

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2014-500735

(P2014-500735A)

(43) 公表日 平成26年1月16日 (2014.1.16)

(51) Int.Cl. F I テーマコード (参考)  
**A 6 1 M 1/36 (2006.01)** A 6 1 M 1/36 5 6 0 4 C 0 7 7  
 A 6 1 M 1/36 5 4 0

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 68 頁)

(21) 出願番号 特願2013-534056 (P2013-534056) (86) (22) 出願日 平成23年10月14日 (2011.10.14) (85) 翻訳文提出日 平成25年6月12日 (2013.6.12) (86) 国際出願番号 PCT/US2011/056469 (87) 国際公開番号 W02012/051595 (87) 国際公開日 平成24年4月19日 (2012.4.19) (31) 優先権主張番号 61/393,805 (32) 優先日 平成22年10月15日 (2010.10.15) (33) 優先権主張国 米国 (US)	(71) 出願人 511133336 サイトフェリックス インコーポレイテッド アメリカ合衆国 ミシガン州 アナーバー ウェスト モーガン ロード 401 (74) 代理人 100102978 弁理士 清水 初志 (74) 代理人 100102118 弁理士 春名 雅夫 (74) 代理人 100160923 弁理士 山口 裕孝 (74) 代理人 100119507 弁理士 刑部 俊 (74) 代理人 100142929 弁理士 井上 隆一
--	--

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 サイトフェレーシスカートリッジおよびその使用

## (57) 【要約】

本発明は、対象の炎症症状の治療および／または予防における使用のためのサイトフェレーシスカートリッジ、ならびに関連する方法に関する。より具体的には、本発明は、ハウジングと、該ハウジング内に配置されており、活性化白血球および／または活性化血小板を分離することができる固体支持体とを備えるサイトフェレーシスカートリッジに関する。

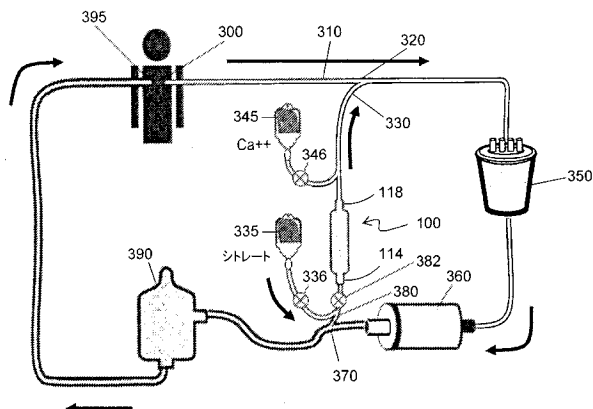
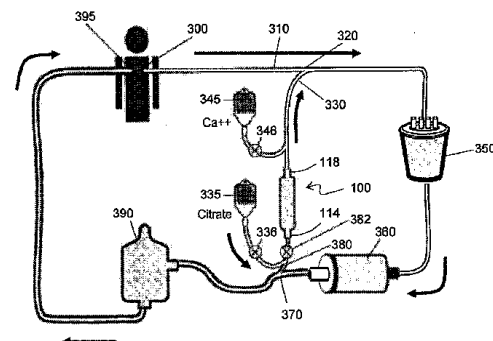


Figure 3A



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

活性化白血球、活性化血小板、または該活性化白血球と該活性化血小板の両方を処置するためのカートリッジであって、

(a) 内容積 (I V)、流体入口ポートおよび流体出口ポートを画定している硬質のハウジングであって、該内容積が該流体入口ポートおよび該流体出口ポートと流体流連通している、ハウジングと；

(b) 該流体入口ポートを通して該ハウジングに入る体液中に活性化白血球および／または活性化血小板が存在する場合に該活性化白血球および／または該活性化血小板を分離することができる表面積 (S A) を有する流体接触面を画定しており、かつ該ハウジング内に 20 % ~ 65 % の範囲の充填密度で配置されている固体支持体であって、S A / I V 比が  $150 \text{ cm}^{-1}$  より大きい、固体支持体とを備えるカートリッジ。

10

## 【請求項 2】

前記 S A / I V 比が  $150 \text{ cm}^{-1} \sim 1,500 \text{ cm}^{-1}$  の範囲である、請求項 1 に記載のカートリッジ。

## 【請求項 3】

前記 S A / I V 比が  $300 \text{ cm}^{-1} \sim 1,000 \text{ cm}^{-1}$  の範囲である、請求項 2 に記載のカートリッジ。

20

## 【請求項 4】

前記 S A / I V 比が  $400 \text{ cm}^{-1} \sim 800 \text{ cm}^{-1}$  の範囲である、請求項 3 に記載のカートリッジ。

## 【請求項 5】

前記 S A / I V 比が  $200 \text{ cm}^{-1} \sim 600 \text{ cm}^{-1}$  の範囲である、請求項 2 に記載のカートリッジ。

## 【請求項 6】

前記固体支持体が膜である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 7】

前記膜が多孔質である、請求項 6 に記載のカートリッジ。

## 【請求項 8】

前記固体支持体が平面状支持部材を含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

30

## 【請求項 9】

前記平面状支持部材が膜である、請求項 8 に記載のカートリッジ。

## 【請求項 10】

前記固体支持体が繊維を含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 11】

前記繊維が中空繊維または中実繊維である、請求項 10 に記載のカートリッジ。

## 【請求項 12】

前記 S A が  $0.8 \text{ m}^2$  より大きい、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

40

## 【請求項 13】

前記 S A が  $0.1 \text{ m}^2 \sim 10.0 \text{ m}^2$  の範囲である、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 14】

前記 S A が  $0.1 \text{ m}^2 \sim 5.0 \text{ m}^2$  の範囲である、請求項 13 に記載のカートリッジ。

## 【請求項 15】

前記 S A が  $0.1 \text{ m}^2 \sim 0.4 \text{ m}^2$ 、 $0.4 \text{ m}^2 \sim 0.8 \text{ m}^2$ 、 $0.8 \text{ m}^2 \sim 1.2 \text{ m}^2$ 、 $1.2 \text{ m}^2 \sim 1.6 \text{ m}^2$ 、 $1.6 \text{ m}^2 \sim 2.0 \text{ m}^2$ 、 $2.0 \text{ m}^2 \sim 2.4 \text{ m}^2$ 、 $2.4 \text{ m}^2 \sim 2.8 \text{ m}^2$ 、 $2.8 \text{ m}^2 \sim 3.2 \text{ m}^2$ 、 $3.2 \text{ m}^2 \sim 3.6 \text{ m}^2$ 、 $3.6 \text{ m}^2 \sim$

50

4.0 m<sup>2</sup>、4.0 m<sup>2</sup> ~ 4.4 m<sup>2</sup>、4.4 m<sup>2</sup> ~ 4.8 m<sup>2</sup>、4.8 m<sup>2</sup> ~ 5.2 m<sup>2</sup>、5.2 m<sup>2</sup> ~ 5.6 m<sup>2</sup>、5.6 m<sup>2</sup> ~ 6.0 m<sup>2</sup>、6.0 m<sup>2</sup> ~ 6.4 m<sup>2</sup>、6.4 m<sup>2</sup> ~ 6.8 m<sup>2</sup>、6.8 m<sup>2</sup> ~ 7.2 m<sup>2</sup>、7.2 m<sup>2</sup> ~ 7.6 m<sup>2</sup>、7.6 m<sup>2</sup> ~ 8.0 m<sup>2</sup>、8.0 m<sup>2</sup> ~ 8.4 m<sup>2</sup>、8.4 m<sup>2</sup> ~ 8.8 m<sup>2</sup>、8.8 m<sup>2</sup> ~ 9.2 m<sup>2</sup>、9.2 m<sup>2</sup> ~ 9.6 m<sup>2</sup>、または9.6 m<sup>2</sup> ~ 10.0 m<sup>2</sup>の範囲である、請求項13に記載のカートリッジ。

【請求項16】

前記IVが300 cm<sup>3</sup>未満である、請求項1 ~ 15のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項17】

10

前記IVが150 cm<sup>3</sup>未満である、請求項16に記載のカートリッジ。

【請求項18】

前記IVが100 cm<sup>3</sup>未満である、請求項17に記載のカートリッジ。

【請求項19】

前記IVが10 cm<sup>3</sup> ~ 150 cm<sup>3</sup>の範囲である、請求項1 ~ 15のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項20】

前記IVが75 cm<sup>3</sup> ~ 150 cm<sup>3</sup>の範囲である、請求項19に記載のカートリッジ。

【請求項21】

20

前記IVが15 cm<sup>3</sup> ~ 120 cm<sup>3</sup>の範囲である、請求項19に記載のカートリッジ。

【請求項22】

前記IVが20 cm<sup>3</sup> ~ 80 cm<sup>3</sup>の範囲である、請求項21に記載のカートリッジ。

【請求項23】

前記流体入口ポートおよび前記流体出口ポートが、ハウジングを通る流量を10 cm<sup>3</sup>/分 ~ 8,000 cm<sup>3</sup>/分の範囲にし得る寸法になっている、請求項1 ~ 22のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項24】

前記ハウジングを通る流量が50 cm<sup>3</sup>/分 ~ 8,000 cm<sup>3</sup>/分の範囲である、請求項23に記載のカートリッジ。

30

【請求項25】

体液が1,000 cm<sup>3</sup>/分の流量で前記流体入口ポートを通して前記ハウジングに入り、かつ前記流体出口ポートを通して前記ハウジングから出るときに、約100ダイン/cm<sup>2</sup>未満の剪断力を作り出すように前記ハウジングが構成されている、請求項1 ~ 24のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項26】

前記固体支持体の流体接触面がポリスルホンを含む、請求項1 ~ 25のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項27】

40

前記固体支持体の流体接触面が、該流体接触面に結合している細胞接着分子を含む、請求項1 ~ 26のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項28】

滅菌されている、請求項1 ~ 27のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項29】

前記流体入口ポートおよび前記流体出口ポートがそれぞれ、0.01 cm<sup>2</sup>以上、0.1 cm<sup>2</sup>以上、0.2 cm<sup>2</sup>以上、0.4 cm<sup>2</sup>以上、0.6 cm<sup>2</sup>以上、0.8 cm<sup>2</sup>以上、または1.0 cm<sup>2</sup>以上の断面積を有する、請求項1 ~ 28のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項30】

50

前記流体入口ポートおよび前記流体出口ポートがそれぞれ、 $0.01\text{ cm}^2 \sim 1\text{ cm}^2$ の範囲の断面積を有する、請求項 1 ~ 28 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項 3 1】

前記固体支持体が、前記カートリッジ内の流体の流動方向に実質的に平行である、請求項 1 ~ 30 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項 3 2】

前記ハウジングの流体接触面が生体適合性材料を含む、および / または前記固体支持体の流体接触面が生体適合性材料を含む、請求項 1 ~ 30 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項 3 3】

体液中に含まれる活性化白血球、活性化血小板、または該活性化白血球と該活性化血小板の両方を処理するための方法であって、

( a ) ( i ) 内容積 ( I V )、流体入口ポートおよび流体出口ポートを画定している硬質のハウジングであって、該内容積が該流体入口ポートおよび該流体出口ポートと流体流連通している、ハウジングと；

( i i ) 該流体入口ポートを通して該ハウジングに入る体液中に活性化白血球および / または活性化血小板が存在する場合に該活性化白血球および / または該活性化血小板を分離することができる表面積 ( S A ) を有する流体接触面を画定しており、かつ該ハウジング内に配置されている固体支持体であって、 $S A / I V$  比が  $80\text{ cm}^{-1}$  より大きい、固体支持体と

を備えるカートリッジを提供する工程、ならびに

( b ) 活性化白血球および / または活性化血小板を該固体支持体の流体接触面で分離できる条件で、対象からの体液を、該流体入口ポートを通して該ハウジングに導入する工程を含む方法。

【請求項 3 4】

( c ) 工程 ( b ) で分離された前記白血球および / または前記血小板を、炎症誘発性物質の放出が抑制されるようにまたは前記白血球および / または前記血小板が不活性化されるように処置する工程

をさらに含む、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記炎症誘発性物質の放出を抑制するまたは前記白血球もしくは前記血小板を不活性化するのに十分な時間、前記白血球または前記血小板が分離される、請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 6】

前記白血球および / または前記血小板が、少なくとも 1 分間分離される、請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 7】

工程 ( c ) で生成した前記白血球および / または前記血小板を対象に戻す工程をさらに含む、請求項 3 4 ~ 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 8】

工程 ( c ) において、カルシウムキレート剤によって前記炎症誘発性物質の放出を抑制するまたは前記白血球もしくは前記血小板を不活性化する、請求項 3 4 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 9】

炎症症状を有するまたはその発症リスクを有する対象を治療するための方法であって、

( a ) ( i ) 内容積 ( I V )、流体入口ポートおよび流体出口ポートを画定している硬質のハウジングであって、該内容積が該流体入口ポートおよび該流体出口ポートと流体流連通している、ハウジングと；

( i i ) 該流体入口ポートを通して該ハウジングに入る体液中に活性化白血球が存在する場合に該活性化白血球を分離することができる表面積 ( S A ) を有する流体接触面

10

20

30

40

50

を画定しており、かつ該ハウジング内に配置されている固体支持体であって、 $SA/IV$ 比が $80\text{ cm}^{-1}$ より大きい、固体支持体と

を備えるカートリッジを提供する工程、ならびに

(b) 活性化白血球および/または活性化血小板を該固体支持体の流体接触面で分離できる条件で、対象からの体液を、該流体入口ポートを通して該ハウジングに導入する工程を含む方法。

【請求項 40】

(c) 工程(b)で分離された前記白血球および/または前記血小板を、前記炎症症状と関連する炎症の発症リスクを低下させるようにまたは前記炎症症状と関連する炎症を軽減するように処置する工程

をさらに含む、請求項 39 に記載の方法。

【請求項 41】

前記炎症症状が、全身性炎症反応症候群(SIRS)、多発性動脈炎、ウェゲナー肉芽腫症、自己免疫性血管炎、抗好中球細胞質抗体(ANCA)血管炎、体外式膜型人工肺による酸素供給(ECMO)、心肺バイパス症候群、急性呼吸窮迫症候群(ARDS)、急性肺障害(ALI)、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、敗血症、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、炎症性腸疾患、多発性硬化症(MS)、乾癬、同種移植片拒絶反応、喘息、急性腎不全、慢性腎不全(CRF)、末期腎疾患(ESRD)、心腎症候群(CRS)、慢性心不全(CHF)、卒中、心筋梗塞(MI)、肝腎症候群、肝硬変、糖尿病(2型糖尿病)、および、心筋、中枢神経系、肝臓、腎臓、または脾臓への虚血再灌流障害から起こる急性臓器不全からなる群から選択される、請求項 39 または 40 に記載の方法。

【請求項 42】

前記白血球および/または前記血小板を不活性化するのに十分な時間、前記白血球および/または前記血小板が分離される、請求項 39 ~ 41 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 43】

前記白血球および/または前記血小板が、少なくとも 1 分間分離される、請求項 39 ~ 42 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 44】

工程(c)で生成した前記白血球および/または前記血小板を対象に戻す工程をさらに含む、請求項 40 ~ 43 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 45】

工程(c)において、カルシウムキレート剤によって前記白血球および/または前記血小板を不活性化する、請求項 40 ~ 44 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 46】

工程(a)で提供される前記カートリッジの $SA/IV$ 比が $150\text{ cm}^{-1}$ より大きい、請求項 33 ~ 45 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 47】

工程(a)で提供される前記カートリッジの $SA/IV$ 比が $80\text{ cm}^{-1} \sim 1,500\text{ cm}^{-1}$ の範囲である、請求項 33 ~ 45 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 48】

前記 $SA/IV$ 比が $150\text{ cm}^{-1} \sim 1,500\text{ cm}^{-1}$ の範囲である、請求項 47 に記載の方法。

【請求項 49】

前記固体支持体が膜を含む、請求項 33 ~ 48 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 50】

前記固体支持体が平面状支持部材を含む、請求項 33 ~ 48 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 51】

前記固体支持体が繊維を含む、請求項 33 ~ 48 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 52】

10

20

30

40

50

工程 ( a ) で提供される前記カートリッジの  $SA$  が  $0.1\text{ m}^2 \sim 10.0\text{ m}^2$  の範囲である、請求項 33 ~ 51 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 53】

工程 ( a ) で提供される前記カートリッジの  $SA$  が  $0.1\text{ m}^2 \sim 5.0\text{ m}^2$  の範囲である、請求項 52 に記載の方法。

【請求項 54】

前記  $SA$  が  $0.1\text{ m}^2 \sim 0.4\text{ m}^2$ 、 $0.4\text{ m}^2 \sim 0.8\text{ m}^2$ 、 $0.8\text{ m}^2 \sim 1.2\text{ m}^2$ 、 $1.2\text{ m}^2 \sim 1.6\text{ m}^2$ 、 $1.6\text{ m}^2 \sim 2.0\text{ m}^2$ 、 $2.0\text{ m}^2 \sim 2.4\text{ m}^2$ 、 $2.4\text{ m}^2 \sim 2.8\text{ m}^2$ 、 $2.8\text{ m}^2 \sim 3.2\text{ m}^2$ 、 $3.2\text{ m}^2 \sim 3.6\text{ m}^2$ 、 $3.6\text{ m}^2 \sim 4.0\text{ m}^2$ 、 $4.0\text{ m}^2 \sim 4.4\text{ m}^2$ 、 $4.4\text{ m}^2 \sim 4.8\text{ m}^2$ 、 $4.8\text{ m}^2 \sim 5.2\text{ m}^2$ 、 $5.2\text{ m}^2 \sim 5.6\text{ m}^2$ 、 $5.6\text{ m}^2 \sim 6.0\text{ m}^2$ 、 $6.0\text{ m}^2 \sim 6.4\text{ m}^2$ 、 $6.4\text{ m}^2 \sim 6.8\text{ m}^2$ 、 $6.8\text{ m}^2 \sim 7.2\text{ m}^2$ 、 $7.2\text{ m}^2 \sim 7.6\text{ m}^2$ 、 $7.6\text{ m}^2 \sim 8.0\text{ m}^2$ 、 $8.0\text{ m}^2 \sim 8.4\text{ m}^2$ 、 $8.4\text{ m}^2 \sim 8.8\text{ m}^2$ 、 $8.8\text{ m}^2 \sim 9.2\text{ m}^2$ 、 $9.2\text{ m}^2 \sim 9.6\text{ m}^2$ 、または  $9.6\text{ m}^2 \sim 10.0\text{ m}^2$  の範囲である、請求項 52 に記載の方法。

【請求項 55】

工程 ( a ) で提供される前記カートリッジの内容積が  $150\text{ cm}^3$  未満である、請求項 33 ~ 54 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 56】

前記内容積が  $10\text{ cm}^3 \sim 150\text{ cm}^3$  の範囲である、請求項 33 ~ 54 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 57】

前記内容積が  $75\text{ cm}^3 \sim 150\text{ cm}^3$  の範囲である、請求項 56 に記載の方法。

【請求項 58】

前記内容積が  $15\text{ cm}^3 \sim 120\text{ cm}^3$  の範囲である、請求項 56 に記載の方法。

【請求項 59】

前記内容積が  $20\text{ cm}^3 \sim 80\text{ cm}^3$  の範囲である、請求項 58 に記載の方法。

【請求項 60】

$10\text{ cm}^3/\text{分} \sim 8,000\text{ cm}^3/\text{分}$  の範囲の流量で、前記流体出口ポートを通して前記カートリッジから前記体液が出るようにする工程をさらに含む、請求項 33 ~ 59 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 61】

前記流量が  $50\text{ cm}^3/\text{分} \sim 8,000\text{ cm}^3/\text{分}$  の範囲である、請求項 60 に記載の方法。

【請求項 62】

活性化白血球、活性化血小板、または該活性化白血球と該活性化血小板の両方を処置するためのカートリッジであって、

( a ) 内容積 (  $IV$  )、流体入口ポートおよび流体出口ポートを画定している硬質のハウジングであって、該内容積が該流体入口ポートおよび該流体出口ポートと流体流連通している、ハウジングと；

( b ) 該流体入口ポートを通して該ハウジングに入る体液中に活性化白血球および/または活性化血小板が存在する場合に該活性化白血球および/または該活性化血小板を分離することができる  $2.6\text{ m}^2$  より大きい表面積 (  $SA$  ) を有する流体接触面を画定しており、かつ該ハウジング内に配置されている固体支持体とを備えるカートリッジ。

【請求項 63】

前記  $SA$  が  $3.0\text{ m}^2 \sim 10.0\text{ m}^2$  の範囲である、請求項 62 に記載のカートリッジ。

【請求項 64】

前記  $SA$  が  $3.0\text{ m}^2 \sim 5.0\text{ m}^2$  の範囲である、請求項 63 に記載のカートリッジ。

- 【請求項 65】  
前記固体支持体が膜である、請求項 62 ~ 64 のいずれか一項に記載のカートリッジ。
- 【請求項 66】  
前記膜が多孔質である、請求項 65 に記載のカートリッジ。
- 【請求項 67】  
前記固体支持体が平面状支持部材を含む、請求項 62 ~ 66 のいずれか一項に記載のカートリッジ。
- 【請求項 68】  
前記平面状支持部材が膜である、請求項 67 に記載のカートリッジ。
- 【請求項 69】 10  
前記固体支持体が繊維を含む、請求項 62 ~ 66 のいずれか一項に記載のカートリッジ。
- 【請求項 70】  
前記繊維が中空繊維または中実繊維である、請求項 69 に記載のカートリッジ。
- 【請求項 71】  
前記 I V が  $300\text{ cm}^3$  未満である、請求項 62 ~ 70 のいずれか一項に記載のカートリッジ。
- 【請求項 72】  
前記 I V が  $150\text{ cm}^3$  未満である、請求項 71 に記載のカートリッジ。
- 【請求項 73】 20  
前記 I V が  $100\text{ cm}^3$  未満である、請求項 72 に記載のカートリッジ。
- 【請求項 74】  
前記内容積が  $10\text{ cm}^3 \sim 150\text{ cm}^3$  の範囲である、請求項 62 ~ 73 のいずれか一項に記載のカートリッジ。
- 【請求項 75】  
前記内容積が  $75\text{ cm}^3 \sim 150\text{ cm}^3$  の範囲である、請求項 74 に記載のカートリッジ。
- 【請求項 76】  
前記内容積が  $15\text{ cm}^3 \sim 120\text{ cm}^3$  の範囲である、請求項 74 に記載のカートリッジ。
- 【請求項 77】 30  
前記 I V が  $20\text{ cm}^3 \sim 80\text{ cm}^3$  の範囲である、請求項 76 に記載のカートリッジ。
- 【請求項 78】  
前記流体入口ポートおよび前記流体出口ポートが、前記ハウジングを通る流量を  $10\text{ cm}^3/\text{分} \sim 8,000\text{ cm}^3/\text{分}$  の範囲にし得る寸法になっている、請求項 62 ~ 77 のいずれか一項に記載のカートリッジ。
- 【請求項 79】  
前記ハウジングを通る流量が  $50\text{ cm}^3/\text{分} \sim 8,000\text{ cm}^3/\text{分}$  の範囲である、請求項 78 に記載のカートリッジ。
- 【請求項 80】 40  
体液が前記流体入口ポートを通して前記ハウジングに入り、かつ前記流体出口ポートを通して前記ハウジングから出るときに、約  $100\text{ ダイン}/\text{cm}^2$  未満の剪断力を作り出すように前記ハウジングが構成されている、請求項 62 ~ 79 のいずれか一項に記載のカートリッジ。
- 【請求項 81】  
前記固体支持体の流体接触面がポリスルホンを含む、請求項 62 ~ 80 のいずれか一項に記載のカートリッジ。
- 【請求項 82】  
前記固体支持体の流体接触面が、該流体接触面に結合している細胞接着分子を含む、請求項 62 ~ 81 のいずれか一項に記載のカートリッジ。
- 50

## 【請求項 8 3】

滅菌されている、請求項 6 2 ~ 8 2 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 8 4】

前記流体入口ポートおよび前記流体出口ポートがそれぞれ、 $0.01\text{ cm}^2$  以上、 $0.1\text{ cm}^2$  以上、 $0.2\text{ cm}^2$  以上、 $0.4\text{ cm}^2$  以上、 $0.6\text{ cm}^2$  以上、 $0.8\text{ cm}^2$  以上、または  $1.0\text{ cm}^2$  以上の断面積を有する、請求項 6 2 ~ 8 3 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 8 5】

前記流体入口ポートおよび前記流体出口ポートがそれぞれ、 $0.01\text{ cm}^2 \sim 1\text{ cm}^2$  の範囲の断面積を有する、請求項 6 2 ~ 8 3 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

10

## 【請求項 8 6】

前記固体支持体が、前記カートリッジ内の流体の流動方向に実質的に平行である、請求項 6 2 ~ 8 5 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 8 7】

前記ハウジングの流体接触面が生体適合性材料を含む、および / または前記固体支持体の流体接触面が生体適合性材料を含む、請求項 6 2 ~ 8 6 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 8 8】

活性化白血球、活性化血小板、または該活性化白血球と該活性化血小板の両方を処置するためのカートリッジであって、

20

(a) 内容積 (IV)、流体入口ポートおよび流体出口ポートを画定している硬質のハウジングであって、該内容積が該流体入口ポートおよび該流体出口ポートと流体流連通している、ハウジングと；

(b) 該流体入口ポートを通して該ハウジングに入る体液中に活性化白血球および / または活性化血小板が存在する場合に該活性化白血球および / または該活性化血小板を分離することができる表面積 (SA) を有する流体接触面を画定しており、かつ該ハウジング内に配置されている、複数の中実繊維を含む固体支持体であって、 $SA / IV$  比が  $25\text{ cm}^{-1}$  より大きい、固体支持体とを備えるカートリッジ。

## 【請求項 8 9】

工程 (a) で提供される前記カートリッジの  $SA / IV$  比が  $80\text{ cm}^{-1}$  より大きい、請求項 8 8 に記載のカートリッジ。

30

## 【請求項 9 0】

工程 (a) で提供される前記カートリッジの  $SA / IV$  比が  $150\text{ cm}^{-1}$  より大きい、請求項 8 9 に記載のカートリッジ。

## 【請求項 9 1】

前記  $SA / IV$  比が  $150\text{ cm}^{-1} \sim 1,500\text{ cm}^{-1}$  の範囲である、請求項 9 0 に記載のカートリッジ。

## 【請求項 9 2】

前記  $SA / IV$  比が  $80\text{ cm}^{-1} \sim 800\text{ cm}^{-1}$  の範囲である、請求項 9 1 に記載のカートリッジ。

40

## 【請求項 9 3】

前記  $SA / IV$  比が  $25\text{ cm}^{-1} \sim 800\text{ cm}^{-1}$  の範囲である、請求項 9 2 に記載のカートリッジ。

## 【請求項 9 4】

前記 SA が  $0.09\text{ m}^2$  より大きい、請求項 8 8 ~ 9 3 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 9 5】

前記 SA が  $0.1\text{ m}^2 \sim 10.0\text{ m}^2$  の範囲である、請求項 8 8 ~ 9 3 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

50



## 【請求項 96】

前記 S A が  $0.1\text{ m}^2 \sim 0.4\text{ m}^2$ 、 $0.4\text{ m}^2 \sim 0.8\text{ m}^2$ 、 $0.8\text{ m}^2 \sim 1.2\text{ m}^2$ 、 $1.2\text{ m}^2 \sim 1.6\text{ m}^2$ 、 $1.6\text{ m}^2 \sim 2.0\text{ m}^2$ 、 $2.0\text{ m}^2 \sim 2.4\text{ m}^2$ 、 $2.4\text{ m}^2 \sim 2.8\text{ m}^2$ 、 $2.8\text{ m}^2 \sim 3.2\text{ m}^2$ 、 $3.2\text{ m}^2 \sim 3.6\text{ m}^2$ 、 $3.6\text{ m}^2 \sim 4.0\text{ m}^2$ 、 $4.0\text{ m}^2 \sim 4.4\text{ m}^2$ 、 $4.4\text{ m}^2 \sim 4.8\text{ m}^2$ 、 $4.8\text{ m}^2 \sim 5.2\text{ m}^2$ 、 $5.2\text{ m}^2 \sim 5.6\text{ m}^2$ 、 $5.6\text{ m}^2 \sim 6.0\text{ m}^2$ 、 $6.0\text{ m}^2 \sim 6.4\text{ m}^2$ 、 $6.4\text{ m}^2 \sim 6.8\text{ m}^2$ 、 $6.8\text{ m}^2 \sim 7.2\text{ m}^2$ 、 $7.2\text{ m}^2 \sim 7.6\text{ m}^2$ 、 $7.6\text{ m}^2 \sim 8.0\text{ m}^2$ 、 $8.0\text{ m}^2 \sim 8.4\text{ m}^2$ 、 $8.4\text{ m}^2 \sim 8.8\text{ m}^2$ 、 $8.8\text{ m}^2 \sim 9.2\text{ m}^2$ 、 $9.2\text{ m}^2 \sim 9.6\text{ m}^2$ 、 $9.6\text{ m}^2 \sim 10.0\text{ m}^2$  の範囲である、請求項 95 に記載のカートリッジ。

10

## 【請求項 97】

前記 I V が  $150\text{ cm}^3$  未満である、請求項 88 ~ 96 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 98】

前記 I V が  $75\text{ cm}^3 \sim 150\text{ cm}^3$  の範囲である、請求項 97 に記載のカートリッジ。

## 【請求項 99】

前記 I V が  $5\text{ cm}^3 \sim 50\text{ cm}^3$  の範囲である、請求項 97 に記載のカートリッジ。

## 【請求項 100】

前記流体入口ポートおよび前記流体出口ポートが、前記ハウジングを通る流量を  $10\text{ cm}^3/\text{分} \sim 8,000\text{ cm}^3/\text{分}$  の範囲にし得る寸法になっている、請求項 88 ~ 99 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

