

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5843345号
(P5843345)

(45) 発行日 平成28年1月13日(2016. 1. 13)

(24) 登録日 平成27年11月27日(2015. 11. 27)

(51) Int. Cl.

F 1

A 6 1 M 1/36 (2006. 01)

A 6 1 M 1/36 5 4 3

A 6 1 M 1/36 5 4 5

請求項の数 18 (全 21 頁)

(21) 出願番号	特願2011-152366 (P2011-152366)	(73) 特許権者	507365204
(22) 出願日	平成23年7月8日(2011. 7. 8)		旭化成メディカル株式会社
(65) 公開番号	特開2012-16595 (P2012-16595A)		東京都千代田区神田神保町一丁目105番地
(43) 公開日	平成24年1月26日(2012. 1. 26)	(73) 特許権者	000125381
審査請求日	平成26年7月4日(2014. 7. 4)		学校法人藤田学園
(31) 優先権主張番号	61/344, 376		愛知県豊明市沓掛町田楽ヶ窪1番地98
(32) 優先日	平成22年7月8日(2010. 7. 8)	(74) 代理人	100079108
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 稲葉 良幸
		(74) 代理人	100109346
			弁理士 大貫 敏史
		(74) 代理人	100117189
			弁理士 江口 昭彦
		(74) 代理人	100134120
			弁理士 内藤 和彦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 β -アミロイド除去システム

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

β -アミロイドを吸着させて、血液中の β -アミロイド濃度を低下させる中空系膜と、血液を体外に脱血するための血液回路と、中空系膜に通液させた血液を返血するための血液回路と、及び血液回路と中空系膜とを連結する可撓性チューブとを備え、中空系膜が、ポリスルホン(P S f)、ポリメチルメタアクリレート(P M M A)、ポリエーテルスルホンポリアリレートポリマアロイ(P E P A)、ポリエーテルスルホン(P E S)、ポリアクリロニトリル(P A N)、及びセルローストリアセテート(C T A)からなる群から選択される高分子を含有する、 β -アミロイド除去システム。

10

【請求項 2】

β -アミロイド-アルブミン複合体から、 β -アミロイドが中空系膜に吸着し、アルブミンが血液中に遊離する、請求項 1 に記載の β -アミロイド除去システム。

【請求項 3】

血液の流速が5 ~ 200 mL / minである、請求項 1 又は 2 に記載の β -アミロイド除去システム。

【請求項 4】

血液の流速が10 ~ 30 mL / minである、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の β -アミロイド除去システム。

【請求項 5】

20

血液が中空系内腔を通液される、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の β - アミロイド除去システム。

【請求項 6】

中空系内腔の血液の線速度が 200 cm/min 以下である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の β - アミロイド除去システム。

【請求項 7】

中空系内腔の血液の線速度が 5 cm/min 以下である、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の β - アミロイド除去システム。

【請求項 8】

中空系外面に気体又は液体が存在する、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の β - アミロイド除去システム。

10

【請求項 9】

透析液が中空系外面を通液される、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の β - アミロイド除去システム。

【請求項 10】

透析液中の β - アミロイド濃度が実質的に増加しない、請求項 9 に記載の β - アミロイド除去システム。

【請求項 11】

血液が中空系外面を通液される、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の β - アミロイド除去システム。

20

【請求項 12】

中空系内腔に気体又は液体が存在する、請求項 11 に記載の β - アミロイド除去システム。

【請求項 13】

中空系膜が、ポリビニルピロリドン、ポリエチレングリコール、エチレンビニルアルコール共重合体、及びポリヒドロキシエチルメタクリレートを含る、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の β - アミロイド除去システム。

【請求項 14】

中空系膜が、ポリビニルピロリドンをさらに含有する、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の β - アミロイド除去システム。

30

【請求項 15】

中空系膜が、血液の注入口と、排出口を供えるハウジング内に收容されている、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の β - アミロイド除去システム。

【請求項 16】

中空系膜がハウジング内に収納され、注入口と排出口においてシールされている、請求項 15 に記載の β - アミロイド除去システム。

【請求項 17】

中空系膜が収納されたハウジングが、血液透析用カラムである、請求項 15 又は 16 に記載の β - アミロイド除去システム。

40

【請求項 18】

中空系膜断片がハウジング内に收容されている、請求項 15 に記載の β - アミロイド除去システム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、 β - アミロイド除去システムに関する。

【0002】

関連出願の相互参照

本出願は、2010年7月8日出願の米国仮出願(61/344,376号)に基づくものであり、その内容及びそこで引用する文献の内容及び本願明細書に記載される文献の

50

内容はここに参照として取り込まれる。

【背景技術】

【0003】

アルツハイマー病(AD)は脳内の神経細胞が変性することにより認知症になっていくと考えられている疾患である。その発症機構については、 β -アミロイド(以下、「 $A\beta$ 」)と略称する場合がある。)が脳に蓄積することを発端とする「アミロイド仮説」が最も有力であり、可溶性 $A\beta$ が記憶の長期増強を強く阻害し、また、凝集沈着した $A\beta$ がフィブリルを形成することで神経細胞死に至ると考えられている。

【0004】

$A\beta$ に対する抗体である抗 $A\beta$ 抗体の投与や $A\beta$ ワクチンの投与により、認知症症状の改善とともに脳の $A\beta$ 沈着が消失することが報告され(非特許文献1)、アルツハイマー病を治療できる可能性が示唆されている。

10

しかしながら、数多くの研究グループによって、治療効果に優れた抗 $A\beta$ 抗体の開発が進められているものの、抗 $A\beta$ 抗体による治療は高価であり且つ長期間に亘ることから、患者の負担が大きい。また、抗 $A\beta$ 抗体治療の効果は比較的短く、繰返し投与が必要になるという問題も抱えている。

また、 $A\beta$ ワクチンの投与で副作用死が発生して治験が中止となるなど(非特許文献2)、アルツハイマー病の治療法確立への道乗りは長い。

【0005】

アルツハイマー病のモデルマウスを用いた実験により、脳内 $A\beta$ が減少する際に血中 $A\beta$ 量が有意に増加すること(非特許文献3)、免疫賦活機能を有さない $A\beta$ 結合物質(GelsolinやGM1ガングリオシド)の末梢投与により脳内 $A\beta$ 量が減少すること(非特許文献4、5)、免疫賦活機能を持たない抗 $A\beta$ 抗体Fab断片を血中投与すると脳内 $A\beta$ 量が減少すること(非特許文献6)などが示され、血中 $A\beta$ 量の減少に伴い脳内 $A\beta$ が血中に引き抜かれるという「引き抜き」仮説が提唱されている。また、この仮説に関連し、人工透析によって血中 $A\beta$ 量が低下するとの報告がなされている(非特許文献7、8)。

20

また、血液の体外循環を行い、血中の $A\beta$ を除去する、 $A\beta$ 除去材に関連する報告がなされている(特許文献1-3)。

【先行技術文献】

【特許文献】

30

【0006】

【特許文献1】国際公開第2010/073580号パンフレット

【特許文献2】特表2005-537254号公報

【特許文献3】特表2008-506665号公報

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Bayer, A. et al., Neurology, 2005, 64, 94-101

