(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2024年3月14日(14.03.2024)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2024/053643 A1

(51) 国際特許分類:
A61K 35/16 (2015.01)　*B01J 2/04* (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)　*F26B 5/06* (2006.01)
A61P 7/00 (2006.01)　*F26B 17/10* (2006.01)
B01D 7/00 (2006.01)

(21) 国際出願番号：　PCT/JP2023/032398

(22) 国際出願日：　2023年9月5日(05.09.2023)

(25) 国際出願の言語：　日本語

(26) 国際公開の言語：　日本語

(30) 優先権データ：
特願 2022-141275　2022年9月6日(06.09.2022)　JP

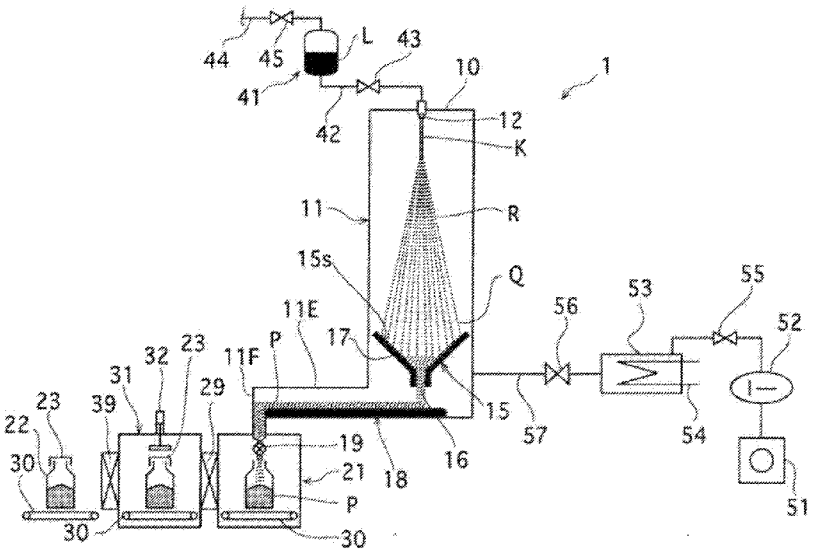
(71) 出願人: 株式会社アルバック (**ULVAC, INC.**) [JP/JP]; 〒2538543 神奈川県茅ヶ崎市萩園２５００番地 Kanagawa (JP). 一般社団法人日本血液製剤機構 (**JAPAN BLOOD PRODUCTS ORGANIZATION**) [JP/JP]; 〒1080023 東京都港区芝浦三丁目１番１号 田町ステーションタワーＮ１５階 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 上松 天 (**UEMATSU, Sora**); 〒2538543 神奈川県茅ケ崎市萩園２５００番地 株式会社アルバック内 Kanagawa (JP). 西橋 勉 (**NISHIHASHI, Tsutomu**); 〒2538543 神奈川県茅ケ崎市萩園２５００番地 株式会社アルバック内 Kanagawa (JP). 伊藤 薫樹 (**ITOH, Masaki**); 〒2538543 神奈川県茅ケ崎市萩園２５００番地 株式会社アルバック内 Kanagawa (JP). 松林 大夢 (**MATSUBAYASHI, Hiromu**); 〒2538543 神奈川県茅ケ崎市萩園２５００番地 株式会社アルバック内 Kanagawa (JP). 野澤 泰代 (**NOZAWA, Yasuyo**); 〒1080023 東京都港区芝浦三丁目１番１号 田町ステーションタワーＮ１５階 一般社団法人日本血液製剤機構内 Tokyo (JP). 伊藤 雄大

(54) **Title:** DRIED PLASMA

(54) 発明の名称： 乾燥血漿

［図1］



(57) **Abstract:** The specific embodiments of the present invention provide: dried plasma that is characterized by having excellent particle uniformity, retaining the activity of the various blood clotting factors, and having a D50 of 200–400 μm on a volume-based particle size distribution obtained by laser diffraction/scattering particle size distribution measurement; and a production method, etc. for the dried plasma.

［続葉有］

WO 2024/053643 A1

(ITO, Takehiro); 〒1080023 東京都港区芝浦三丁目１番１号 田町ステーションタワーＮ１５階 一般社団法人日本血液製剤機構内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 鎌田 光宜, 外 (KAMADA, Mitsunori et al.); 〒5410044 大阪府大阪市中央区伏見町四丁目１番１号 明治安田生命大阪御堂筋ビル 高島国際特許事務所 Osaka (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類：

一　国際調査報告（条約第21条(3)）

(57) 要約：本発明は、具体的な実施の形態として、粒子の均質性に優れ、各種の血液凝固因子活性も維持された、レーザー回折散乱式粒度分布測定法により測定して得られる体積基準粒度分布によるＤ５０が、２００μm～４００μmであることを特徴とする、乾燥血漿、およびその製造方法等を提供する。

明　細　書

発明の名称 ： 乾燥血漿

技術分野

[0001] 本発明は、粒子の均質性に優れ、かつ生物活性が維持された乾燥血漿、およびその製造方法に関するものである。

背景技術

[0002] 救急医療の臨床ニーズと献血供給量の減少に伴い、遠距離輸送や長期保管が可能な乾燥血漿製剤の工業的生産の必要性が高まっている。工業生産レベルでの粉体の乾燥技術としては、スプレードライ噴霧乾燥法（例えば、特許文献１）、凍結真空乾燥法（例えば、特許文献２）等の粉体化技術が知られている。

乾燥血漿の工業的生産には血漿をプールする必要があり、感染症対策上ウイルス不活性化処理（Ｓ／Ｄ処理）等の病原体不活化を施こすことが求められるが、Ｓ／Ｄ処理血漿は生物活性が脆弱なため、従来の粉体化技術では生物活性が維持された実用的な乾燥血漿の生産ができず、提供される乾燥血漿の品質は必ずしも十分とは言えず、生物活性を維持したまま粉体化できる製造方法が希求されている。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：米国特許出願公開第２０１３／００７８３２４号明細書

特許文献2：特開２００６－９０６７１号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] 先行技術であるスプレードライ噴霧乾燥法では、加熱工程を経るため血漿の各種成分の失活が原理的に回避できなかった。また、バイアル瓶あるいはプラスチックバッグによる凍結乾燥法は、得られる乾燥血漿の不均質性、製造コスト等の観点から大量生産に適するものではなかった。

一方、凍結真空乾燥法はスケールアップや各種成分の活性維持が原理的に可能であり有用な方法ではあるが、血漿に適用した場合には、従来の装置条件では多種類の蛋白質成分を含み、各成分の自己凍結速度が異なるという血漿の特性に起因して、得られた乾燥血漿の粒子の不均一性や未凍結塊の発生等の点で、工業スケールでの高品質の乾燥血漿の製造を阻む要素があった。

このように、従来の乾燥血漿の製造方法では、粒子の均質性に優れ、かつ血漿の各成分の生物活性が維持された実用的な乾燥血漿を医療の現場に提供できないとの課題があった。

課題を解決するための手段

[0005] 本発明者らは、原理的に噴霧時に熱負荷をかけずに凍結微粒子が生成可能である凍結真空乾燥法を用いて血漿を粉体化することを鋭意検討し、凍結真空乾燥装置の設計およびその製造条件を最適化して乾燥血漿を製造することにより、粒子の均質性に優れ、かつ血漿の各成分の生物活性が維持された有用性の高い乾燥血漿を得るに至り、さらに得られた乾燥血漿は、血漿の再構成時の溶解性も高く、副作用リスクとなる不溶性微粒子の数も低減されていることも併せて見出し、本発明を完成した。本発明は、具体的な実施の形態を挙げると以下の通りである。但し、これらに限定されるものではない。

[0006] ［本発明の乾燥血漿について］

［１］レーザー回折散乱式粒度分布測定法により測定して得られる体積基準粒度分布によるＤ５０が、２００μｍ～４００μｍであることを特徴とする、乾燥血漿。

［２］レーザー回折散乱式粒度分布測定法により測定して得られる体積基準粒度分布によるＤ１０、Ｄ５０、およびＤ９０において、（Ｄ９０－Ｄ１０）／Ｄ５０の値が、０．１～２．０であることを特徴とする、上記[１]に記載の乾燥血漿。

［３］（Ｄ９０－Ｄ１０）／Ｄ５０の値が、０．３～２．０である、上記［２］に記載の乾燥血漿。

［４］１０００μｍ以上の粗大粒子含有率が、乾燥血漿重量の３０重量％以

下である（好ましくは、０～２５重量％、より好ましくは、０．１～２０重量％である）、上記［１］～［３］のいずれかに記載の乾燥血漿。

［５］粗大粒子含有率が、乾燥血漿重量の２０重量％以下である、上記［４］に記載の乾燥血漿。

[0007] ［６］乾燥血漿の２０ｍｍｏｌ／Ｌ　Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）溶液への溶解時間が、５分以内である、上記［１］～［５］のいずれかに記載の乾燥血漿。

［７］溶解時間が、４分以内（より好ましくは、２～４分）である、上記［６］に記載の乾燥血漿。

[0008] ［８］乾燥血漿を、２０ｍｍｏｌ／Ｌ　Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）に溶解して再構成した血漿において、リストセチン・コファクター活性（ｖＷＦ：ＲＣｏ)の活性回収率が７０％以上である（より好ましくは、７０～９５％である）、上記［１］～［７］のいずれかに記載の乾燥血漿。

［９］乾燥血漿を、２０ｍｍｏｌ／Ｌ　Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）に溶解して再構成した血漿において、Ｆｉｂｒｉｎｏｇｅｎの活性が、１５０～４００ｍｇ／ｄＬ（好ましくは、２００～４００ｍｇ／ｄＬ）である、上記［１］～［８］のいずれかに記載の乾燥血漿。

［１０］乾燥血漿を、２０ｍｍｏｌ／Ｌ　Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）に溶解して再構成した血漿において、Ｆａｃｔｏｒ　Ｖの活性が、０．５ＩＵ／ｍＬ（好ましくは、０．９ＩＵ／ｍＬ）以上である（当該活性は、好ましくは、１．４ＩＵ／ｍＬ以下である）、上記［１］～［９］のいずれかに記載の乾燥血漿。

［１１］乾燥血漿を、２０ｍｍｏｌ／Ｌ　Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）に溶解して再構成した血漿において、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｃの活性が、０．７ＩＵ／ｍＬ（好ましくは、１．１ＩＵ／ｍＬ）以上である（当該活性は、好ましくは、１．４ＩＵ／ｍＬ以下である）、上記［１］～［１０］のいずれかに記載の乾燥血漿。

［１２］乾燥血漿を、２０ｍｍｏｌ／Ｌ　Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）に

溶解して再構成した血漿において、ＦＶＩＩＩの活性が、０．５ＩＵ／ｍＬ以上である（当該活性は、好ましくは、１．５ＩＵ／ｍＬ以下である）、上記［１］～［１１］のいずれかに記載の乾燥血漿。

［１３］乾燥血漿を、２０ｍｍｏｌ／Ｌ　Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）に溶解して再構成した血漿において、ＦＸＩの活性が、０．５ＩＵ／ｍＬ以上である（当該活性は、好ましくは、１．５ＩＵ／ｍＬ以下である）、上記［１］～［１２］のいずれかに記載の乾燥血漿。

［１４］乾燥血漿を、２０ｍｍｏｌ／Ｌ　Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）に溶解して再構成した血漿において、α２－ａｎｔｉｐｌａｓｍｉｎの活性が、０．２ＩＵ／ｍＬ以上である（当該活性は、好ましくは、１．１ＩＵ／ｍＬ以下である）、上記［１］～［１３］のいずれかに記載の乾燥血漿。

［１５］乾燥血漿を、２０ｍｍｏｌ／Ｌ　Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）に溶解して再構成した血漿において、１０μｍ以上のサイズの不溶性微粒子数が、２４００個以下である、上記［１］～［１４］に記載の乾燥血漿。

[0009] ［本発明の乾燥血漿の製造方法について］

［１６］血漿を、凍結真空乾燥塔内の上端部に設けられた、血漿を噴出させるための細孔の口径が５０～３５０μｍであるノズルから、真空下の前記凍結真空乾燥塔内へ噴出させて形成される微小原料液粒子を自己凍結させて微小凍結粒子とする工程、および

前記微小凍結粒子を前記凍結真空乾燥塔内の捕捉面で捕捉して加熱し昇華乾燥する工程、を含む、乾燥血漿の製造方法。

［１７］血漿を噴出させるための細孔の口径が、１００～２５０μｍである、上記［１６］に記載の製造方法。

［１８］ノズルが、ディスペンサーノズルである、上記［１６］または［１７］に記載の製造方法。

［１９］血漿の、ノズルから真空下の前記凍結真空乾燥塔内への噴出時の噴霧圧が、０．０１～０．３ＭＰａ（ゲージ圧力、以下、噴霧圧はゲージ圧力を意味する）である、上記［１６］～［１８］のいずれかに記載の製造方法

。

［２０］血漿の、ノズルから真空下の前記凍結真空乾燥塔内への噴出時の前記凍結真空乾燥塔内圧力が、１．０～２０Ｐａである、上記［１６］～［１９］のいずれかに記載の製造方法。

［２１］血漿が、Ｓ／Ｄ（Ｓｏｌｖｅｎｔ／Ｄｅｔｅｒｇｅｎｔ）処理されたものである、上記［１６］～［２０］のいずれかに記載の製造方法。

［本発明の乾燥血漿の製造装置について］

［２２］血漿を凍結真空乾燥塔内の上端部に設けられたノズルから真空下の前記凍結真空乾燥塔内へ噴出させて形成される微小原料液粒子を自己凍結させて微小凍結粒子とし、続いて前記微小凍結粒子を前記凍結真空乾燥塔内の捕捉面で捕捉して加熱し昇華乾燥する凍結真空乾燥装置において、

ノズルの先端部に形成された血漿を噴出させるための細孔の口径が５０～３５０μｍとなるように構成されていることを特徴とする凍結真空乾燥装置。

［２３］ノズルが、ディスペンサーノズルである、上記［２２］に記載の凍結真空乾燥装置。

発明の効果

[0010] 本発明により、粒子の均質性に優れ、かつ血漿の各成分の生物活性が維持された有用性の高い乾燥血漿であって、併せて血漿の再構成時の溶解性も高く、副作用リスクとなる不溶性微粒子の数も低減されている乾燥血漿、およびその製造方法が提供される。

図面の簡単な説明

[0011] [図1]図１は、実施例において使用された凍結真空乾燥装置１の概略的な断面図である。

[図2]図２は、実施例において使用されたノズルの概略的な断面図である。

[図3]図３は、実施例においてトロンビン生成量の測定に使用されたＣＡＴシステムによるＴｈｒｏｍｂｉｎ　Ｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ　Ａｓｓａｙの概略図である。

[図4]図４は、実施例において検討された実施例４血漿と比較例血漿の粒度分

布を示す図である。

[図5]図５は、実施例において篩分け試験により検討された実施例４血漿と比較例血漿の重量粒度分布を示す図である。

[図6]図６は、ＲＯＴＥＭ測定のパラメーターの概略を示す図である。

発明を実施するための形態

[0012] １．本発明の乾燥血漿の粉体特性について

（１）粒度分布

本発明の乾燥血漿（「本乾燥血漿」とも表記する）は、

「レーザー回折散乱式粒度分布測定法により測定して得られる体積基準粒度分布によるＤ５０が、２００μｍ～４００μｍであることを特徴とする、乾燥血漿。」

である。

レーザー回折散乱式粒度分布測定法は、当技術分野で、粉体の粒度分布（粒子径分布）を評価するために広く用いられている方法であるが、本発明を実施するにあたっては、より具体的には、規格番号ＪＩＳＺ８８２５に規定された「粒子径解析－レーザー回折・散乱法」の測定手法が利用され、市販の測定装置（例えばマイクロトラックＭＴ３１００（ＮＩＫＫＩＳＯ））を用いて測定することができる。試料の調製の違いにより、湿式測定と乾式測定の２種の測定方法がある。粒子にレーザー光を照射することにより、回折散乱光が生じる。回折散乱光は粒子の大きさによりパターンが異なり、これを利用して回折散乱光のパターンから粒子径情報を検出し、演算処理により粒子径分布を求める方法である。

本発明においては、測定は、粉体の試料をエアーで分散させながら、レーザー光を試料に照射し、回折散乱パターンから粒子径分布の測定（乾式レーザー回折散乱法）を行った（より具体的な測定条件は、後記の実施例１での記載を参照）。この方法により、体積基準の積算分布を表す指標値として、Ｄ１０（１０％径）、Ｄ５０（５０％径、メディアン径）、Ｄ９０（９０％径）が決定される。

上記の通り、本乾燥血漿は、Ｄ５０が２００μｍ～４００μｍの範囲内にあることを特徴とする血漿である。

粒子径Ｄ５０が２００μｍ～４００μｍである粉体では、粉体操作性が良いため、粉体中に含まれる粗大粒子の割合が低減される。これにより分級操作が不要となり、回収槽の粉体全体を回収可能となるため、製造工程における乾燥血漿の回収率が向上した。

（２）粒子の均質性

本乾燥血漿の好ましい態様では、Ｄ１０、Ｄ５０、およびＤ９０において、（Ｄ９０－Ｄ１０）／Ｄ５０で算出される値が、０．１～２．０の範囲内（より好ましくは、０．３～２．０の範囲内）にある。この値が１に近い程、粉体を構成する粒子の均質性が高い。本乾燥血漿は、上記の数値範囲内にあることにより、粉体を構成する粒子の均質性が非常に高いものとなっている。そして、係る粒子の均質性の高さにより、本乾燥血漿の活性（例えば、フィブリノゲン活性）が向上していることは、後述の通りである。

（３）粗大粒子含有率

本乾燥血漿の別の好ましい態様では、１０００μｍ以上の粗大粒子含有率が、乾燥血漿重量の３０重量％以下（好ましくは、２０重量％以下）である。

ここで、粗大粒子含有率は、評価対象の乾燥血漿を、メッシュ（１０００、５００、３００μｍ等の目的とする分級に応じた目開きを有するもの）を用いた篩分け試験に付し、乾燥血漿の分級後のメッシュ残留粉体重量を測定して重量粒度分布を検討することにより求めることができる（より具体的な測定条件は、後記の実施例２での記載を参照）。

本乾燥血漿では、１０００μｍ以上の粗大粒子が上記の範囲内に抑えられていることにより、製造工程において分級操作が不要となり、製造工程において乾燥血漿の回収率が向上する。

[0013] ２．本乾燥血漿の物理化学的性質および生物活性について

本乾燥血漿は、下記の特性を備えている。

（１）溶解特性

乾燥血漿の２０ｍｍｏｌ／Ｌ　Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）溶液への溶解時間が、５分以内（または４分以内）である。なお、乾燥血漿の溶解（血漿の再構成）は、手で揺らす程度の攪拌で行われ、室温条件下、重量比１０ｗ／ｖ％で溶解された（後記の実施例２での記載を参照）。

