(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2014-518547
(P2014-518547A)
(43)公表日　平成26年7月31日(2014.7.31)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
A61K 35/14	(2006.01)	A61K	35/14	A	4C077
A61M 1/02	(2006.01)	A61M	1/02	575	4C087
A61P 7/00	(2006.01)	A61K	35/14	Z	
		A61P	7/00		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 43 頁）

(21)出願番号　特願2014-504030 (P2014-504030)
(86)(22)出願日　平成24年4月6日 (2012.4.6)
(85)翻訳文提出日　平成25年11月27日 (2013.11.27)
(86)国際出願番号　PCT/US2012/032551
(87)国際公開番号　WO2012/139017
(87)国際公開日　平成24年10月11日 (2012.10.11)
(31)優先権主張番号　61/472,952
(32)優先日　平成23年4月7日 (2011.4.7)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　61/541,793
(32)優先日　平成23年9月30日 (2011.9.30)
(33)優先権主張国　米国 (US)

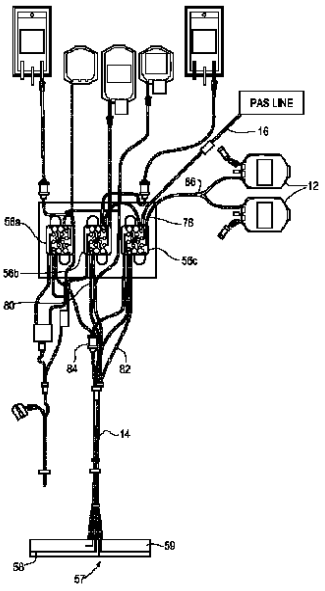
(71)出願人　308020283
フェンウォール、インコーポレイテッド
アメリカ合衆国６００４７、イリノイ、レークズ－リック、コーポレイトドライブ３
(74)代理人　100060368
弁理士　赤岡　迪夫
(74)代理人　100124648
弁理士　赤岡　和夫
(74)代理人　100154450
弁理士　吉岡　亜紀子
(72)発明者　ミン，キュンヨーン
アメリカ合衆国６００４７、イリノイ、キルディヤ、プロビデンスドライブ２３３６９

最終頁に続く

(54)【発明の名称】削減された残存血漿容積を有する血小板濃縮物を提供するための自動化方法とシステムおよびそのような血小板濃縮物のための貯蔵媒体

(57)【要約】
減らされた容積の残存血漿を有する血小板濃縮物と合成貯蔵媒体を提供するための自動システムおよび方法が開示される。開示されたシステムおよび方法は、血小板産物の全容積の約５％またはそれ未満の血漿容積を有する血小板産物を得るため、血小板濃縮物中の血漿の残存容積を減らす。開示されたシステムおよび方法はまた、洗浄した血小板産物を得るため血小板濃縮物中の血漿の残存容積を減らし、ここで洗浄した血小板産物中の血漿の容積は洗浄した血小板産物全容積の約１％またはそれ未満である。約１０％未満の血漿を含んでいる血小板のための貯蔵媒体も開示される。
【選択図】図６

Fig. 6



【特許請求の範囲】
【請求項１】
約４５ないし約１２５ｍＭの塩化ナトリウム；
約５ないし約１５ｍＭのクエン酸ナトリウム；
約２０ないし約４０ｍＭの酢酸ナトリウム；
約０．０５ないし約１２ｍＭのリン酸塩；
約０．０５ないし約３ｍＭのマグネシウムイオン；
約０．０５ないし約１０ｍＭの塩化カリウム；
約５ないし約４０ｍＭの重炭酸ナトリウムおよび
約０．５ないし約３０ｍＭのグルコース；
を含んでいる血小板貯蔵のための合成水溶液。
【請求項２】
約０ｍＭないし３ｍＭの塩化カリウムをさらに含んでいる請求項１の水溶液。
【請求項３】
血小板と水溶液を含んでいる血小板産物であって、該水溶液は、
約４５ないし約１２０ｍＭの塩化ナトリウム；
約５ないし約１５ｍＭのクエン酸ナトリウム；
約２０ないし約４０ｍＭの酢酸ナトリウム；
約０．０５ないし約１２ｍＭのリン酸ナトリウム；
約０．０５ないし約３ｍＭのマグネシウムイオン；
約０．０５ないし約１０ｍＭの塩化カリウム；
約５ないし約４０ｍＭの重炭酸ナトリウム；
約０．５ないし約３０ｍＭのグルコース；および
約１０％までの血漿；
を含んでいる血小板産物。
【請求項４】
約０ｍＭないし３ｍＭの塩化カリウムをさらに含んでいる請求項３の血小板産物。
【請求項５】
前記水溶液は約５％までの血漿を含んでいる請求項３の血小板産物。
【請求項６】
前記水溶液は約１％までの血漿を含んでいる請求項３の血小板産物。
【請求項７】
（ａ）ある量の血小板を提供し；
（ｂ）前記血小板をある容積の水溶液と混合することを含む血小板を貯蔵する方法であって、該水溶液は、
約４５ないし約１２５ｍＭの塩化ナトリウム；
約５ないし約１５ｍＭのクエン酸ナトリウム；
約２０ないし約４０ｍＭの酢酸ナトリウム；
約０．０５ないし約１２ｍＭのリン酸塩；
約０．０５ないし約３ｍＭのマグネシウムイオン；
約０．０５ないし約１０ｍＭの塩化カリウム；
約５ないし約４０ｍＭの重炭酸ナトリウム；
約０．５ないし約３０ｍＭのグルコース；および
約１０％までの血漿を含んでいる方法。
【請求項８】
前記水溶液は約０ないし３ｍＭの塩化カルシウムをさらに含んでいる請求項７の方法。
【請求項９】
前記水溶液は１０％未満の血漿を含んでいる請求項７の方法。
【請求項１０】
前記水溶液は５％未満の血漿を含んでいる請求項７の方法。

【請求項１１】
前記水溶液は１％未満の血漿を含んでいる請求項７の方法
【請求項１２】
血小板を９日まで貯蔵することをさらに含んでいる請求項７の方法
【請求項１３】
血小板を１４日まで貯蔵することをさらに含んでいる請求項７の方法
【請求項１４】
約６９ｍＭの塩化ナトリウム；
約１０ｍＭのクエン酸ナトリウム；
約３０ｍＭの酢酸ナトリウム；
約９．３ｍＭの一塩基性リン酸ナトリウム２水塩と二塩基性リン酸ナトリウム無水物；
約１．５ｍＭの塩化マグネシウムイオン；
約５ｍＭの塩化カリウム；
約１６．８ｍＭのグルコース（デキストロース）；および
少なくとも約１０ｍＭの重炭酸ナトリウム；
を含んでいる血小板貯蔵のための水溶液。
【請求項１５】
約２０ｍＭの重炭酸ナトリウムを含んでいる請求項１４の水溶液。
【請求項１６】
血小板濃縮チャンバーを含んでいる自動アフェレーシスセパレーターを用意し；
前記チャンバー内で血小板を濃縮し、ある容積の血漿中に懸濁した血小板を含んでいる血小板濃縮物を提供し；
前記血小板濃縮物から選択した容積の血漿を除去し；
血小板、添加剤水溶液および血漿を含む血小板産物を得るため血小板濃縮物を添加剤水溶液で再構成することを含み；
前記血小板産物中の血漿の容積は血小板産物全容積の５％またはそれ未満である、実質的に血漿を減らした血小板を提供するための自動化方法。
【請求項１７】
前記血小板濃縮物は前記濃縮チャンバーの外で再構成される請求項１６の方法。
【請求項１８】
前記血小板を前記濃縮チャンバーの内で採取することを含む請求項１６の方法。
【請求項１９】
前記血小板産物を自動アフェレーシスセパレーターへ導入し；
血漿の残存容積中に懸濁した第２の血小板濃縮物を得るため前記血小板産物から追加の血漿を除去し；
前記セパレーターへ洗浄液を導入し；
洗浄した血小板濃縮物を得るため前記血小板産物から前記残存血漿の実質的にすべてを除去し；
血小板、洗浄液および血漿を含んでいる洗浄した血小板産物を得るため前記洗浄した血小板濃縮物を前記洗浄液中に再構成することをさらに含み；
前記血小板産物中の血漿の容積は洗浄した血小板産物全体の１％またはそれ未満である請求項１６の方法。
【請求項２０】
前記血小板産物を該血小板産物を得た同じアフェレーシスセパレーターへ導入することを含む請求項１９の方法。
【請求項２１】
前記血小板産物を該血小板産物を得たアフェレーシスセパレーターとは異なるアフェレーシスセパレーターへ導入することを含む請求項１９の方法。
【請求項２２】
前記添加剤溶液は食塩水または水性合成血小板貯蔵媒体のいずれかである請求項１６の

方法。
【請求項２３】
前記洗浄液は食塩水または水性合成血小板貯蔵媒体のいずれかである請求項１９の方法。
【請求項２４】
血小板濃縮チャンバーを含んでいる自動分離装置を用意し；
少なくとも血小板と血漿を含んでいる血液産物を前記チャンバーへ導入し；
血漿の残存容積中に懸濁した血小板を含んでいる血小板産物を得るため前記血液産物を分離し；
前記分離装置へ洗浄液を導入し；
洗浄した血小板、洗浄液および血漿を含んでいる洗浄した血小板産物を提供するため前記チャンバーから残存血漿を除去することを含み；
前記洗浄した血小板産物中の血漿の容積は洗浄した血小板産物全体の１％またはそれ未満である、血小板洗浄の自動化方法。
【請求項２５】
前記血液産物の二以上のバッチを逐次的に導入することを含み、各逐次的導入の後に、前記分離、前記洗浄液導入、および前記血漿容積へ到達するための前記除去ステップが続く請求項２４の方法。
【請求項２６】
（ａ）（ｉ）生物学的流体をある容積の血漿中に懸濁した血小板を含んでいる一以上の成分に分離するための処理チャンバー、および
（ｉｉ）前記処理チャンバーと開くことができる流れ連通にある添加剤水溶液の源
を含んでいる使い捨て流体回路、
（ｂ）血小板と血漿を含んでいる生物学的流体の分離を実行するための前記処理チャンバーを収容するのに適した分離装置、
（ｃ）（ｉ）前記分離チャンバー内である容積の血漿中に懸濁した前記血小板を濃縮し、
（ｉｉ）血小板濃縮物を得るため前記血小板から実質的にすべての血漿を除去し、そして
（ｉｉｉ）血小板と合成添加剤水溶液と血漿を含む、血小板産物であって、血漿の容積が血小板産物の全容積の５％またはそれ未満である血小板産物を得るため、前記添加剤溶液源からの添加剤溶液を前記血小板濃縮物とを混合する、
ようにプログラムされたプログラム可能なコントローラー、を含んでいる実質的に血漿が減らされた血小板を得るために生物学的流体を処理するための自動システム。
【請求項２７】
前記分離チャンバーと流れ連通にある採取容器をさらに含んでいる請求項２６のシステム。
【請求項２８】
前記コントローラーは、前記血小板産物を前記容器中へ運搬するようにさらにプログラムされている請求項２７のシステム。
【請求項２９】
前記処理チャンバーは、血小板を濃縮するための濃縮チャンバーを含んでいる請求項２６のシステム。
【請求項３０】
前記処理チャンバーは、全血から血小板と血漿を分離するための分離チャンバーをさらに含んでいる請求項２９のシステム。
【請求項３１】
前記プログラム可能なコントローラーは、
（ａ）前記血小板産物を前記容器から前記処理チャンバーへ運搬し、
（ｂ）洗浄した血小板濃縮物を得るため前記血小板産物中に残っている血漿の実質的に

すべてを置換するように洗浄液を前記処理チャンバーへ導入し、
（ｃ）血小板、洗浄液および血漿を含んでいる洗浄した血小板産物を得るため前記洗浄液中に前記洗浄した血小板濃縮物を再懸濁するようにさらにプログラムされており、前記洗浄した血小板産物中の血漿の容積は洗浄した血小板産物の全容積の１％またはそれ未満である請求項２６のシステム。
【請求項３２】
前記血小板産物は血小板と添加剤水溶液を含み、前記産物中の血漿の容積は血小板産物全容積の約０％でえある請求項３１のシステム。
【請求項３３】
アフェレーシス装置を用意し；
減らされた容積の血漿中に懸濁した濃縮した血小板を得るため前記アフェレーシス装置内で血漿中に懸濁した血小板を分離し；
前記血小板懸濁液の実質的にすべてを採取し；
前記アフェレーシス装置内に残っている残存血漿を除去し；
前記濃縮した血小板を添加剤水溶液のある容積中に再懸濁し；
血小板、前記添加剤水溶液および血漿を含んでいる濃縮した血小板産物であって、血漿の容積が血小板産物の全容積の５％またはそれ未満の血小板産物を提供するため前記血小板懸濁液から追加の血漿を除去するように前記アフェレーシス装置中へ前記再懸濁した血小板を運搬することを含み；
前記添加剤水溶液は、
約４５ないし約１２０ｍＭの塩化ナトリウム；
約５ないし約１５ｍＭのクエン酸ナトリウム；
約２０ないし約４０ｍＭの酢酸ナトリウム；
約０．０５ないし約１２ｍＭのリン酸塩；
約０．０５ないし約３ｍＭのマグネシウムイオン；
約０．０５ないし約１０ｍＭの塩化カリウム；
約５ないし約４０ｍＭの重炭酸ナトリウム；
約０．５ないし約２０ｍＭのグルコース；
を含んでいる、血小板の洗浄方法。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本開示は、血小板機能性を保存し、そして延長するためインビトロで貯蔵される血小板のエネルギー代謝を最適化する、血小板のような血液成分のための貯蔵媒体に関する。もっと詳しくは、本開示は血漿の削減された量を用いることができる合成貯蔵溶液と血漿とを含んでいる貯蔵媒体に関する。
【０００２】
本開示は、実質的に血漿削減血小板を得るため生物学的流体を処理するための自動化システムおよび方法にも関する。もっと詳しくは、本開示はアフェレーシスの間得られる血小板濃縮物中に残っている残存血漿容積を減らすためのシステムと方法に関し、この場合残存血漿容積は血小板濃縮物の全容積の５％未満に減らすことができる。本開示は、残存血漿容積を血小板濃縮物の全容積の１％未満へ減らすため血小板濃縮物を洗浄するための自動化システムおよび方法の使用にも関する。
【関連技術の説明】
【０００３】
全血から血小板を分離する方法および患者へ後で輸注するため血小板を貯蔵する方法は良く知られている。血小板の貯蔵に有用な種々の合成媒体は、ここに参照として取り入れる米国特許第５，５６９，５７９号（Ｍｕｒｐｈｙ）および第５，９０８，７４２号（Ｌｉｎ　ｅｔ　ａｌ．）に開示されている。ここに参照として取り入れる２００８年１２月

１８日に出願された米国特許出願公開ＵＳ２００９／０１９１５３７は、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、リン酸ナトリウム、グルコース、マグネシウムおよび／またはカリウム、および他の添加物を含んでいる合成血小板貯蔵媒体を開示する。

【背景技術】

【０００４】

全血は赤血球、白血球およびその液体成分である血漿中に懸濁した血小板のような種々の細胞成分に調製される。全血はその構成成分（細胞性または液状）に分離することができ、そして所望の分離した成分はその特定の成分を必要とする患者に投与することができる。例えば、血小板は健康ドナーから除去して採集し、そして化学療法または放射線処置によって血小板をつくる能力が損傷した癌患者へ後で投与することができる。

【０００５】

普通血小板は、遠心チャンバー内に導入され、その中で全血が異なる成分の寸法と密度に基づいて、血小板を含むその構成成分に分離されることによって採取される。これは全血がドナーから引かれ、そしてドナーへ返還される前に遠心機を通過することを必要とする。典型的な血液処理システムは、このため血液を遠心しそしてポンプするハードウェア（駆動システム、ポンプ、弁アクチュエーター、プログラムし得るコントローラーその他）と、そしてハードウェア上に協力的に装荷される使い捨てのシールされた無菌流体処理アセンブリを含んでいる永久的な再使用可能な遠心アセンブリを含んでいる。この遠心アセンブリは採取操作の間流体処理アセンブリ中の使い捨て遠心チャンバーを回転し、それにより血液をその構成成分に分離する。

【０００６】

血小板の多数を採取するためオンライン自動分離システムが今日使用されている。オンラインシステムは、ドナーの存在下逐次的プロセスにおいて全血から血小板を分離するのに必要な分離ステップを実行する。オンラインシステムは、すべて逐次的流れループにおいて、ドナーから全血を引き、引いた血液から所望の血小板を分離し、そして残りの赤血球と血漿をドナーへ返還する。自動オンラインシステムを用いて全血の大容積を処理することができる。大きい処理容積のため、濃縮血小板の大きい収量を採取することができる。さらにドナーの赤血球が返還されるので、ドナーはもっと頻繁にオンライン処理のため血小板を献血することができる。

【０００７】

しばしば血小板アフェレーシスまた単に血小板フェレーシスと称される血小板の自動オンライン分離および採取においては、血小板は流体処理セット中の遠心チャンバーまたは他の場所で全血から分離されそして濃縮される（以後「血小板濃縮物」または「ＰＣ」）。血漿の大部分はアフェレーシス中に除去されるけれども、以後「残存血漿」と称する一定量の血漿がなおＰＣ中に残っている。血小板は人手で採取した全血の単位から得られたバッフィコートからも得ることができる。典型的には輸注に適した血小板量または一回投与分を提供するため複数のバッフィコートがプールされる。血小板は、アフェレーシスによって採取されようがまたはプールされたバッフィコートからであろうが、典型的には患者へ輸注のため必要とされるまで血漿および／または合成貯蔵液のような液体媒体中に再構成される。