【非特許文献2】Holmes, C. et al., Lancet, 2008, 372(9634), 216-23

【非特許文献3】Lemere, C. A. et al., Neurobiol. Dis., 2003, 14, 10-18

【非特許文献4】Matsuoka, Y. et al., J. Neurosci., 2003, 23, 29-33

40

【非特許文献5】Bergamaschini, L. et al., J. Neurosci., 2004, 24, 4148-4186

【非特許文献6】Levites, Y. et al., J. Neurosci., 2006, 26, 11923-11928

【非特許文献7】京都医学界雑誌, 第53巻, 第1号, 平成18年6月, 113-120頁

【非特許文献8】Isabel, R. et al., Journal of Alzheimer's Disease, 2006, 10, 439-443

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

本発明者らは、「引き抜き」仮説に鑑みて、AD患者の血中 $A\beta$ 量を効率的に除去することが、アルツハイマー病の治療又は予防に有効な手段になると考えた。

50

そこで、本発明においては、血中A β 量を効率的に除去できる方法及びそのシステムを提供することを課題とする。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明者らは、上記課題を解決するため鋭意検討した結果、A β が中空系膜に吸着されることにより、血液中 β -アミロイド濃度が低下し、血液中A β 量を効率的に除去することができることを見出し、本発明を完成した。

【0010】

すなわち、本発明は、以下の血液中の β -アミロイド濃度を低下させる方法及びそのシステムを提供する。

10

[1]

血液中の β -アミロイド濃度を低下させる方法であって、

血液を体外に脱血する工程

脱血した血液を、中空系膜に通液する工程

通液した血液を体内に返血する工程、を含有し

β -アミロイド-アルブミン複合体を含有する血液を中空系膜に通液して、 β -アミロイドを中空系膜に吸着させて、血液中の β -アミロイド濃度を低下させる、方法。

[2]

β -アミロイド-アルブミン複合体から、 β -アミロイドが中空系膜に吸着し、アルブミンが血液中に遊離する、[1]に記載の方法。

20

[3]

血液の流速が5~200mL/minである、[1]に記載の方法。

[4]

血液の流速が10~30mL/minである、[1]に記載の方法。

[5]

血液が中空系内腔を通液される、[1]に記載の方法。

[6]

中空系内腔の血液の線速度が200cm/min以下である、[1]に記載の方法。

[7]

中空系内腔の血液の線速度が5cm/min以下である、[1]に記載の方法。

30

[8]

中空系外面に気体又は液体が存在する、[1]に記載の方法。

[9]

透析液が中空系外面を通液される、[1]に記載の方法。

[10]

透析液中の β -アミロイド濃度が実質的に増加しない、[9]に記載の方法。

[11]

血液が中空系外面を通液される、[1]に記載の方法。

[12]

中空系内腔に気体又は液体が存在する、[11]に記載の方法。

40

[13]

中空系膜が、ポリスルホン(Psf)、ポリメチルメタアクリレート(PMMA)、ポリエーテルスルホンポリアリレートポリマアロイ(PEPA)、ポリエーテルスルホン(PES)、ポリアクリロニトリル(PAN)、セルローストリアセテート(CTA)、改質セルロース(BEM)、及びエチレンビニルアルコール共重合体(EVAL)からなる群から選択される高分子を含有する、[1]に記載の方法。

[14]

中空系膜が、ポリビニルピロリドンをさらに含有する、[11]に記載の方法。

[15]

中空系膜が、血液の注入口と、排出口を供えるハウジング内に収容されている、[1]

50

に記載の方法。

[1 6]

中空系膜がハウジング内に収納され、注入口と排出口においてシールされている、[1 3]に記載の方法。

[1 7]

中空系膜が収納されたハウジングが、血液透析用カラムである、[1 4]に記載の方法。

[1 8]

中空系膜断片がハウジング内に收容されている、[1 3]に記載の方法。

[1 9]

血液中の β -アミロイド濃度を低下させることにより、アルツハイマー病を治療又は予防する方法であって、

アルツハイマー病患者の血液を体外に脱血する工程、

脱血した血液を、中空系膜に通液する工程、

通液した血液を該患者の体内に返血する工程、を含有し、

β -アミロイド-アルブミン複合体を含有する血液を中空系膜に通液して、 β -アミロイドを中空系膜に吸着させて、血液中の β -アミロイド濃度を低下させる、方法。

[2 0]

中空系外面の血液の線速度が 200 cm/min 以下に相当する速度である、[1]に記載の方法。

[2 1]

中空系外面の血液の線速度が 5 cm/min 以下に相当する速度である、[1]に記載の方法。

【 0 0 1 1 】

また、本発明は、以下の β -アミロイド除去システムを提供する。

[2 2]

β -アミロイドを吸着させて、血液中の β -アミロイド濃度を低下させる中空系膜と、血液を体外に脱血するための血液回路と、

中空系膜に通液させた血液を返血するための血液回路と、及び

血液回路と中空系膜とを連結する可撓性チューブとを備える、 β -アミロイド除去システム。

[2 3]

β -アミロイド-アルブミン複合体から、 β -アミロイドが中空系膜に吸着し、アルブミンが血液中に遊離する、[2 2]に記載の β -アミロイド除去システム。

[2 4]

血液の流速が $5 \sim 200\text{ mL/min}$ である、[2 2]又は[2 3]に記載の β -アミロイド除去システム。

[2 5]

血液の流速が $10 \sim 30\text{ mL/min}$ である、[2 2]～[2 4]のいずれかに記載の β -アミロイド除去システム。

[2 6]

血液が中空系内腔を通液される、[2 2]～[2 5]のいずれかに記載の β -アミロイド除去システム。

[2 7]

中空系内腔の血液の線速度が 200 cm/min 以下である、[2 2]～[2 6]のいずれかに記載の β -アミロイド除去システム。

[2 8]

中空系内腔の血液の線速度が 5 cm/min 以下である、[2 2]～[2 7]のいずれかに記載の β -アミロイド除去システム。

[2 9]

10

20

30

40

50

中空系外面に気体又は液体が存在する、[2 2] ~ [2 8] のいずれかに記載の β - アミロイド除去システム。

[3 0]

透析液が中空系外面を通液される、[2 2] ~ [2 9] のいずれかに記載の β - アミロイド除去システム。

[3 1]

透析液中の β - アミロイド濃度が実質的に増加しない、[3 0] に記載の β - アミロイド除去システム。

[3 2]

血液が中空系外面を通液される、[2 2] ~ [2 5] のいずれかに記載の β - アミロイド除去システム。

10

[3 3]

中空系内腔に気体又は液体が存在する、[3 2] に記載の β - アミロイド除去システム。

[3 4]

中空系膜が、ポリスルホン (P S f)、ポリメチルメタアクリレート (P M M A)、ポリエーテルスルホンポリアリレートポリマアロイ (P E P A)、ポリエーテルスルホン (P E S)、ポリアクリロニトリル (P A N)、セルローストリアセテート (C T A)、改質セルロース (B E M)、及びエチレンビニルアルコール共重合体 (E V A L) からなる群から選択される高分子を含有する、[2 2] ~ [3 3] のいずれかに記載の β - アミロイド除去システム。

20

[3 5]

中空系膜が、ポリビニルピロリドンにさらに含有する、[3 4] に記載の β - アミロイド除去システム。

[3 6]

中空系膜が、血液の注入口と、排出口を供えるハウジング内に收容されている、[2 2] ~ [3 5] のいずれかに記載の β - アミロイド除去システム。

[3 7]

中空系膜がハウジング内に収納され、注入口と排出口においてシールされている、[3 6] に記載の β - アミロイド除去システム。

30

[3 8]

中空系膜が収納されたハウジングが、血液透析用カラムである、[3 6] 又は [3 7] に記載の β - アミロイド除去システム。

[3 9]

中空系膜断片がハウジング内に收容されている、[3 6] に記載の β - アミロイド除去システム。

[4 0]

中空系外面の血液の線速度が 200 cm/min 以下に相当する速度である、[2 2] ~ [2 5] 及び [3 2] ~ [3 9] のいずれかに記載の β - アミロイド除去システム。

[4 1]

中空系外面の血液の線速度が 5 cm/min 以下に相当する速度である、[2 2] ~ [2 5] 及び [3 2] ~ [4 0] のいずれかに記載の β - アミロイド除去システム。

