(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第4043512号
(P4043512)
(45)発行日　平成20年2月6日(2008.2.6)　(24)登録日　平成19年11月22日(2007.11.22)

(51)Int.Cl.　　F I
B04B 5/04 (2006.01)　　B04B 5/04
A61K 35/14 (2006.01)　　A61K 35/14　C

請求項の数 31　(全 19 頁)

(21)出願番号　特願平8-531247
(86)(22)出願日　平成8年4月12日(1996.4.12)
(65)公表番号　特表平11-503665
(43)公表日　平成11年3月30日(1999.3.30)
(86)国際出願番号　PCT/US1996/005146
(87)国際公開番号　WO1996/032199
(87)国際公開日　平成8年10月17日(1996.10.17)
審査請求日　平成15年4月14日(2003.4.14)
(31)優先権主張番号　08/422,598
(32)優先日　平成7年4月14日(1995.4.14)
(33)優先権主張国　米国(US)

(73)特許権者
ガンブロ　ビーシーティ、　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　８０２１５　コロラド、　レイクウッド、　ウエスト　コリンズ　アベニュー　１０８１１
(74)代理人
弁理士　浅村　皓
(74)代理人
弁理士　浅村　肇
(74)代理人
弁理士　森　徹
(74)代理人
弁理士　吉田　裕

最終頁に続く

(54)【発明の名称】単核細胞のような散在成分の溢式収集

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
流体中の希薄成分を分離収集するための液体の遠心処理装置であり、前記希薄成分はより重い密度の成分からなる第二層と軽い密度の成分からなる第三層との間に形成された比較的薄い第一層として層状分離され、境界面は前記第三層と濃密成分層との連接部に形成されるような遠心処理装置であって、
分離容器（３００）と、
前記分離容器（３００）に前記流体を導くために前記容器に連結された入口ライン（１４）と、
前記流体の成分を前記分離容器（３００）内で層状分離された層となるように分離するために、前記分離容器（３００）が取付けられる遠心装置（１５）と、
前記分離容器（３００）内に配置されたバリヤ（３０３）と、
重い成分の前記第一層および第二層を遮断するが、前記第三層は前記バリヤ（３０３）を越えて流れるようにして、定常状態で前記バリヤ（３０３）上の第一位置またはその近くに前記境界面のレベル位置を保持するための第一制御手段と、
前記容器（３００）内の前記境界面のレベル位置を上昇させるための第二制御手段と、
堆積段階の間に定常状態の境界面のレベル位置を維持して前記バリヤ（３０３）の前方に前記希薄成分の溜りを形成できるように前記第一制御手段を制御し、溢れ段階の間には前記境界面を上昇させて、前記バリヤ（３０３）を越えて前記希薄成分の前記溜りを溢れさせるように前記第二制御手段を制御するシステム制御手段（２６）と、

重い成分の分離層を前記容器（３００）から離れることができるようにさせる前記容器（３００）からの第一出口ライン（１６）とを含み、
前期第一出口ライン（１６）の重い成分の流れを遅くするか逆転させることで前記容器（３００）内の前記境界面のレベル位置を上昇させる手段を前記第二制御手段が含んでおり、また遠心処理装置は、
収集貯槽（３０８）と、
前記収集貯槽（３０８）および前記容器（３００）に連結されて前記バリヤ（３０３）を越えて溢れた希薄成分を収集するための収集ライン（２１）とをさらに含んでいる遠心処理装置。

【請求項２】
前記容器（３０３）が連続したオープンループを形成している円周状チャンネルであり、前記チャンネルは第一部分（３０１）と、第二部分（３０６）と、堰（３０２）と、前記バリヤ（３０３）とを含み、前記第一部分（３０１）は前記入口ライン（１４）に連結され、前記第一部分（３０１）は一端が前記バリヤ（３０３）で終端し、他端が前記堰（３０２）で終端しており、前記第二部分（３０６）は一端が位置する前記バリヤ（３０３）から他端が位置する前記堰（３０２）まで延在しており、前記第一出口ライン（１６）は前記堰（３０２）の近くで前記チャンネルに連結され、前記第二出口ライン（１８）が前記第二部分（３０６）にて前記チャンネルに連結されており、前記収集ライン（２１）は前記バリヤ（３０３）の近くで前記第二部分（３０６）に連結され、前記第二部分（３０６）は凹部（３０８）を有し、前記収集ライン（２１）は前記凹部（３０８）内に位置されている請求の範囲第１項に記載された遠心処理装置。

【請求項３】
前記第二制御手段は前記容器（３００）に液体を供給するために前記入口ライン（１４）に入口ポンプ（１３）を含んでおり、また前記入口ポンプ（１３）を減速または停止させる手段をさらに含んでいる請求の範囲第１項または第２項に記載された遠心処理装置。

【請求項４】
前記第二出口ライン（１８）が前記軽い成分の前記分離層を前記容器（３００）から離れさせるようにするためのものである請求の範囲第３項に記載された遠心処理装置。

【請求項５】
前記液体が全血であり、前記希薄成分が本質的に白血球を含んでなり、前記重い成分は本質的に赤血球を含んでなり、前記軽い成分が本質的に血漿、および（または）血小板と血漿を含んでなる請求の範囲第１項、第２項、第３項または第４項に記載された遠心処理装置。

【請求項６】
前記第一出口ライン（１６）が前記境界面のレベル位置よりも下方位置で前記分離容器（３００）に連結されており、堆積段階の間に前記第一出口ライン（１６）から前記重い成分を流出させ、また前記溢れ段階の間に前記容器（３００）に流入させて前記境界面のレベル位置をその下方から上昇させるために、前記システム制御手段（２６）は前記第一制御手段および前記第二制御手段を制御する請求の範囲第１項に記載された遠心処理装置。

【請求項７】
前記第一出口ライン（１６）が前記バリヤから前記分離容器（３００）の円周方向へかなりの距離を隔てて前記分離容器（３００）に連結されている請求の範囲第１項または第６項に記載された遠心処理装置。

【請求項８】
前記入口ライン（１４）が前記バリヤ（３０３）から前記分離容器（３００）の円周方向へかなりの距離を隔てて前記容器（３００）に連結されており、前記容器（３００）は前記入口ラインの連結部から前記バリヤ（３０３）へ向かって遠心半径が減少する壁を有している請求の範囲第１項または第７項に記載された遠心処理装置。

【請求項９】
前記容器（３００）内の前記境界面のレベル位置を降下させる第三制御手段を含み、

前記境界面のレベルを前記定常状態のレベル位置へ降下させて前記希薄成分の溢れを終了させる前記溢れ段階の終了時に、前記システム制御手段（２６）が前記第三制御手段（２６）を制御し、その後に前記希薄成分の前記溜り再堆積する堆積時に前記定常状態のレベル位置を保持するために前記システム制御手段（２６）が第一制御手段を制御する請求の範囲第１項または第５項に記載された遠心処理装置。

【請求項１０】

前記第三制御装置は前記入口ライン（１４）の流量を増大させる手段を含んでいる請求の範囲第９項に記載された遠心処理装置。

【請求項１１】

前記容器（３００）は凹部（３０８）を含み、前記バリヤ（３０３）から前記凹部（３０８）へ向かって遠心半径の増大する外壁を有しており、前記収集ライン（２１）は前記凹部（３０８）内に配置されている請求の範囲第７項または第１０項に記載された遠心処理装置。

【請求項１２】

前記容器（３００）が第二出口ライン（１８）をさらに含み、また前記凹部（３０８）から前記第二出口ライン（１８）へ向かって遠心半径の減少する外壁を有している請求の範囲第１１項に記載された遠心処理装置。

【請求項１３】

前記希薄成分が本質的に白血球を含んでなり、前記重い成分は本質的に赤血球（RBCs）を含んでなり、前記軽い成分が本質的に血漿、および（または）血小板と血漿を含んでなり、前記第一出口ライン（１６）は主に赤血球で充満され、前記第二出口ライン（１８）は主に血漿で充満され、前記収集ライン（２１）は溢れ段階の間に主に白血球で充満される請求の範囲第１２項に記載された遠心処理装置。

【請求項１４】

第一および第二制御手段は、全血を制御可能な流量で前記容器（３００）へ供給するために前記入口ライン（１４）に連結された入口ポンプ（１３）と、前記容器（３００）からの血漿（$Q_{血漿}$）の流出の流量制御を確立するために前記第二出口ライン（１８）に連結された血漿ポンプ（１９）と、前記容器（３００）からの白血球（$Q_{収集}$）の流出の流量制御を確立するための収集ポンプ（２２）とを含んでいる請求の範囲第１３項に記載された遠心処理装置。