【０００８】

貯蔵された血小板が後での投与に適しているためには、それらはそれらの生存性と血小板機能を実質的に保存していなければならない。多数の相関する要因が貯蔵の間血小板生存性と機能に影響し得る。これら要因のいくつかは、血液採取のために使用した抗凝固剤、血小板を調製するために使用した方法、使用した貯蔵容器のタイプ、そしてその中に血小板が貯蔵される媒体を含んでいる。

【０００９】

現在血小板は２２℃において５日または７日貯蔵することができる。しかしながら、７日後血小板機能は損傷され得る。貯蔵時間に加え、ｐＨ、貯蔵温度、全血小板カウント、

血漿容積、貯蔵中の撹拌、そして血小板濃度を含む他の貯蔵条件が血小板代謝および機能に影響することが示されている。

【００１０】

貯蔵した血小板の品質および患者へ輸注した時の血小板のインビボ生存性を決定することを試みる種々のアッセイが開発されている。例えば、ＡＤＰアゴニストへ適切に応答する血小板のパーセンテージ（ＥＳＣアッセイ）と、低張ショックへ適切に応答する血小板のパーセンテージ（ＨＲＳアッセイ）は、貯蔵した血小板の生存性に良く相関すると考えられている二つのアッセイである。ＶａｎｄｅｎＢｒｏｅｋｅ，ｅｔ ａｌ．，“Ｐｌａｔｅｌｅｔ ｓｔｏｒｇｅ ｓｏｌｕｔｉｏｎ ｅｆｆｅｃｔｓ ｏｎ ｔｈｅ ａｃｃｕｒａｃｙ ｏｆ ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ ｔｅｓｔｓ ｆｏｒ ｐｌａｔｅｌｅｔ ｆｕｎｃｔｉｏｎ：ａｍｕｌｔ－ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ ｓｔｕｄｙ”，Ｖｏｘ Ｓａｎｇｕｉｎｉｓ（２００４）８６，１８３－１８８。

【００１１】

ＨＳＲ（低張ショックレスポンス）アッセイの結果は、しばしば個人へ導入される時血小板のインビボ有効性に強く相関していると考えられる。このアッセイは、低張環境に応答して膨潤後円板形状を回復する血小板の能力を測定する。ＨＳＲまたはＥＳＣアッセイのどれかにおける高いスコアは、患者へ輸注した時の血小板の増加した生存性に相関しているように見える。ＨＳＲおよびＥＳＣアッセイの方法および使用は、ここに参照として取り入れるＨｏｌｍａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｒａｎｓｆｕｓｉｏｎ，Ｊａｎｕａｒｙ １９９８；３８：３１－４０にもっと詳しく記載されている。

【００１２】

血小板形状に基づく血小板生存性を測定するための他のアッセイは、貯蔵中および貯蔵後の血小板のための形態スコアである。形態スコアは例えばＫｕｎｉｃｋｉ法によって決定することができ、サンプル中の血小板の選定された数が形状、すなわち円板形、球形、樹状またはバルーン形を決定するために検査される。次に各形状の数が選定された倍数で乗せられ、そして得られた数が形態スコアに到達するように積算される。２５０－４００のスコアが生きている血小板集団を典型的に指示する。

【００１３】

他の形状に基づくアッセイは、いわゆる“スワーリングアッセイ”である。これも血小板濃縮物の品質の測定として使用される。スワーリングアッセイは、半円盤形血小板が光を反射し、散光現象を生じる能力に基づいている。ここに参照として取り入れたＢｅｒｔｏｌｉｎｉ ａｎｄ Ｍｕｒｐｈｙ，Ｔｒａｎｓｆｕｓｉｏｎ １９９４；３４：７９６－８０１およびＴｒａｎｓｆｕｓｉｏｎ １９９６；３６：１２６－１３２に記載されているように、スワーリングアッセイにおいて陽性にスコアされた血小板サンプルは、中間または陰性にスコアされたサンプルよりも高品質であると信じられる。

【００１４】

血小板表面上の糖タンパクＰ－セレクチンの存在も輸注時血小板の生存性を特徴化するために使用される。Ｐ－セレクチンの存在は生存性の損失を指示すると信じられる。ここに参照として取り入れたＨｏｌｍｅ ｅｔ ａｌ．Ｔｒａｎｓｆｕｓｉｏｎ １９９７；３７：１２－１７に記載されているように、血小板は血小板活性化によって円板形から球形へ変形する形状変化を受ける。この活性化はアルファ顆粒からのβ－トロンボグロブリンの分泌を含み、血小板表面にＰ－セレクチンの出現を生じるものと信じられる。モノクローナル抗体ＣＤ６２ＰのようなＰ－セレクチンに対する抗体が血小板表面のＰ－セレクチンの存在を検出するために使用され、そして血小板活性化および輸注時血小板の減少した生存性のマーカーとして使用されている。

【００１５】

血小板の品質の他のマーカーは乳酸デヒドロゲナーゼの細胞外レベルである。乳酸デヒドロゲナーゼは細胞内酵素であり、それ故乳酸デヒドロゲナーゼの高い細胞外レベルは血小板溶解の増加したレベルを反映するものと考えられる。

【００１６】

生存性を維持するためには、血小板はそれらのエネルギー需要を満たすため新しいアデノシン三リン酸（ＡＴＰ）を絶えず生産しなければならない。図１に示すように、血小板はＡＴＰを生産するため二通りの代謝経路、すなわち（ａ）乳酸発酵が後に続く嫌気性解糖または（ｂ）酸化的リン酸化が後に続く解糖を使用する。解糖は２モルのピルビン酸と２モルのＡＴＰへ変換される１モルのグルコースを生ずる。ピルビン酸はその後、やはり嫌気性解糖と呼ばれる乳酸発酵を受けることができる。乳酸発酵においては追加のＡＴＰは生産されないが、ピルビン酸の乳酸への変換はNAD^+を再生し、そして少なくとも少量のＡＴＰをグルコースの代謝からの生産を継続する解糖を許容する。媒体のｐＨおよびその中に貯蔵される血小板に対して負の効果を持ち得る乳酸発酵は酸素の不存在によって刺激されるので、血小板は典型的には酸化的リン酸化を促進し、そして乳酸発酵を抑制するため酵素に対して透過性の容器内に貯蔵される。

【００１７】

酸化的リン酸化においては、ピルビン酸、脂肪酸またはアミノ酸がクエン酸回路においてCO_2と水に変換される。この経路は酵素の適切な供給の存在を必要とする。解糖とその後の酸化的リン酸化はグルコース１モル当たりＡＴＰ３６モルを生産し、それ故解糖およびその後の乳酸発酵よりもはるかに効率的である。

【００１８】

しかしながら、専ら酸化的リン酸化を使用するのではなく、血小板は嫌気性解糖を通じて乳酸を生産し続ける。それ故適切な量の酸素存在下においてさえもグルコースを含んでいる媒体（血漿およびある種の合成貯蔵液のような）中に貯蔵する時、エネルギー生産のための乳酸発酵と組み合わせた血小板による解糖の利用は、乳酸濃度の経時的増加を生ずる。上記のように、乳酸の増加は徐々に貯蔵媒体を酸性化する。媒体の酸性化は、血小板の生理および形態を変え、そのため媒体のｐＨが約６以下に低下した時、血小板は非生存性と考えられる。血小板を非生存性にするには小さ過ぎるｐＨの低下でもＡＴＰの総量の減少を発生させることが観察されている。ＡＴＰは血小板接着および血小板凝集の役割を果たすので、これらのＡＴＰの減少は血小板機能に影響する。従ってこのｐＨ低下の防止および／または遅延をもたらす血小板のための貯蔵媒体を提供することが望ましいであろう。

【００１９】

輸注のための血小板の貯蔵のための多数のアプローチが記載されている。血漿は血小板の貯蔵に有効であるが、血漿自体が血小板から除去できる価値ある血液成分であり、他の障害を有する患者の処置に使用されるかまたはそのためにさらに処理することができるため、血小板貯蔵のための理想的媒体ではない。

【００２０】

血小板濃縮物からいくらかの、大部分の、または全部の血漿を除去する他の理由は、血漿に対するアレルギー性輸血反応（ＡＴＲ）を防止することである。血小板から少なくとも一部分のまたは大部分の血漿を除去する他の理由が存在し得る。例えば血漿中のある種の抗体の存在は一部の患者においてＴＲＡＬＩ（輸血関連急性肺障害）に相関づけられている。その結果アフェレーシス操作において得られた血小板中にある程度の残存血漿が存在し得るけれども、血小板中の残存血漿の量を減らすのが望ましい。好ましくは、残存血漿は、コスト有効性で効率的でそして血小板のインビボ生存性に影響しない方法で血小板濃縮物から除去することができる。従って再構成時、血小板製品が血小板製品全容積の約５％未満またはそれ以下のような実質的に減少した血漿の容積を持つような、血小板濃縮物を得るため、血小板から残存血漿を除去するための自動システムはおよび方法を開発することが望ましい。

【００２１】

５％未満および１％未満の血小板の残存血漿の削減は、残存血漿を除去するように血小板またはＰＣを洗浄することによって達成することができる。洗浄した血小板の再懸濁に際し、再懸濁したＰＣ中に残っている血漿の容積は、好ましくは洗浄した血小板製品全容積の約１％未満であり得る。従って約１％未満の血漿を有する洗浄した血小板製品を得る

ため、血小板濃縮物を洗浄するための自動システムおよび方法を開発することが望ましいであろう。

【００２２】

除去した血漿の代りに、血小板はいくらかの小容積の残存血漿とそして実質的により大容積の代替貯蔵媒体中に再懸濁し、貯蔵することができる。貯蔵される血小板に適した環境を提供する合成水溶液が開発されており、これは一人立ちの溶液か、または上記のようにいくらの量の血漿と組み合わせて使用することができる。血小板濃縮物中の残存血漿の量の削減およびその後の血漿削減血小板濃縮物と合成貯蔵媒体との組み合わせは、血小板のインビボ生存性の保存とそしてそのような血小板の延長された貯蔵時間が得られることのような利益を持つことができる。このため削減した残存血漿容積を有するＰＣまたは血小板と合成水溶液と組み合わせて貯蔵のための血小板産物を得ることが望ましいであろう。

【００２３】

商業的に入手し得る血小板貯蔵媒体であるＩｎｔｅｒＳｏｌ^{TM}は、ここに全体を参照として取り入れる米国特許第５，９０８，７４２号に一般的に記載されている。ＩｎｔｅｒＳｏｌはクエン酸ナトリウム、リン酸ナトリウムを含有し、塩化ナトリウムで血小板および血漿と浸透圧に調節されている。ＩｎｔｅｒＳｏｌの典型的な処方は、２１．５ｍＭ（３．０５ｇ／Ｌ）の無水二塩基性リン酸ナトリウム（Na_2HPO_4）、６．７ｍＭ（１．０５ｇ／Ｌ）の一塩基性リン酸ナトリウム（$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$）、１０．８ｍＭ（３．１８ｇ／Ｌ）のクエン酸ナトリウム$2H_2O$，３２．５ｍＭ（４．４２ｇ／Ｌ）の酢酸ナトリウム$3H_2O$、および７７．３ｍＭ（４．５２ｇ／Ｌ）の塩化ナトリウムを含んでいる。ＩｎｔｅｒＳｏｌ溶液は血小板および血漿と大体等しい浸透圧濃度（約３００ｍＯｓｍ／Ｌ）であり、約７．２のｐＨを有する。ある用途においては（限定ではないが血小板中の病原の不活性化のような）、ＩｎｔｅｒＳｏｌはＩｎｔｅｒＳｏｌ／血漿比約７０％／３０％ないし６０％／４０％において血漿と組み合わせて使用することができる。ＩｎｔｅｒＳｏｌ中のリン酸緩衝液が血小板貯蔵中の溶液のｐＨを安定化し、そして解糖を増加する。

【００２４】

ＩｎｔｅｒＳｏｌは血小板の保存において満足に働くけれども、血小板の貯蔵時間およびインビボ生存性のさらなる改良が望ましいであろう。例えば、前記したように、血小板による乳酸発酵を減らし、そしてこのため血小板貯蔵の間典型的に発生するｐＨの低下を遅らせ、それによって貯蔵した血小板の生存性を２２℃において７日以上１５日までに増加する血小板貯蔵媒体を開発することが望ましい。血漿の削減した量において（約３０％未満、好ましくは５％未満、そしてもっと好ましくは１％未満のような）血小板の貯蔵を許容する合成貯蔵媒体を開発することも望ましい。約６．４と約７．４の間のｐＨを維持しながら、低いリン酸塩濃度を有し、そして貯蔵中の血小板のエネルギー需要を実質的に満たす栄養の十分な供給を有する血小板貯蔵媒体を提供することも望ましい。最後に、血漿の削減した量において血小板の採取をプログラムすることができ、そしてそれを許容する自動システムを提供することが望まれる。

【発明の概要】

【００２５】

一局面において、本開示は約４５～１２５ｍＭの塩化ナトリウムと、約５～１５ｍＭのクエン酸ナトリウムと、約２０～４０ｍＭの酢酸ナトリウムと、約０．０５ないし約１２ｍＭのリン酸塩と、約０．０５ないし約３ｍＭのマグネシウムイオンと、約０．０５ないし約１０ｍＭの塩化カリウムと、約５ないし約４０ｍＭの重炭酸ナトリウムと、そして約０．５ないし約３０ｍＭのグルコースを含んでいる血小板の貯蔵のための合成水溶液に向けられる。

【００２６】

他の局面において、本開示は約４５～１２５ｍＭの塩化ナトリウムと、約５～１５ｍＭのクエン酸ナトリウムと、約２０～４０ｍＭの酢酸ナトリウムと、約０．０５ないし約１

２ｍＭのリン酸塩と、約０．０５ないし約３ｍＭのマグネシウムイオンと、約０．０５ないし約１０ｍＭの塩化カリウムと、約５ないし約４０ｍＭの重炭酸ナトリウムと、約０．５ないし約３０ｍＭのグルコースと、そして約１０％までの血漿を含んでいる水溶液中の血小板を含む血小板産物に向けられる。

【００２７】

さらなる局面において、本開示は血小板を貯蔵する方法に向けられる。この方法は、濃縮した血小板を提供し、そして濃縮した血小板を、約４５～１２５ｍＭの塩化ナトリウムと、約５～１５ｍＭのクエン酸ナトリウムと、約２０～４０ｍＭの酢酸ナトリウムと、約０．０５ないし約１２ｍＭのリン酸塩と、約０．０５ないし約３ｍＭのマグネシウムイオンと、約０．０５ないし約１０ｍＭの塩化カリウムと、約５ないし約４０ｍＭの重炭酸ナトリウムと、約０．５ないし約３０ｍＭのグルコースとを含み、そして約１０％までの血漿を含んでいる水溶液の選択された容積と組み合わせることを含む。

【００２８】

なおさらなる局面において、本開示は約６９ｍＭの塩化ナトリウムと、約１０ｍＭのクエン酸ナトリウムと、約３０ｍＭの酢酸ナトリウムと、約９．３ｍＭの一塩基性リン酸ナトリウム二水塩および二塩基性リン酸ナトリウム無水物と、約１．５ｍＭの塩化マグネシウムと、約５ｍＭの塩化カリウムと、約１６．８ｍＭのグルコース（デキストロース）と、そして少なくとも約１０ｍＭの重炭酸ナトリウムを含んでいる血小板を処理するための水溶液と、そのような溶液でまたは溶液中で血小板を洗浄および／または貯蔵する方法に向けられる。

【００２９】

他の局面において、本開示は実質的に血漿が削減された血小板を提供するための自動化方法に向けられる。この方法は血小板濃縮チャンバーを含んでいる自動アフェレーシスセパレータを用意し、そして該チャンバー内で血小板を濃縮するステップを含み、ここで血小板濃縮物はある容積の血漿中に懸濁した血小板を含む。該方法はさらに血小板濃縮物から血漿の選択された容積を除去し、そして血小板濃縮を添加物溶液で再懸濁し、血小板と添加物水溶液と血漿を含んでいる血小板産物を得るステップをさらに含み、ここで前記血小板産物中の血漿の容積は血小板産物全体の容積の５％またはそれ未満である。

【００３０】

他の局面において、前記方法は血小板産物を自動アフェレーシスセパレータに導入し、そして血漿の残存容積中に懸濁された第２の血小板濃縮物を得るため血小板産物から血漿成分の実質的にすべてを除去することを含む。第２の血小板濃縮物中に残っている残存血漿の実質上すべてを置換するため洗浄液をセパレーター中に導入することができ、そして洗浄した血小板濃縮物を得るため残存血漿をセパレーターから除去することができる。前記方法はさらに、産物中の血漿の容積が洗浄した血小板産物全体の１％または１％未満である、血小板と洗浄液と血漿を含む洗浄した血小板産物を得るため、洗浄した血小板濃縮物を洗浄液中に再構成するステップを含むことができる。

【００３１】

他の局面において、本開示は血小板濃縮チャンバーを含んでいる自動分離装置を用意し、血液産物を該分離装置に導入し、そして血小板濃縮物を得るため該血液産物を分離するステップを含んでいる血小板の自動洗浄方法に向けられる。血小板濃縮物は血漿の残存容積中に懸濁された血小板を含んでいる。前記方法はさらに、残存血漿を置換するため洗浄液を分離装置に導入し、そして洗浄した血小板産物中の血漿の容積が洗浄した血小板全体の１％または１％未満である、血小板と洗浄液と血漿を含んでいる洗浄した血小板産物を得るため前記チャンバーから残存血漿を除去することを含む。