40

【発明の効果】

【 0 0 1 2 】

本発明によれば、血中 $A\beta$ 量を効率的に除去できる方法及びそのシステムを提供することができる。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 3 】

以下、本発明を実施するための形態（以下、「本実施形態」という。）について以下詳細に説明する。なお、本発明は、以下の実施形態に限定されるものではなく、その要旨の

50

範囲内で種々変形して実施することができる。

【0014】

本実施形態の血液中の β -アミロイド濃度を低下させる方法は、

血液を体外に脱血する工程

脱血した血液を、中空系膜に通液する工程

通液した血液を体内に返血する工程、を含有し、

β -アミロイド-アルブミン複合体を含有する血液を中空系膜に通液して、 β -アミロイドを中空系膜に吸着させて、血液中の β -アミロイド濃度を低下させる、方法である。

【0015】

血液中の β -アミロイド濃度を低下させる方法は、血液を体外に脱血し、脱血した血液を中空系膜に通液し、通液した血液を体内に返血する体外循環を行うことにより実施することができる。

10

かかる一連の工程は、いわゆる人工透析や血液ろ過などの血液浄化技術に類似する方法として実施することができるが、一例を挙げれば、患者の血液を体外循環させるべく可撓性チューブから成る血液回路が使用される。

体外循環を行うための血液回路は、一般に、患者から血液を採取する動脈側穿刺針が先端に取り付けられた動脈側血液回路と、患者に血液を戻す静脈側穿刺針が先端に取り付けられた静脈側血液回路と、動脈側血液回路と静脈側血液回路との間に中空系膜とを備える。

動脈側血液回路、中空系膜、及び静脈側血液回路は、可撓性チューブで連結されており、患者から脱血された血液は、可撓性チューブ内を通液され、中空系膜と接触させられる。

20

すなわち、血液は、動脈側血液回路より、患者体内より体外へ脱血されて、血液回路内に導入され、血液回路内の可撓性チューブを通り、中空系膜へ通液される。

中空系膜へ通液された血液中の β -アミロイド-アルブミン複合体は中空系膜と接することにより、 β -アミロイドが中空系膜に吸着され、中空系膜を通液後の血液中の β -アミロイド濃度が低下する。また、アルブミンと結合していない β -アミロイドも中空系膜に吸着除去される。

中空系膜より通液されて出てきた血液は、血液中 β -アミロイド濃度が低下した血液として、静脈側血液回路より、患者体外から体内へ返血される。

30

【0016】

本実施形態の血液中の β -アミロイド濃度を低下させる方法は、アルツハイマー病患者に適用されることにより、アルツハイマー病患者における血液中の β -アミロイド濃度を低下させることができる。

アルツハイマー病患者としては、体外循環を行うことができる患者であれば、特に限定されるものではない。また、本実施形態の血液中の β -アミロイド濃度を低下させる方法は、アルツハイマー病を未発症の患者に適用することにより、アルツハイマー病の発症を予防する方法として用いることもできる。

【0017】

本実施形態における「 β -アミロイド」とは、36-43アミノ酸からなるペプチドであり、 β -及び γ -セクレターゼの働きにより前駆体タンパク質(APP: amyloid β protein precursor)から切り出されてくるアミロイドタンパク質を意味する。本実施形態においては、 β -アミロイドとは、好適には、40アミノ酸からなる β -アミロイドタンパク質、42アミノ酸からなる β -アミロイドタンパク質、43アミノ酸からなる β -アミロイドタンパク質をいい、 $A\beta_{1-40}$ 、 $A\beta_{1-42}$ 又は $A\beta_{1-43}$ とも略称される。

40

本実施形態の血液中の β -アミロイド濃度を低下させる方法においては、具体的には、血液中の $A\beta_{1-42}$ 又は $A\beta_{1-40}$ を中空系膜に吸着させることにより、体循環する血液中の β -アミロイド濃度を低下させる。本実施形態においては、 $A\beta_{1-43}$ を中空系膜に吸着させることにより、体循環する血液中の β -アミロイド濃度を低下させる方法であってもよい。

50

【 0 0 1 8 】

本実施形態における「 β -アミロイド-アルブミン複合体」とは、 β -アミロイドが、アルブミンと静電的結合により結合して形成される複合体をいう。 β -アミロイドは、血液中において、遊離の β -アミロイドとして存在することもできるが、多くは、アルブミンに結合して複合体として存在している。

本実施形態においては、 β -アミロイドは、アルブミンとの複合体として、中空系膜に吸着されるのではなく、下記実施例に記載するように、アルブミンとの複合体から解離して、中空系膜に β -アミロイドが直接吸着していると考えられる。

β -アミロイドは、約4 kDaの分子量を有するタンパク質であることから、本実施形態の一態様として、中空系膜を含むダイアライザー等に通液して人工透析を行った場合、透析液側にろ過され滲出してくると考えられていたが、本発明者らの検討により、 β -アミロイドは、透析液側には出てこず、吸着されることにより、除去されることが見出された。本発明者らは、中空系による β -アミロイドの主な除去機構について鋭意検討したところ、通常は血液を流すダイアライザーの血液側を封入し、通常は透析液を流す透析液側、つまり、ダイアライザーの中空系外面に β -アミロイドを含有する液を流しても、 β -アミロイドが効率よく除去できること、さらに、中空系を細断してマカロニ状にしたものと、 β -アミロイド含有液とを接触させても β -アミロイドが効率よく除去できることなどからも、中空系による β -アミロイドの主な除去機構は、ろ過ではなく吸着であることを見出した。

【 0 0 1 9 】

本実施形態において、 β -アミロイドは中空系膜に吸着されることにより、血液中の β -アミロイド濃度が低下するが、「 β -アミロイドが中空系膜に吸着される」とは、中空系膜表面と、 β -アミロイドが静電的結合及び/又は疎水結合している状態をいい、その際に、 β -アミロイドは、アルブミンから解離していると考えられる。

中空系膜が、多孔膜であり、細孔を有する場合には、 β -アミロイドは、物理的に細孔に補足されていてもよいが、多くの吸着した β -アミロイドは、中空系膜表面に静電的結合及び/又は疎水結合していると考えられる。

【 0 0 2 0 】

本実施形態において、中空系膜に患者の血液を通液することにより、 β -アミロイドは、血液中の形態としての β -アミロイド-アルブミン複合体から解離し中空系膜に吸着するが、複合体の一方のアルブミンは、血液中に遊離して存在する。

【 0 0 2 1 】

本実施形態で用いられる中空系膜は、血液を通液することができる中空系膜であれば、特に限定されるものではないが、例えば、人工透析、血液濾過、及び血漿分離などにおいて用いられる中空系膜が挙げられる。

中空系膜としては、例えば、セルロースアセテート、改質セルロース、銅アンモニアセルロース等のセルロース系中空系膜や、ポリアクリロニトリル、ポリメチルメタアクリレート、ポリエチレン、ポリフッ化ビニリデン、ポリエーテルスルホンポリアリレートポリマーアロイ、ポリビニルアルコール、ポリスルホン、ポリアミド、ポリイミド、ポリフェニルエーテル、ポリエーテルスルホン、エチレンビニルアルコール共重合体等の合成高分子系中空系膜などが挙げられる。中でも、静電的結合及び/又は疎水結合を利用しているため、疎水性の高分子を用いることが好適であり、ポリスルホン、ポリメチルメタアクリレート、ポリエーテルスルホンポリアリレートポリマアロイ、ポリエーテルスルホン、ポリアクリロニトリルなどの高分子から形成される中空系膜が好ましい。

【 0 0 2 2 】

中空系膜の材料としては、血液適合性を含めて、ポリビニルピロリドン、ポリエチレングリコール、エチレンビニルアルコール共重合体、ポリハイドロキシエチルメタクリレートなどをさらに含有していることが好ましく、ポリスルホンとポリビニルピロリドンからなる高分子混合物から製造される中空系膜が挙げられる。