【請求項１５】

前記第二制御手段が前記溢れ段階の間に前記入口ポンプ（１３）の作動を停止させる手段を含み、前記収集ライン（２１）の白血球の濃度の制御が前記システム制御手段によって管理され、第二出口ライン（１８）（血漿）の流量に対する収集ライン（２１）の流量比を次式にしたがって変化させて行われる請求の範囲第５項または第１４項に記載されたに記載された遠心処理装置。

$$収集ライン濃度＝\frac{(Q_{血漿}+Q_{収集})Hct_{赤血球ライン}}{Q_{収集}}$$

Ｈｃｔは赤血球ラインにおけるヘマトクリットである。

【請求項１６】

境界面が上昇する速度を次式に従って確定する手段を前記システム制御手段（２６）にさらに含む請求の範囲第５項または第１５項に記載された遠心処理装置。

境界面の形成速度＝（$Q_{血漿}+Q_{収集}$）$Hct_{赤血球ライン}$

【請求項１７】

前記第一制御手段が前記バリヤ（３０３）から前記分離容器（３００）の円周方向へかなりの距離を隔てて配置されている請求の範囲第１６項に記載された遠心処理装置。

【請求項１８】

前記収集ライン（２１）の赤血球の存在を監視するために前記収集ライン（２１）に隣接配置された前記システム制御手段（２６）に連結された監視手段をさらに含む請求の範囲

第１７項に記載された遠心処理装置。
【請求項１９】
前記溜りの形成の監視および境界面のレベル位置の監視のために前記バリヤ（３０３）に隣接配置された前記システム制御手段（２６）に連結された光学部材をさらに含む請求の範囲第１７項に記載された遠心処理装置。
【請求項２０】
境界面のレベル位置の監視のために前記バリヤ（３０３）に隣接配置された前記光学部材を前記第一制御手段がさらに含む請求の範囲第１項に記載された遠心処理装置。
【請求項２１】
前記収集ライン（２１）に連結された血小板用の収集槽（３０８）をさら含み、前記収集槽は１回以上の堆積段階の間に血小板を収集するために使用される請求の範囲第１４項に記載された遠心処理装置。
【請求項２２】
１回以上の堆積段階の間に血漿を収集するために使用される第二出口ライン（１８）に連結された血漿槽（２０）をさらに含む請求の範囲第１４項に記載された遠心処理装置。
【請求項２３】
より重い密度の成分からなる第二層と軽い密度の成分からなる第三層との間に位置する第一層として層状分離され、境界面は前記第三層と濃密成分層との連接部に形成されるような流体中の希薄成分を収集する遠心分離法であって、
内部のバリヤ（３０３）、前記液体を前記容器（３００）に導入する入口ライン（１４）、前記希薄成分を収集する収集ライン（２１）、前記重い成分を流出させる第一出口ライン（１６）、および前記軽い成分を流出させる第二出口ライン（１８）を有し、遠心装置と共使用する分離容器（３００）を準備する段階と、
制御システムを準備する段階と、
前記希薄成分を収集するために、堆積段階および溢れ段階を含めて前記制御システムで前記遠心装置を作動させる段階と、
堆積段階の間、前記希薄成分が溜りを形成する一方、前記軽い成分は前記バリヤ（３０３）を越えて流出し、前記重い成分は前記第一出口ライン（１６）を通って前記容器（３００）から流出させるために、前記バリヤ（３０３）の位置に定常状態で境界面レベル位置を確定する段階と、
溢れ段階の間は、前記バリヤ（３０３）を越えて前記収集ライン（２１）へ前記溜りを溢れさせて前記希薄成分を収集するために、前記境界面の下方から境界面のレベル位置を上昇させるために準備する段階とを含む遠心分離法。
【請求項２４】
境界面のレベル位置を上昇させる段階が、前記入口ライン（１４）を通る液体の供給を停止して前記第一出口ライン（１６）を通る前記重い成分の流れを逆転させることで達成され、また前記第一出口ライン（１６）のポートは前記境界面のレベル位置の下方で前記容器（３００）に備えられている請求の範囲第２３項に記載された遠心分離法。
【請求項２５】
前記境界面のレベル位置を上昇させる段階が、前記バリヤから前記容器（３０３）の方向へかなりの距離を隔てた位置で前記容器（３００）に重い成分を加える段階を含み、これにより前記溜りの乱れを最小限にするようになされた請求の範囲第２３項または第２４項に記載された遠心分離法。
【請求項２６】
定常状態の境界面のレベル位置を確定する段階が、前記バリヤから前記容器（３００）の方向へかなりの距離を隔てた位置で前記レベル位置を監視し、これにより前記重い成分のレベル位置を監視位置に保持し、希薄成分の溜りを前記バリヤ（３０３）の位置に形成できるようにすることで達成される請求の範囲第２３項または第２５項に記載された遠心分離法。
【請求項２７】

前記バリヤ（３０３）から前記容器（３００）の方向へかなりの距離を隔てた位置に前記入口ライン（１４）を配置することで前記溜りが堆積され、液体が前記バリヤ（３０３）の位置へ流れて達するまでの時間の遠心作用によって前記液体から前記希薄成分が分離される請求の範囲第２３項または第２６項に記載された遠心分離法。

【請求項２８】

前記液体が全血であり、前記希薄成分が本質的に白血球で、前記軽い成分が本質的に血漿で、前記重い成分は本質的に赤血球である請求の範囲第２３項または第２７項に記載された遠心分離法。

【請求項２９】

収集された希薄成分の濃度を次式にしたがって調整する段階をさらに含む請求の範囲第２３項または第２８項に記載された遠心分離法。

$$\text{収集ライン濃度} = \frac{(Q_{\text{血漿}} + Q_{\text{収集}})\ Hct_{\text{赤血球ライン}}}{Q_{\text{収集}}}$$

$Q_{\text{血漿}}$は第二出口ラインを通る流量、$Q_{\text{収集}}$は収集ライン（２１）を通る流量、$Hct_{\text{赤血球ライン}}$は第一出口ライン（１６）のヘマトクリットである。

【請求項３０】

境界面のレベル位置の上昇する速度が次式にしたがって制御される請求の範囲第２３項または第２９項に記載された遠心分離法。

境界面の形成速度＝（$Q_{\text{収集}}$＋$Q_{\text{血漿}}$）$Hct_{\text{赤血球ライン}}$

【請求項３１】

溢れ段階の終了時に前記定常状態へ向けて前記境界面のレベル位置を降下させるようにシステムを準備する段階と、

所望体積量の希薄成分を収集するまで、多数回にわたって堆積段階および溢れ段階を繰返すようにシステムを準備する段階とをさらに含む請求の範囲第２３項または第３０項に記載された遠心分離法。

【発明の詳細な説明】

本発明は、全血のような液体を遠心処理する装置に係わり、特に全血中の単核細胞（mononuclear cell）成分のように液体中に散在して希薄な核種の収集法の改良に関する。

発明の背景

遠心法は、血液を各種成分に分離する目的で全血を処理するのに使用される技術である。血液物質（product）に人が触れることを減少し、また異なる血液供給源の相互感染を減少させるために、遠心装置は血液が循環される廃棄式のプラスチック容器が取付けられるようにできる。この容器はモータで駆動される遠心機における取付具に嵌め込まれる。代表的な容器は、遠心機により比重の異なる分離層に分離された血液成分を取出すために、幾つかの出口が異なる半径位置に配置されている円周状の分離チャンネルである。成分中の最も比重の大きい赤血球はチャンネル内で半径方向最外位置に層状に分離されるのに対し、血漿の分離層は比重が最小の成分であるので半径方向最内位置の層となる。軟膜（buffy coat）と呼ばれる比較的薄い層は白血球および血小板を含み、赤血球層と血漿層との間に位置される。軟膜内で血小板は血漿側に層状分離され、白血球は赤血球の側に層状分離される。遠心速度により血小板は血漿内に分散されることもある。

遠心機における回転取付具に嵌め込まれる廃棄式プラスチック容器は、血液供給源および収集槽に対して廃棄式チューブセットで連結される。このような方法において、遠心機の機器そのものは血液および廃棄式チューブセットと接触されないように保たれ、分離チャンネルは一回使用された後に捨てられる。血液供給源はドナー（提供者）または患者から直接に流される全血とされるか、予め提供されている骨髄または血液とされることができる。

血液成分は患者から収集され、保存、恐らくは冷凍され、そして数日後または数年後になることすらあるが患者に再注輸される。白血球の単核細胞はしばしば収集され、上述の方法で保存され、癌のような病気の処置として患者に再注輸される。ドナーの血液を使用す