20

## 【請求項 101】

体液が前記流体入口ポートを通して前記ハウジングに入り、かつ前記流体出口ポートを通して前記ハウジングから出るときに、約  $100\text{ ダイン}/\text{cm}^2$  未満の剪断力を作り出すように前記ハウジングが構成されている、請求項 88 ~ 100 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 102】

前記中実繊維がポリスルホンを含む、請求項 88 ~ 101 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

30

## 【請求項 103】

前記中実繊維がポリエーテルスルホンを含む、請求項 88 ~ 101 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 104】

前記中実繊維が、前記カートリッジ内の流体の流動方向に実質的に平行である、請求項 88 ~ 103 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 105】

前記流体入口ポートと前記流体出口ポートが両方とも、前記ハウジングの一側面に配置されている、請求項 1 ~ 104 のいずれか一項に記載のカートリッジまたは方法。

## 【請求項 106】

前記流体入口ポートおよび流体出口ポートが、前記ハウジングの向かい合った側面に配置されている、請求項 1 ~ 104 のいずれか一項に記載のカートリッジまたは方法。

40

## 【請求項 107】

前記ハウジングが、第 1 の端部と該第 1 の端部の反対側にある第 2 の端部とを備え、前記流体入口ポートが、流体を該第 1 の端部を通して流すことができるように構成され、流体出口ポートが、流体を該第 2 の端部を通して流すことができるように構成されている、請求項 1 ~ 104 のいずれか一項に記載のカートリッジまたは方法。

## 【請求項 108】

前記固体支持体が  $20\% \sim 60\%$  の充填密度で前記ハウジング内に配置されている、請求項 1 ~ 107 のいずれか一項に記載のカートリッジまたは方法。

50

## 【請求項 1 0 9】

前記充填密度が 3 0 % ~ 6 0 % の範囲である、請求項 1 0 8 に記載のカートリッジ。

## 【請求項 1 1 0】

前記充填密度が 4 0 % ~ 5 5 % の範囲である、請求項 1 0 9 に記載のカートリッジ。

## 【請求項 1 1 1】

体液中に含まれる活性化白血球、活性化血小板、または活性化白血球と活性化血小板の両方を処理するための方法であって、

( a ) 請求項 1 ~ 3 2 または 6 2 ~ 1 1 0 のいずれか一項に記載のカートリッジを提供する工程；ならびに

( b ) 活性化白血球および / または活性化血小板を前記固体支持体の流体接触面で分離できる条件で、対象からの体液を、前記流体入口ポートを通して前記ハウジングに導入する工程

を含む方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0 0 0 1】

関連出願の相互参照

本願は、2 0 1 0 年 1 0 月 1 5 日に出願された、米国仮特許出願第 6 1 / 3 9 3 , 8 0 5 号明細書の利益および優先権を主張し、その開示内容全体を参照により本明細書に援用する。

## 【0 0 0 2】

連邦政府の支援による研究または開発に関する陳述

本発明は、国立衛生研究所 ( N a t i o n a l I n s t i t u t e s o f H e a l t h ) により与えられた助成金番号 1 R 4 3 D K 0 8 0 5 2 9 の下、および米国国防総省により与えられた助成金番号 W 8 1 X W H - 0 5 - 2 - 0 0 1 0 の下、政府の支援により行われた。政府は本発明に一定の権利を有する。

## 【0 0 0 3】

本発明は、対象の炎症症状を治療および / または予防するためのカートリッジ、システム、および方法に関する。より詳細には、本発明は、白血球および血小板などの炎症に関連する細胞を分離 ( s e q u e s t e r ) し、その炎症活性を低下させるためのカートリッジおよびシステム、ならびに、このような細胞を分離し、その炎症活性を低下させる関連方法に関する。

## 【背景技術】

## 【0 0 0 4】

様々な医学的症状は、望ましくない炎症によって起こり、増悪し、および / または特徴付けられる。細菌感染、ウイルス感染および真菌感染などの感染；転倒や自動車事故による外傷、拳銃やナイフによる創傷などの外傷；動脈瘤および手術に伴って起こることが多い虚血性イベントなどの心血管イベント；ならびに肺炎および腎炎などの内因性炎症反応は、心血管系機能および免疫系機能の調節に関与する恒常性維持機構の重大な機能障害を招くことが多い。虚血および感染などのこれらの症状には、免疫系の異常なまたは過剰な活性化により心血管機能障害を起こし得るものがあり、それは数時間 ~ 数日の間に発症することがあり、場合によっては、生命を脅かすことになり得るまたは致命的になり得る。

## 【0 0 0 5】

特定の種類の細胞は、心血管系および免疫系の機能障害に関して重要である。例えば、白血球、とりわけ好中球は、全身性炎症反応症候群 ( S I R S )、敗血症、虚血 / 再灌流障害および急性呼吸窮迫症候群 ( A R D S ) を含む様々な炎症症状の発症および進行の一因となる ( 例えば、K a n e i d e r e t a l . ( 2 0 0 6 ) F E B S J 2 7 3 : 4 4 1 6 - 4 4 2 4 ( 非特許文献 1 ) ; M a r o s z y n s k a e t a l . ( 2 0 0 0 ) A N N . T R A N S P L A N T . 5 ( 4 ) : 5 - 1 1 ( 非特許文献 2 ) を参照されたい ) 。さらに、活性化された血小板は、白血球の接着を亢進し、白血球の活性化を促進

10

20

30

40

50

する。炎症や全身性免疫反応は有益になる場合もあるが、致命的になることもある。

#### 【0006】

臓器の炎症性障害により、白血球の活性化および凝集、ならびに血小板の活性化および凝集によって誘導される微小血管損傷が起こる可能性がある。活性化されたこれらの細胞は、患者の組織中に毒性化合物を放出することにより、微小血管うっ血および再灌流障害の一因となり得る。急性炎症では、活性化白血球および活性化血小板は、血管内でゲル状構造として相互作用する。これは、通常は毛細管により酸素と栄養分が供給される組織の灌流不良を招く。活性化白血球はさらに、内皮を通り抜けて組織に遊出することにより損傷を引き起こし、そこで、白血球は、通常は侵入する微生物を破壊するまたは壊死破片を除去することを目的としている毒物を放出する。活性化血小板はさらに、白血球の活性化および内皮からの遊出を亢進することにより、損傷を引き起こす。これらの過程を制御しないと、組織の傷害および死を招くおそれがある。

10

#### 【0007】

SIRSは、アメリカ合衆国における13番目の主な死因である。SIRSを伴う重症敗血症は、米国において毎年200,000人の患者に発症し、集中治療室および広域スペクトルの抗生物質を用いても死亡率は30~40%となる。SIRSは、主として、体温の上昇（発熱）または低下（低体温）、心拍数の増加（頻脈）、呼吸数の増加（頻呼吸）、白血球数の増加または減少、ならびに組織および臓器の灌流不足などの観測される生理学的変化に基づいて診断される。血圧の低下はSIRSに伴う合併症であり、この症候群の後期に起こる。特に、血圧の低下はショックの発生を反映し、多臓器不全の一因となることがあり、多臓器不全はこれらの患者の主な死因となる。敗血症性ショックは、感染、および、輸液蘇生や適切な心拍出量にもかかわらず血圧低下が臨床的に認められる症状である。類似の症状である敗血症症候群には、どのような種類の感染の証拠も示さない類似の生理学的シグナルが含まれる。敗血症様の症状を誘発する他の傷害には、肺炎、熱傷、虚血、多発外傷および組織傷害（手術や移植によって起こることが多い）、出血性ショックおよび免疫介在性臓器機能障害が含まれる。

20

#### 【0008】

SIRSおよび敗血症性ショックの標準的な療法には、感染を制御するための抗生物質の投与、および循環血液量を維持するための輸液/コロイド療法が含まれる。ドーパミンおよびバソプレッシンなどの血圧の維持を助ける薬物も投与されることが多い。

30

#### 【0009】

心肺バイパス（CPB）は、補体系および凝固系を活性化させ、サイトカイン産生を刺激するSIRSを誘発することがある。CPB中の白血球の活性化および集積を制限する多くの治療方法が研究されている。実際、動物および初期臨床データから、白血球除去フィルタを使用するとCPB手術中の肺および腎臓損傷が改善されることが示唆されている（例えば、Guet al. (1996) J. THORAC. CARDIOVASC. SURG. 112:494-500（非特許文献3）；Bolling et al. (1997) J. THORAC. CARDIOVASC. SURG. 113:1081-1090（非特許文献4）；Tang et al. (2002) Ann. Thorac. Surg. 74:372-377（非特許文献5）；Alaoja et al. (2006) J. THORAC. CARDIOVASC. SURG. 132:1339-1347（非特許文献6）を参照されたい）。しかし、透析により一過性の好中球減少症が起こり得ると見受けられる（Kaplow et al. (1968) JAMA 203:1135（非特許文献7）を参照されたい）。

40

#### 【先行技術文献】

#### 【非特許文献】

#### 【0010】

【非特許文献1】Kaneider et al. (2006) FEBS J 273:4416-4424

【非特許文献2】Maroszyńska et al. (2000) ANN. TRAN

50

S P L A N T . 5 ( 4 ) : 5 - 1 1

【非特許文献3】Gu et al . ( 1 9 9 6 ) J . T H O R A C . C A R D I O V A S C . S U R G . 1 1 2 : 4 9 4 - 5 0 0

【非特許文献4】Bolling et al . ( 1 9 9 7 ) J . T H O R A C . C A R D I O V A S C . S U R G . 1 1 3 : 1 0 8 1 - 1 0 9 0

【非特許文献5】Tang et al . ( 2 0 0 2 ) Ann . Thorac . Surg . 7 4 : 3 7 2 - 3 7 7

【非特許文献6】Alaoja et al . ( 2 0 0 6 ) J . T H O R A C . C A R D I O V A S C . S U R G . 1 3 2 : 1 3 3 9 - 1 3 4 7

【非特許文献7】Kaplow et al . ( 1 9 6 8 ) J A M A 2 0 3 : 1 1 3 5

10

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

心血管ショック、敗血症、全身性炎症反応症候群およびアナフィラシーなどの炎症症状の治療の改善が依然として必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【0012】

炎症症状は、白血球および血小板などの炎症に関連する細胞の活性化により起こることが多い。本発明は、白血球および/または血小板を体外で分離し、それらの炎症作用を抑制または不活性化することにより炎症症状を治療および/または予防するためのカートリッジ、システムおよび関連方法に関する。例えば、これらの細胞を不活性化することができるおよび/またはそれらの炎症誘発性物質の放出を抑制することができる。

20

【0013】

白血球および血小板は、通常、血流中に見出されるため、血液、またはこれらの細胞を含有する別の体液を、これらの細胞を分離する表面を提供する装置の内部を一定時間通過させることにより、それらを分離することができる。現在、それらの細胞の欠乏を引き起こすほど多くの細胞を除去し過ぎることなく炎症症状を治療するためには、分離される白血球および/または血小板の数を制御する必要があることが分かっている。例えば、白血球の損失が多過ぎると、白血球減少症として知られる生命を脅かす、さらには致命的な症状が起こるおそれがある。同様に、好中球の損失が多過ぎると、好中球減少症として知られる生命を脅かす症状が起こるおそれがある。血小板の損失が多過ぎると、血小板減少症が起こるおそれがある。さらに、対象（例えば、乳児、小児、および血行動態的に不安定な重症患者）から得られる体液の体積は、治療の有効性に重大な影響を及ぼし得る。従って、細胞を分離するための固体支持体上の有効表面積、対、SCDカートリッジハウジングの内容積の比が適切なSCDカートリッジを選択することは、所定の患者の治療の有効性に重大な影響を及ぼし得る。

30

【0014】

一態様では、本発明は、活性化白血球、活性化血小板、または活性化白血球と活性化血小板の両方を処置するためのカートリッジを提供する。カートリッジは、流体入口ポート、流体出口ポート、および、体液が通過できる内容積（IV）を有する硬質のハウジングを備える。内容積は、流体入口ポートおよび流体出口ポートと流体流連通している。固体支持体は、固体支持体の少なくとも一部が流体入口ポートと流体出口ポートとの間に配置されるように、ハウジング内に配置されている。固体支持体は、流体入口ポートを通してハウジングに入る体液中に活性化白血球および/または活性化血小板が存在する場合にそれを分離することができる表面積（SA）を有する流体接触面を画定する。特定の実施形態では、SCDカートリッジのSA/IV比は、 $150\text{ cm}^{-1}$ より大きい（例えば、 $150\text{ cm}^{-1} \sim 1$ 、 $500\text{ cm}^{-1}$ の範囲、 $300\text{ cm}^{-1} \sim 1$ 、 $000\text{ cm}^{-1}$ の範囲、 $300\text{ cm}^{-1} \sim 800\text{ cm}^{-1}$ の範囲、 $300\text{ cm}^{-1} \sim 600\text{ cm}^{-1}$ の範囲、 $400\text{ cm}^{-1} \sim 800\text{ cm}^{-1}$ の範囲、 $400\text{ cm}^{-1} \sim 600\text{ cm}^{-1}$ の範囲、または $200\text{ cm}^{-1} \sim 600\text{ cm}^{-1}$ の範囲である）。

40

50

## 【0015】

特定の実施形態では、IVは、任意選択により $300\text{ cm}^3$ 未満であり、 $150\text{ cm}^3$ 未満、または $100\text{ cm}^3$ 未満であってもよい。幾つかの実施形態では、IVは、 $10\text{ cm}^3 \sim 150\text{ cm}^3$ 、例えば、 $75\text{ cm}^3 \sim 150\text{ cm}^3$ 、 $15\text{ cm}^3 \sim 120\text{ cm}^3$ 、または $20\text{ cm}^3 \sim 80\text{ cm}^3$ の範囲であってもよい。特定の実施形態では、SAは、 $0.8\text{ m}^2$ を超えてもよい。他の実施形態では、SAは、 $0.1\text{ m}^2 \sim 10.0\text{ m}^2$ または $0.1\text{ m}^2 \sim 5.0\text{ m}^2$ の範囲であってもよい。例えば、SAは、 $0.1\text{ m}^2 \sim 0.4\text{ m}^2$ 、 $0.4\text{ m}^2 \sim 0.8\text{ m}^2$ 、 $0.8\text{ m}^2 \sim 1.2\text{ m}^2$ 、 $1.2\text{ m}^2 \sim 1.6\text{ m}^2$ 、 $1.6\text{ m}^2 \sim 2.0\text{ m}^2$ 、 $2.0\text{ m}^2 \sim 2.4\text{ m}^2$ 、 $2.4\text{ m}^2 \sim 2.8\text{ m}^2$ 、 $2.8\text{ m}^2 \sim 3.2\text{ m}^2$ 、 $3.2\text{ m}^2 \sim 3.6\text{ m}^2$ 、 $3.6\text{ m}^2 \sim 4.0\text{ m}^2$ 、 $4.0\text{ m}^2 \sim 4.4\text{ m}^2$ 、 $4.4\text{ m}^2 \sim 4.8\text{ m}^2$ 、 $4.8\text{ m}^2 \sim 5.2\text{ m}^2$ 、 $5.2\text{ m}^2 \sim 5.6\text{ m}^2$ 、 $5.6\text{ m}^2 \sim 6.0\text{ m}^2$ 、 $6.0\text{ m}^2 \sim 6.4\text{ m}^2$ 、 $6.4\text{ m}^2 \sim 6.8\text{ m}^2$ 、または $6.8\text{ m}^2 \sim 7.2\text{ m}^2$ の範囲であってもよい。

10

## 【0016】

固体支持体は、1本以上の繊維（例えば、中空または中実の繊維）、1枚以上の平面状支持部材、またはこれらの組み合わせで画定することができる。固体支持体は、多孔質、半多孔質、または非多孔質の膜であってもよい。さらに、固体支持体は、生体適合性材料、例えば、ポリスルホンもしくはポリエーテルスルホンから製造されてもよく、および/または1種類以上の細胞接着分子がそれに結合していてもよい。

20

## 【0017】

固体支持体がカートリッジの容積を占めるパーセンテージが大きくなると、これによりカートリッジの内容積は減少し、SA/IV比が大きくなる。従って、本発明のこの態様では、固体支持体は、好ましいSA/IV比が可能となる20%～65%の充填密度でハウジング内に配置されている。

## 【0018】

別の態様では、本発明は、活性化白血球、活性化血小板、または活性化白血球と活性化血小板の両方を分離するために、 $2.6\text{ m}^2$ より大きい高表面積を有するカートリッジ、およびカートリッジを使用して対象を治療する方法を提供する。カートリッジは、流体入口ポート、流体出口ポート、および体液が通過できる内容積（IV）を有する硬質のハウジングを備える。内容積は、流体入口ポートおよび流体出口ポートと流体流連通している。固体支持体は、固体支持体の少なくとも一部が流体入口ポートと流体出口ポートとの間に配置されるように、ハウジング内に配置されている。固体支持体は、流体入口ポートを通してハウジングに入る体液中に活性化白血球および/または活性化血小板が存在する場合にそれを分離することができる表面積（SA）を有する流体接触面を画定する。この実施形態では、SAは、 $2.6\text{ m}^2$ より大きく、例えば、 $3.0\text{ m}^2 \sim 10.0\text{ m}^2$ 、 $3.0\text{ m}^2 \sim 5.0\text{ m}^2$ 、 $3.0\text{ m}^2 \sim 3.5\text{ m}^2$ 、 $3.5\text{ m}^2 \sim 4.0\text{ m}^2$ 、 $4.0\text{ m}^2 \sim 4.5\text{ m}^2$ 、 $4.5\text{ m}^2 \sim 5.0\text{ m}^2$ 、 $5.0\text{ m}^2 \sim 5.5\text{ m}^2$ 、 $5.5\text{ m}^2 \sim 6.0\text{ m}^2$ 、 $6.0\text{ m}^2 \sim 6.5\text{ m}^2$ 、 $6.5\text{ m}^2 \sim 7.0\text{ m}^2$ 、 $7.0\text{ m}^2 \sim 7.5\text{ m}^2$ 、 $7.5\text{ m}^2 \sim 8.0\text{ m}^2$ 、 $8.0\text{ m}^2 \sim 8.5\text{ m}^2$ 、 $8.5\text{ m}^2 \sim 9.0\text{ m}^2$ 、 $9.0\text{ m}^2 \sim 9.5\text{ m}^2$ 、または $9.5\text{ m}^2 \sim 10.0\text{ m}^2$ であってもよい。

30

40

## 【0019】

特定の実施形態では、IVは、任意選択により $300\text{ cm}^3$ 未満であり、 $150\text{ cm}^3$ 未満または $100\text{ cm}^3$ 未満であってもよい。幾つかの実施形態では、IVは、 $10\text{ cm}^3 \sim 150\text{ cm}^3$ 、例えば、 $75\text{ cm}^3 \sim 150\text{ cm}^3$ 、 $15\text{ cm}^3 \sim 120\text{ cm}^3$ または $20\text{ cm}^3 \sim 80\text{ cm}^3$ の範囲であってもよい。SCDカートリッジのSA/IV比は、 $150\text{ cm}^{-1}$ より大きくてもよい（例えば、 $150\text{ cm}^{-1} \sim 1,500\text{ cm}^{-1}$ の範囲、 $300\text{ cm}^{-1} \sim 1,000\text{ cm}^{-1}$ の範囲、 $300\text{ cm}^{-1} \sim 800\text{ cm}^{-1}$ の範囲、 $300\text{ cm}^{-1} \sim 600\text{ cm}^{-1}$ の範囲、 $400\text{ cm}^{-1} \sim 800\text{ cm}^{-1}$ の範囲、 $400\text{ cm}^{-1} \sim 600\text{ cm}^{-1}$ の範囲、または $200\text{ cm}^{-1} \sim 600\text{ cm}^{-1}$ の範囲であってもよい）。

50

## 【0020】

固体支持体は、1本以上の繊維（例えば、中空または中実の繊維）、1枚以上の平面状支持部材、またはこれらの組み合わせで画定することができる。固体支持体は、多孔質、半多孔質、または非多孔質の膜であってもよい。さらに、固体支持体は、ポリスルホンから製造されてもよく、および／または1種類以上の細胞接着分子がそれに結合していてもよい。

## 【0021】

別の態様では、本発明は、複数の中実繊維を有するカートリッジを提供する。カートリッジは、流体入口ポート、流体出口ポート、および体液が通過できる内容積（IV）を有する硬質のハウジングを備える。内容積は、流体入口ポートおよび流体出口ポートと流体流連通している。任意選択によりポリスルホンおよび／またはポリエーテルスルホンを含む、複数の中実繊維を含む固体支持体がハウジング内に配置されている。固体支持体は、流体入口ポートを通してハウジングに入る体液中に活性化白血球および／または活性化血小板が存在する場合にそれを分離することができる表面積（SA）を有する流体接触面を画定する。この実施形態では、カートリッジのSA/IV比は、 $25\text{ cm}^{-1}$ より大きく、 $80\text{ cm}^{-1}$ より大きくてもよく、または $150\text{ cm}^{-1}$ より大きくてもよい（例えば、 $150\text{ cm}^{-1} \sim 1,500\text{ cm}^{-1}$ の範囲、 $150\text{ cm}^{-1} \sim 1,000\text{ cm}^{-1}$ の範囲、 $25\text{ cm}^{-1} \sim 800\text{ cm}^{-1}$ の範囲、または $80\text{ cm}^{-1} \sim 800\text{ cm}^{-1}$ の範囲であってもよい）。SAは、 $0.09\text{ m}^2$ より大きくてもよく、または $0.09\text{ m}^2 \sim 10.0\text{ m}^2$ の範囲であってもよい。例えば、SAは、 $0.1\text{ m}^2 \sim 0.4\text{ m}^2$ 、 $0.4\text{ m}^2 \sim 0.8\text{ m}^2$ 、 $0.8\text{ m}^2 \sim 1.2\text{ m}^2$ 、 $1.2\text{ m}^2 \sim 1.6\text{ m}^2$ 、 $1.6\text{ m}^2 \sim 2.0\text{ m}^2$ 、 $2.0\text{ m}^2 \sim 2.4\text{ m}^2$ 、 $2.4\text{ m}^2 \sim 2.8\text{ m}^2$ 、 $2.8\text{ m}^2 \sim 3.2\text{ m}^2$ 、 $3.2\text{ m}^2 \sim 3.6\text{ m}^2$ 、 $3.6\text{ m}^2 \sim 4.0\text{ m}^2$ 、 $4.0\text{ m}^2 \sim 4.4\text{ m}^2$ 、 $4.4\text{ m}^2 \sim 4.8\text{ m}^2$ 、 $4.8\text{ m}^2 \sim 5.2\text{ m}^2$ 、 $5.2\text{ m}^2 \sim 5.6\text{ m}^2$ 、 $5.6\text{ m}^2 \sim 6.0\text{ m}^2$ 、 $6.0\text{ m}^2 \sim 6.4\text{ m}^2$ 、 $6.4\text{ m}^2 \sim 6.8\text{ m}^2$ 、 $6.8\text{ m}^2 \sim 7.2\text{ m}^2$ 、 $7.2\text{ m}^2 \sim 7.6\text{ m}^2$ 、 $7.6\text{ m}^2 \sim 8.0\text{ m}^2$ 、 $8.0\text{ m}^2 \sim 8.4\text{ m}^2$ 、 $8.4\text{ m}^2 \sim 8.8\text{ m}^2$ 、 $8.8\text{ m}^2 \sim 9.2\text{ m}^2$ 、 $9.2\text{ m}^2 \sim 9.6\text{ m}^2$ 、 $9.6\text{ m}^2 \sim 10.0\text{ m}^2$ の範囲であってもよい。IVは、任意選択により $150\text{ cm}^3$ 未満である。幾つかの実施形態では、IVは、 $75\text{ cm}^3 \sim 150\text{ cm}^3$ 、または $5\text{ cm}^3 \sim 50\text{ cm}^3$ の範囲であってもよい。

## 【0022】

本発明は、体液中に含有される活性化白血球、活性化血小板、または活性化白血球と活性化血小板の両方を処理する方法を提供する。本方法は、流体入口ポート、流体出口ポート、および体液が通過できる内容積（IV）を有する硬質のハウジングを備えるカートリッジを使用する。内容積は、流体入口ポートおよび流体出口ポートと流体流連通している。固体支持体は、その少なくとも一部が流体入口ポートと流体出口ポートとの間に配置されるようにハウジング内に配置されており、流体接触面を画定する。流体接触面は、流体入口ポートを通してハウジングに入る体液中に活性化白血球および／または活性化血小板が存在する場合にそれを分離することができる表面積（SA）を有する。SA/IV比は、 $80\text{ cm}^{-1}$ より大きく、任意選択により $100\text{ cm}^{-1}$ より大きく、 $125\text{ cm}^{-1}$ より大きく、または $150\text{ cm}^{-1}$ より大きい（例えば、 $80\text{ cm}^{-1} \sim 1,500\text{ cm}^{-1}$ の範囲、 $150\text{ cm}^{-1} \sim 1,500\text{ cm}^{-1}$ 、 $300\text{ cm}^{-1} \sim 1,000\text{ cm}^{-1}$ の範囲、 $300\text{ cm}^{-1} \sim 800\text{ cm}^{-1}$ の範囲、 $300\text{ cm}^{-1} \sim 600\text{ cm}^{-1}$ の範囲、 $400\text{ cm}^{-1} \sim 800\text{ cm}^{-1}$ の範囲、または $400\text{ cm}^{-1} \sim 600\text{ cm}^{-1}$ の範囲である）。

## 【0023】

特定の実施形態では、IVは、任意選択により $150\text{ cm}^3$ 未満、例えば、 $10\text{ cm}^3 \sim 150\text{ cm}^3$ 、 $75\text{ cm}^3 \sim 150\text{ cm}^3$ 、 $15\text{ cm}^3 \sim 120\text{ cm}^3$ 、または $20\text{ cm}^3 \sim 80\text{ cm}^3$ の範囲に制限される。SAは、 $0.1\text{ m}^2 \sim 10.0\text{ m}^2$ または $0.1\text{ m}^2 \sim 5.0\text{ m}^2$ の範囲である。特定の実施形態では、SAは、 $0.1\text{ m}^2 \sim 0.4\text{ m}^2$

、 $0.4\text{ m}^2 \sim 0.8\text{ m}^2$ 、 $0.8\text{ m}^2 \sim 1.2\text{ m}^2$ 、 $1.2\text{ m}^2 \sim 1.6\text{ m}^2$ 、 $1.6\text{ m}^2 \sim 2.0\text{ m}^2$ 、 $2.0\text{ m}^2 \sim 2.4\text{ m}^2$ 、 $2.4\text{ m}^2 \sim 2.8\text{ m}^2$ 、 $2.8\text{ m}^2 \sim 3.2\text{ m}^2$ 、 $3.2\text{ m}^2 \sim 3.6\text{ m}^2$ 、 $3.6\text{ m}^2 \sim 4.0\text{ m}^2$ 、 $4.0\text{ m}^2 \sim 4.4\text{ m}^2$ 、 $4.4\text{ m}^2 \sim 4.8\text{ m}^2$ 、 $4.8\text{ m}^2 \sim 5.2\text{ m}^2$ 、 $5.2\text{ m}^2 \sim 5.6\text{ m}^2$ 、 $5.6\text{ m}^2 \sim 6.0\text{ m}^2$ 、 $6.0\text{ m}^2 \sim 6.4\text{ m}^2$ 、 $6.4\text{ m}^2 \sim 6.8\text{ m}^2$ 、または $6.8\text{ m}^2 \sim 7.2\text{ m}^2$ の範囲であってもよい。

#### 【0024】

本方法では、活性化白血球および/または活性化血小板を固体支持体の流体接触面で分離できる条件で、対象からの体液を、流体入口ポートを通してハウジングに導入する。体液は、任意選択により、 $10\text{ cm}^3/\text{分} \sim 8,000\text{ cm}^3/\text{分}$ 、例えば、 $50\text{ cm}^3/\text{分} \sim 8,000\text{ cm}^3/\text{分}$ などの範囲の流量で、流体出口ポートを通してカートリッジから出ることが可能である。

10

#### 【0025】

固体支持体は、1本以上の繊維（例えば、中空または中実の繊維）、1枚以上の平面状支持部材、またはこれらの組み合わせで画定することができる。固体支持体は、多孔質、半多孔質、または非多孔質の膜とし得る。さらに、固体支持体は、生体適合性材料、例えば、ポリスルホンまたはポリエーテルスルホンから製造されてもよく、1種類以上の細胞接着分子がそれに結合していてもよい。

#### 【0026】

特定の実施形態では、本方法はまた、分離される白血球および/または血小板を、炎症誘発性物質の放出が抑制されるようにまたは白血球および/または血小板が不活性化されるように処置する工程を含むこともできる。炎症誘発性物質の放出を抑制するまたは白血球および/または血小板を不活性化するのに十分な時間（例えば、少なくとも1秒間、少なくとも1分間、少なくとも5分間、少なくとも15分間、または少なくとも1時間）、白血球および/または血小板を分離することができる。シトレート（*citrate*）などのカルシウムキレート剤を使用して、炎症誘発性物質の放出を抑制するまたは白血球もしくは血小板を不活性化することができる。処置後、白血球または血小板を任意選択により対象に戻すことができる。

