

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2016-190824

(P2016-190824A)

(43) 公開日 平成28年11月10日(2016.11.10)

(51) Int.Cl. F 1 テーマコード (参考)
A 6 1 K 35/19 (2015.01) A 6 1 K 35/19 A 4 C 0 8 7
A 6 1 P 7/04 (2006.01) A 6 1 P 7/04

審査請求 未請求 請求項の数 10 O L (全 22 頁)

(21) 出願番号 特願2015-72792 (P2015-72792)
 (22) 出願日 平成27年3月31日 (2015.3.31)

(71) 出願人 000003159
 東レ株式会社
 東京都中央区日本橋室町2丁目1番1号
 (74) 代理人 100080621
 弁理士 矢野 寿一郎
 (72) 発明者 津田 雄一郎
 滋賀県大津市大江一丁目1番45号 東レ
 エンジニアリング株式会社内
 (72) 発明者 松村 淳一
 滋賀県大津市大江一丁目1番45号 東レ
 エンジニアリング株式会社内
 (72) 発明者 井中 千草
 滋賀県大津市大江一丁目1番45号 東レ
 エンジニアリング株式会社内

最終頁に続く

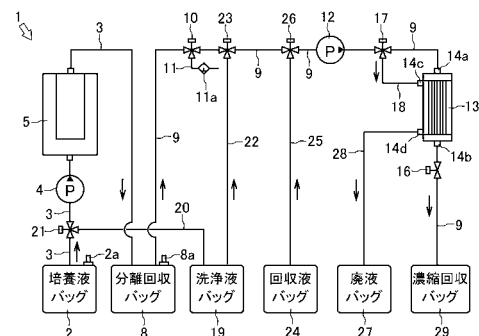
(54) 【発明の名称】 血小板製剤の製造方法および製造装置、およびこの製造方法またはこの製造装置で製造された血小板製剤

(57) 【要約】

【課題】 巨核球と血小板とが含まれる液体から効率的に血小板のみを回収、濃縮および洗浄できる血小板製剤の製造方法および製造装置、およびこの製造方法またはこの製造装置で製造された血小板製剤を提供することである。

【解決手段】 液体中にある分離部材である分離膜7に巨核球と血小板とが含まれる液体である培養液を通過させ、分離膜7により巨核球を捕捉して巨核球と血小板とを分離する分離工程と、液体中にある濃縮ユニット13の中空糸膜15aに分離工程で分離した血小板が含まれる培養液を通過させ、濃縮ユニット13の中空糸膜15aにより血小板を捕捉した後回収用の液体である回収液で捕捉した血小板を回収することで単位体積中に含まれる血小板数を増加させる濃縮工程と、濃縮工程に供給する血小板が含まれる液体の量を調整する供給量調整工程と、からなる。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

液体中にある分離部材に巨核球と血小板とが含まれる液体を通過させ、分離部材により巨核球を捕捉して巨核球と血小板とを分離する分離工程と、液体中にある濃縮部材に分離工程で分離した血小板が含まれる液体を通過させ、濃縮部材により血小板を捕捉した後に回収用の液体で捕捉した血小板を回収することで単位体積中に含まれる血小板数を増加させる濃縮工程と、濃縮工程に供給する血小板が含まれる液体の量を調整する供給量調整工程と、からなる血小板製剤の製造方法。

【請求項 2】

前記分離工程において、前記分離部材により巨核球を捕捉して巨核球と血小板とを分離するとともに巨核球に液体の流れによる外力を加えて巨核球から血小板を産生させる請求項 1 に記載の血小板製剤の製造方法。

10

【請求項 3】

前記分離工程において、巨核球と血小板とが含まれる液体の供給が完了した後に液体を供給して前記分離部材を通過していない巨核球と血小板とが含まれる液体を分離部材に通過させる請求項 1 または請求項 2 に記載の血小板製剤の製造方法。

【請求項 4】

前記濃縮工程において、前記濃縮部材である中空糸膜の内部に分離した血小板が含まれる液体を供給し、中空糸膜によって血小板を捕捉した後に液体を中空糸膜の内部に供給して捕捉した血小板を洗浄する請求項 1 から請求項 3 のいずれか一項に記載の血小板製剤の製造方法。

20

【請求項 5】

前記濃縮工程において、前記濃縮部材である中空糸膜の内部に分離した血小板が含まれる液体を供給し、中空糸膜によって血小板を捕捉した後に液体を中空糸膜の内部に供給して捕捉した血小板を回収する請求項 1 から請求項 4 のいずれか一項に記載の血小板製剤の製造方法。

【請求項 6】

前記濃縮工程において、中空糸膜の外部の液体を排出した状態で中空糸膜の内部に液体を供給することによって捕捉した血小板を回収し、更に中空糸膜の内部に空気を供給して残留している血小板を回収する請求項 4 または請求項 5 に記載の血小板製剤の製造方法。

30

【請求項 7】

前記濃縮工程によって単位体積中に含まれる血小板数を増加させた液体を液体中にある再分離部材に通過させることによって残留している巨核球を捕捉して巨核球と血小板とを分離する再分離工程をさらに実施する請求項 1 から請求項 6 のいずれか一項に記載の血小板製剤の製造方法。

【請求項 8】

前記供給量調整工程によって濃縮工程に供給する血小板が含まれる液体の量を調整し、前記分離工程と前記濃縮工程とを並行して実施する請求項 1 から請求項 7 のいずれか一項に記載の血小板製剤の製造方法。

【請求項 9】

液体中に巨核球を捕捉可能な分離部材が設けられ、液体中に供給された巨核球と血小板とが含まれる液体を分離部材に通過させることで巨核球を捕捉して巨核球と血小板とを分離する分離手段と、

40

巨核球と血小板とが含まれる液体および血小板を回収する液体を分離手段に供給する分離供給手段と、

液体中に血小板を捕捉可能な濃縮部材である中空糸膜が設けられ、液体に供給された血小板が含まれる液体を中空糸膜の内部に通過させることで血小板を捕捉して血小板数を増加させる濃縮手段と、

血小板数を増加させた液体、血小板を洗浄する液体および血小板を回収する液体を中空糸膜の内部に供給する濃縮供給手段と、

50

分離手段と濃縮手段とに接続され、分離手段から回収した血小板が含まれる液の量と濃縮手段の稼働状態から濃縮手段に供給する血小板が含まれる液の量を調整する供給量調整手段と、からなる血小板製剤の製造装置。

【請求項 10】

請求項 1 から請求項 8 のいずれか一項に記載の血小板製剤の製造方法または請求項 9 に記載の血小板製剤の製造装置で製造された血小板製剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、血小板製剤の製造方法、製造装置および血小板製剤に関する。詳しくは、i P S 細胞から誘導された巨核球から産生された血小板からなる血小板製剤を製造する方法および製造装置、およびこの製造方法またはこの製造装置で製造された血小板製剤に関する。

【背景技術】

【0002】

従来、体液や組織から採取した細胞の中から有用な細胞を分離し、増殖させる方法や装置が公知である。例えば特許文献 1 の如くである。特許文献 1 に記載の細胞培養装置は、細胞分離キットによって分離した特定の細胞を細胞培養容器で培養し、細胞回収キットによって洗浄、濃縮するものである。

【0003】

一方、巨核球から血小板を産生する技術が知られている。血小板は、無核細胞であるため、血小板のみを培養して増殖させることができない。このため、有核細胞である巨核球を i P S 細胞から分化誘導により生成し、培養により増殖させた後に巨核球から血小板を産生させている。従って、血小板は、巨核球の培養液中で産生されるので、血小板を産生せずに残留している巨核球と混在した状態で存在している。特許文献に記載の技術は、分離した特定の有核細胞を培養により増殖させて回収する技術であるため、血小板のような無核細胞を異なる種類の細胞である巨核球と混在している培養液中から効率よく回収できない点で不利であった。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献 1】国際公開第 2012/002497 号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明の目的は、巨核球と血小板とが含まれる液体から効率的に血小板のみを回収、濃縮および洗浄できる血小板製剤の製造方法および製造装置、およびこの製造方法またはこの製造装置で製造された血小板製剤を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明の解決しようとする課題は以上の如くであり、次にこの課題を解決するための手段を説明する。

【0007】

即ち、本発明は、液体中にある分離部材に巨核球と血小板とが含まれる液体を通過させ、分離部材により巨核球を捕捉して巨核球と血小板とを分離する分離工程と、液体中にある濃縮部材に分離工程で分離した血小板が含まれる液体を通過させ、濃縮部材により血小板を捕捉した後に回収用の液体で捕捉した血小板を回収することで単位体積中に含まれる血小板数を増加させる濃縮工程と、濃縮工程に供給する血小板が含まれる液体の量を調整する供給量調整工程と、からなる血小板製剤の製造方法である。

【0008】

本発明は、前記分離工程において、前記分離部材により巨核球を捕捉して巨核球と血小板とを分離するとともに巨核球に液体の流れによる外力を加えて巨核球から血小板を産生させるものである。

【0009】

本発明は、前記分離工程において、巨核球と血小板とが含まれる液体の供給が完了した後に液体を供給して前記分離部材を通過していない巨核球と血小板とが含まれる液体を分離部材に通過させるものである。

【0010】

本発明は、前記濃縮工程において、前記濃縮部材である中空糸膜の内部に分離した血小板が含まれる液体を供給し、中空糸膜によって血小板を捕捉した後に液体を中空糸膜の内部に供給して捕捉した血小板を洗浄するものである。