従来の新鮮凍結血漿（Ｆｒｅｓｈ　Ｆｒｏｚｅｎ　Ｐｌａｓｍａ：ＦＦＰ）は凍結製剤であるため、冷凍状態から３７℃付近の温浴で急速融解して使用する必要があるが、融解時間は１５～３０分程度を要する。大量出血の患者は、出血後１０分以上が経過すると重篤な状態に陥ることが多く、５分以内に輸血を開始することで救命率を向上させることができる。本乾燥血漿は、このように短時間で溶解させて投与可能な状態となるため緊急を要する医療現場での実用性が高い。

（２）血液凝固活性

上記（１）の場合と同様にして、本乾燥血漿を、２０ｍｍｏｌ／Ｌ　Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）に溶解して再構成した血漿は、例えば、以下の1またはそれ以上の項目に記載の優れた血液凝固活性を有する。

１）ｖＷＦ：ＲＣｏの活性回収率が７０％以上である。

２）Ｆｉｂｒｉｎｏｇｅｎの活性が、１５０～４００ｍｇ／ｄＬである。

３）Ｆａｃｔｏｒ　Ｖの活性が、０．５ＩＵ／ｍＬ以上である。

４）Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｃの活性が、０．７ＩＵ／ｍＬ以上である。

５）ＦＶＩＩＩの活性が、０．５ＩＵ／ｍＬ以上である。

６）ＦＸＩの活性が、０．５ＩＵ／ｍＬ以上である。

７）α２－ａｎｔｉｐｌａｓｍｉｎの活性が、０．２ＩＵ／ｍＬ以上である。

ここで、「フィブリノゲンの規格値」は、ＳＤ処理血漿製剤の「Ｏｃｔａｐｌａｓ　ＬＧ（登録商標）」（Ｏｃｔａｐｈａｒｍａ）の規格値を参考にした。

上記の通り、各種の血液凝固因子の活性がＥＰ規格値に適合して高く維持

されているため、本乾燥血漿は、再構成後の血漿の有用性が高い。

なお、各血液凝固因子の活性の具体的な測定方法とその条件は、後記の実施例２において詳述された通りである。

（３）不溶性微粒子数

上記（１）の場合と同様にして、本乾燥血漿を、２０ｍｍｏｌ／Ｌ　Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）に溶解して再構成した血漿において、１０μｍ以上のサイズの不溶性微粒子数が、２４００個以下である。

ここで、不溶性微粒子数は、日本薬局方（ＪＰ）一般試験法６．０７に記載の「注射剤の不溶性微粒子試験法第１法（光遮蔽粒子計数法）」により評価される（より具体的な評価方法については、後記の実施例４での記載を参照）。

なお、当業者に広く知られている通り、血漿の再構成後の血漿溶液中の不溶性微粒子数は、乾燥血漿の製造時の原薬の澄明度に最も影響を受けるため、不溶性微粒子数の評価は、複数の製造ロットで得た乾燥血漿についての評価結果の総合判断が必要な場合がある。

[0014] 以上の通り、本乾燥血漿は、優れた粉体特性と、優れた生物活性とを併せ持ち、加えて粉体粒子の均質性に優れ、血漿再構成時の溶解性も高く、各種の血液凝固因子活性も維持されており、かつ副作用リスクとなる不溶性微粒子の数も低減されている等の特徴を有するものであり、医療現場で極めて有用なものである。具体的な使用態様の一例を、以下に記載する。

「本乾燥血漿は、剤型が粉体であるためプラスチックバッグに封緘することが可能であり、冷凍保管が不要であり容易に携帯可能な製剤であるため、ドクターヘリ等の移動型の医療現場においても使用できる。本乾燥血漿は、再構成液としてｐＨ２．４の２０ｍｍｏｌ/Ｌグリシン溶液を用いて重量比１０ｗ／ｖ％となるよう粉体に再構成液を加えてバッグ内の血漿を溶かすことで使用可能となる。

再構成された血漿製剤は、大量出血等の凝固因子補充では投与速度１０～１５ｍＬ/ｋｇで、赤血球と血漿を１：１或いは１：２の割合で混合した状態

で静脈投与され、使用量としては、およそ血漿４単位（１単位は２００ｍＬ）が投与される。また、血栓性血小板減少性紫斑病などの血漿交換治療では、血漿製剤を４０～６０ｍＬ/ｋｇで投与を行い、使用量としては、およそ患者循環血漿量の１～１．５倍を用いて血漿交換を行う。」

[0015] ３．本発明の乾燥血漿の製造方法

（１）本乾燥血漿は、凍結真空乾燥装置を用いて、以下の製造方法により製造することができる。

「血漿を、凍結真空乾燥塔内の上端部に設けられた、血漿を噴出させるための細孔の口径が５０～３５０μｍであるノズルから、真空下の前記凍結真空乾燥塔内へ噴出させて形成される微小原料液粒子を自己凍結させて微小凍結粒子とする工程、および前記微小凍結粒子を前記凍結真空乾燥塔内の捕捉面で捕捉して加熱し昇華乾燥する工程、を含む、乾燥血漿の製造方法。」

１）凍結真空乾燥について

ここで、凍結真空乾燥とは、当技術分野で、原料液中に溶解している物質や分散している物質を乾燥して微粉末として取り出す方法として使用されている乾燥法の一つである。加熱によって変性されて生理活性を失うもの、風味を損なうものがあり、これらについては凍結真空乾燥法が採用され、その方法の一つとして、原料液をノズルから真空空間へ噴霧して得られる微小原料液粒子を自己凍結させて微小凍結粒子とし、その微小凍結粒子を真空下に低温度で加熱して氷結状態の溶媒または分散媒を昇華させて乾燥することにより微粉末として取り出す方法が知られている（例えば、特許文献１参照）。

２）原料としての血漿について

原料としての血漿としては、新鮮凍結血漿を融解した血漿を用いることができる。新鮮凍結血漿（Ｆｒｅｓｈ　Ｆｒｏｚｅｎ　Ｐｌａｓｍａ）（「ＦＦＰ」とも表記する）は、献血より得られた血漿を採取６時間以内に速やかに－４０℃以下に凍結したもので、日本赤十字血液センターより販売されている。乾燥血漿の粉末を血漿に戻して利用する場合には、あらかじめウイル

スの不活化処理を行うことが好ましく、例えば、Ｓ／Ｄ処理された血漿（「ＳＤＰ」とも表記する）を用いるのが好ましい。

ここで、血漿のＳ／Ｄ処理は、ｓｏｌｖｅｎｔ（有機溶媒）・ｄｅｔｅｒｇｅｎｔ（界面活性剤）の略で、脂質膜を持つウイルスの感染性をなくす方法の一つであり、当技術分野で広く用いられている（例えば、特許第２７０８６３２号公報、特許第３９１１５２４号公報を参照）。例えば、ＴＮＢＰ（ｔｒｉ－ｎ－ｂｕｔｙｌ　ｐｈｏｓｐｈａｔｅ：有機溶媒）、ＴｒｉｔｏｎＸ－１００（ポリエチレングリコールモノ-pイソオクチルフェニルエーテル：界面活性剤）、Ｔｗｅｅｎ８０（界面活性剤）などが使用される。さらに、Ｓ／Ｄ処理した血漿溶液にオイルを添加し、ＴＮＢＰを油層分離した後、水層を回収し、フィルターろ過後、逆相クロマトグラフによりＴｒｉｔｏｎＸ－１００等の界面活性剤を除去し、除菌ろ過して使用することができる。

なお、血漿のＳ／Ｄ処理は、血漿製剤の安全性確保の観点から極めて重要な工程であるが、Ｓ／Ｄ処理により血漿中の血液凝固因子が失活するため、このような活性が脆弱になったＳ／Ｄ処理血漿を原料に用いて乾燥血漿を工業的に生産するための、粉体化によるさらなる失活が少なく、高活性な状態で大量処理可能な粉体化技術が長らく希求されて来た。本発明は、このような要請に応えるものである。

[0016] （２）以下、凍結真空乾燥装置を用いた本発明の乾燥血漿の製造方法を、図１～２を参照して、具体的に説明する。ここで説明する凍結真空乾燥装置および乾燥血漿の製造方法は、１つの例示であり、本発明の具体的な構成はこの実施形態に限定されるのではなく、本発明の趣旨を逸脱しない範囲の設計変更等も含まれる。

[0017] 図１は、後記の実施例において使用した凍結真空乾燥装置（株式会社アルバックのμＰＤ４００、Ｙ０１０-０７７７、ＵＬＶＡＣ）（以下、「凍結真空乾燥装置１」とも表記する）の概略的な断面図である。すなわち、凍結真空乾燥装置１は、血漿を原料液Ｌとして乾燥血漿の微粉末Ｐを製造するため

の装置である。凍結真空乾燥装置１は、その円筒状の凍結真空乾燥塔１１内で原料液Ｌを発散させて微小原料液粒子Ｒとする。微小原料液粒子Ｒは落下の途中で自己凍結して微小凍結粒子Ｑとなる。この落下してくる乾燥血漿の微小凍結粒子Ｑを捕捉、収集して低温度で加熱し、微小凍結粒子Ｑに含まれる氷を昇華させて、微小凍結粒子Ｑを乾燥させる。

[0018]（ノズル部）

凍結真空乾燥塔１１の上端部には後述の原料液供給容器４１から供給される原料液Ｌを液柱Ｋとして噴射させるためにノズル１２が設けられている。

本乾燥血漿を製造するにあたっては、ノズル１２の細孔１４の口径が、５０～３５０μｍ（好ましくは、１００～２５０μｍ、さらに好ましくは２００μｍ）であるノズルが用いられる。後記の実施例では、図２に示されるディスペンサーノズル、ストレートノズル、テーパーノズルが検討されたが、本乾燥血漿の製造においては、未凍結塊の形成抑制および得られた乾燥血漿の活性維持の観点から、ディスペンサーノズルを使用することが好ましい。

[0019]（液柱Ｋ）

液柱Ｋは、原料液Ｌを噴射させる条件によって定まる一定の長さに形成され、その下端で原料液の表面張力により分裂した後、発散して微小原料液粒子Ｒが一定大きさの粒状に形成される。そして、微小原料液粒子Ｒは落下の途中で自己凍結して、微小凍結粒子Ｑとなる。凍結真空乾燥塔１１の底部には、落下してくる微小凍結粒子Ｑを斜面で受けて捕捉し、かつ低温度で加熱して微小凍結粒子Ｑに含まれる氷を昇華させて乾燥しながら、傾斜面を滑落させ底部の開口１６から下方へ落下させる上開きのコニカルな形状の収集・加熱機器１５と、開口１６から落下する微小凍結粒子Ｑを受けて、図１において左方へ移送しながら加熱、乾燥して、乾燥血漿の微粉末Ｐとする振動フィーダなどの移送機１８が設けられている。

なお、乾燥は、初期乾燥、一次乾燥、二次乾燥と段階的に行われ、温度、凍結真空乾燥塔内圧力（「槽内圧力」とも表記する）を徐々に変化させる。具体的な条件は、後記の実施例における表1等に示している。

[0020]（ジャケット部）

コニカルな形状の収集・加熱機器１５の下面側には、図示せずとも凍結真空乾燥塔１１の外部から導入され外部へ戻される温水の循環通路となるジャケット１７が設けられており、上方から落下してくる乾燥血漿の微小凍結粒子Ｑを受け、乾燥血漿の微小凍結粒子Ｑが収集・加熱機器１５の傾斜した表面である捕捉面１５ｓを滑落して中央部の開口１６から下方へ落下する間に、微小凍結粒子Ｑを低温度で加熱して、含まれている氷を昇華させるようになっている。なお、乾燥血漿の微小凍結粒子Ｑの滑落を円滑にするために、表面をフッ素樹脂加工してもよく、また収集・加熱機器１５に微小な振動を与えるようにしてもよい。温水のジャケット１７に替えて収集・加熱機器１５の捕捉面１５ｓの下側にヒーターを埋め込んで加熱するようにしてもよい。

[0021]（延在部）

上記の開口１６より下方において、凍結真空乾燥塔１１の底部には図１において左方へ延在部１１Ｅが形成されており、底部から延在部１１Ｅにかけて移送機１８が設置されている。すなわち、移送機１８は、収集・加熱機器１５の底部の開口１６から落下する氷分の減少した微小凍結粒子Ｑを受け、図１において左方へ搬送する間にも加熱し乾燥することにより、下流端部では、乾燥した乾燥血漿の微粉末Ｐが得られる。なお、加熱手段として図示せずとも面状ヒーターが取り付けられている。そして、凍結真空乾燥塔１１の上記延在部１１Ｅは移送機１８の下流端を越えてから直下へ曲げられて乾燥血漿の微粉末Ｐが落下する垂下路１１Ｆとなっており、垂下路１１Ｆの下部は後述の回収・秤量室２１内へ挿入され、その下端部は絞られて自動開閉弁１９が取り付けられている。

[0022]（回収・秤量室）

上記の垂下路１１Ｆが挿入されている回収・秤量室２１は凍結真空乾燥塔１１と一体的に設けられており、垂下路１１Ｆを落下する乾燥血漿の微粉末Ｐは容器２２に収納され秤量される。また、回収・秤量室２１とは仕切弁２

９を介して封栓・取出室３１が設けられている。封栓・取出室３１においては天井面側に設けられた打栓機３２によって容器２２に栓２３が打栓された後、大気側との間を開閉する仕切弁３９を開けて大気側へ取り出される。なお、封栓・取出室３１は図示せずとも独立に真空排気が可能とされている。そのほか、回収・秤量室２１、封栓・取出室３１、大気側の間で容器２２を移送するために、それぞれにはコンベア３０が配設されているが、特に、回収・秤量室２１のコンベア３０は図示せずともロードセル方式の重量計測装置が付属されている。

[0023]（供給系）

また、図１において、凍結真空乾燥塔１１の左側の上方には、原料液Ｌの供給容器４１が設置されている。そして、原料液供給容器４１の底部と凍結真空乾燥塔１１の上端部のノズル１２とを連結する原料液供給配管４２が取り付けられており、原料液供給容器４１とノズル１２との間には開閉弁４３が設けられている。また、原料液供給容器４１に収納される原料液Ｌの上部空間に供給圧力をかけるための窒素ガス配管４４が開閉弁４５と共に配設されている。なお、原料液Ｌの供給はポンプを使用して圧送してもよい。

[0024]（排気系）

更に、図１において凍結真空乾燥塔１１の底部の右側には、凍結真空乾燥塔１１内を排気するための真空排気系が設けられている。すなわち、凍結真空乾燥塔１１の底部に接続された真空排気配管５７には冷凍機からの冷媒配管５４を備えたコールドトラップ５３を介してルーツポンプ５２とロータリーポンプ５１とが接続されており、コールドトラップ５３とルーツポンプ５２との間には排気弁５５が設けられ、凍結真空乾燥塔１１とコールドトラップ５３との間には開閉弁５６が設けられている。

[0025]（作用）

本実施例の噴霧式凍結真空乾燥装置１は以上のように構成されているが、次にその作用を説明する。図１を参照して、凍結真空乾燥塔１１の上端部に、原料液Ｌの噴射孔としての口径５０～３５０μｍ（好ましくは、１００～

２５０μｍ、より好ましくは２００μｍ）の細孔１４を有するノズル１２（好ましくは、ディスペンサーノズル）が取り付けられている。原料液供給容器４１には原料液Ｌとして血漿が収納されている。そして回収・秤量室２１内にある自動開閉弁１９を開け、真空排気管５７の開閉弁５６、排気弁５５を開けて、ロータリーポンプ５１とルーツポンプ５２とによって真空排気して、コールドトラップ５３を作動させて、凍結真空乾燥塔１１内の圧力（「槽内圧力」）を１．０～１０Ｐａに維持した。更に、凍結真空乾燥塔１１の底部の収集・加熱機器１５の下面側のジャケット１７には１０℃から３０℃に温度調整された温水を循環させ、移送機１８も図示しない面状ヒーターに通電し３０℃の温度に保った。その時点で、上記以外の弁類はすべて閉じられている。

[0026]（噴霧（噴射）部）

上記の状態から、原料液供給容器４１の窒素ガス配管４４の開閉弁４５を開けて原料液Ｌの上部空間を窒素ガスで置換してから、窒素ガスによって原料液Ｌを加圧し常に０．０１～０．３ＭＰａ（噴霧圧）の供給圧力がかかるようにして、原料液供給配管４２の開閉弁４３を開け、ノズル１２の細孔１４から凍結真空乾燥塔１１内へ噴射させた時、ノズル１２の細孔１４から下方へ原料液Ｌの液柱Ｋが形成され、その液柱Ｋの下端から表面張力により分裂し、原料液Ｌが霧状に発散され、形成された微小原料液粒子Ｒは下方へ落下する。この時のノズル１２の細孔１４内における原料液Ｌの流速（線流速）は、８～１８ｍ／ｓｅｃ（好ましくは、９～１７ｍ／ｓｅｃ、より好ましくは、１０～１６ｍ／ｓｅｃ）の範囲で噴霧される。

[0027]（自己凍結）

そして、形成された微小原料液粒子Ｒは真空下にある凍結真空乾燥塔１１内を落下する途中において水分が蒸発して蒸発潜熱が奪われることにより自己凍結し、乾燥血漿の微小凍結粒子Ｑとなって落下を続け、収集・加熱機器１５の上側の傾斜した捕捉面１５ｓに捕捉される。

[0028]（一次乾燥）

この乾燥血漿の微小凍結粒子Ｑは収集・加熱機器１５の捕捉面１５ｓで加温され、含まれている氷が昇華して乾燥されると共に、傾斜面を滑落して底部の開口１６から下方の移送機１８上へ落下する。

[0029]（二次乾燥）

開口１６から落下した乾燥血漿の微小凍結粒子Ｑは移送機１８によって図１において左方へ搬送されると共に図示しない面状ヒーターによって加熱され、移送機１８の下流端部では乾燥された血漿の微粉末Ｐが得られる。

[0030]（容器）

そして、移送機１８の下流端から排出される微粉末Ｐは垂下路１１Ｆを経由して、回収・秤量室２１内の容器２２に収納され秤量された。そして秤量値が所定の値に達すると、自動開閉弁１９を閉じ、仕切弁２９を開けて容器２２を封栓取出室３１へ搬出すると共に、交換に新しい容器２２を回収・秤量室２１の所定位置へ搬入してから仕切弁２９を閉じ、自動開閉弁１９を開けて血漿の微粉末Ｐの収納が再開される。