【００３２】

なお他の局面において、本開示は実質的に血漿が削減された血小板を得るため生物学的流体を処理するため自動システムに向けられる。このシステムは、生物学的流体を血漿のある容積中に懸濁した血小板を含んでいる一以上の成分に分離するための分離チャンバーを含む使い捨て流体回路と、そして該分離チャンバーと開くことができる流れ連通にある

添加物水溶液源と、生物学的流体の分離を実行するため該分離チャンバーを収容するのに適応した分離装置と、そしてプログラム可能なコントローラーを含む。コントローラーは、分離チャンバー内の血漿のある容積中に懸濁した血小板を採集し、血小板濃縮物を得るため血小板から血漿の実質上全部を除去し、そして血小板と添加物水溶液と血漿を含んでいる血小板産物であって、血漿の容積が血小板産物全体の容積の５％または５％未満である血小板産物を得るため血小板から実質上全部の血漿を除去するようにプログラムされている。

【００３３】

さらなる局面において、本開示はアフェレーシス装置を用意し、血漿の選択された容積中に懸濁された濃縮血小板を得るためアフェレーシス装置内で血漿中に懸濁した血小板を分離することを含む血小板を洗浄する方法にも向けられる。この方法はさらに、濃縮血小板懸濁液の実質上全部を採取し、アフェレーシス装置内に残っている残存血漿を除去し、そして濃縮血小板を約４５～１２５ｍＭの塩化ナトリウム、約５～１５ｍＭのクエン酸ナトリウム、約２０～４０ｍＭの酢酸ナトリウム、約０．０５ないし約１２ｍＭのリン酸塩、約０．０５ないし約３ｍＭのマグネシウムイオン、約０．０５ないし約１０ｍＭの塩化カリウム、約５ないし約４０ｍＭの重炭酸ナトリウム、そして約０．５ないし約３０ｍＭのグルコースを含んでいる添加物濃縮のある容積に再懸濁することを含む。この方法はさらに、血小板と添加物水溶液と血漿を含み、血漿の容積が血小板産物全容積の５％または５％未満である濃縮血小板産物を提供するため、再懸濁した血小板を血小板懸濁液から追加の血漿を除去するためにアフェレーシス装置中へ運搬することを含む。

【図面の簡単な説明】

【００３４】

【図１】ＡＴＰ生産のための解糖および酸化的リン酸化経路の説明である。

【図２】合成貯蔵液の成分を混合するための容器システム（コンパートメント）の一例である。

【図２Ａ】ここに記載した合成貯蔵液の成分を混合するための代替容器システム（コンパートメント）の一例である。

【図３】本開示に従った血小板の採集および他の処理ステップに使用し得る自動アフェレーシス装置の斜視図である。

【図４】血小板採取のための例示的使い捨て処理セットが装着された図３の装置の前方パネルの拡大斜視図である。

【図５】貯蔵媒体の容器が開示されている図４の使い捨てセットを示している図である。

【図５Ａ－５Ｆ】本開示に従った血小板の採集およびさらなる処理方法におけるステップを示している図である。

【図６】本開示に従った血小板採集およびさらなる処理方法の他の具体例に有用な使い捨てセットの図である。

【図７】図６の方法の追加のステップを示している図である。

【図８】図６および図７の方法のさらなるステップを示している図である。

【図９】本開示に従った血小板処理方法における種々のステップを示しているフローチャート図である。

【具体例の説明】

【００３５】

ここに開示した具体例は、血小板濃縮物のような血液成分を残存血漿を除去するため処理するための自動化システムおよび方法の一般的説明を提供する。血小板濃縮物の洗浄のための自動化システムおよび方法も、処理、洗浄および貯蔵の方法に使用される溶液と同様に、本開示の主題である。ここに開示した具体例はまた、血小板のような血液成分を貯蔵するための貯蔵媒体および方法の一般的説明を提供する。これら具体例は例示のみであり、種々の形に具体化することができる。それ故ここに記載した特定の詳細は、特許請求の範囲に述べた本発明の主題を限定するものと解釈してはならない。

【００３６】

ここに記載した血小板貯蔵媒体は、少なくとも水溶液と、そして典型的には血漿のいくらかの量を含んでいる。ここに記載した血小板産物は、血小板貯蔵媒体（血小板貯蔵液と血漿）と、その中に貯蔵された血小板を含む。好ましくは貯蔵媒体を構成する血漿の量は減らされる。例えば、血漿の約４０％未満、もっと好ましくは約２０％未満、そして約１０－２０％の間を使用することができる。しかしながら、もっと好ましくは血漿の容積は５％以下そして０％と５％の間のように１０％未満である。

【００３７】

ここに記載した血小板貯蔵媒体は、嫌気性解糖を経由するＡＴＰ生産を上廻って酸化的リン酸化経路を通ってＡＴＰ生産を促進し、それによって乳酸発酵および媒体のｐＨ低下を制限するものと現在信じられ、理解されている。従ってここに記載した血小板貯蔵媒体中に貯蔵された血小板は、典型的には血漿または他の貯蔵媒体中に貯蔵された血小板と少なくとも同程度良好かまたは一層良好な低張ショックへの応答、Ｐ－セレクチンのレベル、形態等のような性質を発揮する。

【００３８】

一具体例において、それ自体塩溶液中一以上の栄養素および緩衝剤を含んでいる合成貯蔵水溶液を含む血小板貯蔵媒体が提供される。その一つはリン酸塩緩衝剤であり得る緩衝剤は、血小板貯蔵媒体中のリン酸のより低い濃度（ＩｎｔｅｒＳｏｌまたは他の貯蔵液もしくは媒体に比較して）を含むことができる。追加の緩衝効果は重炭酸イオンの選択した濃度によって提供されることができる。重炭酸塩は重炭酸ナトリウムとして提供することができる。

【００３９】

このためここに記載した合成貯蔵水溶液の一具体例は、塩化ナトリウム４５－１２５ｍＭ，クエン酸ナトリウム５－１５ｍＭ，酢酸ナトリウム２０－４０ｍＭ、リン酸緩衝剤０．５－１２ｍＭ、マグネシウムイオン０．５－１２ｍＭ、そしてグルコース０．５－３０ｍＭを含むことができ、完全な貯蔵媒体の初期ｐＨは６．８－７．３の範囲にある。貯蔵水溶液はさらに重炭酸ナトリウム５－４０ｍＭを含むことができる。任意に合成血小板貯蔵液中に塩化カルシウム０．０５－３ｍＭおよび／または塩化カリウム０．０５－１０ｍＭが存在することができる。

【００４０】

もっと特定の具体例において、塩化ナトリウムは約５０ｍＭから約１１０ｍＭまで存在することができる。もっと詳しくは、塩化ナトリウムは約５８ｍＭから約９０ｍＭまで、または約６５ｍＭから約８０ｍＭまで存在することができる。一具体例において、最終（混合した）水溶液中の塩化ナトリウムの濃度は約６９ｍＭであることができる。

【００４１】

またもっと好ましくは、クエン酸ナトリウムは約７ｍＭから約１３ｍＭまで、そして典型的には約９ｍＭから約１２ｍＭまで存在することができる。一具体例においては、最終（混合した）水溶液のクエン酸ナトリウムの濃度は約１０ｍＭである。

【００４２】

上で述べたように、貯蔵溶液はある量の酢酸ナトリウムを含むことができる。一具体例において、酢酸ナトリウムは、約２４ｍＭから約３６ｍＭまで、もっと好ましくは約２８ｍＭから約３３ｍＭまで存在することができる。一具体例においては、最終（混合した）水溶液中の酢酸ナトリウムの最終濃度は約３０ｍＭであることができる。

【００４３】

前に記載したように、緩衝化は重炭酸イオンによって提供されることができる。好ましくは重炭酸塩はナトリウム塩、重炭酸ナトリウム$NaHCO_3$として提供できる。重炭酸ナトリウムは合成溶液中約５ｍＭ－４０ｍＭの間、そしてもっと好ましくは約８ｍＭ－２５ｍＭの間の量で存在することができる。一具体例において、最終（混合した）溶液中の重炭酸塩の濃度は少なくとも約２０ｍＭであり得る。

【００４４】

好ましくはリン酸塩のような緩衝剤がここに記載した貯蔵溶液中に含められる。一具体

例において、リン酸塩は約０．５ないし１２ｍＭ，３ｍＭないし１１ｍＭそしてもっと典型的には約６ｍＭから約１０ｍＭまで存在することができる。リン酸塩の源の例は限定ではなくリン酸ナトリウムおよび／またはリン酸カリウムを含む。加えて、使用するリン酸ナトリウムおよびリン酸カリウムは、リン酸塩の一塩基性および二塩基性の形のどちらかまたは両方のようなリン酸塩の種々の形を含むことができる。例えば、９．４ｍＭのリン酸塩濃度を有するリン酸緩衝液は、約７．２ｍＭ（１．０１７ｇ／Ｌ）の二塩基性リン酸ナトリウム無水物（Na_2HPO_4）と、そして２．２ｍＭ（０．３５０ｇ／Ｌ）の一塩基性リン酸ナトリウム二水塩（$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$）を含むことができる。

【００４５】

１モルのグルコースから２モルのピルビン酸への変換は２モルの無機リン酸塩を必要とするものと理解される。それ故酸化的リン酸化に先立つステップであるグルコースのピルビン酸への代謝はリン酸の存在を必要とする。しかしながら、リン酸塩の高いレベルはミトコンドリア膜の透過性を変え、そして無傷の血小板ミトコンドリアを維持する可能性を減ずる。ミトコンドリア中の酸化的リン酸化のクエン酸回路が行われる時、媒体中の安定したｐＨと血小板中のＡＴＰの適切なレベルを維持するため、貯蔵の間酸化的リン酸化を最適化するようにミトコンドリアを無傷に保つことが望ましい。

【００４６】

血漿中に貯えた血小板においては、酸化的リン酸化が活動的であり、そして平均乳酸濃度は約１８ｍＥｇ／Ｌである。従って約１０ｍＭ未満のリン酸濃度を有し、そして血小板貯蔵の間酸化的リン酸化を促進する合成貯蔵媒体は、乳酸発酵が生起する解糖によって生産されるピルビン酸の分画から生じるH^+を緩衝化できなくてはならない。それ故ここに記載した合成貯蔵媒体のリン酸濃度は、正常な膜透過性を持つ無傷の血小板ミトコンドリアを維持するため好ましくは１０ｍＭ以下である。例えば、約９．４ｍＭのリン酸濃度を有する水溶液の３００ｍｌが血漿１０％を含む貯蔵液中の血小板懸濁液を製造するため血漿中の血小板濃縮物と組み合わされる。最終リン酸濃度は約１５ｍＥｇ／Ｌであろう。

【００４７】

ここに開示した貯蔵液は、アミノ酸によっても緩衝化することができる。アミノ酸は主緩衝剤として使用することができ、またはリン酸塩のような他の緩衝剤と共に使用することができる。一具体例において、アミノ酸としてヒスチジンを貯蔵液を緩衝化するために使用することができる。もっと特別には貯蔵液はヒスチジンを約１ｍＭないし約７ｍＭ、または約２ｍＭないし約５ｍＭ含むことができる。

【００４８】

ここに記載した貯蔵液にはマグネシウムイオンの選択した濃度を含むことができる。一具体例において、マグネシウムイオンは合成溶液中約３ｍＥｇ／Ｌ（１．５ｍＭ）である血漿レベル近くの濃度で存在することができる。高い細胞内濃度のマグネシウムイオンはミトコンドリアの再シーリングにおいて役割を果たすように見える。Ｐｅｔｒｏｌｌｉｎ Ｖ．Ｃｏｌａ Ｃ，Ｂｅｒｎａｒｄｉ Ｐ，Ｍｏｄｕｌａｔｉｏｎ ｏｆ ｔｈｅ ｍｉｔｏｃｈｏｎｄｒｉａ ｃｙｃｌｏｓｐｏｒｉｎ Ａ－ｓｅｎｓｉｔｉｖｅ ｐｅｒｍｅａｂｉｌｉｔｙ ｔｒａｎｓｐｏｓｉｔｉｏｎ ｐｏｒｅ，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．１９９３：２６８；１０１１－６．それ故媒体中のマグネシウムイオンは血小板中最適な細胞内マグネシウムレベルに維持されなければならず、そしてそうすることによって媒体のｐＨを維持するのを助ける。好ましくはマグネシウムイオンは塩化物または硫酸塩として添加することができる。一具体例において、マグネシウムイオンは約０．０５ｍＭないし約４ｍＭ存在することができる。もっと典型的にはマグネシウムイオンは約０．１ｍＭないし約３．５ｍＭ、または約０．５ないし約３．０ｍＭ、または約１．０ｍＭないし約２．５ｍＭ存在することができる。一特定具体例において、マグネシウムイオンは約１．４ｍＭないし約２．２ｍＭ存在することができる。一具体例において、最終（混合した）水溶液のマグネシウム（塩化物）の濃度は約１．５ｍＭである。

【００４９】

ここに記載した貯蔵液は選択した濃度のカルシウムイオンを含むことができる。例えば

、カルシウムイオンは水溶液中に存在し得る。媒体中のカルシウムイオンの存在は細胞内マグネシウムイオンを維持するのを助ける。ストレスが血小板中へのカルシウムの流入を生じさせ、それ故完全貯蔵媒体中に遊離カルシウムを維持するため、合成貯蔵媒体は当初約０．５ｍＭないし約２．５ｍＭ（１ないし５ｍＥｇ／Ｌ）のカルシウムイオンを含むことができる。一具体例においてカルシウムイオンは約０．４ｍＭないし約２．８ｍＭ、または約０．６ｍＭないし約２．２ｍＭ、または約０．８ｍＭないし約１．２ｍＭ存在することができる。

【００５０】

ここに記載した貯蔵液は選択した量のカリウムイオン（例えば塩化カリウムからの）を含むことができる。媒体中のカリウムイオンの存在は細胞内マグネシウムイオン濃度の維持を助けることができる。カリウムイオンはまた、クエン酸サイクル（ＴＣＡ回路）において酸化的リン酸化のためのミトコンドリア膜を横切るピルビン酸の輸送に関与しているように見える。

【００５１】

好ましくはカリウムイオンは約１ｍＭないし約１０ｍＭ存在することができる。もっと好ましくはカリウムイオンは約２ｍＭないし約９ｍＭ、または約３ｍＭないし約８ｍＭ、または約４ｍＭないし約７ｍＭ、または約４．５ｍＭないし約６．５ｍＭ存在することができる。一具体例において、最終（混合した）水溶液中のカリウム（塩化物）の濃度は約５ｍＭであることができる。

【００５２】

ここに記載した貯蔵液はマグネシウムイオンとカルシウムイオンとカリウムイオンの組み合わせを含むことができ、またはこれら３種のイオンの他のサブコンビネーションが貯蔵液中に存在しても良い。貯蔵液が図２に示した中性緩衝化生理学的コンパートメントとそして炭水化物コンパートメントのような二つのコンパートメントに分離されている場合（後で詳しく記載）、マグネシウムイオンとカルシウムイオンとカリウムイオンの一以上はどちらかのまたは両方のコンパートメントに含まれることができる。

【００５３】

ここに記載した貯蔵液および貯蔵媒体において、好ましくは炭水化物がエネルギー生産のための中間代謝の栄養源として含められる。グルコースおよびスクロースのような他の炭水化物が血小板のための栄養素であり、そしてクエン酸回路においてエネルギー生産のための中間代謝物の主要源であることによって貯蔵血小板のための重要なエネルギー源を提供することができる。しかしながら、グルコースのような炭水化物の過剰濃度は増加した乳酸生産を生ずるらしいため、貯蔵媒体中の炭水化物濃度を調節することが重要であり得る。一具体例において、当所グルコース濃度は約０．５ｍＭないし約３０ｍＭであることができる。もっと好ましくは当初グルコース濃度は約２ｍＭないし約２２ｍＭであることができる。ある具体例において、当初グルコース濃度は約４ｍＭないし約２０ｍＭであることができる。好ましくは当初グルコース濃度は約６ｍＭないし約１９ｍＭであることができる。他の具体例において、最終（混合した）水溶液中のグルコース濃度は約１６．８ｍＭであることができる。スクロースのような炭水化物は主エネルギー源としてグルコースの代りにまたはグルコースと組み合わせて使用することができる。

【００５４】

前述したように炭水化物、例えば、グルコースは中性緩衝化生理学的塩とは別の濃厚溶液として貯蔵することができる。図２に示すように、濃厚炭水化物溶液は濃厚炭水化物溶液の重量オスモル濃度が緩衝化生理学的コンパートメント（バッグ１）のそれに近くなるように濃厚炭水化物の重量オスモル濃度を上げるためカルシウム、マグネシウム、カリウムまたはナトリウム塩またはこれら塩の任意の可能なサブコンビネーションを含むことができる。グルコース溶液のオートクレービングのような熱滅菌を許容するため、グルコース溶液は例えば、約４ないし約６の間のｐＨを有する酸性でなければならない。

【００５５】

濃厚炭水化物の一例として、水溶液３００ｍｌを製造するため濃厚グルコース溶液２５

ｍｌを緩衝化塩溶液２７５ｍｌと混合することができる。この例において濃厚グルコース溶液は４０ｇ／ｌグルコースであり、これは最終血小板混合物中３．３ｇ／Ｌまたは０．３２％ｗ／ｗグルコースを生ずる。

【００５６】

グルコース、さらに詳しくは、Ｄ－グルコース（デキストロース）のような炭水化物は血小板貯蔵媒体へ処理日（日１）に、および／または貯蔵中後で、例えば日３または日４に加えることができる。処理日後の炭水化物の添加は貯蔵バッファーに使用すべき炭水化物の低い初期濃度を許容することができ、そして貯蔵中炭水化物が代謝されるにつれ追加の炭水化物を加えることができる。この態様において炭水化物の低い濃度が血小板貯蔵を通じて貯蔵媒体中に存在し、これは後で論じるように乳酸の生産を抑制する。