また、上記ポリビニルピロリドンなどは、ポリスルホンなどの高分子と、混合して紡糸

10

20

30

40

50

してもよいが、ポリスルホンなどの高分子を用いて紡糸して得られる中空系膜にコーティングするために用いてもよい。本実施形態においては、中空系膜として、中空系ではなく、多孔質の系や平膜を用いることもできる。

【0023】

本実施形態において用いられる中空系膜は、公知の方法により製造することができるが、中空系膜の膜構造として、膜の外表面に短径0.5 μm以上の粗い細孔部を多数有する構造のストロー状の中空系膜が好ましい。また、中空系膜の太さは、好ましくは、0.01 - 1 mmである。

【0024】

本実施形態において、中空系膜は、ハウジング内に収納された中空系膜型モジュールとして用いることが好適である。

10

中空系膜は、通液される血液と接触することができれば、ハウジング内での形状は特に限定されるものではないが、中空系膜としてハウジング内に備え付けられていてもよく、中空系膜の断片としてハウジング内に備えられていてもよい。

【0025】

中空系膜がハウジング内に備えられている場合には、中空系膜カラム様の中空系膜型モジュールとして、筒型のハウジング内に多数本の中空系膜からなる中空系膜束として収納されていてもよい。

この場合、中空系膜束の両端が、ポリウレタン等の樹脂組成物を充填して形成する封止部としての樹脂層部により接着固定（シール）されていてもよい。また、ハウジングには、ハウジング内に血液を通液させ、排出させるための、血液の注入口と、排出口を供えていることが好ましい。

20

さらに、ハウジングには、中空系膜外側を通液させるための液注入口と、排出口が設けられていてもよく、中空系膜が中空系膜内に血液を通過させるカラムとして用いられる場合には、中空系の内部空間である中空系内腔と、中空系外面の空間とに分けられ、血液は中空系内腔を通り、中空系内腔表面および中空系の厚み部分（中空系膜の内表面と外表面の間の多孔質部分）に吸着される。また、中空系膜が中空系膜外面に血液を通過させるカラムとして用いられる場合には、血液は中空系外面を通り、中空系外表面および中空系の厚み部分（内表面と外表面の間の多孔質部分）に吸着される。

【0026】

30

このような中空系膜を備えるモジュールとしては、いわゆるダイアライザーとして用いられるモジュール（透析カラム）や、特開2005-52716号、国際公開第2006/024902号パンフレット、国際公開第2004/094047号パンフレットなどに記載されているモジュールが挙げられ、本実施形態の中空系膜として好適に用いることができる。

【0027】

本実施形態においては、中空系膜カラムを用いて中空系内腔表面に血液を接触させる場合、中空系外面には、気体が存在していてもよく、液体が存在していてもよい。中空系外面は密閉されていてもよく、あるいは、密閉されていない場合の中空系外面の圧力は大気圧開放、または、血液圧よりも低い圧力が好ましい。

40

中空系外面に気体や液体が存在する場合には、流体として存在していてもよい。

気体としては、不活性なガスや、空気などが挙げられる。また、液体としては、透析液として用いられる溶液を通液することが好ましい。

血液が中空系内腔を通液され、透析液が中空系外面に通液される場合には、本実施形態の方法においては、β-アミロイドは、実質的に中空系外面に滲出してこないもので、透析液中のβ-アミロイド濃度は、実質的に増加しないことが好ましい。

本実施形態において、中空系膜カラムを用いて中空系外面に血液を接触させる場合、中空系内腔には、気体が存在していてもよく、液体が存在していてもよい。中空系内腔は密閉されていてもよく、あるいは、密閉されていない場合の中空系内腔の圧力は大気圧開放、または、血液圧よりも低い圧力が好ましい。

50

本実施形態において、「実質的に増加しない」とは、通常、透析を行った際に、透析液側に滲出してくる低分子化合物のような濃度上昇を示さないことをいい、本実施形態においては、通液された血液中の除去される β -アミロイドの5%以下の量、好ましくは、1%以下の量が透析液側に滲出して除去されていることを意味する。

また、この場合、中空系の膜厚方向（中空系の外表面と内表面に挟まれる部分）での β 吸着を増加させるためには、正の濾過量、さらには、逆濾過が起こりにくい構造であることが好適であり、斯かる構造としては、例えば、中空系の充填率を下げる、中空系を太短の形状とする、ことなどが挙げられる。

【0028】

本実施形態の血液中の β -アミロイド濃度を低下させる方法は、好ましくは、前記血液中には、アルブミンと結合した β -アミロイド-アルブミン複合体を含有し、前記方法は、血液を体外に脱血する工程、脱液した血液を少なくとも入口と出口を有するハウジングに、透析用中空系膜を有する中空系膜に通液する工程、通液した血液を体内に返血する工程、を含有し、体外の血液の流速は、5 - 200 mL/minであって、前記通液する工程は、 β -アミロイド-アルブミン複合体から、 β -アミロイドを中空系膜に吸着させて、アルブミンを遊離させることにより、血液中の β -アミロイド濃度を低下させる、血液中の β アミロイドを低下させる方法として実施される。

【0029】

本実施形態においては、 β -アミロイド除去システムをも提供する。本実施形態の血液中の β -アミロイド濃度を低下させる方法は、 β -アミロイド除去システムにより実施することができる。

本実施形態における β -アミロイド除去システムは、

β -アミロイドを吸着させて、血液中の β -アミロイド濃度を低下させる中空系膜と、血液を体外に脱血するための血液回路と、

中空系膜に通液させた血液を返血するための血液回路と、

血液回路と中空系膜とを連結する可撓性チューブとを含むシステムである。

【0030】

β -アミロイド除去システムの、中空系膜としては、上述の中空系膜型モジュールとして用いることができるが、脱血するための血液回路から送液されてくる血液は、中空系膜型モジュールの中空系内腔に通液されることが好ましく、血液の流速は、中空系膜と接触する血液の流速として、好ましくは1 - 500 mL/minで、より好ましくは5 - 200 mL/minである。さらには、10 - 30 mL/minがより好ましい。実際のモジュール設計においては、 $A\beta$ 除去率、および、単位時間当たりの血液処理量を勘案することが必要となる。

また、中空系膜への β -アミロイドの吸着に要する時間が必要なため、中空系膜と接触する血液の線速度の好ましい実施態様は、特に限定されるものではないが、中空系内腔に血液を通液される場合を例示として、以下に示す。

例えば、血液の流速が200 mL/minの場合、1モジュールあたりの中空系を約10,000本とすると、内径200 μ mの中空系では、中空系内腔の血液の線速度はおよそ64 cm/minとなる。

中空系内腔の血液の線速度は、好ましくは200 cm/min以下であり、より好ましくは70 cm/min以下であり、さらに好ましくは10 cm/min以下であり、よりさらに好ましくは5 cm/min以下である。

【0031】

さらに具体的に例示すれば、実施例で用いたダイアライザーの中空系は、内径200 μ mで、中空系内腔の体積は75 mLであり、これを基にした β -アミロイド溶液（血液相当）の中空系内の滞留時間を求めると以下ようになる。血液流量が200 mL/minの場合（実施例3の空気を封入した場合の吸着・通過実験での β -アミロイド除去率は74.4%）では滞留時間は0.4分であり、中空系内腔の血液の線速度は67.3 cm/minとなる。血液流量が50 mL/minの場合（実施例4の空気を封入した場合の吸

着・通過実験での β -アミロイド除去率は46.2%)では滞留時間は1.5分であり、中空系内腔の血液の線速度は15.0cm/minとなる。血液流量が15mL/minの場合(実施例5の空気を封入した場合の吸着・通過実験での β -アミロイド除去率は94.5%)では滞留時間は5分であり、中空系内腔の血液の線速度は4.8cm/minとなる。