[0031]（封止）

他方、封栓・取出室３１へ搬出された血漿の微粉末Ｐを収納している容器２２は打栓機３２によって栓２３を打栓した後、仕切弁３９を開けて大気側へ搬出したが、それと交換に新しい容器２２を搬入してから仕切弁３９を閉じて真空排気し、回収・秤量室２１と同等の真空度とされる。回収・秤量室２１と封栓・取出室３１とにおいて上記の作用が繰り返される。

[0032]（装置の変形例）

以上基本となる凍結真空乾燥装置を用いる本乾燥血漿の製造について説明したが、より短時間で凍結乾燥が行え、コストの低減を可能とするため、例えば、収集・加熱機器１５を変形させて、下部を非直線状（例えば、渦巻状）の通路にし、通路を加温する形状としてもよい。このような凍結真空乾燥方法によれば、原料液が非直線状の通路内で加熱部によって短時間で凍結真空乾燥され、乾燥粒子が捕集部に捕集される。この態様の凍結真空乾燥装置では、装置が小型となり、大型の排気機構を要さず、低コスト化が可能とな

る。

実施例

[0033] 以下、本発明を実施例、比較例を用いて具体的に説明する。但し、本発明の具体的な構成は以下の実施形態に限定されるものではなく、本発明の趣旨を逸脱しない範囲で適宜変更して実施する態様も本発明の範囲内に包含される。

（原料の調製）

実施例、比較例における乾燥血漿の調製においては、新鮮凍結血漿（ＦＦＰ）を融解して血漿（以下、「ＦＦＰプール液」とも表記する）とし、さらにＳ／Ｄ処理、デブスフィルターろ過した血漿が原料（ＳＤ　Ｐｌａｓｍａ原薬；以下「ＳＤＰ」とも表記する」）として使用された。詳細は以下の通りである。

新鮮凍結血漿（ＦＦＰ）を融解して血漿をプールして、ＦＦＰプール液とした。ＦＦＰプール液をフィルトレーションろ過して細胞片およびデブリを除去した。この液に、有機溶剤（Ｓｏｌｖｅｎｔ／Ｄｅｔｅｒｇｅｎｔ）であるＴＮＢＰ（終濃度１％）及びＴｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００（終濃度１％）を添加して、３０℃、１時間撹拌してウイルス不活化処理（「Ｓ／Ｄ処理」）を行った。Ｓ／Ｄ処理後の液に大豆油あるいはヒマシ油によるオイル抽出を行い、ＴＮＢＰを上層のオイル層に移行し、下層の水層を回収し、この液をフィルトレーションろ過した。Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００は逆相クロマトグラフィーで汎用されているオクタデシル基化学結合型（Ｃ１８）のＯＤＳカラムに吸着させることで除去が可能である。フィルトレーションろ過後液をＯＤＳカラムに通液してＴｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００を除去した。カラム通過液を回収し、除菌フィルターろ過を行い、これを原料（ＳＤ　Ｐｌａｓｍａ原薬；「ＳＤＰ」）として使用された。

[0034] 実施例１～２：本発明の粉末乾燥血漿の製造条件の検討

実施例１：ノズル口径の最適化

凍結真空乾燥装置１（株式会社アルバックのμＰＤ４００、Ｙ０１０-０７

７７、ＵＬＶＡＣ）において、３種類のノズル口径１００μｍ、２００μｍ、３００μｍ）のストレートノズルを用いて、ＳＤＰから、乾燥血漿を調製した（実施例１（１）～１（３））。図２にストレートノズルの具体的な形態を記載する。図示されたノズルの口径は２００μｍであるが、当業者であれば他の口径のものも適宜入手可能であり、市販品を用いることもできる。

上記の検討条件を表１に示す。

各検討条件で調製された乾燥血漿の粉体の粒子の分散性を表２に示す。なお、粒子の分布は、以下に記載のレーザー回折散乱式粒度分布測定法を用いて乾式で測定した。

（測定法）ＪＩＳＺ８８２５：レーザー回折散乱式粒度分布測定法（乾式）

（装置名）マイクロトラックＭＴ３１００（ＮＩＫＫＩＳＯ）

（分析条件）

測定回数：１回

測定時間：１０秒

粒子透過性：透過

粒子屈折率：１．８１

粒子形状：非球形

溶媒名：空気

溶媒屈折率：１．００

測定範囲：０．６８７～９９５．６ μｍ

[0035]

[表1]

			実施例１（１）	実施例１（２）	実施例１（３）
原料の仕込み量			604.35g (590mL)	604.43g (590mL)	887.27g (866mL)
噴射ノズル			ストレートノズル		
ノズル口径			100μm	200μm	300μm
噴射条件	噴射圧		0.2MPa	0.2MPa	0.2MPa
	噴射時棚温度		-45℃	-45℃	-45℃
	噴射時槽内圧力		100Pa	100Pa	6-7Pa
乾燥条件	初期乾燥	乾燥時棚温度	-20℃	-20℃	-20℃
		乾燥時槽内圧力	10Pa	10Pa	10Pa
		乾燥時間	1時間	1時間	1時間
	1次乾燥	乾燥時棚温度	0℃	0℃	0℃
		乾燥時槽内圧力	10Pa	10Pa	10Pa
		乾燥時間	17時間	14時間	14時間
	2次乾燥	乾燥時棚温度	20℃	20℃	20℃
		乾燥時槽内圧力	1.0Pa	1.3Pa	1.0Pa
		乾燥時間	4時間	5時間	4時間

[0036]

[表2]

	ノズル口径	粒子径の累積データ［μm］			粒子の分散性			ノズル形状
		D10	D50	D90	(d90-d10)/d50	d90/d50	d10/d50	
実施例1（1）	100μm	153.3	221.6	319.5	0.75	1.44	0.69	ストレート
実施例1（2）	200μm	158.9	296.9	385.5	0.76	1.30	0.54	
実施例1（3）	300μm	211.4	368.6	547.8	0.91	1.49	0.57	

[0037] 本検討結果の概要は以下の通りである。

ノズル口径１００μｍでは未凍結塊は微量生じたが、噴霧途中でノズルが詰まり全量粉体化することが出来なかった。ノズル口径２００μｍおよび３００μｍでは粉体化は可能であったが、粉体の回収トレーに未凍結塊が形成されていた。

回収した乾燥血漿は、ノズル口径より１００μｍ程度大きい粒子サイズであった。１００、２００、３００μｍの全ての口径において、粒子分散性の指標値（Ｄ９０－Ｄ１０）／Ｄ５０は１．０以下であり粒子均質性が高い優れた粒子が得られたが、中でも、血漿粉体化には、ノズル口径２００μｍのノズルが特に適していることが明らかとなった。

以上より、目的とする乾燥血漿を調製のためには、ノズルの口径としては、５０～３５０μｍが好ましく、１００～２５０μｍがより好ましいことが明らかとなった。使用する血漿の状態（例えば、粘度）や他の製法条件との兼ね合いを考慮して、当業者であれば適宜ノズルの口径を選択できる。

[0038] 実施例２：ノズル形状並びに装置パラメーターの最適化

［要旨］

好適な乾燥血漿の調製のため、凍結真空乾燥装置に適用されるノズルの形状、並びに各種装置パラメーター（噴霧時の噴霧圧、線流速、乾燥時槽内圧

力）の最適化を検討した。具体的には、凍結真空乾燥装置１において、３種類の形状の噴霧ノズル（ディスペンサーノズル、ストレートノズル、テーパーノズル；各ノズルの具体的な形態を図２に示す；図示されたノズルの口径は２００μｍであるが、当業者であれば他の口径のものも適宜入手可能であり、市販品の使用も可能である。）を適用するとともに、それぞれの場合において、装置パラメーター（噴霧時の噴霧圧、乾燥時槽内圧力、線流速）を調節して、乾燥血漿の調製を行った（実施例２（１）～２（９））。そして、以上で調製した各乾燥血漿のそれぞれについて、粉体特性（粒度分布、粗大粒子含有率）、並びに再構成後の血漿溶液の品質評価を行った。

未凍結塊の形成抑制および血液凝固活性維持の双方で最も適したノズルはディスペンサーノズルであった。噴霧条件については、噴霧時の噴霧圧０．０５～０．０７５ＭＰａ（線流速１０～１４ｍ／ｓｅｃ）の範囲で噴射を行うことで粗大粒子形成が抑制され、活性回収率が高いとの結果が得られた。

[0039] ［検討の詳細］

（１）乾燥血漿の調製

各実施例での乾燥血漿の調製条件の詳細を表３に示す。なお、実施例２（５）は、（４）の、実施例２（７）は（６）の、それぞれ再試験であり、ＳＤＰのロットが異なっている。

[0040]

[表3]

噴霧乾燥条件	原料の仕込み量			SDP 99mL			SDP 99mL			SDP 100mL		
	噴射ノズルの形状			ディスペンサーノズル			ストレートノズル			テーパーノズル		
	ノズル口径			200 μm			200 μm			200 μm		
	装置条件 実施例2			(1)	(2)	(3)	(4) (5)	(6) (7)	(8)	(9)	(10)	(11)
	噴射条件	噴射圧（MPa）		0.1	0.075	0.05	0.1	0.075	0.05	0.1	0.075	0.05
		噴射時棚温度（℃）		-45	-45	-45	-45	-45	-45	-45	-45	-45
		噴射時槽内圧力(Pa)		2.0	2.1	1.7	2.5	2.4	2.2	1.9	1.9	1.6
		線流速(m/sec)		15.39	14.09	10.86	15.12	14.55	13.49	15.52	14.59	12.99
	乾燥条件	初期乾燥	乾燥時棚温度（℃）	-45	-45	-45	-45	-45	-45	-45	-45	-45
			乾燥時槽内圧力(Pa)	2.0	2.1	1.7	2.5	2.4	2.2	1.9	1.9	1.6
			乾燥時間(hr)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
		1次乾燥	乾燥時棚温度（℃）	30	0	15	15	30	0	0	15	30
			乾燥時槽内圧力(Pa)	50	5	10	5	10	50	10	50	5
			乾燥時間(min)	170	175	180	166	170	215	253	160	135
		2次乾燥	乾燥時棚温度（℃）	30	30	30	30	30	30	30	30	30
			乾燥時槽内圧力(Pa)	10	10	10	10	10	10	10	10	10
			乾燥時間(hr)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

[0041] （２）調製された乾燥血漿の粉体特性の評価

１）粒度分布

各実施例で調製された乾燥血漿の粒度分布を、実施例１と同様にしてＪＩＳＺ８８２５：レーザー回折散乱式粒度分布測定法を用いて乾式で測定した。結果を表４に示す。

[0042]

[表4]

ノズル形状	実施例2	噴霧圧[MPa]	線流速[m/sec]	粒子径の累積データ[μm]			粒子の分散性		
				10%径D10	50%径D50	90%径D90	(D90-D10)/D50	D90/D50	D10/D50
ディスペンサー	(1)	0.100	15.39	12.03	234.6	337.5	1.39	1.44	0.05
	(2)	0.075	14.09	35.29	308.1	529.0	1.60	1.72	0.11
	(3)	0.050	10.86	39.90	319.6	496.3	1.43	1.55	0.12
ストレート	(4)	0.100	15.12	20.34	266.6	483.6	1.74	1.81	0.08
	(5)	0.100	14.95	20.91	264.5	464.3	1.68	1.76	0.08
	(6)	0.075	15.83	19.59	279.7	490.4	1.68	1.75	0.07
	(7)	0.075	14.55	12.37	266.6	481.4	1.76	1.81	0.05
	(8)	0.050	13.49	13.18	221.9	477.6	2.09	2.15	0.06
テーパー	(9)	0.100	15.52	20.29	285.0	456.2	1.53	1.60	0.07
	(10)	0.075	14.59	27.84	270.8	425.5	1.47	1.57	0.10
	(11)	0.050	12.99	27.07	308.4	517.0	1.59	1.68	0.09

[0043] 乾燥血漿の粒子の分散性を（Ｄ９０－Ｄ１０）／Ｄ５０で評価した。一般的に、（Ｄ９０－Ｄ１０）／Ｄ５０が１．０付近であるとＤ５０粒子径の標準偏差が小さくなり、粒子径の均質性（単一分散性）が高くなる。（Ｄ９０－Ｄ１０）／Ｄ５０の値が大きい程、Ｄ５０粒子径の標準偏差の幅が大きくなり、不均一な粒子となる。

従来型のストレートノズルに対してディスペンサーノズルおよびテーパー

ノ

ズルは、（Ｄ９０－Ｄ１０）／Ｄ５０の値が小さく、単一分散性が高かった。最も粒子均質性が良いノズルは、ディスペンサーノズルであった。

[0044] ２）粗大粒子含有率

各実施例で調製された乾燥血漿を、メッシュ（１０００、５００、３００μｍ目開き）を用いた篩分け試験に付し、乾燥血漿の分級後のメッシュに残留した粉体重量を測定して、粉体全重量（ｇ）における残留粉体重量（ｇ）を百分率で求め、各メッシュの目開き（μｍ）に対する残留粉体重量（％）の粒度分布を作成し（表５を参照）、各実施例での乾燥血漿における１００００μｍ以上の粗大粒子含有率を求めた。

[0045] [表5]

実施例２	ノズル形状	噴霧圧(MPa)	線流速(m/sec)	1000≦x[μm]	500≦x<1000[μm]	300≦x<500[μm]
				重量(%)	重量(%)	重量(%)
(1)	ディスペンサー	0.100	15.39	14.9	16.4	54.5
(2)		0.075	14.09	9.2	14.6	65.8
(3)		0.050	10.86	0.0	11.6	74.7
(4)	ストレート	0.100	15.12	11.0	20.0	54.1
(5)		0.100	14.95	25.0	25.7	42.3
(6)		0.075	15.83	7.4	18.0	61.4
(7)		0.075	14.55	5.4	15.1	62.6
(8)		0.050	13.49	3.1	6.8	59.9
(9)	テーパー	0.100	15.52	11.0	20.0	54.1
(10)		0.075	14.59	25.0	25.7	42.3
(11)		0.050	12.99	7.4	18.0	61.4

[0046] ３ノズルに共通して、１０００μｍ以上の粗大粒子は線流速を下げることで低減できた。

ディスペンサーノズルは、線流速と粗大粒子含有率（１０００≦ｘ，５００≦ｘ＜１０００［μｍ］）において正の相関性が認められた。線流速を下げることで粗大粒子を低減することができた。

１０００μｍ以上の粗大粒子が形成されにくいノズルは、ディスペンサーノズルであった。噴霧圧０．０５ＭＰａ（線流速１０．８６ｍ／ｓｅｃ）が粗大粒子が最も少ない条件であった。ディスペンサーノズルでは、ノズル孔周辺のノズル材料面積が微小なため、噴霧溶液が付着できず、粗大粒子が生成し難くなると考えられる。

[0047] （３）調製された乾燥血漿の品質の評価

１）血液凝固因子活性並びに活性回収率

（血漿の再構成）

各実施例で調製された乾燥血漿の血液凝固因子活性並びに活性回収率の評価のため、各乾燥血漿を専用の再構成液（２０ｍｍｏｌ／Ｌグリシン、ｐＨ２．４）を用いて、手で揺らす程度の攪拌下で、乾燥血漿を室温条件下で重量比１０ｗ／ｖ％で溶解して血漿溶液（「再構成血漿」）とした。

（評価）

調製された血漿溶液を用いて、各実施例で調製された乾燥血漿の血液凝固因子活性並びに活性回収率を評価した。活性回収率は、ＦＦＰでの血液凝固因子活性と対比して検討した。

以下に血液凝固因子活性の評価における測定項目とその測定方法の概要を示す。なお、活性回収率の評価方法は、後記の実施例３に記載の方法に従った。

[0048] （測定項目）

活性化部分トロンボプラスチン時間（ＡＰＴＴ）、プロトロンビン時間（ＰＴ），Ｆｉｂｒｉｎｏｇｅｎ活性（ｍｇ／ｄＬ）、Ｆａｃｔｏｒ　ＶＩＩ活性（ＩＵ／ｍＬ）、Ｆａｃｔｏｒ　Ｖ活性（ＩＵ／ｍＬ）、Ｆａｃｔｏｒ　ＸＩ活性（ＩＵ／ｍＬ）、