【００５７】

このようにここでＰＡＳ－５またはＰＡＳ　Ｖと呼ぶ合成水溶液は表１の組成を有する。

【００５８】

【表１】

組成(g/L)	PAS-5
クエン酸Na_3・$2H_2O$	2.94
酢酸Na・$3H_2O$	4.08
NaH_2PO_4・$2H_2O$	0.35
NaH_2PO_4	1.02
NaCl	4.06
KCl	0.37
$MgCl_2$	0.30
グルコース	3.33
$CaCl_2$	0.15
重炭酸Na	0.75 – 1.70

【００５９】

他の栄養素を合成貯蔵液または貯蔵媒体中のグルコースに代えまたはそれに含めることができる。例えば、合成媒体中にオキザロ酢酸が存在するかまたは血小板リッチ分画へ合成媒体が添加された後、血小板懸濁液へ加えることができる。血小板貯蔵の間乳酸蓄積のリスクをさらに減らすため、合成貯蔵媒体は解糖によって生ずるピルビン酸を生成するグルコースおよび同様な炭水化物を含まないかまたは減少した量を含むように処方することができる。これらの炭水化物の不存在下においてはピルビン酸は生産されず、その結果乳酸が生産されない。グルコースまたは類似の炭水化物の不存在下血小板ＡＴＰ生産を維持するため、オキザロ酢酸を合成貯蔵媒体へ直接加えることができる。オキザロ酢酸はミトコンドリア中に発見される４炭素原子分子であり、アセチルＣｏ－ＡとＴＣＡ回路（クエン酸回路）の最初の反応を生成するように縮合する。図１に示すようにグルコースの存在下オキザロ酢酸はピルビン酸の酸化によって生産される。グルコースの不存在下において

は、ピルビン酸の酢酸への変換は不可逆性であるため、オキザロ酢酸は酢酸から生産されることができない。従ってグルコースの不存在下、オキザロ酢酸を貯蔵血小板へ直接またはアスパラギン酸のような前駆体アミノ酸の形で供給することができる。

【００６０】

媒体中のオキザロ酢酸の存在はアセチルＣｏ－Ａと酢酸のＡＴＰを生産する代謝を許容し得る。それ故オキザロ酢酸の存在は酢酸の蓄積とそして媒体を酸性化できるアセト酢酸のようなケトン化合物の生成を防止する。酸化的リン酸化の各サイクルの間オキザロ酢酸が再生される時、貯蔵媒体は約等モル量のオキザロ酢酸と酢酸を含有し得る。ある具体例において、合成溶液中オキザロ酢酸は約１０ｍＭないし約４５ｍＭ存在し得る。もっと特別には、オキザロ酢酸は合成溶液中約２０ｍＭないし約４０ｍＭ、または約２４ｍＭないし約３６ｍＭ，または約２８ｍＭないし約３３ｍＭ存在し得る。

【００６１】

ここに一般的に記載した貯蔵液または貯蔵媒体は酸化的リン酸化を促進する他の成分を含むことができる。例えば、アセチル－Ｌ－カルニチンのような天然に存在するＬ－カルニチンのエステルを貯蔵液に含めることができる。触媒量のアセチル－Ｌ－カルニチンは老令ミトコンドリアにおいて酸化的リン酸化を回復させることが示されている。それ故貯蔵した血小板のミトコンドリアを保存しそして炭水化物の酸化的リン酸化を促進するため、アセチル－Ｌ－カルニチンのような天然に存在するＬ－カルニチンのエステルが貯蔵液中に存在することができる。Ｌ－カルニチンのエステルは合成溶液中に存在するかおよび／または血小板リッチ分画へ合成溶液が添加された後血小板懸濁液へ添加することができる。なお他のもっと特定の具体例において、Ｌ－カルニチンの天然に存在するエステルは貯蔵液中に約０．１μＭないし約１０μＭ存在し得る。いくつかの具体例において、Ｌ－カルニチンの天然に存在するエステルは貯蔵液中約０．２μＭないし約８μＭ存在し得る。いくつかの具体例において、Ｌ－カルニチンの天然に存在するエステルは貯蔵液中約０．５μＭないし約１．５μＭ存在し得る。

【００６２】

以上に加えまたは代替として、ここに開示した貯蔵媒体は酸化的リン酸化を促進する他の成分をさらに含むことができる。抗酸化剤を血小板貯蔵媒体へ、または血小板と貯蔵媒体を含んでいる組成物へ加えることができる。抗酸化剤の例はグルタチオン、セレニウム等である。ある具体例において、抗酸化剤は合成溶液中に約０．５μＭないし約３ｍＭ存在し得る。もっと特別には、抗酸化剤は溶液中約１．０μＭないし約２ｍＭ存在することができる。ある具体例において、グルタチオンまたはその前駆体のＮ－アセチルシステインおよび／またはセレニウムは、単独でまたは組み合わせて、合成溶液中約０．５μＭないし約３ｍＭ存在し得る。もっと特別には、グルタチオンまたはその前駆体Ｎ－アセチルシステインおよび／またはセレニウムは、単独でまたは組み合わせて合成溶液中約１．０μＭないし約２ｍＭ存在し得る。ここに記載した抗酸化剤は貯蔵液および血小板貯蔵媒体へ、そしてＩｎｔｅｒＳｏｌのような既知の貯蔵液およびＩｎｔｅｒＳｏｌを含んでいる媒体へ含めるか添加することができる。

【００６３】

酸化的リン酸化をさらに促進するため、ここに記載した合成貯蔵媒体または貯蔵媒体中の血小板は、膜を安定化し得る他の成分を含むことができる。例えば、リン脂質またはリン脂質の混合物を貯蔵液中に含めることができる。ある具体例において、リン酸脂質は貯蔵溶液中約０．１ｍｇ／ｍｌないし約７．５ｍｇ／ｍｌ、そしてもっと典型的には約０．２５ｍｇ／ｍｌないし約５ｍｇ／ｍｌ存在し得る。もっと特別にはＬ－アルファホスファチジルコリンが貯蔵溶液中約０．１ｍｇ／ｍｌないし約７．５ｍｇ／ｍｌ、そしてもっと典型的には約０．２５ｍｇ／ｍｌないし約５ｍｇ／ｍｌ存在し得る。

【００６４】

酸化的リン酸化は合成貯蔵媒体中に非必須アミノ酸を含めることによっても促進することができる。例えば、約０．５ｍＭないし約１４ｍＭ、または約１．０ｍＭないし約１０ｍＭの非必須アミノ酸が貯蔵液中に存在し得る。もっと特別に約０．５ｍＭないし約１４

ｍＭ、または約１．０ｍＭないし約１０ｍＭのＬ－アラニンが貯蔵液中に存在し得る。

【００６５】

合成貯蔵液は酸化的リン酸化を促進するため遊離長鎖不飽和脂肪酸を含むこともできる。ここに記載した貯蔵液は約０．０５ｍＭないし約１．５ｍＭまたは約０．１ｍＭないし約１ｍＭの遊離長鎖不飽和脂肪酸を含むことができる。もっと特別には貯蔵媒体は約０．０５ｍＭないし約１．５ｍＭまたは約０．１ｍＭないし約１ｍＭのパルミチン酸を含むことができる。

【００６６】

上述したように、ここに記載した貯蔵液は実質的に血漿を含まない自立貯蔵媒体として使用することができる。しかしながらもっと好ましくは、ここに記載した血小板貯蔵媒体は選択した濃度の血漿を含むこともできる。血漿のパーセンテージはＸ／（Ｘ＋Ｙ）×１００の式によって計算することができる。ここでＸは再懸濁前の血小板分画（血漿中の血小板）の出発体積を表し、Ｙは血小板分画へ添加された合成媒体（例えば溶液）の体積を表す。もし血漿の高いパーセンテージを望むならば、出発血小板分画か、合成媒体か、または最終再懸濁血小板のいずれかへ加えることができ、そして血漿のパーセンテージを計算するため類似の計算を使用することができる。例えばもしX_1が血小板分画（血漿中の血小板）の容積であり、X_2が添加した血漿の容積であるとすると、血漿のトータルパーセントは式（X_1＋X_2）／（X_1＋X_2＋Ｙ）×１００によって計算される。

【００６７】

血漿は貯蔵媒体で再懸濁される血小板リッチ分画に含まれた残存血漿によって供給されることができる。加えてそしてもし必要であれば、血漿は貯蔵媒体へも加えることができる。このようにもし各自約１５ｍｌの容積を有するバッフィコート血小板（血漿中の血小板）の５分画がプールされ、そして合成媒体３００ｍｌと混合されたとすると、その時貯蔵の用意ができた懸濁液中の血漿のパーセントは、

（５×１５）／［（５×１５）＋３００］×１００＝２０％

と計算することができる。同様に各自約７ｍｌの体積を有するバッフィコート血小板（血漿中の血小板）の５分画がプールされ、そして合成媒体３００ｍｌと混合されたとすると、その時貯蔵の用意ができた懸濁液中の血漿のパーセントは、

（５×７）／［（５×７）＋３００］×１００＝１０．４％

と計算される。

【００６８】

上で同定した合成媒体中に貯蔵のための血小板は、前記のとおり、プールしたバッフィコートから、または他の人力および自動方法によって得ることができる。例えば、血小板はイリノイ州レークスーリックのフェンウォール、インコーポレイテッドから提供されるＡｍｉｃｕｓセパレーターのような既知の自動アフェレーシス装置によって採取することができる。図３および４は血小板の分離と採取およびここに記載した添加物溶液の分配に有用な代表的分離装置を示す。セパレーター５０はハードウエア部分５２と、そしてその上に装荷された使い捨て処理キット５４を含んでいる。一具体例においてセパレーターによって使用される分離原理は遠心に基づいているが、しかし異なる分離原理に基づく自動セパレーターも使用することができる。

【００６９】

図３および４に示した装置に関し、回転する遠心機がハードウエア部分５２中に収容されている。使い捨てキット５４は流体を保持するための容器を含み、そして添加液と、そして血液、血液成分および他の流体をキット５４の流体回路を通って動かすための流路を形成するチューブを含むことができる。使い捨て処理キット５４は、ハードウエア部分５２の前面パネルとインターフェースする一以上のカセット５６（すなわち図４に示したカセット５６ａ、５６ｂおよび５６ｃ）を含んでいる。カセット５６ａ、５６ｂおよび５６ｃは流路とバルブステーションを含んでいる。ハードウエア部分５２のあらかじめプログラムされたコントローラーのコントロールのもとで一連の空気または電気作動のバルブ（例えば図５において番号１～１０）がカセットの流路を通り、そして最終的に使い捨てキ

ット５４のチューブを通る流れを選択的に許容および制限する。使い捨てキット５４はさらに図５の５７で一般的に示した処理チャンバー（これは遠心機のロータ／スプールに装着されている）を含んでいる。処理チャンバー５７は、血液または血液成分が遠心力の影響下にその中で分離されるサブチャンバー５８（すなわち分離チャンバー）と、そしてサブチャンバー５８からの血液成分がさらに処理され、分離および／または採取されるサブチャンバー５９（すなわち濃縮チャンバー）を有する。ここに記載したシステインおよび方法の使用に適した自動セパレーターの詳細は、ここに全体を参照として取り入れる米国特許第５，４２７，５０６号、第６，３１２，６０７号、第６，５８２，３４９号および米国特許出願公開２００９／０２１１９８７に記載されている。そのような分離再構成および任意の洗浄操作に有用な他の自動システムの例は、やはりここに参照として取り入れる米国特許第５，６７６，６４４号に記載されている。

【００７０】

血小板を採集するために使用される方法に関係なく、ここに記載した貯蔵媒体中に存在し得る血漿の相対的量は、好ましくは約２０％未満であろう。もっと好ましくは、血漿は約１０％ないし約２０％存在することができる。

【００７１】

それ以上の血漿濃度の削減も可能であり、そして実際好ましい。一具体例において、血小板のための貯蔵媒体は血漿不含（すなわち血漿０％）でよい。他の具体例において、血漿は貯蔵媒体中（すなわち血小板、血漿および合成貯蔵水溶液）中に、約０．５％ないし約１０％、または約１％ないし約９％のような１０％未満の量で存在することができる。他の具体例において、血漿は貯蔵媒体中約２％ないし約８％、または約３％ないし約７％、または約５％のような約４％ないし約６％存在することができる。

【００７２】

この貯蔵媒体は、貯蔵した血小板が患者へ輸注された時機能性と生存性を約２ないし約１５日の間、または約４ないし約１４日の間、または約５ないし約１０日の間保存することを許容する。典型的には貯蔵媒体は、貯蔵した血漿が患者へ輸注される時機能性と生存性を約５日以上、または９日を含む約７～８日以上、およびある場合には１４日まで、上で同定した少なくともいくつかのマーカーおよびアッセイによって決定した機能性と生存性を保存することを許容する。

【００７３】

ここに記載した貯蔵媒体は、例えば全体をここに参照として取り入れた米国特許第５，９０８，７４２号に記載されたフォトデコンタミネーション方法と組み合わせて使用することもできる。

【００７４】

例示のためしかし限定でなく、ここに記載した貯蔵媒体を使用する血小板の採集および貯蔵方法が以下に提供される。

【００７５】

実施例１

合成貯蔵液の調製

一具体例において、合成貯蔵液の成分の分割は、クエン酸塩、酢酸塩、リン酸塩、ナトリウムイオン、任意にマグネシウムイオン、カリウムイオン、重炭酸イオンのような成分の１セットを含んでいる中性緩衝化生理学的コンパートメントであるパート１と、そしてデキストロースおよび任意にカルシウムイオン、マグネシウムイオンおよびカリウムイオンを含んでいる酸性炭水化物コンパートメントであるパート２よりなり、両方のコンパートメントが類似の重量オスモル濃度を持っている２部からなることができる。表２に二つのコンパートメントを有する合成媒体の一例を提供する。成分の濃度および／または量は以前に記載とおりである。

【００７６】

【表２】

3バッグアセンブリにおける血小板貯蔵液の組成

バッグ１　275mL	
緩衝化生理学的コンパートメント:	
クエン酸Na_3・$2H_2O$	
酢酸Na・$3H_2O$	
NaH_2PO_4・$2H_2O$	
Na_2HPO_4	
KCl	
NaCl	
$NaHCO_3$	
pH	7.0 − 7.4
重量オスモル濃度	300 mOsm/L

バッグ２　25mL	
炭水化物コンパートメント:	
デキストロースモノ水和物	
$CaCl_2$・$2H_2O$	
$MgCl_2$・$6H_2O$	
pH	4 − 6
重量オスモル濃度	292または328 mOsm/L

バッグ３　最終貯蔵容器（例えばPL146）
重炭酸ナトリウムのような重炭酸塩をバッグ3へ直接加えるか、または示したようにバッグ1に加えることができる。

【００７７】

図２は、バッグ２中に炭水化物コンパートメントが２５ｍｌの容積を持ち、バッグ１中に緩衝化生理学的コンパートメントが２７５ｍｌの容積を有する無菌バッグ中に別々に提供された各コンパートメントを図示する。各コンパートメントは、バッグ３中で合成媒体をつくるためコンパートメントの混合を許容するようにプラスチックチューブ２６，２２によって形成された流路によって結合することができる。代って各バッグ１とバッグ２を個々にバッグ３へ接続し、コンパートメントをバッグ３中で混合することができる。セット１０のバッグ間の流れ連通を確立するため破断し得るコネクター２４，２０が備えられる。

【００７８】

図２Ａはここに記載した貯蔵液の成分を混合するための代替容器システムを図示する。

図２Ａに示すように、容器７０は好ましくはクエン酸塩、酢酸塩、リン酸塩および塩化カリウムの緩衝化生理学的成分を保持する。容器７２は好ましくはデキストロース、塩化ナトリウム、塩化マグネシウム、そして任意の塩化カルシウムを保持する。図２Ａに示すように、チューブ７４ａおよび７４ｂは破断し得るコネクター７５を含むことができる。チューブ７４ａと７４ｂはＹ－コネクター７６によって合体することができる。コネクター７６の下流のチューブセグメント７８は、容器７０および７２の成分をその中で混合することができ、そしてここに記載した溶液（ＰＡＳ－５）へ到達するため重炭酸塩を加えることができる別の容器（図示せず）へ接続することができる。

【００７９】

一具体例において、容器７０および７２は合体した容積３００ｍｌ（容器７０および容器７２の各自中の溶液１５０ｍｌ）を含むことができる。容器７０および７２中の個々の成分の濃度は、混合した時混合した水溶液が以前に記載した各成分の濃度を持つように選択される。もし所望であれば、貯蔵溶液の３００ｍｌの２単位を混合することができる。換言すれば図２Ａに示したタイプの二つの容器システムを貯蔵液約６００ｍｌを提供する別の容器（図２Ａには示していない）へ取り付けることができる。図２Ａに示したタイプの容器システムは、後の研究１ないし４に使用した貯蔵液を作るために使用された。勿論合併した貯蔵液に到達するため異なる容器および容器システムを使用し得ることが理解されるであろう。例えば破り得るシールによって分離されている別々のコンパートメントを有する単一の容器を使用することもできる。そのような容器の一例はここに参照として取り入れる米国特許出願公開ＵＳ２００９０２１４８０７に記載されている。