20

#### 【0027】

別の態様では、本発明は、炎症症状を有するまたはその発症リスクを有する対象を治療する方法を提供する。炎症症状は、全身性炎症反応症候群（*SIRS*）、多発性動脈炎、ウェゲナー肉芽腫症、自己免疫性血管炎、抗好中球細胞質抗体（*ANCA*）血管炎、体外式膜型人工肺による酸素供給（*ECMO*）、心肺バイパス症候群、急性呼吸窮迫症候群（*ARDS*）、急性肺障害（*ALI*）、慢性閉塞性肺疾患（*COPD*）、敗血症、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、炎症性腸疾患、多発性硬化症（*MS*）、乾癬、同種移植片拒絶反応、喘息、急性腎不全、慢性腎不全（*CRF*）、末期腎疾患（*ESRD*）、心腎症候群（*CRS*）、慢性心不全（*CHF*）、発作（*stroke*）、心筋梗塞（*MI*）、肝腎症候群、肝硬変、糖尿病（2型糖尿病）、および、心筋、中枢神経系、肝臓、腎臓、または脾臓への虚血再灌流障害から起こる急性臓器不全からなる群から任意選択により選択される。

30

40

#### 【0028】

本治療方法は、流体入口ポート、流体出口ポート、および体液が通過できる内容積（*IV*）を有する硬質のハウジングを備えるカートリッジを使用する。固体支持体は、その少なくとも一部が流体入口ポートと流体出口ポートとの間に配置されるように、ハウジング内に配置されており、流体接触面を画定する。流体接触面は、流体入口ポートを通してハウジングに入る体液中に活性化白血球が存在する場合にそれを分離することができる表面積（*SA*）を有する。*SA/IV*比は、 $80\text{ cm}^{-1}$ より大きい、 $100\text{ cm}^{-1}$ より大きい、 $125\text{ cm}^{-1}$ より大きい、 $150\text{ cm}^{-1}$ より大きい（例えば、 $80\text{ cm}^{-1} \sim 1,500\text{ cm}^{-1}$ の範囲、 $150\text{ cm}^{-1} \sim 1,500\text{ cm}^{-1}$ 、 $300\text{ cm}^{-1} \sim 1,000\text{ cm}^{-1}$ の範囲、 $300\text{ cm}^{-1} \sim 800\text{ cm}^{-1}$ の範囲、 $300\text{ cm}^{-1} \sim 6$

50

00 cm<sup>-1</sup>の範囲、400 cm<sup>-1</sup> ~ 800 cm<sup>-1</sup>の範囲、または400 cm<sup>-1</sup> ~ 600 cm<sup>-1</sup>の範囲である)。

【0029】

特定の実施形態では、IVは、任意選択により150 cm<sup>3</sup>未満、例えば、10 cm<sup>3</sup> ~ 150 cm<sup>3</sup>、75 cm<sup>3</sup> ~ 150 cm<sup>3</sup>、15 cm<sup>3</sup> ~ 120 cm<sup>3</sup>、または20 cm<sup>3</sup> ~ 80 cm<sup>3</sup>の範囲に制限される。SAは、0.1 m<sup>2</sup> ~ 10.0 m<sup>2</sup>または0.1 m<sup>2</sup> ~ 5.0 m<sup>2</sup>の範囲であってもよい。特定の実施形態では、SAは、0.1 m<sup>2</sup> ~ 0.4 m<sup>2</sup>、0.4 m<sup>2</sup> ~ 0.8 m<sup>2</sup>、0.8 m<sup>2</sup> ~ 1.2 m<sup>2</sup>、1.2 m<sup>2</sup> ~ 1.6 m<sup>2</sup>、1.6 m<sup>2</sup> ~ 2.0 m<sup>2</sup>、2.0 m<sup>2</sup> ~ 2.4 m<sup>2</sup>、2.4 m<sup>2</sup> ~ 2.8 m<sup>2</sup>、2.8 m<sup>2</sup> ~ 3.2 m<sup>2</sup>、3.2 m<sup>2</sup> ~ 3.6 m<sup>2</sup>、3.6 m<sup>2</sup> ~ 4.0 m<sup>2</sup>、4.0 m<sup>2</sup> ~ 4.4 m<sup>2</sup>、4.4 m<sup>2</sup> ~ 4.8 m<sup>2</sup>、4.8 m<sup>2</sup> ~ 5.2 m<sup>2</sup>、5.2 m<sup>2</sup> ~ 5.6 m<sup>2</sup>、5.6 m<sup>2</sup> ~ 6.0 m<sup>2</sup>、6.0 m<sup>2</sup> ~ 6.4 m<sup>2</sup>、6.4 m<sup>2</sup> ~ 6.8 m<sup>2</sup>、または6.8 m<sup>2</sup> ~ 7.2 m<sup>2</sup>の範囲であってもよい。

10

【0030】

本方法では、活性化白血球を固体支持体の流体接触面で分離できる条件で、対象からの体液を、流体入口ポートを通してハウジングに導入する。体液は、任意選択により、10 cm<sup>3</sup>/分 ~ 8,000 cm<sup>3</sup>/分、例えば、50 cm<sup>3</sup>/分 ~ 8,000 cm<sup>3</sup>/分などの範囲の流量で、流体出口ポートを通してカートリッジから出ることが可能である。

【0031】

特定の実施形態では、固体支持体は、1本以上の繊維(例えば、中空または中実の繊維)、1枚以上の平面状支持部材、またはこれらの組み合わせで画定することができる。固体支持体は、多孔質、半多孔質、または非多孔質の膜とし得る。さらに、固体支持体は、ポリスルホンから製造されてもよく、1種類以上の細胞接着分子がそれに結合していてもよい。

20

【0032】

特定の実施形態では、本方法は、炎症症状と関連する炎症の発症リスクが低減するようにまたは炎症症状と関連する炎症が軽減されるように、分離される白血球および/または血小板を処置する工程を任意選択により含む。白血球を不活性化するおよび/または炎症誘発性物質の放出を抑制するのに十分な時間(例えば、1分未満、少なくとも1分間、少なくとも5分間、少なくとも15分間、または少なくとも1時間)、白血球を分離することができる。例えば、シトレート、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)、またはホスホン酸塩などのカルシウムキレート剤を使用して、白血球および/または血小板を不活性化するおよび/または炎症誘発性物質の放出を抑制することができる。処置後、白血球および/または血小板を任意選択により対象に戻すことができる。

30

【0033】

本発明の前述の態様のそれぞれにおいて、SCDカートリッジは好ましくは滅菌されており、特にハウジングおよび固体支持体の流体接触部分が、1種類以上の生体適合性材料で製造されている。特定の実施形態では、流体との接触を拡大すると共に乱流を最小限に抑えるために、固体支持体は、好ましくはカートリッジ内の流体の流動方向に実質的に平行な向きに配置されている。他の実施形態では、流体入口ポートおよび流体出口ポートは、任意選択により、ハウジングを通る流量を10 cm<sup>3</sup>/分 ~ 8,000 cm<sup>3</sup>/分、または50 cm<sup>3</sup>/分 ~ 8,000 cm<sup>3</sup>/分の範囲にし得る寸法になっている。これらの流量を達成するために、流体入口ポートおよび流体出口ポートは、任意選択により且つ独立して、最小断面積が0.01 cm<sup>2</sup>以上、0.1 cm<sup>2</sup>以上以上、0.2 cm<sup>2</sup>以上、0.4 cm<sup>2</sup>以上、0.6 cm<sup>2</sup>以上、0.8 cm<sup>2</sup>以上、または1.0 cm<sup>2</sup>以上であるか、または、それぞれ断面積が0.01 cm<sup>2</sup> ~ 1.0 cm<sup>2</sup>の範囲である。さらに、特定の実施形態では、ハウジングは、体液が、例えば、250、500、1000、2000、または4000 cm<sup>3</sup>/分の流量で流体入口ポートを通してハウジングに入り、流体出口ポートを通してハウジングから出るとき、100ダイン/cm<sup>2</sup>未満の剪断力が作り出されるように構成されている。本発明の様々な実施形態では、流体入口ポートと流体

40

50



出口ポートは、両方ともハウジングの一側面に配置されているか、またはハウジングの向かい合った側面に配置されている。幾つかの実施形態では、ハウジングは、第1の端部と、第1の端部の反対側にある第2の端部とを有し、流体入口ポートは、流体を第1の端部を通して流すことができるように構成されていると共に、流体出口ポートは、流体を第2の端部を通して流すことができるように構成されている。特定の実施形態では、固体支持体は、15%～70%、20%～65%、20%～60%、30%～60%、40%～55%、または40%～50%の充填密度でハウジング内に配置されている。

#### 【0034】

以下の詳細な説明および特許請求の範囲を参照することにより、本発明の前述の態様および実施形態をより十分に理解することができる。

10

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0035】

【図1A】複数の中空繊維を収容する例示的SCDカートリッジの概略断面図である。

【図1B】複数の中空繊維および/または平面状支持部材を収容するSCDカートリッジの概略断面図である。

【図1C】複数の中空繊維および/または平面状支持部材を収容するSCDカートリッジの概略断面図である。

【図1D】複数の中空繊維および/または平面状支持部材を収容するSCDカートリッジの概略断面図である。

【図2A】毛細管内空間(ICS)の両端にキャップが被着されているSCDカートリッジを含む流体回路の概略図である。

20

【図2B】ICSの一端だけにキャップが被着されているSCDカートリッジから限外濾過濾液(UF)が回収されること以外、図2Aに類似の一実施形態の概略図である。

【図2C】第1の装置、例えば、血液濾過装置と、両端にキャップが被着されているICSを備えるSCDカートリッジとを含む流体回路の一実施形態の概略図である。

【図2D】ICSの一端だけにキャップが被着されているSCDカートリッジから限外濾過濾液(UF)が回収されること以外、図2Cに類似の一実施形態の概略図である。

【図3A】CPB回路として使用できるシステム構成の実施形態の概略図である。回路は再循環ループを備える。

【図3B】CPB回路として使用できるシステム構成の実施形態の概略図である。流体回路は再循環ループ備えていない。

30

【図4】敗血症を有する対象の治療に使用されるシステム構成の一実施形態の概略図である。

【図5】ヘパリンの存在下F-40 SCD装置(SCD-H)で；シトレートの存在下F-40 SCD装置(SCD-C、F-40)で；またはシトレートの存在下F-80 A SCD装置(SCD-C、F-80 A)で；処置された敗血症を有する対象の心血管パラメータの変化を示すグラフである。平均動脈血圧(図5A)；心拍出量(図5B)；全身血管抵抗(図5C)；肺血管抵抗(図5D)；腎血管抵抗(図5E)；およびヘマトクリット(図5F)に関する結果を示している。

【図6】ヘパリンの存在下F-40 SCD装置(SCD-H)で；シトレートの存在下F-40 SCD装置(SCD-C、F-40)で；またはシトレートの存在下F-80 A SCD装置(SCD-C、F-80 A)で；処置された敗血症を有する対象の腎パラメータの変化を示すグラフである。血中尿素窒素(BUN)(図6A)；クレアチニン(図6B)；腎血流量(図6C)；および累積尿量(図6D)に関する結果を示している。

40

【図7】ヘパリンの存在下F-40 SCD装置(SCD-H)で、またはシトレートの存在下F-40もしくはF-80 A SCD装置(SCD-C)で処置された敗血症を有する対象の生存時間を示すグラフである。

【図8】ヘパリンの存在下F-40 SCD装置(SCD-H)で；シトレートの存在下F-40 SCD装置(F-40、SCD-C)で；またはシトレートの存在下F-80 A SCD装置(F-80 A、SCD-C)で；処置された敗血症を有する対象の生存時

50

間を示す棒グラフである。

【図 9】S C D 膜の外面に沿った白血球の付着および凝集を示す、一連の一連の光学顕微鏡写真である。

【図 10 A】S C D 装置内に S C D 膜を使用して敗血症の対象を処置した後、S C D 膜から溶出した細胞の数を示す棒グラフである。対象の処置は、ヘパリンの存在下 F - 40 S C D 装置 ( S C D - H ) で ; シトレートの存在下 F - 40 S C D 装置 ( F - 40 S C D - C ) で ; またはシトレートの存在下 F - 80 A S C D 装置 ( F - 80 A、S C D - C ) で ; 行った。

【図 10 B】S C D 装置内に S C D 膜を使用して敗血症の対象を処置した後、S C D 膜から溶出した細胞の分画を示す棒グラフである。対象の処置は、ヘパリンの存在下 F - 40 S C D 装置 ( S C D - H ) で ; シトレートの存在下 F - 40 S C D 装置 ( F - 40 S C D - C ) で ; またはシトレートの存在下 F - 80 A S C D 装置 ( F - 80 A、S C D - C ) で ; 行った。

【図 11】ヘパリンの存在下 F - 40 S C D 装置 ( S C D - H ) で、またはシトレートの存在下 F - 40 もしくは F - 80 A S C D 装置 ( S C D - C ) で処置された敗血症を有する対象の、血清ミエロペルオキシダーゼ濃度 ( 図 11 A ) または C D 11 b 平均蛍光強度で測定した全身好中球活性化レベル ( 図 11 B ) を示すグラフであり、ヘマトクリット濃度を示す。

【図 12】ヘパリンの存在下 F - 40 S C D 装置 ( S C D - H ) で ; シトレートの存在下 F - 40 S C D 装置 ( F - 40 S C D - C ) で ; またはシトレートの存在下 F - 80 A S C D 装置 ( F - 80 A、S C D - C ) で敗血症の処置を行った 6 時間後に対象から単離された末梢血単核細胞からの I L - 8 ( 図 12 A ) および T N F - ( 図 12 B ) の放出を示すグラフである。

【図 13】一次抗体である抗 C D 11 b 抗体と共にインキュベートした後、抗マウス I g G A l e x a f l u o r 594 コンジュゲートと共にインキュベートした肺切片の写真である。核を D A P I で対比染色した。左側のパネルは、ヘパリンの存在下 F - 40 S C D 装置で敗血症の処置を行った対象のものであり ; 右側のパネルは、シトレートの存在下 S C D 装置で敗血症の処置を行った対象のものである。治療方法にヘパリンではなくシトレートが含まれた患者の肺では、C D 11 b 標識細胞のかなりの減少が認められた。

【図 14】非敗血症対象 ; シトレートの存在下 F - 40 S C D 装置 ( F - 40 S C D - C ) で処置した敗血症対象 ; シトレートの存在下 F - 80 A S C D 装置 ( F - 80 A S C D - C ) で処置した敗血症対象 ; またはヘパリンの存在下 F - 40 S C D 装置 ( F - 40 S C D - H ) で処置した敗血症対象 ; で検出された C D 11 b 陽性細胞数を示す棒グラフである。

【図 15】シトレートの存在下 F - 40 S C D 装置 ( S C D - C、F - 40 ) で、シトレートの存在下 F - 80 A S C D 装置 ( S C D - C、F - 80 A ) で、またはヘパリンの存在下 F - 40 S C D 装置 ( S C D - H ) で処置した敗血症対象の経時での全身白血球数 ( 図 15 A )、全身好中球絶対数 ( 図 15 B )、および全身未熟好中球数 ( 図 15 C ) を示すグラフである。

【図 16】細胞のアポトーシス能の評価としてのアネキシン V で陽性と検出された好中球のパーセンテージを示す棒グラフである。敗血症患者をシトレートの存在下、F - 40 S C D ( F - 40 S C D - C ) または F - 80 A S C D ( F - 80 A S C D - C ) で処置した後、全身好中球と S C D - 接着好中球の両方を測定した。

【図 17】剪断流の存在下、およびリポ多糖類 ( L P S ) および / またはシトレートの存在下または非存在下、ポリスルホンに付着する白血球の相対数を示す棒グラフである。

【発明を実施するための形態】

【0036】

白血球 ( l e u k o c y t e s ) ( または白血球 ( w h i t e b l o o d s c e l l s ) ) および血小板などの炎症に関連する細胞は、通常、感染や傷害から身体を防御する。しかし、多くの疾患状態や医療処置の間に、これらの細胞は活性化されることがあり

、それにより望ましくない免疫反応や炎症反応が起こることがあり、これは致命的になることがある。白血球および/または血小板を体外で分離し、それらの炎症作用を抑制する選択的サイトフェレーシス装置 (selective cytopheretic device) と称される装置は、様々な炎症症状、特に、活性化白血球および/または活性化血小板により媒介または促進される炎症症状の予防または治療に有用となり得ることが分かった。米国特許出願公開第 2009/0060890 号明細書は、例示的な選択的サイトフェレーシス装置ならびに炎症症状の予防および/または治療におけるそれらの使用について記載している。それに記載されている選択的サイトフェレーシス装置は、通常、複数の繊維または平面状シートを収容するハウジングを備え、繊維または平面状シートの外面は、処置される対象の身体と接触する。中空繊維または平面状シートの外面は、体液中に存在する活性化白血球および/または活性化血小板を選択的に分離するための固体支持体を提供する。

10

#### 【0037】

本明細書で使用する場合、「サイトフェレーシス (cytopheresis)」または「選択的サイトフェレーシス (selective cytopheresis)」という用語は、体液、例えば、血液から特定の細胞、例えば、白血球 (例えば、活性化白血球) または血小板 (例えば、活性化血小板) を分離することを指す。分離される細胞を不活性化することができる、および/またはこのような細胞からの炎症誘発性物質の放出を抑制することができる。このような不活性化および/または抑制は、分離前、分離中、および/または分離後に行うことができることを理解されたい。特定の実施形態では、選択的サイトフェレーシスは、血液から白血球 (例えば、活性化白血球) および/または血小板 (例えば、活性化血小板) を分離することを指す。「血液」という用語は、任意の態様の血液、例えば、全血、処置された血液、濾過された血液、または血液由来の任意の液体、例えば、血清または血漿を指す。

20

#### 【0038】

「選択的サイトフェレーシス装置 (selective cytopheresis device)」、「選択的サイトフェレーシス装置 (selective cytopheretic device)」、「選択的サイトフェレーシス抑制装置」および「SCD」という用語はそれぞれ、サイトフェレーシスを促進するまたは促進することができる装置を指す。このような装置は、分離前、分離中、および/または分離後に、このような細胞を不活性化するおよび/またはこのような細胞からの炎症誘発性物質の放出を抑制することもできる。SCD は、選択的サイトフェレーシスを促進する 1 つ以上の SCD カートリッジを備える。次のセクションの記述は、全般に、特定の種類の細胞 (例えば、白血球) の分離ならびに抑制および/または不活性化について説明するが、炎症に関連する他の種類の細胞 (例えば、活性化血小板などの血小板) の分離ならびに抑制および/または不活性化にも同じ原理が適用されることが理解される。

30

#### 【0039】

「活性化白血球」とは、抗原投与に応答し、例えば、エンドトキシン (例えば、リポ多糖類) に暴露されたとき、抗原投与されなかった白血球と比較して、免疫反応を惹起する能力が高い白血球を意味するものと理解される。例えば、活性化好中球 (PMN) とは、抗原投与に応答し、例えば、エンドトキシン (例えば、リポ多糖類) に暴露されたとき、抗原投与されなかった好中球と比較して、移動する、貪食する、およびオキシダティブバースト反応 (oxidative burst response) を生じる能力が高い好中球である。活性化は、細胞表面 CD11b のアップレギュレーションにより測定することもできる。活性化単球とは、抗原投与に応答し、例えば、エンドトキシン (例えば、リポ多糖類) に暴露されたとき、抗原投与されなかった単球と比較して、サイトカインを放出する能力が高い単球である。「活性化血小板」とは、抗原投与に応答し、例えば、エンドトキシン (例えば、リポ多糖類) に暴露されたとき、他の血小板、白血球、および特定のタンパク質、例えば、凝固因子に対して接着性となる血小板を意味するものと理解される。血小板の活性化は、細胞表面に血小板が接着している循環単球のパーセンテージを

40

50

測定することにより定量化することができる。活性化白血球はまた、感作白血球も含む。例えば、感作好中球（PMN）とは、抗原投与に应答し、例えば、エンドトキシン（例えば、リポ多糖類）に暴露されたとき、抗原投与されなかった好中球と比較して、オキシダティブバースト反応を起こす能力が高い好中球である。

#### 【0040】

白血球および/または血小板を分離することができるSCDカートリッジ内の固体支持体の表面積、および固体支持体を収容するSCDカートリッジのハウジングの内容積（充填容積とも称される）の選択は、炎症症状の治療におけるSCDの有効性に重大な影響を及ぼし得ることが現在分かっている。例えば、固体支持体の表面積は、有効であるが白血球および/または血小板を多く分離し過ぎることなく、白血球および/または血小板の一部を分離するのに十分となるようにすべきである。白血球を多く分離し過ぎると、白血球の欠乏が起こることがあり、その結果、生命を脅かす白血球減少症が起こるおそれがある。好中球を多く分離し過ぎると、好中球減少症が起こるおそれがあり、血小板を多く分離し過ぎると、血小板減少症または出血素因が起こるおそれがある。さらに、治療を受ける対象に応じて適切な内容積（充填容積、または固体支持体が中空繊維で画定される場合、毛細管外空間とも称される）を有するハウジングを選択することが重要となり得る。例えば、乳児、小児、および血行動態的に不安定な重症患者の場合、固体支持体と接触させるまたは固体支持体を浸すために対象から抜き取られる体液が比較的少なく済むように比較的小さい充填容積を有するハウジングを選択することが重要である。従って、固体支持体の有効表面積、対、固体支持体を収容するSCDカートリッジハウジングの内容積との比が適切なSCDカートリッジを選択することは、所定の患者の治療の有効性に重大な影響を及ぼす可能性がある。特定のSCDカートリッジを選択する場合、対象の年齢、体重、および虚弱は、重要な考慮事項となり得る。

#### 【0041】

さらに、本明細書では全般に、血液および血液をベースにする体液に関して本発明を説明するが、本発明は、体外回路を通して流れることができる任意の体液試料、例えば、白血球および/または血小板を含有する対象からの任意の体液にも適用可能である。例示的な体外回路は、例えば、米国特許第6,561,997号明細書および米国特許出願公開第2009/0060890号明細書に記載されている。「試料」および「検体」という用語は、最も広義に使用される。一方では、それらは検体または培養物を含むことを意味している。他方では、それらは生物学的試料と環境試料の両方を含むことを意味している。体液としては、血液、血清、血漿、髄液（CSF）、リンパ液、腹腔液または腹水、胸膜液、および唾液が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

#### 【0042】

次のセクションは、様々な炎症症状を治療するための適切なSCDカートリッジ、およびこのようなSCDカートリッジを組み込むシステムの設計における考慮事項について説明する。

#### 【0043】

##### 1. カートリッジの考慮事項

適切なSCDの設計の基本原則について詳細に記載するが、本発明の実施に有用なSCDカートリッジは、本明細書に記載の特定の設計構成に限定されるものではないことが理解される。

#### 【0044】

一態様では、本発明は、活性化白血球、活性化血小板、または活性化白血球と活性化血小板の両方を処置するためのSCDカートリッジを提供する。カートリッジは、内容積（IV）、流体入口ポートおよび流体出口ポートを画定する硬質のハウジングを備える。内容積は、流体入口ポートおよび流体出口ポートの両方と流体流連通している。内容積は、本明細書では充填容積とも称され、中空繊維を収容する実施形態では毛細管外空間または（ECS）とも称される。内容積は、硬質のハウジングの流体入口ポートまたは流体出口ポートを封止し、封止されていないポートを通してSCDカートリッジに液体、例えば、

水を充填した後、封止されていないポートの上部までハウジングを充填する液体の体積を測定することにより求めることができる。さらに、カートリッジは、固体支持体の少なくとも一部が流体入口ポートと流体出口ポートとの間に単離され、流体入口ポートを通してハウジングに入る生物学的流体中に、活性化白血球および/または活性化血小板が存在する場合にそれを分離することができる表面積 (SA) を有する流体接触面を画定するように、ハウジング内に配置された固体支持体を備える。カートリッジの SA / IV 比は、 $150 \text{ cm}^{-1}$  より大きく (例えば、SA / IV 比は、 $150 \text{ cm}^{-1} \sim 1,500 \text{ cm}^{-1}$ 、 $300 \text{ cm}^{-1} \sim 1,000 \text{ cm}^{-1}$ 、 $400 \text{ cm}^{-1} \sim 800 \text{ cm}^{-1}$ 、または  $200 \text{ cm}^{-1} \sim 600 \text{ cm}^{-1}$  の範囲であってもよく)、固体支持体 (複数の繊維または平面状シートを含むことができる) は、ハウジング内に 20% ~ 65% (例えば、20% ~ 60%、または 30% ~ 60%、または 40% ~ 55%) の範囲の充填密度で配置される。

10

#### 【0045】

本明細書で使用する場合、「充填密度」という用語は、固体支持体が占めるカートリッジの内部の全容積のパーセンテージを意味するものと理解される。固体支持体が占める容積  $V_{\text{supp}}$  は、例えば、繊維、シート、または固体支持体を画定する他の要素全部の総容積を含むものと理解される。固体支持体が中空繊維などの中空要素を含む場合、固体支持体が占める容積は、中空空間 (例えば、毛細管内空間)、ならびに固体支持体の材料が占める容積を含むものと理解される。従って、カートリッジの内部の全容積は、カートリッジの充填容積 (IV) と固体支持体が占める容積との合計である。充填密度は、固体支持体が占める容積「内容積」をカートリッジの内部の全容積で除したものであり、 $V_{\text{supp}} / (IV + V_{\text{supp}})$  と表すことができ、これはパーセンテージとして表すこともできる。例えば、 $V_{\text{supp}}$  の容積が  $10 \text{ cm}^3$  で、IV が  $20 \text{ cm}^3$  である場合、充填密度は 0.3 または 30% となる。

20

#### 【0046】

別の態様では、本発明は、活性化白血球、活性化血小板、または活性化白血球と活性化血小板の両方を処置するためのカートリッジを提供する。カートリッジは、(a) 内容積 (IV)、流体入口ポートおよび流体出口ポートを画定している硬質のハウジングであって、内容積が、流体入口ポートおよび流体出口ポートと流体流連通している、ハウジングと；(b) ハウジング内に配置された固体支持体であって、流体入口ポートを通してハウジングに入る体液中に活性化白血球および/または活性化血小板が存在する場合にそれを分離することができる  $2.6 \text{ m}^2$  より大きい (例えば、 $3.0 \text{ m}^2 \sim 10.0 \text{ m}^2$ 、または  $3.0 \text{ m}^2 \sim 5.0 \text{ m}^2$  である) 表面積 (SA) を有する流体接触面を画定している固体支持体とを備える。

30

#### 【0047】

別の態様では、本発明は、活性化白血球、活性化血小板、または活性化白血球と活性化血小板の両方を処置するカートリッジを提供する。カートリッジは、(a) 内容積 (IV)、流体入口ポートおよび流体出口ポートを画定している硬質のハウジングであって、内容積が、流体入口ポートおよび流体出口ポートと流体流連通している、ハウジングと；(b) ハウジング内に配置された複数の中実繊維を含む固体支持体であって、流体入口ポートを通してハウジングに入る体液中に活性化白血球および/または活性化血小板が存在する場合にそれを分離することができる表面積 (SA) を有する流体接触面を画定している固体支持体とを備え、ここで、SA / IV 比は  $25 \text{ cm}^{-1}$  より大きい (例えば、 $80 \text{ cm}^{-1}$  より大きい、 $150 \text{ cm}^{-1}$  より大きい、または  $150 \text{ cm}^{-1} \sim 1,500 \text{ cm}^{-1}$  の範囲、 $80 \text{ cm}^{-1} \sim 800 \text{ cm}^{-1}$  の範囲、 $25 \text{ cm}^{-1} \sim 800 \text{ cm}^{-1}$  の範囲である)。

40

#### 【0048】

別の態様では、本発明は、(i) 活性化白血球、活性化血小板もしくはこれらの組み合わせを処理するための、または (ii) 炎症症状の発症リスクを有するもしくは炎症症状を有する対象を治療するためのカートリッジの使用を提供する。本方法は、(i) 内

50

容積 ( I V )、流体入口ポートおよび流体出口ポートを画定している硬質のハウジングと ; ( i i ) 固体支持体の少なくとも一部が流体入口ポートと流体出口ポートとの間に分離されるようにハウジング内に配置され、流体入口ポートを通してハウジングに入る生物学的流体中に活性化白血球が存在する場合にそれを分離することができる表面積 ( S A ) を有する流体接触面を画定している固体支持体とを備えるカートリッジを提供する工程を含む。本方法では、カートリッジの S A / I V 比は、 $80 \text{ cm}^{-1}$  より大きい。本方法は、活性化白血球および / または活性化血小板を固体支持体の流体接触面で分離することができる条件で、対象からの体液を、流体入口ポートを通してハウジングに導入する工程をさらに含む。