る代わりに患者本人の血液から得た血液成分を患者に戻すのが明らかに有利である。人が受入れることのできる最も安全な血液はその人本人の血液（自己血液）であることには一般に異論がない。自己血液の使用は、輸血により伝搬する病気や、輸血による発熱／アレルギー反応に曝される危険性を軽減する。白血球を収集するために、軟膜から白血球を採集するためにアフェレシス・システム（apheresis system）が開発された。特に白血球の単核細胞はリンパ球、単球（monocyte）、前駆細胞（progenitor cell）および幹細胞を含んで採集される。本明細書では、白血球および単核細胞の呼称は相互に交換できるように使用されている。単核細胞を収集する効率の良い機器は米国特許第４６４７２７９号に記載されている。しかしながら効率の良い機器を使用しても、単核細胞の収集は困難である。何故なら、全血液量中にほんの僅かな量しか含まれていないからである。標準的な単核細胞量を有する標準的な体格の患者のばあい、単核細胞の全量は約１．５ミリリットルであり、これは全血液量の約０．０３％である。この結果、全血を遠心分離したときに非常に薄い単核細胞層が赤血球層と血漿層との間に現れるだけである。

この薄い単核細胞層は、単核細胞の採集を行うときに課題を与えている。単核細胞の全血中の割合があまりにも少ないので、上述で参照した機器は赤血球の出口ポートの上流位置でチャンネルに配置されたバリヤを含んでいる。白血球収集ポートがバリヤの前に配置されることで、単核細胞はこのバリヤに堆積される。白血球収集ポートを通して収集された量は実際には白血球、血小板、血漿および赤血球の混合物である。収集処理において、血液の流入流量と血漿の流出流量とを調整するために、必要ならば手動または自動にて単核細胞層の位置を微調整して単核細胞層が白血球収集ポートと位置の一致を得るようにするために、収集物の色を監視することができる。通常、オペレータは血漿ポンプの速度に非常に微細な調整を行って、単核細胞層を収集に適するように位置決めする。手動監視が使用されるならば、オペレータは収集チャンネルを離れる流体の色によって単核細胞層の位置を判断し、収集ポートに所望の色を与えるように調整が行われる。例えばオペレータが赤みがかった色合いを観察し始めたならば、収集ラインでの赤血球の存在が照明される。このばあい、分離チャンネルの血漿量を増加して、赤血球層を下方へ移動できるようにすることが必要である。これは血漿ポンプの速度を減じることで達成できる。血漿ポンプの速度に対して微調整が行われて、１分間当たり０．１ミリリットル程度で収集量の調整が行われる。ポンプ速度における僅かな変化はあり得ることであるが、血漿ポンプ速度の変化を過大修正または過小修正して、ポンプ速度の更なる変化を余儀なくされることは特異なことではない。この結果、手動または自動による境界面域装置は、正しい境界面位置に対する振動的な追従を生じて、単核細胞層の修正における効率および精度の低下を生じることになる。他の問題は、この方法はポンプ速度が変化される毎にその変化が実効するまで時間を必要とする、すなわち新しい境界面位置が確定されるまで時間を必要とすることである。収集体積量の不透明度を判定し、また血漿ポンプ速度を自動調整するために光学的監視装置の使用も試もられてきた。しかしながら装置の自動化を図ることを意図したこのような技術もまた制御点付近における振動の問題を生じ、一般に手動で作動されるときには装置に対する改善はほとんど得られていない。基本的にこれらの問題点のすべては、ターゲット核種が希薄で非常に薄い分離層を形成し、これを他の成分から採集分離することは困難であるという事実の結果として、および流量変化に対する境界面の応答が比較的遅いという理由によって生じている。

境界面を適当に位置決めすることが困難なために、比較的広い幅で体積量を白血球ポートから収集して、薄い白血球層が収集されたとの保証を得るようになされる。しかしながら広い幅での収集により、かなりの量の血漿、血小板または赤血球も白血球と一緒に収集されてしまう。このような技術は、層状分離された白血球のほとんどすべてを収集するという点では効率的であるが、純度が低くなる。同様に、収集体積量も必要とされる以上に増大する。単核細胞の高い生産性すなわち効率を得ること、および高純度な少体積量の収集を達成するという目標は、薄い層状分離された白血球層のみを抽出することが困難であるために幾分ながら相容れないものである。一般に体積量および純度は、収集効率を高めるために犠牲となっている。

さらに説明し図示するために、白血球は単核細胞および多形核細胞（顆粒球を含む多形核細胞）で構成されている。多形核細胞は一般には健康人の白血球の小さな副集団（sub-population）であるが、体が病気に反応してさらにかなりの量の副集団に成長する。全血が遠心分離されると、遠心速度に応じて薄い軟膜層自体がさらに薄い単核細胞層および薄い血小板層に層状分離される。顆粒球は軟膜内にあって赤血球側に見出され、また赤血球層内でかなりの量の集団で見出される。患者が顆粒球の採集を必要とされるばあい、一般に患者に対して顆粒球を赤血球層から軟膜内へと移動させて赤血球および単核細胞の間に薄い層を形成させることのできる薬品が与えられる。顆粒球の採集では、単核細胞も収集することが必要とされてきた。何故ならそれらの層が別々に採集するには薄すぎるからである。かなりの体積量の赤血球および血漿もこの過程で収集されてしまう。

本発明の目的は、高い効率のもとで高純度で少ない体積量の収集を行うために、血液中の単核細胞のように遠心分離された液体中の希薄な分離成分層を採集するための改良された収集方法を提供することである。

発明の概要

要約すれば本発明は、全血を遠心分離したときに赤血球と血漿との間に薄い分離層を形成する単核細胞のように、液体中に希な核種の収集に関する。本発明では、単核細胞層および赤血球層の両者を遮断する位置にて遠心分離チャンネル内にバリヤが配置される。分離チャンネルを通して血液がポンプ圧送されると、単核細胞の溜り（pool）がバリヤの前側に形成され、この溜りが蓄積して貯槽体積量を形成する。これによりプロセス流量パラメータが変化し、赤血球層がこれによって上昇して単核細胞の貯槽を持上げるようになし、単核細胞の流体がバリヤを超えて溢れるようにさせる。この溢流はバリヤより下流側で分離チャンネルに位置されている凹部（well）に流入する。収集ラインはこの凹部から単核細胞を収集バッグへ移動させるために位置決めされる。一旦開始されたならば、収集は単核細胞の溜りから望まれる一部分の体積量を移動させることのできる十分な時間にわたって継続される。繰返し作動が使用されるならば、収集はバリヤ後方で境界面レベルを再確定し、溜りを再度形成するのに十分な時間で終わる。収集が再開され、単核細胞貯槽の形成および溢れからなる間歇的な収集作動は、処理すべき全血体積に達するまで継続される。

本発明の収集処理はまた顆粒球の収集にも有用で、一般的には、採集すべき層が重い比重と軽い比重との間に形成される場合、遠心分離された液体中の層状分離されたあらゆる希な核種を採集するのにも有用である。

いかなる単核細胞収集処理においても、高純度の単核細胞物質、すなわち赤血球、多形核細胞、または血小板が混ざっていない物質を採集することが望ましい。また、様々な臨床的な要求条件に合致する様々な濃度の単核細胞を、すなわち単核細胞に所望量の血漿を加えて収集するできることが望ましい。さらに、患者またはドナーが機械に連結される時間を最小限に止めることが望ましい。本明細書で本発明は、これまでの収集装置および方法よりも優れたこれらの重要な利点を与える。本明細書で本発明はこれまで血小板収集に関して使用されていた特定の分離チャンネルの幾何形状を使用して、単核細胞の採集に重大な利益を与える。収集純度を達成するにおいて本発明のキーとなる特徴は、単核細胞が赤血球の表面上で浮遊する連接位置よりも十分に下方位置においてチャンネルに赤血球を追加することによって単核細胞貯槽を上昇させ、単核細胞がバリヤの上を越えて溢れるようにすることである。この方法において、単核細胞貯槽は上昇される際に乱れのない状態を保持する。この特徴は、赤血球出口ライン中の流れ方向を逆転し、単核細胞の溜りよりも十分に下方位置に出口ポートを配置することで達成される。赤血球出口ラインの流れ方向の逆転は、チャンネルへ向かう入口流れを減速するか停止させることで達成することができる。また、赤血球出口ポートを単核細胞の溜りから或る十分な距離を隔てて位置決めして溜りの乱れを最小限に止め、乱れの結果として生じる赤血球との混じりを最小限に抑えるようにすることが有利である。

