンバーである、請求項 5 に記載の方法。

20

【請求項 7】

前記固体基質が 1 又は複数の中空繊維を含む、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 8】

前記固体基質が固体繊維又は固体繊維から作られた織られた糸を含む、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 9】

前記親水性表面がカチオン性表面である、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 10】

30

前記吸着媒体が、表面又は粗面トポグラフィーの結果として高表面積を有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記親水性表面が中性に帯電した表面である、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 12】

前記試料中の細菌が約 20 % から約 99.9 % まで減少する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

前記試料中の細菌が約 20 % から約 40 % まで減少する、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記細菌がグラム陰性菌である、請求項 1 に記載の方法。

40

【請求項 15】

前記細菌がグラム陽性菌である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 16】

前記細菌が、大腸菌 (*Escherichia coli*)、肺炎桿菌 (*Klebsiella pneumoniae*)、カルバペネム耐性大腸菌、カルバペネム耐性肺炎桿菌、及び基質特異性拡張型ベータラクタマーゼ肺炎桿菌 (*extended spectrum beta-lactamase Klebsiella pneumoniae*)、エンテロコッカス・フェシウム (*Enterococcus faecium*)、アシネトバクター・バウマニ (*Acinetobacter baumannii*)、及びメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (*methicillin-resistant Sta*

50

phyllococcus aureus) (MRSA) からなる群から選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 17】

前記細菌が、黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus)、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA)、及び大腸菌からなる群から選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 18】

前記試料が約 8 cm / 分から約 1000 cm / 分の線流速を有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 19】

前記試料が約 50 ml / 分から約 5 L / 分の体積流量を有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 20】

細菌に感染している疑いがある対象から採取した試料から細菌を除去するためのエクソ・ピボの方法であって、当該細菌がヘパラン硫酸に対して低い親和性を有する又は親和性を有さないことが知られており、以下、

当該対象から採取した試料を吸着媒体と接触させ、接着複合体の形成をさせ、ここで、当該吸着媒体はその表面に少なくとも 1 つの多糖類の吸着剤を有する高表面積の固体基質であり、そして

当該接着複合体から当該試料を分離して、減少した量の細菌を有する試料を生成すること、を含む、方法。

【請求項 21】

前記試料が、全血、血清及び血漿からなる群から選択される、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

前記試料が全血である、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】

前記固体基質が複数の硬質ポリマービーズを含む、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 24】

前記接着複合体が細菌及び前記吸着媒体を含む、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 25】

前記硬質ポリマービーズが、ポリウレタン、ポリメチルメタクリレート、ポリエチレン又はエチレンと他のモノマーとの共重合体、ポリエチレンイミン、ポリプロピレン、及びポリイソブチレンからなる群から選択されるメンバーである、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 26】

前記固体基質が 1 又は複数の中空繊維を含む、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 27】

前記少なくとも多糖類の吸着剤 (absorbent) が、ヘパリン、ヘパラン硫酸、ヒアルロン酸、シアル酸、マンノース配列を有する炭水化物、及びキトサンからなる群から選択されるメンバーである、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 28】

前記少なくとも多糖類の吸着剤がヘパリン又はヘパラン硫酸である、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

前記少なくとも多糖類の吸着剤がヘパリンである、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

前記ビーズが、ビーズのグラムあたり約 0.27 mg から約 10 mg のヘパリンでコーティングされている、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

10

20

30

40

50

前記ビーズが、ビーズのグラム当たり $2 \pm 0.5 \text{ mg}$ のヘパリンでコートされている、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 32】

前記試料中の細菌が約 20 % から約 99.9 % まで減少する、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 33】

前記試料中の細菌が約 20 % から約 40 % まで減少する、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 34】

前記試料中の細菌がイン・ピトロのヘパリン結合アッセイに失敗する、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 35】

前記細菌がグラム陰性菌である、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 36】

前記細菌がグラム陽性菌である、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 37】

前記細菌が、大腸菌、肺炎桿菌、アシネトバクター・バウマニ、エンテロコッカス・フェシウム、カルバペネム耐性大腸菌、カルバペネム耐性肺炎桿菌、及び基質特異性拡張型ベータラクタマーゼ肺炎桿菌からなる群から選択される、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 38】

前記試料が約 $8 \text{ cm} / \text{分}$ から約 $1000 \text{ cm} / \text{分}$ の線流速を有する、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 39】

前記試料が約 $50 \text{ ml} / \text{分}$ から約 $5 \text{ L} / \text{分}$ の体積流量を有する、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 40】

透析を受けている対象から採取した試料から細菌を除去するためのエクス・ピボの方法であって、以下、

当該対象から採取した試料を吸着媒体を含む吸着カートリッジと接触させ、ここで、当該吸着カートリッジは透析カートリッジと直列であり、接着複合体の形成をさせ；そして

当該接着複合体から当該試料を分離して、減少した量の細菌を有する試料を生成すること、

を含む、方法。

【請求項 41】

前記試料が 200 ml 未満の総血液量を有する、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 42】

前記吸着カートリッジが、 $1 \text{ cm} \sim 50 \text{ cm}$ の間のカラムの高さを有する、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 43】

前記吸着カートリッジが、 $1 \text{ cm} \sim 50 \text{ cm}$ の間のカラム直径を有する、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 44】

前記吸着カートリッジが前記透析カートリッジと比較して、前記対象の近位にある、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 45】

前記吸着カートリッジが前記透析カートリッジと比較して、前記対象の遠位にある、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 46】

前記接着複合体が細菌及び吸着媒体を含む、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 47】

前記試料が約 $8 \text{ cm} / \text{分}$ から約 $1000 \text{ cm} / \text{分}$ の線流速を有する、請求項 40 に記載

10

20

30

40

50

の方法。

【請求項 48】

前記試料が約 50 ml / 分から約 5 L / 分の体積流量を有する、請求項 40 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2014年4月24日に出願された米国仮特許出願第 61 / 984 , 013 号の優先権を主張し、その教示はすべての目的のためにその全体が参照により本明細書に援用される。

10

【背景技術】

【0002】

発明の背景

血流感染、又は菌血症は集中治療室 (ICU) における主要な課題である。菌血症は、敗血症性ショック、髄膜炎、心内膜炎、骨髄炎及び他の転移性合併症にすぐにつながり得る。黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*)、緑膿菌 (*P. aeruginosa*) 及び腸内細菌科は菌血症及び院内感染の原因となる、最も一般的な細菌である。敗血症患者の転帰の重症度は、細菌負荷及び菌血症の持続期間の両方に相関している。例えば、大腸菌及び黄色ブドウ球菌菌血症患者の定量的 RT - PCR 研究は、rDNA の数が 1 , 238 コピー / ml 超に増加した場合、死亡率は 14 . 3 % から 42 . 9 % に増加し、そして敗血症性ショックは 31 . 4 % から 85 . 7 % に増加したということを示した。髄膜炎菌 (*N. meningitides*) の高い血中濃度が、長期入院、四肢又は組織損失、透析の必要性、及び患者の死亡率に相関することも見出された。別の研究は、肺炎球菌性肺炎の重症度が血液中の細菌負荷に相関したことを示した。血液の 1000 肺炎レンサ球菌 (*S. pneumoniae*) DNA コピー / ml 超を有する患者の死亡率は 25 . 9 % であったのに対し、1000 コピー / ml 未満を示す患者については 6 . 1 % であった。さらに別の研究では、初期診断後 48 時間と 96 時間との間に経過観察陽性の血液培養は、合併黄色ブドウ球菌菌血症の最も強い予測因子であることが示された。効果的な菌血症治療の難しさを構成することは、しばしば適切な抗生物質治療の遅延投与である。治療の遅延の 1 時間ごとに死亡リスクは 7 % 超増加する。

20

30

【0003】

細菌感染症に対処する従来の方法は、宿主組織への損傷を最小限に抑えながら特異的に細菌を殺す活性薬剤を投与することである。現在利用可能なより効果的な抗生物質のいくつかは非常に有毒であるので、これは大きな課題である。例えば、バンコマイシンは腎毒性であり、体外酸素供給 (extracorporeal oxygenation) を受けている患者にはすぐに禁忌となり得る。現在の薬剤耐性に対処するために新たな抗生物質の開発に成功しても、新たなスーパーバグが出現し続けることになる。明らかに、薬剤の開発に加えて、感染症に対処するための新たな方法が必要とされている。

【0004】

40

薬剤耐性病原菌は医療システムにとって増大する脅威である。CDC は近年、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (carbapenem-resistant Enterobacteriaceae) (CRE ; 「スーパーバグ」) の出現を警告している。CRE 菌血症の死亡率は 50 % に達し得る。最も強い利用可能な抗生物質にさえ対する CRE の耐性は臨床医にいくつかの治療の選択肢を残す。院内 CRE 感染症の発生率は過去 10 年で 400 % 増加した。現在、CRE 菌血症は主に院内感染症であるが、市中感染 CRE の発生率が増加し得ることが懸念される。今日、CRE 感染症を減少させる唯一の方法は、教育及び予防による。

【0005】

迅速に細菌負荷を減少させ、かつ菌血症の持続期間を短縮することができる、安全で広

50

域スペクトルの技術が必要である。本発明は、全血又は全血清から病原菌を迅速かつ安全に除去することができる高表面積の体外親和性吸着媒体を提供することによって、このこと及び他の要求を満たす。

【発明の概要】

【0006】

発明の簡単な概要

本発明は、血液中に存在する細菌の種類を最初に同定することすらなく、細菌負荷を迅速に減少させ、かつ菌血症の持続期間を短縮することができる方法を提供する。

【0007】

いくつかの態様では、本明細書で提供されるのは、細菌に感染している疑いがある対象から採取した試料から細菌を除去するためのエクス・ビボ (ex vivo) の方法である。当該方法は、以下、当該対象から採取した試料を吸着媒体と接触させ、細菌及び当該吸着媒体を含む接着複合体の形成をさせ；そして、当該接着複合体から当該試料を分離して、減少した量の細菌を有する試料を生成すること、を含み、それらから本質的になり、又はそれらからなる。典型的に、吸着媒体はカラム、容器又はカートリッジ内に含まれる。

10

【0008】

いくつかの実施形態では、当該試料は、全血、血清及び血漿からなる群から選択される。他の実施形態では、当該試料は全血である。

【0009】

いくつかの実施形態では、当該吸着媒体は、多糖類の吸着剤を含まない親水性表面を有する高表面積の固体基質である。いくつかの例では、当該固体基質は複数の硬質ポリマービーズを含む。いくつかの実施形態では、当該硬質ポリマービーズは、ポリウレタン、ポリメチルメタクリレート、ポリエチレン又はエチレンと他のモノマーとの共重合体、ポリエチレンイミン、ポリプロピレン、及びポリイソブチレンからなる群から選択されるメンバーである。他の実施形態では、当該固体基質は、1又は複数の中空繊維又は糸を含む。

20

【0010】

いくつかの実施形態では、当該親水性表面はカチオン性表面である。他の実施形態では、当該親水性表面は中性に帯電した表面である。

【0011】

いくつかの実施形態では、当該試料中の細菌は約20%から約99.9%まで減少する。他の実施形態では、当該試料中の細菌は約20%から約40%まで減少する。

30

【0012】

いくつかの実施形態では、当該細菌はグラム陰性菌である。他の実施形態では、当該細菌はグラム陽性菌である。他の実施形態では、当該細菌は、大腸菌 (*Escherichia coli*)、肺炎桿菌 (*Klebsiella pneumoniae*)、カルバペネム耐性大腸菌、カルバペネム耐性肺炎桿菌、及び基質特異性拡張型ベータラクタマーゼ肺炎桿菌 (*extended spectrum beta-lactamase Klebsiella pneumoniae*)、エンテロコッカス・フェシウム (*Enterococcus faecium*)、アシネトバクター・バウマニ (*Acinetobacter baumannii*)、及びメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) (MRSA) からなる群から選択される。さらに他の実施形態では、当該細菌は、黄色ブドウ球菌、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA)、及び大腸菌からなる群から選択される。