【００８０】

使用する容器システムに関係なく、一旦合併するとここに記載した貯蔵液（３００ｍｌ容積）は、例えば約１６．８ｍＭのデキストロース一水和物（Ｄ－グルコース）、０または１０ｍＭの塩化カルシウム、１．５ｍＭの塩化マグネシウム、約１０ｍＭのクエン酸ナトリウム、約３０ｍＭの酢酸ナトリウム、約９．４ｍＭのリン酸ナトリウム（７．２ｍＭの二塩基性リン酸ナトリウム無水物と２．２ｍＭの一塩基性リン酸ナトリウム二水塩）、約５ｍＭの塩化カリウム、約６９．５５ｍＭの塩化ナトリウム、そして約８－２５ｍＭのそしてもっと好ましくは約１０－２０ｍＭの重炭酸ナトリウムを含有し得る。

【００８１】

上に記載した貯蔵水溶液は次にいくらかの血漿を含んでいる血小板と合併し、血漿比率例えば約１０％ないし約２０％、そしてもっと好ましくは約５％のような約１％と約１０％の間、そして好ましくは約５％未満、そして他の具体例においては１％未満を持つ貯蔵用血小板産物または懸濁液を得ることができる。アフェレーシスタイプの採取のような血小板調製方法または洗浄ステップを含む方法は比較的小容積の血漿を持つ血小板の高い濃度が得られる。これらの方法は後でさらに詳細に記載されるであろう。それ故ある場合には貯蔵のため血小板の再懸濁は血漿と合成媒体の添加を必要とし得る。

【００８２】

血小板濃縮物中の残存血漿の削減

図９に一般的に示すように、上に記載した例示的自動システムおよび方法は血小板濃縮物から残存血漿を減らすために使用することができる。好ましくは、所望の処理操作を実行するようにあらかじめプログラムされた自動装置を血小板濃縮物から血漿を減らし、所望の血小板産物を得るために使用することができる。

【００８３】

一具体例において、アフェレーシス装置は一以上の選択できるプロトコールであらかじめプログラムされたプログラム可能なコントローラーを含むことができる。ユーザー／オペレーターは、例えば血小板産物全体容積の約５％の削減した血漿容積を有する血小板産物を得ることを含む所望の結果または目的を達成するための特定の処理プロトコールを選択することができる。あらかじめプログラムされた選択し得るプロトコールは、処理される流体の容積、処理の間使用または血小板へ加えられる添加剤溶液の容積、所望の血小板濃度、除去すべき血漿の所望容積、与えられた操作の処理時間／期間および／または最終

血小板産物の所望容積を限定なしに含むいくつかの固定および／または調節し得るパラメータに基づくことができる。

【００８４】

一旦特定のプロトコールが選択され、そして操作が開始されると、自動アフェレーシス装置は、所望の血漿削減血小板産物が得られるまで血小板濃縮物から血漿の量を減らすための一以上の処理ステップを実行するように作動し得る。

【００８５】

例えば図９に示すように、自動アフェレーシス装置は遠心分離チャンバーにおいて全血を分離して血小板リッチ成分を得るステップ、同じまたは異なるチャンバーにおいて血小板リッチ成分から血漿を分離し、血小板濃縮物を得るステップ、血小板濃縮物から血漿を除去するステップ、そして血小板濃縮物を再懸濁して所望の減らした血漿容積を有する血小板産物を得るステップを含むがそれに限定されない操作を実行するために使用することができる。

【００８６】

特定の処理操作の間、あらかじめプログラムされたコントローラーは血液を種々の成分に分離するため遠心機とそれに関連した処理チャンバーを作動し、そして図５に示したような処理セット５４の種々の開くことができる弁およびチューブセグメントを通って血液、血液成分および／または添加剤溶液を動かすように一以上のポンプを作動することができる。これは例えば分離チャンバー（またはもっと特定的には処理チャンバーの分離チャンバー）内で全血から血小板の遠心分離を開始し、血小板濃縮物を得るため血小板から血漿を除去し（すなわち除去した血漿を貯蔵または廃棄物バッグへポンプする）、上に記載した合成貯蔵水溶液のような添加剤溶液をその源から選択したバルブおよびチューブセグメントを通ってポンプしてチューブセグメントをプライミングおよび／または処理の間また後にチューブ内に存在または残っている流体（血漿のような）を移動させ、そして濃縮チャンバー中で血小板濃縮物に添加剤溶液と合併してその中で血小板濃縮物を再構成することを含むことができる。あらかじめプログラムされた自動アフェレーシス装置によって実行される種々の処理ステップは別々に、直列に、同時に、またはこれらのどのような組み合わせにおいても発生し得る。

【００８７】

図５は、血小板の分離および採集のためアフェレーシス装置（イリノイ州レークズーリックのフェンウォール　インコーポレイテッドから提供され、そして一般的に図３および４に示した自動Ａｍｉｃｕｓセパレーター（遠心分離装置）のような）と共に使用することができる使い捨て処理セットもしくはキット５４の一例を図示する。ボランティアドナーから引いた血液は、血小板リッチ血漿懸濁液（すなわち血漿中に懸濁した血小板）を得るため血小板を他の血液成分から分離するために処理チャンバー５７の分離サブチャンバー５８において遠心処理されることができる。血小板リッチ血漿はサブチャンバー５８からサブチャンバー５９へ運搬され、そこで血小板濃縮物を得るため追加の血漿を除去することができる。

【００８８】

サブチャンバー５９に採取された血小板濃縮物は、採取および／またはドナーへ返還のためアフェレーシス操作の間多くの血漿が除去されているため比較的高度に濃縮されている。しかしながら、この血小板濃縮物は血漿のいくらかの残存量をなお含んでいることが認識されるであろう。この血小板濃縮物を添加剤溶液に再懸濁した時、生成する血小板産物が約５％血漿／９５％添加剤溶液（例えば合成貯蔵水溶液）中に懸濁した血小板濃縮物を含むように、この血漿のさらなる削減が望ましい。

【００８９】

一具体例において、ＰＣを得るために使用した同じ分離装置を採取したＰＣ中の残存血漿を減らすためにも使用することができる。代って残存血漿を除去するためＰＣをさらに処理するために同じまたは他の遠心分離装置を使用することができる。同じまたは異なる分離装置が使用されるかに関係なく、採取したＰＣから残存血漿を除去するために自動ア

フェレーシス装置によって実行されることができる一つの例示的処理プロトコールが例示的に図５Ａ－５Ｆに示されており、そして以下に詳しく記載されている。以下に記載する方法はＡｍｉｃｕｓセパレーターを用いて実行できるけれども、この方法はセパレーターの一つのタイプに限定されないことが認められるであろう。このように以下に記載するステップの順序および流体の容積は使用する装置に依存して変動し得る。

【００９０】

図５を参照すると、血小板濃縮物がアフェレーシス操作において採取され、そしてドナーは外されている。例えば残存血漿を有する濃縮された血小板は典型的には約２５ｍｌの全容積を持っているチャンバー５９内に存在し得る。血小板添加剤溶液（ＰＡＳ）（上に記載した合成水溶液のような）の源１８がＰＡＳライン１６へ（図６にも示されている）無菌ドッキによって接続され、そのため源１８からの添加剤溶液は種々のカセット５６ａ，ｂ，ｃチューブ流路と、使い捨てキット５４の分離および採取チャンバー５８と５９と流れ連通になる。添加剤溶液は、限定でなくＩｎｔｅｒＳｏｌ、ＰＡＳ３，ＰＡＳ４またはＰＡＳ５，または他の商業的に人手し得る媒体のような、血小板の保存、貯蔵および再構成に適したどんな水溶液または媒体でよいことが理解されるであろう。本開示の目的のため、そのような添加剤溶液または貯蔵水溶液は以後ＰＡＳと呼ぶことができる。

【００９１】

ＰＣから残存血漿を減らすための方法の一具体例において、チャンバー５９内の血小板濃縮物から約１０ｍｌの血漿を除去し、そして図５Ａに示した血漿採集バッグ６０へ輸送することができる。例えば、ポンプ６２のようなポンプを反時計方向に回転させることにより、血漿はチャンバー５９からカセット５６ｂのそれぞれの流路セグメントおよび開いたバルブを通り、血漿バッグ６０中へ運搬される。図５、５Ａ－５Ｆにおいて、各カセット５６（ａ）－（ｃ）の各自上のバルブ１－１０は閉じたバルブを指示するため陰影として、そして開いたバルブを指示するため非陰影として示されている。

【００９２】

次に図５Ｂに示すように、アフェレーシス操作後チューブセグメント６８ａ，ｂ，ｃ，ｄのような一以上のチューブセグメント中に残っている血漿のような流体をチャンバー５８へポンプするため、カセット５６ｃのポンプ６４を回転（反時計方向に）させることができる。アフェレーシスの間血液成分のための分離チャンバーとして役立ったチャンバー５８は、血液および／または血小板を含む血液成分はチャンバー５８の外へ運搬し、そしてドナーへ返還されるかまたは例えばさらなる処理のためチャンバー５９へ運搬されたため、実質的に空であることが認められるであろう。このためアフェレーシス後サブチャンバー５８は、カセット、チューブまたは処理キット５４の他の部品から溢出した過剰の流体、血液成分または他の材料を収容するための廃棄物容器として役立ち得る。血漿のような流体がチューブセグメント６８ａ，ｂ，ｃおよびｄからそしてサブチャンバー５８中へ溢出するけれども、血小板濃縮物は好ましくは邪魔されずにチャンバー５９内に残っている。図５Ｂに示したチューブセグメント６８ａ，ｂ，ｃ，ｄからチャンバー５８へ血漿のような流体の除去または溢出は所望により任意のステップとして実行することができる。

【００９３】

上に記載した図５Ａに示した処理ステップおよびまたは図５Ｂに示した任意のステップに続いて、図５Ｃに示すように、ポンプ７０を回転（例えば時計方向に）させ、約２０ｍｌのＰＡＳを源容器１８からカセット５６ｃの流路へ（カセット５６ｃの弁４，１および３）を通って）そしてカセット５６ｂの流路へポンプすることができる。次にＰＡＳはカセット５６ｂの流路セグメントを通って（バルブ４，９，８を通って）流れ、そしてチューブセグメント６８ｃおよびｄを通ってチャンバー５８へ運搬される。源１８からカセット５６ｃおよび５６ｂを通ってチャンバー５８中へのＰＡＳのポンピングステップは、カセット５６ｂおよび５６ｃの種々のチューブセグメントとバルブに残り得る血漿のような流体を洗い流すのに役立つ。この洗い流された血漿は（廃棄物）サブチャンバー５８に収容されそして保持され、他方血小板濃縮物は邪魔されることなくチャンバー５９中になお残っている。

【００９４】
次に図５Ｄに示すように、カセット５６ｃに関連するポンプ７０が作動され（時計方向に）、チャンバー５９内で血小板濃縮物を再構成するために約２５ｍｌのＰＡＳが源容器１８からチャンバー５９中へポンプされる。源１８からのＰＡＳはチューブセグメント１６を通ってカセット５６ｃ中へ（そしてカセット５６ｃの開いたバルブ４，２および３を通って）流れることができる。カセット５６ｃからＰＡＳは、チューブセグメント６８ｂを通ってカセット５６ｂ中へ（開いたバルブ４および７を通って）そしてそこでサブチャンバー５９へ運ばれるチューブセグメント６８ｅを通って流れることができる。
【００９５】
もし図５Ｂに示した任意の処理ステップが実行されるならば（すなわちチューブセグメント６８ａ，ｂ，ｃおよびｄに残っている血漿がチャンバー５８へポンプされる）、いくらかの血小板がポンプ６４の作用により（例えばポンプ６４が長過ぎる期間のまたはあまりに積極的な運転により）チャンバー５９からチューブセグメント６８ａ中へ引き出されることがあり得る。従ってこの場合は、図５Ｅに示したさらなる任意のステップを採用することができる。図５Ｅに示すように、図５Ｂに示した処理ステップにおいてチャンバー５９からチューブ６８ａ中へ引き出された血小板をサブチャンバー５９へ押し戻すため、約１５ｍｌのＰＡＳを源容器１８からカセット５６ｃ（開いたバルブ４，１０および８を通って）およびチューブセグメント６８ａを通ってポンプすることができる。これはポンプ６４を時計方向に作動することによって達成することができる。チューブセグメント６８ａからチャンバー５９へポンプし戻された血小板は、再構成でき、またはもっと詳しくはチャンバー５９において血小板濃縮物で再懸濁することができる。再懸濁はオペレータによる血小板容器の人手操作、マッサージまたは撹拌によって助けられることができるが、自動再懸濁方向を含む他の適した再懸濁を使用することができる。
【００９６】
次に血小板は貯蔵容器１２へ移され、そして血漿の所望の容積％に達するようにＰＡＳと混合される。例えば図５Ｆに示すように、ポンプ７０を時計方向にそしてポンプ６４を反時計方向に運転することによって約５７０ｍｌのＰＡＳを源容器１８からカセット５６ｃを通って（開いたバルブ４，１および３を通って）そしてチャンバー５９中へポンプすることができる。特にＰＡＳは、チューブセグメント６８ｂを通ってカセット５６ｃ（開いたバルブ４，１および３を通って）の流路中へ、チューブセグメント６８ｅを通ってカセット５６ｂ中へ（開いたバルブ４および７を通って）、そしてチューブセグメント６８ｅを通ってチャンバー５９中へ運搬することができる。血小板はＰＡＳによってチャンバー５９から貯蔵容器１２中へ押し流される。詳しくは、血小板はチャンバー５９からチューブセグメント６８ａ中へ、カセット５６ｃ中へ（開いたバルブ８および５を通って）、チューブセグメント６８ｆを通って貯蔵容器１２中へ流出する。一具体例において、血小板はＰＡＳ約５７０ｍｌと血漿約３０ｍｌ中に、好ましくは各自ＰＡＳ２８５ｍｌと血漿１５ｍｌ中に懸濁した血小板を有する二つの別々の容器内で懸濁され、貯蔵および／または輸注に適した約５％血漿／約９５％ＰＡＳ－５中に懸濁した血小板濃縮物の血小板産物が得られる。
【００９７】
上で述べたように、図３および４に示し、そして上で同定した特許および公開された出願に記載されている装置およびシステムは、血漿の減らされた容積中の血小板を採取および／または他のように提供する（自動態様で）ための適切な装置およびシステムの例である。血小板が分離チャンバー内で濃縮され、および／またはそのようなチャンバーの外で採取される他のシステムも使用することができる。分離チャンバーの外で採取された濃縮血小板は、例えばいくらかの残存血漿を有する初期血小板産物を提供するため外部のしかし取り付けた容器内に再構成することができる。もし血漿５％未満への削減が所望であれば、洗浄によって１％未満へ血漿容積を減らすため採取した血小板を分離チャンバーへ再導入することができる。
【００９８】

上に記載した種々のステップは一つの連続操作（ドナーが外された後）の一部として記載されたが、これらのステップは所望の量の血小板が採取されるまで間欠的にそして多数間通過において実施し得ることが認識されるであろう。このため、例えばドナーをなお接続したまま上に記載した態様で全血のある容積を採取し、そして血小板を分離し、再構成しそして採取容器へ移し、そして追加の全血を採取し、上に記載したステップを繰り返すことができる。

【００９９】

洗浄した血小板濃縮物を提供するための自動システムと方法

上に記載した例示的自動システムおよび方法は、血漿の容積が血小板産物全容積の約５％またはそれ未満へ減らされた血小板産物（すなわち血小板貯蔵媒体および血漿中に懸濁された血小板）を得るためにアフェレーシス操作において採取されたＰＣから血漿の残存容積を削減するために有用である。しかしながら、血小板濃縮物の血漿の量をなおさらに減らすことが望まれ得る。そのようなさらなる血漿削減は血小板濃縮物を洗浄することによって達成することができる。

【０１００】

血小板濃縮物から残存血漿を減らすための上に記載したシステムおよび方法で血漿５％未満を含有する血小板を得るように、上に記載したタイプの自動システムおよび方法は、血漿１％未満を有する血小板産物を得るため血小板濃縮物をさらに洗浄するためにも使用し得る。図９において参照番号１２０で同定した寸法によって例証されるように、血小板濃縮物はアフェレーシスが終了後またはアフェレーシス後洗浄することができる。これはＰＣを得た同じ自動分離装置を用いるアフェレーシス操作の直後の血小板の洗浄、または異なる分離装置もしくは貯蔵容器からの血小板のような他の源からの前に採取した血小板の洗浄を含む。代って図９に示すように、一具体例において、血小板濃縮物をアフェレーシス操作の一部として、またはその間に洗浄することができる（方法２００）。

【０１０１】

アフェレーシス後洗浄

一具体例において、血小板濃縮物は上に記載し、そして図５Ａ－５Ｆ示した（例えば好ましくはドナーを外した後）、そして図９に方法１００として参照した方法に従って、Ａｍｉｃｕｓセパレーターまたは他の分離装置を使用するアフェレーシス操作において得ることができ、添加剤溶液中に再構成でき、そして採集容器１２中に保持することができる。再懸濁した血小板濃縮物は次にＡｍｉｃｕｓセパレーターまたは他の装置のような自動分離装置を用いて洗浄することができる。

【０１０２】

例えば、上に記載した方法に従ってＡｍｉｃｕｓセパレーターまたは他の適した装置で集めた容器１２中の再懸濁した血小板濃縮物のような一以上の血小板源は、Ｙ－コネクターのような接続具を通って新しい無菌使い捨て処理セット５４へ接続し、該セットをＡｍｉｃｕｓセパレーター（または他の装置）へ取り付けることができる。ここに記載した溶液（ＰＡＳ－５）を含むＰＡＳ容器のような洗浄液の源も接続具を通って処理セット５４へ接続することができる。Ａｍｉｃｕｓまたは他の適した装置を用いて、例えば所望の成果を達成するための特定のあらかじめプログラムされたプロトコールを選ぶことにより、洗浄操作（図９に参照番号１２０より示した）を開始することができる。好ましい具体例において、洗浄した血小板濃縮物は、再構成した時、血小板産物全容積の約１％未満の血漿容積を有する血小板産物を生ずるであろう。