大きくて純粋な単核細胞の溜りを可能な限り素早く形成するために、入口ポートはバリヤからかなりの距離を隔てて配置される。この方法において、赤血球から単核細胞を遠心分

離するための十分な時間は、入口の血液が入口ポートからバリヤへ向けて移動するときに与えられる。
バリヤを越えて溢れた後には単核細胞を収集するための凹部が備えられており、血漿はこの収集凹部を越えて血漿出口ポートへ向かって継続して流れる。単核細胞を収集するための凹部の配備は収集体積量の純度を高め、また収集出口ポートと別の血漿出口ポートの配備は、収集濃度を所望レベルにまで変化させるために収集および血漿ポンプの速度比の調整を可能にする。
処理堆積体積量は、バリヤの前方に所望される単核細胞体積量を蓄積するために必要とされる全血の量である。処理堆積体積量は単核細胞計算値、入口流量、分離係数、およびバリヤおよびチャンネルの幾何形状の関数である。分離係数は遠心速度、血液流量、および分離チャンネルの幾何形状の関数である。
収集過程において、プロセスパラメータが患者またはドナーからの入力データに応じて確定され、堆積体積量を形成するのに要する時間が計算される。また、溢れ時間または溢れ体積量が所望される収集濃度とともに確定される。境界面が確定され、堆積段階に進み、境界面を定常状態に保持するとともに、バリヤの位置で単核細胞の溜りを形成する。溜りが完全に形成されると溢れ段階に進み、境界面レベルを上昇させ、バリヤを越えて溜りを溢れさせて収集凹部に送り込み、この凹部から収集ラインおよび収集ポンプにより貯槽へ取出されるようにする。一回の溢れによって得られる堆積体積量が要求条件に合致するには不足しているばあいには、定常状態の境界面が再度確定されて、新たな堆積および溢れのサイクルに進む。この方法は必要なだけ繰返されて所望量の単核細胞を収集するようになされる。
堆積段階において、血小板および血漿はバリヤを越えて流れ、血小板は凹部内に堆積される。血小板は収集ポンプによって収集ラインを通して取出され、血漿ポンプにより取出された血漿と一緒にドナーへ戻される。望まれるならば、血小板の一部は血漿の一部とともに収集されることができる。このようにして、単核細胞は溢れ段階の間に収集され、血小板は堆積段階の間に収集される。血漿はいずれの段階でも収集できる。
溢れ段階の間に境界面を上昇させる好ましい技術は、チャンネルに通じる入口流量を休止することである。血漿および収集ポンプ速度比は所望される収集濃度を堆積するために変化できる。所望の溢れ体積量に達したときに堆積段階における入口流量に戻され、またできるだけ速く定常状態の蓄積段階へ戻され、収集ポンプおよび血漿ポンプは一次的に休止され得る。
センサーがバリヤ部分および（または）収集ラインに配置されるならば、堆積体積量および溢れ体積量の動的制御が使用できる。
溢れ段階の間に境界面を上昇させる他の技術は血漿の出口流量を増大させることであり、これは血漿ポンプ速度を増速することで容易に達成できる。
【図面の簡単な説明】
本発明の上述したおよび他の特徴および目的、およびそれらを達成する方法はさらに明白となり、本発明自体は添付図面に関連した本発明の実施例の以下の説明を参照することで最もよく理解されよう。添付図面の簡単な説明は以下の通りである。図１は、本発明を利用する単核細胞収集装置のブロック線図である。
図２は、図１の収集装置で使用する制御装置の構成部材を示している。
図３は、本発明で使用する円周状の分離チャンネルの形状を示している。
図４Ａ～図４Ｃは、層状分離された血液成分の位置を示す図面である。図４Ａは蓄積段階において希薄な成分が溜りを形成した後の層状分離状態を示している。図４Ｂは溢れる直前の層状分離状態を示し、図４Ｃは溢れが開始した時点での層状分離状態を示している。
図５は、図１の収集装置で使用する本発明の制御装置のフローチャートである。
図６は、それを越えて溢れを生じるバリヤにおける光学センサーポートの位置を示している。
簡単な説明
図面を参照すれば、同じ符号は同じ部分を示し、符号は同じ部材を示すために一つの図だ

けでなく多数の図に表記されている。
図１は血液成分を収集するための遠心装置のブロック線図である。この装置は本発明の譲受人が製造販売しているＣＯＢＥ（登録商標）「ＳＰＥＣＴＲＡ」（トレードマーク）である。血液供給源１０はドナーまたは患者で、そこから通常はドナーまたは患者の腕の一カ所に位置された針を経て全血が取出される。これに代えて、カテーテルを一つの大静脈に位置することができる。血液供給源１０は予め収集しておいた全血または骨髄とされることもでき、貯槽から図１の装置で利用できるようになされる。血液または骨髄が予め収集されているならば、その収集時に抗凝固剤の溶液が既に全血または骨髄に添加されているので、抗凝固剤の添加はこの収集手順において必要でないこともある。しかしながら血液がドナーまたは患者から直接に抜出されるならば、抗凝固剤供給源１１が全血に対して必要量の抗凝固剤溶液を与えるのに使用される。抗凝固剤溶液の注入箇所は針またはカテーテルのすぐ近くに位置されるのが好ましい。以下の説明では、単核細胞収集方法は血液を単核細胞供給源として使用することで説明される。この説明は骨髄が使用されるばあいも適当である。
全血は血液供給源１０から入口ポンプ１３により入口ライン１２を通して抜出され、ライン１４を通して遠心装置１５に送られる。少量の血漿とともに赤血球が遠心装置から出口ライン１６を通して取出されて戻りライン１７へ送られ、ドナーまたは患者に戻されるようになされる。血漿は血漿ポンプ１９により出口ライン１８を通して取出され、同様に戻りライン１７を通してドナーまたは患者に戻されるようになされる。この代わりに、血漿の一部を収集すべきであるならば、組付けられた弁１９’がその流体を血漿収集槽２０へ導く。白血球は遠心装置から収集ポンプ２２によって出口ライン２１を経て取出される。収集ポンプ２２の出口は白血球収集槽２３に連結されている。白血球が収集されていないときに、血小板が出口ライン２１および収集ポンプ２２を通して取出される。血小板の一部は血小板収集槽９で採集することができ、または血小板はライン８および戻りライン１７を経てドナーに戻されることができる。
この装置の準備のために、貯槽２４の生理食塩水が使用される。収集処理が開始される前にクランプ２４’が開かれて、入口ポンプ１３が生理食塩水をチャンネルへ、また装置の配管セットにおける各種ラインを通してポンプ圧送できるようにする。生理食塩水はその処理が終了したときにラインから血液を洗い流すために使用することもできる。
制御装置２６は装置における弁、ポンプ、遠心装置などの各種部材を制御する。いずれかの適当形式の制御技術を使用できるが、マイクロプロセッサを基本とした装置を使用して、制御プログラムで与えられる柔軟性によってシステムパラメータを容易に変化できるようにすることが好ましい。図２はそのような装置を示している。
図２は、読出し専用記憶素子（ＲＯＭ）２０１、ランダムアクセス記憶素子（ＲＡＭ）２０２、制御パネル２０３、ディスプレイ装置２０４、およびプログラム可能読取り専用記憶素子（ＰＲＯＭ）２０５に連結されたマイクロプロセッサ２００を示している。制御パネル２０３は血漿ポンプ速度や他の装置パラメータを変化させるためのキーボードまたはキーパッドを含んでなる。望まれるならば、アナログ入力制御装置がアナログ－デジタルコンバータとともにパネルで使用することができる。ディスプレイ装置２０４は制御パネルから独立した監視装置とされるか、パネルに組込まれることができる。ディスプレイ装置は、装置の作動中にオペレータに装置情報を与えて、装置パラメータの手動調整ができるようにするために使用される。
読出し専用記憶素子（ＲＯＭ）２０１は初期化プログラムを含んでおり、マイクロプロセッサはすべての制御部材の使用可能状態をチェックすることができ、またその他に要求される作動のすべてを遂行できるように制御装置を準備することができる。ランダムアクセス記憶素子２０２は書込み可能な記憶素子であり、遂行すべき特定処理にしたがって装置を作動させるための制御プログラムを書込まれる。ランダムアクセス記憶素子２０２はマイクロプロセッサ２００とデータの迅速な交換を行う。プログラム可能読取り専用記憶素子（ＰＲＯＭ）２０５は制御プログラムを含んでいる。例えば、単核細胞収集が行われるばあい、その処理の制御プログラムはプログラム可能読取り専用記憶素子（ＰＲＯＭ）２

０５に含まれる。この制御プログラムはランダムアクセス記憶素子２０２に転送されるか、直接にマイクロプロセッサ２００とインターフェースを取られることができる。マイクロプロセッサ２００からの入出力ライン２０６は装置の各種弁、監視装置およびポンプに関する部材を制御するために導かれる。ＣＯＢＥ（登録商標）「ＳＰＥＣＴＲＡ」（トレードマーク）で使用されるような制御装置においては、図２に示すような幾つかのマイクロプロセッサを基本とした装置が使用されて、装置故障の可能性を減少させるために必要とされる冗長性（redundancy）を備えるようになされており、これは医療器械では非常に重要なことである。制御機能はマイクロプロセッサ間で分かれており、ポンプ制御のために主応答性を有するもの、センサー信号処理のために主応答性を有するものなどである。