#### 【 0 0 4 9 】

図 1 A は、例示的 S C D カートリッジ 1 0 0 の概略断面図を示す。S C D カートリッジ 1 0 0 は、内容積または充填容積 1 1 2、流体入口ポート 1 1 4、流体接触内面 1 1 6、および流体出口ポート 1 1 8 を画定するハウジング 1 1 0 を備える。流体入口ポート 1 1 4、内容積 ( または充填容積 ) 1 1 2、および流体出口ポート 1 1 8 は互いに流体流連通している。図示するように、流体入口ポート 1 1 4 と流体出口ポート 1 1 8 は、ハウジングの同じ側面に配置されている ( 即ち、同側にある )。この実施形態では、ハウジングは、1 本以上の中空繊維の外面で画定された固体支持体 1 2 0 もさらに備える。図 1 A は、3 本の中空繊維を示す。この実施形態では、中空繊維 1 2 0 の内部は全体として毛細管空間 ( 「 I C S 」 ) 1 2 2 を画定し、ハウジングの流体接触内面 1 1 6 と中空繊維 1 2 0 の外面との間に位置する容積は全体として内容積 1 1 2 を画定し、これは毛細管外空間 ( 「 E C S 」 ) と称される。特定の実施形態に応じて、流体、例えば、限外濾過濾液を、I C S 入口 1 2 6 を通して S C D 1 0 0 の I C S 1 2 2 に導入することができ、それはこの後、I C S 1 2 2 に流入するまたは I C S 1 2 2 を通って流れることができ、必要に応じて、I C S 出口 1 2 8 を通ってハウジング 1 1 0 から出ることができる。しかし、特定の実施形態では、I C S 入口 1 2 6 を塞ぐもしくは他に I C S 入口 1 2 6 に端部キャップ 1 3 0 を被着することができる、および / または I C S 出口 1 2 8 を塞ぐもしくは他に端部キャップ 1 3 2 を被着することができる。この実施形態では、固体支持体 1 2 0 の少なくとも一部はハウジング 1 1 0 内の流体入口ポート 1 1 4 と流体出口ポート 1 1 8 との間に配置される。

#### 【 0 0 5 0 】

S C D カートリッジの動作中、目的の流体試料は、流体入口 1 1 4 を通してハウジング 1 1 0 に導入され、内容積 ( または E C S ) 1 1 2 に入る。次いで、流体は、固体支持体 1 2 0 の面に実質的に平行な面にある固体支持体 1 2 0 の表面に沿って ( 中空繊維の外面に沿って ) 通過した後、流体出口ポート 1 1 8 を通って内容積 ( または E C S ) 1 1 2 から出る。活性化白血球および / または血小板は、固体支持体 1 2 0 に沿って通過する時、分離され、任意選択により不活性化される。その結果、動作中に、体液 ( 例えば、血液 ) からの細胞 ( 例えば、白血球 ) は、カートリッジハウジングで画定される通路内の特定の領域と、特に、中空繊維の外表面と結合する。従って、特定の実施形態では、白血球を分離するように構成された通路領域は、比較的小さい分子は透過できるが比較的大きい分子および / または細胞は膜に沿って流動させる多孔質膜を備えてもよい。さらに、特定の実施形態では、白血球を分離するように構成された通路領域は、ハウジングの表面と接し、且つ、生物学的試料 ( 例えば、対象の血液または濾過された血液 ) が外面上を ( 即ち、中空繊維上を ) を流動するように構成された中空繊維の 1 つまたは複数の外表面と接し、それを含んでもよい。例えば、図 1 を参照されたい。中空繊維は、多孔質、半多孔質、または非多孔質であってもよく、異なる流体 ( 例えば、限外濾過濾液 ) が任意選択により中空繊維内を流動してもまたは中空繊維内に存在してもよい。繊維は、本明細書に記載の任意の好適な材料から形成することができる。

#### 【 0 0 5 1 】

図 1 B は、別の例示的 S C D カートリッジ 1 0 0 の概略断面図を示す。S C D カートリッジ 1 0 0 は、内容積 1 1 2、流体入口ポート 1 1 4、流体接触内面 1 1 6、および流体

出口ポート 118 を画定するハウジング 110 を備える。流体入口ポート 114 および流体出口ポート 118 は、ハウジングの同じ側面に配置されている（即ち、同側にある）。この実施形態では、ハウジングは、固体基板の外面で画定された固体支持体 120 をさらに備え、それは、例えば、1 本または複数本の（複数の）中実繊維であっても、または 1 枚または複数枚の（複数の）平面状の支持体（例えば、平坦な膜）であってもよい。SCD カートリッジの断面図を示すこの図 1B では、固体支持体は、3 本の中実繊維または 3 枚の平面状支持部材（例えば、平面状の膜）で画定されている。しかし、複数の中実繊維または平面状支持部材が全体として固体支持体を画定してもよいことが理解される。ハウジングの流体接触内面 118 と中実繊維または平面状支持部材の外表面との間に位置する容積が全体として内容積（または充填容積）112 を画定する。図 1A に示す実施形態とは対照的に、中実繊維または平面状支持部材は、中空ではないため、ICS を画定しない。この実施形態では、固体支持体 120 の少なくとも一部は、ハウジング 110 内の流体入口ポート 114 と流体出口ポート 118 との間に配置されている。

10

20

30

40

50

#### 【0052】

この SCD カートリッジの動作中、目的の流体試料は、流体入口部分 114 を通してハウジング 110 に導入され、内容積（ECS）112 に入る。次いで、流体は、固体支持体 120 の面に実質的に平行な面にある固体支持体 120 の表面に沿って（中実繊維または平面状支持体、または 1 本以上の中実繊維と 1 枚以上の平面状支持体との組み合わせの外表面に沿って）通過した後、流体出口ポート 118 を通って内容積 112 から出る。体液が固体支持体 120 に沿って移動する時、活性化白血球および / または活性化血小板が分離される。

#### 【0053】

図 1C および図 1D に示す SCD カートリッジは、図 1B に示す SCD カートリッジと類似している。図 1C では、流体入口ポート 114 と流体出口ポート 118 は、ハウジングの向かい合った側面に配置されている（即ち、対側にある）。図 1C では、ハウジング 110 は、第 1 の端部と、第 1 の端部の反対側にある第 2 の端部とを有し、流体入口ポート 114 は、流体を第 1 の端部を通して流すことができるように構成されており、流体出口ポート 118 は、流体を第 2 の端部を通して流すことができるように構成されている。

#### 【0054】

SCD カートリッジは、細胞、例えば、白血球を分離する様々な方法のいずれかで構成することができる。より詳細に後述するように、SCD カートリッジは、好ましくは、特定の対象および適応症を想定して設計されている。例えば、固体支持体の表面積は、有効であるが白血球を多く分離し過ぎることがないように、活性化白血球および / または活性化血小板の一部を分離するのに十分でなければならず、白血球を多く分離し過ぎると、生命を脅かす白血球減少症、好中球減少症を場合によっては引き起こすおそれがあり、または血小板を多く分離し過ぎると、血小板減少症または出血素質が起こるおそれがある。さらに、治療を受ける対象に応じて適切な内容積を有するハウジングを選択することが重要となり得る。例えば、乳児、小児、および血行動態的に不安定な重症患者の場合、固体支持体と接触させるまたは固体支持体を浸すために対象から抜き取られる体液が比較的少なく済むように、比較的小さい充填容積を有するハウジングを選択することが重要である。比較的小さい充填容積を有するハウジングを選択することが重要である。細胞、例えば、白血球を分離し、適切な内容積を有する様々な方法のいずれかで SCD カートリッジを構成できることが理解される。

#### 【0055】

固体支持体は、任意の数の表面、例えば、1、2、3、4、5、10、20、50、または 100 以上の異なる表面で画定することができる。治療を受ける対象および治療の適応症に応じて、固体支持体の表面積は約  $0.09 \text{ m}^2$  より大きい、約  $0.1 \text{ m}^2$  より大きい、約  $0.2 \text{ m}^2$  より大きい、 $0.4 \text{ m}^2$  より大きい、 $0.6 \text{ m}^2$  より大きい、 $0.8 \text{ m}^2$  より大きい、 $1.0 \text{ m}^2$  より大きい、 $1.5 \text{ m}^2$  より大きい、または  $2.0 \text{ m}^2$  より大きい。

## 0

20

## 30

40

## 50

50

## 50

特定の実施形態では、S A / I V 比は、 $2.5 \text{ cm}^{-1} \sim 2,000 \text{ cm}^{-1}$ 、 $2.5 \text{ cm}^{-1} \sim 1,750 \text{ cm}^{-1}$ 、 $2.5 \text{ cm}^{-1} \sim 1,500 \text{ cm}^{-1}$ 、 $2.5 \text{ cm}^{-1} \sim 1,250 \text{ cm}^{-1}$ 、 $2.5 \text{ cm}^{-1} \sim 1,000 \text{ cm}^{-1}$ 、 $2.5 \text{ cm}^{-1} \sim 800 \text{ cm}^{-1}$ 、 $800 \text{ cm}^{-1} \sim 2,000 \text{ cm}^{-1}$ 、 $800 \text{ cm}^{-1} \sim 1,750 \text{ cm}^{-1}$ 、 $800 \text{ cm}^{-1} \sim 1,500 \text{ cm}^{-1}$ 、 $800 \text{ cm}^{-1} \sim 1,250 \text{ cm}^{-1}$ 、 $800 \text{ cm}^{-1} \sim 1,000 \text{ cm}^{-1}$ 、 $800 \text{ cm}^{-1} \sim 800 \text{ cm}^{-1}$ 、 $1,000 \text{ cm}^{-1} \sim 2,000 \text{ cm}^{-1}$ 、 $1,000 \text{ cm}^{-1} \sim 2,000 \text{ cm}^{-1}$ 、 $1,000 \text{ cm}^{-1} \sim 1,750 \text{ cm}^{-1}$ 、 $1,000 \text{ cm}^{-1} \sim 1,500 \text{ cm}^{-1}$ 、 $1,000 \text{ cm}^{-1} \sim 1,250 \text{ cm}^{-1}$ 、 $1,000 \text{ cm}^{-1} \sim 800 \text{ cm}^{-1}$ 、 $1,250 \text{ cm}^{-1} \sim 2,000 \text{ cm}^{-1}$ 、 $1,250 \text{ cm}^{-1} \sim 1,750 \text{ cm}^{-1}$ 、 $1,250 \text{ cm}^{-1} \sim 1,500 \text{ cm}^{-1}$ 、 $1,250 \text{ cm}^{-1} \sim 1,000 \text{ cm}^{-1}$ 、または  $1,250 \text{ cm}^{-1} \sim 800 \text{ cm}^{-1}$ 、 $1,500 \text{ cm}^{-1} \sim 2,000 \text{ cm}^{-1}$ 、 $1,500 \text{ cm}^{-1} \sim 1,750 \text{ cm}^{-1}$ 、 $1,500 \text{ cm}^{-1} \sim 1,500 \text{ cm}^{-1}$ 、 $1,500 \text{ cm}^{-1} \sim 1,250 \text{ cm}^{-1}$ 、 $1,500 \text{ cm}^{-1} \sim 1,000 \text{ cm}^{-1}$ 、 $1,500 \text{ cm}^{-1} \sim 800 \text{ cm}^{-1}$ 、 $2,000 \text{ cm}^{-1} \sim 2,000 \text{ cm}^{-1}$ 、 $2,000 \text{ cm}^{-1} \sim 1,750 \text{ cm}^{-1}$ 、 $2,000 \text{ cm}^{-1} \sim 1,500 \text{ cm}^{-1}$ 、 $2,000 \text{ cm}^{-1} \sim 1,250 \text{ cm}^{-1}$ 、 $2,000 \text{ cm}^{-1} \sim 800 \text{ cm}^{-1}$ 、 $2,000 \text{ cm}^{-1} \sim 600 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 2,000 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 2,000 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 1,750 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 1,500 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 1,250 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 1,000 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 800 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 600 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 500 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 400 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 300 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 200 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 100 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 50 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 25 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 12.5 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 6.25 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 3.125 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 1.5625 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 0.78125 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 0.390625 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 0.1953125 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 0.09765625 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 0.048828125 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 0.0244140625 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 0.01220703125 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 0.006103515625 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 0.0030517578125 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 0.00152587890625 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 0.000762939453125 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 0.0003814697265625 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 0.00019073486328125 \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 9.5367431640625 \times 10^{-5} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 4.76837158203125 \times 10^{-5} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 2.384185791015625 \times 10^{-5} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 1.1920928955078125 \times 10^{-5} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 5.9604644775390625 \times 10^{-6} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 2.9802322387695312 \times 10^{-6} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 1.4901161193847656 \times 10^{-6} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 7.450580596923828 \times 10^{-7} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 3.725290298461914 \times 10^{-7} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 1.862645149230957 \times 10^{-7} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 9.313225746154785 \times 10^{-8} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 4.656612873077392 \times 10^{-8} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 2.328306436538696 \times 10^{-8} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 1.164153218269348 \times 10^{-8} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 5.82076609134674 \times 10^{-9} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 2.91038304567337 \times 10^{-9} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 1.455191522836685 \times 10^{-9} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 7.275957614183425 \times 10^{-10} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 3.637978807091712 \times 10^{-10} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 1.818989403545856 \times 10^{-10} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 9.09494701772928 \times 10^{-11} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 4.54747350886464 \times 10^{-11} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 2.27373675443232 \times 10^{-11} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 1.13686837721616 \times 10^{-11} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 5.6843418860808 \times 10^{-12} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 2.8421709430404 \times 10^{-12} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 1.4210854715202 \times 10^{-12} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 7.105427357601 \times 10^{-13} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 3.5527136788005 \times 10^{-13} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 1.7763568394002 \times 10^{-13} \text{ cm}^{-1}$ 、 $3,000 \text{ cm}^{-1} \sim 8.881784197001 \times 10^{-14} \$



$1, 250 \text{ cm}^{-1}$ 、 $300 \text{ cm}^{-1} \sim 1, 000 \text{ cm}^{-1}$ 、 $300 \text{ cm}^{-1} \sim 800 \text{ cm}^{-1}$ 、 $400 \text{ cm}^{-1} \sim 1, 200 \text{ cm}^{-1}$ 、 $400 \text{ cm}^{-1} \sim 1, 000 \text{ cm}^{-1}$ 、 $400 \text{ cm}^{-1} \sim 800 \text{ cm}^{-1}$ 、 $500 \text{ cm}^{-1} \sim 1, 200 \text{ cm}^{-1}$ 、 $500 \text{ cm}^{-1} \sim 1000 \text{ cm}^{-1}$ 、または $500 \text{ cm}^{-1} \sim 800 \text{ cm}^{-1}$ の範囲である。

#### 【0060】

カートリッジのハウジングは様々な材料から製造することができるが、内容積内の流体接触面を画定する材料は、生体適合性でなければならない。SCDカートリッジは、チタン、またはチタン、タンタル、もしくはニオブを含む高融点金属の表面コーティングを有するもしくは有していないステンレス鋼などの金属；アルミナ、シリカ、またはジルコニアなどのセラミック；あるいは、ポリ塩化ビニル、ポリエチレン、または、ポリカーボネートなどのポリマーを含む様々な材料から構成することができる。

10

#### 【0061】

固体支持体は、平坦な表面（例えば、シート）、湾曲した表面（例えば、中空チューブ、中空繊維、中実チューブ、および中実繊維）、模様の付いた表面（例えば、連続折り畳みシートまたはディンプルのある表面）、不規則な形状の表面、または細胞を分離する他の構成で画定することができる。固体支持体は様々な材料で画定できることが理解され、これには、例えば、中空繊維、中実繊維、平面状支持部材（例えば、平面状の膜）または前述の2つ以上の組み合わせ（例えば、中空繊維と中実繊維との組み合わせ、中空繊維と平面状支持部材との組み合わせ、または中実繊維と平面状支持部材との組み合わせ）を挙げることができる。特定の実施形態では、固体支持体は、SCDカートリッジ内の流体入口ポート114から流体出口ポートまでの流体の流動面に実質的に平行である。

20

#### 【0062】

実施形態に応じて、固体支持体は、膜を含むことができる。「膜」という用語は、表面の両側で液体を受ける、または表面の一方側で液体を、他方側で気体を受けることができる表面を指す。膜は、液体または気体が透過できるような多孔質（例えば、選択的に多孔質または半多孔質）であってもよい。表面または膜を説明するために本明細書で 사용되는「多孔質」という用語は、略多孔質、選択的に多孔質および/または半多孔質の表面または膜を含むものと理解される。さらに、白血球の分離を促進することができる追加の表面は、例えば、粒子（例えば、ビーズ）表面、通路の中に突出する1つ以上の突起の表面、または流動する生物学的試料に暴露される1枚以上の膜の表面である。

30

#### 【0063】

固体支持体は特定のタイプ、種類、またはサイズに限定されるものではなく、任意の適切な材料で製造することができるが；材料は生体適合性でなければならないことが理解される。例えば、固体支持体の表面は、ナイロン、ポリエチレン、ポリウレタン、ポリエチレンテレフタレート（PET）、ポリテトラフルオロエチレン（PTFE）、CUPROPHAN（銅アンモニア法により再生されたセルロース、Enkaから入手可能）、HEMOPHAN（生体適合性が改善された変性CUPROPHAN、Enkaから入手可能）、CUPRAMMONIUM RAYON（CUPROPHANの1種、Asahiから入手可能）、BIOMEMBRANE（銅アンモニアレーヨン、Asahiから入手可能）、醃化酢酸セルロース（帝人（Teijin）またはCD Medicalから入手可能な繊維など）、酢酸セルロース（東洋紡（Toyobo）ニプロ（Nipro）から入手可能な繊維など）、セルロース（それぞれテルモ（Terumo）またはTextilkombinat（Pirna, GDR）から入手可能な、銅アンモニア法の変法によりまたはビスコース法により再生されるものなど）、ポリアクリロニトリル（PAN）、ポリスルホン、ポリエーテルスルホン、ポリアリーールエーテルスルホン、アクリル系共重合体（Hospalから入手可能なアクリロニトリル-NA-メタリル-スルホネート共重合体など）、ポリカーボネート共重合体（Gambroから入手可能な繊維である、GAMBRONEなど）、ポリメチルメタクリレート共重合体（東レ（Toray）から入手可能な繊維など）、およびエチレンビニル共重合体（クラレ（Kuraray）から入手可能なエチレン-ビニルアルコール共重合体である、EVALなど）の1つ以上を含む、

40

50

任意の生体適合性ポリマーであってもよい。あるいは、表面はナイロンメッシュ、木綿メッシュ、または繊維織物であってもよい。表面の厚みは一定とすることも不規則とすることもできる。幾つかの実施形態では、表面は、ケイ素、例えば、ケイ素ナノ加工膜（例えば、米国特許出願公開第2004/0124147号明細書を参照されたい）を含んでもよい。幾つかの実施形態では、表面はポリスルホン繊維を含んでもよい。他の好適な生体適合性繊維は、当該技術分野で、例えば、Salem and Mujais (1993) DIALYSIS THERAPY 2D ED., Ch. 5: Dialyzers, Eds. Nissensen and Fine, Hanley & Belfus, Inc., Philadelphia, PA. から公知である。

#### 【0064】

例えば、生物学的方法、化学的方法、機械的方法および/または物理学的方法を含む、白血球の分離を促進する任意の方法および方法の組み合わせを使用することができる。幾つかの実施形態では、生物学的方法または化学的分離方法を使用することができる。このような方法には、組織、細胞、生体分子（例えば、タンパク質または核酸）、または小分子を使用して白血球を分離する工程が含まれる。一実施形態では、例えば、ECS内の固体支持体の流体接触支持体にはさらに、分離を促進するように細胞接着分子が結合していてもよい。

#### 【0065】

例えば、白血球が活性化されると、白血球によりセレクチンが産生される。この変化したセレクチン産生により、白血球と他の白血球との結合が促進され得る。そして白血球間の結合により、さらに結合した白血球内でのセレクチン産生が増加し、そのため白血球が指数関数的に結合することになり得る。従って、セレクチンは、分離を亢進するのに有用となり得る。白血球を結合させることが知られているタンパク質、タンパク質複合体、および/またはタンパク質成分としては、CD11a、CD11b、CD11c、CD18、CD29、CD34、CD44、CD49d、CD54、ポドカリキシン、エンドムチン(endomucin)、グリコサミノグリカン細胞接着分子-1(GlyCAM-1)、粘膜アドレシン細胞接着分子-1(MAdCAM-1)、E-セレクチン、L-セレクチン、P-セレクチン、皮膚リンパ球抗原(cutaneous lymphocyte antigen)(CLA)、P-セレクチン糖タンパク質リガンド1(PSGL-1)、白血球機能関連抗原-1(LFA-1)、Mac-1、白血球表面抗原p150、95、白血球インテグリンCR4、超遅発(very late)抗原-4(VLA-4)、リンパ球パイエル板接着分子-1(LPAM-1)、細胞内接着分子-1(ICAM-1)、細胞内接着分子-2(ICAM-2)、細胞内接着分子-3(ICAM-3)、不活化C3b(C3bi)、フィブリノーゲン、フィブリネクチン、末梢リンパ節アドレシン(PNAd)、血管内皮接着タンパク質1(VAP-1)、フラクタルカイン、CC19、CC121、CC125、およびCC127が挙げられる。白血球と結合することが知られている他の大分子としては、ヒアルロン酸、グリコサミノグリカン(GAG)、およびフコシル化オリゴ糖およびそれらの前駆体が挙げられる。特定の実施形態では、白血球の分離に使用される小分子または接着性物質(adherents)としては、アルギニン-グリシン-アスパラギン酸(RGD)のアミノ酸配列を含むペプチドなどのペプチド、およびシアル酸を含む分子を挙げることができるが、これらに限定されるものではない。従って、これらの材料のいずれかを使用して分離を亢進することができる。

#### 【0066】

使用中、これらの生物学的方法または化学的材料のいずれかを固体支持体の流体接触面および/またはカートリッジハウジングの流体接触面に結合させて、分離を促進または亢進することができる。その代わりに、またはそれと組み合わせて、これらの材料のいずれかを、分離を促進する他の追加の方法に使用してもよい。例えば、溶液中の白血球に結合する材料を使用してそれらを凝集させ、単一の白血球のサイズと比較して、それらの全体サイズが大きくなるようにすることができる。その後、凝集した白血球を、特定の細孔径を有する膜で捕捉することができる。

10

20

30

40

50

## 【0067】

本明細書に記載の分離方法は、血小板にも適用できることを理解すべきである。血小板の場合、前述と類似の生物学的、化学的、機械的および/または物理学的方法を使用して血小板を分離することができる。特定の実施形態では、血小板の分離に使用される薬剤には、糖タンパク質Ib ( GPIb )、糖タンパク質IIb ( GPIIb )、糖タンパク質IIIIa ( GPIIIa )、CD41、CD61、フォンウィレブラント因子、<sub>2</sub>-インテグリンマクロファージ抗原-1、P-セレクトリンなどのセレクトリン、および細胞接着分子の1つ以上が含まれる。

## 【0068】

さらに、SCDカートリッジ内で生じる特定の機械的力を制御することにより分離を促進および/または亢進することもできる。例えば、白血球と表面との間の剪断力を最小限に抑える流量および装置構成を使用して、白血球を表面に結合させることにより、通路または通路領域の(またはその中の)1つ以上の表面(例えば、多孔質中空繊維の外側)で白血球を分離することができる。例えば、ハウジングは、体液が内容積を移動する時、低剪断力環境を作り出し、目的の細胞、例えば、白血球、血小板等を固体支持体で分離できるように構成される。

## 【0069】

より具体的には、カートリッジは、生物学的流体が、例えば、10 mL (  $\text{cm}^3$  ) / 分 ~ 約8,000 mL (  $\text{cm}^3$  ) / 分または50 mL / 分 ~ 約8,000 mL / 分の範囲(例えば、1,000  $\text{cm}^3$  / 分)の流量で流体入口ポート114を通してカートリッジハウジングに入り、流体出口ポート118を通してカートリッジハウジングから出るとき、流動する細胞(例えば、白血球または血小板)と分離面との間の剪断力が1000ダイン /  $\text{cm}^2$  未満、500ダイン /  $\text{cm}^2$  未満、100ダイン /  $\text{cm}^2$  未満、80ダイン /  $\text{cm}^2$  未満、60ダイン /  $\text{cm}^2$  未満、40ダイン /  $\text{cm}^2$  未満、20ダイン /  $\text{cm}^2$  未満、10ダイン /  $\text{cm}^2$  未満、または5ダイン /  $\text{cm}^2$  未満となり得るように構成される。そのため、流体入口ポート114と流体出口ポート118は、ハウジングを通過する流量を10 mL / 分 ~ 8,000 mL / 分または50 mL / 分 ~ 8,000 mL / 分の範囲にし得る寸法になっている。例えば、特定の炎症性障害、例えば、心肺バイパス中の炎症反応を治療するとき、例えば、7000 mL / 分以下の大流量の処置を許容できることが理解される。同様に、敗血症の場合、例えば、1000 mL / 分以下の流量を許容できることが理解される。とはいえ、他の適応症、例えば、急性腎不全および慢性腎不全に伴う炎症反応を治療する場合、例えば、約500 mL / 分未満、約100 mL / 分 ~ 約500 mL / 分、約200 mL / 分 ~ 約500 mL / 分の比較的低い流量を使用すべきである。そのため、入口ポート114および出口ポート118は、所望の容積の体液が所定の時間内にSCDカートリッジハウジングを通過できる寸法になっている。流体入口ポート114および流体出口ポート118はそれぞれ、内径0.1 cm以上 ~ 2 cm、もしくは0.2 cm ~ 1 cmであり、または断面表面積0.01  $\text{cm}^2$  以上、0.1  $\text{cm}^2$  以上、0.2  $\text{cm}^2$  以上、0.4  $\text{cm}^2$  以上、0.6  $\text{cm}^2$  以上、0.8  $\text{cm}^2$  以上、1.0  $\text{cm}^2$  以上、2.0  $\text{cm}^2$  以上、または3.0  $\text{cm}^2$  以上であることが理解される。特定の実施形態では、入口ポート、出口ポート、または入口ポートと出口ポートは両方とも断面表面積が0.01  $\text{cm}^2$  ~ 1  $\text{cm}^2$  である。流体入口または流体出口から最も近いハウジング端部までの距離(距離A)は、Aをハウジングの長さで除したものが0.01 ~ 0.25となるようにすることができる。また、入口ポートおよび/または出口ポートの面は、ハウジングの最長寸法(通常は長さ)で画定された面に対して、5度 ~ 90度(即ち、垂直である)の範囲とすることができることも理解される。

## 【0070】

特定の実施形態では、流体入口ポート114および流体出口ポート118は両方とも、例えば、図1Aおよび1Bに示すように、ハウジング116の一側面に配置されている。あるいは、図1Cに示すように、流体入口ポート114と流体出口ポート116をハウジング116の向かい合った側面に配置することもできる。流体入口ポート114および流

10

20

30

40

50

体出口ポート 116 を他の向きに配置することも考えられる。例えば、ハウジングが第 1 の端部と、第 1 の端部の反対側の第 2 の端部とを備える場合、流体を第 1 の端部を通して流すことができるように流体入口ポートを構成することができる、および / または流体を第 2 の端部を通して流すことができるように流体出口ポートを構成することができる。このような向きの配置の 1 つを図 1 D に示すが、流体入口ポート 114 は流体がハウジング 116 の左端を通して流れることを可能にし、流体出口ポート 118 は流体がハウジング 116 の右端を通して流出することを可能にする。

#### 【0071】

S C D カートリッジのハウジングのサイズと形状は、適切な充填容積を提供し、流体が S C D カートリッジを通過する時に乱流が最小限に抑えられるように設計できることが理解される。さらに、S C D カートリッジ内に配置される固体支持体のサイズ、形状および組成は、適切な表面積を提供し、流体が S C D カートリッジを通過する時に乱流が最小限に抑えられるように設計できることが理解される。

10

#### 【0072】

一例として、中実繊維を使用してカートリッジ内の固体支持体を作製するとき、全表面積  $1.8 \text{ m}^2 \sim 2.5 \text{ m}^2$  のカートリッジが望ましい場合、カートリッジは、繊維長  $26 \text{ cm}$ 、繊維径  $50 \mu\text{m}$  のとき、約  $43,000$  本の繊維、または繊維長  $26 \text{ cm}$ 、繊維径  $100 \mu\text{m}$  のとき、約  $22,000$  本の繊維、または繊維長  $26 \text{ cm}$ 、繊維径  $200 \mu\text{m}$  のとき、約  $11,000$  本の繊維、または繊維長  $13 \text{ cm}$ 、繊維径  $100 \mu\text{m}$  のとき、約  $43,000$  本の繊維、または繊維長  $13 \text{ cm}$ 、繊維径  $200 \mu\text{m}$  のとき、約  $22,000$  本の繊維を収容するように設計することができる。あるいは、全表面積  $3.6 \text{ m}^2 \sim 5.0 \text{ m}^2$  のカートリッジが望ましい場合、カートリッジは、繊維長  $26 \text{ cm}$ 、繊維径  $50 \mu\text{m}$  のとき、約  $87,000$  本の繊維、または繊維長  $26 \text{ cm}$ 、繊維径  $100 \mu\text{m}$  のとき、約  $43,000$  本の繊維、または繊維長  $13 \text{ cm}$ 、繊維径  $100 \mu\text{m}$  のとき、約  $87,000$  本の繊維を収容するように設計することができる。

20

#### 【0073】

対照的に、一例として、平面状支持部材を使用して固体支持体を作製するとき、全表面積  $1.8 \text{ m}^2 \sim 2.5 \text{ m}^2$  のカートリッジが望ましい場合、カートリッジは、例えば、平均厚さ  $50 \mu\text{m}$ 、平均幅  $5 \text{ cm}$  のシート複数枚（例えば、長さ約  $12 \text{ cm}$  の膜約  $115$  枚、または長さ約  $26 \text{ cm}$  の膜  $63$  枚）を収容することができる。対照的に、全表面積  $3.6 \text{ m}^2 \sim 5.0 \text{ m}^2$  のカートリッジが望ましい場合、カートリッジは平均厚さ  $50 \mu\text{m}$ 、平均幅  $5 \text{ cm}$ 、および平均長さ  $26 \text{ cm}$  の膜約  $125$  枚を収容することができる。特定の実施形態では、シート間の間隔が約  $50 \mu\text{m}$  または  $100 \mu\text{m}$  となるように、シートをカートリッジ内に配置してもよい。