【０１０３】

所望のプロトコールが選択されれば、源容器１２からの血小板濃縮物（減らされた血漿を持つ）がチャンバー５９へ引かれ、そして遠心場で濃縮されるように自動洗浄操作を開始することができる。ＰＡＳのような洗浄流体は、遠心場が維持されている間にチャンバー５９内に引かれることができる。操作が進行し、そして血漿を置換し、押し出すように洗浄液がチャンバー５９を通って連続的に供給される時、チャンバーから除去された流体中の血漿の割合は、洗浄液（例えばＰＡＳ）の増加する割合によって置換されるにつれて

減少する。

【０１０４】

洗浄操作が終了すれば、採取チャンバー５９に残っている洗浄した血小板濃縮物は選択した容積の再構成流体（例えばＰＡＳ）中に再構成することができる。再構成は、以前に記載したチャンバー５９の人手による操作のような適した再懸濁方法を用いて実行することができる。再懸濁流体は洗浄液と同じでよく、または血小板懸濁および／または貯蔵に適した異なる流体でよい。好ましい具体例において、洗浄液および再懸濁流体の両方は上に記載したＰＡＳ－５のような合成血小板添加剤溶液である。もし望むならば、再懸濁した洗浄した血小板は、貯蔵、輸注またはさらなる処理のための容器へ移すことによって収穫することができる。一実施例において、これは追加の洗浄液をチャンバー５９を通って運搬し、それによって再懸濁した洗浄した血小板を貯蔵容器中に押し流すことによって達成することができる。

【０１０５】

アフェレーシス中またはアフェレーシスの一部としての洗浄

代ってここに記載したシステムおよび方法に従って、血小板はアフェレーシス操作の一部として洗浄することができる。アフェレーシス操作中またはその一部としての洗浄は、図９に参照番号２００によって指示したように、Ａｍｉｃｕｓセパレーターまたは他の既知の自動分離装置のような分離装置を用いて達成することができる。特に、洗浄は全血から血小板リッチ血漿へ遠心場において分離されている間に実行することができる。上に記載したように、血小板リッチ懸濁液が遠心場において、例えば分離チャンバー５８において他の血液成分から分離される（例えば図３および４に示したＡｍｉｃｕｓセパレーターを用いて）。血小板リッチ懸濁液はチャンバー５９中へ運搬され、そこで遠心場が維持されている間にチャンバー５９から連続的に除去される。血漿が連続的に除去される時、血小板はチャンバー５９内で一層濃縮されることが認識されるであろう。

【０１０６】

一具体例において、血小板が“超濃縮”されたと考えられるように、血漿の選択された容積を採取チャンバー５９において血小板から除去することができる。一具体例において、超濃縮血小板は、限定でなく、血小板が典型的に貯蔵される濃度よりも高い濃度を有する血小板を含み得る。例えば貯蔵される血小板の濃度は、典型的には約１．３～２×１０^{6}血小板／μＬのような２×１０^{6}血小板／マイクロリットル（μＬ）未満であるが、超濃縮血小板は２×１０^{6}血小板／μＬより大きい濃度を持つことができる。

【０１０７】

血小板が超濃縮されたと考えられる点まで（約２×１０^{6}血小板／μＬより大きい濃度へ）洗浄されるか、またはより低い程度まで（約２×１０^{6}血小板／μＬまで）洗浄されるかに関係なく、本開示に従った血小板の洗浄のためのシステムおよび方法は本質的に同じである。例えばアフェレーシスの間採取チャンバー５９から除去するため、限定なしで食塩水、血小板添加剤溶液（ＰＡＳ－５、ＰＡＳ－４、ＰＡＳ－３、ＩｎｔｅｒＳｏｌまたは他の適した合成媒体）のような水溶液をチャンバー５９へ連続的に加え、血小板がチャンバーに残っている間に血漿をチャンバー５９の外へ置換または洗い出すのを助けることができる。

【０１０８】

一具体例において、遠心場が維持されている間にＰＡＳ－５または他のＰＡＳのような洗浄液の１００ｍｌまでをチャンバー５９へ加えることができる。それによって血漿は、血小板がチャンバー５９内に残っている間に洗浄液がチャンバー５９に連続的に加えられ、そしてチャンバーから除去されるため、洗浄液によってチャンバーの外へ押し出される。このため与えられた洗浄操作の始めにおいては、チャンバー５９から除去される流体は血漿であることが認められるであろう。しかしながら、操作が進み、そして洗浄液が連続的にチャンバーを通って供給され、血漿を置換し押し出す時、チャンバーから除去される流体中の血漿の割合は、血漿が洗浄液の増加する割合で置換されるために減少する。与えられた洗浄操作の終わりまたはその近くでは、チャンバー５９から除去される流体は典型

的には大部分洗浄液である。この操作は必要に応じ２回以上繰り返すことができる。

【０１０９】

この洗浄操作は、望む容積の血漿が除去され、そして血小板が望んだレベルへ濃縮されたことが決定された時に終了することができる。一実施例において、洗浄操作を実行するために使用される自動分離装置は、特定の選択し得る洗浄操作またはプロトコールを実行するため、アフェレーシス装置のソフトウェア駆動コントローラー中にあらかじめプログラムされることができる。換言すると、約１％未満の血漿を有する洗浄した血小板産物を得るため、血小板濃縮物中の血漿を減らすような特定の操作のため、ユーザーの目的または望む成果に基づいてユーザーが選択できる一以上の血小板採取および／または洗浄プロトコールで装置を事前にプログラムすることができる。前に述べたように、事前にプログラムされた選択し得るプロトコールは、例えば処理される流体の容積、使用される洗浄液の容積、望む血小板濃度、除去すべき血漿の望む容積、与えられた操作の処理時間／期間、および／または最終血小板産物の望みの容積を含む、いくつかの固定されたおよび／または調節し得るパラメータに基づくことができる。

【０１１０】

どの場合でも、血小板洗浄が終わったことが決定された時（すなわち選択されたプロトコールが終了および／または上記の目的の一つまたは二つの以上が達成された時）、洗浄した血小板濃縮物は採取チャンバー５９内に滞留し得る。再懸濁液は洗浄液と同じか、または血小板再懸濁に適した異なる流体でよい。好ましい具体例においては洗浄液および再懸濁流体の両方はＰＡＳ－５のような合成血小板添加剤溶液である。もし望むならば、再懸濁した洗浄した血小板は貯蔵、輸注またはさらなる処理のため容器へ移すことができる。

【０１１１】

例示としてしかし限定でなく、血小板濃縮物から血漿を除去し、そしてここに記載した貯蔵媒体を用いる血小板を貯蔵するためのシステムおよび方法の実施例を以下に提供する。

【０１１２】

実施例

５％血漿／９５％ＰＡＳ－５に懸濁した血小板濃縮物の二つのインビトロ評価が実施された。研究１では、５％血漿／９５％ＰＡＳ－５血小板は、追加のオフライン洗浄ステップを実施することなくＡｍｉｃｕｓセパレーター上で直接調製された。この操作はＡｍｉｃｕｓセパレーター上で血漿３５％／ＰＡＳ－３６５％血小板を採取するのに似ている。しかしながら、これは対となる１００％血漿対照の採取を許容しないので、第２の評価のために代替操作が使用された。研究２では、Ａｍｉｃｕｓセパレーターを用いて超濃縮血小板が採取され、１００％血漿中および血漿５％／ＰＡＳ－５９５％中の対の血小板産物を得るために追加の遠心が行われた。

【０１１３】

ＰＡＳ－５溶液調製

ＰＡＳ－５は血小板採取の日に図２Ａに示した２バッグアセンブリに提供された塩とグルコースの別々の溶液を移行パック（ＰＬ１８１３，Ｆｅｎｗａｌ Ｉｃｎ．，Ｌａｋｅ Ｚｕｒｉｃｈ，Ｉｌｌｉｎｏｉｓ）中で混合することによって調製された。この混合した溶液は、ｍＭ濃度でクエン酸$Na_3$９．９９；酢酸Ｎａ３０．０；$NaH_2PO_4$２．２；$Na_2HPO_4$７．２；ＮａＣｌ６９．４；ＫＣｌ５．０；$MgCl_2$１．５；$CaCl_2$１．０；およびグルコース１６．８を含んでいた。次に重炭酸ナトリウム（７．５％溶液６ｍｌ、Ｍｅｄｉａｔｅｃｈ Ｉｎｃ．，Ｍａｎａｓｓａｓ，ＶＡ）を無菌フィルター（０．２２μｍフィルター、Ｓａｒｓｔｅｄｔ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗｔｏｎ，ＮＣ）を通ってシリンジ移送によって無菌投薬ポートから加えた。生成したＰＡＳ－５溶液（ｐＨ７．６－７．７）は完全に混合された。

【０１１４】

研究１

血小板調製

ボランティアドナーから図３および４に一般的に示したＡｍｉｃｕｓセパレーター（ソフトウェアｖ３．２、Ｆｅｎｗａｌ Ｉｎｃ．，Ｌａｋｅ Ｚｕｒｉｃｈ，ＩＬ）と、クエン酸デキストロース処方（ＡＣＤ－Ａ）抗凝固剤を全血対抗凝固剤比＝１０：１で使用して二重血小板産物を採取した。二重血小板産物は６．０－８．０×10^{11}血小板の目標血小板収量および１００－５００ｍｌの間の全血漿容積をもって採取された。図５はＡｍｉｃｕｓアフェレーシス装置と共に使用される使い捨て処理セットの図である。

【０１１５】

ドナーをアフェレーシス装置から外した後、遠心パックはＡｍｉｃｕｓスプールから除去しなかった。ＡＣＤおよび食塩水バッグへ通じるラインをヒートシールし、バッグをキットから除去した。キットを他のＡｍｉｃｕｓ装置に装着した。ＰＡＳ－５容器を図５に示すようにキットへ取り付けた。追加的処理ステップは図５Ａ－５Ｆを参照して上に示され、記載されている。血小板は、採取チャンバーを通って血小板貯蔵容器１２中へＰＡＳ－５を流すことによって血小板貯蔵容器へ移された。得られた血小板濃縮物は各産物あたり全容積３００ｍｌ中血漿５％／ＰＡＳ－５　９５％を含んでいた。２０－２４℃で２時間休息させた後、血小板単位は２０－２４℃で貯蔵のため水平アジテーター（Ｈｅｌｍｅｒ，モデルＰＣ２２００；Ｎｏｂｌｅｓｖｉｌｌｅ，ＩＮ）へ移された。各対から血小板１単位だけが評価された。

【０１１６】

血小板アッセイ

貯蔵の日１および日７においてシリンジを用いてアフェレーシス血小板単位がサンプリングされた。提供可能な時、日５のサンプルも採取された。各血小板単位から各サンプリング日に約５ｍｌが引き出された。血液アナライザー（ＫＸ２１Ｎ，Ｓｙｓｍｅｘ Ａｍｅｒｉｃａ Ｉｎｃ．，Ｍｕｎｄｅｌｅｉｎ，ＩＬ）を用いて血小板濃度および平均血小板容積が決定された。血小板含量は血小板濃度に同じ日に測った血小板産物容積（単位の重量／ＰＡＳの比重１．０１）を乗ずることによって計算された。血小板ｐＨ、pO_2および３７℃におけるpCO_2を測定するため自動ガスアナライザー（Ｂｉｏｐｒｏｆｉｌｅ ｐＨＯｘ，Ｎｏｖａ Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ，Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ）が使用された。重炭酸濃度および２２℃におけるｐＨはこれらの測定から自動的に計算された。グルコース、乳酸および乳酸デヒドロゲナーゼは分光光度法（ＡＵ４００Ｅ，Ｏｌｙｍｐｕｓ Ａｍｅｒｉｃａ，Ｉｎｃ．，Ｃｅｎｔｅｒ Ｖａｌｌｅｙ，ＰＡ）によって決定された。形態スコアは変化したディスクカテゴリーを加えてＫｕｎｉｃｋｉ ｅｔ ａｌ．の方法の後に実施された。Ｋｕｎｉｃｋｉ ＴＪ，Ｔｕｃｃｅｌｌｉ Ｍ，Ｂｅｃｋｋｅｒ ＧＡ，Ａｓｔｅｒ ＲＨ，“Ａ ｓｔｕｄｙ ｏｆ Ｖａｒｉａｂｌｅｓ Ａｆｆｅｃｔｉｎｇ ｔｈｅ Ｑｕａｌｉｔｙ ｏｆ Ｐｌａｔｅｌｅｔｓ Ｓｔｏｒｅｄ ｉｎ Ｒｏｏｍ Ｔｅｍｐｅｒａｔｕｒｅ”，Ｔｒａｎｓｆｕｓｉｏｎ，１９７５；１５（５）：４１４－２１。低張ショックレスポンス（ＨＳＲ）は比濁法（ＳＰＡ２０００、Ｃｈｒｏｎｏ－Ｌｏｇ Ｃｏｒｐ．，Ｈａｖｅｒｔｏｗｎ，ＰＡ）によって測定された。Ｈｏｌｍｅ Ｓ．ｅｔ ａｌ．“Ａ Ｍｕｌｔｉ－Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ ｏｆ Ｉｎ Ｖｉｔｒｏ Ｐｌａｔｅｌｅｔ Ａｓｓａｙｓ：ｔｈｅ Ｔｅｓｔｓ ｆｏｒ Ｅｘｔｅｎｔ Ｓｈａｐｅ Ｃｈａｎｇｅ ａｎｄ Ｒｅｓｐｏｎｓｅ ｔｏ Ｈｙｐｏｔｏｎｉｃ Ｓｈｏｃｋ”；Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ Ｅｘｃｅｌｌｅｎｃｅ ｆｏｒ Ｓａｆｅｒ Ｔｒａｎｓｆｕｓｉｏｎ Ｗｏｒｋｉｎｇ Ｐａｒｔｙ ｏｆ ｔｈｅ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｓｏｃｉｅｔｙ ｏｆ Ｔｒａｎｓｆｕｓｉｏｎ；Ｔｒａｎｓｆｕｓｉｏｎ，１９９８；３８（１）：３１－４０。ＨＳＲサンプルは冷蔵自家血漿（サンプルへ加える前に室温へ前加温）で希釈され、そしてテストサンプルブランクが希釈サンプルのようにＰＡＳ－５の同じ濃度を用いて調製された。同時の血漿および血小板濃縮物上清中の総タンパク濃度がＣｏｏｍａｓｓｉｅブルー染色に基づくタンパクアッセイ（Ｂｉｏ－Ｒａｄ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ａｓｓａｙ Ｋｉｔ，Ｂｉｏ－Ｒａｄ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｈｅｒｃｕｌｅｓ，ＣＡ）を用いて決定された。血漿分画は血

小板濃縮物上清中の総タンパク濃度を同時血漿の総タンパク濃度で割ることによって計算された。

【０１１７】

研究２

血小板調製

Ａｍｉｃｕｓ二重アフェレーシス単位がドナーからＡＲＣ Ｒｅｓｅｒａｃｈ Ｂｌｏｏｄ Ｐｒｏｇｒａｍにより、単一針操作Ａｍｉｃｕｓソフトウェアｖ３．２および全血：抗凝固剤比＝１０：１のクエン酸デキストロース処方Ａ（ＡＣＤ－Ａ）抗凝固剤を用いて血漿１９８ｍｌ中血小板収量７．６×10^{11}を目標として採取された。３２０ｍｌの同時血漿容積も採取された。合計１２の二重単位と同時血漿とが採取され、そして研究２（ｎ＝１２）のために使用された。

【０１１８】

血小板は撹拌なしで２０－２４℃で４時間休息が許された。二重単位は２個の供給された１Ｌ容器１２（図５）に重量で等分に２分割された。同時（自家）血漿の２００ｍｌがＰＬ－２４１０容器の一つへ無菌的に入れられ、そして無菌接続具（ＴＳＣＤモデルＳＣ－２０１Ａ、Ｔｅｒｕｍｏ Ｔｒａｎｓｆｕｓｉｏｎ Ｐｒｏｄｕｃｔｓ，Ｓｏｍｅｒｓｅｔ，ＮＪ）を用いて一方の単位（対照）へ移された。同様にＰＡＳ－５の２００ｍｌが他のＰＬ－２４１０容器へ移された。次に両方の単位は４１６１×ｇ（３８００ｒｐｍ，Ｓｏｒｖａｌ ＲＣ３ＢＰ＋，Ｔｈｅｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ）において２０ないし２４℃で５．５×10^{7}の累積遠心効果（ＡＣＥ）をもって遠心された。すべてのしかし３５～４０ｍｌのテスト単位が押し出された。対照単位から十分な血漿が押し出され、残存血漿容積２５０ｍｌを残した。約５％血漿／９５％ＰＡＳ－５の２５０ｍｌ容積を得るため、新鮮なＰＡＳ－５がＰＡＳ－５中に浸漬した血小板ペレットへ加えられた。次に血小板は直ちに再懸濁され、そして両方の単位は撹拌することなく２０～２４℃において２０～２４℃貯蔵のためアジテータ上（Ｈｅｌｍｅｒ，モデルＰＣ９００１，Ｎｏｂｌｅｓｖｉｌｌｅ，ＩＮ，７０サイクル／分）に１時間静置された。