（測定方法：凝固時間法）

各評価項目に応じて、常法により行われた。

[0049] （評価項目）

Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｃ活性（ＩＵ／ｍＬ）、α２－ａｎｔｉｐｌａｓｍｉｎ活

性（ＩＵ／ｍＬ）、

（測定方法：合成基質法）

各評価項目に応じて、常法により行われた。

[0050]（評価項目）

ｖＷＦリストセチン活性（ｖＷＦ：Ｒｃｏ）（ＩＵ／ｍＬ）

（測定方法：血小板凝集法）

シスメック社の自動凝固測定装置ＣＳ２４００および装置の専用試薬を用いて血漿溶液の血液凝固因子の凝固活性を測定した。

（装置）自動凝固測定装置ＣＳ２４００（Ｓｙｓｍｅｘ）

（標準品）血液凝固試験用標準ヒト血漿（ＳＩＥＭＥＮＳ／Ｓｙｓｍｅｘ）

（希釈バッファー）１％ＢＳＡ含有オーレンベロナールバッファー

（試薬・材料）

・オーレンベロナール緩衝液（バルビタールナトリウム２８ｍｍｏｌ／Ｌ、塩化ナトリウム１２５ｍｍｏｌ／Ｌ、ｐＨ７．３５）（Ｓｙｓｍｅｘ）

・血液凝固試験用標準ヒト血漿（ＳＩＥＭＥＮＳ／Ｓｙｓｍｅｘ）

・０．０２ｍｏｌ／Ｌ塩化カルシウム溶液（Ｓｙｓｍｅｘ）

・トロンボチェックＡＰＴＴ（ウサギ脳由来セファリン、エラグ酸含有）（Ｓｙｓｍｅｘ）

・トロンボチェックＰＴ（ウサギ脳由来トロンボプラスチン、乳酸カルシウムを含む凍結乾燥品）（Ｓｙｓｍｅｘ）

・トロンボチェックＦｉｂ（トロンビン試薬）（Ｓｙｓｍｅｘ）

・ＢＣフォンビレブランド試薬（Ｓｙｓｍｅｘ）

・トロンボチェックＦａｃｔｏｒ　ＶＩＩＩ（第ＶＩＩＩ因子欠乏血漿）（Ｓｙｓｍｅｘ）

・トロンボチェックＦａｃｔｏｒ　Ｖ（第Ｖ因子欠乏血漿）（Ｓｙｓｍｅｘ）

・トロンボチェックＦａｃｔｏｒ　ＸＩ（第ＸＩ因子欠乏血漿）（Ｓｙｓｍｅｘ）

・ベリクローム　プロテインＣ（Ｓｙｓｍｅｘ）

（キットの構成）

プロテインＣアクチベータ、基質試薬、緩衝液

・ベリクロームα_2－アンチプラスミン（Ｓｙｓｍｅｘ）

（キットの構成）

プラスミン試薬、基質試薬、緩衝液

[0051]（測定項目）

ｖＷＦ抗原量（ｖＷＦ：Ａｇ）

（測定方法：サンドウィッチＥＬＩＳＡ法）

（標準品）血液凝固試験用標準ヒト血漿（ＳＩＥＭＥＮＳ／Ｓｙｓｍｅｘ）

（固相化抗体）Ｐｏｌｙｃｌｏｎａｌ　Ｒａｂｂｉｔ　Ａｎｔｉ－Ｈｕｍａｎ　ｖｏｎ　Ｗｉｌｌｅｂｒａｎｄ　Ｆａｃｔｏｒ　ａｎｔｉｂｏｄｙ（ａｂｃａｍ）

（検出抗体）Ｐｏｌｙｃｌｏｎａｌ　Ｒａｂｂｉｔ　Ａｎｔｉ－Ｈｕｍａｎ　ｖｏｎ　Ｗｉｌｌｅｂｒａｎｄ　Ｆａｃｔｏｒ　ａｎｔｉｂｏｄｙ／ＨＲＰ（Ｄａｋｏ）

（試験方法）

固相化抗体溶液であるＰｏｌｙｃｌｏｎａｌ　Ｒａｂｂｉｔ　Ａｎｔｉ－Ｈｕｍａｎ　ｖｏｎ　Ｗｉｌｌｅｂｒａｎｄ　Ｆａｃｔｏｒ　ａｎｔｉｂｏｄｙ（ａｂｃａｍ）２５ｎｇ／ｍＬを９６穴マイクロプレートに１００μＬ／ｗｅｌｌ入れて、４℃で一晩静置した。プレートを洗浄後、ブロッキングを行い、４℃で一晩静置した。プレートを洗浄後、ｖＷＦ標準溶液および希釈した試料溶液をマイクロプレートのウェルに１００μＬ入れて、室温で１時間反応させた。プレートを洗浄後、検出抗体Ｐｏｌｙｃｌｏｎａｌ　Ｒａｂｂｉｔ　Ａｎｔｉ－Ｈｕｍａｎ　ｖｏｎ　Ｗｉｌｌｅｂｒａｎｄ　Ｆａｃｔｏｒ　ａｎｔｉｂｏｄｙ／ＨＲＰ（Ｄａｋｏ）０．２μｇ／ｍＬを１００μＬ／ｗｅｌｌ入れて、室温で１時間反応させた。プレート洗浄後、発色液ＴＭＢ　Ｓｕｂｓｔｒａｔｅ　ｓｏｌｕｔｉｏｎを１００μＬ／ｗｅｌｌ加

えて、遮光して室温で３０分間静置し、反応停止液（１ｍｏｌ／Ｌ硫酸）を１００μＬ／ｗｅｌｌ加えて反応を停止した。反応停止後、マイクロプレートリーダーで主波長４５０ｎｍ／副波長５７０ｎｍにおける吸光度を測定し、４－Ｐａｒａｍｅｔｅｒ　Ｌｏｇｉｓｔｉｃ　ｍｏｄｅｌによりｖＷＦ抗原量（ＩＵ／ｍＬ）を求めた。

（回帰式）Ｙ＝Ｄ＋（Ａ-Ｄ）／｛１＋（Ｘ／Ｃ）Ｂ｝

Ｘ：ｖＷＦ抗原量（ＩＵ／ｍＬ）

Ｙ：レスポンス（Ａｂｓ．４５０ｎｍ／５７０ｎｍ）

Ａ：ｖＷＦ抗原量０でのレスポンス（Ａｂｓ．４５０ｎｍ／５７０ｎｍ）

Ｂ：ＡとＤの中間レスポンス（Ａｂｓ．４５０ｎｍ／５７０ｎｍ）での曲線の傾き（ＥＣ５０：５０％効果濃度）

Ｃ：ＡとＤの中間レスポンス（（Ａ＋Ｄ）／２）（Ａｂｓ．４５０ｎｍ／５７０ｎｍ）のｖＷＦ抗原量

Ｄ：最大ｖＷＦ抗原量でのレスポンス（Ａｂｓ．４５０ｎｍ／５７０ｎｍ）

[0052]（測定項目）

Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓ活性

（測定方法：凝固時間法）

検体中の遊離型プロテインＳが有する活性をプロトロンビン時間法を用いて測定した。試薬は、組織因子、合成リン脂質、塩化カルシウム、活性化プロテインＣを用いて、プロトロンビン時間の延長度合を測定することでプロテインＳ活性を測定した。プロテインＳ活性は、希釈検体にプロテインＳ欠乏血漿を加えることで凝固時間の延長と相関するので、時間的変化を測定し、検体中のプロテインＳ活性（％）求めた。

（測定機器）

血液凝固自動分析装置 ＡＣＬ－ＴＯＰ（インスツルメンテイションラボラトリー社）

（測定試薬）

ヒーモスエイエルＰＳクロット（インスツルメンテイションラボラトリー

社）

ヒーモスアイエル　ファクターダイリューエント（インスツルメンテイションラボラトリー社）

[0053] ａ）評価の結果、粉体化により失活しやすい血液凝固因子（回収率７０％以下）は、Ｆｉｂｒｉｎｏｇｅｎ、Ｆａｃｔｏｒ　ＶＩＩＩ、であった。失活が少ない血液凝固因子（回収率７０％以上）は、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｃ、α２－ａｎｔｉｐｌａｓｍｉｎ、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓ、ＶＷＦ：Ｒｃｏ、であり、３ノズルで共通の傾向が認められた。最も血液凝固因子の失活が少なかったのは、ディスペンサーノズルであった。

血液凝固因子活性に関しては、ディスペンサーノズルを使用した場合には、線流速と活性回収率との間に負の相関が認められ、噴霧圧を下げ、線流速を低く設定することにより粉体化時の失活を抑制できることが分かった。

ディスペンサーノズルを使用した場合、噴霧圧０．１ＭＰａ（線流速１５．３９ｍ／ｓｅｃ）では、ｖＷＦの多量体構造（ｖＷＦ　Ｌａｒｇｅ－ｍｕｌｔｉｍｅｒ）に欠損が見られたが、噴霧圧０．０５～０．０７５ＭＰａではｖＷＦの欠損は認められなかった。噴霧圧の制御により、ｖＷＦの多量体構造の欠損を効果的に抑制できることが明らかとなった。

ｂ）ディスペンサーノズルを用いて調製した実施例２（１）～（３）の乾燥血漿についての、血液凝固因子活性の評価結果の詳細を、表６－１に示す。

[0054]

[表6-1]

噴霧圧(MPa)			0.1	0.075	0.05	ディスペンサーノズル 噴霧圧0.05-0.1 MPa	
評価項目	SP規格値	検体	実施例2（1）	実施例2（2）	実施例2（3）		
		Unit	3回測定 Mean	3回測定 Mean	3回測定 Mean	Mean	S.D.
APTT	Not Specified	sec.	56.7	55.6	55.7	56.0	0.6
PT	Not Specified	sec.	10.0	10.1	10.0	10.0	0.1
Fibrinogen	150～400 mg/dL	mg/dL	210.1	206.2	209.2	208.5	2.0
Factor VIII	≥ 0.5 IU/mL	IU/mL	0.626	0.652	0.636	0.638	0.013
Factor V	≥ 0.5 IU/mL	IU/mL	0.873	0.897	0.879	0.883	0.012
Factor XI	≥ 0.5 IU/mL	IU/mL	0.188	0.171	0.162	0.174	0.013
Protein C	≥ 0.7 IU/mL	IU/mL	1.394	1.381	1.385	1.387	0.007
α 2-antiplasmin	≥ 0.2 IU/mL	IU/mL	0.488	0.416	0.510	0.471	0.049
Protein S	(80～120 %)	IU/mL	0.36	0.38	0.37	0.37	0.01
vWF：RCo	Not Specified	IU/mL	1.0602	0.9289	0.9976	0.996	0.066
vWF：Ag	Not Specified	IU/mL	1.292	1.011	1.270	1.191	0.156

[0055] 「上記表中のフィブリノゲンの規格値」は、ＳＤ処理血漿製剤の「Ｏｃｔａｐｌａｓ ＬＧ（登録商標）」（Ｏｃｔａｐｈａｒｍａ）の規格値を参考にした。

実施例２での以上の検討の結果、目的とする乾燥血漿の調製のためには、ディスペンサーノズルをノズルとして使用することが好ましいことが明らかとなった。

[0056] ｃ）ディスペンサーノズルを用いて調製した実施例２（１）～（３）の乾燥血漿についての、粒子分散性（Ｄ９０－Ｄ１０）／Ｄ５０とＦｉｂｒｉｎｏｇｅｎ活性との相関性を、表６－２に示す。（Ｄ９０－Ｄ１０）/Ｄ５０の値が低く、粒子均質性が高い程、Ｆｉｂｒｉｎｏｇｅｎ活性が向上することが明らかとなった。

[0057]

[表6-2]

噴霧圧力(MPa)	0.1	0.075	0.05	噴霧圧0.05-0.1 MPaの範囲における平均値および標準偏差	
検体名	実施例２(1)	実施例２(2)	実施例２(3)	Mean	S.D.
(D90-D10)/D50	1.39	1.60	1.43	1.47	0.11
Fibrinogen (mg/dL)	210.1	206.2	209.2	208.5	2.0

[0058] 実施例３：本発明の乾燥血漿の物理化学的性質と生物活性

［要旨］

１）ＳＤＰ３ロットを原料に用いて、凍結真空乾燥装置１を用いて乾燥血漿を６ロット調製し（以下、調製された血漿を「乾燥血漿」と表記する）、再現性を確認した。

２）粉体特性および品質のロット間の再現性は良好であり、安定した「乾燥血漿」の製造が可能であることが示された。

３）「乾燥血漿」の粒子径は，Ｄ５０：３６２．８±１１．７μｍ（６Ｌｏｔ）であり、ノズル口径φ２００μｍで調製した「乾燥血漿」はノズル口径より１６０μｍ程度大きな粒子であった。粒子分散性は、（Ｄ９０－Ｄ１０）／Ｄ５０：０．３７±０．０４であり、単一分散性が高い均質な粉体であった。含水率は３％以下であった。

４）１０００μｍ以上の粗大粒子の含有率は、６．３±５．３％（６Ｌｏｔ）であり、粗大粒子含有率が高いと蛋白回収率が低下する傾向が見られた。

５）「乾燥血漿」の再構成時間は、全ロットで３分以内であった。

６）粗大粒子は、再構成時間および溶解後の血漿溶液における凝固因子活性には影響を及ぼさなかった。

７）血漿原料として用いたＳＤＰは、血液凝固因子ＦＶＩＩＩ、ＦＶ、ＦＸＩ、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｃ、α２－ａｎｔｉｐｌａｓｍｉｎの活性の規格値がＥｕｒｏｐｅａｎ Ｐｈａｒｍａｃｏｐｏｅｉａ（ＥＰ） １０．０“Ｈｕｍａｎ Ｐｌａｓｍａ （Ｐｏｏｌｅｄ ａｎｄ Ｔｒｅａｔｅｄ Ｆｏｒ

Ｖｉｒｕｓ　Ｉｎａｃｔｉｖａｔｉｏｎ（０１／２０２０：１６４６）”で定められている。「乾燥血漿」の再構成後の血漿溶液におけるＦＶＩＩＩ、ＦＶ、ＦＸＩ、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｃ、α２－ａｎｔｉｐｌａｓｍｉｎの各活性は、ＥＰ規格値に全て適合していた。

８）「乾燥血漿」の再構成後の血漿溶液におけるＤＳＣサーモグラムは、ＦＰＰプール液およびＳＤＰにおけるサーモグラムと同様のプロファイルであり、粉体化による変性は認められなかった。

９）ＣＡＴシステムによるトロンビン生成能を評価した結果、ＳＤＰおよび「乾燥血漿」のトロンビン生成速度はＦＦＰよりも早く、トロンビン生成量はＦＦＰよりも増大した。１０）（ｉｎ　ｖｉｔｒｏ薬理試験）ＲＯＴＥＭ測定では、「乾燥血漿」の再構成後の血漿溶液の凝固能はＦＦＰに対して統計学的有意差は認められず、ＦＦＰと同等の薬理活性を維持した優れた乾燥血漿であることが確認された。

[0059] ［検討の詳細］

（１）乾燥血漿の調製

凍結真空乾燥装置１により、表７に示された条件下で、ＳＤＰ（３Ｌｏｔ；ＬｏｔＡ、Ｂ、およびＣ）を使用して、１Ｌｏｔあたり２回粉体化を行い、合計６Ｌｏｔの乾燥血漿を調製した（実施例３Ａ１、３Ａ２、３Ｂ１、３Ｂ２、３Ｃ１、３Ｃ２）。

[0060]

[表7]

噴霧乾燥条件	原料の仕込み量			ＳＤＰ 200 mL
	噴霧ノズル			ディスペンサーノズル（撥水なし）
	ノズル口径			200 μm
	噴射条件	噴霧圧（MPa）		0.05
		噴霧時棚温度（℃）		-45
		噴射時槽内圧力(Pa)		2.3
		線流速(m/sec)		10.86
	乾燥条件	初期乾燥	乾燥時棚温度(℃)	-45
			乾燥時槽内圧力(Pa)	2.3
			乾燥時間（hr）	0.16
		1次乾燥	乾燥時棚温度(℃)	15
			乾燥時槽内圧力(Pa)	10
			乾燥時間（hr）	10
		2次乾燥	乾燥時棚温度(℃)	30
			乾燥時槽内圧力(Pa)	10
			乾燥時間（hr）	0.5

[0061] （２）調製された乾燥血漿の粉体特性の評価

１）粒度分布／粒子分散性

各実施例で調製された乾燥血漿（「実施例血漿」とも表記する）の粒度分布と粒子の分散性を、実施例２の方法と同様にして測定した。その結果を、表８および表９にそれぞれ示す。

[0062]

[表8]

実施例血漿	粒子径			体積平均粒子径	個数平均粒子径	面積平均粒子径
	D10 [μm]	D50 [μm]	D90 [μm]	MV[μm]	MN[μm]	MA[μm]
3A1	289.4	346.6	416.4	350.8	329.2	343.3
3A2	307.6	367.0	432.5	369.2	349.7	362.6
3B1	306.9	362.2	423.6	364.7	348.1	359.0
3B2	283.3	354.1	438.1	357.9	324.7	347.0
3C1	306.0	366.0	432.8	368.4	348.1	361.6
3C2	314.6	380.7	462.4	385.5	360.1	376.8
Mean	301.3	362.8	434.3	366.1	343.3	358.4
S.D.	12.1	11.7	15.8	11.8	13.5	12.0

[0063] [表9]

実施例血漿	粒子の分散性		
	(D90-D10)/D50	D90/D50	D10/D50
3A1	0.37	1.20	0.83
3A2	0.34	1.18	0.84
3B1	0.32	1.17	0.85
3B2	0.44	1.24	0.80
3C1	0.35	1.18	0.84
3C2	0.39	1.21	0.83
Mean	0.37	1.20	0.83
S.D.	0.04	0.03	0.02

[0064] ノズル口径φ２００μｍで調製した実施例血漿の粒子径（Ｍｅａｎ±Ｓ．Ｄ．）は、Ｄ１０：３０１．３±１２．１（μｍ）、Ｄ５０：３６２．８±１１．７（μｍ）、Ｄ９０：４３４．３±１５．８（μｍ）であり、それぞれノズル口径より１６０μｍ程度大きな粒子であった。

粒子の分散性（Ｍｅａｎ±Ｓ．Ｄ．）は、（Ｄ９０－Ｄ１０）／Ｄ５０：０．３７±０．０４であり、単一分散性が高い均質な粉体であった。

[0065] ２）粗大粒子含有率

各実施例血漿における１０００μｍ以上の粗大粒子含有率（重量％）を、表１０に示す。粗大粒子含有率の評価は、実施例２の方法と同様にして行っ

た。

[0066] [表10]

実施例血漿	原料の総蛋白量(A)(mg)	噴霧量(g)	1000μm以上の粗大粒子含有率(%)
3A1	10531.903	200.23	6.3
3A2	10488.771	199.41	0.0
3B1	9423.037	200.22	2.4
3B2	9440.450	200.59	4.3
3C1	9629.616	202.76	14.3
3C2	9625.342	202.67	10.3
		Mean	6.3
		S.D.	5.3
		C.V.(%)	83.89

[0067] ６種の実施例血漿における１０００μｍ以上の粗大粒子含有率（重量%）は、６．３%±５．３%であった。

[0068] （３）調製された乾燥血漿の品質の評価

１）血液凝固因子活性

各実施例で調製された乾燥血漿についての血液凝固因子活性を評価するため、専用の再構成液（２０ｍｍｏｌ／Ｌグリシン、ｐＨ２．４）を用いて乾燥血漿を重量比１０ｗ／ｖ%で溶解して血漿溶液（以下、本実施例において「再構成血漿」とも表記する）とし、実施例２と同様にして、その血液凝固因子活性を評価した。評価結果を、表１１に示す。

[0069]

[表11]

評価項目	EP規格値	実施例血漿							
		3A1	3A2	3B1	3B2	3C1	3C2	Mean (6 Lot)	S.D.
APTT (sec)	Not Specified	45.4	45.7	44.3	44.1	45.0	45.3	45.0	0.7
PT (sec)	Not Specified	11.4	11.4	11.2	11.3	10.7	10.7	11.2	0.4
Fibrinogen (mg/dL)	150～400 mg/dL	234.2	237.9	268.6	261.7	232.4	235.7	245.1	14.9
Factor XI (IU/mL)	≥0.5 IU/mL	0.722	0.685	0.833	0.808	0.641	0.603	0.716	0.092
Factor VIII (IU/mL)	≥0.5 IU/mL	0.652	0.686	0.728	0.723	0.877	0.864	0.755	0.080
Factor V (IU/mL)	≥0.5 IU/mL	0.863	0.860	0.911	0.876	0.898	0.901	0.885	0.019
Protein C (IU/mL)	≥0.7 IU/mL	1.033	1.052	1.149	1.117	1.433	1.440	1.204	0.166
α_2-antiplasmin (IU/mL)	≥0.2 IU/mL	0.514	0.519	0.590	0.677	0.782	0.779	0.644	0.105
Protein S (IU/mL)	80-120%	0.490	0.490	0.560	0.590	0.590	0.590	0.552	0.040
vWF : RCo (IU/mL)	—	0.947	0.949	1.352	1.350	1.324	1.282	1.201	0.155
vWF : Ag (IU/mL)	—	1.118	1.056	1.600	1.693	1.417	1.588	1.412	0.227
vWF:Rco / vWF:Ag	—	0.850	0.914	0.849	0.836	0.935	0.813	0.867	0.048