30

#### 【0074】

特定の実施形態では、固体支持体（例えば、固体支持体を構成する繊維または平面状の支持体）が  $20\% \sim 65\%$ 、 $20\% \sim 60\%$ 、 $30\% \sim 60\%$ 、または  $40\% \sim 55\%$  の充填密度でハウジング内に配置されるようにカートリッジを設計することができる。充填密度は、血液がハウジングの I V 内に配置された固体支持体を通過するとき、凝固するリスクが最小限に抑えられるように選択すべきである。

40

#### 【0075】

S C D カートリッジ内に中空繊維を使用するとき、S A / I V 比は、好ましくは、少なくとも  $80 \text{ cm}^{-1}$  以上である。S A / I V 比が  $80 \text{ cm}^{-1}$  より大きい例示的 S C D カートリッジとしては、Fresenius Medical Care North America, Waltham, MA、米国）から市販されている F - 50、F - 60、F - 70 および F - 80 A カートリッジ、または Baxter (Deerfield, IL, 米国) 製の Renaflo カートリッジ (PSH シリーズ) が挙げられる。これらのカートリッジは、急性および慢性血液透析に使用されることが U S F D A により認可された。F - 80 A カートリッジは、例えば、白血球および / または血小板を分離できる表面積が約  $2.5 \text{ m}^2$  の固体支持体（中空繊維の束の中の外面で画定される）を有し、内容

50

積が約 250 mL、および SA / IV 比が約 100 である。

【 0 0 7 6 】

特定の実施形態では、例示的カートリッジは、表 1 に記載の特徴を有することができる。

【 0 0 7 7 】

( 表 1 )

装置	ECS SA (m <sup>2</sup> )	ECS SA (cm <sup>2</sup> )	ECS 充填 (cm <sup>3</sup> )	SA/V (cm <sup>-1</sup> )
1	0.98	9800	130	75
2	2.5	25000	250	100
3	1.25	12500	125	100
4	2.5	25000	125	200
5	2.5	25000	109	230
6	2.5	25000	94	267
7	5	50000	93	536
8	5	50000	125	400
9	6.7	67000	125	537
10	10	100000	125	800

【 0 0 7 8 】

特定の実施形態、特に、小児用の実施形態では、例示的カートリッジは表 2 に記載の特徴を有することができる。

【 0 0 7 9 】

( 表 2 )

装置	ECS SA (m <sup>2</sup> )	ECS SA (cm <sup>2</sup> )	ECS 充填 (cm <sup>3</sup> )	SA/V (cm <sup>-1</sup> )
1 - 1.5 cm ケース; 200μm 繊維	0.17	1700	9	185
2 - 1.5 cm ケース; 100μm 繊維	0.35	3500	9	392
3 - 1.5 cm ケース; 75μm 繊維	0.47	4700	9	530
4 - 1.5 cm ケース; 50μm 繊維	0.70	7000	9	784
5 - 2.5 cm ケース; 200μm 繊維	0.49	4900	25	199
6 - 2.5 cm ケース; 100μm 繊維	0.98	9800	25	399
7 - 2.5 cm ケース; 75μm 繊維	1.30	13000	25	526
8 - 2.5 cm ケース; 50μm 繊維	1.96	19600	25	797

【 0 0 8 0 】

特定の実施形態では、システムは、白血球、血小板または目的の細胞を一連のカートリッジ、例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 以上のカートリッジ（例えば、中空繊維カートリッジ）に供することにより分離を達成することができ、カートリッジはそれぞれ、白血球を分離するように構成された領域の長さおよびその中の白血球の滞留時間が長くなるように、1 つ以上の分離通路、または通路領域を備える。前述の実施形態のいずれかで、装置は、分離前、分離中、または分離後に白血球からの炎症誘発性物質の放出の抑制および / または白血球の不活性化が可能となるように、白血球の分離を達

成するように構成されている。白血球からの炎症誘発性物質の放出の抑制および／または白血球の不活性化は、分離中と、本発明の通路、通路領域、または全システム内を輸送中の両方で達成することができる。

#### 【0081】

幾つかの実施形態では、SCDカートリッジまたはSCDカートリッジを組み込む流体回路は、任意の所望の時間、例えば、1～59秒間、1～59分間、1～24時間、1～7日間、1週間以上、1か月間以上、または1年間以上、白血球を分離するように構成されている。幾つかの実施形態では、装置は、その後の白血球からの炎症誘発性物質の放出の抑制および／または白血球の不活性化が可能となるのに十分な時間、白血球を分離するように構成されている。特定の実施形態では、白血球を不活性化するおよび／または炎症誘発性物質の放出を抑制するのに十分な時間（例えば、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15分間または少なくとも1時間）、SCDカートリッジ内で白血球および／または血小板を分離する。

10

#### 【0082】

SCDカートリッジは、製造後、使用する前に滅菌されなければならないことが理解される。滅菌は、例えば、高温、高圧、放射線、またはエチレンオキサイドなどの化学薬品と別々にまたは組み合わせて、1種類以上の滅菌剤に暴露することにより達成することができる。SCDカートリッジは、好ましくは、包装後に、例えば、適切な容器に気密封入された後、滅菌される（即ち、カートリッジは最後に滅菌される）。滅菌プロセスは、好ましくは $10^{-3}$ 以下の滅菌保証レベル（SAL）を達成する；即ち、滅菌プロセス後に所定の任意の装置が滅菌状態になっていない確率は $10^3$ 中1以下である。より好ましくは、滅菌プロセスは $10^{-4}$ 以下、 $10^{-5}$ 以下、または $10^{-6}$ 以下のSALを達成する。

20

#### 【0083】

### 2. システム構成

治療の適応症に応じて、様々な異なる流体回路にSCDカートリッジを使用することが理解される。例えば、米国特許出願公開第2009/0060890A1号明細書を参照されたい。

#### 【0084】

幾つかの実施形態では、SCDカートリッジを組み込む流体回路は、任意選択により他の血液処置を行うこともできる。例えば、流体回路は、任意選択により、血液がSCDカートリッジに入る前または入った後、血液を濾過、酸素化、加温、または他に処置することができる追加の装置をさらに備えることができる。さらに、SCDカートリッジおよび／またはシステム内の追加の装置は、他の方法でまたは相補的に血液を処置するための2つ以上の構成要素、例えば、多孔質フィルタ、酸素ポンプ、および／または異種移植細胞もしくは同種移植細胞（例えば、異種移植腎細胞または同種移植腎細胞、例えば、尿細管細胞）を含むことができる。特定の実施形態では、SCDカートリッジは、このような追加の構成要素を含まない。例えば、SCDカートリッジは、異種移植細胞または同種移植細胞（例えば、異種移植腎細胞または同種移植腎細胞）などの細胞を含まなくてもよい。これらの基本原理については、より詳細に後述する。

30

40

#### 【0085】

流体回路は、選択的サイトフェレーシスを達成するように構成されている。基本的形態では、本システムは、SCDカートリッジ、血液を血液供給源（例えば、患者などの対象）からSCDカートリッジに流動させるための流体接続、および処置された血液をSCDカートリッジからレセプタクルに流動させる（例えば、対象に戻す）ための流体接続を備える。SCDカートリッジは、細胞、例えば、活性化白血球などの白血球を分離し、白血球からの炎症誘発性物質の放出の抑制を促進するおよび／または白血球を不活性化する役割を果たす。白血球の分離は、前述のSCDカートリッジを使用して達成することができる。白血球からの炎症誘発性物質の放出の抑制および／または白血球の不活性化は、下記のセクション3に記載のいずれかの方法で達成することができる。

50

## 【0086】

白血球は、対象の体内で患者の原疾患の結果として、または他の種類の医学的介入に続発して、例えば、血液濾過器（例えば、後述するもの、図2Cおよび2Dを参照）を通過中に、活性化されることがある。活性化白血球は、その後、SCDカートリッジに入り、活性化白血球は其中で分離される。図2Dの回路の場合、任意選択により生成される限外濾過濾液の体積に等しい置換液を対象に提供する。

## 【0087】

換言すれば、SCDカートリッジでは、血液からの活性化白血球は、例えば、カートリッジの内側の1つ以上の表面に一時的に接着することにより分離される。白血球の分離は、様々な方法で、例えば、白血球、例えば、活性化白血球と結合するカートリッジ内の通路または通路領域にある分子と結合させることにより、または、白血球にかかる剪断応力が低くなり、白血球がSCDカートリッジの内側の1つ以上の表面と結合できるように装置内の血流量を設定することにより達成することができる。次いで、これらの分離された白血球を薬剤、例えば、シトレートに暴露して、白血球を不活性化するまたはそれらの炎症誘発性物質の放出を抑制する。また、カートリッジを使用して、血小板などの他の種類の細胞を分離および不活性化することもできる。

## 【0088】

カルシウムキレート剤、例えば、シトレートによりカートリッジ内が低 $Ca_i$ 環境となるため、白血球からの炎症誘発性物質の放出が抑制されるおよび/または白血球が不活性化されると考えられる。炎症誘発性物質としては、破壊酵素および/または白血球からのサイトカインを挙げることができる。この抑制および/または不活性化により、白血球の炎症状態が改善される。このようにして、SCDカートリッジは、白血球、例えば、好中球および単球を分離し、例えば、シトレートおよび/または低 $Ca_i$ 環境で、白血球からの炎症誘発性物質の放出を抑制するおよび/または白血球を不活性化する。血小板の分離ならびに抑制および/または不活性化も同様に達成することができる。

## 【0089】

白血球を分離する中空繊維を収容するハウジングを備える本発明の装置にカルシウムキレート剤、例えば、シトレートを添加すると、対象の生得的免疫系が改善されるという意外な結果が得られることが分かった。従って、本発明のSCDカートリッジは、白血球（例えば、活性化白血球）または血小板（例えば、活性化血小板）を含む対象の血液を直接処置することにより、様々な炎症症状（原疾患状態としての炎症症状、または医学的介入の結果としての炎症症状）を治療または予防できると考えられる。処置後、血液は対象に戻される。

## 【0090】

## 2. A. 単一装置システム

前述のように、システムは、システム内に追加の処置装置を含むことなく、選択的サイトフェレーシス、および任意選択により他の血液処置を達成するためのSCDカートリッジを含むことができる（図2A~2B参照）。一実施形態では、このようなSCDカートリッジを図1Aに概略的に示す。動作中、白血球および/または血小板はSCDカートリッジ内で、例えば、中空繊維の外面で分離され、白血球からの炎症誘発性物質の放出を抑制できるおよび/または白血球を不活性化できる薬剤、例えば、シトレートに暴露される。薬剤は、流体入口114の上流でラインに注入されてもよく、またはポートを通してSCD自体に注入されてもよい。その代わりに、またはそれに加えて、SCDカートリッジの使用前に、SCDカートリッジに薬剤を仕込んでおくこともできる。白血球が結合できるほど繊維の表面の剪断力が小さくなる（前述の範囲）ように、ECS内の流量は前述の範囲で選択される。このようにして、白血球および/または血小板の抑制および/または不活性化が達成または開始される。次いで、ECS内の血液は、流体出口118を通してSCDから出て、流出ラインに入る。

## 【0091】

図2Aは、例示的流体回路の図1Aの例示的SCDカートリッジ100を示す。対象か

らの体液、例えば、血液は、ポンプ 204 により血液ラインに入り、そのラインを通過して移動する。同じ血液ラインのポート 206 に、白血球抑制剤（例えば、シトレート）を、任意選択によりポンプで注入することができる。その後、血液ライン内の血液は入口 114 に入り、SCD カートリッジ 100 の出口 118 から出る。入口 114 および出口 118 の血液ラインはそれぞれ、固定機構 256 を有する血液ラインコネクタを使用して取り付けられている。白血球は、単一の中空繊維として示されている、ECS 112 内の固体支持体の外面 120 で分離された状態で示されている。出口 118 からの血液流出ラインで血液を対象に戻す。対象に返血されるように血液を調製するために、カルシウム（例えば、塩化カルシウムまたはグルコン酸カルシウム）などの別の薬剤をこの血液流出ラインのポート 258 に注入することができる。特定の実施形態では、ICS は、血液の処置をさらに助けるために、各繊維の ICS 122 のライニング上に単層で培養された、異種移植細胞または同種移植細胞、例えば、尿細管細胞を含むことができる。しかし、他の実施形態では、ICS は細胞を含まない。図 2 A の回路の一実施形態では、SCD カートリッジ 100 の管腔 122 に生理食塩水を充填することができる。

10

20

30

40

50

#### 【0092】

図 2 B の回路は図 2 A と同じ構成要素を備え、同様に動作するが、但し、図 2 B は限外濾過濾液を生成する SCD カートリッジ 100 を使用する。SCD カートリッジ 100 は、中空繊維である複数の多孔質膜を収容する。ICS 122 は繊維内の管腔空間であり、ECS 112 は固体支持体 120（中空繊維として示されている）の外側にあり且つ SCD カートリッジハウジング 110 内にある周囲空間である。体液、例えば、白血球を含有する血液は入口 114 に入り、中空繊維を包囲する ECS 112 の中に移動し、出口 118 から出る。白血球の分離ならびに抑制および / または不活性化は、前述のように達成することができる。しかし、この SCD では、ICS 入口だけに端部キャップ 130 が被着されている。ICS 出口 128 にはキャップが被着されていない。従って、多孔質中空繊維の特性（例えば、透過性および細孔径）に応じて、ECS 112 内の血液の一部は、中空繊維を透過し、ICS 112 の中に限外濾過濾液（UF）として入ることができる。チューブを ICS 出口 128 に接続して限外濾過濾液（UF）を回収することができ、これを廃棄物として廃棄してもよい。

#### 【0093】

図 1 A の SCD を有する図 2 A ~ 2 B の回路に示す実施形態に関する流量および膜特性は、後述の通りとすることができる。例えば、ECS 流量は、約 100 mL / 分 ~ 約 500 mL / 分であってもよい。限外濾過濾液廃棄物の流量（例えば、図 2 B に示す SCD カートリッジの場合）としては、例えば、約 5 mL / 分 ~ 約 50 mL / 分の流量を挙げることができる。図 2 B の回路の場合、生成される限外濾過濾液廃棄物（waste）と同体積の置換液を、任意選択により対象に添加することができる。

#### 【0094】

2. B. 血液透析または血液濾過システムの一部としての選択的サイトフェレーシス抑制装置

前述のように、幾つかの実施形態では、SCD カートリッジは、血液を処置する他の装置を有するシステムの一部とすることができる。例えば、SCD カートリッジは、システム内に SCD カートリッジとは別個の 1 つ以上の濾過カートリッジを備える血液濾過システム、血液透析システムおよび / または血液透析濾過システムの一部であってもよい。SCD ではないシステムの部品について記載する場合、「血液濾過」という用語は、血液透析、血液透析濾過、血液濾過、および / または血液濃縮を意味することができ、「血液濾過器」は、血液透析、血液透析濾過、血液濾過、および / または血液濃縮の 1 つ以上を行うための装置（例えば、カートリッジ）を含むことができる。血液濾過カートリッジは、体外血液回路内で SCD と並列または直列になるように構成することができ、関連する血液ポンプおよびチューブを使用して、血液を、体外回路を移動させることができる。

#### 【0095】

例えば、図 2 C および図 2 D に示すように、血液は対象から流出し、血液ラインを通



て流れる。血液は、ポンプ 204 により血液ラインを移動する。従来の血液濾過器 260 に入る前に、白血球抑制剤（例えば、シトレート）を同じ血液ラインのポート 206 に、任意選択によりポンプで注入することができる。その後、血液は血液濾過器 260 内にある中空繊維 262 の中を通して流れる。中空繊維 262 を包囲し、血液濾過器 260 のハウジング内にある E C S に透析液を注入して透析を行い、溶質は血液から血液濾過器濾過膜 262（中空繊維）を透過して透析液中に入り「廃棄物」として除去される。透析液は血液に対して向流で流動し、透析液は透析液ポンプ 264 により移動する。さらに、血液からの分子および流体は、膜を貫通する孔径に応じて、限外濾過濾液として血液濾過器濾過膜 262（中空繊維）を透過することができる。

#### 【0096】

図 2 C の例示的システムは、図 1 A の S C D カートリッジ 100 を有する回路を示し、その I C S 入口ポートおよび出口ポートには端部キャップが被着されている。血液は、血液濾過器 260 から出て、S C D カートリッジ 100 の入口 114 に入る。その後、血液は S C D カートリッジで処理されるが、S C D カートリッジは、上記の図 2 A ~ 2 B に関して前述したように、固体支持体 120（中空繊維として示される）で白血球を分離し、白血球からの炎症誘発性物質の放出を抑制するおよび / または白血球を不活性化する。S C D カートリッジ 100 に入る血液ラインと S C D カートリッジ 100 から出る血液ラインは、固定機構 256 を有する接続を使用して取り付けられる。その後、血液は、出口 118 から血液流出ラインを通して対象に戻される。対象に返血されるように血液を調製するために、カルシウムなどの別の薬剤をこの血液流出ラインのポート 258 に注入することができる。特定の実施形態では、S C D の毛細管内空間（I C S）は、血液の処置をさらに助けるために、各繊維の管腔のライニング上に単層で培養された、異種移植細胞または同種移植細胞、例えば、尿細管細胞を含むことができる。しかし、他の実施形態では、I C S は細胞を含まない。図 2 C に示す流体回路の特定の実施形態では、S C D 100 の I C S 122 には生理食塩水が充填され、I C S の端部ポートには端部キャップ 130 および 132 が被着されている。

#### 【0097】

図 2 D の回路は図 2 C と同じ構成要素を備え、同様に動作するが、但し、図 2 D は限外濾過濾液を生成する S C D カートリッジ 100 を使用する（即ち、I C S 出口ポートには端部キャップが被着されていない）。S C D カートリッジ 100 を通る体液（例えば、血液）の流れは、図 2 B に関して前述している。さらに、S C D カートリッジ 100 は、図 2 B に関して前述したように機能する。前述のように、S C D カートリッジ 100 は I C S 入口 126 にだけ端部キャップ 130 が被着されている。I C S 出口 128 には端部キャップが被着されていない。従って、多孔質中空繊維の特性に応じて、E C S 112 内の血液の一部は中空繊維を透過し、I C S 112 の中に限外濾過濾液（U F）として入ることができる。チューブを I C S 出口 128 に接続して限外濾過濾液（U F）を回収することができ、これを廃棄物として廃棄してもよい。

#### 【0098】

理論に拘束されることを望むものではないが、S C D システムのこれらの実施形態（ならびに図 2 A ~ 図 2 D ならびに図 3 A および図 3 B に示すもの）の流動幾何学により、白血球が S C D カートリッジの E C S 内の低剪断力環境に存在する、従って、S C D カートリッジ内の 1 つ以上の内面、例えば、中空繊維と結合することが可能となることが考えられる。逆に、血液濾過カートリッジ（例えば、図 2 C および 2 D の回路内の第 1 の装置 260）の典型的な使用では、中空繊維の小径管腔を通る血流により、（S C D 内の剪断力よりも）剪断力が高くなり、それにより装置内での白血球と中空繊維との結合および白血球の分離が防止される。従って、その逆の動作（即ち、血液は中空繊維の内側ではなく中空繊維の外側を流動する）を支援する従来の流動回路を有する血液濾過装置は、損傷を与える可能性がある活性化された循環白血球を分離する S C D の役割を果たすことができる。これらの分離される白血球を白血球抑制剤（例えば、シトレート）で処置することができる。

10

20

30

40

50

## 【0099】

さらに、分離される白血球の炎症反応を、分離前、分離中、および／または分離後に、低 $Ca_i$ （例えば、シトレートにより引き起こされる）の存在下で抑制および／または不活性化することも考えられる。低 $Ca_i$ 環境で白血球の炎症活性を抑制することができる、または白血球を不活性化することができる。

## 【0100】

特定の実施形態では、血液濾過器260によって生成される透析液を、SCDカートリッジ100のICSにICS入口126を通して導入することができるように、図2Dの回路を変更することができる。ICSは細胞を含まなくてもよいが、このシステムは任意選択によりICS122内に細胞、例えば、尿細管細胞を含むこともできることが理解される。多孔質中空繊維の表面の剪断力が、繊維との結合により白血球を分離できるほど十分小さくなる（前述の範囲となる）ように、血流量は、例えば、約100 mL / 分～約500 mL / 分の血流量となるように選択される。あるいは、体外回路を通る、血液濾過器260内の中空繊維の管腔を通る、およびSCDカートリッジ100のECS112を通る血流量は約120 mL / 分であってもよい。限外濾過液は、本明細書に記載の範囲の流量で、例えば、約50 mL / 分未満、約5 mL / 分～約50 mL / 分、および約10 mL / 分～約20 mL / 分の流量で移動することができる。あるいは、限外濾過液の流量を15 mL / 分に維持することができる。任意選択により、バランス電解液置換液（例えば、炭酸水素塩基を含有する溶液）を、生成される限外濾過液に対して1：1の体積置換で血液ラインに注入することができる。流体（例えば、限外濾過液）と血液（または白血球含有流体）は同じ方向に流動してもまたは反対方向に流動してもよい。

## 【0101】

この実施形態および他の実施形態では、SCDカートリッジを通る血流構成は、典型的な血液濾過カートリッジを通る血流構成と反対である。即ち、血液は、目的の用途では血液濾過カートリッジの中空繊維の内部を流れるのに対して、SCDカートリッジの中空繊維の外側の周囲を流動する。SCDカートリッジを通る、この従来と異なる血流構成により、血液濾過器の中空繊維の管腔内では剪断力が比較的高いのにに対して中空繊維の外側のECS内では剪断力が比較的低くなり得るため、SCDのECS内では白血球の分離が促進される。逆に、血液濾過器の中空繊維の内部を通る血流は、中空繊維の小径の管腔を流れる血液によって生じる高剪断力のため、白血球の分離を妨げる。例えば、血液濾過器の中空繊維の内部を血液が通過すると $1.5 \times 10^7$  ダイン /  $cm^2$  の剪断力が生じ得るが、SCDの特定の実施形態のECSを通る血流で生じる剪断力は10 ダイン /  $cm^2$  となる、または剪断力は約 $10^6$  小さくなる。比較のため、典型的な動脈壁での剪断力は6～40 ダイン /  $cm^2$  であり、典型的な静脈壁での剪断力は1～5 ダイン /  $cm^2$  である。例えば、毛細管壁の剪断力は5 ダイン /  $cm^2$  未満である。

## 【0102】

従って、SCDカートリッジの使用は、白血球を分離するように構成されている通路の領域の表面で、活性化白血球などの白血球を通路領域内でその表面と結合させ、白血球を分離できるほど十分低い剪断力を使用する。例えば、幾つかの実施形態では、白血球を分離するように構成された通路領域の表面では、1000 ダイン /  $cm^2$  未満、または500 ダイン /  $cm^2$  未満、または100 ダイン /  $cm^2$  未満、または80 ダイン /  $cm^2$  未満、または60 ダイン /  $cm^2$  未満、または40 ダイン /  $cm^2$  未満、または20 ダイン /  $cm^2$  未満、または10 ダイン /  $cm^2$  未満、または5 ダイン /  $cm^2$  の剪断力が有用である。これらの剪断力は本明細書に記載のSCD実施形態のいずれにおいても有用となり得ることを理解されたい。血液濾過器とSCDなどの2つの装置を有する特定の実施形態では、血液濾過器内を流動する血液とSCD内を流動する血液との剪断力の差は少なくとも1000 ダイン /  $cm^2$  とすることができる。

## 【0103】

これらの実施形態および他の実施形態では、従来と異なった流動構成（即ち、血液が中空繊維の内側ではなく中空繊維の外側を流動する）により必要な剪断力を得る限り、SC

Dは、急性および慢性血液透析に使用することがFDAにより認可されている従来型のもの（例えば、Model F-80A, Fresenius Medical Care North America, Waltham, MA、米国）から構成することができる。同様に、この実施形態または他の任意の実施形態の体外灌流回路は、標準的な透析動静脈血液チューブを使用することができる。カートリッジおよび血液チューブを、現在慢性透析に使用されている任意の透析液供給ポンプシステム（例えば、Fresenius 2008H）内に配置することができる。

#### 【0104】

1つの例示的システムでは、システムは、対象から導出するチューブ（血液ライン）と、注入器によりチューブに注入されるシトレート溶液のバッグを備える。第1のF-40血液濾過器カートリッジ（Fresenius Medical Care North America, Waltham, MA、米国）は、シトレートが血液ラインに入った後の箇所、血液ラインと接続される。その後、血液ライン内の血液は、カートリッジの内側にある中空繊維の内部（ICS）を端部ポート入口から端部ポート出口まで通って流れ、透析液はこれらの中空繊維の外側且つカートリッジ内（ECS）を1つの側方ポートから第2の側方ポートまで血流に対して向流で流動する。第2の側方ポートから出る透析液/限外濾過液混合物は回収される。血液細胞、血小板、または血漿は実質的にICSからECSに移動せず、白血球は実質的に中空繊維の内部に接着しない。中空繊維は、互いに平行に束状に配置され、各繊維の直径は約240マイクロメートルである。さらに、中空繊維の細孔は、約30オングストロームの分子であるアルブミンが繊維を透過できないほど十分小さく、細孔は繊維全体にわたり概ねこのサイズである。その後、濾過された血液は端部ポート出口から、チューブを通り、SCDカートリッジとして動作するF-80Aをベースにするカートリッジ（Fresenius Medical Care North America, Waltham, MA、米国）の側方ポート入口に進む。血液はF-80AをベースにするカートリッジのECSを通過して流れ、カートリッジの側方ポート出口から出る。F-80Aをベースにするカートリッジ内で生成される限外濾過液はいずれもICSに入り、端部ポートを通過して出る。カートリッジの他方の端部ポートにはキャップが被着されている。血液細胞、血小板、または血漿は実質的にECSからICSに移動せず、白血球は実質的に一定時間中空繊維の外部に接着しない。F-80Aカートリッジから出る血液はチューブに入り、そこで注入器を使用して血液中にカルシウム溶液が注入される。最後に、処理された血液をチューブで対象に戻す。特定の実施形態では、システム内の血流量は500mL/分を超えず、血液は、どの箇所でもシステム内の空気を移動させない。さらに、電解質および白血球数のベッドサイド読み取り値を考慮して、圧送速度および注入速度を手動で変えることができる。i-STAT（登録商標）手持ち型監視装置は、対象から抜き取られた少量の血液からこれらの読み取り値を表示する。

#### 【0105】

このようなシステムを使用するリスクは血液透析治療に伴うリスクと類似しており、それには、例えば、灌流回路の凝固、回路への空気混入、カテーテルまたは血液チューブのキンクまたは外れ、および温度調節不良が含まれることが考えられる。しかし、透析装置および関連する透析血液灌流セットは、治療中に警報システムでこれらの問題を特定し、血餅フィルタおよび気泡トラップを用いて対象への血餅および空気塞栓を軽減するように設計されてきた。これらのポンプシステムおよび血液チューブセットは、この治療適応症に用いることがFDAにより認可されている。

#### 【0106】

前述のように、白血球抑制剤、例えば、シトレートの注入は、SCDに局部的に、局所的に、またはシステム全体に行い得る。この実施形態またはいずれかの実施形態で、シトレートを凝固防止剤として使用することもでき、その場合、システム全体の灌流が有用である。臨床経験から、血液濾過システム内で凝固が起こった場合、それは第1の透析カートリッジ内で開始していることが示唆される。全身ヘパリンまたは局所シトレートなどの

抗凝固プロトコルが現在確立されており、臨床血液透析に日常的に使用されている。

【0107】

2. C. 心肺バイパスシステムの一部としての選択的サイトフェレーシス抑制装置

図3A～図3Bに示すように、手術（例えば、バイパス手術）に続発する炎症症状を治療および/または予防するために、心肺バイパス（CPB）回路内にSCDカートリッジを使用することができる。図3Aおよび図3Bは、例示的CPBシステム中の図1AのSCDカートリッジを示す。CPBは、心臓および肺の左右両側から血液を迂回させるのに使用される。これは、心臓の右側から血液を排出させ、動脈循環を灌流することにより達成される。しかし、全身から肺への側副枝、全身から全身への側副枝、および手術部位出血により血液は心臓の左側に戻るため、CPB中は心臓の左側の特殊な排出機構が必要となる。任意選択により、特殊なポンプおよびチューブ機構により心停止液（cardioplegia）を供給することができる。標準的なCPBシステムは、3つのサブシステムに大まかに分類することができる幾つかの特徴を有する。第1のサブシステムは、酸素を供給し、血液から二酸化炭素を除去する酸素化・換気サブシステムである。第2のサブシステムは温度制御システムである。第3のサブシステムは、インラインモニタおよび安全装置を備える。

10

【0108】

図3Aの実施形態に示すように、血液は、静脈カニューレ300を通して対象から血液ライン310に移動する。血液は血液ライン310を通して流れ、SCD流出ライン330に接続する再循環接合部320を通過する。SCD流出ライン330には、SCD装置100で処置された血液が入っている。血液ライン310内の血液はSCDで処置された血液と混合し、静脈リザーバ350に進み、酸素化装置360に達し、ここで血液は酸素化される。酸素化された血液は、その後、酸素化装置360から流出し、SCD流入ライン380との接合部370に達する。ここで、血液ライン310内の血液の一部は、SCD流入ライン380を通してSCD100に迂回し、SCDカートリッジ100で処置される。SCD流入ライン380を通る血液の流れはポンプ382によって制御される。SCDカートリッジ100は、炎症に関連する細胞、例えば、白血球または血小板を分離・選択するように設計されている。白血球を含有する血液は入口114に入り、中空繊維を包囲するECS112（図1A参照）の中に移動する。白血球は、装置内で、例えば、固体支持体120の流体接触面（図1A参照）（即ち、中空繊維の外表面）で分離される。ポンプ382における流量は、白血球が結合できるほど中空繊維の表面の剪断力が小さくなる（前述の範囲）ように前述の範囲で選択することができる。ECS112（図1A参照）内の血液は出口118を通してSCDから出て、SCD流出ライン330に入る。接合部370で、血液ライン310内の血液の一部はまた、動脈フィルタ/気泡トラップ390に進んだ後、動脈カニューレ395で対象に戻される。