一方、表6から、 β -アミロイド除去のための、血液と中空系膜の接触時間は5分ではやや不十分で、15分で β -アミロイド吸着がほぼ完了することがわかる。つまり、中空系膜とA β との接触時間が現行のダイアライザー(吸着部分の中空系の有効長は24cm程度)では、ほぼ5分以上あれば β -アミロイド除去率が十分に高い、ということになる。これを線速度でしめすと、24cm/5分、つまり、内径200 μ mの中空系では、5cm/分程度以下の線速度が好ましいとかがえられる。

10

なお、中空系外面に血液を通液する場合には、好適な線速度の範囲と同様の速度で血液を通液すればよい。

【0032】

斯かる血液の流速や線速度を維持するデバイスとして、血液ポンプが β -アミロイド除去システムに備えられていてもよい。

血液ポンプは、中空系膜に血液を連続的に供給することができれば特に限定されないが、例えば、血液浄化装置用のポンプや人工透析用のポンプ、ペリスタポンプ(ローラーポンプ)などが挙げられる。

また、通常、血液は、中心膜型モジュール等に通液される場合、血液凝固を防ぐために、血液中に抗凝固剤を含有させて通液させるため、抗凝固剤を血液と混合するチャンバーが設けられていてもよい。

20

さらに、通液される血液の圧力を測定するための、圧モニターや、返血される血液中の気泡を確認するためのモニターが設けられていてもよく、血液をサンプリングできるようになっていてもよい。

【0033】

また、血液ろ過に準じて、本実施形態の血液中の β -アミロイド濃度の低下させる方法が実施される場合には、補液を供給する補液ポンプや、補液を貯蔵する補液タンクなどが設けられていてもよい。

【0034】

30

本実施形態の β -アミロイド除去システムにおいては、 β -アミロイドを、中空系膜表面に吸着させて除去するため、 β -アミロイドの除去率を上げるためにも、血液を中空系内腔、膜厚内部へ効率よく接触させるために、部分的であっても逆ろ過を防止することが好ましい。

ダイアライザー型の中空系膜を用いた場合においては、透析液側の圧力を低く設定することにより、逆ろ過を防止することができるので、透析液側の流量が、特に限定されるものではないが、100mL/min以下であることが好ましい。

また、血液側と反対側の中空系面が気体で満たされていることが好ましい。血液側と反対側の中空系面の気体は、空気であってもよく、血液側と反対側の中空系膜側を通液させるための液注入口と、排出口が開けられて、大気と連通していてもよい。

40

この場合、血液側と反対側の中空系面に、通液される血液の血漿成分の一部が滲出してくる場合があるが、適宜、モニタリングすることにより、血液の滲出を調整することもできる。

【0035】

中空系外面に透析液を通液する場合の逆ろ過を防止するためには、血液側から透析液側へのろ過流量が0mL/min以上の正の値に制御することが好ましい。

血液側から透析液側へのろ過流量は、好ましくは5mL/min以上であり、より好ましくは12.5mL/4min以上である。

【0036】

このような逆ろ過を防止する方法としては、中空系の充填率を、血液透析用のダイアラ

50

イザーより低くすることや、有効中空系部分の容器の長さ L と直径 D の比 L/D を、血液透析用のダイアライザーより低くする、つまり太短くすることが挙げられる。

【0037】

ダイアライザーとして用いられている中空系膜型モジュールを用いてもよいが、中空系膜が断片として、ハウジング内に収納されていてもよく、その場合、中空系膜断片の太さは、断片化する前の中空系膜と同程度であるが、 $0.01 - 1\text{ mm}$ であることが好ましく、中空系膜の長さは、好ましくは $0.2 - 200\text{ mm}$ であり、より好ましくは $0.5 - 10\text{ mm}$ である。

本実施形態においては、中空系膜断片は、紡糸して得られる中空系膜を所望の大きさに切断することにより得ることができる。

10

【実施例】

【0038】

以下、本実施形態を実施例及び比較例によってさらに具体的に説明するが、本実施形態はこれらの実施例のみに限定されるものではない。

【0039】

以下の実施例及び比較例において、 $A\beta$ としては、和光純薬工業社製のヒト $A\beta_{1-40}$ 又はヒト $A\beta_{1-42}$ の、塩酸塩を用いた。 $A\beta_{1-40}$ 又は $A\beta_{1-42}$ は、 $100\text{ }\mu\text{g/mL}$ の $A\beta$ のジメチルスルホキシド (DMSO) 溶液として冷凍保存し、保存液を使用直前に解凍して用いた。

【0040】

<実施例1> 中空系ミニモジュールを用いた検討 (吸着・通過実験)

20

市販のダイアライザーである、ポリスルホン (PSf) 製ダイアライザー (APS13E 旭化成クラレメディカル社製、IV型: ポアサイズ大)、改質セルロース (BEM) 製ダイアライザー (AMBC-13F 旭化成クラレメディカル社製、II型: ポアサイズ小)、及びエチレンビニルアルコール共重合体 (EVAL) 製ダイアライザー (kf-m12 旭化成クラレメディカル社製、II型: ポアサイズ小) を超音波カッターで切り開き、中空系を取り出して、カルシウム不含リン酸緩衝食塩水 (PBS) (pH7.2) にて洗浄した後、風乾した。

中空系内腔の膜面積が 65 cm^2 (1.3 m^2 製品の約1/200)、中空系の有効長が 10 cm となるように、ポリエチレンチューブとエポキシ樹脂にて中空系束端を固めてマウント (ヘッダーに相当する) を作成し、接続にはシリコンチューブを用いて、中空系ミニモジュールを作成した。

30

中空系ミニモジュールに、ペリスタポンプ (SJ-1211 ATTO社製) を用いてPBSを流量 15 mL/hr (1.3 m^2 製品換算で 50 mL/min) で20分間通過させ、さらに、 10 mg/mL ウシ血清アルブミン (BSA) (和光純薬工業社製、グロブリン不含生化学用) を含むPBS溶液を流量 15 mL/hr (1.3 m^2 製品換算で 50 mL/min) で4分間通過させてプライミングした。

プライミング後の中空系ミニモジュールに、 10 mg/mL BSAのPBS溶液に 400 ng/mL (約 100 nM) となるように $A\beta$ を添加した $A\beta_{1-42}$ /BSA/PBS溶液 (以下、「 $400\text{ ng/mL } A\beta_{1-42}$ /BSA/PBS溶液」と略称する場合がある。) をA側 (中空系ミニモジュール前) からV側 (中空系ミニモジュール後) に向かって流量 15 mL/hr (1.3 m^2 製品換算で 50 mL/min) で通過させ、中空系ミニモジュールを通過して出てきた $A\beta$ 溶液を通過開始後0時間 (吸着開始直後)、1時間、4時間に採取した。

40

採取したサンプル液中の $A\beta_{1-42}$ 濃度を、Human β Amyloid (1-42) ELISA Kit, High-Sensitive (和光純薬工業社製) を用いて、iMark Microplate Reader (Bio-Rad Laboratories社製) にて測定波長 450 nm 、参照波長 620 nm の条件で測定して、 $A\beta$ 除去率を中空系ミニモジュール前後の $A\beta$ 濃度比から下記式に基づいて求めた。

式:

$A\beta$ 除去率 = $100 \times \{ 1 - (\text{中空系ミニモジュール後 } A\beta \text{ 濃度} / \text{中空系ミニモジュール前 } A\beta \text{ 濃度}) \}$

結果を表1に示す。4時間にわたり、素材、ポアサイズによらず通過液の $A\beta$ はほとんど除去された。

【0041】

50

表1：中空系ミニモジュールによるA β 除去率(吸着・通過実験)