10

【0011】

本発明は、前記濃縮工程において、前記濃縮部材である中空糸膜の内部に分離した血小板が含まれる液体を供給し、中空糸膜によって血小板を捕捉した後に液体を中空糸膜の内部に供給して捕捉した血小板を回収するものである。

【0012】

本発明は、前記濃縮工程において、中空糸膜の外部の液体を排出した状態で中空糸膜の内部に液体を供給することによって捕捉した血小板を回収し、更に中空糸膜の内部に空気を供給して残留している血小板を回収するものである。

【0013】

本発明は、前記濃縮工程によって単位体積中に含まれる血小板数を増加させた液体を液体中にある再分離部材に通過させることによって残留している巨核球を捕捉して巨核球と血小板とを分離する再分離工程をさらに実施するものである。

20

【0014】

本発明は、前記供給量調整工程によって濃縮工程に供給する血小板が含まれる液体の量を調整し、前記分離工程と前記濃縮工程とを並行して実施するものである。

【0015】

本発明は、液体中に巨核球を捕捉可能な分離部材が設けられ、液体中に供給された巨核球と血小板とが含まれる液体を分離部材に通過させることで巨核球を捕捉して巨核球と血小板とを分離する分離手段と、巨核球と血小板とが含まれる液体および血小板を回収する液体を分離手段に供給する分離供給手段と、液体中に血小板を捕捉可能な濃縮部材である中空糸膜が設けられ、液体に供給された血小板が含まれる液体を中空糸膜の内部に通過させることで血小板を捕捉して血小板数を増加させる濃縮手段と、血小板数を増加させた液体、血小板を洗浄する液体および血小板を回収する液体を中空糸膜の内部に供給する濃縮供給手段と、分離手段と濃縮手段とに接続され、分離手段から回収した血小板が含まれる液の量と濃縮手段の稼働状態から濃縮手段に供給する血小板が含まれる液の量を調整する供給量調整手段と、からなるものである。

30

【0016】

本発明は、上述の血小板製剤の製造方法または上述の血小板製剤の製造装置で製造された血小板製剤である。

40

【発明の効果】

【0017】

本発明は、以下に示すような効果を奏する。

【0018】

本発明においては、分離および濃縮を効率的に行い、血小板製剤に不要な巨核球や不純物の除去と血小板の濃縮とが並行して連動するように行われる。これにより、巨核球と血小板とが含まれる液体から効率的に血小板のみを回収、濃縮および洗浄することができる。

【0019】

本発明においては、分離後の液体中に含まれる血小板の数が増加する。これにより、巨

50

核球と血小板とが含まれる液体から効率的に血小板のみを回収、濃縮および洗浄することができる。

【0020】

本発明においては、分離されない血小板の数が減少する。これにより、巨核球と血小板とが含まれる液体から効率的に血小板のみを回収、濃縮および洗浄することができる。

【0021】

本発明においては、血小板の濃縮時に不純物の除去が行われる。これにより、巨核球と血小板とが含まれる液体から効率的に血小板のみを回収、濃縮および洗浄することができる。

【0022】

本発明においては、中空糸膜の内部に残留する血小板が減少する。これにより、巨核球と血小板とが含まれる液体から効率的に血小板のみを回収、濃縮および洗浄することができる。

【0023】

本発明においては、中空糸膜の内部に残留する血小板がさらに減少する。これにより、巨核球と血小板とが含まれる液体から効率的に血小板のみを回収、濃縮および洗浄することができる。

【0024】

本発明においては、残留している巨核球が短時間に除去される。これにより、巨核球と血小板とが含まれる液体から効率的に血小板のみを回収、濃縮および洗浄することができる。

【0025】

本発明においては、血小板の濃縮工程での滞留時間が短縮されるとともに生産量が増加する。これにより、巨核球と血小板とが含まれる液体から効率的に血小板のみを回収、濃縮および洗浄することができる。

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図1】本発明の第一実施形態に係る血小板製剤製造装置の全体構成を示す概略図。

【図2】本発明の第一実施形態に係る血小板製剤製造装置における制御構成を示すブロック図。

【図3】本発明の第一実施形態に係る血小板製剤製造装置における分離ユニットの構成を示す概略図。

【図4】(a)本発明の第一実施形態に係る血小板製剤製造装置における濃縮ユニットの構成を示す概略図 (b)同じく中空糸膜におけるろ過の状態を示す模式図。

【図5】本発明の第一実施形態に係る血小板製剤製造装置において巨核球が分離膜に接触した状態を示す模式図。

【図6】本発明の第一実施形態に係る血小板製剤製造装置において旋回流によって一部の巨核球が血小板を産生している状態を示す模式図。

【図7】(a)本発明の第一実施形態に係る血小板製剤製造装置における分離工程を表すフローチャートを示す図 (b)濃縮工程(1回洗浄)を表すフローチャートを示す図。

【図8】本発明の第一実施形態に係る血小板製剤製造装置の制御態様を表すフローチャートを示す図。

【図9】本発明の第一実施形態に係る血小板製剤製造装置の分離工程の制御態様を表すフローチャートを示す図。

【図10】本発明の第一実施形態に係る血小板製剤製造装置の濃縮工程の制御態様を表すフローチャートを示す図。

【図11】本発明の第二実施形態に係る血小板製剤製造装置の全体構成を示す概略図。

【図12】本発明の第二実施形態に係る血小板製剤製造装置における濃縮工程(複数回洗浄)を表すフローチャートを示す図。

【図13】本発明の第二実施形態に係る血小板製剤製造装置の濃縮工程の制御態様を表す

10

20

30

40

50

フローチャートを示す図。

【図 1 4】本発明の第三実施形態に係る血小板製剤製造装置の全体構成を示す概略図。

【発明を実施するための形態】

【0027】

まず、図 1 から図 4 を用いて、本発明に係る血小板製剤の製造装置の第一実施形態である血小板製剤製造装置 1 について説明する。なお、以下の各実施形態において、血小板製剤製造装置 1 を構成する各部材は、特に記載がない限り、非反応性ポリマー、生体親和性金属、ガラス等のうち用途や強度から適切な材料によって構成されている。具体的には、非反応性ポリマーとしては、アクリロニトリルブタジエンスチレンターポリマー等のアクリロニトリルポリマー、ポリ塩化ビニル等のハロゲン化ポリマー、ポリアミド、ポリイミドポリカーボネート、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン等である。また、生体親和性金属としては、ステンレス鋼、チタン、白金およびこれらの合金、コバルトクロミウム合金等である。

【0028】

また、本実施形態における血小板製剤製造装置 1 は、巨核球と巨核球から産生された血小板とが含まれる液体である培養液から血小板製剤を製造するものとする。なお、培養液は、i P S 細胞由来の未熟巨核球前駆細胞から巨核球を培養する培養工程と、巨核球から血小板を産生する産生工程とを経て製造される。培養工程において、巨核球は、未熟巨核球前駆細胞を播種した培地に二酸化炭素と酸素とを供給しながら攪拌、振盪することで培養される。巨核球は、段階的に培地の容量を増加させて所定数に到達するまで培養される。そして、産生工程にて、血小板は、培養された巨核球が封入された容器である培養液バッグ 2 に二酸化炭素と酸素とを供給しながら振盪することで産生される。培養液バッグ 2 は、産生工程終了後に二酸化炭素と酸素とが排気される。

【0029】

図 1 に示すように、血小板製剤製造装置 1 は、培養液から血小板を分離し、濃縮および洗浄するものである。血小板製剤製造装置 1 は、培養液バッグ 2、分離系流路 3、分離供給手段である分離供給ポンプ 4、分離手段である分離ユニット 5、供給量調整手段である分離回収バッグ 8、濃縮系流路 9、濃縮供給手段である濃縮供給ポンプ 1 2、濃縮手段である濃縮ユニット 1 3、洗浄液バッグ 1 9、回収液バッグ 2 4、廃液バッグ 2 7、濃縮回収バッグ 2 9 および制御装置 3 0（図 2 参照）を具備している。洗浄液バッグ 1 9、回収液バッグ 2 4、廃液バッグ 2 7、濃縮回収バッグ 2 9 等は、分流型の三方弁を介して分離系流路 3 や濃縮系流路 9 に接続されている。

【0030】

培養液バッグ 2 は、成熟した巨核球と成熟した巨核球から産生された血小板とが含まれる液体（以下、単に「培養液」と記す）を貯留するものである。培養液バッグ 2 は、培養液が封入されている。また、培養液バッグ 2 は、図示しない培養装置等に接続され、培養液を供給できるように構成されていてもよい。培養液バッグ 2 は、分離系流路 3 が着脱できるように接続されている。培養液バッグ 2 には、培養液バッグ 2 内の培養液の残量 C 1 を検出する培養液量センサ 2 a が設けられている。

【0031】

分離系流路 3 は、培養液の流路である。分離系流路 3 は、分離供給ポンプ 4 を介して培養液バッグ 2 と分離ユニット 5 とを接続するように構成されている。また、分離系流路 3 は、分離ユニット 5 と分離回収バッグ 8 とを接続するように構成されている。すなわち、培養液バッグ 2 の培養液は、分離供給ポンプ 4 によって分離系流路 3 を通じて分離ユニット 5 に供給され、分離回収バッグ 8 に回収されるように構成されている。

【0032】

分離供給手段である分離供給ポンプ 4 は、培養液や洗浄液を分離ユニット 5 に供給するものである。分離供給ポンプ 4 は、例えばローラーポンプまたは連続シリンジポンプから構成されるがこれに限定するものではない。分離供給ポンプ 4 は、分離系流路 3 の途中部に設けられている。分離供給ポンプ 4 は、培養液バッグ 2 の培養液を分離ユニット 5 に供