図３は、ＣＯＢＥ（登録商標）「ＳＰＥＣＴＲＡ」（トレードマーク）で使用されている円周状の分離チャンネルの図面であり、本発明による白血球収集のために全血をその成分に分離するために使用される。図３に示されたチャンネルは血小板収集には既に使用されていて、米国特許第４７０８７１２号に記載されており、これは参照することで本明細書に組入れられる。分離チャンネル３００は使い捨て部材であり、遠心装置１５の内部に配置される。入口ポンプ１３が全血を入口ライン１４を経て分離チャンネル３００の第一段分離部分３０１へ供給する。第一段分離部分３０１は堰３０２から遷移部分すなわちバリヤ部分３０３へ向かって僅かに半径方向に縮小されている。参照する半径は遠心装置の中心点Ｃからチャンネルまでの距離である。バリヤ部分は急激に半径を縮小して、バリヤ頂部３０５の位置で第二段分離部分３０６へ連結される。

第二段分離部分３０６は、半径が増大する外壁を有する第一部分３０７を含み、これは収集凹部３０８で終端している。出口ライン２１の端部は収集凹部３０８に位置され、収集ポンプ２２に連結されている。第二段分離部分３０６の残る部分は収集凹部３０８から血漿出口ライン１８へ向かって半径を縮小され、出口ラインは分離チャンネル３００のいずれの箇所よりも最小半径の位置にある。

赤血球出口ライン１６は堰３０２の後方で分離チャンネル３００のいずれの箇所よりも最大半径の位置でチャンネル内に位置されている。堰は分離された濃密な成分である赤血球で完全に満たされることのできる領域を形成しており、これにより軽量質相の血漿および血小板の流れがそこを越えて流れるのを防止する。境界面を制御する位置決めライン３０９は赤血球出口ライン１６の近くに配置され、その出口ライン１６と連結部３１０において連結されている。

重い成分の赤血球および白血球と、軽い血液成分である血漿および血小板との境界面は、一般に位置決めライン３０９を含む流体制御によってポート３１１の半径位置に確立される。この制御機構は定常状態の作動時に境界面の制御を行うのに有効である。何故なら、境界面が半径方向内方へ移動したならば赤血球成分はポート３１１を経て制御チューブすなわち位置決めライン３０９へ流入を開始するからである。位置決めライン３０９はこれにより減少される。何故なら、赤血球成分は血漿成分よりも粘性が大きいからである。流量の減少はチャンネル内での血漿成分の増大をもたらし、これにより境界面を半径方向外方へ向かって押圧して、適当位置に戻す。同様に、境界面がポート３１１から半径方向外方へ移動したならば、粘性の小さい血漿成分が位置決めライン３０９を流れることでこの制御チューブを通る流量を増大させ、これにより境界面をポート３１１の位置へ戻すようにする。

分離チャンネル３００の特徴は、バリヤ部分３０３における分離チャンネル３００の外壁の点３１１’の位置にある。点３１１’はポート３１１と同じ半径値を有しており、したがって赤血球および白血球と軽い成分との基準境界面位置をバリヤ部分３０３の箇所に与える。しかしながら赤血球は、チャンネル縁部の外側で境界面位置の下側に位置される赤血球の出口ライン１６を経てチャンネルを出なければならないので、それより軽い白血球はバリヤと堰との間に残されて、出ることはない。この結果、若干小さい密度の白血球およびほとんどの単核細胞の溜りがバリヤ部分３０３の箇所に形成され、本明細書で発明者が教示するように採集できる。

米国特許第４７０８７１２号に説明されているように、また本明細書でさらに説明するよ

うに、ライン１４から第一段分離部分３０１へ流入する血液の密度は入口領域における分離成分の平均密度よりも小さく、それ故に流入する血液は小さいチャンネル半径位置へ向かって時計方向に流れを生じる。遠心作用により、赤血球と白血球の一部分とは密度が大きいために半径方向外方へ沈殿され始める。そのようになされると、この部分の平均密度は増大し、その部分の時計方向へ向かう流れは減少され、最終的に停止される。パックされた赤血球および白血球の部分はその後第一段分離部分３０１の外壁に沿って堰３０２へ向かって反時計方向へ流れ、堰の箇所から赤血球の出口ライン１６によって取出される。赤血球および白血球の分離が終わった後に第一段分離部分３０１の箇所でバリヤ部分３０３の近くに残留する血液成分は白血球（単核細胞）の一部、血小板、および血漿である。血漿および血小板はバリヤ部分３０３のバリヤ頂部３０５を越えて時計方向へ向かう流れを継続する一方、赤血球よりは僅かに密度の小さい白血球（単核細胞）はバリヤ後方の溜りに収集される。赤血球および白血球よりも格段に密度の小さい血小板と血漿との混合物はバリヤ部分３０３を越え、第二段分離部分３０６を通る時計方向へ向かう流れを継続する。

図３から、ライン１４はバリヤ部分３０３から十分離されていることが見て取れる。したがって全血がチャンネルに流入して時計方向へ移動を開始すると、赤血球は分離されて外壁に沿って収集され始める。混合物が時計方向へ移動するとき、密度の小さい白血球（単核細胞）の一部は赤血球の表面上に溜りを形成する。上述したように、赤血球はバリヤ部分３０３の付近で流れ方向を変化して、チャンネルの外壁に沿って赤血球の出口ライン１６へ向かって移動する。赤血球の表面上に形成された単核細胞の溜りは、バリヤ部分３０３の位置で溜りとして堆積する。

単核細胞を赤血球から分離されて溜まりを形成する時間を与えるために、入口ポートから十分に距離を隔てた位置に単核細胞の溜りを位置決めすることが重要である。それ故に、この好ましいチャンネル構造は入口ライン１４を図３に示されるようにバリヤ部分３０３から十分隔てて配置されることである。

第二段分離部分３０６においては、血小板および血漿の混合物が大きな遠心力を受けて、血小板が外壁に沿って半径方向外方へ分離される。血小板は第二段分離部分にて外壁に沿って収集凹部３０８へ向かって移動する。収集凹部３０８に到達するまで分離されなかった血小板は、横断面積の減少する部分で外壁へ到達した後流れ方向を逆転して、反時計方向へ外壁を滑動して収集凹部３０８に入るまで半径方向外方へ向かって沈殿を継続する。血小板は収集ポンプ２２の作動および収集ラインすなわち出口ライン２１により収集凹部３０８から取出される。低濃度で血小板を有する残りの血漿は時計方向へ向かう流れを継続する。血漿の一部分は出口ライン１８にて取出され、残留血漿は血漿の出口ライン１８と制御ポート３１１との間のチャンネルを満たす。既に説明したように、幾分かの血漿はポート３１１にて境界面の位置決めライン３０９を通って出る。

第二段チャンネル構造の利点は、収集ラインすなわち出口ライン２１とは別の血漿の出口ライン１８を備えたことにある。別の血漿出口を備えることは収集体積量の最少限化を可能にし、これにより高い収集濃度を可能にする。高い収集濃度を得るための要求条件に合致するように血漿ポンプ速度を調整することができるので、入口ラインにおけるヘマトクリットが高低に拘わらずに高い収集濃度を可能にする。これは以下にさらに詳しく説明される。

発明者は本明細書において、バリヤ部分３０３での白血球の溜りの形成、およびその溜りの採集技術を説明するうえで、分離チャンネル３００の作用における重要で新規な理解を与える。

図４Ａ～図４Ｃはバリヤ部分３０３の後方に単核細胞の溜りが形成されるのを示す図面である。図４Ａは定常状態を示しており、これにおいて密度の小さい成分の血漿および血小板と、より濃密な成分の赤血球および白血球とが定常状態に保持され、単核細胞は溜り４０１に蓄積される。この蓄積の間、血小板は凹部３０８から収集ライン２１を経て取出される。赤血球層４００はチャンネルの外壁に沿って位置され、赤血球層４００と軽い成分との間の境界面は、溜り４０１が形成された後は図４Ａに全体的に示されるようになる。

白血球の溜り４０１はバリヤ部分３０３の後方に形成され、赤血球層４００の濃い赤色と反対にピンク色をしている。主に血小板を含むであろう薄い白色層４０２はピンク色層４０１の表面上に形成され、黄色の血小板に富む血漿はチャンネルの残る部分を満たすとともに、バリヤ部分を越えて溢れる。既に説明したように、血小板はチャンネルの外壁に沿って収集されて凹部３０８内に蓄積され、そこで収集ライン２１を通して採集されるか、および（または）患者に戻される。

図４Ａは、より重い赤血球および白血球との血漿および血小板の境界面が一般にバリヤ部分３０３の点３１１’まで延在することを示している。白血球は赤血球の出口ライン１６から出るほど大きな密度でないことから、白血球溜り４０１は赤血球とは別の溜りとして蓄積される。

図４Ｂは赤血球層４００が溢れ状態を引き起こす方向へ上昇を許されたときの赤血球層４００、溜り４０１および白色層４０２の位置を示している。図４Ｃは白血球の溢れ開始状態を示している。この溢れに続いて、白血球は凹部３０８内に流込み、凹部３０８から収集ライン２１を通して取出される。所定体積量の白血球が収集されたならば、赤血球層４００の高さレベルは図４Ａに示す通常レベルへと降下を許されて、白血球の溜り４０１が再び形成される。定期的に赤血球のレベルが上昇を許されて、更なる白血球の新たな溢れおよび収集を行わせる。