【表1】

A β 除去率(%)	0h	1h	4h
PSf	97.2	97.4	85.4
BEM	97.9	97.8	91.8
	97.9	97.5	90.5
EVAL	97.6	97.6	88.6
	97.2	97.4	90.2

【0042】

<実施例2> 中空系ミニモジュールを用いた検討(全濾過)

実施例1と同様にして、中空系ミニモジュール及びペリスタポンプを用いて、PBSを流量15mL/hr(1.3m²製品換算で50mL/min)で20分間通過させ、さらに、10mg/mLウシ血清アルブミン(BSA)(和光純薬工業。グロブリン不含生化学用)を含むPBS溶液を流量15mL/hr(1.3m²製品換算で50mL/min)で4分間通過させてプライミングした。

プライミング後の中空系ミニモジュールのV側を完全閉塞させ、400ng/mL A β ₁₋₄₂/BSA/PBS溶液をA側(中空系ミニモジュール前)からV側(中空系ミニモジュール後)に向かって流量15mL/hrで通過させ、中空系ミニモジュールから濾過されて外面から滴下してくるA β 溶液を、A β 液が中空系ミニモジュールに行き渡って全濾過開始後0分(全濾過開始直後)、30分、60分に採取した。

採取したサンプル液中のA β ₁₋₄₂濃度を実施例1と同様にして測定して、A β 除去率を求めた。

結果を表2に示す。ポアサイズの小さなEVAL及びBEMでは濾液中にA β がある程度出てくるのに対し、ポアサイズの大きなPSfの濾液中のA β 濃度は全濾過開始直後ではほとんど検出されず、濾過の進行(圧上昇)に伴い増加した。

実施例1及び実施例2の結果から吸着が主なA β 除去機構と推察された。

【0043】

表2：中空系ミニモジュールによるA β 除去率(全濾過)

【表2】

A β 除去率(%)	0h	1h	4h
PSf	99.8	62.1	60.5
	99.8	67.4	57.8
BEM	87.5	72.2	49.0
EVAL	69.4	70.9	圧上昇で停止
	89.0	53.0	圧上昇で停止

【0044】

<実施例3> ダイアライザーを用いた検討(吸着・通過実験)

市販のダイアライザーである、旭化成クラレメディカル社製ダイアライザー(APS-13S)と透析用血液回路(AP-53B Gambro社製)にて実験用回路を構築し、持続緩徐式血液浄化装置(ACH-10 旭化成クラレメディカル社製)を用いた。

PBS 500mLで、ダイアライザーの血液側・透析液側を流量200mL/minにてプライミングし、次いで、血液側のみ5mg/mL BSA/PBS溶液を流量200mL/minで30分間通過させてプライミングした。

透析液側の液を廃棄した後にA側、D側の両ポートに栓をはめて、透析液側に空気を封入し完全に閉塞させた後、プライミング時に充填されたBSA/PBS溶液をA側(血液回路ダイアライザー前)より、5mg/mL BSA/PBS溶液に4ng/mL A β ₁₋₄₀となるようにA β を添加した4ng/mL A β ₁₋₄₀/BSA/PBS溶液200mLで置換した後、流量200mL/minにて4ng/mL A β ₁₋₄₀/BSA/PBS溶液をA側からV側(血液回路ダイアライザー後)へ4分間流し、ダイアライザーを通過させた。実験開始直前のA β ₁₋₄₀溶液と開始後4分のダイアライザー前後をサンプリングし、

10

20

30

40

50

さらに、透析液側（D側）に僅かに漏出した溶液、及び、ダイアライザーを通過してV側出口から出てきた液を4分間貯留した液を各々攪拌して均一にし、その一部を採取してサンプル液とした。この場合の中空系内腔の血液の線速度は63.7cm/minであった。

採取したサンプル液中の $A\beta_{1-40}$ 濃度を、Human β Amyloid (1-40) ELISA Kit II（和光純薬工業社製）を用いて、iMark Microplate Reader（Bio-Rad Laboratories社製）にて測定波長450nm、参照波長620nmの条件で測定した。

ダイアライザーに注入した液量と $A\beta$ 濃度の積から、インプットした $A\beta$ の絶対量を求め、また、V側、D側から出てきた液量と $A\beta$ 濃度の積から、アウトプットした $A\beta$ の絶対量を求め、絶対量からの $A\beta$ 除去率として、

$A\beta$ 除去率 = $100 \times \{ 1 - (\text{ダイアライザーV側から出てきた} A\beta \text{の絶対量} / \text{ダイアライザーA側に入れた} A\beta \text{の絶対量}) \}$ 、

絶対量からのD側への $A\beta$ の漏れ出し率として、

漏れ出し率 = $100 \times \{ 1 - (\text{D側から出てきた} A\beta \text{の絶対量} / \text{ダイアライザーA側に入れた} A\beta \text{の絶対量}) \}$

とした。結果を表3に示す。

【0045】

<実施例4> ダイアライザーを用いた検討（吸着・通過実験）

4ng/mL $A\beta_{1-40}$ /BSA/PBS溶液の流量を50mL/minとした以外は、実施例3と同様にして吸着・透過実験を行った。この場合の中空系内腔の血液の線速度は15.0cm/minであった。結果を表3に示す。

【0046】

<実施例5> ダイアライザーを用いた検討（吸着・通過実験）

4ng/mL $A\beta_{1-40}$ /BSA/PBS溶液の流量を15mL/minとした以外は、実施例3と同様にして吸着・透過実験を行った。この場合の中空系内腔の血液の線速度は4.8cm/minであった。結果を表3に示す。

【0047】

<実施例6> ダイアライザーを用いた検討（吸着・通過実験）

透析液側に液体（純水）を封入した以外は、実施例3と同様にして吸着・透過実験を行った。結果を表3に示す。

【0048】

<実施例7> ダイアライザーを用いた検討（吸着・通過実験）

実施例3と同様にして、プライミングを行った後、血液側の液を廃棄した後にA側、V側の両ポートに栓をはめて、血液側（中空系内腔）に空気を封入し完全に閉塞させた。プライミング時に充填された透析液側（中空系外面）のBSA/PBS溶液をDポート入口より4ng/mL $A\beta_{1-40}$ /BSA/PBS溶液200mLで置換した後、流量200mL/minにて4ng/mL $A\beta_{1-40}$ /BSA/PBS溶液を、透析液側Dポート入口からDポート出口へ4分間流し、ダイアライザーを通過させ、中空系外面での吸着・透過実験を行った。結果を表3に示す。

【0049】

表3：ダイアライザーによる $A\beta$ 除去率（吸着・通過実験）

【表3】

	$A\beta$ 溶液接触側	$A\beta$ 溶液の反対側封入物	Qb (ml/min)	$A\beta$ 除去率 (絶対量から)(%)	中空系から 濾過で漏れ 出てきた率 (%)
吸着・透過実験	中空系内側	空気	200	74.4	0.003
			50	46.2	0
			15	94.5	0
	中空系外側	液(純水)	200	32.9	0.2
		空気		68.6	n.d.