給するように構成されている。分離供給ポンプ4は、任意の流量で培養液を分離ユニット5に供給できるように構成されている。なお、本実施形態において、血小板製剤製造装置1は、分離供給ポンプ4によって培養液を供給する構成としたがこれに限定されるものではなく、重力滴下方式等でもよい。

【0033】

分離手段である分離ユニット5は、培養液に含まれる巨核球と血小板とを分離するとともに、巨核球から血小板を産生させるものである。図3に示すように、分離ユニット5は、分離用筐体6と分離部材である分離膜7とから構成されている。分離用筐体6には、分離供給口6aと分離排出口6bとが形成され、分離系流路3がそれぞれ接続されている。分離用筐体6は、分離系流路3を通じて分離供給口6aから培養液バッグ2の培養液が供給されるとともに、分離排出口6bから分離系流路3を通じて供給量調整手段である分離回収バッグ8に培養液が排出されるように構成されている。本実施形態において、分離用筐体6は、略円筒状に形成されている。分離用筐体6は、その軸心が垂直方向に延びるようにして配置され、下面に分離供給口6aが形成され上面に分離排出口6bが形成されている。つまり、分離ユニット5は、培養液が下面から上面に向かって重力に逆らうように供給される（図3における矢印参照）。

【0034】

分離膜7は、巨核球と血小板とを分離するものである。分離膜7は、複数の不織布や網目状素材を板状に積層させたフィルター7aが培養液の流れに対抗できる程度の十分な強度を有するサポートスクリーン7bに支持されて構成されている。分離膜7は、分離用筐体6の分離供給口6aと分離排出口6bとの間に分離用筐体6を仕切るようにして分離用筐体6の内部に配置されている。本実施形態において、分離膜7は、円筒状に形成されている。分離膜7は、その側面（曲面部分）からのみ培養液が通過できるように構成されている。分離膜7は、分離供給口6aと分離排出口6bとの間を複数の区画に仕切るように配置してもよい。分離用筐体6に設けられる分離膜7の大きさや数は、分離ユニット5における培養液の流れを阻害しない程度であれば特に限定されるものではない。

【0035】

分離膜7は、フィルター7aが分離用筐体6の分離供給口6a側になるように配置されている。分離供給口6aから供給された培養液は、分離膜7を通過した後に分離用筐体6の分離排出口6bから排出される。このように構成することで、分離供給ポンプ4によって分離ユニット5に供給されている培養液の流れの中にある分離膜7のフィルター7a側（上流側）は、分離供給ポンプ4によって分離ユニット5に供給されている培養液の流れから受ける力（以下、単に「培養液の流れから受ける力」と記す）が加わっている。

【0036】

分離膜7のフィルター7aは、培養液に含まれる血小板が十分に通過でき、培養液に含まれる巨核球が通過を抑制される大きさの隙間が形成されている（図5参照）。分離膜7のサポートスクリーン7bは、格子状に形成され、フィルター7aを通過した血小板や培養液の流れを阻害しない十分な隙間を有するように構成されている。これにより、分離膜7は、培養液の流れによる力を受け止めつつ培養液に含まれる巨核球をフィルター7aで捕捉し、巨核球と血小板とを分離することができる。また、サポートスクリーン7bの形状は格子状に限定されるものではなく、フィルター7aを支持でき、かつ血小板や培養液の流れを阻害しない十分な隙間を有するものであればよい。

【0037】

供給量調整手段である分離回収バッグ8は、分離ユニット5で巨核球が分離された培養液を回収するものである。分離回収バッグ8は、分離系流路3が着脱できるように接続されている。分離回収バッグ8は、分離系流路3を通じて分離ユニット5から排出された培養液が供給されるように構成されている。さらに、分離回収バッグ8は、濃縮系流路9が接続されている。分離回収バッグ8は、濃縮系流路9を通じて培養液が濃縮手段である濃縮ユニット13に排出されるように構成されている。従って、分離ユニット5で処理された培養液は、一旦分離回収バッグ8で貯留された後に濃縮ユニット13に供給される。こ

れにより、分離回収バッグ 8 は、分離ユニット 5 で巨核球が分離された培養液を回収する回収手段としての機能と濃縮ユニット 13 に供給される培養液の流量を調整する供給量調整手段（バッファ）としての機能とを有する。つまり、分離回収バッグ 8 は、上流工程である分離工程（分離ユニット 5）の処理能力と下流工程である濃縮工程（濃縮ユニット 13）の処理能力との差を調整する供給量調整工程を担っている。分離回収バッグ 8 には、分離回収バッグ 8 内の培養液の回収量 C2 を検出する分離回収量センサ 8a が設けられている。

【0038】

濃縮系流路 9 は、巨核球が分離された培養液の流路である。濃縮系流路 9 は、濃縮供給ポンプ 12 を介して分離回収バッグ 8 と濃縮ユニット 13 とを接続するように構成されている。また、濃縮系流路 9 は、濃縮ユニット 13 と濃縮回収バッグ 29 とを接続するように構成されている。すなわち、分離回収バッグ 8 の培養液は、濃縮系流路 9 を通じて濃縮ユニット 13 に供給され、濃縮回収バッグ 29 に回収されるように構成されている。濃縮系流路 9 には、空気用三方弁 10 を介して空気流路 11 が接続されている。空気流路 11 には、無菌化されたエアフィルタ 11a が取り付けられている。濃縮系流路 9 は、空気用三方弁 10 を開状態に切り替えることによって分離回収バッグ 8 との連通が遮断され、空気流路 11 に連通される。これにより、濃縮系流路 9 には、空気用三方弁 10 の切り替えによって空気流路 11 を通じてエアフィルタ 11a から空気が供給されるように構成されている。

【0039】

濃縮供給手段である濃縮供給ポンプ 12 は、培養液、洗浄液、回収液および空気を濃縮ユニット 13 に供給するものである。濃縮供給ポンプ 12 は、例えばローラーポンプまたは連続シリンジポンプから構成されるがこれに限定するものではない。濃縮供給ポンプ 12 は、濃縮系流路 9 の途中部であって空気用三方弁 10 よりも下流側に設けられている。濃縮供給ポンプ 12 は、分離回収バッグ 8 の培養液を濃縮ユニット 13 に供給するように構成されている。濃縮供給ポンプ 12 は、任意の流量で培養液を濃縮ユニット 13 に供給できるように構成されている。なお、本実施形態において、血小板製剤製造装置 1 は、濃縮供給ポンプ 12 によって培養液を供給する構成としたがこれに限定されるものではなく、重力滴下方式等でもよい。

【0040】

濃縮手段である濃縮ユニット 13 は、培養液に含まれる血小板を濃縮するものである。図 4（a）に示すように、濃縮ユニット 13 は、濃縮用筐体 14 と濃縮部材である中空糸膜モジュール 15 とから構成されている。濃縮用筐体 14 には、中空糸膜供給口 14a と中空糸膜排出口 14b とが形成されている。中空糸膜供給口 14a には、濃縮系流路 9 が接続されている。濃縮用筐体 14 は、濃縮系流路 9 を通じて中空糸膜供給口 14a から分離回収バッグ 8 の培養液が供給される。図 1 に示すように、中空糸膜排出口 14b には、濃縮排出用二方弁 16 を介して濃縮系流路 9 が接続されている。中空糸膜排出口 14b は、濃縮排出用二方弁 16 を開状態に切り替えることによって中空糸膜モジュール 15 の中空糸膜 15a の内部の液体や血小板を外部に排出する状態に変更できるように構成されている。これにより、濃縮用筐体 14 は、濃縮排出用二方弁 16 の切り替えによって中空糸膜排出口 14b から濃縮系流路 9 を通じて濃縮回収バッグ 29 に血小板が排出されるように構成されている。

【0041】

さらに、図 1 と図 4（a）とに示すように、濃縮用筐体 14 には、筐体供給口 14c と筐体排出口 14d とが形成されている。筐体供給口 14c には、濃縮筐体用三方弁 17 を介して濃縮供給ポンプ 12 よりも下流側に濃縮筐体流路 18 が接続されている。筐体排出口 14d には、廃液流路 28 が接続されている。濃縮用筐体 14 は、濃縮筐体流路 18 を通じて筐体供給口 14c から洗浄液が供給されるとともに（図 4 白塗矢印参照）、筐体排出口 14d から廃液流路 28 を通じて培養液や洗浄液が排出されるように構成されている（薄墨矢印参照）。濃縮系流路 9 は、濃縮筐体用三方弁 17 を開状態に切り替えることに

よって中空糸膜モジュール１５との連通が遮断され、濃縮用筐体１４に連通される。これにより、濃縮用筐体１４には、濃縮筐体用三方弁１７の切り替えによって筐体供給口１４ｃから濃縮筐体流路１８を通じて洗浄液が供給されるように構成されている。つまり、濃縮用筐体１４は、濃縮筐体用三方弁１７が閉状態の場合、濃縮系流路９と中空糸膜供給口１４ａとが連通されて中空糸膜供給口１４ａから培養液、洗浄液、回収液および空気が供給できるようになる。一方、濃縮用筐体１４は、濃縮筐体用三方弁１７が開状態の場合、濃縮筐体流路１８を介して濃縮系流路９と筐体供給口１４ｃとが連通されて筐体供給口１４ｃから洗浄液や空気が供給可能になる。本実施形態において、濃縮用筐体１４は、略円筒状に形成されている。濃縮用筐体１４は、その軸心が垂直方向に延びるようにして配置されている。濃縮用筐体１４の上面には、中空糸膜供給口１４ａが形成され、下面には、中空糸膜排出口１４ｂが形成されている。さらに、濃縮用筐体１４の中空糸膜排出口１４ｂ側の側面には、筐体供給口１４ｃが形成され、中空糸膜供給口１４ａ側の側面には、筐体排出口１４ｄが形成されている。