赤血球層４００の上昇を制御して溢れ状態を生じさせるために様々な技術が使用されてきている。この時点での好ましい技術は、入口ラインにおける全血の流れを停止して流れが赤血球ラインで逆転するようになす。この現象は、チャンネルへの流入流量がチャンネルからの流出流量に等しくなければならないという関係に立脚している。流出流量は、血漿出口ライン１８を通る流量と、収集ライン２１を通る流量と、蓄積段階の間の赤血球の出口ライン１６を通る流量である。血漿ポンプ速度および収集ポンプ速度の確定は血漿の出口ライン１８および収集ライン２１を通る流量を一定に維持するようになす。流入流量を血漿の出口ライン１８および収集ライン２１の組合わせた流量レベルよりも低くなるように減少させることにより、赤血球の出口ライン１６を通る流れ方向が逆転される。この結果、赤血球が赤血球の出口ライン１６を通して分離チャンネル３００に流入して境界面の下方から濃密赤血球／血漿溶液の境界面レベル位置を上昇させ、バリヤ部分３０３のバリヤ頂部３０５を越える単核細胞貯槽の溢れを引き起こすようにする。図１は、溢れが生じている間にチャンネルに赤血球の逆流を与えるのに任意に使用される赤血球出口ライン１６に連結された赤血球保有貯槽１６Ａを示している。

入口ポンプ速度を減速し、赤血球の出口ライン１６の逆流によるチャンネル内の赤血球の堆積を誘起させることで赤血球層４００の上昇は達成されるが、好ましい技術は入口ポンプの作動を完全に停止させることである。いずれの場合においても、チャンネルに赤血球を堆積させることがキーとなる。これらの「再循環」される赤血球が境界面の下方から赤血球レベル位置を上昇させ、これにより赤血球表面に位置する単核細胞の溜りを乱れない状態のままに保持する。さらに図３から明白となるように、再循環される赤血球はバリヤ部分３０３に形成された単核細胞の溜りから十分大きな距離を隔てた位置の出口ライン１６を通してチャンネルに流入する。この距離もまた溢れた部分の純度に貢献する。何故なら、その溜りから遠く離れた位置で赤血球が流入することは、溜りを乱さないで維持するのに役立つからである。

溢れを生じさせるのに使用された成功した他のそれほど好ましくない技術は、溢れている間に入口ポンプによる流量は継続し、血漿ポンプによる流量を位置決めライン３０９で制御機構が血漿に不足する状態にまで増大させることである。この結果は赤血球レベルの上昇をもたらし、したがって溢れを引き起こす。血漿の出口ライン１８を通して速い速度で血漿を取出すことにより、赤血球レベル位置は入口ラインからの血液を使用して上昇され、これにおいて赤血球は分離されて赤血球層の頂面に付与される。付与された赤血球が境界面レベル位置を上昇させると、血漿が移動するチャンネル内の空間は減少されて、入口血液がバリヤ部分へ向けて移動するのが高速且つ短時間となる。この時間は赤血球が完全に分離されるには短すぎて、溢れ部分の純度が影響を受けることになる。

下方から境界面を形成する好ましい技術によれば、溢れ部分の純度は溢れの生じる速度に無関係となる。したがって、患者が機械に連結されている時間を短縮するために溢れる速度を増大させることが望まれるならば、これは達成することができ、純度は保持される。溢れる速度を増大させるために、溢れの間に血漿ポンプ速度および収集ポンプ速度を増加でき、同時に入口流れは停止される。

入口流れを停止させることで、収集流量および血漿流量の合計は赤血球ラインの流体がチャンネルに流入する流量と等しくなる。流入流体中の赤血球だけが境界面のレベルを形成する。それ故に、境界面が形成される流量は以下の通りである。

境界面形成流量＝（$Q_{収集}$＋$Q_{血漿}$）$Hct_{赤血球ライン}$

赤血球ラインのヘマトクリットは患者のＨｃｔおよび蓄積段階で使用されたポンプ流量から知ることができる。

収集された白血球の濃度は、溢れている間の収集ポンプ速度に対する血漿ポンプ速度の比を調節することで調整できる。溢れが始まったならば、入口ポンプは停止され、チャンネルは赤血球の分離をもはやしないで、チャンネルからの流出流量（収集流量および血漿流量の合計）は赤血球ラインからの流入流量に等しくなる。しかしながらチャンネルの幾何形状のために、チャンネルから流出する本質的にすべての球細胞は収集ラインを流出し、血漿だけが血漿ラインを流出することになる。したがって、収集物の球濃度は以下の関係式にしたがってポンプ速度を調節することで調整できる。

$$収集ライン濃度＝\frac{(Q_{収集}+Q_{血漿})Hct_{赤血球ライン}}{Q_{血漿}}$$

上述の関係式から、血漿ポンプが停止され、血漿および球細胞が収集ラインを通してチャンネルを流出するならば、収集ライン濃度は赤血球ラインのヘマトクリットに等しくなる。さらに希薄な物質が望まれるならば、溢れが終了した後に追加の血漿が収集バッグに加えられる。

濃度を高める（すなわち収集バッグの体積を最小限にする）ことが望まれるならば、血漿ポンプは所望速度で運転されて、赤血球と一緒にチャンネルに流入する血漿の幾分かを取出すことができる。１００％濃度は付加のである。何故なら、溢れにより得た細胞物質は血漿によって収集バッグへ押し上げられねばならないからである。それ故に、幾分かの血漿が収集物質に混入する。

所望の溢れ体積量に達したときにこの溢れを停止させる最も迅速で効率的な方法は、血漿の出口ライン１８および収集ライン２１内の血漿の流れを遮断して、同時に入口ポンプの速度を増大させることである。これは収集ポンプを停止させないで行える。しかしながら収集ポンプが停止されるならば、血漿の蓄積はより速くなる。

作動において、溢れ体積量はバリヤ部分３０３の後方に収集された白血球の貯槽体積量に等しい。しかしながら、溜り４０１の一部分だけを収集するために制御方法が練習される。溜り全体の収集が行われるならば、極めて多数の赤血球または多形核白血球（多形核細胞）も収集されてしまう。何故なら、それらの赤血球または白血球が溢れを生じさせるために溜り４０１を押し上げるからである。この目的を効率的に行えれば、非常に多量の溜り４０１が溢れ作動毎に収集されることになる。しかしながら純度に関心があるならば、溢れ作動毎に少量の収集を行うことが望ましい。

収集体積量の純度が単核細胞収集の緊張技術に比べて優れており、単核細胞の溜り形成された位置から十分に離れた位置の赤血球ラインから既に分離された赤血球がチャンネル内に再流入することで下方から境界面のレベル位置が形成されると言う事実を特徴とする。

図３および図４Ａ～図４Ｃを参照すれば、赤血球の出口ライン１６は堰３０２の近くの第一段分離部分３０１の一端に位置され、単核細胞の溜りはバリヤ部分３０３の近くで第一段分離部分３０１の他端に形成される。赤血球の出口ライン１６がバリヤ部分３０３の近くに配置されるような分離チャンネル３００の形状であれば、出口ライン１６を通して赤血球が分離チャンネル３００に流入することは単核細胞の溜りの汚染を引き起こしかねない。さらに、赤血球ラインがバリヤとこのように接近すると、大きな単核細胞溜りを形成

することがさらに困難になる。何故なら、堆積段階での赤血球の取出しが、赤血球とともに白血球を取出すために単核細胞溜りの領域に大きな乱れを発生させるからである。このことが堆積段階を長時間となし、同時に単核細胞溜りを小さくする。さらに、境界面制御機構の位置決めライン３０９もまたバリヤ部分の近くに配置されることでバリヤ部分における赤血球のレベル位置が一層厳密に制御されることになり、単核細胞溜りは一層小さくされることになる。単核細胞の溜りが小さければ、一層頻繁に少量の溢れ収集が必要となり、一層長い処理となる。これらの理由により、バリヤ部分から十分に離れた位置に赤血球ラインの位置および境界面制御機構の位置を定めることが好ましいチャンネル構造となる。

この技術により前駆（progenitor）細胞を高い比率で含有する白色層４０２を収集することも可能である。白色層４０２の性質を決定するための研究はこれまで行われていなかった。図４Ａ～図４Ｃより明らかなように、白色層４０２はバリヤ部分３０３に形成されたほんの小さな溜りの収集を必要とされるだけである。