40

【0013】

いくつかの実施形態では、当該吸着媒体のカチオン性表面は、大腸菌、肺炎桿菌、カルバペネム耐性大腸菌、カルバペネム耐性肺炎桿菌、及び基質特異性拡張型ベータラクタマーゼ肺炎桿菌、エンテロコッカス・フェシウム、アシネトバクター・バウマニ、及びメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) からなる群から選択される細菌と、接着複合体を

50

形成する。他の実施形態では、当該中性に帯電した表面は、黄色ブドウ球菌、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）、及び大腸菌からなる群から選択される細菌と、接着複合体を形成する。

【0014】

いくつかの態様では、本明細書で提供されるのは、細菌に感染している疑いがある対象から採取した試料から細菌を除去するためのエクス・ビボの方法であって、当該細菌がヘパラン硫酸に対して低い親和性を有する又は親和性を有さないことが知られている。当該方法は、以下、当該対象から採取した試料を吸着媒体と接触させ、接着複合体の形成をさせ、ここで、当該吸着媒体はその表面に少なくとも1つの多糖類の吸着剤を有する高表面積の固体基質であり、そして、当該接着複合体から当該試料を分離して、減少した量の細菌を有する試料を生成すること、を含み、それらから本質的になり、又はそれらからなる。当該接着複合体は細菌及び当該吸着媒体を含む。典型的に、当該吸着媒体は、カラム、容器又はカートリッジ内に含まれる。ある態様では、試料はカラム、容器又はカートリッジから出て、接着複合体が後に残る。

10

【0015】

いくつかの実施形態では、当該試料は、全血、血清及び血漿からなる群から選択される。他の実施形態では、当該試料は全血である。

【0016】

いくつかの実施形態では、当該固体基質は複数の硬質ポリマービーズを含む。いくつかの例では、当該硬質ポリマービーズは、ポリウレタン、ポリメチルメタクリレート、ポリエチレン又はエチレンと他のモノマーとの共重合体、ポリエチレンイミン、ポリプロピレン、及びポリイソブチレンからなる群から選択されるメンバーである。他の実施形態では、当該固体基質は1又は複数の中空繊維を含む。

20

【0017】

いくつかの実施形態では、当該少なくとも多糖類の吸着剤（absorbent）は、ヘパリン、ヘパラン硫酸、ヒアルロン酸、シアル酸、マンノース配列を有する炭水化物、及びキトサンからなる群から選択されるメンバーである。他の実施形態では、当該少なくとも多糖類の吸着剤はヘパリン又はヘパラン硫酸である。いくつかの例では、当該少なくとも多糖類の吸着剤はヘパリンである。

【0018】

いくつかの実施形態では、当該ビーズは、ビーズのグラム当たり約0.27mgから約10mgのヘパリンでコートされている。他の実施形態では、当該ビーズは、ビーズのグラム当たり 2 ± 0.5 mgのヘパリンでコートされている。

30

【0019】

いくつかの実施形態では、当該試料中の細菌は約20%から約99.9%まで減少する。他の実施形態では、当該試料中の細菌は約20%から約40%まで減少する。

【0020】

いくつかの実施形態では、当該細菌はグラム陰性菌である。他の実施形態では、当該細菌はグラム陽性菌である。さらに他の実施形態では、当該細菌は、大腸菌、肺炎桿菌、アシネトバクター・バウマニ、エンテロコッカス・フェシウム、カルバペネム耐性大腸菌、カルバペネム耐性肺炎桿菌、及び基質特異性拡張型ベータラクタマーゼ肺炎桿菌からなる群から選択される。

40

【0021】

いくつかの態様では、本明細書で提供されるのは、透析又は体外酸素供給を受けている対象から採取した試料から細菌を除去するためのエクス・ビボの方法である。当該方法は、以下、対象から採取した試料を吸着媒体を含む吸着カートリッジと接触させ、ここで、当該吸着カートリッジは透析カートリッジ又は酸素供給器と直列であり、接着複合体の形成をさせ、そして、当該接着複合体から当該試料を分離して、減少した量の細菌を有する試料を生成すること、を含み、それらから本質的になり、又はそれらからなる。当該接着複合体は細菌及び吸着媒体を含む。典型的に、当該吸着媒体は、カラム、容器又はカート

50

リッジ内に含まれる。ある態様では、当該試料はカラム、容器又はカートリッジから出て、接着複合体が後に残る。

【 0 0 2 2 】

いくつかの実施形態では、当該試料は 2 0 0 m l 未満の総血液量を有する。

【 0 0 2 3 】

いくつかの実施形態では、当該吸着カートリッジは 1 c m ~ 5 0 c m の間のカラムの高さを有する。いくつかの実施形態では、当該吸着カートリッジは 1 c m ~ 5 0 c m の間のカラム直径を有する。

【 0 0 2 4 】

いくつかの実施形態では、吸着カートリッジは透析カートリッジと比較して、対象の近位にある。他の実施形態では、吸着カートリッジは透析カートリッジと比較して、対象の遠位にある。

【 0 0 2 5 】

これら及びその他の態様、目的及び利点は、以下の図面及び詳細な説明を読むことでより明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 2 6 】

【図 1 A】図 1 A ~ B は吸着媒体及びヒト血液の比較を示す。図 1 A は吸着媒体を示し、図 1 B はヒト血液塗抹標本の画像を示す。

【図 1 B】図 1 A ~ B は吸着媒体及びヒト血液の比較を示す。図 1 A は吸着媒体を示し、図 1 B はヒト血液塗抹標本の画像を示す。

【図 2】図 2 は、細菌、例えば黄色ブドウ球菌及びクラミジア、ならびにウイルス、例えばポックスウイルス、ヘルペスウイルス、インフルエンザウイルス、及びピコナウイルス（ポリオ）のサイズ比較を示す。

【図 3】図 3 は、直径（d）を有するビーズ及び直径（a）を有する細胞を含む吸着媒体の断面を示す。

【図 4】図 4 は、強制対流を受けた硬質媒体についての直線流及び吸着カートリッジカラムの高さに応じた最小ビーズサイズを示す。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 2 7 】

発明の詳細な説明

本発明は、部分的には、血液（例えば、全血及び血清）から、相当量の細菌（例えば、ヘパラン硫酸に対して親和性が知られていない又は低い親和性を有する細菌を含む、グラム陰性菌及びグラム陽性菌）を除去するのに効果的である吸着媒体の発見に基づく。加えて、当該吸着媒体は、高い体積流量及び高線流速を伴う体外処置に使用することができる。典型的に、当該吸着媒体は、カラム、容器又はカートリッジ内に含まれる。ある態様では、試料はカラム、容器又はカートリッジから出て、接着複合体が後に残る。

【 0 0 2 8 】

本発明の第 1 の態様は、血液を固体基質と接触させることによって、血液、例えば哺乳動物の血液からの細菌の除去のための方法を提供する。本発明者らは、当該固体基質の表面構造が細菌病原体又はウイルスなどの病原体を除去するのに効果的であることを見出した。

【 0 0 2 9 】

本発明の基質は、大きな圧力低下なしに基質にわたって血液の高流量を可能にする、十分に大きな格子間の寸法（interstitial dimensions）を有する。例えば、血液が哺乳動物から採取されると、それは、主として強制対流によって吸着床の表面への吸着質の送達が特徴づけられる流量で、基質上を通過する。対流輸送に適した基質は、一般的に、固体、本質的な非多孔質材料、例えば粒子、ビーズ、繊維、糸、網状発泡体（reticulated foams）、又は任意に渦巻き型の（spiral-wound）緻密膜の間の、巨視的な「チャネル」又は可視的な隙間に依存する。

【 0 0 3 0 】

これは、高多孔質の吸着媒体（例えば、多孔質シリカ、セファデックス（Sephadex）（登録商標）、架橋ポリスチレン及び他のサイズ排除媒体）、及び分子拡散のはるかに遅いプロセスを使用する他の多くの微多孔質媒体とは対照的である。拡散輸送に依存する吸着基質は一般的に、微細孔及び極めて高い内部表面積を有する多孔質材料から構成されている。

【 0 0 3 1 】

I. 定義

用語「体外治療」は、体の外で行われる、すなわち、エクス・ビボの医療処置を含む。いくつかの例では、体外治療は、体液、例えば血液が個体から採取され、そしてその体液が個体に戻される前に、所望の生成物、例えば、これらに限定されないが、酸素、血液 - 抗凝固薬、麻酔薬などが体液に添加される、方法を含む。他の例では、体外治療は、身体又は体液から自然に発生する毒素、毒物又はウイルスのような望ましくない生成物を除去することを含む。体外治療の非限定的な例としては、アフエレーシス、自己輸血、血液透析、血液濾過、血漿交換、体外循環（ECC）、体外生命維持（ECLS）、体外式膜型人工肺（extracorporeal membrane oxygenation）（ECMO）、及び心肺バイパスが挙げられる。

10

【 0 0 3 2 】

用語「高流量」又は「高流動条件（high flow condition）」は、拡散限界を超える血液の流量又は速度を含む。

20

【 0 0 3 3 】

用語「吸着媒体」は、細胞、生物、ウイルス、病原体、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、化学分子、生体分子がその表面に付着し、試料、例えば血液から除去することができる材料を含む。

【 0 0 3 4 】

用語「接着複合体」は、第1の分子が表面、例えば基質に付着（例えば、架橋、連結又は結合）しており、そして第2の分子が第1の分子に付着している、少なくとも2つの分子の複合体を含む。例えば、病原体又はウイルスはヘパリンに付着することができ、接着複合体を形成する。典型的に、本発明の方法では、接着複合体が後に残り、試料は病原体又はウイルスが取り除かれる。

30

【 0 0 3 5 】

用語「高表面積」は、体積比に対して大きな比表面積を有する特性を含む。

【 0 0 3 6 】

用語「吸着剤」は、化学化合物、生体分子又はそれらに付着（例えば、架橋、連結又は結合）している材料を有する固体基質を含む。ある例では、吸着剤は固体基質それ自体である。1つの実施形態では、吸着剤は、それに結合した多糖類、例えばヘパリンを有するポリマー樹脂である。当該基質は、ポリマービーズ、繊維又は糸とすることができる。

【 0 0 3 7 】

用語「硬質ポリマービーズ」は、ポリマー樹脂から作られるビーズ、顆粒、ペレット、球、粒子、マイクロカプセル、スフェア、ミクロスフェア、ナノスフェア、マイクロビーズ、ナノビーズ、マイクロ粒子、ナノ粒子などを言う。ポリマービーズは基質として有用である。

40

【 0 0 3 8 】

用語「繊維」又は「糸」は固体基質として有用である。当該繊維又は糸は、合成ポリマー又は天然ポリマーあるいはそれらの混合物から作ることができる。ある例では、最初は多孔質の中空繊維又は糸は、ヘパリン又は他の吸着剤をその外表面及び/又は内表面に結合する前、間又は後に、緻密又は非多孔質にされる。

【 0 0 3 9 】

用語「炭水化物」は、炭素、水素及び酸素原子を含み、かつ、通常は実験式 $C_x(H_2O)_y$ （式中 x 及び y は異なる数である）を有する分子を言う。炭水化物の例としては、単