20

30

【0109】

血液に薬剤を添加する必要はないが、一実施形態では、シトレート供給装置335およびシトレートポンプ336でシトレートをSCD流入ライン380内の血液に添加し、カルシウム供給装置345およびカルシウムポンプ346でカルシウムをSCD流出ライン330内の血液に添加する。白血球などの炎症に関連する細胞を抑制するおよび/または不活性化するために、SCDカートリッジ100に流入する血液にシトレート（または本明細書に記載の別の白血球抑制剤）をシトレート供給装置335から添加する。対象に返血されるように血液を調製するために、カルシウムを血液に添加することができる。

40

【0110】

図3Bに示す回路は、例えば、再循環接合部320（図3Aを参照）で回路内に血液を再循環させないという点で、図3Aの回路とは異なる。代わりに、図3Bに示すように、血液は静脈カニューレ300を通して対象から血液ライン310に移動し、そこで、血液は静脈リザーバ350に直接流動し、酸素化装置360に達して、ここで血液は酸素化される。その後、酸素化された血液は酸素化装置360から流出し、SCD流入ライン380との接合部370に達する。ここで、血液ライン310内の血液の一部は、図3Aに関

50

して前述したように、SCD流入ライン380を通してSCDカートリッジ100に迂回し、SCDカートリッジ100で白血球が分離される。SCDカートリッジ100から出る血液はSCD流出ライン330に入り、接合部386で酸素化された血液と混合する。SCDカートリッジからの血液は血液ライン310内の血液と混合した後、血液ライン310内を動脈フィルタ/気泡トラップ390まで進み、その後、動脈カニューレ395で対象に戻される。

#### 【0111】

シトレートをSCD流入ライン380内の血液に添加するためのシトレート供給装置335およびシトレートポンプ336、ならびにカルシウムをSCD流出ライン330内の血液に添加するためのカルシウム供給装置345およびカルシウムポンプ346。図3A 10  
に関して記載したように、シトレートまたは他の任意の白血球抑制剤をシトレート供給装置335から血液に添加し、白血球などの炎症に関連する細胞を抑制するおよび/または不活性化する。対象に返血されるように血液を調製するために、カルシウムを血液に添加することができる。

#### 【0112】

### 2. D. 選択的サイトフェレーシス抑制装置の追加の特徴

幾つかの実施形態では、SCDカートリッジは、特定の障害を治療および/または予防するように構成されている。しかし、特定の障害の治療および/または予防に多くの異なる構成を使用できることが理解される。

#### 【0113】

さらに、SCDカートリッジは、水平方向に配置されてもまたは垂直方向に配置することも、温度制御された環境に置くこともできる。SCDカートリッジ内で最適な細胞機能が確保されるように、細胞を含むSCDカートリッジの温度は好ましくはSCDの動作中ずっと約37 ~ 約38 に維持される。例えば、加温ブランケットを使用してSCDカートリッジを適切な温度に維持してもよいが、これに限定されるものではない。システム中に他の装置を使用する場合、最適な性能が得られるように、異なる温度が必要な場合がある。

#### 【0114】

幾つかの実施形態では、SCDカートリッジおよび/またはSCDカートリッジを組み込む流体回路は、プロセッサ（例えば、コンピュータソフトウェア）により制御される。 30  
このような実施形態では、対象の活性化白血球の濃度の変化を検出し、プロセッサにこのような情報（例えば、白血球濃度および/または炎症性障害の発症リスクの上昇に関する情報）を提供するように装置を構成することができる。幾つかの実施形態では、特定の活性化白血球濃度に達した場合または対象が炎症性障害（例えば、SIRS）を発症する特定のリスクを有すると思われる場合、炎症性障害を発症する可能性を減少させるために対象の血液をSCDで処理する。幾つかの実施形態では、流体回路は、これらの測定値に回答して、SCDで対象の血液を自動的に処理することができる。他の実施形態では、対象の白血球の濃度が高いことまたはリスクが高いことを医療従事者に警告し、医療従事者は治療を開始する。

#### 【0115】

本発明のカートリッジを様々なキットまたはシステムに含むことができることが考えられる。例えば、キットまたはシステムは、本発明のSCDカートリッジ、白血球抑制剤（例えば、シトレートなどのカルシウムキレート剤）、同種移植細胞（例えば、尿細管細胞）、または他の部材を含むことができる。さらに、SCDカートリッジを、対象の体内に濾過装置を埋め込むのに必要な様々な外科用器具と組み合わせてもよい。

#### 【0116】

### 3. 炎症に関連する細胞の抑制および/または不活性化

SCDカートリッジを構成し、本発明の方法を実施すると、対象の血液中の活性化白血球などの白血球からの炎症誘発性物質の放出が抑制されおよび/または白血球が不活性化され、これにより対象の炎症反応が予防されるおよび/または減少する。様々な方法を使 50

用することができる。例えば、幾つかの実施形態では、SCDカートリッジおよびSCDカートリッジの1つ以上を組み込む流体回路は、白血球（例えば、分離される活性化および/または感作白血球）を白血球抑制剤に暴露することにより、白血球からの炎症誘発性物質の放出を抑制するおよび/または白血球を不活性化することができる。白血球抑制剤を、SCDカートリッジの流体接触面、例えば、中空繊維に共有結合または非共有結合により結合させることができる。それに加えて、またはその代わりに、白血球抑制剤をSCDカートリッジまたはSCDカートリッジを組み込む回路に、例えば、膜表面またはその近傍に、白血球の分離前、分離中、または分離後に注入することができる。

#### 【0117】

本発明は、特定のタイプまたは種類の白血球抑制剤に限定されない。白血球抑制剤としては、例えば、抗炎症生物剤、抗炎症小分子、抗炎症薬、抗炎症細胞、および抗炎症膜が挙げられる。幾つかの実施形態では、白血球抑制剤は、活性化白血球の活性を抑制することができる任意の物質または化合物であり、それには非ステロイド系抗炎症薬（NSAID）、抗サイトカイン薬、メシル酸イマチニブ、ソラフェニブ、リンゴ酸スニチニブ、抗ケモカイン薬、免疫抑制剤、セリン白血球抑制剤、酸化窒素、多形核白血球抑制剤因子、分泌白血球抑制剤、およびカルシウムキレート剤が挙げられるが、これらに限定されるものではない。カルシウムキレート剤の例としては、シトレート、ヘキサメタリン酸ナトリウム、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）、トリエチレントラミン、ジエチレントリアミン、o-フェナントロリン、およびシュウ酸等が挙げられるが、これらに限定されるものではない。白血球抑制剤は、白血球または免疫細胞を抑制することが知られている任意のタンパク質またはペプチドであってもよく、それにはアンジオジェニン、MARKS、MANS、補体因子D、ジスルフィドC39-C92含有トリプシンアンジオジェニンフラグメントLHGGSPWPPC<sup>9 2</sup>QYRGLTSPC<sup>3 9</sup>K（配列番号：1）およびその合成類似体が挙げられるが、これらに限定されるものではなく；白血球抑制剤はまた、Tschesche et al. (1994) J. BIOL. CHEM. 269 (48): 30274-80、Horl et al. (1990) PNAS USA 87: 6353-57、Takashi et al. (2006) AM. J. RESP. IRRAT. CELL AND MOLEC. BIOL. 34: 647-652、およびBalke et al. (1995) FEBS LETTERS 371: 300-302により報告された、白血球からの炎症誘発性物質の放出の抑制を促進するおよび/または白血球を不活性化することができるタンパク質、ペプチド、および類似体であってもよい。さらに、白血球抑制剤は、白血球からの炎症誘発性物質の放出を抑制するおよび/または白血球を不活性化することが知られている任意の核酸であってもよい。白血球抑制剤は、溶液の状態であってもまたは凍結乾燥されていてもよい。

#### 【0118】

任意の量または濃度の白血球抑制剤を使用して、白血球からの炎症誘発性物質の放出を抑制するおよび/または白血球を不活性化することができる。白血球抑制剤は、システムの通路、通路領域、装置、装置領域、またはシステム領域に、当該技術分野で公知の任意の方法で導入することができる。例えば、白血球抑制剤をポートに注入することができる。通路に注入される白血球抑制剤の量は、同じ通路内または隣接する通路内で分離される白血球からの炎症誘発性物質の放出を抑制するおよび/または白血球を不活性化するのに十分な量とすることができる。幾つかの実施形態では、白血球抑制剤、例えば、シトレートを、システム、システムの領域、または、他の機能を果たし白血球を分離しない装置を含むシステム内の1つ以上の装置に注入してもよい。より詳細には、白血球抑制剤（例えば、シトレート）を、白血球を分離する通路の上流、白血球を分離する通路の中、または白血球を分離する通路の下流に注入してもよい。あるいは、白血球抑制剤はシステム内の1つ以上の通路、通路領域、装置、またはシステム領域に収容されていてもよい。例えば、白血球抑制剤は、白血球を分離するように構成されている通路内の表面、または別の通路内の表面に、白血球からの炎症誘発性物質の放出を抑制するおよび/または白血球を不活性化するのに十分な量で結合していてもよい。

## 【0119】

白血球からの炎症誘発性物質の放出の抑制および／または白血球の不活性化は、白血球の分離前、分離中、および／または分離後に一時的に行うことができる。さらに、白血球は、分離後に一定時間、抑制または不活性化された状態を維持することができる。特定の実施形態では、白血球を目標濃度の白血球抑制剤に暴露している時または目標濃度の  $Ca_i$  (通常約  $0.20 \text{ mmol/L}$  ~ 約  $0.40 \text{ mmol/L}$ ) に暴露している時に、白血球を抑制または不活性化することができ、 $Ca_i$  はシトレートなどの白血球抑制剤への暴露により生じる。白血球を目標濃度の白血球抑制剤または目標濃度の  $Ca_i$  に暴露させる時間は、白血球を分離する時間より前とすることも、白血球を分離する時間を含むことも、および／または白血球を分離する時間の後とすることもできる。特定の実施形態では、白血球は、白血球抑制剤への暴露後に一定時間、抑制または不活性化され続ける、または抑制または不活性化された状態を維持することができる。

10

## 【0120】

白血球抑制剤への暴露時間は、使用する薬剤、白血球の活性化の程度、炎症誘発性物質の産生の程度、および／または炎症症状が患者の健康を損なった程度に応じて変わり得る。暴露は、例えば、1~59秒間、1~59分間、1~24時間、1~7日間、1週間以上、1か月間以上、または1年間以上とし得る。白血球抑制剤は、システムの動作前または動作中にシステムに投与することができる。特定の実施形態では、システムの動作中に白血球抑制剤を投与し、システムに投与される白血球抑制剤の量を監視する。

20

## 【0121】

幾つかの実施形態では、白血球抑制剤をシステムに(例えば、図2A~図2Dに示すポート206に、または図3Aおよび図3Bに示す供給装置335およびポンプ336から)滴下注入することができる。監視される血液特性に対して滴下注入を調節することができる。例えば、血液中の  $Ca_i$  が特定の濃度に、例えば、約  $0.2$  ~ 約  $0.4 \text{ mmol/L}$  の  $Ca_i$  濃度に維持されるように、シトレートをシステムに滴下注入することができる。生物学的適合性のある任意の種類のシトレート、例えば、0.67%のシトレート三ナトリウムまたは0.5%のシトレート三ナトリウムを使用することができる。例えば、Tolwani et al. (2006) CLIN. J. AM. SOC. NEPHROL. 1:79-87を参照されたい。幾つかの実施形態では、白血球からの炎症誘発性物質の放出を抑制した後および／または白血球を不活性化した後、対象に返血されるように血液を再調節するために、第2の溶液をシステムに(例えば、図2A~図2Dに示すポート258に、または図3Aおよび図3Bに示す供給装置335およびポンプ336から)添加することができる。例えば、カルシウムキレート剤を白血球抑制剤として使用する実施形態では、対象に返血される前に、カルシウムを血液に添加することができる。

30

## 【0122】

一実施形態では、シトレート溶液、例えば、ACD-A (Baxter Fenwal, Chicago IL; 100mL当たりの含有量: デキストロース2.45g、シトレートナトリウム2.2g、シトレート730mg、25 で pH 4.5~5.5) を収容する1000mLのバッグを注入ポンプに取り付けた後、システムの動脈ライン(対象から装置への流出)に(例えば、ポート206に; CPB状態の対象からの流出は静脈ラインと称され、注入は、例えば、供給装置335およびポンプ336から行う)取り付けることができる。陰圧弁を使用してシトレートポンプ機能(血液ポンプの近位の陰圧領域への注入)を促進することができる。シトレート注入の初期速度は、一定、例えば、血流量(単位、mL/分)の約1.5倍(単位、mL/時間)とすることができる(例えば、血流量が約200mL/分の場合、シトレート注入の初期一定速度は約300mL/時間であってもよい)。さらに、濃度約20mg/mLの塩化カルシウム注入剤をシステムの静脈ポート(例えば、図2A~図2Dのポート258)の近傍に添加してもよく; CPB状態における類似の位置を、図3Aおよび図3Bでは供給装置335およびポンプ336として示す)。初期カルシウム注入はシトレート注入速度の10%(例えば、30mL/時間)に設定することができる。 $Ca_i$  を連続的にまたは様々な時間に、例えば、最初の

40

50

8 時間は 2 時間毎に、次の 16 時間は 4 時間毎に、その後は 6 ～ 8 時間毎に監視することができる。必要に応じて監視を増加することができ、システム内の 2 つ以上の位置で、例えば、シトレート注入後、およびカルシウム注入後の位置で監視することができる。

#### 【 0 1 2 3 】

例示的なシトレート滴下注入プロトコルおよび塩化カルシウム滴下注入プロトコルをそれぞれ表 3 および表 4 に示す。この実施形態では、SCD 内での目標  $Ca_i$  範囲は、約 0.20 mmol/L ～ 約 0.40 mmol/L であり、 $Ca_i$  目標濃度はシトレート（例えば、ACD-A シトレート溶液）の注入により達成される。これは動的プロセスであるため、SCD 内での目標  $Ca_i$  範囲を達成するためにシトレートの注入速度を変化させる必要がある場合がある。このようにするためのプロトコルを下記に示し、注入は前述の注入箇所で行う。

10

#### 【 0 1 2 4 】

（表 3）シトレート注入の滴下注入指針

回路イオン化 $Ca^{2+}$ (SCD と患者の間)	ACD-A シトレート溶液(前述の通り)での 注入調節
回路イオン化 $Ca^{2+}$ が 0.20 mmol/L 未満の場合	シトレートの注入速度を 5mL/時間だけ低下させる
回路イオン化 $Ca^{2+}$ が 0.20～0.40 mmol/L (最適範囲)の場合	シトレートの注入速度は変化させない
回路イオン化 $Ca^{2+}$ が 0.41～0.50 mmol/L の場合	シトレートの注入速度を 5mL/時間だけ上昇させる
回路イオン化 $Ca^{2+}$ が 0.50 mmol/L より大きい場合	シトレートの注入速度を 10mL/時間だけ上昇させる

20

#### 【 0 1 2 5 】

（表 4）カルシウム注入の滴下注入指針

患者イオン化 $Ca^{2+}$ (患者の全身から抜き取られた)	$Ca^{2+}$ 注入 (20 mg/mL $CaCl_2$ ) 調節
患者イオン化 $Ca^{2+}$ が 1.45 mmol/L より大きい場合	$CaCl_2$ の注入速度を 10mL/時間だけ低下させる
患者イオン化 $Ca^{2+}$ が 1.45mmol/L (最大許容量)の場合	$CaCl_2$ の注入速度を 5mL/時間だけ低下させる
患者イオン化 $Ca^{2+}$ が 0.9mmol/L (最小許容量)の場合	$CaCl_2$ の注入速度を 5 mL/時間だけ上昇させる
患者イオン化 $Ca^{2+}$ が 0.9 mmol/L 未満の場合	$CaCl_2$ を 10 mg/kg ボーラス投与し、 $CaCl_2$ 注入速度を 10mL/時間だけ上昇させる
既定範囲(好ましい目標濃度)	1.0～1.2 mmol/L

30

#### 【 0 1 2 6 】

本明細書に記載の不活性化方法は血小板にも適用できることを理解されたい。特定の実施形態では、血小板を不活性化するおよび / または血小板からの炎症誘発性物質の放出を抑制するのに使用される薬剤としては、トロンビンを阻害する薬剤、アンチトロンビン II、メグラトラン (meglatran)、ヘルジン (herudin)、プロテイン C および組織因子経路阻害剤が挙げられるが、これらに限定されるものではない。さらに、白血球抑制剤には血小板抑制剤として作用し得るものがある。例えば、シトレート、ヘキサメタリン酸ナトリウム、エチレンジアミン四酢酸 (EDTA)、トリエチレントラミン、ジエチレントリアミン、o-フェナントロリン、およびシュウ酸などのカルシウムキレート剤は、血小板を不活性化することができるおよび / または血小板からの炎症誘発性物質の放出を抑制することができる。

40

#### 【 0 1 2 7 】

#### 4. 適応症

SCD カートリッジ、SCD カートリッジを組み込む回路、および発明の方法は、炎症に伴う多くの症状を治療および / または予防するのに使用することができる。本明細書で

50



使用する場合、「炎症症状」という用語には、生物の免疫細胞が活性化される任意の炎症性疾患、任意の炎症性障害、および／または任意の白血球活性化障害が含まれる。このような症状は、(i)病的後遺症を有する持続性の炎症反応および／または(ii)組織破壊に繋がる白血球、例えば、単核細胞および好中球の浸潤により特徴付けることができる。炎症症状には、対象の体内で発生する炎症性原疾患および／または医療処置に対する反応として発生する炎症性続発症が含まれる。システム、装置、および本発明の方法は、任意の対象の任意の炎症症状を治療することができる。本明細書で使用する場合、「対象」という用語は、特定の診断試験または治療のレシピエントとなり得る、ヒト(例えば、患者)、ヒト以外の哺乳動物、例えば、ヒト以外の霊長類、および他の実験動物、家畜、および伴侶動物等を含むがこれらに限定されるものではない、任意の動物(例えば、哺乳動物)を指す。

10

#### 【0128】

白血球、例えば、好中球は、全身性炎症反応症候群(SIRS)、敗血症、虚血／再灌流障害および急性呼吸窮迫症候群(ARDS)を含む、多くの臨床炎症症状の発症および進行の主因となる。幾つかの異なる様々な型の白血球が存在するが；それらは全て造血幹細胞として知られる骨髓中の多能性細胞から産生され、それに由来する。

#### 【0129】

白血球(Leukocytes)は白血球(white blood cells)とも称され、血液およびリンパ系を含む全身に見出される。顆粒球および無顆粒球を含む、幾つかの異なるタイプの白血球がある。顆粒球は、光学顕微鏡下で観察したとき、細胞質中に染色性の異なる顆粒が存在することを特徴とする白血球である。これらの顆粒は、エンドサイトーシスによって取り込まれた粒子を消化する際に主として作用する膜結合酵素を含有する。顆粒球には好中球、好塩基球、および好酸球の3種類があり、これらはそれらの染色性により命名されている。無顆粒球は、細胞質中に顆粒が存在しないことを特徴とする白血球であり、それにはリンパ球、単球、およびマクロファージが含まれる。

20

#### 【0130】

血小板、即ち栓球も、炎症症状、ならびにホメオスタシスの一因となる。血小板は、活性化されると、凝集して血小板栓子を形成し、それらはサイトカインおよびケモカインを分泌し、白血球を誘引し活性化させる。血小板は身体の循環全体に見出され、巨核球に由来する。

30

#### 【0131】

白血球および血小板の内皮への接着が開始する主因となる分子は、それぞれP-セレクチンおよびフォンウィレブラント因子である。これらの分子は、内皮細胞中の、ワイベル・パラデ小体として知られる同じ顆粒中に見出される。内皮細胞が活性化されると、ワイベル・パラデ小体は細胞膜に移動し、内皮細胞表面でP-セレクチンおよび可溶性フォンウィレブラント因子を露出させる。そしてこれは白血球および血小板の活性および凝集のカスケードを誘導する。

#### 【0132】

従って、システム、装置、および本発明の方法は、対象の体内で発生する炎症性原疾患および／または医療処置(例えば、透析または心肺バイパス)に対する反応として発生する炎症性続発症を含む、任意の炎症症状を治療および／または予防することができる。炎症性疾患および／または障害を含む適用可能な炎症症状の例としては、全身性炎症反応症候群(SIRS)、多発性動脈炎、ウェゲナー肉芽腫症、自己免疫性血管炎、抗好中球細胞質抗体(ANCA)血管炎、体外式膜型人工肺による酸素供給(ECMO)、心肺バイパス症候群、急性呼吸窮迫症候群(ARDS)、急性肺障害(ALI)、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、敗血症、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、炎症性腸疾患、多発性硬化症(MS)、乾癬、同種移植片拒絶反応、喘息、急性腎不全、慢性腎不全(CRF)、末期腎疾患(ESRD)、心腎症候群(CRS)、慢性心不全(CHF)、卒中、心筋梗塞(MI)、肝腎症候群、肝硬変、糖尿病(2型糖尿病)、および、心筋、中枢神経系、肝臓、腎臓、または脾臓への虚血再灌流障害から起こる急性臓器不全が挙げられるが

40

50

、これらに限定されるものではない。

【0133】

その他の炎症症状の例としては、移植（臓器移植、急性移植、異種移植など）または異種移植片もしくは同種移植片（熱傷の治療に採用されるものなど）の拒絶反応；虚血または再灌流障害、例えば、摘出もしくは臓器移植、心筋梗塞または卒中時に発生する虚血または再灌流障害；移植免疫寛容誘導；関節炎（関節リウマチ、乾癬性関節炎または変形性関節症など）；慢性閉塞性肺疾患（COPD）、肺気腫、および気管支炎を含むがこれらに限定されるものではない呼吸器および肺疾患；潰瘍性大腸炎およびクローン病；移植片対宿主病；接触過敏症、遅延型過敏症、およびグルテン過敏性腸症（セリアック病）を含む、T細胞媒介性過敏症疾患；接触皮膚炎（ウルシによるものを含む）；橋本甲状腺炎；シェーグレン症候群；グレーヴス病などの自己免疫性甲状腺機能亢進症；アジソン病（副腎の自己免疫疾患）；自己免疫性多発内分泌腺疾患（自己免疫性多発内分泌腺症候群としても知られる）；自己免疫性脱毛症；悪性貧血；白斑；自己免疫性下垂体機能低下症（hypopituitarism）；ギラン・バレー症候群；他の自己免疫性疾患；糸球体腎炎；血清病；蕁麻疹（urticaria）；呼吸器アレルギー（枯草熱、アレルギー性鼻炎）または皮膚アレルギーなどのアレルギー性疾患；強皮症；菌状息肉症；急性炎症性呼吸器反応（急性呼吸窮迫症候群および虚血／再灌流障害など）；皮膚筋炎；円形脱毛症（alopecia areata）；慢性光線性皮膚炎；湿疹；ベーチェット病；掌蹠膿疱症；壊疽性膿皮症（pyoderma gangrenosum）；セザリー症候群；アトピー性皮膚炎；全身性硬化症；限局性強皮症；外傷、例えば、拳銃、ナイフ、自動車事故、落下、または戦闘などによる外傷；ならびに、自己、同種、または異種細胞置換などの細胞療法が挙げられるが、これらに限定されるものではない。その他の炎症症状については、本明細書の他の箇所に記載されているか、またはさもなければ当該技術分野で公知である。

10

20

【0134】

本発明のシステム、装置、および方法を使用して、エキスピボでの組織および臓器の開発および使用を支援することもできる。例えば、本発明を使用して、移植のための臓器摘出術、組織工学用途、エキスピボでの臓器の作製およびバイオ微小電子機械システム（MEMS）の製造および使用を支援することができる。

30

【0135】

前述の説明に鑑みて、下記に示す非限定的な具体例は説明を目的とするものであって、決して本発明の範囲を限定するものではない。

【実施例】

【0136】

実施例1．動物モデルにおける急性敗血症に伴う炎症の治療

活性化白血球、とりわけ好中球は、敗血症ならびに他の臨床炎症性障害の発症および進行の主因となる。この実施例は、白血球の分離および不活性化に対する異なるSCDカートリッジの効果を評価するインビボ実験について説明する。その結果から、大型動物モデルでは、特定のSCDカートリッジの選択が敗血症の発症および進行に重大な影響を及ぼし得ることが分かる。特に、その結果から、分離面積の大きいSCDカートリッジの方が分離面積の小さいSCDカートリッジよりも、敗血症に伴う合併症の軽減および生存期間の延長における効果が大きいことが分かる。

40

【0137】

(i) 方法および材料

A - 動物モデル

炎症の治療におけるSCDカートリッジの有効性を、十分確立されたブタ急性敗血症性ショックモデルで評価した（例えば、Humes et al. (2003) Crit. CARE MED. 31: 2421 - 2428を参照されたい）。

【0138】

体重30～35 kgのブタを使用した。麻酔の投与および挿管後、ブタに動脈カテーテ

50

ルおよびスワン・ガンツ熱希釈カテーテル（これらを変換器に接続した）を配置して、動脈血圧、心拍出量、および中心静脈圧を監視した。超音波血流プローブを腎動脈に配置して、腎血流量（RBF）を連続的に評価した。

#### 【0139】

敗血症性ショックを誘発するために、ブタに大腸菌（*E. coli*） $30 \times 10^{10}$  細菌/kg体重を腹腔内投与した。ヒトの臨床状態をより適切に再現するために、抗生物質セフリアキソン（*Ceftriaxone*）（100 mg/kg）を細菌注入の15分後に投与した。細菌注入後、最初の1時間、全ての動物を晶質80 mL/kgおよびコロイド80 mL/kgで蘇生した。処置群は全て同一内容の蘇生プロトコルを受けた。動物に昇圧薬または陽性変力薬は投与しなかった。

10

#### 【0140】

##### B - SCDカートリッジを含む体外回路

細菌投与直後に、動物を、図4に示すような、標準的な連続腎置換療法（CRRT）血液濾過器およびSCD装置を含む体外回路に接続した。血液濾過器はFresenius F-40血液濾過カートリッジ（Fresenius AG）であった。特殊な血液ラインコネクタを使用し、SCDカートリッジ（Cytopherx, Inc.）をその側方ポートを介して血液濾過器の血液ポートに接続した。2つのタイプのSCDカートリッジを試験した。第1のタイプのSCDカートリッジ（Fresenius F-40血液濾過カートリッジをベースにする）は、毛細管外空間に面する膜表面積が $1.0 \text{ m}^2$ であり、そのECS充填容積が130 mLであった。第2のタイプのSCDカートリッジ（Fresenius F-80A血液濾過カートリッジをベースにする）は、毛細管外空間に面する膜表面積が $2.5 \text{ m}^2$ であり、そのECS充填容積が250 mLであった。F-40 SCDカートリッジおよびF-80A SCDカートリッジにはそれぞれ、内径200  $\mu\text{m}$ および壁厚40  $\mu\text{m}$ のポリスルホン中空繊維が収容された。SCDでの圧力損失は70～75 mmHgであった。これらの実験にはGambro AK-10またはFresenius 2008H透析ポンプシステムを使用した。体外血流量を100～150 mL/分に調節した。

20

#### 【0141】

バランス電解液置換液（デキストロース5%中、Na 150 mEq/L、Cl 115 mEq/L、 $\text{HCO}_3$  38 mEq/L、Ca 2.5 mEq/L、およびMg 1.6 mEq/L）を、回路から出る正味限外濾過濾液に対して1:1の体積置換ベースで血液ラインに注入した。さらに、150 mL/hの通常生理食塩水での連続量蘇生を採用し、被処置動物の平均動脈圧および心拍出量を維持した。

30

#### 【0142】

対照として、血液濾過器だけを含み、SCD装置を含まない回路で1動物群（ $n = 3$ ）に体外血液灌流を施した。これらの動物は局所シトレート注入も受け、従来シトレート（Con-シトレート）群と称された。第2の動物群もSCD群と同様にシトレートで処置したが、細菌注入は行わなかった。これらの動物は非敗血症性対照（NS-対照）群と称された。

40

#### 【0143】

##### C - 抗凝固プロセス

抗凝固プロセスは、この一連の実験において重要な変数であった。SCD-ヘパリン群（SCD-H、 $n = 12$ ）と称される1動物群は全身ヘパリン化を受け、目標活性化凝固時間（ACT）200～300秒で体外回路の開通性を維持し、毛細管外空間に面する膜表面積が $1.0 \text{ m}^2$ のFresenius F-40カートリッジをベースにするSCDカートリッジで処置された。SCD-シトレート、F-40群（SCD-C、F-40； $n = 13$ ）と称される第2の動物群は、毛細管外空間に面する膜表面積が $1.0 \text{ m}^2$ のカートリッジである、Fresenius F-40をベースにするSCDカートリッジで処置され、局所シトレート抗凝固を受けた（Pinnick, R. V. et al., (1983) N. ENGL. J. MED., 308 (5) : 258 - 261; Lohr, J