10

【００４２】

中空糸膜モジュール１５は、培養液から血小板をろ過するものである。中空糸膜モジュール１５は、中空糸膜１５ａおよび隔壁部材１５ｂ等から構成されている。中空糸膜１５ａは、例えばポリスルホン製中空糸膜１５ａから形成され、必要な膜交換性能および透過抵抗を考慮して構成されている。図４（ｂ）に示すように、中空糸膜１５ａは、膜交換性能を確保するために必要な分量を束にして濃縮用筐体１４の内部に配置されている。中空糸膜１５ａには、血小板の大きさよりも小さい孔が形成されており、血小板のみが中空糸膜１５ａの内部に残留するように構成されている。中空糸膜１５ａの両端部は、その両端面が開いた状態で隔壁部材１５ｂに固定されている。本実施形態において、中空糸膜１５ａは、隔壁部材１５ｂから構成される円筒状のモジュール内に配置され、その両端から培養液を中空糸の内部に供給できるように構成されている。

20

【００４３】

図４（ａ）に示すように、中空糸膜モジュール１５は、濃縮用筐体１４の内部に着脱自在に設けられている。中空糸膜モジュール１５は、両端の隔壁部材１５ｂが濃縮用筐体１４の中空糸膜供給口１４ａ側端部と中空糸膜排出口１４ｂ側端部とに配置されている。隔壁部材１５ｂは、水密性を有する状態で濃縮用筐体１４の内部を仕切るように固定されている。これにより、濃縮ユニット１３は、濃縮用筐体１４の中空糸膜供給口１４ａ側端部に隔壁部材１５ｂによって供給室１４ｅが構成され、濃縮用筐体１４の中空糸膜排出口１４ｂ側端部に隔壁部材１５ｂによって排出室１４ｆが構成されている。つまり、濃縮ユニット１３は、濃縮用筐体１４の内部に中空糸膜モジュール１５を挟むようにして中空糸膜供給口１４ａが形成されている供給室１４ｅと中空糸膜排出口１４ｂが形成されている排出室１４ｆとが構成されている。濃縮ユニット１３の供給室１４ｅと排出室１４ｆとは中空糸膜１５ａによって連通されている。従って、濃縮ユニット１３は、供給室１４ｅ内の培養液が中空糸膜１５ａの内部を通じて排出室１４ｆに流入するように構成されている。また、濃縮ユニット１３は、中空糸膜モジュール１５が配置されている部分に筐体供給口１４ｃと筐体排出口１４ｄとが形成されている。

30

【００４４】

洗浄液バッグ１９は、洗浄液であるリンゲル液を貯留するものである。洗浄液バッグ１９には、分離ユニット流路２０が着脱できるように接続されている。分離ユニット流路２０は、分離供給ポンプ４よりも上流側の分離系流路３に分離ユニット用三方弁２１を介して接続されている。同様に、洗浄液バッグ１９には、濃縮ユニット流路２２が接続されている。濃縮ユニット流路２２は、濃縮供給ポンプ１２よりも上流側の濃縮系流路９に濃縮ユニット用三方弁２３を介して接続されている。分離系流路３は、分離ユニット用三方弁２１を開状態に切り替えることによって培養液バッグ２との連通が遮断され、洗浄液バッグ１９に連通される。また、濃縮系流路９は、濃縮ユニット用三方弁２３を開状態に切り替えることによって分離回収バッグ８との連通が遮断され、洗浄液バッグ１９に連通される。これにより、分離系流路３には、分離ユニット用三方弁２１の切り替えにより培養液

40

50

バッグ 2 からの培養液と洗浄液バッグ 19 からの洗浄液とのうちいずれか一方が選択的に供給される。同様に、濃縮系流路 9 には、濃縮ユニット用三方弁 23 の切り替えにより分離回収バッグ 8 からの培養液と洗浄液バッグ 19 からの洗浄液とのうちいずれか一方が選択的に供給される。

【0045】

回収液バッグ 24 は、回収液であるリンゲル液と抗凝固剤との混合液を貯留するものである。回収液バッグ 24 には、回収液流路 25 が着脱できるように接続されている。回収液流路 25 は、濃縮供給ポンプ 12 よりも上流側の濃縮系流路 9 に回収液用三方弁 26 を介して接続されている。濃縮系流路 9 は、回収液用三方弁 26 を開状態に切り替えることによって分離回収バッグ 8 との連通が遮断され、回収液バッグ 24 に連通される。これにより、濃縮系流路 9 には、回収液用三方弁 26 の切り替えにより分離回収バッグ 8 からの培養液と回収液バッグ 24 からの洗浄液とのうちいずれか一方が選択的に供給される。

10

【0046】

廃液バッグ 27 は、濃縮ユニット 13 で中空糸膜 15a の外部に排出された培養液や洗浄液を回収するものである。廃液バッグ 27 は、廃液流路 28 が着脱できるように接続されている。廃液流路 28 は、濃縮ユニット 13 の筐体排出口 14d に接続されている。廃液バッグ 27 には、濃縮ユニット 13 に供給される培養液の量に応じて濃縮ユニット 13 内に充填されている洗浄液と中空糸膜 15a の外部に排出された培養液とが排出される。

【0047】

濃縮回収バッグ 29 は、濃縮ユニット 13 で中空糸膜 15a の内部に残留した血小板を回収するものである。濃縮回収バッグ 29 は、濃縮系流路 9 が着脱できるように接続されている。濃縮系流路 9 は、濃縮ユニット 13 の中空糸膜排出口 14b に接続されている。濃縮回収バッグ 29 には、回収液とともに血小板が排出される。

20

【0048】

図 2 に示すように、制御装置 30 は、分離供給ポンプ 4、空気用三方弁 10、濃縮供給ポンプ 12、濃縮排出用二方弁 16、濃縮筐体用三方弁 17、分離ユニット用三方弁 21、濃縮ユニット用三方弁 23 および回収液用三方弁 26 等を制御するものである。制御装置 30 は、実体的には、CPU、ROM、RAM、HDD 等がバスで接続される構成であってもよく、あるいはワンチップの LSI 等からなる構成であってもよい。制御装置 30 は、分離供給ポンプ 4、空気用三方弁 10、濃縮供給ポンプ 12、濃縮排出用二方弁 16、濃縮筐体用三方弁 17、分離ユニット用三方弁 21、濃縮ユニット用三方弁 23 および回収液用三方弁 26 等を制御するために種々のプログラムやデータが格納されている。

30

【0049】

制御装置 30 は、分離供給ポンプ 4 と濃縮供給ポンプ 12 とに接続され、分離供給ポンプ 4 と濃縮供給ポンプ 12 をそれぞれ制御することができる。

【0050】

制御装置 30 は、分流型の三方弁である空気用三方弁 10、濃縮排出用二方弁 16、濃縮筐体用三方弁 17、分離ユニット用三方弁 21、濃縮ユニット用三方弁 23 および回収液用三方弁 26 に接続され、空気用三方弁 10、濃縮排出用二方弁 16、濃縮筐体用三方弁 17、分離ユニット用三方弁 21、濃縮ユニット用三方弁 23 および回収液用三方弁 26 をそれぞれ制御することができる。

40

【0051】

制御装置 30 は、培養液量センサ 2a に接続され、培養液量センサ 2a が検出する培養液バッグ 2 に貯留されている培養液の残量 C1 についての情報を取得することができる。

【0052】

制御装置 30 は、分離回収量センサ 8a に接続され、分離回収量センサ 8a が検出する分離回収バッグ 8 に貯留されている培養液の回収量 C2 についての情報を取得することができる。

【0053】

次に、図 1、図 3、図 5 および図 6 を用いて、血小板製剤製造装置 1 における分離膜 7

50

による血小板分離の態様について具体的に説明する。

【0054】

図1に示すように、血小板製剤製造装置1は、分離供給ポンプ4によって、培養液バッグ2の培養液を分離系流路3に供給する。これにより、培養液に含まれる巨核球と巨核球からすでに産生された血小板とが分離系流路3を通じて分離ユニット5に供給される。分離供給口5bから分離ユニット5に供給された全ての培養液は、分離供給ポンプ4の作用により一定の流量で分離膜7を通過する。

【0055】

図5に示すように、培養液に含まれている巨核球X・Yは、培養液が分離膜7を通過する際に分離膜7に接触する。巨核球X・Yの粒径は、分離膜7の隙間よりも大きい。従って、分離膜7に接触した巨核球X・Yは、分離膜7の隙間の通過が抑制され分離膜7に捕捉される。一方、血小板Zの粒径は、分離膜7の隙間よりも小さい。従って、分離膜7に接触した血小板Zは、分離膜7の隙間を通過するので分離膜7に捕捉されない。

【0056】

図3に示すように、分離ユニット5に供給された培養液には、分離供給ポンプ4による分離供給口6aから上昇する流れと下降する流れとによる旋回流と分離膜7に向かう流れ（矢印参照）とが生じる。培養液は、分離ユニット5において旋回しながら分離膜7に到達する。分離膜7に到達した培養液の旋回流は、上昇または下降しながら分離膜7の表面を沿うようにして流れる。分離膜7に捕捉されている巨核球X・Yには、旋回する培養液の流れから受ける力（矢印参照）が外力として加わる。これにより、分離膜7に捕捉されていた巨核球X・Yの一部である巨核球Xは、分離膜7から離間する。