50

糖類、二糖類、オリゴ糖、及び多糖類が挙げられる。

【0040】

用語「多糖類」は、グリコシド結合によって結合された単糖単位の子分子であって、 x が 200 から約 3000 の間である $C_x(H_2O)_y$ の実験式を有する分子を言う。

【0041】

用語「親水性表面」は、表面が平坦である場合、 90° 未満の水接触角を有する表面を含む。

【0042】

細菌の文脈における用語「ヘパラン硫酸への低い親和性」は、ヘパラン硫酸に対する細菌の低い結合親和性を言う。いくつかの実施形態では、当該結合親和性はヘパラン硫酸に対する標準的なアッセイ、例えば酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA) を用いて決定される。他の実施形態では、結合親和性は予測分析、例えば、病原体、例えば細菌により発現される推定ヘパラン硫酸結合タンパク質の分析に基づいて決定される。用語「ヘパラン硫酸に対する親和性がない」とは、ヘパラン硫酸に対して結合親和性を有さない、又は検出可能よりも低い親和性を有する、あるいはヘパラン硫酸に結合することが知られていない細菌を言う。いくつかの例では、ヘパラン硫酸に対する親和性を有さないことは、ヘパラン硫酸に対する予測される結合親和性を有さないことを含む。

10

【0043】

II. 実施形態の詳細な説明

A. 対流輸送による細菌病原体の結合

20

対流輸送中の本発明の本質的に非多孔質な吸着基質への細菌病原体の結合は、典型的に体外血液回路の安全な操作に用いられる比較的高い流動条件下で、例えば 8 cm / 分 、好ましくは約 30 cm / 分 、そしてより好ましくは約 $30 \sim 1,000\text{ cm / 分}$ の線流速で測定された場合、特に効果的である。

【0044】

いくつかの実施形態では、吸着媒体は、約 8 cm / 分 から約 $1,000\text{ cm / 分}$ 、例えば、約 8 cm / 分 から約 30 cm / 分 、約 25 cm / 分 から約 100 cm / 分 、約 50 cm / 分 から約 200 cm / 分 、約 100 cm / 分 から約 1000 cm / 分 、約 200 cm / 分 から約 1000 cm / 分 、約 400 cm / 分 から約 1000 cm / 分 、約 500 cm / 分 から約 1000 cm / 分 、約 600 cm / 分 から約 1000 cm / 分 、約 100 cm / 分 から約 500 cm / 分 又は約 300 cm / 分 から約 800 cm / 分 の線流速で、体外回路内の全血から病原体を除去する。ある例では、当該流速は、約 10 、 15 、 20 、 25 、 30 、 35 、 40 、 45 、 50 、 55 、 60 、 65 、 70 、 75 、 80 、 85 、 90 、 95 、 100 cm / 分 又は約 $25 \sim 40\text{ cm / 分}$ である。

30

【0045】

他の実施形態では、吸着媒体は、約 50 ml / 分 から約 5 L / 分 、例えば、 50 ml / 分 、 100 ml / 分 、 150 ml / 分 、 200 ml / 分 、 250 ml / 分 、 300 ml / 分 、 350 ml / 分 、 400 ml / 分 、 500 ml / 分 、 550 ml / 分 、 600 ml / 分 、 650 ml / 分 、 700 ml / 分 、 750 ml / 分 、 800 ml / 分 、 850 ml / 分 、 900 ml / 分 、 950 ml / 分 、 1.0 L / 分 、 1.5 L / 分 、 2.0 L / 分 、 2.5 L / 分 、 3.0 L / 分 、 3.5 L / 分 、 4.0 L / 分 、 4.5 L / 分 、及び 5 L / 分 の体積流量で、体外回路内の全血から病原体を除去する。いくつかの実施形態では、当該流量は好ましくは $> 150\text{ ml / 分}$ である。

40

【0046】

高度に多孔質な吸着媒体は、対照的に、 1 ml / 分 未満から約 50 ml / 分 未満のはるかに低い流量を必要とする。さらに、吸着基質上の滞留時間 (例えば、吸着質 (例えば細菌) が吸着媒体と接触している時間) は、標準的な体外血液システムと互換性のない結合部位への吸着質の強制対流を使用する媒体と比較して、媒体内の吸着部位への吸着質の拡散輸送を必要とする媒体のために、はるかに長くなる必要がある。

【0047】

50

典型的に、吸着カラム上の「滞留時間」は、強制対流により（本質的に非多孔質な媒体上の）結合部位へと吸着質を運ぶのに必要とされる、より低い滞留時間と比較した場合、媒体内の吸着部位への吸着質の拡散輸送を必要とする媒体のためにより長くなる必要があることが認識されている。しかしながら、安全かつ効果的な吸着カートリッジ、カラム、フィルター等の寸法には、特に、それが含むことができる血液の最大ホールドアップ体積、及び吸着媒体を通過する血液又は血清の流速に関して、実用的な限界がある。この理由のため、吸着装置を通る平均流量は設計変数であると考えられる。

【0048】

高流量及びより短い滞留時間が必要とされる場合、はるかに遅い拡散輸送に依存する基質ははるかに効果的でないが、強制対流輸送に依存する基質は一般的に高流量により適している。この理由のため、体外血液浄化装置では、吸着質が吸着媒体内の孔を通して急速に拡散することが好ましい。血液が人工材料から製造された回路を通じて送り出される場合、停滞を防止し、凝固のリスクを減少させるために、比較的高い血流量を使用することが一般慣行である。他方で、血液細胞を破裂させ又は別の方法で損傷を与え得る高せん断速度及び衝突損傷に、血液細胞をさらす可能性があるため、極度に高い流量は避けられ得る。それゆえ本発明は、対流輸送の好ましい特徴及びその望ましいより急速な動態を用いて、血液から細菌病原体を除去するための方法及び装置を提供する。これは、所望のサイトカイン、病原体又は細菌に結合することができ、それらを血液から除去する本質的に非微多孔質な基質（例えば、固体基質）上に血液を通過させ／流すことによって達成される。

10

20

【0049】

本明細書で提供される吸着媒体は、 $> 50 \text{ ml / 分}$ 、そして好ましくは約 150 ml / 分 から 5 L / 分 の間の流量で、従来の体外血液循環に使用することができる。線流速で測定された場合は、 8 cm / 分 、好ましくは約 24 cm / 分 、及びより好ましくは約 $24 \sim 329 \text{ cm / 分}$ 、又はそれ以上。例えば、当該流速は、 25 、 50 、 75 、 100 、 125 、 150 、 175 、 200 、 225 、 250 、 275 、 300 、 325 、 350 、 375 、 400 、 425 、 450 、 475 、 500 、 525 、 550 、 575 、 600 、 625 、 650 、 675 、 700 、 725 、 750 、 775 、 800 cm / 分 又はそれ以上とすることができる。そのような高流量は吸着カラム内の短い滞留時間をもたらし、対流輸送が拡散輸送を支配する。このことは、より大きな粒子、例えばゆっくりと拡散するウイルス、細菌及び寄生虫ならびに他のタンパク質及び病原体に結合するために特に重要である。

30

【0050】

細菌病原体を除去するために利用できる主な吸着部位は、媒体床、容器又はカートリッジの隙間内の表面に存在し、それを通して血液は流れ、又は強制対流によって輸送される。血液を処理するために、格子間のチャンネルは、直径が平均 6 ミクロン である赤血球の輸送をさせるのに十分な大きさであることが必要である。充填された吸着カートリッジが高い血流量で体外回路に配置させるために、格子間のチャンネルは赤血球の直径よりも数倍大きくすることができる。このことは、溶血につながる高せん断速度を防ぎ、又は実質的に排除することができ、同時に充填床又はカートリッジを通じて流れる血液の圧力低下を最小限に抑える。さらに、当該媒体は、圧縮によってフィルターカートリッジを詰まらせる可能性がある変性を最小限に抑えるために、好ましくは硬質である。これらの選択に基づいて、最適化された硬質媒体は、例えば、高流量体外血液回路における病原体及び／又はサイトカインの効率的な除去のための、格子間のチャンネルサイズと総表面積とのバランスを取る。

40

【0051】

請求項に係る方法は、体外治療又は処置、ひいては移植可能な装置に主に適用されることを意図している。

【0052】

哺乳動物からの全血及び血清は本発明に使用することができる。請求項に係る方法に使

50

用することができる血液又は血清の量は制限されることを意図していない。それは、患者に戻す連続的再循環を用いる場合、1 ml 未満から 1 L 超、患者又は対象の全血液量まで及びそれを含む範囲にわたることができる。吸着床を通る 1 又は複数のパスを必要であれば使用してもよい。当該血液はヒト又は動物の血液であってもよい。

【0053】

いくつかの実施形態では、試料、例えば全血又は血清中の細菌又は病原体が、約 20 % から約 90 %、例えば、約 20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、90 % 又は 99.9 % まで減少する。他の実施形態では、試料中の細菌が、約 20 % から約 40 %、例えば、約 20 %、25 %、30 %、35 %、又は 40 % まで減少し、あるいは細菌又は病原体の約 5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95 又は 99.9 % 減少である。

10

【0054】

いくつかの実施形態では、試料中の細菌はグラム陰性菌、例えばクリスタルバイオレット染料を保持しない任意の細菌である。グラム陰性菌の非限定的な例は、肺炎桿菌、アシネトバクター・バウマニ、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、大腸菌、サルモネラ菌、赤痢菌、ステノトロホモナス・マルトフィリア (*Stenotrophomonas maltophilia*)、モラクセラ、ボレリア、バークホルデリア (*Burkholderia*)、カンピロバクター、クラミジア、ヘモフィルス、ヘリコバクター、ステノトロホモナス、ビブリオ、レジオネラ (*Legionella*)、他の腸内細菌、及びそれらの薬剤耐性株である。他の実施形態では、試料中の細菌はグラム陽性菌、例えばクリスタルバイオレット染料を保持する任意の細菌である。グラム陽性菌の非限定的な例は、放線菌、バチルス属、エンテロコッカス、ラクトバチルス、リステリア・モノサイトゲネス (*Listeria monocytogenes*)、マイコバクテリウム、ノカルジア、プロピオニバクテリウム (*Propionibacterium*)、黄色ブドウ球菌、表皮ブドウ球菌 (*Staphylococcus epidermidis*)、腐性ブドウ球菌 (*Staphylococcus saprophyticus*)、肺炎球菌 (*Streptomyces*)、肺炎レンサ球菌 (*Streptococcus pneumoniae*)、化膿レンサ球菌 (*Streptococcus pyrogenes*)、緑色連鎖球菌 (*Streptococcus viridans*)、腸球菌、クロストリジウム・ディフィシル (*Clostridium difficile*)、エンテロコッカス・フェシウム、エンテロコッカス・フェカリス (*Enterococcus faecalis*)、及びそれらの薬剤耐性株である。

20

30

【0055】

いくつかの実施形態では、本明細書で提供される方法は、全血又は血清試料からグラム陰性菌を除去するために使用される。他の実施形態では、当該方法は当該試料からグラム陽性菌を除去するために使用される。さらに他の実施形態では、その表面上に多糖類吸着剤 (absorbant) を有する本明細書に記載される吸着媒体は、試料から、細菌、例えば大腸菌、肺炎桿菌、アシネトバクター・バウマニ、エンテロコッカス・フェシウム、カルバペネム耐性大腸菌、カルバペネム耐性肺炎桿菌、及び又は基質特異性拡張型ベータラクタマーゼ肺炎桿菌 (*extended spectrum beta-lactamase Klebsiella pneumoniae*) を除去するために使用される。