50

. W. et al., (1989) AM. J. KIDNEY DIS., 13(2): 104-107; Tobe, S. W. et al. (2003) J. CRIT. CARE, 18(2): 121-129)。さらに、第3の動物群も局所シトレート抗凝固を受け、毛細管外空間に面する膜表面積が $2.5\text{ m}^2$ のFresenius F-80AをベースにするSCDカートリッジ(SCD-C、2.5;  $n=3$ )で処置された。局所シトレート凝固は、血液濾過器の前にシトレートデキストロース-A(ACD-A, Baxter)を全血1000 mL当たりシトレート2.5~5.0 mMの割合で注入することにより達成した。これにより本質的に回路中のiCa濃度が0.2~0.5 mmol/Lに低下した。全身iCa値1.1~1.3 mmol/Lを維持するように、塩化カルシウムを回路の静脈還流に注入した。iSTAT読み取り装置(Abbott Labs)を使用してiCa濃度を監視した。

10

#### 【0144】

D - 全血球計算値、血清化学、および全身炎症パラメータ

全血球計算値および血清化学は、それぞれ、Hemavet自動分析装置(Drew Scientific)およびVET Test分析装置(IDEXX)で測定した。血清ミエロペルオキシダーゼ(MPO)活性は、MPOの強力かつ特異的阻害剤である4-アミノ安息香酸ヒドラジドを含む、o-ジアニシジンアッセイの変法を使用して測定した(Fietz S, et al., (2008) RES. VET. SCI., 84(3): 347-353)。IL-1、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- およびIFN- を含むサイトカイン濃度は、R&D Systems製の市販の酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)キットで測定した。

20

#### 【0145】

E - 白血球活性化の評価

FITC-結合抗ブタCD11b抗体(SeroTec)を予冷した末梢血に添加した。赤血球を溶解し、FACS溶解溶液(Becton-Dickinson)を添加することにより残存する白血球を固定した。遠心分離により細胞を回収し、再懸濁して、フローサイトメトリ分析を行った。CD11b発現をAccuriフローサイトメータで平均蛍光強度(MFI)として定量的に評価した。

#### 【0146】

末梢血単核細胞(PBMC)を静脈血から単離した。単核細胞の単離には、標準的なFicoll-Hypaque勾配法を使用した(Humes et al., (2003) crit. CARE MED. 31: 2421-2428)。次いで、これらの細胞を、 $1\text{ }\mu\text{g/mL}$ のリボ多糖類(LPS)の非存在下または存在下、抗生物質を補ったRPMI-1640培地が入った培養プレート内で24時間インキュベートした。上清を回収し、サイトカイン濃度を測定した。次いで、上清中の刺激サイトカイン濃度対非刺激サイトカイン濃度の比を算出した。

30

#### 【0147】

F - 肺組織学および免疫組織化学

SCD-シトレートまたはSCD-ヘパリン条件で処置した敗血症性ブタから、死後、肺試料を摘出した。5つの肺葉のそれぞれから得た2つの無作為切片を処理し、凍結薄切した。凍結した肺試料を $5\text{ }\mu\text{m}$ の厚さに切断し、4%パラホルムアルデヒドで氷上にて(on ice)10分間固定した。光学顕微鏡検査またはCD11b評価を行うために、組織をヘマトキシリン・エオシン染色し；切片をPBS中のヤギ血清で1時間インキュベートすることにより非特異的吸着を最小限に抑えた。

40

#### 【0148】

CD11b発現の評価を行うために、肺切片を推奨された希釈度の一次抗体である抗CD11b抗体と共に室温で1時間インキュベートした。その後、抗マウスIgG Alexafluor 594コンジュゲート(1:200希釈)と共に室温で30分間インキュベートし、核をDAPIで対比染色した。ImageJソフトウェア(Abramoff, M. D., (2004) Biophotonics International, 11

50

(7) : 36 - 42) を使用して、固定キャプチャ設定 (fixed capture settings) で撮影した無作為の 10 倍の倍率の画像中の CD11b 陽性面積のパーセンテージを定量化した。同じ画像中の DAPI 陽性面積のパーセンテージを求めることにより、細胞数の正規化を達成した。結果を CD11b 陽性面積率対 DAPI 陽性面積率の比として表した。

#### 【0149】

##### G - SCD カートリッジからの細胞溶出

回路を切断する前に、置換液で灌流することにより血液をブタに戻した。その後、灌流液から目に見える血液がなくなるまで、SCD 毛細管外空間 (ECS) を置換液で連続的に洗い流した。置換液を排出した後、カートリッジを固定して組織学的処理を行った (Humes, H. D. et al., (2010) BLOOD PURIFICATION, 29: 183 - 190) またはカルシウムキレート剤を含有する安定化緩衝液と交換した。接着細胞を SCD 溶出液から機械的に除去し、分析した。装置に接着した細胞が全て確実に溶出するように、溶出後、幾つかのカートリッジを DNA 単離緩衝液 (SDS およびプロテイナーゼ K) で消化した。このようにして抽出された DNA は、平均で、カートリッジから溶出した DNA の 5 パーセント未満であった。

10

#### 【0150】

##### H - 統計解析

複数の時点における群間比較には、反復測定 ANOVA を使用した。さもなければ、群間比較には、適宜、対応または独立スチューデント T 検定を使用した。統計学的有意性は  $p < 0.05$  と定義した。

20

#### 【0151】

##### (II) 結果および考察

##### A - 心血管パラメータの観測

ブタ敗血症性ショックモデルを使用して、全身ヘパリンまたは局所シトレート抗凝固と併用した、膜表面積の異なる SCD カートリッジの有効性を評価した。具体的には、1 動物群 (SCD - H) は、全身ヘパリン抗凝固および F - 40 をベースにする SCD カートリッジまたは F - 80A をベースにする SCD カートリッジで処置した。第 2 の動物群は、局所シトレート抗凝固および F - 40 をベースにする SCD カートリッジで処置した (SCD - C、F - 40)。第 3 の動物群は、局所シトレート抗凝固および F - 80A をベースにする SCD カートリッジで処置した (SCD - C、F - 80A)。第 4 の動物群にはシトレートを投与したが SCD 装置は用いなかった (con - シトレート)。

30

#### 【0152】

表 5 および図 5 A に示すように、細菌を腹腔内投与することにより、4 つの動物群全てで、平均動脈圧 (MAP) の急速で著しい低下が誘導された。この低下は徐々に進行し、最終的に致命的になった。

#### 【0153】

##### (表 5) 心血管パラメータ

パラメータ	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
心拍出量, L/分												
SCD-シトレート F-40	4.3±0.3	4.9±0.2	4.7±0.2	4.4±0.3	3.7±0.2	2.7±0.3	2.3±0.2	2.1±0.3	1.7±0.1	1.0±0.3	1.1±0.1	1.1±0.1
SCD-シトレート F-80A	3.9±0.8	5.2±0.6	4.8±0.3	4.5±0.4	4.1±0.5	3.7±0.5	3.1±0.2	2.8±0.2	2.4±0.3	2.1±0.4	1.4±0.2	
SCD-ヘパリン	4.1±0.3	5.2±0.2	4.2±0.3	3.8±0.2	2.6±0.2	1.7±0.2	1.5±0.2	1.3±0.2	1.1			
Con-シトレート	4.5±0.3	4.7±0.5	5.2±1.2	3.6±0.5	3.8±0.5	2.6±0.4	1.5±0.3	1				
収縮期血圧, mmHg												
SCD-シトレート F-40	96.9±5.7	99.9±2.2	94.5±3.2	88.9±4.4	80.3±4.1	69.7±6.5	69.5±7.0	68.0±6.5	55.0±8.7	45.8±5.1	53.5±0.5	36.5±8.5
SCD-シトレート F-80A	118.7±29.2	98.7±9.7	65.7±4.4	70.3±4.1	69.0±5.1	67.0±4.6	59.3±4.5	60.7±8.7	61.7±8.1	51.0±4.5	33.3±7.9	
SCD-ヘパリン	96.6±4.7	104.9±4.8	94.4±6.5	88.0±4.4	76.4±6.3	58.4±4.4	52.4±8.4	41.0±12.1	55			
Con-シトレート	87.3±1.8	103.0±11.4	77.3±4.2	69.0±3.2	74.7±13.7	51.7±4.9	30.0±20.0					
拡張期血圧, mmHg												
SCD-シトレート F-40	60.5±4.6	64.5±2.9	54.0±4.7	45.5±4.4	42.1±4.7	39.7±4.8	39.9±4.8	36.1±3.4	26.3±3.2	26.5±4.7	32.5±4.5	19.5±2.5
SCD-シトレート F-80A	89.3±25.9	70.0±6.1	40.3±6.6	40.0±1.0	39.3±1.2	36.7±1.2	29.0±0.6	30.3±1.8	27.3±1.9	25.0±2.9	17.0±3.5	
SCD-ヘパリン	61.4±3.3	75.6±4.5	61.7±6.6	48.3±3.4	38.6±3.6	27.6±3.4	26.1±5.1	24.0±7.3	36.5			
Con-シトレート	53.3±2.0	71.7±6.3	50.3±4.5	42.7±1.5	48.3±12.9	31.0±2.1	20.0±10.0					
平均動脈圧, mmHg												
SCD-シトレート F-40	72.2±4.8	75.8±2.6	67.2±4.1	59.9±4.2	54.8±3.9	47.1±6.4	49.5±4.5	46.5±3.7	35.7±4.9	34.3±5.3	28.4±10.1	23.3±2.7
SCD-シトレート F-80A	99.1±27	79.6±7.3	48.8±5.8	50.1±1.5	49.2±2.5	46.8±2.1	39.1±1.6	40.4±3.9	38.8±3.9	33.7±3.3	22.4±4.9	
SCD-ヘパリン	72.0±3.3	86.1±4.4	72.6±6.5	60.6±3.1	50.3±4.4	36.5±3.6	34.3±6.3	26.8±8.6	42.7±0.3			
Con-シトレート	64.7±1.7	82.1±8.0	59.3±4.1	51.4±1.1	44.5±0.5	37.9±2.9	23.3±13.3					
全身血管抵抗, dyn·s/cm <sup>5</sup>												

10

20

30

40

パラメータ	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
SCD-シトレート F-40	1288±119	1119±61	1027±73	994±72	1101±64	1414±111	1601±143	1767±204	1701±179	2170±183	2856±722	1776±336
SCD-シトレート F-80A	1881±152	1073±23	710±143	784±59	874±114	926±131	884±59	1028±139	1134±186	1088±87	971	
SCD-ヘパリン	1371±137	1250±120	1268±110	1200±58	1412±75	1567±140	1552±242	1918±533				
Con-シトレート	1034±111	1149±94	1067±72	976±96	1174±103	1375±343	1274					
肺血管抵抗, dyn·s/cm <sup>5</sup>												
SCD-シトレート F-40	141±17	180±25	255±33	321±47	393±78	573±118	632±97	859±145	935±131	948±343	1602±242	1067±133
SCD-シトレート F-80A	164±13	228±83	207±86	281±63	317±55	377±55	475±61	543±54	634±49	694±58	552	
SCD-ヘパリン	268±102	287±51	384±46	525±58	763±76	1293±243	1024±198	1121±291	1504			
Con-シトレート	147±18	122±17	404±177	602±83	525±151	982±248	1199±14					
肺毛細管楔入圧, mmHg												
SCD-シトレート F-40	7.8±0.7	8.5±0.9	8.3±1.0	7.0±1.1	7.2±1.1	7.2±1.1	5.9±0.9	5.9±0.8	4.9±1.0	6.8±2.1	5.0±2.6	3.5
SCD-シトレート F-80A	8.3±0.9	11.3±2.4	10.7±3.7	7.3±1.2	6.3±0.9	5.7±0.9	6.0±0.6	6.3±0.7	6.3±0.7	6.0±0.6	12.0±5.5	
SCD-ヘパリン	7.0±0.8	8.5±1.2	7.2±0.8	6.6±0.7	7.3±1.4	6.3±1.0	5.7±1.0	6.8±1.0	5.5			
Con-シトレート	7.7±1.2	10.7±0.9	9.0±1.5	7.3±1.3	6.3±0.3	6.3±0.3	8.5±1.5					
腎動脈血流量, mL/分												
SCD-シトレート F-40	197.4±16.9	183.7±12.8	193.4±25.5	173.2±23.4	125.1±18.2	79.9±18.0	69.3±17.9	48.5±14.7	37.1±11.8	37.0±13.9	47.5±12.5	13.5±8.5
SCD-シトレート F-80A	152.0±15.5	141.0±2.3	170.7±31.5	173.3±33.5	153.0±23.9	131.3±26.9	103.0±23.5	83.0±13.1	67.3±8.2	49.7±9.2	30.5±24.5	
SCD-ヘパリン	207.0±22.8	155.2±15.7	152.0±21.7	148.5±18.8	111.8±21.4	53.4±13.6	37.6±13.8	45.8±20.1	24			
Con-シトレート	200.3±19.5	157.3±38.1	184.3±63.0	183.0±48.3	138.0±17.7	69.0±24.0	19.0±19.0					
腎血管抵抗, mmHg/分/mL												
SCD-シトレート F-40	0.39±0.03	.037±0.6	0.37±0.05	0.48±0.07	1.05±0.29	1.37±0.44	2.18±0.63	1.93±0.72	1.05±0.31	0.82±0.37	2.38±1.56	

10

20

30

40

パラメータ	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
SCD-シトレート F-80A	0.67±0.27	0.49±0.06	0.25±0.05	0.28±0.07	0.30±0.05	0.35±0.08	0.44±0.09	0.50±0.08	0.59±0.07	1.69±1.14		
SCD-ヘパリン	0.39±0.08	0.58±0.08	0.55±0.11	0.41±0.04	0.63±0.20	0.77±0.16	1.30±0.37	0.78±0.23	1.64±0.30			
Con-シトレート	0.30±0.02	0.52±0.12	0.33±0.08	0.26±0.05	0.28±0.04	0.67±0.31	0.75					

10

20

30

40

50

## 【 0 1 5 4 】

心拍出量 (CO) も評価した。図 5 B に示すように、SCD - C 群の方が、CO が有意に高かった ( $p < 0.02$ )。肺毛細管楔入圧は 3 群全てで類似していたため、CO がこのように高かったのは、左室充満圧の差によるものではなかった。むしろ、SCD - C 群で CO が高かったのは、全身血管抵抗 (SVR;  $p < 0.03$ ; 図 5 C) および肺血管抵抗 (PVR;  $p < 0.001$ ; 図 5 D) のレベルが比較的 low だったことと関連した。特に



、SCD-C、F-80A群は、一貫して心拍出量 (cardiac out) が最も改善されており、また他の群と比較してSVR、PVR、および腎血管抵抗が低かった (図5E)。

#### 【0155】

細菌敗血症によって誘発される全身性毛細血管外漏出の定量的尺度として、ヘマトクリット (HCT) の変化を評価した。図5Fに示すように、SCD-H群の方がHCT増加率が高く、血管内コンパートメントからの容積損失率が大きいことを反映している。比較して、SCD-C群では6時間後にHCTレベルがプラトーに達した。特に、SCD-C、F-80A群は、細菌活性化全身性毛細血管外漏出を最もよく防止した。

#### 【0156】

腎パラメータも評価した。図6に示すように、SCD-C群は、BUN濃度 ( $p < 0.02$ ) および血清クレアチニン濃度 ( $p = 0.007$ ) が比較的低いことに反映されるように、SCD-H群と比較してずっと優れた腎機能を示した。SCD-C、F-80A群ではSCD-H群と比較して腎血流量 (RBF) もずっとよく維持された ( $p < 0.05$ )。さらに、SCD-C、F-80A群もずっと高い尿量を示した ( $p < 0.05$ )。

#### 【0157】

SCD-C群で観測される心血管パラメータと腎パラメータの改善は、生存時間の延長に繋がった。図7に示すように、SCD-H動物の生存時間が  $6.4 \pm 0.3$  時間であったのに対して、シトレートで処置された動物は  $8.8 \pm 0.4$  時間生存した ( $p = 0.0002$ )。特に、SCD-C、F-80A群は、図8に示すように、生存時間が最も長かった ( $11.5$ 、 $10$ 、および  $9.5$  時間)。

#### 【0158】

SCD装置とシトレートの組み合わせで処置した動物だけが心血管パラメータおよび臓器機能の改善を示した。単一の血液濾過器カートリッジとシトレート抗凝固を用いたが、SCD装置は用いずに処置したCon-シトレート動物群は、SCD-H群と類似の心血管パラメータを示し、平均生存時間  $6.5 \pm 0.5$  時間であった。従って、生存に関する利点を得るには、SCDカートリッジとシトレート抗凝固プロトコルの両方が必要であった。さらに、分離のための表面積は、敗血症に関する合併症の軽減に対しておよび感染後生存時間の延長に重大な影響を及ぼし得ることが分かった。

#### 【0159】

B-白血球の分離および活性化の観測

活性化白血球のSCD膜に沿った分離を評価するために、ブタ敗血症試験の終わりにSCDカートリッジを処理して、組織学的評価を行った。図9に示す光学顕微鏡検査の結果から、白血球がSCD膜の外面に沿って付着し、凝集することが明らかになった。接着白血球の量とタイプを調べるために、処置時間の終わりに装置を処理し、細胞を膜から溶出した。SCD-HカートリッジおよびSCD-C、F-40カートリッジから溶出した白血球 (WBC) の数はそれぞれ  $6.44 \pm 3.4 \times 10^8$  および  $1.72 \pm 1.20 \times 10^8$  細胞 (図10A) ( $p < 0.05$ ) であり、シトレート抗凝固により接着白血球数が減少することが分かった。さらに、溶出した細胞の分画は、SCD-H群では好中球  $79 \pm 5\%$  および単球  $21 \pm 4\%$  であったのに対し、SCD-C、F-40群では好中球  $55 \pm 4\%$  および単球  $30 \pm 5\%$  であった (図10B)。驚くべきことに、平均  $1.88 \pm 1.21 \times 10^7$  細胞がSCD-C、F-80A群のカートリッジから溶出した (図10A) が、それはSCD-C、F-40群からの平均溶出細胞数より約10倍少なかった。従って、F-80Aの膜表面積の方がかなり大きいため白血球の保持が高かった可能性があるが、白血球の不活性化におけるSCDカートリッジの効率のため、処置の終わりまでに白血球の保持が劇的に低下したと見受けられる。平均  $8 \times 10^6$  個の細胞が非敗血症性対照動物のカートリッジから溶出したが ( $n = 2$ )、SCD-H群およびSCD-C群のカートリッジで分離された細胞の大部分は活性化白血球であることが示唆された。SCD-C群では、管腔血液灌流でカートリッジの管腔から溶出した細胞は  $2 \times 10^4$  個未満であった。

10

20

30

40

50

## 【0160】

S C Dカートリッジとシトレート抗凝固の併用が全身循環中の好中球の活性に影響を及ぼし得るかどうかを明らかにするために、好中球活性化のバイオマーカーを評価した。活性化好中球は、微生物の侵入または組織傷害に応答して様々な酵素を放出する。好中球顆粒から放出される主な酵素はミエロペルオキシダーゼ(M P O)(K l e b a n o f f, S . J ., e t a l ., (2005) L E U K O C . B I O L . 77(5):598-625)であるため、血中M P O濃度は、好中球の活性化レベルを反映する。図11Aに示すように、S C D - C群の血漿M P O濃度はS C D - H群と比較して有意に低く、活性化好中球の濃度が低いことを反映した。さらに、S C D - C、F - 80A群は、最も低いM P O濃度を示した。循環好中球でのC D 11b発現量を測定することにより全身循環好中球の活性化も評価した。C D 11bは、炎症部位における活性化した内皮への白血球の接着に關与する膜タンパク質である(F a n, S . T ., e t a l ., (1993) J . I M M U N O L ., 150(7):2972-2980)。図11Bに示すように、循環好中球でのC D 11b発現量は、S C D - C群では、S C D - H群と比較して劇的に少なく( $p = 0.03$ )、好中球の活性化レベルが低いことが分かった。

10

## 【0161】

S C Dカートリッジと局所シトレート凝固の免疫調節効果をさらに評価するために、全身サイトカイン濃度を評価した。I L - 1、I L - 6、I L - 8、I L - 10、T N F - およびI F N - を含む様々なサイトカインの血清中濃度は、S C D - H群とS C D - C群では有意差はなかったが、炎症誘発性サイトカインI L - 1 およびI L - 8は、S C D - H群の方が僅かに高いように見受けられた。S C D装置は単球も分離するため、P B M Cを単離し、サイトカインの放出を評価した。敗血症誘発前は、L P Sに応答したP B M CによるT N F - およびI L - 8の放出は、S C D - H群ではそれぞれ $2.1 \pm 1.8$ および $6.5 \pm 2.8$  p g /  $10^6$ 細胞であり；S C D - C群では、放出はそれぞれ $5.1 \pm 0.9$ および $18.7 \pm 8.1$  p g /  $10^6$ 細胞であった。敗血症の6時間後に、L P Sに反応したP B M CによるT N F - およびI L - 8の放出は、S C D - C群ではS C D - H群と比較して有意に低かった( $p < 0.05$ ) (図12Aおよび図12B)。これらの結果から、S C D - C群では敗血症性状態での全炎症誘発性サイトカインプロファイルが抑制されることが分かった。ここでも、膜表面積 $2.5 \text{ m}^2$ のS C D装置が最大の免疫調節性効果を有するように見受けられた。

20

30

## 【0162】

以前の研究で、肺は、内毒素血症または敗血症後の活性化白血球の捕捉および浸潤の標的となる第1の臓器であることが報告された(W e l b o u r n, C . R . e t a l ., (1992), B R . J . S U R G ., 79(10):998-1003; A n d o n e g u i, G ., e t a l ., (2009), J . C L I N . I N V E S T ., 119(7):1921-1930)。従って、肺組織における活性化白血球の捕捉に対するS C D装置とシトレート抗凝固の効果を評価した。図13に示すように、S C D - C群ではS C D - H群と比較して、肺におけるC D 11b標識細胞の有意な減少が認められた。さらに、組織形態学的分析から、S C D - C群およびS C D - H群におけるC D 11b陽性面積率対D A P I陽性面積率の比は、それぞれ、 $0.114 \pm 0.21$ 対 $0.334 \pm 0.052$  ( $p = 0.007$ )である(図14)ことが分かった。これらの結果から総合的に、S C D装置およびシトレートで処置された動物では、肺における活性化白血球の捕捉が減少することが分かった。

40

## 【0163】

白血球(W B C)動態はまた、S C D装置が感染に対する白血球の反応に影響を及ぼし得る方法に対する洞察も提供し得る。S C D - H群およびS C D - C群における白血球の循環プールの動態を明らかにするために、W B C絶対数および好中球数を測定した(図15)。S C D - H群とS C D - C、F - 40群は両方とも、敗血症誘発の3時間後に、それぞれ $1125 \pm 240$ および $1094 \pm 166$ 好中球 /  $\text{mm}^3$ の最下点に達した。これらの群は、血液塗抹標本の手動検査で測定した場合、敗血症誘発の3時間後に開始する骨

50

髄からの未熟好中球の増加のため、絶対好中球減少症（好中球数500未満と定義される）には至らなかった。特に、SCD-C、F-80A群は一貫して低い好中球数を示し、6時間の時点で $457 \pm 77$ の最下点に達した。これは、骨髓からの未熟好中球の放出が著しく減少したためであり、表面積が比較的大きいSCD装置は骨髓からの未熟好中球放出の動態を変化させる機能をし得ることが示唆された。Con-シトレートF-40群は、SCD-H F-40群と類似の白血球数の減少および回復を有したが、NS-対照動物は、好中球増加症を有する傾向があり、8時間の評価時間にわたり好中球数が約4,000から14,000に上昇した。

#### 【0164】

敗血症状態では活性化好中球の寿命が長くなり、アポトーシスが遅延した。SCD-C群から単離された循環白血球および接着白血球のアポトーシス能を評価した。図16に示すように、SCD-C、F-80A群の方が、SCD-C、F-40群と比較して、アポトーシス循環好中球数が多く、膜表面積が比較的大きいこのSCD装置は循環好中球の活性化状態を低下させることが示唆された。他方、SCD-C、F-80A群の方が、アポトーシスSCDカートリッジ接着好中球が少なく、このSCD装置が活性化好中球を選択的に分離し、従って循環プールからそれらを除去することが示唆された。

#### 【0165】

総合的に、上記の結果から、ブタ敗血症性ショックモデルでの心血管不安定性の改善、腎機能障害の減少、および生存時間の改善におけるSCD装置とシトレートの併用の有効性が実証された。より重要なことには、これらの結果から、分離面積が比較的大きいSCDカートリッジの方が敗血症に伴う合併症の軽減に、より有効であることが分かった。

#### 【0166】

実施例2．インビトロにおける白血球の分離および不活性化の試験

この実施例は、白血球の分離および活性化に対するSCD装置の効果を評価するためのインビトロ実験について説明する。

#### 【0167】

(I) 方法および材料

A - インビトロにおける白血球とSCDカートリッジの膜との相互作用の評価

白血球とSCD膜との相互作用を顕微鏡分析できるように、特注の顕微鏡フローチャンバシステムを設置した。フローチャンバは、灌流用の入口と出口とを有するポリカーボネートハウジングからなった。ポリスルホン膜をポリカーボネートブロックにガasketで固定し、それにより剪断流を方向付けた。ガasketの厚さ(100 $\mu$ m)ならびに流路の長さ(2cm)および幅(1.5mm)によりフローチャンバの容積が決定された。顕微鏡画像法は、ポリカーボネートブロックの底部にカバーガラスを固定してなる光学窓を通して達成された。この試験には、単離された血液または精製された白血球を使用した。

#### 【0168】

単離される血液は、過剰な取扱いにより活性化され易い。従って、フローチャンバ試験の前は、新鮮ヘパリン化ブタ血液5mLの操作を最小限にした。簡潔に言えば、50 $\mu$ g/mLのHoechst 33342染色試薬を使用して白血球を蛍光標識した。さらに、1 $\mu$ g/mLのリポ多糖類(LPS)を血液試料に直接添加することにより白血球を活性化させた。同様に、i-stat EG-7+カートリッジで顕微鏡流動分析を行う前に、抗凝固薬シトレートデキストロース溶液USP(ACD)処方A(Anticoagulant Citrate Dextrose Solution USP(ACD) Formula A)(Baxter)125 $\mu$ Lを単離された血液5mLに添加し、イオン化カルシウム濃度を測定した。血液は20 $\mu$ L/分の流量でフローチャンバを通過し、算出した剪断力は1~10ダイン/cm<sup>2</sup>であった。単離された血液試料それぞれについて、結果をトリプリケートで得た。

#### 【0169】

細胞捕捉事象の顕微鏡分析は、環境温度およびCO<sub>2</sub>含有量を制御するために顕微鏡ステージトッピンキュベータを備えたZeiss Axiovert 200MまたはA

xio - Observer 落射蛍光顕微鏡を使用して達成した。Zeiss MRm3 またはIcc1カメラを用い、白血球/膜相互作用の分析には1フレーム/秒の周波数で5分間、長期白血球付着の分析には1フレーム/分で1時間のシーケンスで蛍光画像を取得した。白血球ロリーリング、白血球の付着および脱離のコマ送り評価を行い、これらの現象の総数および持続時間を測定した。付着事象は、1シーケンス内の複数のフレームについて白血球が同じ位置に表れた場合と定義された。脱離は、前述の付着した白血球に関連する解放事象と定義された。ローリング事象は、1シーケンス内の複数のシーケンスフレーム中にある、全く同じ位置にはないが以前の位置の近傍にある同一の白血球を特定することにより定義された。

#### 【0170】

##### B - インビトロにおける白血球活性化の評価

ヘパリン化ヒト全血を、リポ多糖類(LPS)(10  $\mu$ g/mL)またはホルミル-メチオニル-ロイシル-フェニルアラニン(fMLF、50 nM)と共にまたはなしでチューブに添加した。シトレート抗凝固は、シトレートデキストロース溶液(ACD)をチューブに添加することにより達成された(Damsgaard, C. T., (2009) J. IMMUNOL. METHODS, 340(2): 95-101; Wutzler, S., (2009) J. TRAUMA, 66(5): 1273-1280)。R&D Systems製の市販のELISAキットを使用してIL-6、IL-8、またはIL-10の放出を測定した。エラスターゼの放出はBender Med Systems製の市販のELISAキットを使用して測定した。ラクトフェリンの放出は、EMD Chemicals製の市販のELISAキットを使用して測定した。iCa濃度は、I-STAT読み取り装置を使用して測定され、シトレート処置または非処置試料中では、それぞれ0.25 mMおよび1.25 mMであることが確認された。試料を様々な時間、37

および5%CO<sub>2</sub>でインキュベートした。CD11b活性化は、FITC-結合マウス抗ヒト抗体(AbD Serotech)を使用して測定し、Accuri C6フローサイトメータで評価した。

#### 【0171】

##### (II) 結果および考察

##### A - 白血球パラメータの観測

白血球とSCDポリスルホン膜との相互作用を評価するために、ビデオ顕微鏡を備えた特注のフローチャンバを設置した。シトレートの添加により、血中iCa濃度は1.32  $\pm$  0.05 mmol/Lから0.32  $\pm$  0.05 mmol/Lに低下した。白血球付着事象の分析から、シトレートの非存在下にてLPSで白血球を活性化すると、剪断流時のポリスルホン膜への白血球の付着が有意に増加する(p < 0.05、図17)ことが確認された。シトレート処置、低イオン化カルシウムフローチャンバでは、白血球付着の統計学的に有意な減少が認められ(p < 0.05)、ポリスルホン膜への白血球の接着はイオン化カルシウムに依存し得ることが示唆された。これらの結果は、シトレート処置膜カートリッジの方が試験の終わりの接着白血球が少なかった前述のブタ敗血症モデルでのエキスピボデータと一致した。さらに、1時間のシーケンスの予備分析から、LPSおよびシトレート処置血液では、LPSだけで処置された血液と比較して、持続的白血球接着事象がずっと少ないことが分かった。しかし、LPSおよびシトレート処置血液では、ローリング事象の増加が認められた。これは、シトレートの存在下で白血球がポリスルホン膜と相互作用するとき、キャッチ・アンド・リリース現象が起こることを示唆した。