【0050】

10

20

30

40

50

<実施例8> ダイアライザーを用いた検討（透析実験）

実施例3の吸着・追加実験終了後、ダイアライザー前後の血液回路を閉塞し、透析液側回路をPBSにて流量80mL/minで5分間（計400mL）洗浄した。その後、ダイアライザーの透析液側は、模擬透析液としてPBS200mLで透析液側流量（QD）83mL/minにて4分間循環させた（この透析液流量は、通常の透析患者の血液透析に比して6分の1）。この間、血液側流量（QB）200mL/minにて4ng/mL $A\beta_{1-40}$ 溶液をA側からV側へ4分間流し、ダイアライザーを通過させた。

実験開始直前の $A\beta_{1-40}$ 溶液と開始後4分時点でのダイアライザー前後をサンプリングし、さらに、透析液として用いたPBS、及び、ダイアライザーを通過してV側出口から出てきた液を4分間貯留した液を、各々攪拌して均一にしてその一部を各々採取しサンプル液とした。実施例3と同様の計算式にて、 $A\beta$ 除去率を求めた。結果を表4に示す。

【0051】

<実施例9> ダイアライザーを用いた検討（透析実験）

大型ローラーポンプを用いて、透析液側流量を500mL/minとした以外は、実施例8と同様にして透析実験を行った。

結果を表4に示す。表4には、透析液側流量を0mL/minとした（液封した）実施例6の結果も示す。

【0052】

表4：ダイアライザーによる $A\beta$ 除去率（透析実験）

【表4】

	$A\beta$ 溶液接触側	$A\beta$ 溶液流量 Qb (ml/min)	透析液側流量 Qd (ml/min)	$A\beta$ 除去率 (絶対量から)(%)	中空糸から 濾過で漏れ 出てきた率 (%)
透析実験	中空糸内側	200	0(封入)	32.9	0.2
			83.3	74.4	0.003
			500	68.6	0

【0053】

<実施例10> ダイアライザーを用いた検討（全濾過実験）

実施例8の透析実験終了後、ダイアライザー前後の血液回路を閉塞して透析液側に貯留した溶液を廃棄した。続いてダイアライザー前の血液回路を開けて、透析液側ポートの上側は閉塞した。この後、V側を閉塞し、流量200mL/minにて4ng/mL $A\beta_{1-40}$ 溶液をA側から4分間流し、ダイアライザーの膜厚方向に通過させた。実験開始直前の $A\beta_{1-40}$ 溶液、及び、濾過されて透析液側ポート下側から出てきた液を4分間貯留した液を攪拌して均一にしたもの、からその一部を各々採取しサンプル液とした。実施例3と同様の計算式にて、 $A\beta$ 除去率を求めた。結果を表5に示す。

【0054】

表5：ダイアライザーによる $A\beta$ 除去率（全濾過実験）

【表5】

	$A\beta$ 溶液接触側	$A\beta$ 溶液流量 Qb (ml/min)	$A\beta$ 除去率 (絶対量から)(%)	中空糸から 濾過で漏れ 出てきた率 (%)
全濾過実験	中空糸内側	200	99.9	0.1

【0055】

透析実験では、 $A\beta$ 除去率は70%前後であり、透析液側にはほとんど $A\beta$ が移行しなかった。また、全濾過実験でも、濾液中には $A\beta$ は0.1%しか移行せず、 $A\beta$ の除去はダイアライザーの中空糸膜に吸着されたと考えられる。

$A\beta$ モノマーは分子量が4kDa程度の小分子ではあるが、透析実験及び全濾過実験の結果

10

20

30

40

50

から、中空系の中から外への移行はわずかであり、中空系膜への吸着が主たるA β 除去機構であると考えられる。

【0056】

<実施例11> 中空系膜断片を用いた検討

市販のポリスルホン製ダイアライザー（APS-15SA 旭化成クラレメディカル社製）について、超音波カッターで切り開き、中空系を取り出してPBSにて洗浄後、風乾した。

19cm長に切りそろえた乾燥した中空系350本を1cm長の断片に切り、PP製の15mL遠心管に詰め、10mg/mL BSA/PBS溶液で40ng/mLに調整したA β_{1-40} /BSA/PBS溶液を10mL加え、振盪しながら、15、30、60分、4、16時間後にサンプリングして、A β 除去率を、対照とのA β_{1-40} 濃度比から求めた。対照としては、中空系膜断片を入れずに、PP製遠心管にA β_{1-40} /BSA/PBS溶液を入れて同様に振盪したものから、15、30、60分、4、16時間後にサンプリングしたものをを用いた。

中空系の使用本数を6本、60本及び240本の場合についても同様に、5、15、30、60分、4時間後にサンプリングして、A β 除去率を測定した。

中空系内腔の表面積は、350本の場合：418cm²、240本のパイ：286cm²、60本の場合：71.4cm²、6本の場合：7.1cm²となる。測定結果を表6に示す。

【0057】

表6：中空系膜断片によるA β 除去率

【表6】

min	350 pieces	240 pieces	60 pieces	6 pieces
5	n.d.	83.8	65.0	42.8
15	97.0	94.8	81.4	39.7
30	97.5	98.0	85.7	39.7
60	98.4	99.1	89.5	39.0
240	99.0	99.4	86.0	40.6
960	98.6	n.d.	n.d.	n.d.

【0058】

<実施例12> A β とアルブミン比によるA β 除去率の検討（PBSのみでプライミング）

市販のポリスルホン製ダイアライザー（APS-15SA 旭化成クラレメディカル社製）について、超音波カッターで切り開き、中空系を取り出してPBSでよく洗浄後、風乾した。

19cm長に切りそろえた乾燥した中空系350本を1cm長の断片に切り、ポリプロピレン（PP）製の15mL遠心管に詰め、BSAを含まないPBSで15分間プライミングしたのち、プライミング液を廃棄し、ついで、様々な濃度のBSAが入ったPBSに溶解した4ng/mLのA β_{1-40} /BSA/PBS溶液を10mL加え、振盪しながら、15、30分間後にサンプリングした。A β_{1-40} 濃度の測定は実施例11と同様にして行った。

A β_{1-40} の仕込み設定濃度は4ng/mLと一定にしたが、A β ：BSAのモル比としては、1:7400（5mg/mL BSA）、1:10、1:1、1:0.1、1:0（BSA無し）の5水準を用いた。A β 除去率は同条件、同時刻の対照（中空系膜断片無し）のA β 濃度に対する、中空系膜断片有りの残存A β 濃度の比から求めた。結果を表7に示す。

【0059】

表7：A β_{1-40} とアルブミンのモル比によるA β 除去の違い（PBSのみでプライミング）

【表 7】

non Alb-priming					
		15min		30min	
	A β :BSA	A β_{1-40} 濃度	除去率	A β_{1-40} 濃度	除去率
中空糸断片有り	1:74000	0	100.0%	12.4	99.2%
	1:10	0	100.0%	14	98.0%
	1:1	0	100.0%	9.3	95.7%
	1:0.1	9.3	*	0	*
	1:0	1.6	97.7%	0	100.0%
	A β :BSA	15		30	
中空糸断片無し	1:74000	1478.3		1528.8	
	1:10	803.2		714.0	
	1:1	166.8		217.3	
	1:0.1	0		0	
	1:0	69.8		31.0	

10

【 0 0 6 0 】

< 実施例13 > A β とアルブミン比によるA β 除去率の検討（アルブミン含有PBSでプライミングした場合）

プライミング時の液を、5mg/mLのBSA入りPBSとした以外は、実施例12と同様にして、A β_{1-40} 濃度の測定を行って、A β 除去率を求めた。結果を表8に示す。

20

【 0 0 6 1 】

表8：A β_{1-40} とアルブミンのモル比によるA β 除去の違い（アルブミン入りPBSでプライミング）

【表 8】

Alb-priming					
		15min		30min	
	A β :BSA	A β_{1-40} 濃度	除去率	A β_{1-40} 濃度	除去率
中空糸断片有り	1:74000	24.8	97.7%	4.7	99.5%
	1:10	24.8	96.6%	1.6	99.8%
	1:1	34.1	78.6%	15.5	95.6%
	1:0.1	1.6	*	9.3	80.0%
	1:0	0	*	18.6	4.1%
	A β :BSA	15		30	
中空糸断片無し	1:74000	1086.4		1032.1	
	1:10	729.5		725.6	
	1:1	159.1		349.2	
	1:0.1	0		46.6	
	1:0	0		19.4	