上述した所望結果を達成する方法は図５に示されている。図１の遠心装置を作動させるにおいて、プロセスパラメータを確定することが必要となる。ヘマトクリット、白血球計算値および血液単核細胞比率を決定するために、処理すべき全血が試験された。これらの値はドナーまたは患者の身長、体重および性別とともに制御パネル２０３を介してオペレータによって装置に入力される。図５はこれらの装置入力を段階５００に示している。血液が静脈から直接に抜出されるならば、入口流量はドナーまたは患者の体格寸法によって確定される。抗凝固剤（ＡＣ）の比率は臨床的な要求条件にしたがって確定される。処理すべき全血の合計体積量または処理時間もまた臨床的な要求条件にしたがって制御パネル２０３を経て装置に入力される。血漿ポンプの速度は入口流量およびヘマトクリットの関数として制御装置により確定される。収集ポンプの速度は収集ラインにおける所望の血小板濃度に基づいて決まる。遠心装置の速度を設定する分離係数は、特定の遠心装置に関して一般にいずれの方法でも一定値となる。しばしば遠心装置は最大速度で運転される。

本発明の方法の実施において、溜り４０１がバリヤ部分３０３の後方に蓄積するのを許すようにするためには、時間が与えられねばならない。この時間は単核細胞計算値、入口流量、バリヤの幾何形状、および分離係数の関数である。後の二つの因子は一般に特定の駆動装置に関して一定であるので、白血球溜りの形成時間は単核細胞計算値および入口流量の関数として一般に決定される。図５ではこの形成時間の確定が段階５０１に示されている。

境界面による溢れ体積量または時間も段階５０１で確定されねばならない。上述したように、溢れはチャンネル内の赤血球のレベル位置の上昇によって行われ、好ましい実施例においては入口ポンプ速度を減速（または停止）することで達成される。機械によるルーチン実験が入口ポンプを停止するか速度を減速した後の溢れの始まるタイミングを調整するための制御装置における表の確定を可能にし、または収集ライン２１に配置された光学装置が溢れの始まったことを動的に表示し、また収集弁２３’を開口させるのに使用できる。

緩やかな速度で赤血球のレベル位置を上昇させるのが望まれるならば、入口ポンプは様々な部分速度での溢れの始まりを計算するために確定された値の表、すなわち確定されたパラメータにおいて継続作動される。溢れを許された白血球の溜りにおける割合を確定するのも、オペレータによる制御の範囲内である。オペレータが収集効率を考慮するならば、溜りにおける非常に多くの量が赤血球境界面を低下させる前に溢れることになる。収集純度が主として考慮されるならば、溜りにおける僅かな量が赤血球レベル位置を低下させる前に収集される。

段階５０１で確定された最終的なパラメータは溢れる毎に収集される体積量である。上述したように、収集ポンプは連続作動され、溢れが始まるまで血小板を収集凹部３０８から取出す。このとき、弁２２’がトグル作動されて収集ポンプが出力するのを可能にして、白血球収集槽２３へ給送するようになす。赤血球のレベル位置を降下させる時点に達したとき、収集ポンプは白血球の濃度を所望レベルまで低下させるために十分な時間にわたっ

て連続して血漿を白血球収集槽へ給送する。このパラメータは段階５０１で確定される。段階５００および段階５０１が完了した後、図１の装置は段階５０２に示されるように初期化される。全血がこの装置に導入され、装置の準備に使用された整流食塩水のすべてを排除するために或る時間が与えられる。境界面位置を適当に確定することも必要である。一旦この装置が始動されて安定されると、その作動段階は段階５０３に進む。作動段階は白血球溜りがバリヤ部分３０３の後方に堆積するのを許される堆積段階と、境界面レベル位置が上昇されて溢れ状態を生じさせる溢れ段階とを含む。まず段階５０４にて堆積段階に進み、この間望まれるならば血小板が血小板収集槽９に収集され、また望まれるならば血漿が血漿収集槽２０に収集されることができる。血小板を収集する一つの目的は、化学療法後に血小板を骨髄と一緒に注輸できるようにすることである。白血球収集量を冷凍する前に所望の体積量となるまで希釈するために幾分かの血漿を収集することも望まれる。堆積段階において、意図しない溢れを監視することも必要である。健常ドナーに関しては意図しない溢れはほとんど起こりそうもないが、患者に関してはそのような溢れの可能性はかなり高い。これらの患者は既に化学療法を受けており、健常ドナーの赤血球が沈殿するようには赤血球が沈殿しない。この現象は境界面が正常位置にまで沈殿しないことで明かとなる。意図しない溢れは収集ラインまたは収集凹部に光学的窓を備え、人的監視または光学部材により収集される流体の色濃度の差を検出するようにして監視できる。赤血球が堆積段階の間に収集ラインに現れると、収集ラインには或る程度の不透明度が生じる。これが生じたならば、血漿ポンプまたは収集ポンプの流量が減少されてその状況を修正するようになされる。

望まれるならば、光学的監視装置が回転チャンネル自体に配置されてバリヤ部分における貯槽を監視して、不適当な溢れが生じたことを検出するようになされる。このようにして、入口流量および血漿流量を減少し、溢れが生じるのを防止するようになすことが可能である。血漿ポンプを減速することで、血漿は赤血球のラインを通してチャンネルから出るように強制され、これは赤血球の境界面を押し下げる効果がある。チャンネル内で高い血漿のレベル位置を使用する一つの問題点は、白血球の貯槽体積量が減少されることである。基本的には、望まれることは意図されない溢れを生じることなく血漿流量を最大限にすることである。

堆積段階は段階５０５に示すように、適当な形成時間または体積量に達するまで継続され、その後に段階５０６において溢れ段階に進む。このとき入口ポンプの速度が低下され、赤血球の出口ライン１６を通る流れ方向が逆転するようにされる。このようにして、赤血球のレベル位置がチャンネル内で形成され、これにより溢れ状態を生じさせる。望まれるならば、赤血球貯槽１６Ａ（図１）は赤血球の出口ライン１６に連結されて、溢れ時に赤血球の供給源を形成できることに留意しなければならない。溢れ段階は段階５０７に示されるように溢れ体積量または時間を満たすまで継続される。この点において、装置は終点に達したか、すなわちその処理が終了されるべき処理体積量または時間に達したか否かを確認する。達していなければ堆積段階に戻されて、バリヤ部分の後方に再び白血球溜りを形成するようになされる。境界面を再確定するために、赤血球のレベル位置は段階５１０で低下されねばならない。この作動を達成するために、入口流量が回復され、望まれるならば血漿ポンプおよび収集ポンプが一次的に停止される。この段階は終点（合計体積量および時間）に達するまで堆積段階と溢れ段階とを交替して継続される。この点において、段階５０８で一方のブランチは段階５０９の洗い戻し段階へ至り、整流食塩水を導入してチャンネルチューブの全体を水洗するようになされる。この段階は全血を装置から患者へ向けて洗い流し、その段階中患者にとって非常に僅かな血液損しか与えないようになされる。

上述したように、光学的監視装置がバリヤ部分の近くに配置されて、比較的不明瞭な赤血球レベルの上昇を検出するようになされる。このような装置は、溜り４０１ならびに白色層４０２の形成を監視するのにも使用できる。図６は光学的検出ポート６００～６００Ｎのバリヤ部分を横断しての配置を示している。このような装置は、偶発的な溢れを回避するためのフィードバック制御情報と、白色層４０２だけを採集する採取処理の制御と、赤