【0057】

図6に示すように、旋回する培養液の流れから受ける力（矢印参照）によって分離膜7から離間しない巨核球Yには、培養液の流れから受ける力および旋回する培養液からの力と分離膜7からの反力とによってせん断応力が発生する。巨核球Yは、せん断応力が発生している箇所を起点として巨核球Yを形成している細胞質の一部分がせん断される。つまり、巨核球Yは、培養液の流れから受ける力と培養液の旋回流による力とによってその細胞質の一部分が分離して血小板Zが産生される。産生された血小板は、培養液中に混入して培養液とともに分離膜7を通過する。分離膜7に捕捉されている巨核球Yは、培養液の流れから受ける力と培養液の旋回流による力からせん断応力が発生している間、血小板の産生が続けられる。巨核球Yは、血小板の産生により形状が変形することで分離膜7から離間する。また、分離ユニット5において分離膜7に再び捕捉された巨核球Yは、培養液の流れから受ける力によって分離膜7から離間され、または培養液の流れから受ける力からせん断応力が発生して血小板Zの産生を再開する。

【0058】

このようにして、血小板製剤製造装置1は、分離ユニット5で発生する培養液の流れから受ける力により分離膜7に付着した巨核球から血小板を産生させるとともに、分離膜7に付着した巨核球を分離膜7から離間させる。これにより、血小板製剤製造装置1は、分離膜7を通過する血小板の量を増加させて、巨核球と血小板とが含まれる培養液から効率的に血小板を分離させることができる。

【0059】

次に、図7を用いて、本発明に係る血小板製剤製造装置1による血小板製剤の製造方法について説明する。本発明に係る血小板製剤の製造方法は、分離工程、供給量調整工程および濃縮工程を含む。なお、血小板製剤製造装置1の分離系流路3には、巨核球と血小板とが含まれる培養液が封入された培養液バッグ2が接続されているものとする。

【0060】

図7(a)に示すように、分離工程の工程K110において、血小板製剤製造装置1は、分離供給ポンプ4によって洗浄液バッグ19から分離ユニット5に洗浄液を供給する。血小板製剤製造装置1は、分離ユニット5の分離膜7が全て洗浄液に浸かるまで洗浄液を供給する。これにより、分離ユニット5は、内部の空気が外部に排出される。

【0061】

工程K120において、血小板製剤製造装置1は、分離供給ポンプ4によって培養液バッグ2から分離ユニット5に培養液を供給する。分離ユニット5に供給された培養液は、分離ユニット5の内部で巡回しながら分離膜7を通過する。この際、培養液に含まれる巨核球は、分離膜7に捕捉される。一方、培養液に含まれる血小板は、分離膜7を通過して分離ユニット5から排出される。

【0062】

工程K130において、捕捉された巨核球は、培養液の流れから受ける力（外力）によって血小板を産生する。分離ユニット5から排出された血小板を含む培養液は、分離回収バッグ8に供給される。

10

【0063】

工程K140において、血小板製剤製造装置1は、培養液バッグ2内の培養液の供給完了後に、分離供給ポンプ4によって洗浄液バッグ19から分離ユニット5に洗浄液を供給する。これにより、分離ユニット5に残留していた培養液は、洗浄液によって分離回収バッグ8に送り出される。

【0064】

次に、図7（b）に示すように、濃縮工程の工程K210において、血小板製剤製造装置1は、濃縮筐体用三方弁17を開状態と閉状態とに切り替えて濃縮供給ポンプ12によって洗浄液バッグ19から濃縮ユニット13の濃縮用筐体14内であって中空糸膜モジュール15を構成する中空糸膜15aの内部と外部とに洗浄液を供給する。血小板製剤製造装置1は、中空糸膜15aが全て洗浄液に浸かるまで洗浄液を供給する。これにより、濃縮ユニット13は、内部の空気が外部に排出される。

20

【0065】

工程K220において、血小板製剤製造装置1は、濃縮ユニット13の濃縮排出用二方弁16を閉状態に切り替えて濃縮供給ポンプ12によって分離回収バッグ8から中空糸膜モジュール15の中空糸膜15aを構成する中空糸の内部に培養液を供給する。この際、培養液に含まれる血小板は、中空糸膜15aに捕捉されてその内部に堆積する。また、培養液やタンパク質等の不純物は、中空糸膜15aの外部に排出され、濃縮用筐体14内の洗浄液とともに廃液バッグ27に排出される。血小板製剤製造装置1は、培養液の供給量C3が規定値Mに到達すると培養液の供給を停止する。

30

【0066】

工程K230（1回洗浄）において、血小板製剤製造装置1は、濃縮ユニット13の濃縮排出用二方弁16を閉状態に切り替えて濃縮供給ポンプ12によって洗浄液バッグ19から中空糸膜モジュール15の中空糸膜15aの内部に洗浄液を供給する。これにより、中空糸膜15aの内部に堆積された血小板は、洗浄液によって洗浄される。血小板に付着していたタンパク質等の不純物は、中空糸膜15aの外部に排出され、濃縮用筐体14内の洗浄液とともに廃液バッグ27に排出される。その後、血小板製剤製造装置1は、中空糸膜15aの内部に回収液を供給し、中空糸膜15aの内部の洗浄液を回収液に入れ替える。

【0067】

工程K240において、血小板製剤製造装置1は、濃縮供給ポンプ12によって濃縮ユニット13の濃縮用筐体14内であって中空糸膜15aの外部にエアフィルタ11aを通過した空気を供給する。これにより、濃縮ユニット13内の洗浄液は、空気の圧力によって廃液バッグ27に排出される。

40

【0068】

工程K250において、血小板製剤製造装置1は、濃縮ユニット13の濃縮排出用二方弁16を開状態に切り替えて濃縮供給ポンプ12によって回収液バッグ24から中空糸膜15aの内部にさらに回収液を供給する。これにより、中空糸膜15aの内部に堆積された血小板は、回収液とともに濃縮回収バッグ29に排出（回収）される。この際、中空糸膜15aの外部には、空気が供給されているので回収液とともに不純物が含まれる洗浄液

50

が回収液とともに回収されない。

【0069】

工程K260において、血小板製剤製造装置1は、濃縮供給ポンプ12によって中空糸膜15aの内部にエアフィルタ11aを通過した空気を供給する。これにより、中空糸膜15aの内部に残留していた血小板は、空気とともに濃縮回収バッグ29に排出（回収）される。

【0070】

次に、供給量調整工程において、血小板製剤製造装置1は、分離回収バッグ8に貯留されている培養液の回収量C2が上限値U未満の場合、分離供給ポンプ4によって培養液バッグ2から分離ユニット5に培養液を供給する。一方、血小板製剤製造装置1は、分離回収バッグ8に貯留されている培養液の回収量C2が上限値U以上の場合、濃縮供給ポンプ12によって分離回収バッグ8から濃縮ユニット13に培養液を供給しつつ、分離供給ポンプ4による培養液バッグ2から分離ユニット5への培養液の供給を停止する。つまり、血小板製剤製造装置1は、分離供給ポンプ4による培養液の供給を停止することで濃縮工程において濃縮ユニット13に供給する培養液の量に対する分離工程において分離ユニット5に供給する培養液の量を調整する。

【0071】

以下では、図8から図10を用いて、本発明に係る血小板製剤製造装置1における第一実施形態である血小板製剤製造装置1の制御態様について具体的に説明する。なお、本実施形態において、血小板製剤製造装置1の分離系流路3には、巨核球と血小板とが含まれる培養液が封入された培養液バッグ2が接続されているものとする。また、制御開始時において、分離ユニット流路20は、分離系流路3と遮断されているものとする。同様に、空気流路11、濃縮筐体流路18、濃縮ユニット流路22、回収液流路25および濃縮回収バッグ29は、濃縮系流路9と遮断されているものとする。

【0072】

図8に示すように、供給量調整工程制御であるステップS110において、血小板製剤製造装置1の制御装置30は、分離回収量センサ8aから分離回収バッグ8に貯留されている培養液の回収量C2についての情報を取得し、ステップをステップS120に移行させる。

【0073】

ステップS120において、制御装置30は、分離回収量センサ8aから取得した培養液の回収量C2についての情報から分離回収バッグ8に貯留されている培養液の回収量C2が上限値U未満か否か判定する。

その結果、分離回収バッグ8に貯留されている培養液の回収量C2が上限値U未満であると判定した場合、制御装置30はステップをステップS130に移行させる。

一方、分離回収バッグ8に貯留されている培養液の回収量C2が上限値U未満でないと判定した場合、すなわち、分離回収バッグ8に貯留されている培養液の回収量C2が上限値Uに到達していると判断した場合、制御装置30はステップをステップS140に移行させる。

【0074】

ステップS130において、制御装置30は、分離供給ポンプ4を作動させて、ステップをステップS200に移行させる。

【0075】

ステップS140において、制御装置30は、分離供給ポンプ4を停止させて、ステップをステップS300に移行させる。

【0076】

ステップS200において、制御装置30は、分離工程制御Aを開始し、ステップをステップ210に移行させる（図9参照）。そして、分離工程制御Aが終了するとステップをステップS300に移行させる。