[0070] 「上記表中のフィブリノゲンの規格値」は、ＳＤ処理血漿製剤の「Ｏｃｔａｐｌａｓ ＬＧ（登録商標）」（Ｏｃｔａｐｈａｒｍａ）の規格値を参考にした。

[0071] 各実施例血漿の血液凝固因子活性は、ＥＰ規格値に全て適合した。

[0072] ２）活性回収率

「ＦＦＰ（新鮮凍結血漿）」に対する「実施例血漿」における各血液凝固因子の活性回収率を算出した。結果を表１２に示す。

活性回収率は、以下に従って算出した。

１）血液凝固因子活性比（ＩＵ／ｍｇ）＝血液凝固因子活性（ＩＵ／ｍＬ　ｏｒ　ｍｇ／ｄＬ）／蛋白質濃度（ｍｇ／ｍＬ）

蛋白質濃度は、ＢＣＡ法を用いて求めた。なお、血漿の主成分であるアルブミンを標準品として用いた。血漿検体は、蛋白質濃度が異なるため、各血液凝固因子活性を蛋白質濃度で割った活性比を用いて活性回収率を求めた。

２）活性回収率（％）＝実施例血漿の血液凝固因子活性比（ＩＵ／ｍｇ）／ＦＦＰの血液凝固因子活性比（ＩＵ／ｍｇ）×１００（ＦＦＰを基準とした活性回収率）

[0073] [表12]

評価項目	実施例血漿（６ロット）の活性回収率	
	Mean±S.D.(%)	C.V.(%)
Fibrinogen	80.9±1.4	1.8
Factor XI	77.5±4.6	6.0
Factor VIII	73.6±2.4	3.3
Factor V	93.0±0.7	0.8
Protein C	94.4±3.3	3.5
Protein S	77.5±4.2	5.5
vWF：RCo	82.9±5.1	6.2
vWF：Ag	85.0±6.1	7.2

[0074] 各実施例血漿では、粉体化後においても、各種の血液凝固因子の活性が維持されていた。特に、血栓塞栓症に関与するＰｒｏｔｅｉｎ　Ｓ、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｃの線溶系凝固因子、高分子量の蛋白質であるＦｉｂｒｉｎｏｇｅｎ、ｖＷＦは高活性を維持した状態で粉体化されていた。

他方、粉体化により最も失活しやすい凝固因子はＦＶＩＩＩであった。

但し、各実施例血漿では、いずれの血液凝固因子活性においても、Ｅｕｒｏｐｅａｎ　Ｐｈａｒｍａｃｏｐｏｅｉａ　１０．０の“Ｈｕｍａｎ　Ｐｌａｓｍａ　（Ｐｏｏｌｅｄ　ａｎｄ　Ｔｒｅａｔｅｄ　Ｆｏｒ　Ｖｉｒｕｓ　Ｉｎａｃｔｉｖａｔｉｏｎ　（０１／２０２０：１６４６）”のＳ／Ｄ

Ｐｌａｓｍａ（凍結製剤）が満たすべき血液凝固活性の規格値に適合するものであった。

[0075] ３）トロンビン生成量

ＦＦＰプール液（３Ｌｏｔ（ＦＦＰ－Ａ～Ｃ））、ＳＤＰ（３Ｌｏｔ（ＳＤＰ－Ａ～Ｃ））、実施例血漿（６Ｌｏｔ）のトロンビン生成量を測定した。トロンビン生成量の測定は、Ｃａｌｉｂｒａｔｅｄ　ａｕｔｏｍａｔｅｄ　ｔｈｒｏｍｂｏｇｒａｍ（ＣＡＴ）システムにより行った。ＣＡＴシステムによるＴｈｒｏｍｂｉｎ　Ｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ　Ａｓｓａｙ（ＴＧＡ）の概略図を図３に示す。実施例血漿の評価は、再構成血漿を用いて行った。

（ＴＧＡ法の概要）

トロンビン（血液凝固第ＩＩａ因子）は内因系および外因系凝固カスケードの中でフィブリノゲンをフィブリンに変換する酵素である。トロンビンは、フィブリノゲン以外にも血液凝固第Ｖ、ＶＩＩＩ、ＸＩ、ＸＩＩＩ因子を限定分解、活性化する役割、およびプロテインＣを活性化する役割がある。さらに、トロンビンは血小板、白血球や血管内皮細胞も活性化し、血栓止血機構において重要な凝固因子である。

臨床では、出血時には凝固因子と出血の関係性を把握するため内因系凝固因子を反映する活性化部分トロンボプラスチン時間（ＡＰＴＴ）および外因系凝固因子を反映するプロトロンビン時間（ＰＴ）を凝固時間で測定するが、トロンビンが最終トロンビン量の５％程度の生成量におけるクロット形成のみを測定しているため、全体的なトロンビン生成量を反映しておらず、包括的な凝固亢進状態を測定できないという問題点があった。この問題点を解決するため、血液凝固反応（亢進・低下）の全体像を把握することが可能であるトロンビン生成量測定（Ｔｈｒｏｍｂｉｎ　Ｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ　Ａｓｓａｙ：ＴＧＡ法）が用いられている。

出血部位では、凝固初期（ｉｎｉｔｉａｔｉｏｎとも言う）では、組織因子（Ｔｉｓｓｕｅ　Ｆａｃｔｏｒ：ＴＦ）が血液凝固第ＶＩＩａ因子と複合体を形成し、血液凝固第ＩＸ因子および第Ｘ因子が活性化され、微量のトロ

ンビンが生成される。このトロンビンにより血液凝固第ＶＩＩＩ因子、第Ｖ因子が血小板を活性化し、活性化血小板上では血液凝固因子の活性化が生じることで、トロンビン生成反応は増大する（ｐｒｏｐａｇａｔｉｏｎとも言う）。この血小板依存性のトロンビン増産（トロンビンバーストとも言う）は、線溶抵抗性の安定したフィブリン形成に必要である。トロンビンバーストは、トロンビン生成における経時的なトロンビン濃度プロファイルをもとに、総トロンビン生成量とトロンビン生成の時間に関するデータが取得できるため、凝固異常症などの臨床の病態の評価にも用いられている。ＴＧＡ法ではトロンビン生成のパラメーターとして、図３に示すトロンボグラムからＬａｇ　Ｔｉｍｅ（トロンビン生成が開始するまでの時間（ｍｉｎ））、ＥＴＰ（総トロンビン生成量（ｎｍｏｌ／Ｌ×ｍｉｎ））、Ｐｅａｋ　Ｔｈｒｏｍｂｉｎ（最大トロンビン生成量（ｎｍｏｌ／Ｌ））、Ｔｉｍｅ　ｔｏ　Ｐｅａｋ（ｔｔＰｅａｋ）（トロンビン生成最大値までの時間（ｍｉｎ））を求める。Ｌａｇ　Ｔｉｍｅは凝固初期（ｉｎｉｔｉａｔｉｏｎ）の相にあたる。また、Ｐｅａｋ　Ｔｈｒｏｍｂｉｎはトロンビンバーストを反映している。Ｔｉｍｅ　ｔｏ　Ｐｅａｋはフィブリン形成までの凝固前相を反映している。フィブリノゲンをフィブリンに変換するフリーのトロンビンは、トロンビン生成最大値に到達する時間（ｔｔＰｅａｋ）を経過した後、抑制されてベースラインに戻る。これらのパラメーター評価により止血効果を推察することができる。

たとえば、正常血漿をＴＧＡ法で測定した場合、Ｌａｇ　Ｔｉｍｅ　２～４．３３（ｍｉｎ）、ＥＴＰ　６９４．５０～２６２５．６７（ｎｍｏｌ／Ｌ×ｍｉｎ）、Ｐｅａｋ　Ｔｈｒｏｍｂｉｎ　１０９．２９～５４５．７６（ｎｍｏｌ／Ｌ）、ｔｔＰｅａｋ　３．８９～８．５０（ｍｉｎ）であることが報告されている（参考文献：ＯｍｉｄＲ．Ｚｅｋａｖａｔ．　ｅｔ　ａｌ．Ｃｌｉｎｉｃａｌ　ａｎｄ　Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｔｈｒｏｍｂｏｓｉｓ／Ｈｅｍｏｓｔａｓｉｓ．２０１３．００（０）１－８．）。一方、血液凝固第ＶＩＩＩ因子、第Ｖ因子、第Ｘ因子、第ＩＸ因子の活性低下に伴い、ＥＴ

ＰおよびＰｅａｋ　Ｔｈｒｏｍｂｉｎが低下することが報告されており、出血傾向の病態を呈することがある（参考文献：Ｅｌｅｎａ　Ｚａｖｙａｌｏｖａ．ｅｔ　ａｌ，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　ａｎｄ　Ｂｉｏｐｈｙｓｉｃｓ　Ｒｅｐｏｒｔｓ（２０１６）５：１１１－１１９．）。また、Ｐｅａｋ　Ｔｈｒｏｍｂｉｎが正常血漿よりも低いとトロンビン依存性の抗線溶因子であるｔｈｒｏｍｂｉｎ－ａｃｔｉｖａｔａｂｌｅ　ｆｉｂｒｉｎｏｌｙｓｉｓ　ｉｎｈｉｂｉｔｏｒ（ＴＡＦＩ）が活性化されず線溶を受けやすい不安定なフィブリンが形成される。ＥＴＰに示される総トロンビン量が変わらなくてもＰｅａｋ　Ｔｈｒｏｍｂｉｎが低いと、血漿は線溶を受けやすく止血機能が不十分な状態である可能性がある。

さらに、Ｐｅａｋ　Ｔｈｒｏｍｂｉｎ、Ｔｉｍｅ　ｔｏ　Ｐｅａｋ（ｔｔＰｅａｋ）が正常血漿よりも亢進している場合、血栓傾向を反映していることがある。たとえば、静脈血栓症（ｖｅｎｏｕｓ　ｔｈｒｏｍｂｏｅｍｂｏｌｉｓｍ：ＶＴＥ）の患者血漿のトロンビン生成量をＴＧＡ法で測定した場合、Ｐｅａｋ　Ｔｈｒｏｍｂｉｎは５００ｎｍｏｌ／Ｌ付近であり正常血漿よりも有意に高いことが報告されている（参考文献：Ｈｒｏｎ　Ｇ．ｅｔ　ａｌ，ＪＡＭＡ（２００６）：２９６：３９７－４０２）。

このように、ＴＧＡ法でトロンビン生成測定を行うことでトロンビンバーストによる止血能が低下した状態であるか、あるいは、血栓傾向であるかを評価することが可能となる。

[0076] ＜トロンビン生成量測定方法＞

（装置）Ｃａｌｉｂｒａｔｅｄ　ａｕｔｏｍａｔｅｄ　ｔｈｒｏｍｂｏｇｒａｍ（ＣＡＴ）ｓｙｓｔｅｍ（ＦｉｎｇｇａｌＬｉｎｋ）

（測定の概要）

ＴＧＡ法ではクエン酸添加血漿に組織因子（Ｔｉｓｓｕｅ　Ｆａｃｔｏｒ：ＴＦ）及び塩化カルシウム、リン脂質を加えて生じたトロンビンを合成基質法で測定する方法である。測定試薬は、組織因子試薬であるＰＰＰ　Ｌｏｗ（ＴＦ濃度１ｐｍｏｌ／Ｌ）および塩化カルシウム、リン脂質を用いて、

これらの試薬を血漿検体に加え、経時的な蛍光強度測定を行い、トロンボグラムからＬａｇ　Ｔｉｍｅ（トロンビン生成が開始するまでの時間（ｍｉｎ））、ＥＴＰ（（総トロンビン量（ｎｍｏｌ／Ｌ×ｍｉｎ））、Ｐｅａｋ　Ｔｈｒｏｍｂｉｎ（最大トロンビン生成量（ｎｍｏｌ／Ｌ））、Ｔｉｍｅ　ｔｏ　Ｐｅａｋ（ｔｔＰｅａｋ）（トロンビン生成最大値までの時間（ｍｉｎ））を求める。

（試薬・材料）

・Ｔｈｒｏｍｂｉｎ　Ｃａｌｉｂｒａｔｏｒ（Ｔｈｒｏｍｂｉｎｏｓｃｏｐｅ）

・ＰＰＰ－Ｒｅａｇｅｎｔ　Ｌｏｗ（Ｔｈｒｏｍｂｉｎｏｓｃｏｐｅ）

（ＴＦ濃度１ｐｍｏｌ／Ｌおよび塩化カルシウム、リン脂質を含む）

・Ｆｌｕｋａ－Ｋｉｔ（Ｔｈｒｏｍｂｉｎｏｓｃｏｐｅ）

（Ｆｌｕｋａ－Ｒｅａｇｅｎｔは、Ｆｌｕｏ－Ｂｕｆｆｅｒ　１バイアルにＦｌｕｏ－Ｓｕｂｓｔｒａｔｅ　４０μＬを添加して調製する）

（測定方法）

９６穴マイクロプレートにＰＰＰ－Ｒｅａｇｅｎｔ　ＬｏｗまたはＴｈｒｏｍｂｉｎ　Ｃａｌｉｂｒａｔｏｒを２０μＬ、測定試料を８０μＬずつ入れた。プレートリーダーにセットし、３７度で１０分間インキュベーションした。ＦｌｕＣａ　Ｒｅａｇｅｎｔを各ウェルに２０μＬずつ添加した。蛍光強度を６０分間測定し、トロンボグラムを取得した。

[0077] 各血漿での測定結果を、表１３～１５にそれぞれ示す。表中、Ｌａｇ　Ｔｉｍｅは、立ち上がり時間、ｔｔＰｅａｋは、ピークに達した時間（Ｔｉｍｅ　ｔｏ　Ｐｅａｋ）、Ｐｅａｋ　Ｔｈｒｏｍｂｉｎは、最大トロンビン生成量、およびＥＴＰは、総トロンビン量をそれぞれ示す。

[0078]

[表13]

FFP プール液	Lag Time [min]	ETP [nmol/L × min]	Peak Thrombin [nmol/L]	ttPeak [min]
FFP-A	4.00	1234.29	107.84	10.89
FFP-B	4.44	1193.69	113.78	11.00
FFP-C	4.67	1184.49	100.92	11.89
Mean (N=3 Lot)	4.37	1204.16	107.52	11.26
S.D. (N=3 Lot)	0.35	26.5	6.44	0.55
C.V. (%)	8.1	2.3	6	4.9

[0079] [表14]

SDP	Lag Time [min]	ETP [nmol/L × min]	Peak Thrombin [nmol/L]	ttPeak [min]
SDP-A	3.11	1366.45	203.46	6.89
SDP-B	3.67	1363.81	237.76	6.67
SDP-C	3.00	1639.89	357.46	5.00
Mean (N=3 Lot)	3.26	1456.72	266.23	6.19
S.D. (N=3 Lot)	0.36	158.64	80.86	1.04
C.V. (%)	11.1	10.9	30.4	16.9

[0080]

[表15]

実施例血漿	Lag Time [min]	ETP [nmol/L × min]	Peak Thrombin [nmol/L]	ttPeak [min]
3A1	3.56	1539.16	199.58	8.00
3A2	3.60	1519.49	188.84	8.26
3B1	4.37	1449.33	209.21	8.52
3B2	4.44	1765.66	228.44	8.44
3C1	3.48	1721.65	281.09	6.37
3C2	3.67	1786.40	285.28	6.55
Mean (N=6 Lot)	3.86	1630.29	232.08	7.70
S.D. (N=6 Lot)	0.44	144.49	41.7	0.98
C.V. (%)	11.4	8.9	18	12.8

[0081] トロンビン生成量は、ＳＤＰおよび実施例血漿では、ＦＦＰよりもＬａｇ ＴｉｍｅおよびｔｔＰｅａｋが早くなり、Ｐｅａｋ ＴｈｒｏｍｂｉｎおよびＥＴＰが増大し、トロンビン生成能が高いことが明らかとなった。正常血漿では、Ｌａｇ Ｔｉｍｅ ２～４．３３（ｍｉｎ）、ＥＴＰ ６９４．５０～２６２５．６７（ｎｍｏｌ／Ｌ×ｍｉｎ）、Ｐｅａｋ Ｔｈｒｏｍｂｉｎ １０９．２９～５４５．７６（ｎｍｏｌ／Ｌ）、ｔｔＰｅａｋ ３．８９～８．５０（ｍｉｎ）であるため、実施例血漿は、ＦＦＰおよびＳＤＰよりも高いトロンビン生成能を有し、また、各パラメーターは正常血漿の範囲内であることが示された（参考文献：ＯｍｉｄＲ．Ｚｅｋａｖａｔ．ｅｔ ａｌ．Ｃｌｉｎｉｃａｌ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｅｄ Ｔｈｒｏｍｂｏｓｉｓ／Ｈｅｍｏｓｔａｓｉｓ．２０１３．００（０）１－８．）。

実施例血漿のＡＰＴＴはＦＦＰプール液およびＳＤＰよりも延長していたが、トロンビン生成量に影響がないことが示された。

以上より、本発明の乾燥血漿は、血栓塞栓症の危惧のない正常血漿の範囲で十分なトロンビン生成能を有しており、ＦＦＰよりもトロンビン生成量が多いため、止血剤として極めて有用であることが明らかである。

[0082] ４）示差走査熱量分析（ＤＳＣ）

ＦＦＰ（新鮮凍結血漿、Ｆｒｅｓｈ Ｆｒｏｚｅｎ Ｐｌａｓｍａ；３Ｌｏｔ（ＦＦＰ－Ａ～Ｃ））（「ＦＦＰプール液」を用いて評価）、ＳＤＰ（３Ｌｏｔ（ＳＤＰ－Ａ～Ｃ））、実施例血漿（６Ｌｏｔ）（「再構成血漿」

を用いて評価）についての示差走査熱量分析を行った。

＜分析条件＞

分析条件は以下の通りである。

（装置）ＭｉｃｒｏＣａｌ　ＰＥＡＱ－ＤＳＣ　Ａｕｔｏｍａｔｅｄ（Ｍａｌｖｅｒｎ）

（試料溶液）試料溶液をＰＢＳで３０倍希釈

（ブランク溶液）２０ｍｍｏｌ／Ｌ　Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）をＰＢＳで３０倍希釈