【０１１９】

血小板アッセイ

日１、日５および日７の朝にすべてのアフェレーシス血小板単位がシリンジによってサンプリングされた。各サンプリング日に各血小板単位から約５～６ｍｌが引かれた。血小板濃度および平均血小板容積（ＭＰＶ）は血液アナライザー（Ｃｅｌｌ Ｄｙｎ ３７００，Ａｂｏｔｔ，Ａｂｏｔｔ Ｐａｒｋ，ＩＬ）を用いて決定され、そして血小板含量は血小板濃度に同じ日に測定された血小板容積（単位の重量／比重、すなわち血漿１．０３およびＰＡＳ１．０１）を乗ずることによって計算された。ｐＨの測定は室温（２０～２４℃）においてＯｒｉｏｎ ｍｅｔｅｒ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｂｅｖｅｒｙ，ＭＡ）／ＡｃＣｕ－ｐＨａｓ ｃｏｍｂｉｎａｔｉｏｎ ｐＨ 電極（Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｐｉｔｔｓｂｕｒｇｈ，ＰＡ）を用いて実施された。血小板はpO_2，pCO_2，グルコースおよび乳酸について３７℃において血液ガス／血液化学アナライザー（Ｃｏｂａｓ，Ｒｏｃｈｅ ｂ２２１，Ｉｎｄｉａｎａｐｏｌｉｓ，ＩＮ）を用いてアッセイされた。重炭酸はこれらの測定から自動的に計算された。血小板形態は円板形状を有する血小板のパーセンテージとして位相差顕微鏡によって評価された。形状変化の程度および低張ストレス応答は、比濁液（ＳＰＡ２０００Ｃｈｒｏｎｏｌｏｇ，Ｈａｖｅｒｅｔｏｗｎ，ＰＡ，Ｈｏｌｍｅ，Ｓ．，ｅｔ ａｌ．）で測定された。ＥＳＣおよびＨＳＲサンプルおよびブランクは研究１に記載したように調製された。血小板活性化の程度は、新たに染色したサンプルについてＣＤ６１，ＣＤ６２およびＣＤ６３に対する抗体を用い、フローサイトメトリー（ＦａｃｓＣａｌｉｂｕｒ，ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｓａｎ Ｊｏｓｅ，ＣＡ）を用いて測定された。Ｃｕｒｎｅｒｓ，Ｊ．，ｅｔ ａｌ．，“Ｆｌｏｗ Ｃｙｔｏｍｅｔｒｉｃ Ｍｅａｓｕｒｅｍｅｎｔ ｏｆ ＣＤ６２Ｐ （Ｐ－ｓｅｌｅｃｔｉｎ）ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｏｎ ｐｌａｔｅｌ

ｅｔｓ：ａ Ｍｕｌｔｉｃｅｎｔｅｒ Ｏｐｔｉｍｉｚａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｓｔａｎｄａｒｄｉｚａｔｉｏｎ Ｅｆｆｏｒｔ”，Ｔｒａｎｓｆｕｓｉｏｎ，２００８；４８：１４３９－１４４６。各血小板濃縮物中の血漿は研究１のように測定した。

【０１２０】

統計学的解析

以下の表３－４に示すデータは種々の血小板パラメータのための標準偏差を有する平均レベルを表す。実験値の平均、標準偏差および繰り返し測定のＡＮＯＶＡの実行は標準的統計ソフトウェア（Ｉｎｓｔａｔ，ＧｒａｐｈＰａｄ Ｓｏｆｔｗａｒｅ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）を用いて実施された。

【０１２１】

【表３】

5%血漿／95%PAS-5を含有する懸濁液中の血小板貯蔵パラメータ（研究1）

	日1	日5*	日7
血小板カウント（x $10^3/\mu L$）	1009±157	1039±134	1032±154
血小板含量（x 10^{11}）+	3.03±0.49	2.99±0.41	2.89±0.45
MPV (fL)	7.7±0.5	7.6±0.6	7.7±0.6
pH (22°C)	7.44±0.06	7.51±0.07	7.50±0.09
グルコース (mg/dL)+	295±10	265±12	243±13
乳酸 (mM)+	1.7±0.5	5.1±1.2	7.2±1.7
重炭酸 (mM)	9.8±0.5	9.7±1.2	9.4±1.3
pCO_2 (mmHg)	23.0±2.8	19.4±2.4	19.3±2.9
pO_2 (mmHg)	75.1±18.7	89.9±16.0	98.1±18.5
LDH (U/L)	68±39	76±29	91±32
HSR (%)	59.2±12.0	54.5±6.5	55.0±10.1
形態 (0 - 400)+	353±20	319±14	302±18

値は平均±1SDを表す。n=12, *n=9, +p ≤ 0.005

【０１２２】

【表４】

100%血漿（対照）および5%血漿／95%PAS-5（テスト）を含有する懸濁液中の血小板貯蔵パラメータ（研究２）

	日１	日５	日７
血小板カウント（x $10^3/\mu L$）			
対照	1466±113	1450±134	1434±130
テスト	1411±121*	1443±137	1410±128
血小板含量（x 10^{11}）			
対照	3.79±0.31	3.66±0.36	3.54±0.34
テスト	3.62±0.32*	3.61±0.36	3.46±0.33
MPV（fL）			
対照	7.01±1.02	7.37±0.84	7.33±0.92
テスト	7.03±0.99	7.01±1.03	7.11±1.20
pH（22°C）			
対照	7.24±0.09	7.25±0.14	7.13±0.12
テスト	7.23±0.10	7.24±0.19	7.21±0.18
グルコース（mg/dL）			
対照	292±19	215±26	179±31
テスト	282±10	227±18	202±25
乳酸（mM）			
対照	5.9±0.8	13.4±2.1	17.1±2.3
テスト	2.8±0.6*	8.0±2.1*	11.0±3.0*
重炭酸（mM）			
対照	18.5±1.5	11. ±1.8	8.6±2.0
テスト	10.1±0.5*	9.5±1.8*	8.9±2.5
pCO_2（mmHg）			
対照	56.9±6.1	33.9±2.9	31.7±4.0
テスト	25.9±2.8*	23.0±2.4*	22.5±2.8*

	日1	日5	日7
pO_2 (mmHg)			
対照	98.4±13.6	106.9±13.4	111.1±13.5
テスト	96.1±13.0	108.7±13.6	114.3±15.2
ESC (%)			
対照	25.5±7.4	22.0±5.6	19.8±5.5
テスト	17.3±11.5*	15.1±7.6*	13.5±8.0*
HSR (%)			
対照	60.7±16.9	61.2±13.6	57.4±14.1
テスト	65.5±20.1	64.1±12.9	55.1±12.7
形態 (%円板)			
対照	67±15	55±15	49±16
テスト	69±13	60±13	56±13
CD62P (%陽性血小板)			
対照	51.9±15.6	45.7±9.8	52.3±11.7
テスト	52.1±14.8	39.5±10.8*	41.8±13.1*
CD63 (%陽性血小板)			
対照	19.0±10.7	23.3±10.1	24.1±8.9
テスト	18.4±10.2	19.5±9.7	18.4±7.5*

値は平均±1SDを表す。n = 12, *p ≤ 0.001 テスト対対照

【０１２３】

研究３

この研究においては、５％血漿／９５％ＰＡＳ－５での血小板濃縮物の１４日までの貯蔵が検討された。血小板が採取され、サンプルが研究１に関して記載の態様でアッセイされた。血小板は高ｐＨ（ｐＨ約７．６－７．７）の９５％ＰＡＳ－５／５％血漿媒体中、および低ｐＨ（ｐＨ約７．４）９５％ＰＡＳ－５／５％血漿媒体中で貯蔵された。結果は以下の表６，７，８および９に含まれている。

【０１２４】

研究４

マニュアルプロトコールが５％血漿／９５％ＰＡＳ－５（表５）中のＡｍｉｃｕｓ二重血小板産物を調製するために使用された。標準的Ａｍｉｃｕｓ二重血小板採取が図６に一般的に示した合衆国承認ＩｎｔｅｒＳｏｌキットを用いて実施された。装置からドナーを外した後、臍帯アセンブリ、ＰＡＳラインおよび血小板貯蔵容器をキットからヒートシール除去した。ＰＡＳラインと血小板貯蔵容器は次に臍帯アセンブリ１４へ無菌接続した。ＰＡＳ－５をＰＡＳライン１６へ接続し、そして血小板を再懸濁して血小板を血小板貯蔵容器へ移すために用いた。得られた５％血漿血小板濃縮物（各３００ｍｌ）を１４日まで

貯蔵し、インビトロテストを日０，１，５，７，９および１４に実施した。

【０１２５】

【表５】

PAS-5の組成

組成(g/L)	PAS-5（含カルシウム）
クエン酸Na_3・$2H_2O$	2.91
酢酸Na・$3H_2O$	4.04
NaH_2PO_4・$2H_2O$	0.35
NaH_2PO_4	1.01
NaCl	4.02
KCl	0.37
$MgCl_2$	0.30
グルコース	3.30
$CaCl_2$	0.15
重炭酸Na	0.83

【０１２６】

８組の評価し得る血小板産物が採取され、標準的インビトロアッセイを用いて研究された。評価し得る産物とは、５％血漿／９５％ＰＡＳ－５中に採取され、最低日０，１，７および１４においてこのプロトコールあたり必要なインビトロパラメータを発生した産物として定義された。表５の溶液の図２Ａに示した２連バッグアセンブリ２が重炭酸塩なしで（そして以前に記載した容器７０と７２に分割して）各二重血小板産物の採取のために必要であった。最初２個の２連バッグアセンブリ（図２Ａ）が１０００ｍｌ移送パック中にインライン注射部位を用いてプールされた。次に重炭酸塩溶液が注射部位を通って加えられ、溶液が混合され、ｐＨのためにサンプリングされた。

【０１２７】

Ａｍｉｃｕｓ採取操作

現行Ａｍｉｃｕｓオペレーターマニュアル指令が１本針および２本針血小板採取のために追従された。二重血小板産物は、６．０－８．０×１０^{11}血小板を目標とし、１０：１のＡＣＤ比で、そして１００から７００ｍｌの間の採取血漿容積で採取された。

【０１２８】

採取キット後修飾

図６へ戻ると、ＰＰＰライン８０とＰＲＰライン８２は臍帯近くの位置において黒い消えないインクで標識された。臍帯へ通じるすべてのチューブラインは滴下チャンバー８４（図６に示すような）の底と大体一直線の位置においてヒートシールされた。ＰＡＳライン１６は図６に示したカセット５６ｃポート近くでヒートシールされ、そしてキットから取り外された。二重血小板産物と約３０ｍｌの血漿がこのアセンブリに残った。血小板貯

蔵容器へ通じるチューブはやはり図６に示したＹ部位８６から約６インチのところでヒートシールされ、キットから取り外された。

【０１２９】

血小板濃縮物調製

ＰＡＳ－５溶液を正しい配向（流体流の方向を指しているフィルター上の矢印）にＰＡＳラインに接続した。ＰＡＳラインの反対端は空の１５０ｍｌ移送パックへ無菌接続された。フィルターおよびＰＡＳラインはアセンブリ中の空気を除去するためＰＡＳ－５でプライミングされ、そしてこのラインはフィルター下方約６インチのところでヒートシールされた。このラインはＰＡＳラインから空気を追い出すのに丁度十分なＰＡＳ－５でプライミングされた。体積の大部分は血小板貯蔵のために必要なため、ＰＡＳ－５の過剰量は使用されなかった。血小板貯蔵容器に通じる各チューブライン上でクランプが閉じられた。２個の血小板貯蔵容器アセンブリはＰＰＰライン８０へ無菌接続された（図７に示したように）。ＰＡＳ－５ラインはＰＰＰライン８２へ無菌接続された（図７に破線で示したように）。止血クランプが無菌フィルターと臍帯の間のライン上に配置された。この止血クランプはＰＡＳライン上で開かれ、約２０－３０ｍｌのＰＡＳ－５が採取チャンバー５８内に流入した。ＰＡＳライン上の止血クランプが閉じられた。血小板は人力によりＡｍｉｃｕｓオペレーターマニュアルに従って再懸濁された。血小板貯蔵容器の一つが秤の上に置かれ、そしてこの貯蔵容器が秤で風袋を計るために使用された。ＰＡＳライン上の止血クランプが開かれた。秤上の血小板貯蔵容器へ導くクランプが開かれた。ＰＡＳ－５溶液が採取チャンバーを通って開いた血小板貯蔵容器１２中へ秤が約６０５±１０ｇを示すまでに流入し、その時ＰＡＳライン上の止血クランプが閉じられた。注意：最適流入のため、採取チャンバーは、図８に示したように、ＰＡＳ－５溶液の下で、血小板貯蔵容器の上に垂直に吊るされた。血液バッグスパイク注射部位が各貯蔵容器に挿入され、そして総タンパク分析のためサンプルが除去された。

【０１３０】

貯蔵

血小板濃縮物は標準的血液銀行条件で、すなわちＰＬ２４１０好適血小板貯蔵容器中２０－２４℃において連続的撹拌貯蔵の終わりまで貯蔵された。最低日０，１，７および１４および可能な時日５および９において、産物は貯蔵から除かれ、完全に混合された。サンプリングの前にバッグの重量が記録された。

【０１３１】

インビトロ試験

日０，１，７および１４および可能な時日５および９において以下のパラメータについてサンプルが分析された。

ａ）血小板濃度および血小板ＭＰＶ
ｂ）白血球カウント
ｃ）ｐＨ，pO_2，pCO_2，HCO_3
ｄ）グルコース、乳酸、ＬＤＨ
ｅ）スワーリング－Ｂｅｒｔｏｌｉｎｉ法、Ｔｒａｎｓｆｕｓｉｏｎ（３４）７９６－８０１，１９９４
ｆ）低張ショック応答
ｇ）形態スコア
ｈ）形状変化の程度
ｉ）ＣＤ６２（Ｐ－セレクチン）
ｊ）Ｖｅｒａｘ Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ Ｉｎｃｏｒｐｏｒａｔｅｄ 血小板ＰＧＤテストを用いるバクテリアテスト

【０１３２】

各採取からのＰＰＰ（血小板プア血漿）のサンプルが総タンパク含量（ｇ／ｄＬ）について分析された。各血小板濃縮物のサンプルが製造者の指示書に従ってＢｉｏ－ＲａｄＱｕｉｃｋ Ｓｔａｒｔ Ｂｒａｄｆｏｒｄタンパクアッセイキット製品＃５００－０２０

２を用いて総タンパク含量（ｇ／ｄＬ）についてアッセイされた。

【０１３３】

結果

研究３および４からの結果は以下の表６－９に述べられている。ＰＡＳ－５ＬおよびＰＡＳ－５Ｈは研究３の低ｐＨおよび高ｐＨＰＡＳ－５の血小板貯蔵を指す。ＰＡＳ－５は研究４において用いた溶液および貯蔵媒体を指す。インビトロ貯蔵パラメータおよび各単位における血漿パーセントのデータはＥｘｃｅｌワークシートに入力された。すべてのデータおよび処方は人力で検証された。

【０１３４】

【表６】

PASの重炭酸濃度およびpH

PAS溶液	PAS-5	PAS-5L	PAS-5H
重炭酸塩 (mM)	10	20	20
pH	7.60	7.45	7.70

【０１３５】

【表７】

日1における血小板単位特徴

貯蔵溶液	容積 (mL)	血小板カウント (x 10^3/μL)	血漿比率 (%)
PAS-5*	294±10	1228±149	4.0±0.4
PAS-5L	300±5	1130±135	4.8±0.8
PAS-5H	298±6	1130±147	4.5±0.4

値は平均±SDを表す。n = 10, *n = 8

【０１３６】

【表８】

貯蔵日0，１，7および14日における血液ガスパラメータ

	日0	日1	日7	日14
pH (22°C)				
PAS-5*	7.43±0.03	7.43±0.06	7.55±0.04	7.42±0.11
PAS-5L	7.35±0.03	7.56±0.05	7.74±0.06	7.63±0.10
PAS-5H	7.52±0.04	7.65±0.06	7.77±0.06	7.67±0.12
HCO_3^- (mM)				
PAS-5*	10.7±0.3	10.6±0.6	12.6±1.2	9.2±2.4
PAS-5L	19.5±0.9	17.8±0.7	17.5±1.4	14.1±2.7
PAS-5H	20.1±0.9	19.4±0.9	18.9±2.1	15.1±3.4
pO_2 (mmHg)				
PAS-5*	160±35	43±16	66±16	92±17
PAS-5L	81±15	47±16	69±16	94±16
PAS-5H	82±15	45±15	71±18	94±18

値は平均±SDを表す。n = 10, *n = 8

【０１３７】

【表９】

貯蔵1，7および14日後のインビトロパラメータ

	日1	日7	日14
MPV (fL)			
PAS-5*	8.0±0.5	7.8±0.4	8.1±0.5
PAS-5L	7.7±0.4	7.5±0.4	7.7±0.4
PAS-5H	7.7±0.4	7.5±0.4	7.7±0.4
形態 (0 - 400)			
PAS-5*	353±10	312±14	269±14
PAS-5L	364±11	315±14	275±20
PAS-5H	361±12	312±19	273±21
HSR (%)			
PAS-5*	76±10	64±10	56±8
PAS-5L	71±11	62±11	59±19
PAS-5H	72±12	59±9	57±20
ESC (%)			
PAS-5*	28±4	21±3	14±3
PAS-5L	28±4	21±2	15±5
PAS-5H	27±3	22±2	16±4
CD62p (%)			
PAS-5*	26±7	20±7	31±11
PAS-5L	26±8*	$18\pm5^{+}$	$27\pm6^{++}$
PAS-5H	26±8*	$20\pm3^{+}$	$25\pm7^{++}$
LDH (U/L)			
PAS-5*	51±20	62±16	126±66
PAS-5L	57±16	75±18	105±21
PAS-5H	58±19	74±17	107±25