【0077】

ステップ S 3 0 0 において、制御装置 3 0 は、濃縮工程制御 B を開始し、ステップをステップ 3 1 0 に移行させる（図 1 0 参照）。そして、濃縮工程制御 B が終了するとステップをステップ S 1 1 0 に移行させる。

【 0 0 7 8 】

図 9 に示すように、分離工程制御 A のステップ S 2 1 0 において、制御装置 3 0 は、培養液量センサ 2 a から取得した培養液の残量 C 1 についての情報から培養液バッグ 2 に貯留されている培養液の残量 C 1 がゼロか否か判定する。

その結果、培養液バッグ 2 に貯留されている培養液の残量 C 1 がゼロであると判定した場合、制御装置 3 0 はステップをステップ S 2 2 0 に移行させる。

一方、培養液バッグ 2 に貯留されている培養液の残量 C 1 がゼロでないと判定した場合、すなわち、培養液バッグ 2 に培養液が残っていると判定した場合、制御装置 3 0 はステップをステップ S 2 4 0 に移行させる。

【 0 0 7 9 】

ステップ S 2 2 0 において、制御装置 3 0 は、分離ユニット用三方弁 2 1（以下、各図において、二方弁、三方弁を単に「弁」と記す）を開状態に切り替えて洗浄液バッグ 1 9 から分離ユニット 5 に洗浄液を供給し、ステップをステップ S 2 3 0 に移行させる。

【 0 0 8 0 】

ステップ S 2 3 0 において、制御装置 3 0 は、分離供給ポンプ 4 の動作時間から分離ユニット用三方弁 2 1 を閉状態に切り替えるとともに分離供給ポンプ 4 を停止し、分離工程制御 A を終了してステップをステップ S 3 0 0 に移行させる（図 8 参照）。

【 0 0 8 1 】

ステップ S 2 4 0 において、制御装置 3 0 は、培養液バッグ 2 から分離ユニット 5 に培養液を供給し、分離工程制御 A を終了してステップをステップ S 3 0 0 に移行させる（図 8 参照）。

【 0 0 8 2 】

図 1 0 に示すように、濃縮工程制御 B（1 回洗浄工程）のステップ 3 1 0 において、制御装置 3 0 は、分離回収量センサ 8 a から取得した培養液の回収量 C 2 についての情報から分離回収バッグ 8 に貯留されている培養液の回収量 C 2 が下限値 L 以上か否か判定する。

その結果、分離回収バッグ 8 に貯留されている培養液の回収量 C 2 が下限値 L 以上であると判定した場合、制御装置 3 0 はステップをステップ S 3 2 0 に移行させる。

一方、分離回収バッグ 8 に貯留されている培養液の回収量 C 2 が下限値 L 以上でないと判定した場合、すなわち、分離回収バッグ 8 に貯留されている培養液の回収量 C 2 では濃縮ユニット 1 3 に供給できないと判定した場合、制御装置 3 0 は濃縮工程制御 B を終了してステップをステップ S 1 1 0 に移行させる（図 8 参照）。

【 0 0 8 3 】

ステップ S 3 2 0 において、制御装置 3 0 は、濃縮供給ポンプ 1 2 を作動させ、ステップをステップ S 2 3 0 に移行させる。

【 0 0 8 4 】

ステップ S 3 3 0 において、制御装置 3 0 は、濃縮筐体用三方弁 1 7 と濃縮ユニット用三方弁 2 3 とを所定時間だけ開状態に切り替えて洗浄液バッグ 1 9 から濃縮ユニット 1 3 の中空糸膜 1 5 a の外部に洗浄液を供給し、ステップをステップ S 3 4 0 に移行させる。

【 0 0 8 5 】

ステップ S 3 4 0 において、制御装置 3 0 は、濃縮筐体用三方弁 1 7 と濃縮ユニット用三方弁 2 3 とを閉状態に切り替えて分離回収バッグ 8 から濃縮ユニット 1 3 の中空糸膜 1 5 a の内部に培養液を供給し、ステップをステップ S 3 5 0 に移行させる。

【 0 0 8 6 】

ステップ S 3 5 0 において、制御装置 3 0 は、濃縮供給ポンプ 1 2 の動作時間から濃縮ユニット 1 3 の中空糸膜 1 5 a の内部に供給した培養液の供給量 C 3 が規定値 M 以上か否か判断する。

10

20

30

40

50

その結果、中空糸膜 15 a の内部に供給した培養液の供給量 C 3 が規定値 M 以上であると判定した場合、制御装置 30 はステップをステップ S 360 に移行させる。

一方、中空糸膜 15 a の内部に供給した培養液の供給量 C 3 が規定値 M 以上でないと判定した場合、すなわち、中空糸膜 15 a の内部に供給した培養液の供給量 C 3 が規定値 M に到達していないと判定した場合、濃縮工程制御 B を終了してステップをステップ S 110 に移行させる（図 8 参照）。

【0087】

ステップ S 360 において、制御装置 30 は、濃縮ユニット用三方弁 23 を所定時間だけ開状態に切り替えて洗浄液バッグ 19 から濃縮ユニット 13 の中空糸膜 15 a の内部に洗浄液を供給し、ステップをステップ S 370 に移行させる。

10

【0088】

ステップ S 370 において、制御装置 30 は、空気用三方弁 10 と濃縮筐体用三方弁 17 とを開状態に切り替え、濃縮ユニット用三方弁 23 を閉状態に切り替えて外部からエアフィルタ 11 a を介して濃縮ユニット 13 の中空糸膜 15 a の外部に空気を供給し、ステップをステップ S 380 に移行させる。

【0089】

ステップ S 380 において、制御装置 30 は、空気用三方弁 10 と濃縮筐体用三方弁 17 とを閉状態に切り替え、濃縮排出用二方弁 16 と回収液用三方弁 26 とを開状態に切り替えて回収液バッグ 24 から濃縮ユニット 13 の中空糸膜 15 a の内部に回収液を所定量だけ供給し、ステップをステップ S 390 に移行させる。

20

【0090】

ステップ S 390 において、制御装置 30 は、濃縮筐体用三方弁 17 と回収液用三方弁 26 とを閉状態に切り替え、空気用三方弁 10 を開状態に切り替えて外部からエアフィルタ 11 a を介して濃縮ユニット 13 の中空糸膜 15 a の内部に空気を供給し、ステップをステップ S 400 に移行させる。

【0091】

ステップ S 400 において、制御装置 30 は、濃縮排出用二方弁 16 と回収液用三方弁 26 とを閉状態に切り替えて濃縮ユニット 13 と濃縮回収バッグ 29 との連通を遮断して濃縮工程制御 B を終了し、ステップをステップ S 110 に移行させる（図 8 参照）。

【0092】

30

以下では、図 11 から図 13 を用いて、本発明に係る血小板分離装置の第二実施形態における血小板製剤製造装置 40 について説明する。なお、以下の実施形態において、既に説明した実施形態と同様の点に関してはその具体的説明を省略し、相違する部分を中心に説明する。

【0093】

図 11 に示すように、血小板製剤製造装置 40 は、濃縮工程において血小板を複数回洗浄する工程（複数洗浄工程）を実施するものである。血小板製剤製造装置 40 は、仮回収バッグ 41、上流側仮回収用三方弁 42 および下流側仮回収用三方弁 43 を更に備える。仮回収バッグ 41 は、濃縮された血小板を含む洗浄液を貯留するものである。仮回収バッグ 41 は、濃縮ユニット 13 よりも上流側の濃縮系流路 9 に上流側仮回収用三方弁 42 を介して接続されている。また、仮回収バッグ 41 は、濃縮ユニット 13 よりも下流側の濃縮系流路 9 に下流側仮回収用三方弁 43 を介して接続されている。濃縮系流路 9 は、上流側仮回収用三方弁 42 を開状態に切り替えることによって分離回収バッグ 8 との連通が遮断され、仮回収バッグ 41 に連通される状態に変更できるように構成されている。濃縮系流路 9 は、下流側仮回収用三方弁 43 を開状態に切り替えることによって回収バッグとの連通が遮断され、仮回収バッグ 41 に連通される状態に変更できるように構成されている。

40

【0094】

制御装置 30 は、上流側仮回収用三方弁 42 および下流側仮回収用三方弁 43 をそれぞれ制御することができる。

50

【0095】

次に、図12を用いて、本発明に係る血小板製剤製造装置40による血小板製剤の製造方法における濃縮工程において血小板を複数回洗浄する工程（複数回洗浄）について説明する。

【0096】

濃縮工程の血小板を複数回洗浄する工程K310において、血小板製剤製造装置40は、回収洗浄液による血小板の最初の洗浄後（工程K230）、濃縮排出用二方弁16と下流側仮回収用三方弁43とを開状態に切り替えて、濃縮供給ポンプ12によって洗浄液バッグ19から濃縮ユニット13の中空糸膜15aの内部に洗浄液を供給する。これにより、中空糸膜15aの内部に堆積された血小板は、洗浄液とともに仮回収バッグ41に排出（仮回収）される。

10

【0097】

工程K320において、血小板製剤製造装置1は、濃縮排出用二方弁16を閉状態に切り替えて上流側仮回収用三方弁42を開状態に切り替えて濃縮供給ポンプ12によって仮回収バッグ41から中空糸膜15aの内部に血小板が含まれる洗浄液を供給する。この際、洗浄液に含まれる血小板は、中空糸膜15aに捕捉されてその内部に堆積する。