30

【 0 0 6 2 】

40

実施例12及び13において、中空糸によるA β 除去が、A β -アルブミン複合体の吸着・濾過によるものか、A β -アルブミン複合体から解離したA β を吸着しているのかを検討した。

A β はPP製の遠心管の管壁にも吸着するので、中空糸断片無しの場合においてもA β 濃度が減少している。15分と30分におけるA β 濃度の値はほぼ同じであることから、15分時点ですでに管壁へのA β の吸着は完了している。

実施例12では、中空糸断片有りの場合に、A β :BSAのモル比に関わらず、15分間の接触で残存A β 濃度はほぼゼロ（仕込み設計濃度4000pg/mLの1%程度以下）になったことから、A β -アルブミン複合体から解離したA β が中空糸膜に吸着されたと考えられる。したがって、中空糸膜表面には、アルブミンの吸着座席のほかにA β の吸着座席も数多く存在し、A

50

β - アルブミン複合体から解離した $A\beta$ を効率よく除去できると考えられる。

また、実際の血液には50mg/mL程度の大量のアルブミンが含まれている。実施例13では、それを模して高濃度のアルブミン (BSA) でプライミングしたにもかかわらず、中空系による $A\beta$ 除去はほとんど阻害されておらず、また、実施例12と同様に、 $A\beta$: BSAのモル比に関わらず、15分間の接触で残存 $A\beta$ 濃度はほぼ仕込み設計濃度4000pg/mLの1%程度以下になり、効率的な $A\beta$ 除去が行われた。本実験においても、事前に行ったアルブミンコート (アルブミン入りのPBSでプライミング) の影響をあまり受けずに、 $A\beta$ を効率的に吸着することから、中空系膜表面には、アルブミンの吸着座席のほかに $A\beta$ の吸着座席も数多く存在し、 $A\beta$ - アルブミン複合体から解離した $A\beta$ を効率よく除去できることが示唆された。

10

一方、中空系無しの場合の残留 $A\beta_{1-40}$ 濃度については、実施例13でアルブミン入りのPBSを用いてプライミングしても、実施例12のアルブミン無しのPBSでプライミングした時と同様に、アルブミン : $A\beta$ 比に依存して残留 $A\beta$ 濃度は減少した。これは、事前にアルブミンでプライミングしてPP管壁の吸着座席をブロックした場合でも、実施例12 (アルブミン無しPBSでプライミング) と同様に、アルブミン : $A\beta$ のモル比の大小によって、 $A\beta_{1-40}$ の吸着率が変化する事を意味する。すなわち、PP管壁のアルブミン吸着座席の残存量に関わらず、溶液中のアルブミンが $A\beta$ を結合してしまい、 $A\beta$ がPP管壁へ吸着するのを阻害している (溶液中のアルブミンが、PP管壁に吸着しようとする $A\beta$ を溶液側に引っ張る) 事を意味する。つまり、PP管壁の $A\beta$ 吸着は、溶液中の $A\beta$ - アルブミン複合体のために阻害されるといえる。しかるに、中空系断片有りの場合は、溶液中のアルブミン : $A\beta$ のモル比が高く (アルブミン濃度が高い)、 $A\beta$ - アルブミン複合体が形成されていても、 $A\beta$ 除去率は98%程度と高い。つまり、中空系断片は、その複合体から $A\beta$ を引っ張り出して吸着させる能力があると考えられる。

20

【0063】

< 実施例14 > 中空系膜断片を用いた検討 (in vitro)

市販のダイアライザー3種：ポリスルホン (PSf) 製ダイアライザー (APS-15SA 旭化成クラレメディカル社製)、ポリメチルメタアクリレート (PMMA) 製ダイアライザー (BG-1.3PQ 東レメディカル社製)、セルローストリアセテート (CTA) 製ダイアライザー (FB-150U β ニプロ社製) について、それぞれ超音波カッターで切り開き、中空系を取り出してPBSでよく洗浄して風乾した。PMMA製ダイアライザーに含まれているスパーサーヤーンはピンセットで除去した。

30

19cm長に切りそろえた乾燥した中空系240本を、1cm長の断片に切り、PP製15mL遠心管に詰めた。

10mg/mL BSA溶液で40ng/mLに調整した $A\beta_{1-42}$ /BSA/PBS溶液を10mL加え振盪しながら、30分、1、2、4時間後にサンプリングした。

$A\beta_{1-42}$ 用の高感度ELISA (和光純薬) で、 $A\beta_{1-42}$ 濃度を測定した。 $A\beta$ 除去率は、対照との $A\beta_{1-42}$ 用濃度比から求めた。対照としては、中空系膜断片を入れずに、PP製遠心管に $A\beta_{1-42}$ /BSA/PBS溶液を入れて同様に振盪したものから、30分、1、2、4時間後にサンプリングしたものをを用いた。結果を表9に示す。

【0064】

40

表9：中空系膜断片による $A\beta$ 除去率

【表 9】

	30 min			1h			2h			4h		
PSf	92.8	97.8	98.5	95.6	98.5	98.9	97.3	99.1	99.0	98.0	99.4	99.4
average rate(%)		96.4			97.7			98.5			98.9	
PMMA	86.2	91.4	94.0	94.8	91.5	95.5	95.2	96.4	96.8	96.0	96.8	97.6
average rate(%)		90.5			93.9			96.2			96.8	
CTA	73.4	72.5	70.9	76.0	73.0	68.9	73.2	73.5	70.6	73.1	73.2	70.2
average rate(%)		72.3			72.6			72.5			72.2	

【 0 0 6 5 】

< 実施例15 > ダイアライザーを用いた検討 (in vivo)

透析患者群として、59～75歳（平均 68.9 ± 4.1 歳）の非糖尿病患者37名（男性16名、女性21名。透析歴は2-35年（平均 11.5 ± 8.0 年））であった。血流量200mL/min、透析液流量400-500mL/minで4時間の透析を週3回継続した。抗凝固剤はヘパリンを使用した。

ポリスルホン(PSf)製ダイアライザー（APS-15SA、APS-18SA、APS-21SA、APS-18MD 旭化成クラレメディカル社製）31例、セルローストリアセテート(CTA)製ダイアライザー（FB-150Uβ ニプロ社製）3例、ポリメチルメタクリレート（PMMA）製ダイアライザー（BG-1.3PQ 東レメディカル社製）2例、ポリビニルピロリドンでコートしたポリエーテルスルホンポリアリレートポリマアロイ（PEPA）製ダイアライザー（FDY-210GW 日機装社製）2例とした。1例については、ダイアライザーの素材を変えて計2回測定した。

透析開始後1時間時点で、ダイアライザー入口の検体、および、ダイアライザー出口の検体を血液回路から採取し、ダイアライザーによるカラム前後の $A\beta$ 除去率を求めた。

中空糸素材別の透析開始1時間後のダイアライザー前後の $A\beta_{1-40}$ 除去率の平均値は、ポリスルホンが68.9%、CTAが51.4%、PMMAが60.8%、PEPAが60.7%であり、透析開始1時間後のダイアライザー前後の $A\beta_{1-42}$ 除去率の平均値は、ポリスルホンが53.5%、CTAが40.0%、PMMAが48.6%、PEPAが42.7%であった。

フロントページの続き

- (72)発明者 北口 暢哉
愛知県豊明市沓掛町田楽ケ窪1番地98 藤田保健衛生大学内
- (72)発明者 川口 和紀
愛知県豊明市沓掛町田楽ケ窪1番地98 藤田保健衛生大学内

審査官 石田 宏之

- (56)参考文献 米国特許出願公開第2007/0010435(US,A1)
国際公開第2010/073580(WO,A1)
特開2004-216143(JP,A)

- (58)調査した分野(Int.Cl.,DB名)
A61M 1/36