値は平均±SDを表す。n = 0, *n = 8, $^{+}$n = 7, $^{++}$n = 5

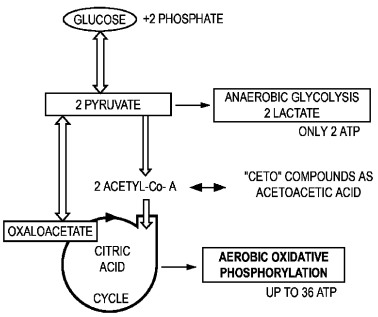
【０１３８】

上に記載した具体例はすべて本主題の原理の適用のいくつかの例示であることが理解されるであろう。ここに個々に記載または特許請求された特徴の組み合わせを含む多数の修飾が特許請求の範囲の主題の精神および範囲を逸脱することなく当業者によってなされ得る。これらの理由のため、この範囲は上の記載に限定されず、以下の特許請求の範囲に述

べたとおりである。

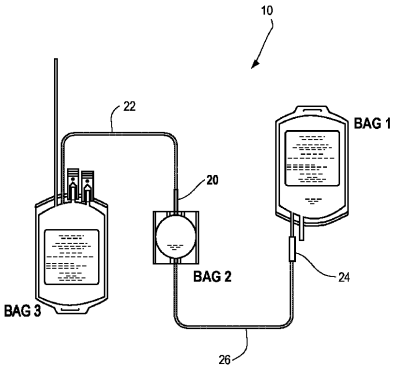
【図１】

Fig. 1



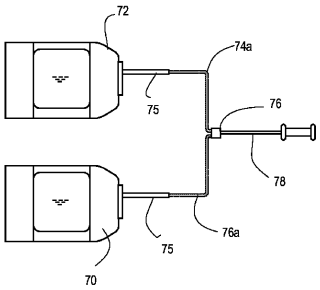
【図２】

Fig. 2



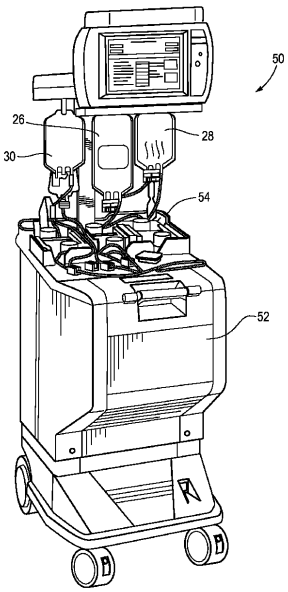
【図２Ａ】

Fig. 2A



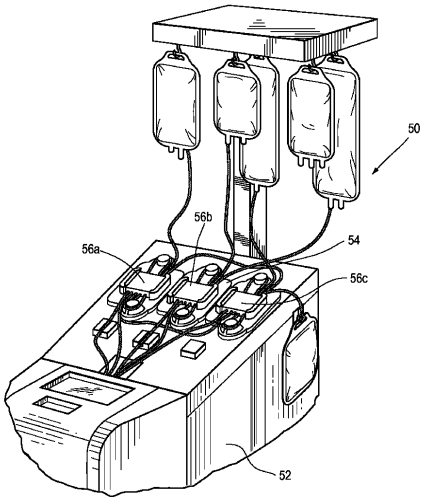
【図３】

Fig. 3



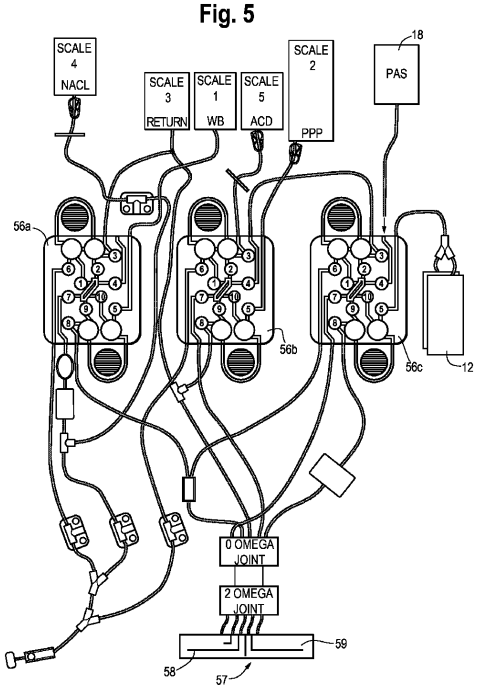
【図４】

Fig. 4



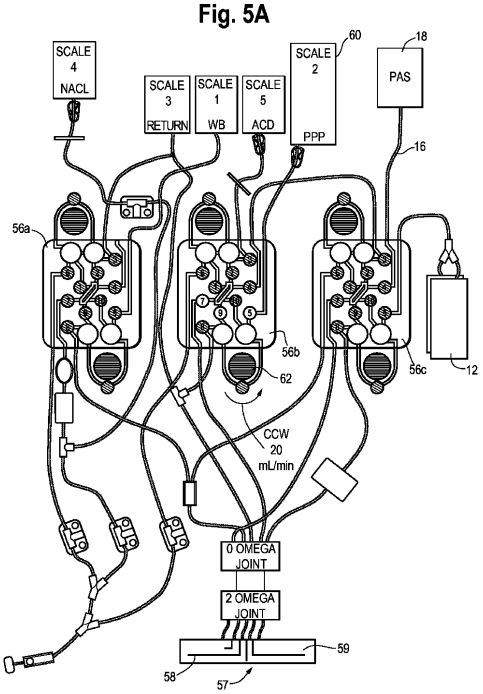
【図５】

Fig. 5



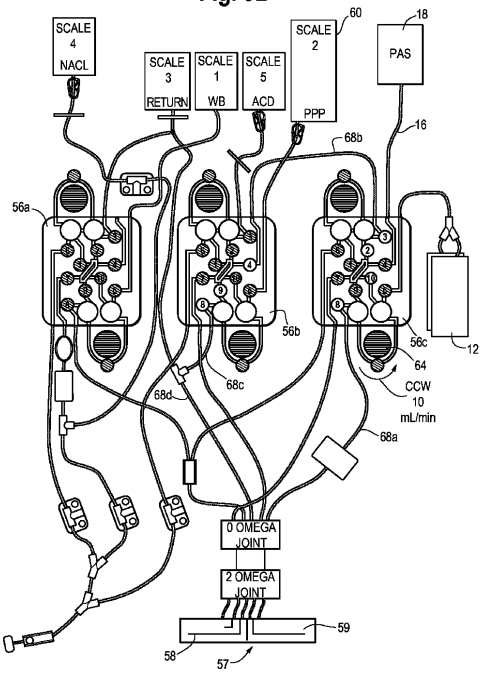
【図５Ａ】

Fig. 5A



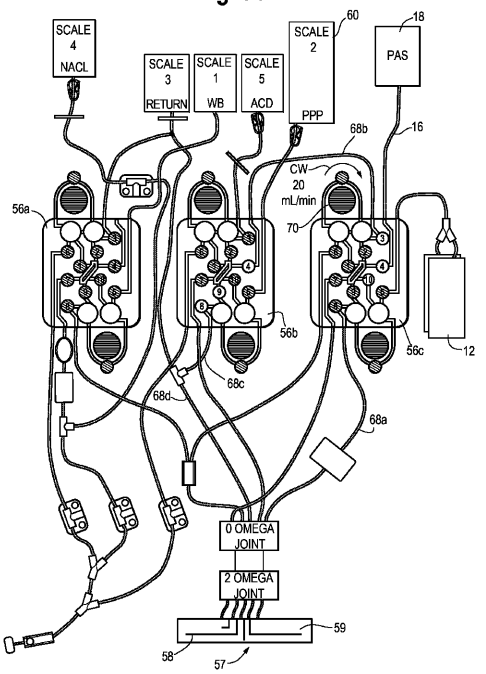
【図５Ｂ】

Fig. 5B



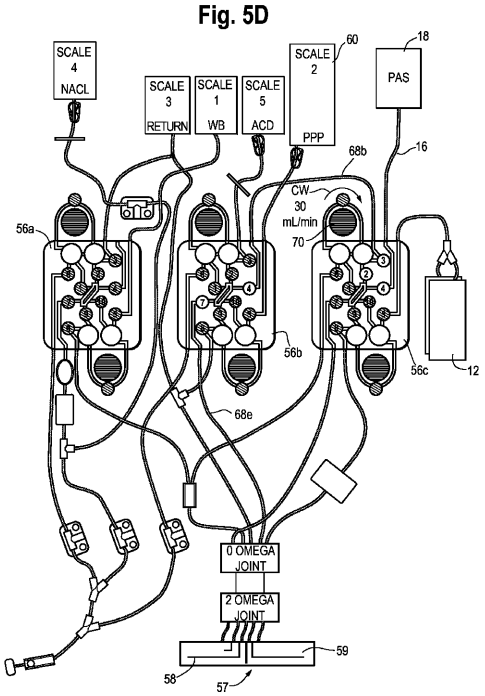
【図５Ｃ】

Fig. 5C



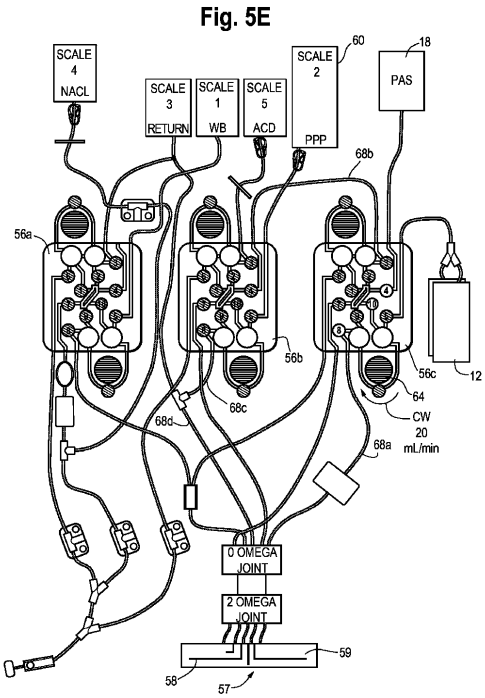
【図５Ｄ】

Fig. 5D



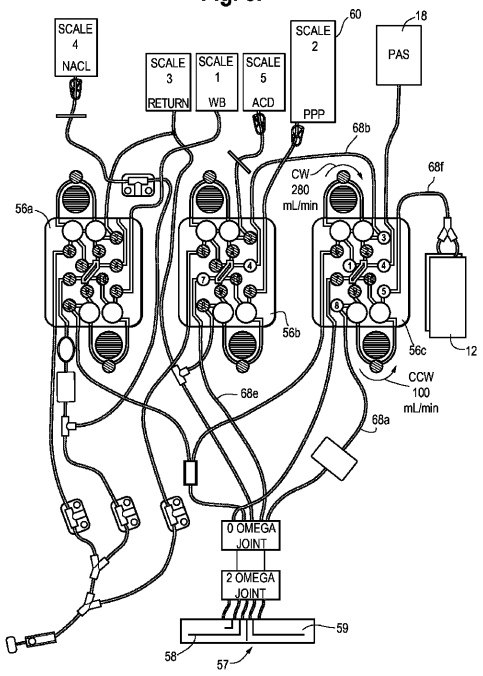
【図５Ｅ】

Fig. 5E



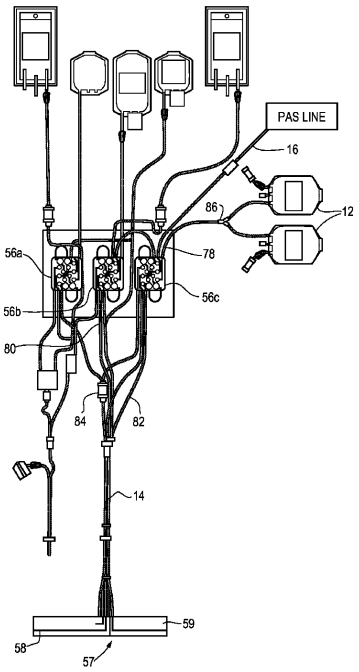
【図５Ｆ】

Fig. 5F



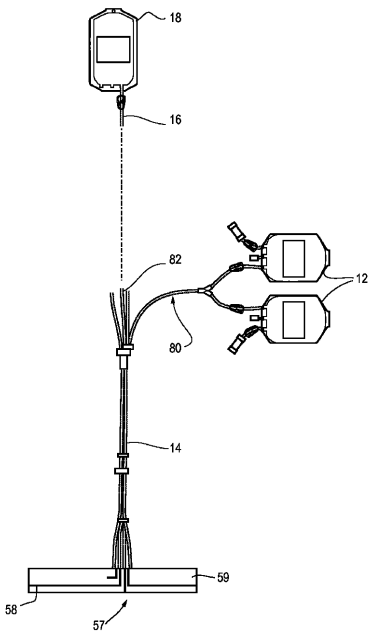
【図６】

Fig. 6



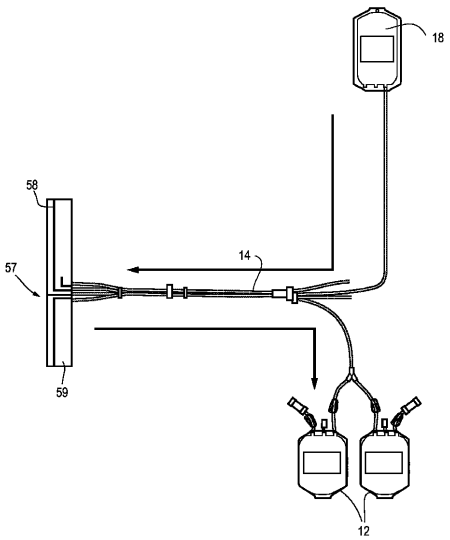
【図７】

Fig. 7

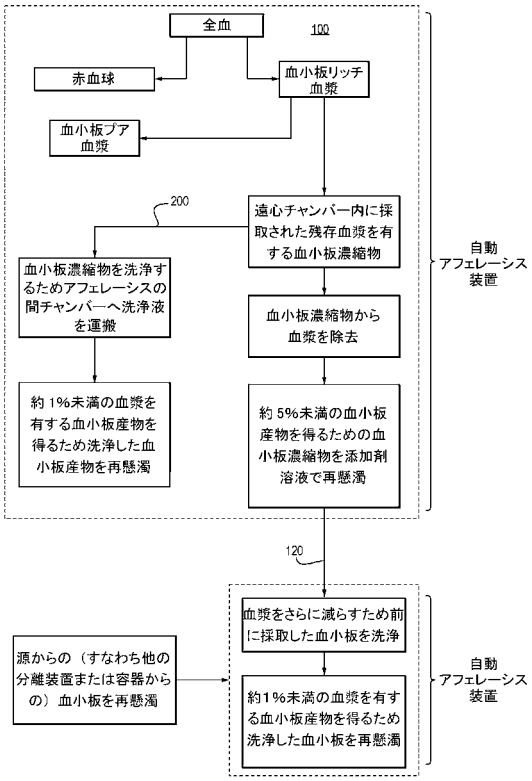


【図８】

Fig. 8



【図９】


全血
100
赤血球
血小板リッチ血漿
血小板プア血漿
200
遠心チャンバー内に採取された残存血漿を有する血小板濃縮物
血小板濃縮物を洗浄するためアフェレーシスの間チャンバーへ洗浄液を運搬
血小板濃縮物から血漿を除去
約1%未満の血漿を有する血小板産物を得るため洗浄した血小板産物を再懸濁
約5%未満の血小板産物を得るための血小板濃縮物を添加剤溶液で再懸濁
自動アフェレーシス装置
120
血漿をさらに減らすため前に採取した血小板を洗浄
源からの（すなわち他の分離装置または容器からの）血小板を再懸濁
約1%未満の血漿を有する血小板産物を得るため洗浄した血小板を再懸濁
自動アフェレーシス装置

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2012/032551

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - A61M 1/38 (2012.01)
USPC - 604/6.01
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC(8) - A01N 1/02; A61K 35/14; A61M 1/38, 37/00 (2012.01)
USPC - 210/782; 424/101; 435/2; 604/6.01

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)
PatBase, Google Patents, Google, PubMed

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2009/0259162 A1 (OHASHI et al) 15 October 2009 (15.10.2009) entire document	16, 18, 22
Y		17, 19-21, 23-25, 33
Y	US 2009/0191537 A1 (MAYAUDON et al) 30 July 2009 (30.07.2009) entire document	1-15, 33
Y	US 5,569,579 A (MURPHY) 29 October 1996 (29.10.1996) entire document	1-15, 26-33
Y	US 4,447,415 A (ROCK et al) 08 May 1984 (08.05.1984) entire document	19-21, 23-25, 31, 32
Y	US 6,884,228 B2 (BROWN et al) 26 April 2005 (26.04.2005) entire document	26-32
Y	US 2004/0182795 A1 (DORIAN et al) 23 September 2004 (23.09.2004) entire document	17
Y	US 5,614,106 A (PAYRAT et al) 25 March 1997 (25.03.1997) entire document	21

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐

* 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
31 May 2012

Date of mailing of the international search report
29 JUN 2012

Name and mailing address of the ISA/US
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450
Facsimile No. 571-273-3201

Authorized officer:
Blaine R. Copenheaver
PCT Helpdesk: 571-272-4300
PCT OSP: 571-272-7774

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

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN

(72)発明者 ラドワンスキー, キャサリン
アメリカ合衆国６００１６、イリノイ、デスプレインズ、リーストリート、ユニット４０３

Ｆターム(参考) 4C077 AA11 BB04 CC03 CC07 DD01 DD08 DD12 DD24 DD26 EE01
JJ03 JJ08 JJ18 JJ28 KK13 KK27 NN03 NN18
4C087 AA03 BB38 DA10 MA05 MA17 MA66 NA20 ZA51