【0098】

工程K330において、血小板製剤製造装置1は、上流側仮回収用三方弁42を閉状態に切り替えて濃縮供給ポンプ12によって洗浄液バッグ19から中空糸膜15aの内部に洗浄液を供給する。これにより、中空糸膜15aの内部に堆積された血小板は、洗浄液によって再洗浄される。血小板に付着していたタンパク質等の不純物は、中空糸膜15aの外部に排出され、濃縮用筐体内の洗浄液とともに廃液バッグ27に排出される。このようにして、血小板製剤製造装置1は、任意の回数だけ血小板を洗浄する。

20

【0099】

また、本発明に係る血小板製剤の製造方法において、濃縮工程によって回収した血小板が含まれる回収液を分離工程と同様の工程によって回収した回収液中に残留している巨核球を再分離する工程を更に含めてもよい。

【0100】

次に、図13を用いて、本発明に係る血小板製剤製造装置1における第二実施形態である血小板製剤製造装置40の制御態様について具体的に説明する。なお、以下の実施形態において、血小板を複数回洗浄する濃縮工程制御BのステップS361からステップS363まで以外の構成は既に説明した構成と同一の構成であるため、同様の点に関してはその具体的説明を省略し、相違する部分を中心に説明する。

30

【0101】

図13に示すように、ステップS360において、制御装置30は、濃縮ユニット用三方弁23を所定時間だけ開状態に切り替えて洗浄液バッグ19から濃縮ユニット13の中空糸膜15aの内部に洗浄液を所定量だけ供給し、ステップをステップS361に移行させる。

【0102】

ステップS361において、制御装置30は、濃縮排出用二方弁16と下流側仮回収用三方弁43とを開状態に切り替えて洗浄液バッグ19から濃縮ユニット13の中空糸膜15aの内部に洗浄液を所定量だけ供給して仮回収バッグ41に血小板が含まれる洗浄液を回収し、ステップをステップS362に移行させる。

40

【0103】

ステップS362において、制御装置30は、濃縮排出用二方弁16を閉状態に切り替えて上流側仮回収用三方弁42を開状態に切り替えて仮回収バッグ41から濃縮ユニット13の濃縮ユニット13の中空糸膜15aの内部に血小板が含まれる洗浄液を供給し、ステップをステップS363に移行させる。

【0104】

ステップS363において、制御装置30は、濃縮ユニット用三方弁23を開状態に切

50

り替えて上流側仮回収用三方弁 42 を閉状態に切り替えて洗浄液バッグ 19 から濃縮ユニット 13 の中空糸膜 15 a の内部に洗浄液を所定量だけ供給し、ステップをステップ S 370 に移行させる。

【0105】

ステップ S 370 において、制御装置 30 は、濃縮ユニット用三方弁 23 を閉状態に切り替え、空気用三方弁 10 と濃縮筐体用三方弁 17 とを開状態に切り替えて外部からエアフィルタ 11 a を介して濃縮ユニット 13 の中空糸膜 15 a の外部に空気を供給し、ステップをステップ S 380 に移行させる。

【0106】

このように構成することで、分離工程において、巨核球と血小板とが含まれる培養液中から血小板を分離するとともに、巨核球に外力を加えることで更に血小板が産生される。さらに、洗浄液を分離ユニット 5 内に供給することで血小板を含んだ培養液が分離ユニット 5 内から効率的に排出される。また、濃縮工程において、培養液中の血小板が濃縮されるとともに、血小板に付着している不純物が除去される。さらに、濃縮ユニット 13 の中空糸膜 15 a の内部に回収液を供給した後に空気による押し出しを行うことで中空糸膜 15 a の内部から血小板が効率的に排出される。また、供給量調整工程において、濃縮ユニット 13 における培養液の処理量に対する分離ユニット 5 における培養液の処理量との差が分離回収バッグ 8 によって吸収される。加えて、分離回収バッグ 8 の貯留量に基づいて分離ユニット 5 の稼働状態が制御される。つまり、分離工程における巨核球やタンパク質等の不純物の除去と濃縮工程における血小板の濃縮とが並行して連動するように行われる。これにより、巨核球と血小板とが含まれる培養液から効率的に血小板のみを回収、濃縮および洗浄することができる。つまり、血小板の製造効率が向上し、求められる基準を満たした血小板製剤を製造することができる。

【0107】

以下では、図 14 を用いて、本発明に係る血小板分離装置の第三実施形態における血小板製剤製造装置 50 について説明する。なお、以下の実施形態において、既に説明した実施形態と同様の点に関してはその具体的説明を省略し、相違する部分を中心に説明する。

【0108】

図 14 に示すように、血小板製剤製造装置 50 は、濃縮ユニット 13 に加えて濃縮ユニット 51 を具備している。

【0109】

血小板製剤製造装置 50 の培養液を分離する構成は、前述の第一実施形態にかかる血小板製剤製造装置 1 の構成と同一である。

【0110】

血小板製剤製造装置 50 は、分離回収バッグ 8 に 2 つの濃縮ユニット 13・51 が濃縮系流路 9 を介して接続されている。濃縮ユニット 13・51 には、濃縮回収バッグ 29 が接続されている。つまり、血小板製剤製造装置 50 は、一の分離ユニット 5 によって処理された培養液を 2 つの濃縮ユニット 13・51 が処理するように構成されている。

【0111】

このように構成することで、血小板製剤製造装置 50 は、複数の濃縮ユニット 13・51 における培養液の処理量に対する分離ユニット 5 における培養液の処理量との差を二つの濃縮ユニット 13・51 が作動することによって吸収される。加えて、分離回収バッグ 8 の貯留量に基づいて分離ユニット 5 の稼働状態が制御される。つまり、分離工程における巨核球やタンパク質等の不純物の除去と濃縮工程における血小板の濃縮とが並行して連動するように行われる。これにより、巨核球と血小板とが含まれる培養液から効率的に血小板のみを回収、濃縮および洗浄することができる。つまり、血小板の製造効率が向上し、求められる基準を満たした血小板製剤を製造することができる。