40

【0056】

いくつかの実施形態では、中性に帯電した親水性表面を有する吸着媒体は、全血又は血清試料から、黄色ブドウ球菌、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA)、及び/又は大腸菌を除去するために使用される。他の実施形態では、カチオン性表面 (親水性表面) を有する吸着媒体は、試料から、大腸菌、肺炎桿菌、カルバペネム耐性大腸菌、カルバペネム耐性肺炎桿菌、及び基質特異性拡張型ベータラクタマーゼ肺炎桿菌、エンテロコッカス・フェシウム、アシネトバクター・バウマニ、及びメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) を除去するために使用される。

50

【0057】

B．吸着媒体

形状及び組成において様々な材料を本発明における基質として使用することができる。全ての好適な吸着基質は、強制対流輸送によってそれらを（最初に）結合させる吸着部位への吸着質の輸送を促進しながら、高表面積を提供する。吸着媒体の作成に有用な基質には、非多孔質の硬質ビーズ、粒子、又はパッキング、網状発泡体、硬質モノリシックベッド（*monolith bed*）（例えば焼結ビーズ又は粒子から形成される）、織布又は不織布で充填されたカラム、糸あるいは固体又は中空非微多孔質モノフィラメント繊維で充填されたカラム、フラットフィルム又は緻密膜から形成された渦巻き型のカートリッジ、あるいは、媒体の組み合わせ、例えば混合ビーズ／ファブリックカートリッジが挙げられる。いくつかの実施形態では、本発明での使用に適した基質は最初は微多孔質なものであるが、表面が吸着部位の作成の前、間又は後に処理される場合、本質的に非多孔質になる。

10

【0058】

1つの有用な基質は固体ビーズ又は粒子の形態である。当該ビーズは、発生流量下で変性又は圧縮に耐えるのに十分硬質である材料から作ることができる。いくつかの実施形態では、十分な基質の硬性とは、典型的な臨床的流量で水又は生理食塩水の流れの約1時間の間に吸着床にわたって圧力低下の顕著な増加がないことである。例えば、好適な基質の硬性は、例えば生理食塩水の同様の流量で測定した場合の初期の圧力低下（例えば、流れの最初の1分以内に測定した）に対して、 $< 10 \sim 50\%$ の圧力低下の増加である。

20

【0059】

吸着基質ビーズは、多くの異なる生体適合性材料、例えば本質的に浸出性（*leachable*）不純物を含まない、天然又は合成ポリマー、あるいはガラス、セラミック及び金属を含む非ポリマー材料から作られてもよい。いくつかの例示的なポリマーは、ポリウレタン、ポリメチルメタクリレート、ポリエチレン又はエチレンと他のモノマーとの共重合体、ポリエチレンイミン、ポリプロピレン、及びポリイソブチレンを含む。有用な基質の例としては非多孔質の超高分子量ポリエチレン（*UHMWPE*）が挙げられる。他の好適なビーズは、ポリスチレン、高密度及び低密度のポリエチレン、シリカ、ポリウレタン、及びキトサンである。

【0060】

基質、例えばビーズ、繊維、糸などは、吸着表面積を増加させるために表面粗さ又はトポグラフィーで調製することができる。例えば、体積比に対して表面積を増加させることによって表面積を増加させることが可能である。図1Aに示されるように、不均一で起伏のない（*unulathing*）表面は、細菌及び病原体のためのより多くの結合部位を作り出す。典型的に、自由な形態、形又は形状はより多くの表面積をもたらす、有利である。図1Aは反応器から受けたUHMWPEビーズを示す。

30

【0061】

ビーズを作製するための方法は当該技術分野で知られている。例えば、好適なポリエチレンビーズ及び他のポリオレフィンビーズは合成プロセス中に直接生成される。いくつかの例では、当該ビーズは必要とされるサイズ及び形状に加工される。他のポリマーは、所望のサイズ分布及び形状のビーズを作製するために、粉碎又は噴霧乾燥及び分級され、あるいは別の方法で処理されることを必要としてもよい。

40

【0062】

いくつかの態様では、本発明の吸着媒体は、細菌病原体に結合することができる多糖類の吸着剤に付着するための表面を提供する。いくつかの実施形態では、当該吸着媒体は、その表面に少なくとも1つの多糖類の吸着剤を有する高表面積を有する固体基質を含む。

【0063】

他の態様では、本発明の吸着媒体は多糖類の吸着剤を有さない親水性表面（「裸表面」）を提供する。いくつかの実施形態では、当該吸着媒体は、高表面積及び親水性カチオン性表面を有する固体基質を含む。他の実施形態では、当該吸着媒体は、高表面積及び親水性中性表面を有する固体基質を含む。

50

【0064】

固体基質は、例えば、これらに限定されないが、ポリエチレン、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリスルホン、ポリアクリロニトリル、ポリカーボネート、ポリウレタン、シリカ、ラテックス、ガラス、セルロース、架橋アガロース、キチン、キトサン、架橋デキストラン、架橋アルギネート、シリコン、フルオロポリマー、及び他の合成ポリマーから作製することができる。高表面積を有する固体基質は、複数の吸着性単分子層、フィルター、膜、固体繊維、中空繊維、粒子、又はビーズとすることができる。任意に、当該固体基質は大きな表面積を提供する他の形態又は形状で存在することができる。

【0065】

ある例では、固体基質は、複数の硬質ポリマービーズ、例えばポリエチレン、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリスルホン、ポリアクリロニトリル、ポリカーボネート、ポリウレタン、シリカ、ラテックス、ガラス、セルロース、架橋アガロース、キチン、キトサン、架橋デキストラン、架橋アルギネート、シリコン、フルオロポリマー、及び合成ポリマービーズである。好ましくは、当該硬質ポリマービーズはポリエチレンビーズである。

10

【0066】

固体基質のサイズは、アッセイに使用される試験試料の量又は他のパラメータに応じて選択することができる。いくつかの実施形態では、複数の硬質ポリマービーズの各ビーズは、約1 μm から約1 mm、例えば、1 μm 、2 μm 、3 μm 、4 μm 、5 μm 、6 μm 、7 μm 、8 μm 、9 μm 、10 μm 、15 μm 、20 μm 、25 μm 、30 μm 、35 μm 、45 μm 、55 μm 、60 μm 、65 μm 、70 μm 、75 μm 、80 μm 、85 μm 、90 μm 、95 μm 、100 μm 、200 μm 、300 μm 、400 μm 、500 μm 、600 μm 、700 μm 、800 μm 、900 μm 、又は1 mmの平均外径を有する。他の実施形態では、複数の硬質ポリマービーズの各ビーズは、約10 μm から約200 μm 、例えば、10 μm 、15 μm 、20 μm 、25 μm 、30 μm 、35 μm 、45 μm 、55 μm 、60 μm 、65 μm 、70 μm 、75 μm 、80 μm 、85 μm 、90 μm 、95 μm 、100 μm 、105 μm 、110 μm 、115 μm 、120 μm 、125 μm 、130 μm 、135 μm 、140 μm 、145 μm 、150 μm 、155 μm 、160 μm 、165 μm 、170 μm 、175 μm 、180 μm 、185 μm 、190 μm 、195 μm 、又は200 μm の平均直径を有する。

20

30

【0067】

いくつかの実施形態では、有用なビーズは、直径が約100ミクロン(μm)から500 μm 、又はそれ以上、例えば、直径が100 μm 、150 μm 、200 μm 、250 μm 、300 μm 、350 μm 、400 μm 、450 μm 、500 μm 、又はそれ以上の範囲のサイズを有する。当該ビーズの平均サイズは、直径が約150 μm から約450 μm 、例えば、直径が150 μm 、200 μm 、250 μm 、300 μm 、350 μm 、400 μm 、又は450 μm とすることができる。例えば、300 μm の平均直径を有するポリマーテクノロジーグループ(Polymer Technology Group)(パークレイ、CA)からのポリエチレンビーズは、本発明に適している。

【0068】

いくつかの実施形態では、当該基質はバリア膜、例えば非多孔質フィルムである。あるいは、微多孔質膜が、本質的に非多孔質な材料、例えばポリマーを細孔に詰めることによって、非多孔質にされてもよい。シートあるいは固体又は中空繊維の形態の膜は、ハウジング又は容器内に配置され得る。

40

【0069】

吸着媒体は容器、例えばカラム、カートリッジ、チューブ、遠心管、ベッドなど、あるいは、吸着媒体に結合した多糖類上に捕捉されていない血液の細胞を、当該媒体に付着した細菌病原体を乱すことなく除去することができる任意の容器に入れることができる。

【0070】

基質は典型的に、容器内に基質を保持し、かつ血液又は血清が基質又はベッドの表面を

50

流れることを可能にするように設計されている、ハウジング又は容器、例えばカラム内に充填されて提供される。当該基質は、当該基質の吸着面への吸着質の結合を最大にするように容器内に配置されてもよい。当該ハウジング又は容器は、血液又は血清に大きな表面積を提供するマクロ多孔質表面構造を有することができる。

【0071】

カラム又は他のハウジング形状はヘパリン化した (heparinized) 織布又は不織布のいずれかで充填することができ、あるいは、ヘパリン、ヘパラン硫酸 (sulfate) 又は任意の非ヘパリン吸着部位は、ハウジングが基質媒体で満たされた後に、例えば共有結合、イオン結合又は他の化学的もしくは物理的結合によって、結合されてもよい。製織もしくは編成中に又は不織布 (non-woven web) の作成中に布の繊維のデニール及び密度を制御することによって、格子間の孔サイズを制御することができる。有用な不織布は、繊維のもつれ及び / 又は交差する繊維の接着もしくは凝集によって結合しているランダム配向を有する、フェルト、メルトブロー (melt-blown)、又は静電的に紡糸した織布 (electrostatically spun webs) の形態であってもよい。有用な織布はより明らかな非ランダム構造を有する。

【0072】

カラム又はハウジングは、繊維又は繊維からなる系で充填することができる。ポリエチレン、及び他の繊維は、中空繊維膜が従来の血液透析カートリッジ又は血液酸素供給器内に設置されるのと同じ方法でカートリッジ中に充填することができる、薄い中空又は固体モノフィラメント繊維又はマルチフィラメント系に取り込むことができる。本発明では、最初は多孔質の中空繊維は、外表面及び / 又は内表面にヘパリン又は他の吸着剤を結合する前、間又は後に、緻密又は非多孔質にされる。ロイヤル DSM (Royal DSM) からの Dyneema Purity (登録商標) は UHMWPE から作られた高強度の固体繊維である。超高分子量ポリエチレン (UHMWPE、UHMW) は熱可塑性ポリエチレンのサブセットである。Dyneema はヘパリン化され、カートリッジ中に充填することができ、サイトカイン、細菌及び病原体の除去のための高表面積支持を提供する。

【0073】

渦巻き型のカートリッジは、隣接表面の接触を防止するための任意のスペーサー材料とともに緊密に巻かれる、薄いフィルム又は膜を含む。当該膜は、ポリマー、例えばポリウレタン、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスルホン、ポリカーボネート、PET、PBT などから作ることができる。

【0074】

上述したように、ある例では、本発明の方法における使用のために、体外血液濾過のための個々のビーズ間のチャンネル又は格子間の空間のサイズは、カートリッジの入口と出口との間の高い圧力低下を防ぎ、高流量環境における個々のビーズ間での血液細胞の安全な通過を可能にし、そして血液中のサイトカイン又は病原体への多糖類の吸着剤の結合のために適切な格子間の表面積を提供するために最適化される。例えば、300ミクロンの最密ベッドでは、ほぼ球形のビーズ、適切な格子間の孔サイズは直径が約68ミクロンである。

【0075】

いくつかの実施形態では、吸着媒体の硬質ビーズは表5に記載されるような平均直径を有する。いくつかの実施形態では、吸着媒体の非ビーズ基質、例えば織られた系又は繊維は表6に記載の巨視的な孔サイズを有する。