（ＤＳＣ測定条件）Ｓｐｅｃｉｆｙ　ＭＷ：６７、０００（Ａｌｂｕｍｉｎ）、Ｓｃａｎ　Ｓｅｔｔｉｎｇ：Ｔｓｔａｒｔ：２５℃、Ｔｅｎｄ：１００℃、Ｓｃａｎ　Ｒａｔｅ：９０（℃／ｈｒ）、Ｆｅｅｄ　ｂａｃｋ：Ｎｏｎｅ、Ｐｒｅ－Ｓｃａｎ　Ｔｈｅｒｍｏｓｔａｔ：５　ｍｉｎ、Ｐｏｓｔ－Ｓｃａｎ　Ｔｈｅｒｍｏｓｔａｔ：０　ｍｉｎ、Ａｎａｌｙｓｉｓ　Ｓｅｔｔｉｎｇ：Ａｃｔｉｖａｔｅ　Ａｓｓｅｓｓｍｅｎｔ

（解析条件）Ｂａｓｅｌｉｎｅ　Ｐａｒａｍｅｔｅｒｓ：Ｓｐｌｉｎｅ、Ｆｉｔｔｉｎｇ　Ｍｏｄｕｌｅ：Ｎｏｎ－Ｔｗｏ－Ｓｔａｔｅ

＜分析結果＞

実施例血漿のＤＳＣのサーモグラムは、ＦＦＰおよびＳＤＰと同様のプロファイルを示した。アルブミン由来ピークのＴｍ（変性中点温度）およびΔＨｃａｌはＳＤＰと同程度であり、粉体化による変性は認められなかった。

各血漿についてのアルブミン由来ピークのＴｍを、表１６に示す。

[0083]

[表16]

T_m (℃) (Albumin)						
検体		Mean (N=3 Samples)	S.D. (N=3 Samples)	Mean (℃) (3 Lot)	S.D. (℃) (3Lot)	C.V. (%) (3Lot)
FFP	FFP-A	62.92	0.06	62.94	0.09	0.15
	FFP-B	62.87	0.04			
	FFP-C	63.03	0.05			
SDP	SDP-A	62.71	0.08	62.69	0.11	0.18
	SDP-B	62.57	0.07			
	SDP-C	62.78	0.04			
検体		Mean (N=3 Samples)	S.D. (N=3 Samples)	Mean (℃) (6 Lot)	S.D. (℃) (6 Lot)	C.V. (%) (6 Lot)
実施例血漿	3A1	63.07	0.08	63.09	0.07	0.12
	3A2	63.09	0.09			
	3B1	63.01	0.06			
	3B2	63.03	0.07			
	3C1	63.15	0.05			
	3C2	63.15	0.04			

[0084] 実施例４：粉体化従来技術による乾燥血漿との物性比較

本発明の乾燥血漿の物性と粉体化従来技術であるスプレードライ噴霧乾燥法（Ａｔｍｏｓｐｈｅｒｉｃ　Ｓｐｒａｙ　ｄｒｙｉｎｇ（ＡＳＤ））により調製された乾燥血漿の物性とを対比検討した。

（１）評価検体の調製

１）凍結真空乾燥装置１により、表１７に示された条件下で、ＳＤＰ（１Ｌｏｔ）を使用して、本発明の乾燥血漿を調製した（実施例４血漿）。

[0085]

[表17]

噴霧乾燥条件	原料の仕込み量			ＳＤＰ 200 mL
	噴霧ノズル			ディスペンサーノズル
	ノズル口径			200 μm
	噴射条件	噴霧圧（MPa）		0.05
		噴霧時棚温度（℃）		-45
		噴射時槽内圧力(Pa)		2.3
		線流速(m/sec)		10.86
	乾燥条件	初期乾燥	乾燥時棚温度(℃)	-45
			乾燥時槽内圧力(Pa)	10
			乾燥時間(hr)	0.16
		1次乾燥	乾燥時棚温度(℃)	15
			乾燥時槽内圧力(Pa)	10
			乾燥時間（hr）	21
		2次乾燥	乾燥時棚温度(℃)	30
			乾燥時槽内圧力(Pa)	10
			乾燥時間（hr）	0.5

[0086] ２）表１８に示された条件下（米国特許第８４３４２４２号明細書を参照して調製条件を設定）で、ＳＤＰ（１Ｌｏｔ）を使用して、スプレードライ法による乾燥血漿を調製した（比較例血漿）。

[0087]

[表18]

比較例	
装置	Spray dryer DL-41 (ヤマト科学株式会社)
原料	S/D Plasma (SDP) 200 mL
入口温度	120℃
出口温度	70～74 ℃
アトマイズノズル	２流体ノズル0.7 mm径
アトマイズ圧	0.2 MPa
吸引	0.80 m^3 /min
不活性ガス	窒素
原料導入速度	3.0～3.6 mL/min

（２）評価結果概要

実施例４血漿と比較例血漿との物性比較結果の概要を、表１９に示す。

[0088]

[表19]

評価項目	実施例４血漿	比較例血漿
蛋白回収率	80.6 %	31.9 %
水分量	3.00 ± 0.26 %	9.48 ± 0.11 %
溶解時間	227±50 (sec)	320±44 (sec)
粗大粒子（1000μm以上）の体積割合	1000≦x [μm] : 0.1%	1000≦x [μm] : 32.3% *Fine particles of 10 μm or less form agglomerates
粒子ｻｲｽﾞ	D10 254.2 [μm] D50 314.5 [μm] D90 386.3 [μm]	D10 11.2±0.7 [μm] D50 117.6±86.5 [μm] D90 365.9±92.5 [μm]
粒子の分散	(D90-D10)/D50=0.42 D90/D50=1.23 D10/D50=0.81	(D90-D10)/D50=2.73±1.55 D90/D50=3.86±1.62 D10/D50=0.13±0.07
FFPに対する活性回収率	(Coverage ≧70%) vWF:Rco 76.2% vWF:Ag 102.9% Protein C 90.5% Fibrinogen 87.7% Factor V 102.2%	vWF:Rco 9.5% vWF:Ag 34.8% Protein C 79.4% Fibrinogen 53.6% Factor V 88.9%
VWF マルチマーの大きさ	(VWF multimers) Large 1.87% Medium 34.78% Small 63.35 %	(VWF multimers) Large 0% Medium 8.70% Small 91.30%
不溶性微粒子数 (2-100 μm)	10 μm≦x : 2017±362 25 μm≦x : 83±29 (単位 : counts)	10 μm≦x : 5233±831 25 μm≦x : 217 ±126 (単位 : counts)
	Insoluble fine Particles at size range of 2-100μm. 実施例４<比較例<SDP	
ﾄﾛﾝﾋﾞﾝ生成量	Peak Thrombin[nmol/L] (実施例４)279.91±12.71> (SDP) 295.50±0.85 > (比較例) 211.91±9.65 > (FFP) 129.12±1.39 ETP [nmol/L×min] (実施例４)1902.44±49.81> (SDP) 1720.68±3.05 > (比較例) 1590.00±133.25 > (FFP) 1318.62±15.04	

[0089] （３）評価結果の詳細

以下、代表的な評価項目についての評価結果の詳細を述べる。

１）粒度分布

実施例４血漿および比較例血漿の粒度分布を、ＪＩＳＺ８８２５：レーザー回折散乱式粒度分布測定法を用いて乾式で測定した。その結果を、表２０に示す。下記の測定結果は、実施例４血漿については、１回の測定値であり

、比較例血漿については３回の測定値の「平均値±Ｓ．Ｄ．」の値である。

（測定法）レーザー回折散乱式粒度分布測定法（乾式）

（装置名）マイクロトラックＭＴ３１００（ＮＩＫＫＩＳＯ）

（分析条件）

測定回数：１回

測定時間：１０秒

粒子透過性：透過

粒子屈折率：１．８１

粒子形状：非球形

溶媒名：空気

溶媒屈折率：１．００

測定範囲：０．６８７～９９５．６ μｍ

[0090] [表20]

検体	粒子径（累積データ）			粒子分散性		
	D10 [μm]	D50 [μm]	D90 [μm]	(D90-D10)/D50	D90/D50	D10/D50
実施例4	254.2	314.5	386.3	0.42	1.23	0.81
比較例	11.20±0.7	117.60±86.5	365.90±92.5	3.73±1.55	3.86±1.62	0.13±0.07

[0091] 原料のＬｏｔは異なるが、実施例３において調製された６つの血漿（実施例３Ａ１、３Ａ２、３Ｂ１、３Ｂ２、３Ｃ１および３Ｃ２）（調製時の装置パラメーターは実施例４と同様である）についての粒子径データ、および上記の実施例４血漿についての粒子径データを集計し、その集計値に基づいて算出された「平均値±Ｓ．Ｄ．」の値を、以下の表２１に示す。

[0092]

[表21]

検体	粒子径（累積データ）			粒子分散性		
	D10 [μm]	D50 [μm]	D90 [μm]	(D90-D10)/D50	D90/D50	D10/D50
実施例4	262.7± 92.1	351.3± 23.4	436.1± 32.4	0.51± 0.37	1.25± 0.13	0.74± 0.25

[0093] 実施例４血漿は、一峰性のピークを有しており、（Ｄ９０－Ｄ１０）／Ｄ５０の値が１．０より小さく、単一分散性の高い粒子であった。

対照的に、比較例血漿では二峰性のピークが認められ、（Ｄ９０－Ｄ１０）／Ｄ５０の値は約３．０であり、単一分散性は本発明の血漿より低いことが明らかとなった。図４に、両血漿の粒度分布を示す。

[0094] ２）粗大粒子含有率

乾燥血漿の粉体特性として、分級操作が不要あるいは分級がしやすいこと、粉体の回収率が高いこと、分注時のノズル詰まり等のトラブルがないことが製造において重要である。特に、肉眼で確認できるサイズである１０００μｍ以上の粗大粒子が製剤中に混入することで、粉体の回収率が低下する。

メッシュ（１０００、５００、３００、１８０、１００、５３μｍ目開き）を用いた篩分け試験を行い、乾燥血漿の分級後のメッシュ残留粉体重量を測定して重量粒度分布を作成し（表２２を参照）、実施例４血漿と比較例血漿における１０００μｍ以上の粗大粒子含有率を比較した。

[0095]

[表22]

メッシュ目開き（μm）	粒子サイズ（μm）	実施例４血漿		比較例血漿	
		粉末重量（%）	粉末の累積重量（%）	粉末重量（%）	粉末の累積重量（%）
1000	1000≦x	0.1	100.0	32.3	100.0
500	500≦x<1000	6.5	99.9	36.1	67.7
300	300≦x<500	79.9	93.4	19.9	31.6
180	180≦x<300	11.7	13.5	9.9	11.7
100	100≦x<180	1.4	1.9	1.8	1.8
53	53≦x<100	0.4	0.4	0.0	0.0
bottom	x<53	0.1	0.1	0.0	0.0
	Total	100.0		100.0	

[0096] １０００μｍ以上の粗大粒子は、実施例４血漿では、０．１（ｗｔ％）であったのに対し、比較例血漿では３２．３（ｗｔ％）の含有率であった。

実施例４血漿の粒子径はＤ５０が３００μｍ付近であり、単一分散性が高いため、粗大粒子が形成されにくい粒子であることが分かった。図５に実施例４血漿と比較例血漿の重量粒度分布を示す（図中では、「実施例４血漿」は、ＭＦＤ－ＰＰと表記されている。「比較例血漿」は、ＡＳＤ－ＰＰと表記されている）。

[0097] ３）乾燥血漿の溶解時間

乾燥血漿を専用の溶解液（２０ｍｍｏｌ／Ｌ　Ｇｌｙｃｉｎｅ、ｐＨ２．４）を用いて室温で溶解し、再構成が完了するまでの時間（溶解時間）を測定した。添加する溶解液量は、溶解後の血漿溶液の蛋白濃度が約６０ｍｇ／ｍＬとなるように添加した（表２３を参照）。具体的には、実施例４血漿および比較例血漿は、重量比率１０ｗ／ｖ％となるよう、乾燥血漿０．５ｇに対して溶解液を５．０ｍＬ添加した。

以上により検討された各検体の溶解時間を、表２４に示す。

[0098]

[表23]

検体	粉末重量	溶解液量	血漿蛋白濃度（mg/mL）	
			3回の平均	標準偏差
実施例4血漿	0.5 g	5 mL	61.242	0.895
比較例血漿	0.5 g	5 mL	65.149	2.315

[0099] [表24]

検体	粉末重量(g)/溶解液(mL)	溶解時間（秒）	
		3回の平均	標準偏差
実施例4血漿	0.5g/5mL	227	50
比較例血漿	0.5g/5mL	320	44

[0100] 実施例４血漿、比較例血漿のいずれの検体も、５分程度で溶解したが、中でも実施例４血漿は比較例血漿と比較して１分程度速く溶解した。

以上より、本発明の乾燥血漿は、短時間で溶液状態に再構成することができるため、輸血等の緊急を要する医療の現場における実用性、有用性が高いことが明らかである。

[0101] ４）不溶性微粒子数

日本薬局方（ＪＰ）一般試験法６．０７に記載の「注射剤の不溶性微粒子試験法第１法（光遮蔽粒子計数法）」を用いて、乾燥血漿（実施例４血漿／比較例血漿）の上記「３）乾燥血漿の溶解時間」の項に記載の条件下での再構成後の血漿溶液（以下、本実施例において「再構成血漿」とも表記する）中の２～１００μｍの不溶性微粒子数を測定した。

（分析条件）

装置：液中パーティクルカウンター　ＨＩＡＣ　Ｓｙｓｔｅｍ　９７０３＋（Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｒｔｅｒ）

センサーモデル：ＨＲＬＤ１５０

サンプラー設定：シリンジサイズ　１ｍＬ、プローブサイズ　２．７５、１／１６０．Ｄ．

パラメーター：サンプル量０．２ｍＬ

計測回数：３

希釈倍率：１

チャンネルサイズ（μｍ）：２、３、５、１０、１５、２０、２５、３０、４０、５０、９９

比較例血漿に存在する不溶性微粒子数に対して、実施例４血漿の再構成後の血漿溶液では、不溶性微粒子数が低減していた。

静注投与する細胞製剤では、１０μｍ以上のサイズの不溶性微粒子が増大すると細胞障害のリスクが増加することが報告されている（Ｒｅｆ．ＤＯＭＩＮＩＣ　ＣＬＡＲＫＥ、ｅｔ　ａｌ．Ｍａｎａｇｉｎｇ　ｐａｒｔｉｃｕｌａｔｅｓ　ｉｎ　ｃｅｌｌ　ｔｈｅｒａｐｙ：Ｇｕｉｄａｎｃｅ　ｆｏｒ　ｂｅｓｔ　ｐｒａｃｔｉｃｅ．Ｃｙｔｏｔｈｅｒａｐｙ、２０１６；１８：１０６３-１０７６）。この観点から、乾燥血漿（実施例４血漿／比較例血漿）からの再構成血漿中の１０μｍ以上、２５μｍ以上の不溶性微粒子数（積算カウント）を検討した。３回の測定値の平均値および標準偏差を、表２５に示す。

[0102] [表25]

粒子径	実施例４血漿		比較例血漿	
	平均値 N＝3	S．D．	平均値 N＝3	S．D．
10 μｍ≦x	2017	362	5233	831
25 μｍ≦x	83	29	217	126

[0103] 以上の通り、本発明の乾燥血漿では、血漿再構成後の血漿溶液中の１０μｍ以上、並びに２５μｍ以上の不溶性微粒子数が、従来技術であるスプレー

ドライ噴霧乾燥法による乾燥血漿に比較して顕著に低減している。不溶性微粒子は血栓の要因となるから、本発明の乾燥血漿は、再構成血漿のヒトへの投与後の副作用のリスクが非常に低い、実用性に優れた乾燥血漿であることが明らかとなった。

[0104] ５）血液凝固因子活性と活性回収率

本発明の乾燥血漿の有用性を実証するため、乾燥血漿（実施例４血漿／比較例血漿）からの再構成血漿の血液凝固因子活性と活性回収率の評価を、前記の実施例２における評価と同様にして行った。

各血漿溶液における血液凝固因子活性の評価結果を、表２６に示す。

[0105] [表26]

評価項目	EP 規格値	乾燥血漿	
		実施例４	比較例
Fibrinogen (mg/dL)	150～400 mg/dL	243.5 ±3.2	158.0 ±6.0
Factor V (IU/mL)	≥0.5 IU/mL	0.930 ±0.042	0.892 ±0.152
Protein C (IU/mL)	≥0.7 IU/mL	1.155 ±0.013	1.088 ±0.033
vWF：RCo (IU/mL)	—	0.975 ±0.055	0.129 ±0.007
vWF：Ag (IU/mL)	—	1.408 ±0.154	0.484 ±0.021
vWF:Rco /vWF:Ag	—	0.698 ±0.077	0.268 ±0.011

[0106] 「上記表中のフィブリノゲンの規格値」は、ＳＤ　Ｐｌａｓｍａ製剤　Ｏｃｔａｐｌａｓ　ＬＧ（登録商標）（Ｏｃｔａｐｈａｒｍａ）の規格値を参考にした。

各測定値は、３回測定後のＭＥＡＮ±Ｓ．Ｄ．値である。

[0107] 乾燥血漿における各血液凝固因子の活性回収率（３回の測定値のＭＥＡＮ±Ｓ．Ｄ．値）を、表２７に示す。ここで、活性回収率は、ＦＦＰでの活性回収値を１００％とした場合の比である。

[0108]

[表27]

Recovery of activity vs FFP	実施例４血漿		比較例血漿	
	MEAN (%)	S.D. (%)	MEAN (%)	S.D. (%)
vWF：RCo	76.2	0.0	9.5	0.0
vWF：Ag	102.9	10.9	34.8	0.0
Protein C	90.5	0.0	79.4	2.7
Fibrinogen	87.7	0.7	53.6	3.1
Factor V	102.2	3.8	88.9	19.2