【符号の説明】

【0112】

1 血小板製剤製造装置

10

20

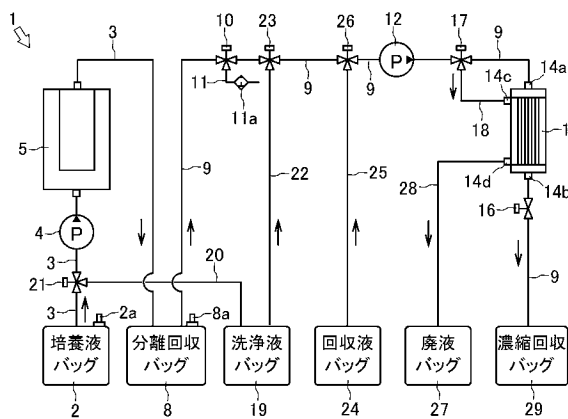
30

40

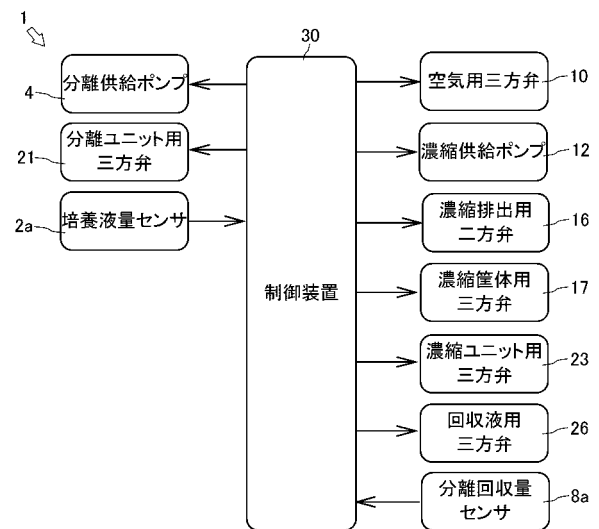
50

- 5 分離ユニット
- 7 分離膜
- 8 分離回収バッグ
- 13 濃縮ユニット
- 15 中空糸膜モジュール

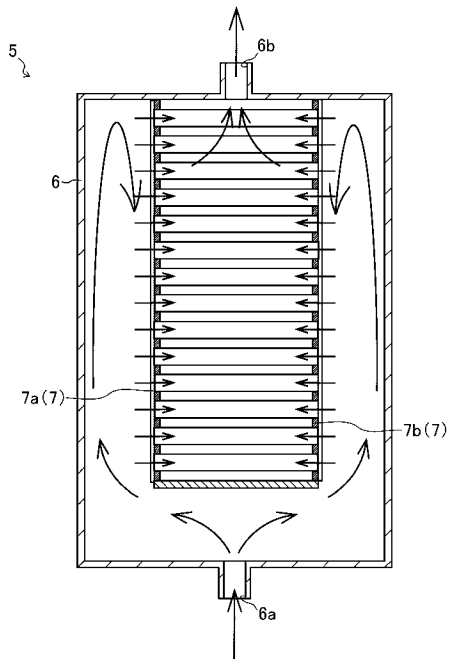
【図 1】



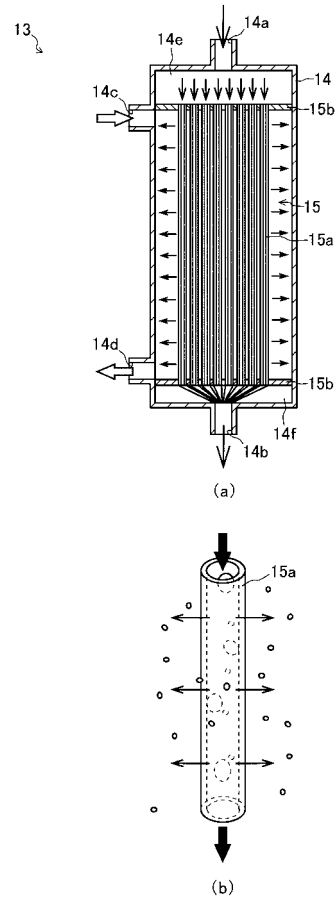
【図 2】



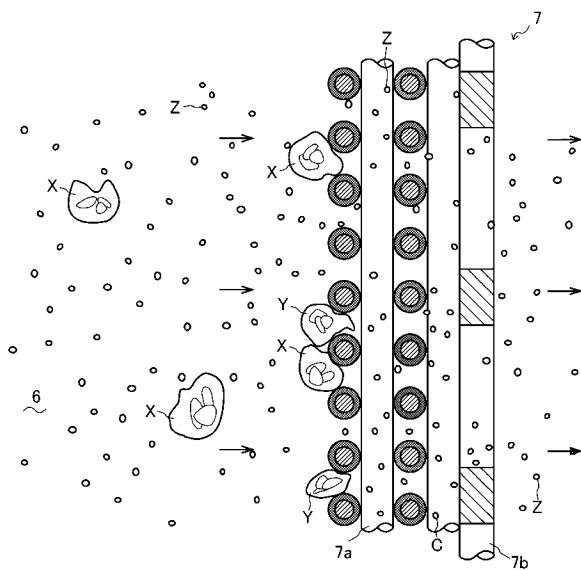
【図 3】



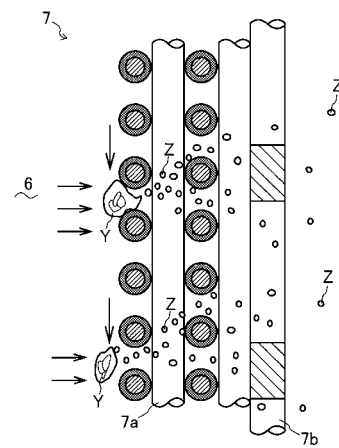
【図 4】



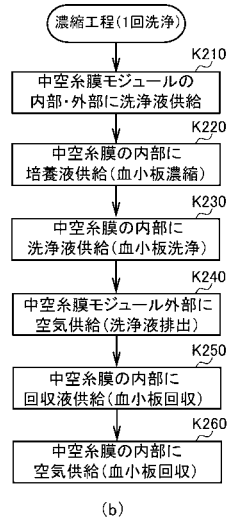
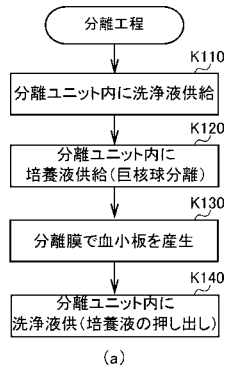
【図 5】



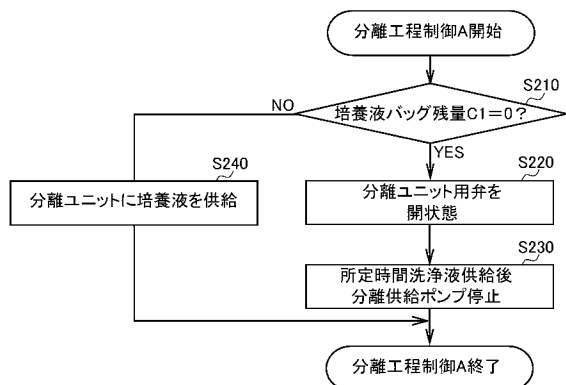
【図 6】



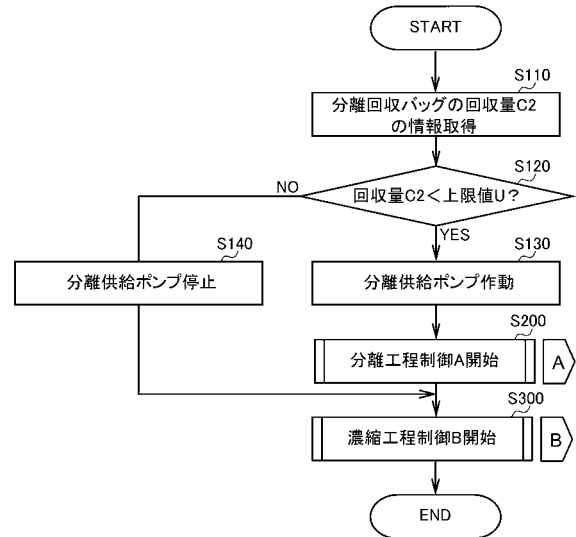
【図 7】



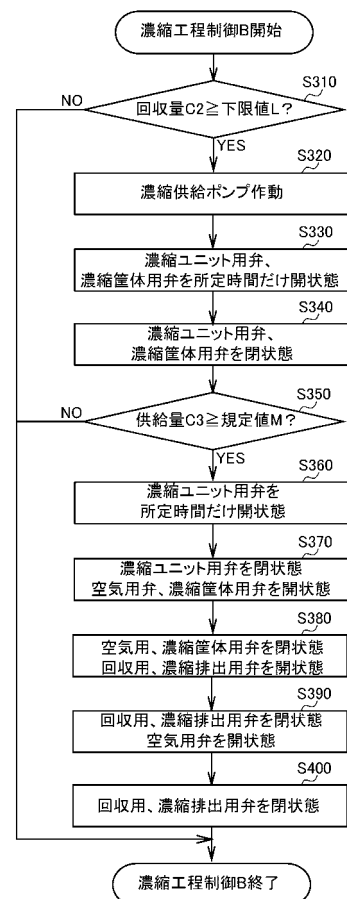
【図 9】



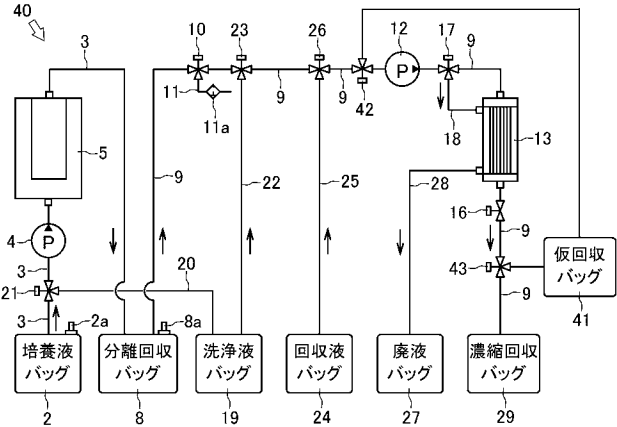
【図 8】



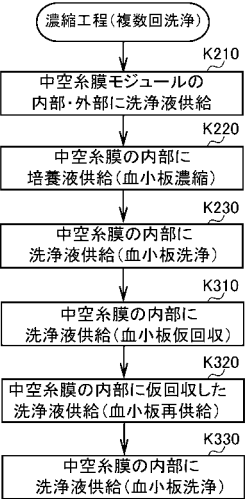
【図 10】



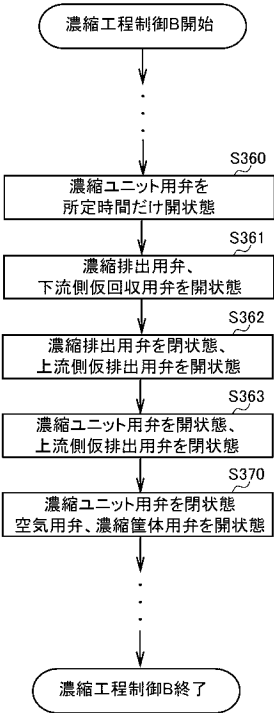
【図 1 1】



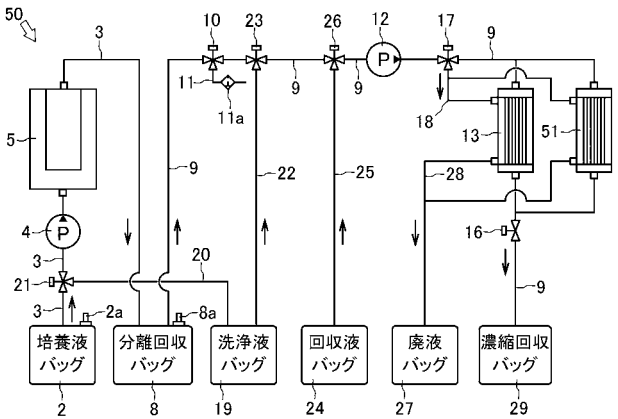
【図 1 2】



【図 1 3】



【図 1 4】



フロントページの続き

- (72)発明者 阿部 哲也
滋賀県大津市大江一丁目1番45号 東レエンジニアリング株式会社内
- (72)発明者 岡田 達弥
滋賀県大津市大江一丁目1番45号 東レエンジニアリング株式会社内
- (72)発明者 坂口 博一
滋賀県大津市園山1丁目1番1号 東レ株式会社 滋賀事業場内
- (72)発明者 久家 千紗
滋賀県大津市園山1丁目1番1号 東レ株式会社 滋賀事業場内
- (72)発明者 張本 乾一
滋賀県大津市園山1丁目1番1号 東レ株式会社 滋賀事業場内
- (72)発明者 棚橋 一裕
滋賀県大津市園山1丁目1番1号 東レ株式会社 滋賀事業場内
- Fターム(参考) 4C087 AA04 AA05 BB38 DA21 NA20 ZA53