血球を第二段分離部分へ向かって溢れさせることなく単核細胞の溜り４０１を採集するための溢れ制御とを行う。このようなフィードバック情報は図５の段階５０２に示されるような計算された時間と置き換えられるか、補足するように使用される。
本明細書に記載された好ましい実施例は流体制御機構３０９を使用してポート３１１における赤血球レベルを確定するようにされている。望まれるならば、光学的要素が赤血球レベルを確定するのに使用できる。このような要素は図６に示した光学的検出装置に似ているが、単核細胞溜りが形成されるバリヤ部分３０３から或る距離を隔てて配置される別装置とされることが好ましい。赤血球レベル制御装置をバリヤ部分から離して配置することで、大きな単核細胞溜りの指示した利点を実現可能にして、頻繁な溢れ作動の必要性を最小限に抑え、患者が奇怪に連結される時間を最小限にする。
上述したように、白血球の単核細胞成分はリンパ球のような成熟細胞（mature cells）を含み、また前駆細胞（progenitors）および幹細胞のような前駆細胞（precurser cell）も含む。前駆細胞（progenitors）および（または）幹細胞を分離した核種として採集することは国際特許出願第ＷＯ９３／１２８０５号の主題であり、この方法はそれらの核種を液体培養媒体中で培養することが記載されている。本明細書に記載された本発明は前駆細胞（progenitor cells）および（または）幹細胞を培養溶液から分離するのに真価を発揮する。これらの細胞を図４Ａ～図４Ｃに示された層４０２だけを排除することで採集することも可能である。この研究はこれまで導入されていない。また、溜り４０１の下部を分離収集することで顆粒球を採集することも可能である。
要約すれば、多くの有利な構造が白血球を採集するために本発明の装置に組み入れられた。それらの中には、単核細胞溜りの形成されるバリヤ部分から大きく距離を隔てての入口ポートの配置、バリヤ部分から大きく距離を隔てての赤血球レベル制御機構の配置、バリヤ部分から大きく距離を隔てての赤血球出口ラインの配置、境界面の下方から赤血球層を形成することで単核細胞溜りを採集するための赤血球レベルの上昇、溢れている間に赤血球ラインの流れ方向を逆転して境界面レベルの上昇を堆積するようになすこと、収集ラインおよび収集ポンプによる取出しのために単核細胞が収集される凹部の配備、収集ラインとは別の血漿出口ラインの配備、同一処理において血小板および（または）血漿、ならびに赤血球を収集できること、溢れ速度に無関係に高い純度の収集流体を得るために構造体を使用した制御機構、境界面の形成に拘わる制御、収集流体の濃度の制御、そして機械上に患者が留まる時間を最小限にするために、処理に必要とされる時間の制御が含まれる。
本発明は特定の実施例を参照して説明したが、当業者には様々な形態上の変更および細部の変更が本発明の精神および範囲から逸脱せずになし得ることが理解される。これらの変更の幾つかは上述した。例えば、図５の段階５０６で示したように入口ポンプの速度を降下させることに代えて、血漿ポンプの速度を増大することができる。基本的に、この機構はチャンネル内部で赤血球のレベル位置を上昇させるものであり、これは各種のプロセスパラメータを変更することでなし得る。また、弁が入口ラインに配置されて入口流れを偏向させるようにできる。この方法において、入口流れは入口ポンプを停止または減速することなく休止される。基本的に、本発明の重要な概念は、赤血球ラインの流れを減速または逆転させることで境界面のレベルを上昇させることであり、またその結果は当業者にとって明白な多くの適当な方法により堆積することができる。上述で留意したように、計算した形成時間に依存するのではなく、監視装置を使用して白血球溜りの形成を認識できる。同様に、溢れ時間は光学的または他の形式の監視装置を使用して監視できる。処理の制御はプログラム可能なマイクロプロセッサによって与えられるものとして示した。このような制御装置は数多くの既知の制御技術で形成されることができる。本発明は全血または骨髄から単核細胞を採集することを説明して示された。本発明はまた血液中の他の希な成分を採集することにも応用でき、一般に遠心分離した液体中の重い流体成分と軽い流体成分との間で収集できるすべての希薄成分に応用できる。これらの、および他の変更例は以下の請求の範囲において定義される本発明の精神および範囲に含まれる。

【図１】

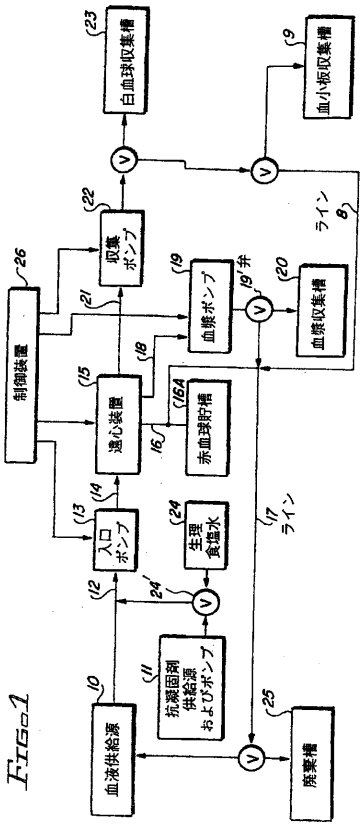


Fig.1

【図２】

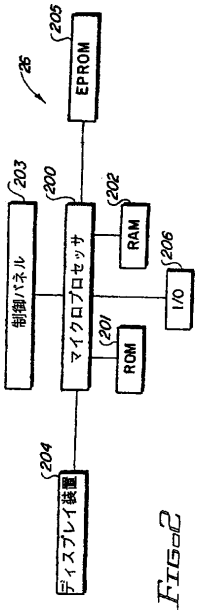


Fig.2

【図３】

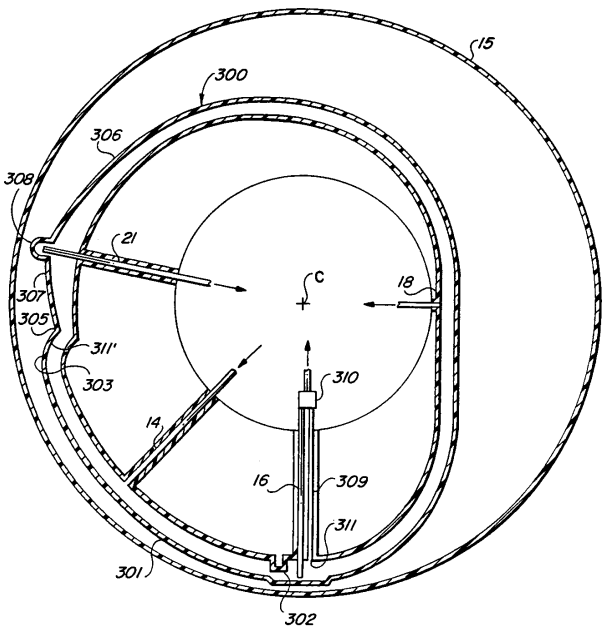


Fig.3

【図４Ａ】

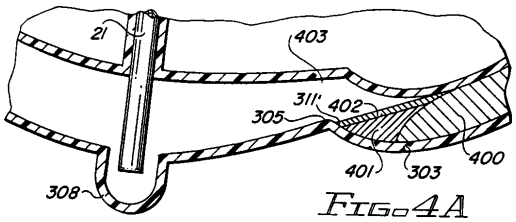


Fig.4A

【図４Ｂ】

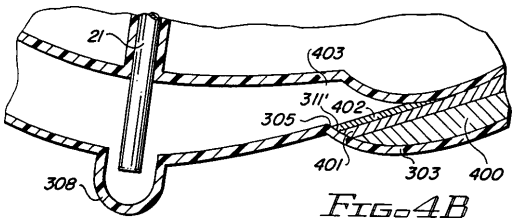


Fig.4B

【図４Ｃ】

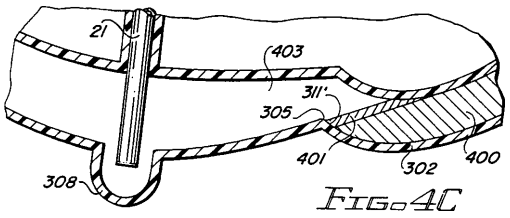


Fig.4C

【図６】

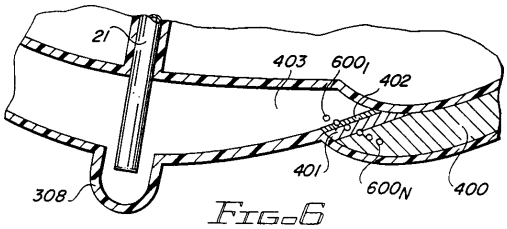


FIG.6

【図５】

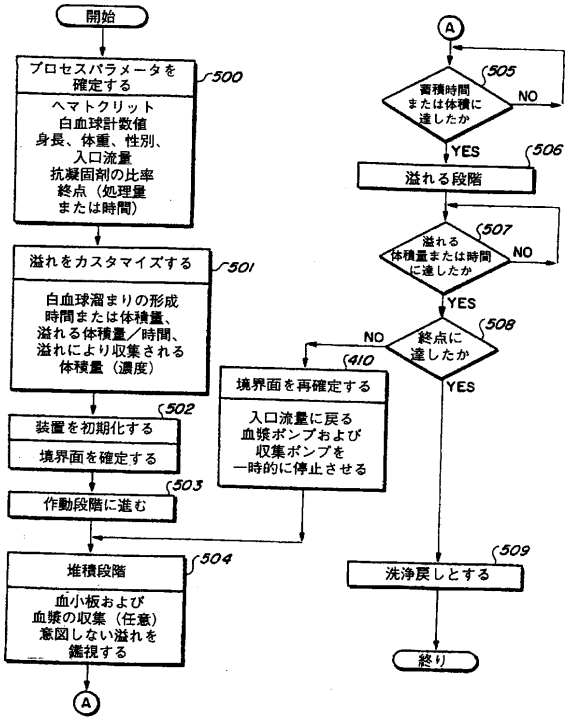


FIG.5

フロントページの続き

(72)発明者　フラビンカ，デニス
アメリカ合衆国　８０４０１　コロラド州ゴールデン，エヌ，サルビア　７３６５
(72)発明者　フェルト，トマス　ジェイ.
アメリカ合衆国　８０３０３　コロラド州ボールダー，エバンズ　ドライブ　４２１０

審査官　中村　泰三

(56)参考文献　特開昭６２－２９４４５４（ＪＰ，Ａ）
特開昭５５－０１５６８８（ＪＰ，Ａ）
米国特許第４３５６９５８（ＵＳ，Ａ）
米国特許第３６５５１２３（ＵＳ，Ａ）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
B04B　5/04
A61K 35/14