【0076】

C. 吸着媒体を作製するための方法

本明細書に記載される固体基質の表面は、本明細書に記載される多糖類の吸着剤の共有結合を可能にするために官能化することができる。いくつかの実施形態では、当該固体基質の表面は少なくとも1つの化学基、例えばアミノ基を有する。

【0077】

多糖類、例えばヘパリン又はヘパラン硫酸あるいは他の多糖類 (polysacchar

10

20

30

40

50

ides) は、共有エンドポイント結合 (covalent end-point attachment) (例えば、ヘパリン分子の末端残基を介する共有結合) によって、吸着媒体の表面に結合することができる。非共有結合と比較して共有結合は、固定化分子の配向のより良好な制御、及びそれらの面密度を有利に提供する。特に、これら長鎖の炭水化物のエンドポイント結合は、病原体結合に使用可能な利用しやすい炭水化物オリゴマーの高い濃度をもたらすスパーサー機能を提供する。実際に、ある病原体は、当該技術分野で一般に用いられているようにヘパリン断片でコートされている従来の表面よりも、完全長のヘパリン (例えば、10 kDa 超の平均分子量を有するヘパリン) コートされた表面に非常に効率的に結合する。

【0078】

いくつかの実施形態では、固定化された完全長のヘパリン分子は10 kDa 超の平均分子量を有する。他の実施形態では、固定化されたヘパリン分子は15 kDa 超の平均分子量を有する。別の実施形態では、固定化されたヘパリン分子は21 kDa 超の平均分子量を有する。さらに別の実施形態では、固定化されたヘパリン分子は30 kDa 超の平均分子量を有する。好ましくは、固定化されたヘパリン分子は、15 ~ 25 kDa の範囲内の平均分子量を有する。当該平均分子量はまた、より高い、例えば25 ~ 35 kDa の範囲内であってもよい。

【0079】

いくつかの実施形態では、固体基質上のヘパリン吸着剤の表面濃度は、 $1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ から $20 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ の範囲内、例えば、 $1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $9 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $10 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $11 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $12 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $13 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $14 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $15 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $16 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $17 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $18 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $19 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、及び $20 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ である。他の実施形態では、固体基質のヘパリン吸着剤の表面濃度は、 $5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ から $15 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ の範囲内、例えば、 $5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $9 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $10 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $11 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $12 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $13 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $14 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、及び $15 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ である。

【0080】

グラム基質当たりの多糖類の吸着剤の量は変動することができる。1つの特定の実施形態では、ビーズが使用される場合、グラムのビーズ当たりの多糖類、例えばヘパリンの量は、使用される層の数及びビーズのサイズによっても決定される。ビーズが大きければ大きいほど、ビーズのグラム当たりのより少ない多糖類、例えばヘパリンが得られる。1つの好ましい量は、MBTH法につき $2.0 \pm 0.5 \text{ mg}$ ヘパリン / g ビーズである (Larmet al., Biomater Med Devices Artif Organs, 1983, 11:161-173 and Riesenfeld and Rosen, Anal Biochem, 1990, 188:383-389)。

【0081】

表面への完全長のヘパリン分子の共有結合は、吸着媒体の表面上に存在する第一級アミノ基とヘパリン分子のアルデヒド基との反応によって達成することができる。全ての炭水化物の固有の特性は、それらがその還元末端にヘミアセタールを有するということである。このアセタールはアルデヒド形と平衡状態にあり、第一級アミンとシッフ塩基を形成することができる。その後これらシッフ塩基は安定な第二級アミンに還元され得る。いくつかの実施形態では、完全長のヘパリンは、共有結合によって固体基質上に固定化された表面である。他の実施形態では、完全長のヘパリンは安定な第二級アミノ基を介して前記吸着媒体に共有結合している。

【0082】

ある例では、吸着剤を作製する様々な方法及び吸着剤それ自体は、米国特許第 8,663,148 号明細書、ならびに米国特許出願公開第 2009/0136586 号明細書、第 2010/0249689 号明細書、第 2011/0184377 号明細書、及び第 2

10

20

30

40

50

012/0305482号明細書に開示されており、その開示はすべての目的のためにその全体が参照により本明細書に援用される。

【0083】

いくつかの実施形態では、吸着媒体は、多糖類、例えばヘパリン又は他の化合物の結合の前に親水化される。基質の親水性表面を調製するための方法は酸エッチング、プラズマ処理、及び強力な酸化剤への曝露を含む。例えば、ポリマー表面、例えばポリエチレン(PE)ビーズは酸化剤、例えば過マンガン酸カリウム、ペルオキシ二硫酸アンモニウム(ammonium peroxodisulfate)などでエッチングすることができ、いくつかの反応性官能基(例えば、スルホニル基、ヒドロキシル基、カルボキシル基、カルボニル基、又は炭素二重結合)とともに、親水性を導入する。当該表面はプラズマ又はコロナでエッチングすることができる。例えば、PEビーズは、硫酸中の過マンガン酸カリウムでエッチングすることができ、ヒドロキシル基及び炭素二重結合を含む親水性表面を有するビーズを製造する。

10

【0084】

吸着媒体の混合物

ある例では、本発明の方法は、抗血栓性であるヘパリン化された媒体と本質的に血栓形成性の別の媒体との混合物から吸着床を調製する。ヘパリン化された表面及び、例えば、親水性表面(カチオン性又は中性表面)の両方で吸着カートリッジを組み立てることによって、細菌病原体は血液又は他の生体液からすべて安全に除去することができる。例えば、ヘパリン化された媒体は吸着床の1%から99%とすることができ、そして本質的に血栓形成性の基質は吸着床の99%から1%とすることができ。

20

【0085】

本発明のいくつかの実施形態では、吸着媒体は、血栓形成性表面と密接に接触している、又は極めて接近している抗血栓性表面を提供する。この吸着媒体は、本質的に血栓形成性の表面が単独で使用されたならば別の方法で発生するであろう臨床的に有意な血栓形成を防ぐことができる。

【0086】

ビーズ又は粒子の形態での吸着媒体の場合には、本発明の好ましい適用は、カートリッジ又は他のハウジング中にそれらを充填する前に、異なる吸着媒体と一緒に混合することである。これは、吸着カートリッジ又はフィルターの効率的な製造を可能にしながら、隣接したビーズ上の様々な表面化学の間での密接な接触を提供する。関連するアプローチは、血液が直列又は並列流で異なる媒体と接触するように、ハウジング内に「パフェ型」配置で異なる媒体を層状にすることである。カートリッジ内の異なる媒体の1つの配置は、混合されていない抗血栓性媒体をカートリッジの入り口及び/又は出口に置き、より多くの血栓形成性媒体を含む任意に混合された領域を入口及び出口領域の間に挿入することである。

30

【0087】

繊維形態での媒体の場合には、混合織、編物、又は不織布構造は、混合繊維から布地を形成するために繊維産業でよく知られている方法によって調製することができる。あるいは、糸は、1つの繊維型が接触による血液凝固を積極的に防ぐ表面を含む限り、異なる表面化学を有する2以上の繊維から作られた微細なマルチフィラメント糸又はモノフィラメントから調製することができる。その後混合繊維の糸は、血液接触のための布地を調製するために使用することができる。中空繊維又は固体繊維の吸着媒体は、混合され、中空繊維透析装置又は酸素供給器に類似したカートリッジを作製するために使用することができる。渦巻き型の吸着カートリッジに使用される型の膜又はフィルム型の吸着媒体のためには、血液が両方の表面化学と(ほぼ)同時に接触しなければならないように、2以上の表面化学は互いに非常に接近して使用され得る。これは、膜フィルムの表面層内の様々な結合基の規則的又はランダムな配列で、あるいは、そのうちの1つが抗血栓性である2つの近接した膜フィルムの間で血液の流路を形成することによって行うことができる。

40

【0088】

50

体外血液フィルター

ある態様では、本明細書で提供される方法は、哺乳動物の血液、例えばヒトの血液からの病原体の体外除去のための吸着媒体を含む装置に使用することができる。例えば、当該装置は、患者、例えば腎不全を患っている対象からの血液及び血清の体外処置のための従来の装置とすることができる。

【0089】

体外循環のための医療装置に接している血液中の局所的な血流パターンは、せん断活性化及び停滞部における血小板の凝集を介した血栓形成に影響することが知られている。本明細書で提供される吸着媒体を含む装置は、例えば、以下の特性：a) 150 ~ 5,000 ml / 分の範囲内、又は線流速で測定された場合は 8 cm / 分の血流；b) 低い流動抵抗；c) それに固定化された炭水化物を有する基質の大きな表面積、例えば約 0.1 ~ 1 m²；d) 安定なコーティング（例えば、それに接触している血液への炭水化物の臨床的に有意な漏れがない）；e) 装置における適切な血液動態特性（例えば、停滞部がない）；及び f) 最適な生体適合性、の 1 又は複数を有してもよい。

10

【0090】

本発明の方法に係る使用のための装置の非限定的な例には、体外式膜型人工肺（ECMO）装置、サイトカイン分子を除去する体外血液濾過装置である小児用ヘモフロウ（hemoflow）透析装置、あるいは高流量に対応できるその他の体外装置が挙げられる。

【0091】

本発明の方法は、他の従来の治療、例えば抗生物質の投与の前又は後のいずれかで使用することができる。

20

【0092】

いくつかの実施形態では、当該方法は、試料、例えば全血が体から抽出され、本明細書で提供される方法に従って処理され、そしてその後得られた試料（例えば、細菌病原体の減少した量を含む試料）が体に再導入される、それによって患者の血流の一部を含むループを形成するような、連続ループで行われる。

【0093】

他の実施形態では、本明細書で提供される方法は、哺乳動物の血液を濾過し又は処理するための他の技術と組み合わせることができる。例えば、対流速度に基づいているカートリッジはその後、従来の体外回路、例えば心肺バイパス（CPB）、血液透析、体外血液酸素化及びオゾン化（extracorporeal blood oxygenation and ozonation）（EBOO）などと直列に使用することができる。

30

【0094】

本発明の様々な態様を以下の実施例でさらに説明する。これらの実施例は限定することを意図するものではない。例えば、本実施例ではヘパリンが使用される。しかしながら、他の炭水化物及び多糖類の吸着剤を、単独で、又は以下で例示されるヘパリンコートされた基質に加えて使用してもよい。

【実施例】

【0095】

以下の実施例は、請求項に係る発明を説明するために提供されるが、それを限定するものではない。

40

【0096】

実施例 1 . ヘパラン硫酸に対する低い又は検出不可能な親和性を有する細菌の除去

本実施例は、全血からヘパラン硫酸に対する低い親和性又は検出不可能な親和性を有する細菌病原体を除去するための、ヘパリンコートされたビーズの使用を説明する。

【0097】

50 超の異なる病原体が、それらの発病中に最初の結合部位としてシンデカンに見られるヘパラン硫酸プロテオグリカンを経典とするということが文献で報告されている。驚くべきことに、表面に結合したヘパリンは、ヘパラン硫酸結合生物への代理として機能することができる。

50

【 0 0 9 8 】

本発明者らの研究は、ヘパリン化された吸着媒体が全血から黄色ブドウ球菌及びMRSAの高い濃度を除去できることを示した。また、当該研究は、ヘパリン化された表面に付着した細菌が死滅せず、したがって血液中に潜在的な炎症性毒素及びそれらの副産物を放出しなかったことを示した。したがって、ヘパリン結合媒体は、感染した血液から薬剤耐性株を含む循環細菌を効果的かつ安全に除去するための体外装置に使用することができる。