[0109] ｖＷＦは、二量体（Ｄｉｍｅｒ）構造がＳ－Ｓ結合で重合体を形成した多量体構造（ｍｕｌｔｉｍｅｒ）を有しており、ｓｍａｌｌ ｍｕｌｔｉｍｅｒｓ、ｍｉｄｉｕｍ ｍｕｌｔｉｍｅｒｓ、Ｌａｒｇｅ－ｍｕｔｌｉｍｅｒｓの３サイズに区分される。ｖＷＦの高次構造の分析法として、ＳＤＳ－ｍｕｌｔｉｍｅｒ解析が一般的に用いられており、サブマリン型電気泳動およびウェスタンブロッティング法を用いて分析する。ｖＷＦを電気泳動により泳動ゲル内で分子量サイズにより分離した後、一次抗体に抗ｖＷＦポリクローナルＩｇＧ抗体、二次抗体に一次抗体と結合する蛍光標識ＩｇＧ抗体を用いてウェスタンブロッティング法によりｖＷＦ ｍｕｌｔｉｍｅｒｓの分子量バンドを検出する。ｖＷＦ ｍｕｌｔｉｍｅｒｓの分子量サイズは分子量のバンド位置で定義されており、分子量が低い方から１～５番目のバンドがｓｍａｌｌ ｍｕｌｔｉｍｅｒｓ、６～１０番目のバンドがｍｉｄｉｕｍ ｍｕｌｔｉｍｅｒｓ、１１番目以上のバンドがＬａｒｇｅ－ｍｕｔｌｉｍｅｒｓである。ｖＷＦは多量体のサイズが大きいＬａｒｇｅ－ｍｕｌｔｉｍｅｒｓは一次血栓形成能が高いことが知られており、ｖＷＦ Ｌａｒｇｅ ｍｕｌｔｉｍｅｒｓが切断され低分子化すると血小板結合能が低下し、止血能が低下する。また、ｖＷＦ Ｌａｒｇｅ－ｍｕｌｔｉｍｅｒｓの一次血栓形成能はｖＷＦリストセチン活性（ｖＷＦ：Ｒｃｏ）と相関することが知られており、ｖＷＦリストセチン活性が高い方がｖＷＦ Ｌａｒｇｅ－ｍｕｌｔ

ｉｍｅｒｓの含有率が高い。

凍結真空乾燥は、原理的に粉体化時に熱負荷がかからないため、実施例４血漿では、一次止血に必須の高分子蛋白質成分であるｖＷＦの高分子量のマルチマー構造の欠損が少なく、ｖＷＦリストセチン活性（ｖＷＦ：Ｒｃｏ）を維持した状態で血漿を粉体化することができた。他方、比較例血漿では、ｖＷＦリストセチン活性（ｖＷＦ：Ｒｃｏ）およびＦｉｂｒｉｎｏｇｅｎの活性回収率が著しく低下していた。

[0110] ＥＰ規格値のある凝固因子Ｆａｃｔｏｒ Ｖ、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｃの活性は、いずれの乾燥血漿においてもＥＰ規格値に適合していた。

しかしながら、比較例血漿では、多くの凝固因子に失活が確認され、特に、ｖＷＦおよびＦｉｂｒｉｎｏｇｅｎの高分子量蛋白質が顕著に失活することが明らかとなった。実施例４血漿では、このような活性の低下は見られなかった。

従って、本発明の乾燥血漿は、少なくとも、１）ｖＷＦおよびＦｉｂｒｉｎｏｇｅｎ（高分子量タンパク）の活性を維持した状態で粉体化されている点、並びに２）ｖＷＦリストセチン活性を維持した状態で粉体化されている点において、スプレードライ噴霧乾燥法による乾燥血漿よりも優れていることが明らかとなった。

[0111] ６）トロンビン生成量

本発明の乾燥血漿の有用性を実証するため、ＦＦＰプール液、ＳＤＰ、並びに乾燥血漿（実施例４血漿／比較例血漿）からの再構成血漿によるトロンビン生成量の評価を、前記の実施例３における評価と同様にして行った（Ｎ＝３）。

トロンビン生成量の評価結果を、表２８に示す。

[0112]

[表28]

Sample	Lag Time [min]		ETP [nM × min]		Peak Thrombin [nmol/L]		ttPeak [min]	
	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.
FFP	4.67	0.00	1318.62	15.04	129.12	1.39	10.78	0.16
SDP	3.33	0.00	1720.68	3.05	259.50	0.85	7.00	0.00
実施例4血漿	4.11	0.11	1902.44	49.81	279.91	12.71	7.78	0.30
比較例血漿	4.04	0.06	1590.00	133.25	211.91	9.65	8.07	0.06

[0113] 実施例４と比較例の乾燥血漿およびＦＦＰとＳＤＰのトロンビン生成測定を行い、各パラメーターを比較したところ、総トロンビン生成量（ＥＴＰ）と最大トロンビン生成量（Ｐｅａｋ　Ｔｈｒｏｍｂｉｎ）は、実施例４血漿の方がＦＦＰ、ＳＤＰ、および比較例血漿のいずれよりも高い値であった。

[0114] ７）ｉｎ　ｖｉｔｒｏ凝固能評価（ＲＯＴＥＭ測定）

本発明の乾燥血漿の有用性を実証するため、ＦＦＰプール液、ＳＤＰ、並びに乾燥血漿（実施例４血漿／比較例血漿）からの再構成血漿によるｉｎｖｉｔｒｏ凝固能評価（ＲＯＴＥＭ測定）を行った（Ｎ＝３）。図６に、ＲＯＴＥＭ測定のパラメーターの概略を表す図を示す（参考文献：香取　信之．　日臨麻会誌．　２０１３；　３３，　２６３－２７１）。

（ＲＯＴＥＭ測定のパラメーター）

・ＣＴ（Ｃｌｏｔｔｉｎｇ　ｔｉｍｅ：凝固時間（ｓｅｃ））

測定開始から初期血餅形成まで（振幅が２ｍｍになるまで）の時間。ＡＰＴＴやＰＴなどに相当する。

・ＣＦＴ（Ｃｌｏｔ　ｆｏｒｍａｔｉｏｎ　ｔｉｍｅ：血餅形成時間（ｓｅｃ））

経時的に変化する波形の振幅。凝血塊の弾性粘張度を表し、値が大きいほど強固な血塊である。

・ＭＣＦ（Ｍａｘｉｍｕｍ　ｃｌｏｔ　ｆｉｒｍｎｅｓｓ：最大血餅硬度（ｍｍ））

測定中の最大振幅。値が大きいほど強固な血塊である。

・ＭＬ（Ｍａｘｉｍｕｍ　ｌｙｓｉｓ：最大溶解度（％））

ＭＣＦ到達後に振幅が減少した場合のＭＣＦに対する最大減少率値が大きいほど線溶亢進の程度が高い。

（ＲＯＴＥＭ測定条件）

・動物種）ラットＳｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙ、雄性、８週齢（日本チャールスリバー）、８匹

・使用血液）クエン酸添加ラット血液（血液：３．８％クエン酸ナトリウム液を９：１で混合）

・測定条件）ＲＯＴＥＭ　ｄｅｌｔａ　（Ｔｅｍ　Ｉｎｎｏｖａｔｉｏｎｓ　ＧｍｂＨ）、Ｅｘｔｅｍ（ｓｔａｒ－ｔｅｍ，　ｒｅｘｔｅｍ）、測定時間９０分

・測定試料）クエン酸添加ラット血液５０μＬ、生理食塩水２５０μＬ、検体１００μＬを混合（血液希釈倍：８倍）

・測定回数）３回

（ＲＯＴＥＭ測定結果）

検討の結果、ヒト血液の場合とラット血液の場合との間で、ＲＯＴＥＭ結果におけるＣＴやＣＦＴの時間は多少変動するが、著しい違いが認められないことが確認された。ラット血液の方は血小板数が多く、凝固時間がヒト血液より早くなるが、同じラット血液を使用することにより実施例４血漿と比較例血漿の凝固能を相対的に比較することは可能であると考え、本試験を行った。以下にラット血液を使用してのＲＯＴＥＭの結果を示す（表２９）。

[0115]

[表29]

Sample	CT (sec)		CFT(sec)		MCF(mm)		ML(%)	
	MEAN	S.D.	MEAN	S.D.	MEAN	S.D.	MEAN	S.D.
FFP	64.33	2.08	117.67	21.22	47.33	2.52	7.33	3.06
SDP	76.67	15.01	112.33	22.59	49.00	1.73	5.33	1.53
実施例４血漿	83.00	7.00	109.00	11.53	48.67	0.58	3.67	2.31
比較例血漿	134.00	8.54	376.67	85.50	39.33	2.31	0.33	0.58
生理食塩水（陰性対照）	108.33	13.61	401.67	181.10	29.33	3.06	14.33	7.51
ラット血液（陽性対照）	53.33	8.62	57.67	9.50	58.67	2.08	4.67	2.08

[0116]（ｉｎ ｖｉｔｒｏ試験ＲＯＴＥＭ測定の結果について）

ＦＦＰおよびＳＤＰ、実施例４血漿ではＣＴ（凝固時間）、ＣＦＴ（血餅形成時間）、ＭＣＦ（最大血餅硬度）、ＭＬ（最大溶解度）において明らかな差は認められず、実施例４血漿はＦＦＰおよびＳＤＰと同程度の強度の血栓を形成する凝固能を有していることが示された。一方、比較例血漿はＦＦＰと比較して、ＣＴが延長し、ＣＦＴ、ＭＣＦが低くなっており、強度の弱い血栓が形成されていることが示された。

比較例血漿のクロット形成能が低下した原因として、血漿中のＦｉｂｒｉｎｏｇｅｎおよびｖＷＦが失活したことが考えられた。血液中の血小板とｖＷＦは血小板表面のＧＰⅠｂ－α／ⅠＸ受容体を介して結合し、一次血栓（白色血栓とも言う）を形成し、血小板粘着を生じる。この一次血栓に血小板膜糖蛋白のＧＰⅡｂ/Ⅲａを介してフィブリノゲンが血小板と結合して血小板凝集を生じる。血小板凝集を生じた後、凝固カスケードが亢進されて生成されたトロンビンによりフィブリノゲンがフィブリンに変換され、形成されたフィブリンがＦａｃｔｏｒ ⅩⅢにより架橋されることで強固な二次血栓（褐色血栓とも言う）が形成され、止血に至る。比較例血漿では、血漿中のｖＷＦが著しく失活しており、血小板との結合能が不十分であり、一次血栓量が減少した可能性が考えられる。また、比較例血漿はフィブリノゲンおよびＦａｃｔｏｒ ⅩⅢの失活も著しく、トロンビンにより分解される基質となるフィブリノゲンが少なく、ＦａｃｔｏｒⅩⅢの活性が低

いことで架橋が不十分となり、強度の弱い血塊しか形成されなかったものと考えられた。

産業上の利用可能性

[0117] 本発明により、医薬品分野で有用な、粒子の均質性に優れ、かつ生物活性が維持された乾燥血漿、およびその製造方法が提供される。

[0118] 本出願は、日本で出願された特願２０２２－１４１２７５（出願日：２０２２年９月６日）を基礎としており、その内容は本明細書に全て包含されるものである。

符号の説明

[0119] １　凍結真空乾燥装置

１０　上部フランジ

１１　凍結真空乾燥塔

１２　ノズル

１４　細孔

１５　収集・加熱機器

１８　移送機

２１　回収・秤量室

２２　容器

３１　封栓・取出室

４１　原料液供給容器

４２　原料液供給配管

４４　窒素ガス配管

５１　ロータリーポンプ

Ｌ　原料液

Ｋ　液柱

Ｐ、Ｑ　微粉末

Ｒ　微小原料液粒子

請求の範囲

[請求項1] レーザー回折散乱式粒度分布測定法により測定して得られる体積基準粒度分布によるＤ５０が、２００μｍ～４００μｍであることを特徴とする、乾燥血漿。

[請求項2] レーザー回折散乱式粒度分布測定法により測定して得られる体積基準粒度分布によるＤ１０、Ｄ５０、およびＤ９０において、（Ｄ９０－Ｄ１０）／Ｄ５０の値が、０．１～２．０であることを特徴とする、請求項１に記載の乾燥血漿。

[請求項3] （Ｄ９０－Ｄ１０）／Ｄ５０の値が、０．３～２．０である、請求項２に記載の乾燥血漿。

[請求項4] １０００μｍ以上の粗大粒子含有率が、乾燥血漿重量の３０重量％以下である、請求項１～３のいずれか一項に記載の乾燥血漿。

[請求項5] 粗大粒子含有率が、乾燥血漿重量の２０重量％以下である、請求項４に記載の乾燥血漿。

[請求項6] 乾燥血漿の２０ｍｍｏｌ／Ｌ Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）溶液への溶解時間が、５分以内である、請求項１～３のいずれか一項に記載の乾燥血漿。

[請求項7] 溶解時間が、４分以内である、請求項６に記載の乾燥血漿。

[請求項8] 乾燥血漿を、２０ｍｍｏｌ／Ｌ Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）に溶解して再構成した血漿において、リストセチン・コファクター活性（ｖＷＦ：ＲＣｏ）の活性回収率が７０％以上である、請求項１～３のいずれか一項に記載の乾燥血漿。

[請求項9] 乾燥血漿を、２０ｍｍｏｌ／Ｌ Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）に溶解して再構成した血漿において、Ｆｉｂｒｉｎｏｇｅｎの活性が、１５０～４００ｍｇ／ｄＬである、請求項１～３のいずれか一項に記載の乾燥血漿。

[請求項10] 乾燥血漿を、２０ｍｍｏｌ／Ｌ Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）に溶解して再構成した血漿において、Ｆａｃｔｏｒ Ｖの活性が、０．

５ＩＵ／ｍＬ以上１．４ＩＵ／ｍＬ以下である、請求項１～３のいずれか一項に記載の乾燥血漿。

[請求項11] 乾燥血漿を、２０ｍｍｏｌ／Ｌ Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）に溶解して再構成した血漿において、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｃの活性が、０．７ＩＵ／ｍＬ以上１．４ＩＵ／ｍＬ以下である、請求項１～３のいずれか一項に記載の乾燥血漿。

[請求項12] 乾燥血漿を、２０ｍｍｏｌ／Ｌ Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）に溶解して再構成した血漿において、ＦＶＩＩＩの活性が、０．５ＩＵ／ｍＬ以上、１．５ＩＵ／ｍＬ以下である請求項１～３のいずれか一項に記載の乾燥血漿。

[請求項13] 乾燥血漿を、２０ｍｍｏｌ／Ｌ Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）に溶解して再構成した血漿において、ＦＸＩの活性が、０．５ＩＵ／ｍＬ以上１．５ＩＵ／ｍＬ以下である、請求項１～３のいずれか一項に記載の乾燥血漿。

[請求項14] 乾燥血漿を、２０ｍｍｏｌ／Ｌ Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）に溶解して再構成した血漿において、α２－ａｎｔｉｐｌａｓｍｉｎの活性が、０．２ＩＵ／ｍＬ以上１．１ＩＵ／ｍＬ以下である、請求項１～３のいずれか一項に記載の乾燥血漿。

[請求項15] 乾燥血漿を、２０ｍｍｏｌ／Ｌ Ｇｌｙｃｉｎｅ（ｐＨ２．４）に溶解して再構成した血漿において、１０μｍ以上のサイズの不溶性微粒子数が、２４００個以下である、請求項１～３のいずれか一項に記載の乾燥血漿。

[請求項16] 血漿を、凍結真空乾燥塔内の上端部に設けられた、血漿を噴出させるための細孔の口径が５０～３５０μｍであるノズルから、真空下の前記凍結真空乾燥塔内へ噴出させて形成される微小原料液粒子を自己凍結させて微小凍結粒子とする工程、および

前記微小凍結粒子を前記凍結真空乾燥塔内の捕捉面で捕捉して加熱し昇華乾燥する工程、を含む、乾燥血漿の製造方法。

[請求項17] 血漿を噴出させるための細孔の口径が、１００～２５０μｍである、請求項１６に記載の製造方法。

[請求項18] ノズルが、ディスペンサーノズルである、請求項１６に記載の製造方法。

[請求項19] 血漿の、ノズルから真空下の前記凍結真空乾燥塔内への噴出時の噴霧圧が、０．０１～０．３ＭＰａである、請求項１６～１８のいずれか一項に記載の製造方法。

[請求項20] 血漿の、ノズルから真空下の前記凍結真空乾燥塔内への噴出時の前記凍結真空乾燥塔内圧力が、１．０～２０Ｐａである、請求項１６～１８のいずれか一項に記載の製造方法。

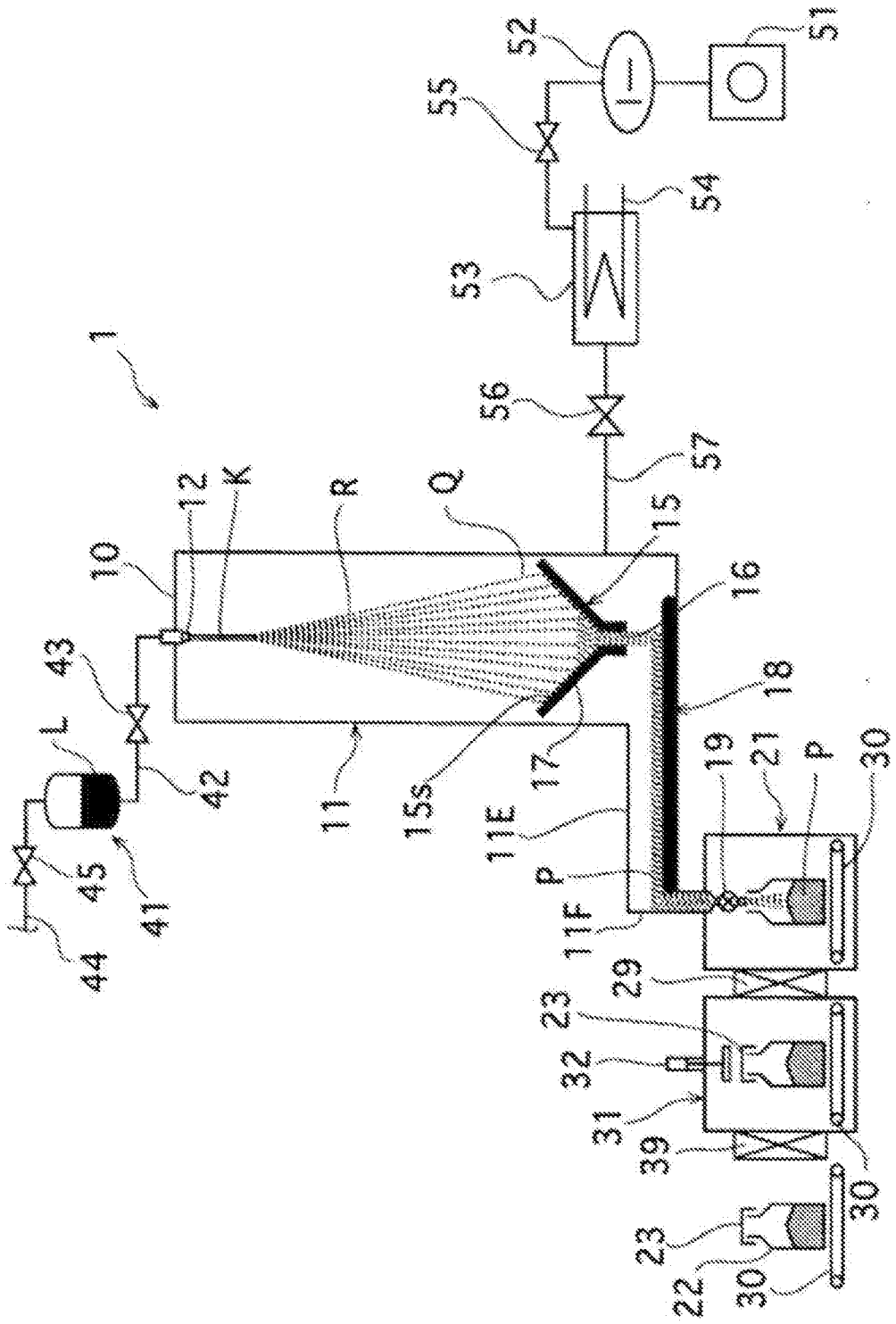
[請求項21] 血漿が、Ｓ／Ｄ（Ｓｏｌｖｅｎｔ／Ｄｅｔｅｒｇｅｎｔ）処理されたものである、請求項１６～１８のいずれか一項に記載の製造方法。