【 0 0 9 9 】

本実施例は既知のヘパラン硫酸結合病原体と、ヘパリンに結合することが知られていないか予想されていない病原体との両方を試験する。さらに、親水性制御は、カチオン性の又は中性に帯電したいずれかで、病原体に結合するのに効果的な表面として機能することができるということが発見された。中性に帯電した表面は一般的に、病原体を除去するのにヘパリン化された表面ほど効果的でなかったが、一般的な親水性表面を使用して病原体低減技術を開発することが可能だった。親水性のカチオン性表面も同様に、病原体を除去する合理的な能力を示した。

10

【 0 1 0 0 】

本実施例は表面結合ヘパリンを含む吸着媒体が、期待されたヘパラン硫酸結合病原体、例えば黄色ブドウ球菌、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)、E. フェカリス、バンコマイシン耐性E. フェカリス、HSV-1及びHSV-2、及びカンジダ・アルビカンス(*Candida albicans*)を除去するために使用することができることを説明する。

20

【 0 1 0 1 】

本実施例は、表面結合ヘパリンを含む吸着媒体が、血液から、低い(例えばゼロの)親和性のヘパラン硫酸結合病原体、例えば、大腸菌、カルバペネム耐性大腸菌、肺炎桿菌、カルバペネム耐性肺炎桿菌、基質特異性拡張型ベータラクタマーゼ肺炎桿菌、E. フェシウム、A. バウマニ、及び肺炎レンサ球菌(*S. pneumonia*)を除去するために使用することができることを説明する。

【 0 1 0 2 】

特に、中性の親水性表面を含む吸着媒体は、例えば、黄色ブドウ球菌、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)、及び大腸菌を除去することができる。また、カチオン性親水性表面を含む吸着媒体は、例えば、大腸菌、肺炎桿菌、カルバペネム耐性肺炎桿菌、基質特異性拡張型ベータラクタマーゼ肺炎桿菌、E. フェシウム、A. バウマニ、及びメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)を除去することができる。

30

【 0 1 0 3 】

黄色ブドウ球菌又はメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)菌血症はヘパリン及びヘパリン硫酸(HS)に対して自然の親和性を示す。親和性吸着技術は血液から細菌を除去する自然のメカニズムによって開発された。主要なリガンドは、エンドポイント結合ヘパリン、ヘパラン硫酸のアナログである。ヘパリンは全血から細菌を除去する作用のメカニズムを提供するだけでなく、それは体外循環の安全性を高める抗血栓形成性表面も提供する。

40

【 0 1 0 4 】

最初の結合のために炭水化物及びプロテオグリカンを経路とすることは、ほとんどの病原体の一般的なメカニズムである。例えば、インフルエンザウイルスはシアル酸、多くの糖タンパク質に見られる炭水化物に結合することになる。多くのグラム陰性菌は、線毛の先端に位置するマンノース結合アドヘシンを有する。細菌によって標的とされることが示されている他の炭水化物には、L-フコース、ガラクトース、及び種々のグルコサミン又はガラクトサミン(*galactosamines*)が挙げられる。炭水化物への病原体結合の共通のテーマは、細胞表面のグリコカリックスのユビキタな性質である。

【 0 1 0 5 】

本実施例で標的とされている細菌には、大腸菌、肺炎桿菌、及びそれらのカルバペネム

50

耐性株、及びまた緑膿菌が挙げられる。グラム陰性菌には多くの異なるアドヘシンが報告されている。最も研究されているものは、タイプ1、タイプ3、タイプP、及びタイプSの線毛及びまた外膜タンパク質A (OmpA) である。タイプ1線毛及びOmpAは内皮細胞への付着に関与している。タイプ1線毛はマンノースへの結合を媒介し(マンノース感受性)、腸内細菌科の大多数で発現される。その他の線毛は、異なる炭水化物に対するアドヘシンを有し、マンノース耐性であると考えられる。典型的に、いくつかのタイプの線毛は同時に発現される。

【0106】

加えて、線毛が発現していない場合であってもマンノース感受性アドヘシンは細菌細胞表面に存在するということが示されている。タイプ1線毛はヒト脳微小血管内皮細胞と相互作用することが示されており、線毛が血液中で発現することができることを示唆する。肺炎桿菌の薬剤耐性株はタイプ1及びタイプ3両方の線毛の高い濃度を発現する。

10

【0107】

黄色ブドウ球菌、MRSA、肺炎レンサ球菌、E.フェカリス、E.フェシウム、単純ヘルペスウイルス、特定の外毒素、及び他のHS標的病原体の除去を標的とするヘパリン化された表面を調査した。イン・ビトロの研究は、ヘパリン化された媒体に対するこれらの病原体及び毒素の多くの親和性を確認した。

【0108】

開発された第2の吸着媒体は、グラム陰性菌、例えば大腸菌、肺炎桿菌、及びA.バウマニを標的とするマンノース官能化された(mannanose functionalized)表面であった。イン・ビトロの研究はマンノース媒体がこれらの病原体に結合することができることを確認した。MRSAはマンノース媒体に親和性を有さないことが実証された。しかしながら、ヘパリン化された媒体も、ヘパリンに対して高い親和性を有することが期待されていなかったこれらのグラム陰性菌を除去するのに非常に効果的であった。これらの結果は予想外であった、それゆえ、どの細菌がヘパリン化された表面によって血液から除去することができるかを文献のみに基づいて予測することは不可能である。

20

【0109】

結果

A. 結果

全血からの細菌の除去に成功した最初の報告は2011年に掲載された(Mattsy-Baltzer et al., J. Microbiol. Biotechnol., 2011, 21(6), 659-664)。この研究では、黄色ブドウ球菌及びMRSAの高い濃度がヘパリン化された媒体を使用して全血から除去されたことが示された。加えて、PCRを用いて、細菌はそれらがヘパリン化された表面に付着した際に死滅せず、それゆえ血流中に潜在的な炎症性毒素/副産物を放出しなかったことを実証した。ヘパリン化された媒体の使用は、薬剤耐性に関わらず血液から循環細菌を安全に除去することができる、非常に広域なスペクトルの装置を作り出す。

30

【0110】

ヘパリン吸着媒体は、処理された血液又は血液製剤に任意の検出可能な化学物質を添加することによって機能しない。その代わりに、それは、拡散によって制限されない急速な吸着プロセスにおけるリガンドとして、(非浸出の)共有結合した、エンドポイント結合したヘパリンを使用する。

40

【0111】

本明細書で説明されるように、黄色ブドウ球菌及びMRSAはヘパリン化された媒体を使用して全血から除去することができる。黄色ブドウ球菌及びMRSAのいくつかの株を本研究で試験した。結果を表1に示す。黄色ブドウ球菌、及びMRSAのいくつかの株を全血から高収率で除去した。菌株によって、MRSA細菌の85%までをヘパリン化された媒体によって除去した。

【0112】

【表 1】

表 1. 全血からの黄色ブドウ球菌及びMRSAの除去

試験された黄色ブドウ球菌及びMRSA株				
	SA1800T	MRSA485	MRSA251	MRSA860
1つのパスで除去された%	62%	85%	59%	70%

【0113】

10

イン・ビトロの血液試験では、MRSAの85%を媒体を通る単一パスによって除去した(表2)。

【0114】

【表 2】

表 2. 薬剤感受性及び薬剤耐性両方の病原体の除去

細菌	% 減少	能力 (CFU/g)
グラム陽性菌		
MRSA	91.57%	3.69E+05
肺炎レンサ球菌	53.06%	1.73E+05
E. フェカリス	99.04%	2.12E+06
E. フェカリス (VRE)	91.25%	1.88E+06
E. フェシウム	56.38%	1.72E+06

20

【0115】

細菌の出発濃度は 5×10^6 CFU/mL であった。結合MRSAに加えて、PCR分析はヘパリン化された表面が殺菌性ではないことを示した。これは、受容者に対して炎症性及び毒性であり得る(死んだ)細菌の細胞成分が、細菌が媒体に付着した際に血液に放出されないことを示す重要な発見である。

30

【0116】

追加の試験を、ヘパリン化された媒体に対する様々な病原体の親和性 (affinity) を試験するために行った。これらの試験では、2.5 mL のフィルターシリンジをヘパリン化された媒体又は対照媒体で満たし、様々なグラム陰性及びグラム陽性菌の除去を試験した。細菌を標準的な方法を用いて培養し、脱繊維ウマ血液で希釈した。その後血液を合計3回生理食塩水ですすいだ媒体を通過させ、次いでCFUカウントのためにプレートングした。標的とされたCFU/mL濃度は抗菌試験に典型的であり、 10^5 から 10^6 CFU/mL の範囲であった。

【0117】

40

ヘパリン化された媒体を使用して病原体の除去を報告する集計表を表2に示す。

【0118】

B. 予想外の結果

ヘパリン又はヘパリン硫酸に対して親和性がほとんどないか、ない、又は未知の親和性を有すると文献に報告されたいくつかの病原体を、ヘパリン結合病原体のために使用したものと同一プロトコルを用いて試験した。表3はこれらの細菌及びその結果を示す。驚くべきことに、多くのグラム陰性菌及びそれらの薬剤耐性株を血液から高濃度で除去した。

【0119】

【表 3】

表 3. ヘパリン化された表面を使用するグラム陰性菌の予想外の除去

グラム陰性菌	% 減少	能力 (CFU/ g)
肺炎桿菌 (CRE)	99.94%	4.66E+05
肺炎桿菌	36.57%	4.90E+05
大腸菌 (CRE)	99.93%	8.56E+05
大腸菌	99.75%	2.04E+06
A. バウマニ	79.13%	4.83E+05

10

【0120】

結論

結果は、ヘパリン化された媒体が血液から広域スペクトルの細菌を除去する極度に高い能力を有することを示す。予想外に、ヘパリン又はヘパリン硫酸に対して親和性が知られていないかほとんど親和性を有さないいくつかの細菌も除去された。それゆえ、多くの病原体がヘパリン化された表面化学に向かって有しても有さなくてもよい親和性に関して予測可能性がほとんどない。報告されたヘパリン結合病原体を含むいくつかのグラム陽性菌の吸着は、これらの病原体がヘパリン化された表面に特異的に結合することを示唆する。特定の理論に拘束されることなく、吸着媒体上の親水性表面、例えば中性又はカチオン性表面は、ヘパリン又はヘパラン硫酸に対する親和性が知られていない（又は低い親和性の）細菌を除去するために使用することができると考えられる。あるいは、上記のグラム陰性菌の結合は特異的部位との相互作用を介して、又は非特異的結合を介してもよい。吸着媒体の表面トポグラフィーはこの結合に重要であり得る。

20

【0121】

実施例 2 . 親水性表面を有する吸着媒体

本実施例は、全血又は血清から細菌を除去するために使用することができ、親水性表面を含む吸着媒体を示す。

【0122】

本明細書に記載される吸着媒体は、病原体、例えばヘパリンに対して親和性を有さない又は低い親和性を有するものへの、その結合を可能にする表面トポグラフィーを含む（図 1 A）。特定の理論に拘束されることなく、粗い、でこぼこの又は波状の（*undulating*）表面は吸着媒体への細菌の親和性に寄与し得ると考えられる。

30

【0123】

図 1 B は比較のためにヒト血液塗抹標本の画像を示す。図 2 は細菌、例えば、黄色ブドウ球菌及びクラミジア、ならびにウイルス、例えばボックスウイルス、ヘルペスウイルス、インフルエンザウイルス、及びピコナウイルス（ポリオ）のサイズ比較を示す。