[請求項22] 血漿を凍結真空乾燥塔内の上端部に設けられたノズルから真空下の前記凍結真空乾燥塔内へ噴出させて形成される微小原料液粒子を自己凍結させて微小凍結粒子とし、続いて前記微小凍結粒子を前記凍結真空乾燥塔内の捕捉面で捕捉して加熱し昇華乾燥する凍結真空乾燥装置において、

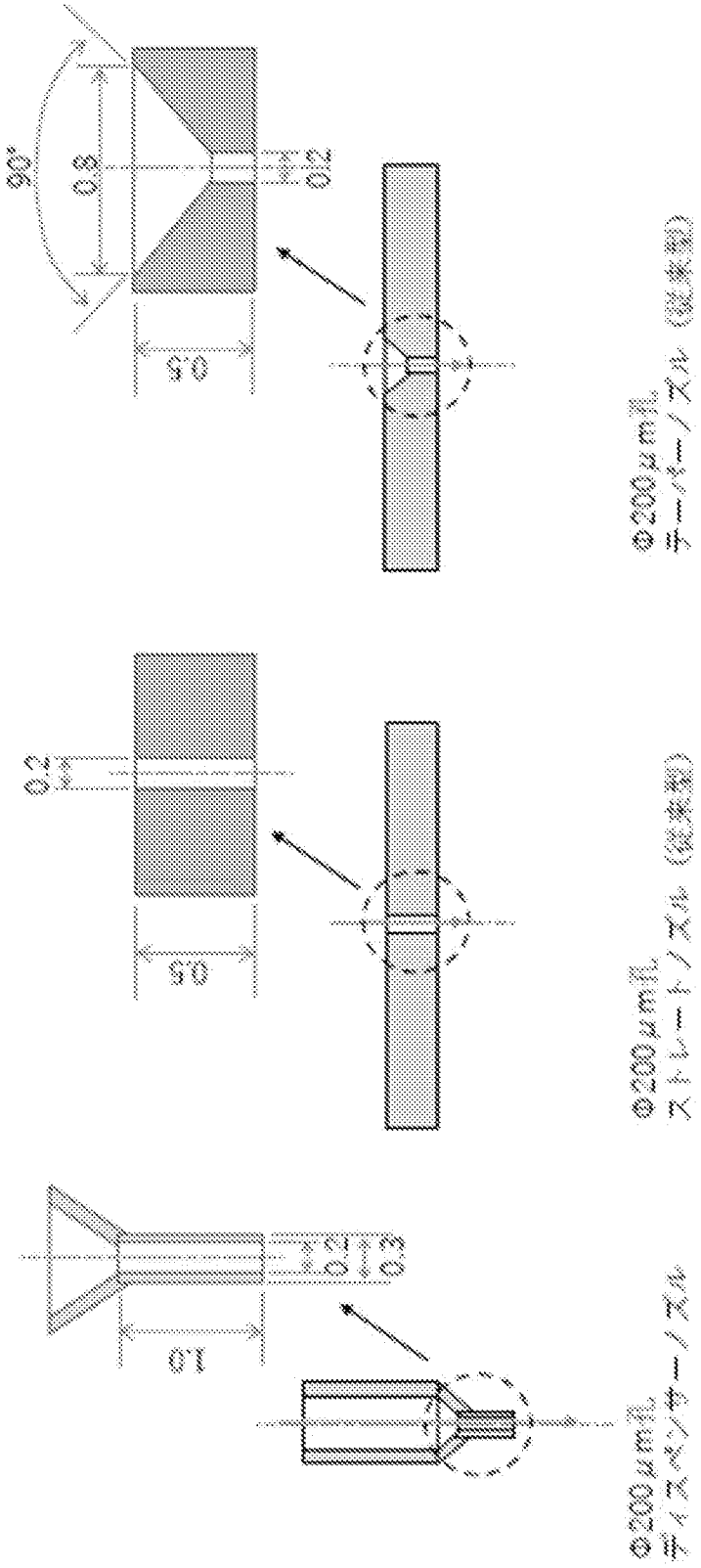
ノズルの先端部に形成された血漿を噴出させるための細孔の口径が５０～３５０μｍとなるように構成されていることを特徴とする凍結真空乾燥装置。

[請求項23] ノズルが、ディスペンサーノズルである、請求項２２に記載の凍結真空乾燥装置。

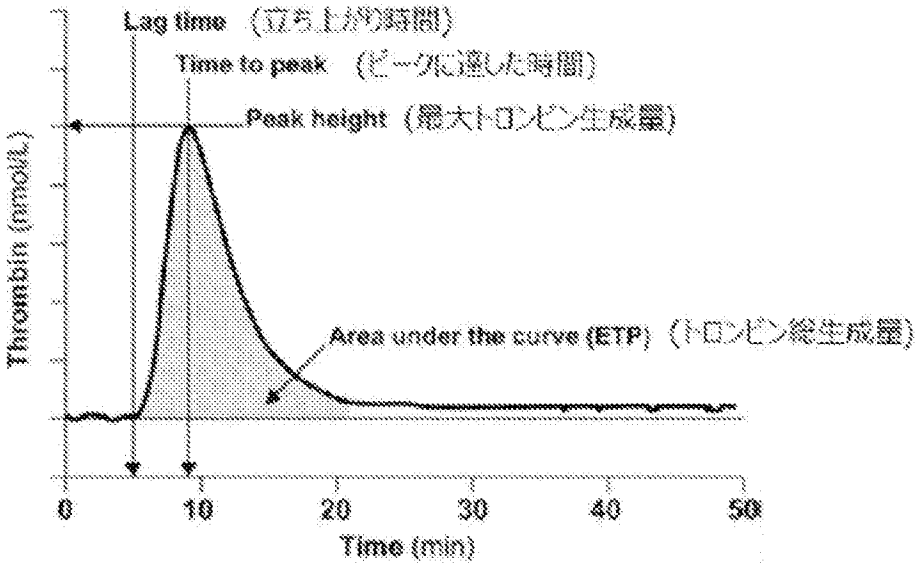
[図1]


1
10
11
11E
11F
12
15
15s
16
17
18
19
21
22
23
29
30
31
32
39
41
42
43
44
45
51
52
53
54
55
56
57
K
L
P
Q
R

[図2]


90°
0.8
0.2
0.5
φ200μmノズル
チーパーノズル（従来型）
0.2
0.5
φ200μmノズル
ストレートノズル（従来型）
1.5
1.0
φ200μmノズル
ディスペンサーノズル

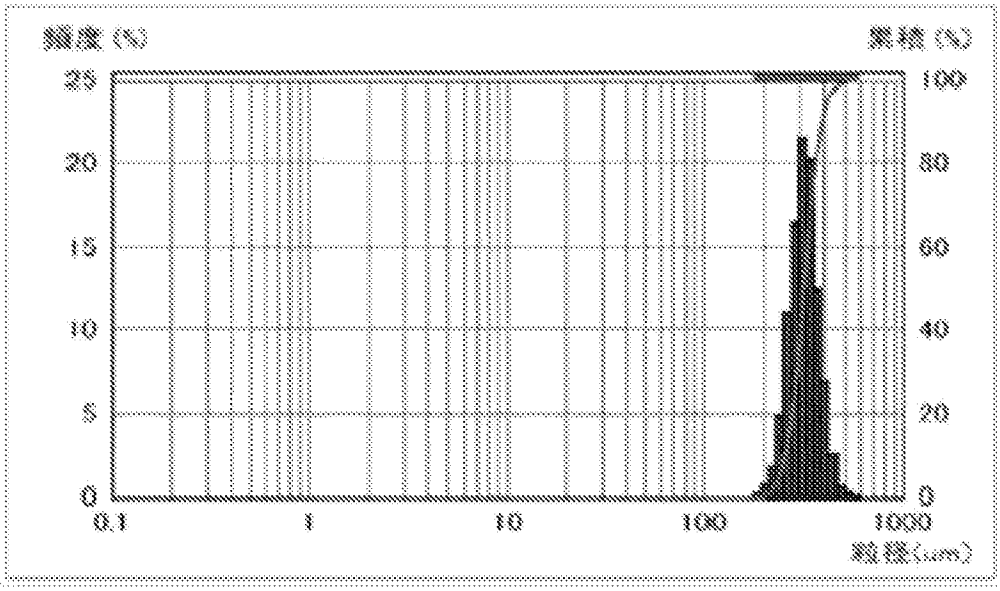
[図3]



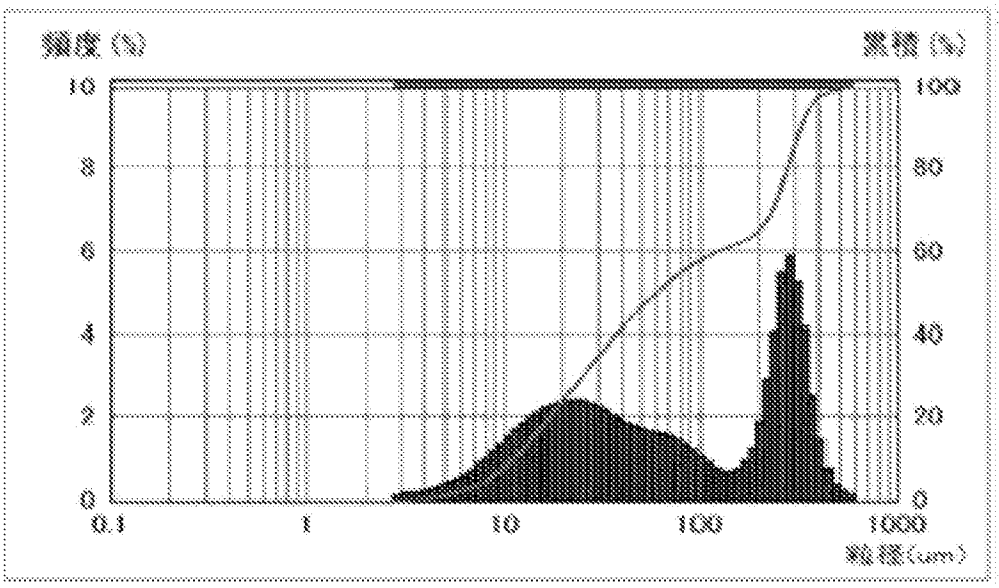
CAT システムによる Thrombin Generation Assay (TGA)

[図4]

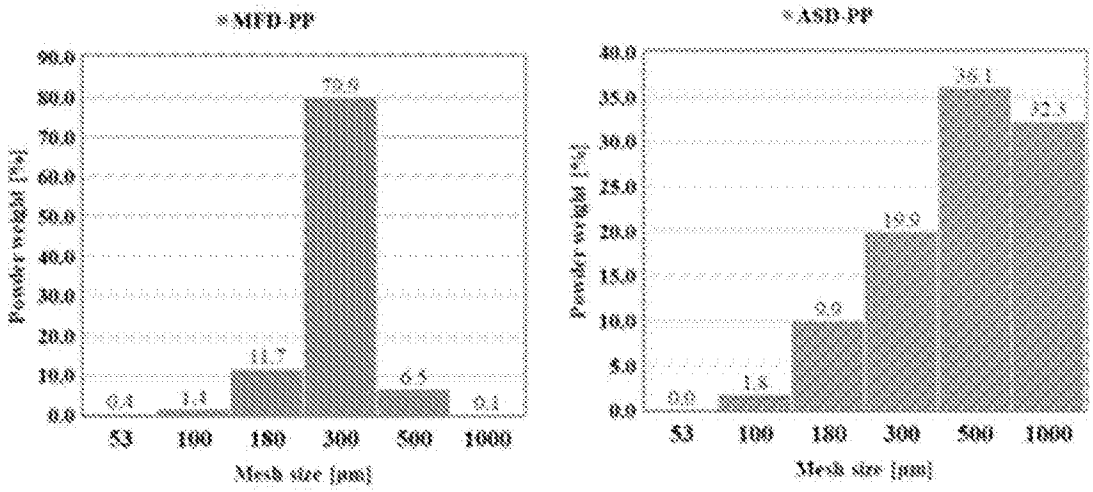
（ａ）実施例４血漿



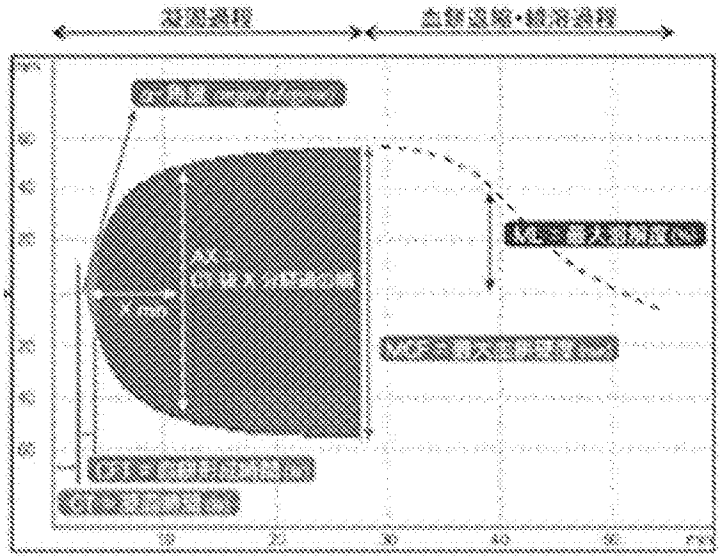
（ｂ）比較例血漿



[図5]



[図6]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2023/032398

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 35/16(2015.01)i; ***A61K 9/19***(2006.01)i; ***A61P 7/00***(2006.01)i; ***B01D 7/00***(2006.01)i; ***B01J 2/04***(2006.01)i; ***F26B 5/06***(2006.01)i; ***F26B 17/10***(2006.01)i
FI: A61K35/16; A61K9/19; A61P7/00; B01D7/00; B01J2/04; F26B5/06; F26B17/10 B

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)

A61K35/16; A61K9/19; A61P7/00; B01D7/00; B01J2/04; F26B5/06; F26B17/10

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2023
Registered utility model specifications of Japan 1996-2023
Published registered utility model applications of Japan 1994-2023

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2006-090671 A (ULVAC CORP) 06 April 2006 (2006-04-06) claims, paragraphs [0002], [0004], [0007], [0045]	22
Y		1-21, 23
Y	JP 2021-008971 A (ULVAC CORP) 28 January 2021 (2021-01-28) claims, paragraphs [0004]-[0015], fig. 2	1-21, 23
Y	ANDIA, Isabel et al. Freeze-Drying of Platel-et-Rich Plasma: The Quest for Standardization. Int. J. Mol. Sci. 2020, 21(18):6904 abstract, p. 2	1-21
Y	JP 2010-522176 A (HEMCON MEDICAL TECHNOLOGIES, INC) 01 July 2010 (2010-07-01) paragraph [0004]	1-21
X	JP 48-035027 A (E. I. DU PONT DE NEMOURS & CO) 23 May 1973 (1973-05-23) claims, p. 2, upper right column to lower left column, p. 3, upper left column, p. 4, upper right column, example 1	1-15

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ 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	Date of mailing of the international search report
09 November 2023	**28 November 2023**
Name and mailing address of the ISA/JP **Japan Patent Office (ISA/JP)** **3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915** **Japan**	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2023/032398

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP 2006-090671 A	06 April 2006	(Family: none)	
JP 2021-008971 A	28 January 2021	(Family: none)	
JP 2010-522176 A	01 July 2010	US 2008/0234652 A1 paragraph [0003] WO 2008/115548 A2 EP 2136830 A2 CA 2680658 A KR 10-2010-0014733 A	
JP 48-035027 A	23 May 1973	US 3928566 A claims, examples, columns 1-6 US 3932943 A	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2023/032398

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

A61K 35/16(2015.01)i; A61K 9/19(2006.01)i; A61P 7/00(2006.01)i; B01D 7/00(2006.01)i; B01J 2/04(2006.01)i; F26B 5/06(2006.01)i; F26B 17/10(2006.01)i
FI: A61K35/16; A61K9/19; A61P7/00; B01D7/00; B01J2/04; F26B5/06; F26B17/10 B

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

A61K35/16; A61K9/19; A61P7/00; B01D7/00; B01J2/04; F26B5/06; F26B17/10

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２３年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２３年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２３年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
X	JP 2006-090671 A (株式会社アルバック) 06.04.2006 (2006-04-06) 特許請求の範囲、段落０００２、０００４、０００７、００４５	22
Y		1-21, 23
Y	JP 2021-008971 A (株式会社アルバック) 28.01.2021 (2021-01-28) 特許請求の範囲、段落０００４－００１５、図２	1-21, 23
Y	ANDIA, Isabel et al., Freeze-Drying of Platel-et-Rich Plasma: The Quest for Standardization, Int. J. Mol. Sci., 2020, 21(18):6904 Abstract, p.2	1-21
Y	JP 2010-522176 A (ヘムコン メディカル テクノロジーズ, インコーポレイテッド) 01.07.2010 (2010-07-01) 段落０００４	1-21
X	JP 48-035027 A (イー・アイ・デュポン・ド・ネモアース・アンド・コンパニー) 23.05.1973 (1973-05-23) 特許請求の範囲、第２頁右上欄－左下欄、第３頁左上欄、第４頁右上欄、実施例１	1-15

☐ Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。

☑ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
“&” 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
09.11.2023	28.11.2023

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）
堂畑　厚志 4U 7880

電話番号 03-3581-1101 内線 3439

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2023/032398

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 2006-090671 A	06.04.2006	（ファミリーなし）	
JP 2021-008971 A	28.01.2021	（ファミリーなし）	
JP 2010-522176 A	01.07.2010	US 2008/0234652 A1 [0003] WO 2008/115548 A2 EP 2136830 A2 CA 2680658 A KR 10-2010-0014733 A	
JP 48-035027 A	23.05.1973	US 3928566 A Claims, Examples, column 1-6 US 3932943 A	