【0124】

実施例 3 . 高線流速の体外治療における使用のための血液フィルター

本実施例は、高線流速に対応するために使用される体外フィルターカートリッジの例示的な設計を提供する。

40

【0125】

体外血液フィルターは、一般的なポンプシステムで用いられる特定の流量で安全に作動するように設計することができる。血液フィルターにわたる圧力低下が高すぎると、溶血が発生する可能性がある。典型的に、透析システムは溶血のリスクを避けるために 34 kPa 未満の圧力で作動する。

【0126】

充填された吸着媒体で満たされたカートリッジについて、カートリッジにわたる圧力低下は流量、粒子サイズ、粒子弾性率、充填された媒体の高さ、及び血液の粘度に依存する

50

。フィルター媒体が十分に硬質でない場合、危険な圧力につながり得る多孔性の減少をもたらす血流の増加による媒体の圧縮が起こる可能性がある。

【 0 1 2 7 】

決定する最初の変数は、特定のカラムの高さ及び線流速に許容可能な最小粒子サイズである。透析システムの典型的な流量は、カートリッジの直径に応じておよそ 8 から 30 cm / 分の線流速に相当する、100 から 400 ml / 分である。心肺 (cardiopulmonary) バイパス (CPB) 及び体外式膜型人工肺 (extracorporeal membrane oxygenators) (ECMO) の典型的な体積流量は、5000 ml / 分までとすることができる。したがって、カートリッジ幅に応じて、線流速は 1000 cm / 分に達し得た。カートリッジがより幅広に作られている場合、線流速は圧力を低下させるために減少され得る。

10

【 0 1 2 8 】

線流速及び粒子サイズに基づいて最小粒子サイズを決定するには、溶血を引き起こす可能性がある圧力を超えないことが必要である。Blake - Kozeny の式は硬質固体の充填された媒体にわたる圧力低下を説明する。

【 0 1 2 9 】

【 数 1 】

$$\Delta P = \mu * \left(\frac{Ko}{d_p^2} \right) \frac{(1 - \varepsilon)^2}{\varepsilon^2} L * u$$

20

【 0 1 3 0 】

式中、 μ は血液の粘度であり； K_o は定数； d_p は粒子の直径； ε は格子間ベッドの空隙率又は空隙容積； L は充填された媒体の高さ；そして u は線流速である。

【 0 1 3 1 】

当該式を d_p について解くことができる。

【 0 1 3 2 】

【 数 2 】

$$d_p = \sqrt{\frac{\mu * Ko}{\Delta P} * \frac{(1 - \varepsilon)^2}{\varepsilon^2} L * u}$$

30

【 0 1 3 3 】

34 kPa が最大許容圧力である場合、次いで以下の変数を流量及びカラムの高さの関数として粒子サイズを決定するために使用する。

40

【 0 1 3 4 】

【数 3】

$$\begin{aligned}
 \mu &= 4 \text{ cp} && \text{血液の粘度} \\
 K_o &= 150 && \text{定数} \\
 \varepsilon &= 0.36 && (\text{充填効率に応じて0.3} \sim 0.5 \text{に及ぶことができる}) \\
 \Delta P &= 34 \text{ kPa} && \text{最大許容圧力} \\
 &= 255 \text{ mmHg} \\
 &= 4.9 \text{ PSI}
 \end{aligned}$$

10

$$\frac{(1 - \varepsilon)^2}{\varepsilon^2} = 8.78$$

$$\frac{\mu * K_o}{\Delta P} = 1.76E-05$$

【0 1 3 5】

所与の線速度及びカラムの高さについての最小ビーズ直径を表 4 に示す。

【0 1 3 6】

20

【表 4】

表 4. 低体積流量
ビーズ直径 (ミクロン)

u (cm/分)		L (cmでのカラムの高さ)				
		3	5	10	20	30
1		22	28	39	56	68
3		37	48	68	96	118
5		48	62	88	124	152
7		57	74	104	147	180
9		65	83	118	167	205
11		72	92	131	185	226
13		78	100	142	201	246
15		83	108	152	216	264
17		89	115	162	230	281
19		94	121	172	243	297
21		99	128	180	255	312
23		103	133	189	267	327
25		108	139	197	278	341
27		112	145	205	289	354
29		116	150	212	300	367
31		120	155	219	310	380

30

40

【0 1 3 7】

しかしながら、効果的な孔サイズは血液細胞の通過を阻止するほど小さすぎてはいけ
ないので、血液細胞の大きさも考慮され得る。マクロファージは血液中の最も大きな細胞で
あり、約 21 ミクロンであるので、これらの細胞がフィルター媒体を通過することが認め
られていることが重要である (図 3)。

50

【 0 1 3 8 】

図 3 中の「 a 」によって表されたスロート (t h r o a t) サイズ、すなわち、充填された媒体中のビーズ間の最小開口部は、以下により詳細に説明される。ネック (n e c k) サイズは以下の式によって計算することができる。

【 0 1 3 9 】

【 数 4 】

$$a = d_p * \frac{2\sqrt{3}}{3} - 1$$

10

【 0 1 4 0 】

その結果、最小ネックサイズは少なくとも 2 1 ミクロンでなければならない。それゆえ、最小ビーズサイズは、以下：

【 0 1 4 1 】

【 数 5 】

$$d_{pmin} = \frac{a}{\frac{2\sqrt{3}}{3} - 1}$$

20

【 0 1 4 2 】

ここで、 $d_{pmin} = 136$ ミクロン

【 0 1 4 3 】

したがって、最小許容サイズは 136 ミクロンである。表 5 は、直径が 136 μm に等しい又はそれよりも大きいビーズに有用な線流速及びカラムの高さを示す。

【 0 1 4 4 】

【表 5】

表 5. 直線流及びカラムの高さに関連するビーズサイズ
 ビーズ直径 (ミクロン) ビーズ直径 (ミクロン)

L (cmでのカラムの高さ)						L (cmでのカラムの高さ)					
u (cm/分)	3	5	10	20	30	u (cm/分)	3	5	10	20	30
1	136	136	136	136	136	1	136	136	136	136	136
3	136	136	136	136	136	76	188	243	343	485	594
5	136	136	136	136	152	151	265	342	484	684	838
7	136	136	136	147	180	226	324	418	592	837	1025
9	136	136	136	167	205	301	374	483	683	966	1183
11	136	136	136	185	226	376	418	540	763	1079	1322
13	136	136	142	201	246	451	458	591	836	1182	1448
15	136	136	152	216	264	526	494	638	903	1277	1564
17	136	136	162	230	281	601	529	682	965	1365	1671
19	136	136	172	243	297	676	561	724	1023	1447	1773
21	136	136	180	255	312	751	591	763	1079	1525	1868
23	136	136	189	267	327	826	620	800	1131	1600	1959
25	136	139	197	278	341	901	647	835	1181	1671	2046
27	136	145	205	289	354	976	674	870	1230	1739	2130
29	136	150	212	300	367	1051	699	902	1276	1805	2210
31	136	155	219	310	380	1126	723	934	1321	1868	2288

10

20

【0145】

図 4 は表 5 のプロットを表す。プロットは、y 軸上に最小ビーズサイズ、x 軸上に線流速、そして z 軸上にカラムの高さを示す。ビーズサイズのカットオフは 136 ミクロンであるので、図 4 は 6 つの異なるグレーの色調を有する。それゆえ、そのサイズ未満のビーズを表す色調は表されていない（例えば 0 ~ 50 及び 50 ~ 100）。

【0146】

30

データを非ビーズ材料、例えば織られた糸又は繊維の最小孔開口部サイズを決定するために使用した。以下の表（表 6）は、カラムの高さ及び線流速に関連する対応する孔開口部の最小サイズを提供する。

【0147】

【表 6】

表 6. 非ビーズ材料のための巨視的な孔サイズ

巨視的な孔サイズ

u (cm/分)	L (cmでのカラムの高さ)				
	3	5	10	20	30
1	21	21	21	21	21
3	21	21	21	21	21
5	21	21	21	21	24
7	21	21	21	23	28
9	21	21	21	26	32
11	21	21	21	29	35
13	21	21	22	31	38
15	21	21	24	33	41
17	21	21	25	36	43
19	21	21	27	38	46
21	21	21	28	39	48
23	21	21	29	41	51
25	21	22	30	43	53
27	21	22	32	45	55
29	21	23	33	46	57
31	21	24	34	48	59

u (cm/分)	L (cmでのカラムの高さ)				
	3	5	10	20	30
1	21	21	21	21	21
76	29	38	53	75	92
151	41	53	75	106	130
226	50	65	92	129	159
301	58	75	106	149	183
376	65	83	118	167	205
451	71	91	129	183	224
526	76	99	140	197	242
601	82	106	149	211	259
676	87	112	158	224	274
751	91	118	167	236	289
826	96	124	175	247	303
901	100	129	183	258	317
976	104	135	190	269	329
1051	108	140	197	279	342
1126	112	144	204	289	354

10

20

【0148】

吸着媒体が圧縮可能な場合、巨視的な孔サイズは血流のせん断応力に起因して流量に応じて減少するであろう。圧縮可能な媒体は、所望の流量のために表 6 で計算された最小孔サイズを達成するために「予備圧縮」することができる。ゆるく充填された圧縮可能な媒体のために、巨視的な孔サイズは流動条件下で表 6 の値未満に減少してはならず、さもなければシステムの圧力は上昇することになり、溶血をもたらす得、そしてマクロファージも濾過で取り除かれることになる。

30

【0149】

粒子サイズ及び / 又は巨視的な孔サイズを決定することに加えて、体外フィルターカートリッジの直径（例えば、内径）を決定することができる。表 7 は、特定の体積流量で必要とされる線流速を達成するために必要な有用なカートリッジの直径を提供する。

【0150】

【表 7】

表 7. カートリッジの直径

		カートリッジの直径 (cm)								カートリッジの直径 (cm)					
		所望の体積流量 (ml/min)								所望の体積流量 (ml/min)					
u (cm/分)		50	100	150	300	500	1000	u (cm/分)		500	1000	2000	3000	4000	5000
1	14.1	20.0	24.5	34.6	44.7	63.2		1	44.7	63.2	89.4	109.5	126.5	141.4	
3	8.2	11.5	14.1	20.0	25.8	36.5		76	5.1	7.3	10.3	12.6	14.5	16.2	
5	6.3	8.9	11.0	15.5	20.0	28.3		151	3.6	5.1	7.3	8.9	10.3	11.5	
7	5.3	7.6	9.3	13.1	16.9	23.9		226	3.0	4.2	5.9	7.3	8.4	9.4	
9	4.7	6.7	8.2	11.5	14.9	21.1		301	2.6	3.6	5.2	6.3	7.3	8.2	
11	4.3	6.0	7.4	10.4	13.5	19.1		376	2.3	3.3	4.6	5.6	6.5	7.3	
13	3.9	5.5	6.8	9.6	12.4	17.5		451	2.1	3.0	4.2	5.2	6.0	6.7	
15	3.7	5.2	6.3	8.9	11.5	16.3		526	1.9	2.8	3.9	4.8	5.5	6.2	
17	3.4	4.9	5.9	8.4	10.8	15.3		601	1.8	2.6	3.6	4.5	5.2	5.8	
19	3.2	4.6	5.6	7.9	10.3	14.5		676	1.7	2.4	3.4	4.2	4.9	5.4	
21	3.1	4.4	5.3	7.6	9.8	13.8		751	1.6	2.3	3.3	4.0	4.6	5.2	
23	2.9	4.2	5.1	7.2	9.3	13.2		826	1.6	2.2	3.1	3.8	4.4	4.9	
25	2.8	4.0	4.9	6.9	8.9	12.6		901	1.5	2.1	3.0	3.6	4.2	4.7	
27	2.7	3.8	4.7	6.7	8.6	12.2		976	1.4	2.0	2.9	3.5	4.0	4.5	
29	2.6	3.7	4.5	6.4	8.3	11.7		1051	1.4	2.0	2.8	3.4	3.9	4.4	
31	2.5	3.6	4.4	6.2	8.0	11.4		1126	1.3	1.9	2.7	3.3	3.8	4.2	

10

20

【0151】

考慮すべき別の要因は体外装置で使用する総血液量である。例えば、体外循環処置中に体から除去される総容量は典型的に患者の血液の 8 ~ 10 % 以下である。平均的な成人にとって、これは 500 ml の血液に相当する。典型的な透析カートリッジ及びチューブの血液量は 250 ~ 300 ml の範囲とすることができる。透析カートリッジが吸着カートリッジと直列で 사용되는場合、吸着カートリッジの血液量は 200 ml 以下であるべきである。本発明の吸着カートリッジのための実用的な寸法を表 8 に示す。

【0152】

【表 8】

30

表 8. 充填されたカートリッジの血液量 (ml) - 0.36 空隙容積率

直径	カラムの高さ (cm)				
	3	5	10	20	30
1	0.84834	1.4139	2.8278	5.6556	8.4834
5	21.2085	35.3475	70.695	141.39	212.085
10	84.834	141.39	282.78	565.56	848.34
15	190.8765	318.1275	636.255	1272.51	1908.765
20	339.336	565.56	1131.12	2262.24	3393.36

40

【0153】

本実施例は、上述の吸着媒体及び吸着カートリッジの例示的な実施形態を提供する。当該吸着媒体は、5000 ml / 分までの体積流量及び 1000 cm / 分までの線流速で体外治療に使用することができる。

【0154】

実施例 4 . C 型肝炎ウイルス及び B 型肝炎ウイルスの除去のための血液フィルター

本実施例は、C 型肝炎ウイルス及び B 型肝炎ウイルスを除去するために使用される体外フィルターカートリッジを提供する。本実施例では、吸着媒体を混合する。混合された媒

50

体は、ヘパリン化された (heparinized) ポリエチレンビーズ：セルロースゲルに固定されたプロテインAの70：30の比を含む。

【0155】

ヘパリン化されたPEビーズは、アミノ化PEビーズ上に亜硝酸分解ヘパリンの共有エンドポイント結合を有する。ヘパリン化されたPEビーズは2.6mgヘパリン/gビーズを含む。

【0156】

アミノ化PEビーズ上の亜硝酸分解ヘパリンの共有エンドポイント結合を、0.1Mの酢酸緩衝液pH4.0(100ml)及び亜硝酸分解ヘパリン(1.6g)を用いて調製する。15分間の振とう後、0.1Mの酢酸緩衝液pH4.0(10ml)中に溶解したNaBH₃CN(100mg)を添加する。反応混合物を24時間室温で振とうし、追加の0.1Mの酢酸緩衝液pH4.0(10ml)中に溶解したNaBH₃CN(100mg)を添加し、さらに24時間室温で振とうを続けて、ヘパリンの共有エンドポイント結合を生じる。

10

【0157】

0.05Mのホウ酸緩衝液(pH10.0)の0.5ml中にプロテインA(Sigma)の4mgを溶解し、そして、pHを10とし、かつ1.0mlの総容量となるように0.01NのNaOH/水を加える(プロテインA溶液)。このプロテイン溶液(総量)をエポキシ活性化セルロースゲルの1mlに加え、混合物を37℃で16時間振とうし、十分な量のPBS(150mMの塩化ナトリウムを添加した10mMのリン酸緩衝液)で洗浄して、GCL 2000m - プロテインAを得る。

20

【0158】

混合吸着媒体を、血液からC型肝炎ウイルス及びB型肝炎ウイルスを除去するために使用する。

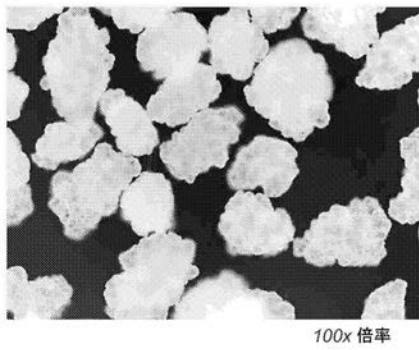
【0159】

本明細書に記載された実施例及び実施形態は例示の目的のみのためであり、種々の修正又は変更がその観点から当業者に示唆されることとなり、そして本願の趣旨及び範囲ならびに添付の特許請求の範囲内に含まれることになることが理解される。本明細書で引用した全ての刊行物、特許、及び特許出願は全ての目的のためにその全体が参照により援用される。

30

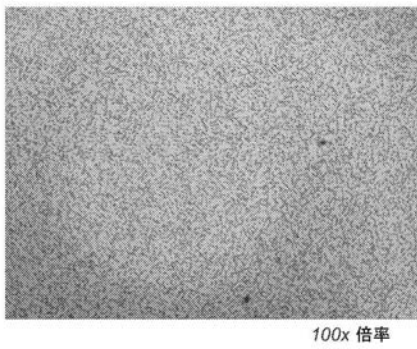
【 図 1 A 】

FIG. 1A



【 図 1 B 】

FIG. 1B



【 図 2 】

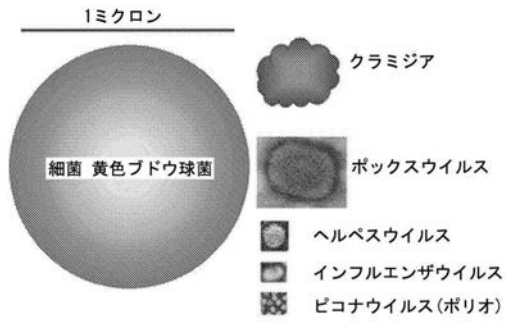


FIG. 2

【 図 3 】

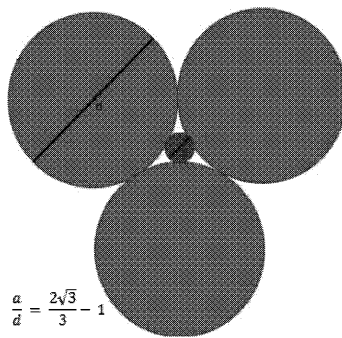


FIG. 3

【 図 4 】

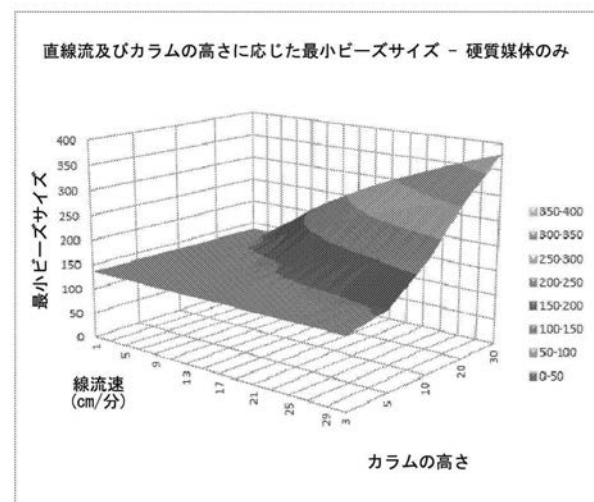


FIG. 4

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US15/26340																		
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61M 1/36 (2015.01) CPC - A61M 1/36 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): A61K 31/70; A61M 1/36, 5/00; B01D 61/00 (2015.01) CPC: A61K 31/60, 31/722, 31/727; A61M 1/36 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) PatSeer (US, EP, WO, JP, DE, GB, CN, FR, KR, ES, AU, IN, CA, INPADOC Data); Dialog ProQuest; IP.com; Google; Google Scholar; 'ex vivo,' remove, bacteria, infection, rigid, bead, separate, sample																				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category*</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>US 2011/0184377 A1 (WARD, RS et al.) July 28, 2011; abstract; paragraphs [0010], [0016], [0018], [0022], [0023], [0025], [0031], [0033], [0045], [0047], [0051], [0052], [0067], [0069], [0074], [0079], [0080], [0109]; Claim 26</td> <td>1-10, 14-31, 34-41, 46-48 11-13, 32, 33, 42-45</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 5476509 A (KEOGH, JR et al.) December 19, 1995; column 1, lines 66-67 to column 2, lines 1-8; column 12, lines 29-31; column 12, lines 40-41</td> <td>11</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 2007/0190050 A1 (DAVIDNER, AA et al.) August 16, 2007; abstract; paragraph [0087]</td> <td>12, 13, 32, 33</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 2013/0131423 A1 (WANG, Y et al.) May 23, 2013; abstract; paragraph [0130]</td> <td>42, 43</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 2005/0098500 A1 (COLLINS, G et al.) May 12, 2005; abstract; figure 1, paragraph [0035]</td> <td>44, 45</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X	US 2011/0184377 A1 (WARD, RS et al.) July 28, 2011; abstract; paragraphs [0010], [0016], [0018], [0022], [0023], [0025], [0031], [0033], [0045], [0047], [0051], [0052], [0067], [0069], [0074], [0079], [0080], [0109]; Claim 26	1-10, 14-31, 34-41, 46-48 11-13, 32, 33, 42-45	Y	US 5476509 A (KEOGH, JR et al.) December 19, 1995; column 1, lines 66-67 to column 2, lines 1-8; column 12, lines 29-31; column 12, lines 40-41	11	Y	US 2007/0190050 A1 (DAVIDNER, AA et al.) August 16, 2007; abstract; paragraph [0087]	12, 13, 32, 33	Y	US 2013/0131423 A1 (WANG, Y et al.) May 23, 2013; abstract; paragraph [0130]	42, 43	Y	US 2005/0098500 A1 (COLLINS, G et al.) May 12, 2005; abstract; figure 1, paragraph [0035]	44, 45
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.																		
X	US 2011/0184377 A1 (WARD, RS et al.) July 28, 2011; abstract; paragraphs [0010], [0016], [0018], [0022], [0023], [0025], [0031], [0033], [0045], [0047], [0051], [0052], [0067], [0069], [0074], [0079], [0080], [0109]; Claim 26	1-10, 14-31, 34-41, 46-48 11-13, 32, 33, 42-45																		
Y	US 5476509 A (KEOGH, JR et al.) December 19, 1995; column 1, lines 66-67 to column 2, lines 1-8; column 12, lines 29-31; column 12, lines 40-41	11																		
Y	US 2007/0190050 A1 (DAVIDNER, AA et al.) August 16, 2007; abstract; paragraph [0087]	12, 13, 32, 33																		
Y	US 2013/0131423 A1 (WANG, Y et al.) May 23, 2013; abstract; paragraph [0130]	42, 43																		
Y	US 2005/0098500 A1 (COLLINS, G et al.) May 12, 2005; abstract; figure 1, paragraph [0035]	44, 45																		
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.																				
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family																				
Date of the actual completion of the international search 07 July 2015 (07.07.2015)		Date of mailing of the international search report 28 JUL 2015																		
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Shane Thomas PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774																		

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, ST, 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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, 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, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(74)代理人 100117019

弁理士 渡辺 陽一

(74)代理人 100150810

弁理士 武居 良太郎

(74)代理人 100203828

弁理士 喜多村 久美

(72)発明者 キース マックレア

アメリカ合衆国, カリフォルニア 9 4 7 1 0 , バークリー , ヘインズ アベニュー 8 1 3

(72)発明者 ロバート ワード

アメリカ合衆国, カリフォルニア 9 4 7 1 0 , バークリー , ヘインズ アベニュー 8 1 3

Fターム(参考) 4C077 AA03 AA05 AA12 BB01 BB02 BB03 EE01 MM03 MM09 NN15

PP07 PP14