#### 【0172】

シトレートにより促進される血中iCa減少が白血球活性に及ぼす効果を評価するために、実験を行った。具体的には、インビトロ全血アッセイシステムを使用して(Damsgaard, C. T., (2009) J. IMMUNOL. METHODS, 340(2): 95-101; Wutzler, S., (2009) J. TRAUMA, 66(5): 1273-1280)、白血球サイトカイン産生(IL-6、IL-8、IL-10)および好中球エキソサイトーシス小胞からの予備形成された炎症性タンパク質(ラクトフ

エリン、エラスターゼ)の放出に対する血中 i C a 濃度低下の効果を評価した。結果を表 6 に要約する。

【 0 1 7 3 】

( 表 6 ) 白血球活性化パラメータに対するシトレートの効果

ベースライン	IL-6 (ng/mL) n = 7	IL-8 (ng/mL) n = 5	IL-10 (ng/mL) n = 4	ラクトフェリン (mg/mL) n = 4	エラスターゼ (mg/mL) n = 5	CD11b (MFI x 10 <sup>3</sup> ) n = 3
ヘパリン	0.18 ± 0.04	0.0 ± 0	0.11 ± 0.07	8.47 ± 1.54	2.73 ± 0.29	22.55 ± 1.06
シトレート	0.38 ± 0.15	0.59 ± 1.51	0.01 ± 0.01	1.67 ± 0.29*	0.94 ± 0.14§	7.32 ± 0.47§
刺激 (LPS, fMLF)						
ヘパリン	65.42 ± 19.77	34.18 ± 6.66	3.74 ± 0.94	12.42 ± 1.08	4.52 ± 0.54	53.43 ± 3.12
シトレート	28.99 ± 7.60*	3.45 ± 2.30†	2.06 ± 0.84†	3.43 ± 0.18§	0.91 ± 0.28**	28.72 ± 2.95§

10

ヘパリン群とシトレート群間における対応 t 検定で判定した場合、\* p < 0 . 0 5 ; † p < 0 . 0 2 ; \*\* p < 0 . 0 0 5 ; § p < 0 . 0 0 2

【 0 1 7 4 】

表 4 に示すように、シトレートで i C a を低下させるとサイトカイン ( I L - 6 、 I L - 8 、 I L - 1 0 ) および好中球開口分泌タンパク質の放出が抑制され、低 i C a 環境により白血球の不活性化が促進されることが示唆された。

【 0 1 7 5 】

実施例 3 . 心肺バイパス手術中の S C D 装置の使用

20

心肺バイパス ( C P B ) 手術に伴って全身性炎症反応症候群 ( S I R S ) が起こり、その結果、多臓器機能障害 ( M O D ) が生じることがある。活性化好中球は、この過程の主要な刺激因子となることが示されてきた。この実施例は、C P B 手術中に使用される S C D カートリッジの効果を評価するインビトロおよびインビボ実験について説明する。その結果から、S C D カートリッジの使用により、C P B 手術中の全身白血球反応が阻害され、その結果、C P B 媒介 M O D を改善できることが分かる。

【 0 1 7 6 】

( I ) 背景

白血球、とりわけ好中球は、全身性炎症反応症候群 ( S I R S ) 、敗血症、虚血 / 再灌流障害、急性呼吸窮迫症候群 ( A R D S ) および急性腎障害 ( A K I ) を含む多くの臨床炎症性障害の発症および進行の主因となる。心臓外科の進歩は、心肺バイパス ( C P B ) の技術に依存してきた。C P B に伴って全身性炎症反応が起こり、その結果、手術後に多臓器機能障害 ( M O D ) が生じることが分かった。血液成分の人工膜活性化 ( 膜型人工肺 ) 、外科的外傷、臓器への虚血 - 再灌流障害、体温の変化、心臓切開吸引による血液活性化、およびエンドトキシンの放出を含む C P B 中の複数の傷害により、この炎症反応が開始し、拡大することが分かった。これらの傷害は、白血球の活性化、サイトカインの放出、補体活性化、およびフリーラジカルの生成を含む複雑な炎症反応を促進する。この複雑な炎症過程は、急性肺障害、急性腎障害、出血性障害、肝機能の変調、神経機能障害、および最終的に M O D の発症の一因となることが多い。

30

【 0 1 7 7 】

C P B 後の M O D の原因となる機構は多数あり、相互に関連し、複雑であるが、C P B 誘発体外循環後症候群での A R D S の発症における循環血液白血球、とりわけ好中球の活性化における重要な役割を示唆する証拠が相次いでいる。分離され、活性化された好中球は肺組織に移動し、その結果、組織傷害および臓器機能障害が起こる。活性化白血球および微小血管機能障害の重要性も、急性腎障害に重要であることが分かった。

40

【 0 1 7 8 】

この点に関して、C P B 中の体外血液回路における白血球除去フィルタの使用が開発され、前臨床動物モデルおよび臨床試験で評価された。フィルタはインビトロで白血球を除去するが、インビボでは白血球濃度を一貫して減少させるようには見受けられない。論文の大部分は循環白血球の有意な減少を報告しておらず、展望研究でも同様の結果が導き出

50

された。「フィルタ消耗」、即ち、C P B 中の白血球減少効率の漸進的な低下が認められることが実験評価中に繰り返し観察された。

#### 【0179】

本発明は、選択的サイトフェレーシス装置 (S C D) と称される生体模倣膜および局所シトレート抗凝固を使用して、急性炎症に罹っている動物および患者の活性化白血球の減少を促進する。初期前臨床結果および臨床結果から、装置は、S I R S の M O D 効果を改善し、集中治療室 (I C U) の患者の多臓器不全の死亡率に影響を及ぼすことが示唆される。本明細書に記載の結果から、S C D によりインビトロとインビボの両方で好中球の循環濃度が減少し、好中球活性化のマーカーが減少することが分かる。

#### 【0180】

##### (I I) 方法および材料

##### A - 選択的サイトフェレーシス装置 (S C D)

試験した S C D は、内径 200  $\mu\text{m}$ 、壁厚 40  $\mu\text{m}$ 、および分子量カットオフ 40 ~ 50 k D a の多孔質ポリスルホン中空繊維を収容するポリカーボネートハウジングであった。血流は毛細管外空間 (E C S) に向けられた。使用した S C D は、それぞれ、外側膜表面積 (S A) 2.2  $\text{m}^2$  および 2.6  $\text{m}^2$ 、ならびに表面積 / 内容積 (S A / I V) 比 486  $\text{cm}^{-1}$  および 508  $\text{cm}^{-1}$  であった。S C D は C y t o P h e r x , I n c . (A n n A r b o r , M I) によって供給された。

#### 【0181】

##### B - インビトロ血液回路試験

2つの白血球減少膜システム、即ち、P a l l L e u k o g a r d L G B (A n n A r b o r , M I) と S C D 装置を一連の 10 の対試験 (10 p a i r e d s t u d i e s) で比較するために、インビトロ血液回路試験を開始した。新鮮なヘパリン化ウシ血液 (5 - 6 L) を、90,000 I U ヘパリンナトリウム (C l i p p e r D i s t r i b u t i n g L L C , S a i n t J o s e p h , M O) と共に 7 L シリコンドレーンバッグ (B B r a u n M e d i c a l I n c . B e t h l e h e m , P A) に回収し、2つの同一のドレーンバッグに均一に分割して、それらを2つの別々の血液回路用のリザーバとして使用し、それぞれ各装置の試験に供した。インビトロ血液回路は、F D A 認可 T y g o n ライン (C o l e - P a r m e r , V e r n o n H i l l s , I L) を使用した。灌流中に装置の前後で、T 型熱電対で温度を、4 チャネル 90 X L (M e s a L a b s , L a k e w o o d , C O) で圧力測定値を監視するように回路を設置した。加熱挙動を同一にするために、血液リザーバを両方とも同じ水浴 (34.5 ) 中で加熱し、手持ち型 I R - 高温計を使用して、各被験装置内の内部温度 (約 31 ) を測定した。両方の回路で蠕動血液ポンプ (F r e s e n i u s 2008 H , W a l n u t C r e e k , C A) により 300 mL / 分の一定の流量を維持した。

#### 【0182】

前述のように総白血球、好中球、および血小板を測定するために、ならびに他のアッセイのために 15 分毎に血液試料を得た。血漿ミエロペルオキシダーゼ (M P O) および遊離ヘモグロビン (H g b) の分析では、血液試料をすぐに冷却し、細胞を含まないように遠心分離した。血漿ヘモグロビン濃度は、3, 3', 5, 5', テトラメチルベンジジン (T M B) を用いた比色アッセイを使用して化学的に測定し、M P O は E L I S A で測定した。実験の終わりに回路を切断し、流体から目に見える血液がなくなるまで、S C D の毛細管外空間 (E C S) に通常生理食塩水を連続的に流して洗浄した後、前述のように S C D を溶出して接着細胞を定量化した。類似のプロセスを行って L G B フィルタも溶出した。

#### 【0183】

##### C - インビボ心肺バイパスモデル

ウィスコンシン牛 (W i s c o n s i n c a l v e s) (100 ~ 110 k g) にアトロピン (0.04 mg / k g)、および筋肉内 (I M) 注射により投与されるケタミン (25 mg / k g) を前投与した後、チオペンタール 5  $\mu\text{g}$  / k g で麻酔した。気管内チ

10

20

30

40

50

ューブ ( Mallinckrodt Company, Mexico City, Mexico ) を挿管した後、従量式換気装置で換気を確立した。チオペンタール  $5 \text{ mg/kg}$  / 時間およびフェentanil  $20 \mu\text{g/kg}$  / 時間を連続注入することにより麻酔を維持した。パンクロニウム  $0.2 \text{ mg/kg}$  で筋肉弛緩を誘導した後、 $0.1 \text{ mg/kg}$  を間欠的に再注射した。外頸静脈ならびに大腿動脈および静脈にポリエチレン監視ラインを配置した。胸骨正中切開術を行った。 $16 \sim 20 \text{ mm}$  の Transonic 血管周囲血流プローブ ( perivascular flow probe ) を主肺動脈に配置し、Millar マイクロチップ圧力変換器 ( microtip pressure transducers ) を肺動脈および左心房に配置した。心肺バイパスの開始前に、心拍出量を算出するためにベースライン肺動脈圧および流量ならびに左動脈圧を読み取った。全身ヘパリン化 (  $300 \text{ U/kg}$  ) の後、18F Medtronic DLP 動脈カニューレを左頸動脈に配置し、24F Medtronic DLP 一段静脈カニューレを右心房に配置した。

10

20

30

40

50

#### 【0184】

CPB 回路は、乳酸加リンゲル液  $1,000 \text{ mL}$  および  $\text{NaHCO}_3$   $25 \text{ mEq}$  でブライミングを行った。回路は、Sarns ローラー式血液ポンプ、一体型熱交換器を有する Medtronic Affinity 中空繊維酸素供給装置、および心臓切開術リザーバからなつた。粒子状破片を捕捉するために、Medtronic Affinity  $38 - \mu\text{m}$  フィルタを動脈分枝 ( arterial limb ) に配置した。12 - Gam Medtronic 標準大動脈基部カニューレを使用して左心室のベントを行い、ベントラインを Sarns ローラー式ポンプおよび心臓切開術リザーバに接続した。心肺バイパスを開始し、換気を中断し、全身灌流を  $2.4 \text{ L/分/m}^2$  体表面積に維持した。中等度の灌流低体温 (  $32^\circ\text{C}$  直腸温度 ) を使用し、流量の調節および静脈内フェニレフリン注入 (  $0 \sim 2 \mu\text{g/kg/分}$  ) により平均大動脈圧を  $60 \sim 80 \text{ mmHg}$  に維持した。上行大動脈を遮断した。CPB を  $255$  分間維持した。

#### 【0185】

SCD を備えていない CPB 回路、SCD を備えた CPB 回路、および SCD を備えた CPB 回路と SCD 回路に沿ってのみ低イオン化カルシウム (  $\text{iCa}$  ) 血液環境を提供するシトレート / カルシウム局所灌流との併用の 3 つの動物群を評価した。AK12 血液ポンプシステム ( Gambro ) で SCD 回路血流量を  $200 \text{ mL/分}$  に制御した。シトレート / カルシウム注入は、前述のような、十分開発されたシトレート局所抗凝固の臨床プロトコルに基づいた。

#### 【0186】

インビトロ血液回路試験と同様に、全ての試料採取時間に関して、全身血液を使用して CBC を評価した。SCD または LGB を  $T = 225$  分で規定通り取り外し、取り外して  $15$  分後に最終血液試料を採取し、治療後の動態を評価した。Unopette システム ( BD Biosciences ) を使用して手動総白血球数を測定し、エタノール固定およびライト染色 ( Richard - Allen Scientific ) を行った後、手動分画 ( manual differentials ) を血液塗抹標本から測定した。各試験後、SCD または LGB を使用した場合、前述のように接着細胞を溶出し、定量化した。

#### 【0187】

##### D - 統計解析

$p < 0.05$  の統計学的有意性で、全ての試験について分散分析 ( ANOVA ) を行った。

#### 【0188】

##### ( III ) 結果および考察

##### A - インビトロ血液回路試験

血液の温度は、試験中ずっと SCD 回路と LGB 回路では類似しており、それぞれ平均  $31.1 \pm 0.4$  および  $31.1 \pm 0.3$  であった。SCD の前後での装置の圧力プ

ロファイルは  $92.0 \pm 49.1$  および  $29.2 \pm 16.2$  mmHg、圧力損失は  $2.9 \pm 39.8$  であり、LGBの前後では、 $98.8 \pm 71.5$  および  $40.1 \pm 17.1$ 、圧力損失は  $31.3 \pm 3.9$  mmHgであった。圧力の変動は回路内の血液のヘマトクリットの差と関係があり、平均  $31.1 \pm 3.9\%$ であった。

#### 【0189】

LGB回路の総白血球数は、最初の15分間以内に50%超減少し、実験の終わりまで定常状態を維持した。この減少は、大部分、循環好中球が80%超減少した結果である。SCD回路は実験中に総白血球および好中球の減少かなりの減少を示したが、比較的少なく、好中球数の減少は40%~60%であった。各装置からの白血球数分画を評価した。単球および好酸球の濃度も低下したが、循環血液中でのパーセンテージが低かったため、正確な定量化は困難であった。血小板数のかなりの減少が認められ、SCDおよびLGBは特に、15分の時点で80%超の相対的血小板減少を示した。しかし、どちらの場合も血小板数は、実験開始前に計数した血小板数の約50%に等しいレベルまで回復した。

10

#### 【0190】

##### B - インビトロ血液回路装置溶出

LGBおよびSCDから溶出した総細胞数を計数した。LGBからはSCDと比較して2倍もの細胞が回収された。各装置から回収された閉鎖循環ループ中の好中球、単球、および好酸球のパーセンテージを算出した。各装置から回収した各白血球集団の総数を各実験の開始前に血液中に存在した各白血球集団の総数で除した。10SCDおよび10LGBについて好中球、単球、および好酸球の平均 $\pm$ SEMを示す。どちらの白血球フィルタでも、好中球がおおよそ2対1の割合で単球より多かったが、好酸球の数およびパーセンテージは様々で、ずっと少なかった。LGBからはSCDと比較して、より多くの好中球および単球が除去された。

20

#### 【0191】

各実験の終了時に血液中に残存する総細胞数を装置から溶出した細胞数に加え、実験の開始時に血液試料中に存在した細胞数と比較した。これらの数の差は「総細胞数の変化」として報告され、4時間の循環実験中に破壊された細胞数を最もよく示することができる。LGBを採用する回路では、SCDの場合と比較して細胞が有意に多くはなかった ( $P < 0.05$ )。データは10の対実験の平均 $\pm$ SEMとして表す。

30

#### 【0192】

##### C - インビトロ血液回路血液生体適合性

SCD ( $N = 8$ ) および LGB ( $N = 10$ ) に関して、好中球放出ミエロペルオキシダーゼ (MPO) 活性のアッセイを  $\mu\text{g} / \text{mL}$  の単位で平均 $\pm$ SEMとして行った。LGBではSCDと比較して血漿MPO活性が有意に高く、回路開始後の最初の試料採取時間にピークがあり ( $7.45 \pm 3.02 \mu\text{g} / \text{mL}$ )、残りの実験中、高い状態が継続した ( $p < 0.05$ )。SCD回路のMPO値は常時  $0.4 \mu\text{g} / \text{mL}$  未満を維持した。LGB ( $N = 10$ ) および SCD ( $N = 8$ ) に関して、溶血の尺度である血漿中の遊離ヘモグロビン (Hgb) も、 $\mu\text{g} / \text{mL}$  の単位で平均 $\pm$ SEMとして評価し、回路開始後の最初の試料採取時間にピークがあり ( $0.06 \pm 0.04 \text{mg} / \text{mL}$ )、ずっと高濃度であった。SCD回路の遊離ヘモグロビン値は、常時  $0.005 \text{mg} / \text{mL}$  未満を維持した。

40

#### 【0193】

##### D - インビボ仔ウシCPBモデル

インビボウシCPB試験に関して全身白血球 (WBC) 数を評価した。CPB SCDなし対照群では、WBCは、90分後にはベースラインレベルの数を上回って増加し、ピークに達するとベースラインWBCの2倍近くになった。装置処置群では、WBC数はCPBの最初の1時間で減少した。SCDヘパリン処置群では、この最初の減少の後、WBCは60分後、CPB中ずっと徐々に増加し、15分後に最終測定を行うためにSCDを取り外した ( $t = 225$  分で規定通り) 後、急に上昇した。従来の動脈ラインフィルタではなくLGBを回路に配置した場合も類似の結果が観測された (データは示していない)。SCDシトレート群では、WBCはCPB中ずっと低く、SCDを取り外した後でも低

50



かった。

【0194】

S C Dを用いない心肺バイパス (C P B) 手術中の好中球集団の定量化は、全身濃度の約5倍の上昇を示した。C P B中、全身ヘパリン凝固だけを行ったS C D処置では、最初の120分間、全身性好中球濃度が劇的に減少したが、その後、S C Dを取り外す (t = 225分で規定通り) まで一定して上昇し、S C Dを取り外して15分後にはさらに大きく増加した。C P B中にS C Dと局所シトレートを用いると、全身性好中球濃度はS C D前の濃度より約75%低くなり、これはC P B中ずっと持続し、S C Dを取り外して15分後、低い状態を維持した。

【0195】

S C D療法の終了時に、S C Dを十分に洗浄し、結合した白血球を溶出し、計数した。それぞれ局所シトレートまたは全身ヘパリンを採用するS C Dから、平均して $8 \times 10^7$ および $1.63 \times 10^9$ の白血球を溶出した。溶出した細胞は、局所シトレートの使用とは無関係に顆粒細胞系統であり、その構成は平均して好中球約80%、単球20%および好酸球の量は様々で、通常<2%であり、インビトロ血液回路試験で報告された分画と類似していた。手動計数による未熟好中球の定量化で得られた予備的結果から、240分のC P Bの終わりの時点でS C D - シトレート群では数が少ない (1  $\mu$  L当たり230.0、n = 2) 傾向があるが、S C D - ヘパリン群 (1  $\mu$  L当たり1630、6300、1390、n = 3)、S C Dなし群 (1  $\mu$  L当たり160、2660、n = 2) およびL G B (1  $\mu$  L当たり1760、3880、n = 2) 群では全て未熟好中球の量が多いことが分かる。

【0196】

E - 考察

C P BはS I R Sを促進し、その結果、M O Dが起こることが多い。この炎症性障害は多因子過程から生じるが、循環白血球活性化が中心的役割を果たすものと仮定される。前臨床試験と臨床試験の両方でC P B中の白血球減少を目的とした治療介入を評価した。結果は、循環白血球数の減少およびM O Dへの進行の軽減に関して一致しなかった。

【0197】

31 ~ 34.5 および同等の血流量300 ml / 分での循環ヘパリン化血液回路における白血球減少を評価するために、インビトロ試験回路を開発した。血液回路に組み込まれると、L G BとS C Dは両方とも循環白血球数および好中球数の有意な減少を促し、L G B群の方がS C Dと比較してW B C数を減少させる効果が大きかった。L G B群ではS C D群と比較してこのように白血球数が減少したが、それは、装置での分離の程度 (溶出した細胞) が比較的高かったことと、白血球の破壊の程度 (物質収支による) が比較的高かったことの両方による。血液中の細胞成分の破壊は、L G BではS C Dと比較して遊離ヘモグロビン濃度およびM P O濃度が高いことに反映された。最初の15分以内で80%を超えて減少した後、試験前の血小板濃度の50%まで回復するという血小板動態は、回路構成要素に血小板が結合する急速な初期段階に続いて、その後放出が起こることを示唆している。

【0198】

循環白血球数を減少させるS C Dの影響をさらに評価するために、ウシモデルを使用するC P Bを試験した。S C Dなしで行ったC P Bは、C P B灌流の最初の60分でW B C数が少し減少したが統計学的に有意ではなく、それは、おそらく灌流回路の人工膜および血液チューブに沿った非特異的付着によるものであったと思われる。60分後、開始値に対して、W B C数は2倍増加し、好中球は5倍まで増加した。全身ヘパリン化を使用する回路にS C Dを配置した場合、白血球の減少が2時間達成されたが、後の時点およびS C Dを取り外した後には好中球が大きく増加した。S C D灌流回路にシトレートを局所的に灌流し、イオン化カルシウムを0.25 ~ 0.40 mMに低下させた場合、白血球および好中球数は、C P B中ずっと、S C Dを取り外して15分後の最終測定を行うためにS C Dを取り外した (t = 225分で規定通り) 後も、低い状態を維持した。

## 【 0 1 9 9 】

これらのウシ試験におけるWBCおよび好中球動態も、SCD処置がCPBに対する白血球の反応に影響を及ぼし得る方法に洞察を与える。SCDで分離された好中球の数は約 $10^8$ 細胞であり、それは循環プールおよび辺縁プールの少数である。しかし、CPBの全身性傷害に応答した骨髄および辺縁貯蔵からの好中球放出の程度は、SCDにより、とりわけ局所シトレート注入と併用した場合、鈍化し、SCD-C処置により、好中球アポトーシスおよび/または辺縁プールまたは骨髄プールからの好中球の動員に必要なシグナルの動態が変化し得ることが示唆された。さらに、シトレート注入中にSCDから溶出する白血球の数はヘパリン条件の場合より10倍少なく、比較的低い血中白血球濃度が維持されたという試験結果から、低iCa環境により、活性化白血球の接着が促進され、それに続いて、一定時間分離および不活性化された後、放出され得ることが示唆される。この「キャッチ・アンド・リリース」現象の動態は、インビトロ剪断チャンバを使用する発表されたおよび進行中の試験により裏付けられる。これらのインビトロおよびエキスピボ試験から、本発明のSCD装置は、全身性白血球反応を鈍化することによりSIRSの自然進行を改善することができ、それにより心血管安定性、呼吸機能および腎機能が改善されることが示唆される。この試験は、CPBにより促進される白血球反応を改善し、MODへの進行を低下させる予防的治療法を実証する。本明細書に記載のインビトロおよびエキスピボデータは、CPB用のSCDの安全性および有効性を実証する。

10

## 【 0 2 0 0 】

実施例4．対象の炎症症状の治療に使用される例示的SCDカートリッジ

20

本発明のSCDカートリッジの有効性を実証するために、様々な炎症症状を有する対象（例えば、ブタ動物モデルまたはヒト対象）を下記の表7に記載のSCD装置で前述のプロトコルを使用して処置し、心血管および/または腎パラメータを改善することができる。

## 【 0 2 0 1 】

（表7）例示的SCDカートリッジ

装置	ECS SA ( $m^2$ )	ECS SA ( $cm^2$ )	ECS充填( $cm^3$ )	SA/V ( $cm^{-1}$ )
1	0.98	9800	130	75
2	2.5	25000	250	100
3	1.25	12500	125	100
4	2.5	25000	125	200
5	2.5	25000	109	230
6	2.5	25000	94	267
7	5	50000	93	536
8	5	50000	125	400
9	6.7	67000	125	537
10	10	100000	125	800

30

40

## 【 0 2 0 2 】

本発明のSCDカートリッジを、炎症症状を有する小型の対象（例えば、小児患者）の治療用に改造することもできる。表8は、このような用途に有用となり得る様々なSCDカートリッジを示す。

## 【 0 2 0 3 】

（表8）例示的SCDカートリッジ

装置	ECS SA ( $\text{m}^2$ )	ECS SA ( $\text{cm}^2$ )	ECS 充填 ( $\text{cm}^3$ )	SA/V ( $\text{cm}^{-1}$ )
1 - 1.5 cmケース; 200 $\mu\text{m}$ 繊維	0.17	1700	9	185
2 - 1.5 cmケース; 100 $\mu\text{m}$ 繊維	0.35	3500	9	392
3 - 1.5 cmケース; 75 $\mu\text{m}$ 繊維	0.47	4700	9	530
4 - 1.5 cmケース; 50 $\mu\text{m}$ 繊維	0.70	7000	9	784
5 - 2.5 cmケース; 200 $\mu\text{m}$ 繊維	0.49	4900	25	199
6 - 2.5 cmケース; 100 $\mu\text{m}$ 繊維	0.98	9800	25	399
7 - 2.5 cmケース; 75 $\mu\text{m}$ 繊維	1.30	13000	25	526
8 - 2.5 cmケース; 50 $\mu\text{m}$ 繊維	1.96	19600	25	797

10

## 【 0 2 0 4 】

参照による援用

本明細書で参照する出版物および特許文献のそれぞれの全開示内容は、各個々の出版物または特許文献がそのように個々に示されるのと同程度に、参照によりその内容全体があらゆる目的で援用される。

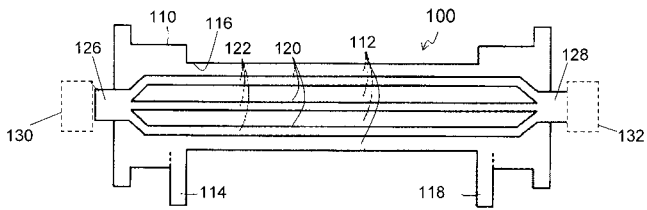
## 【 0 2 0 5 】

均等物

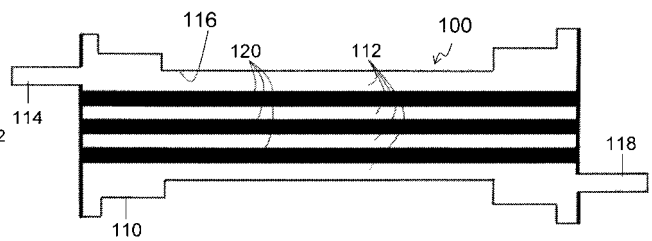
本発明は、本発明の精神または本質的特徴から逸脱することなく、他の具体的形態でも実施することができる。従って、前述の実施形態は、あらゆる点で、説明を目的とするものであって、本明細書に記載の本発明を限定するものではないものと見なされるべきである。従って、本発明の範囲は、前述の説明ではなく添付の特許請求の範囲によって示され、特許請求の範囲の意味および均等の範囲に入る全ての変更形態はそれに包含されるものとする。

20

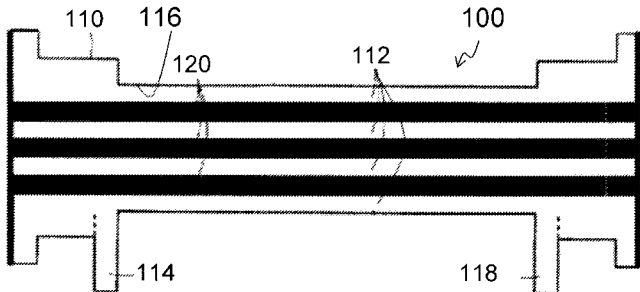
【図 1 A】



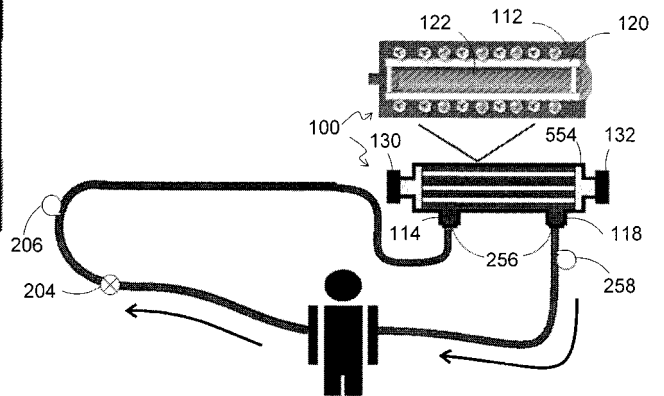
【図 1 D】



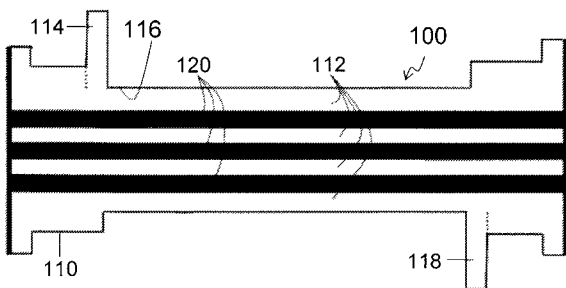
【図 1 B】



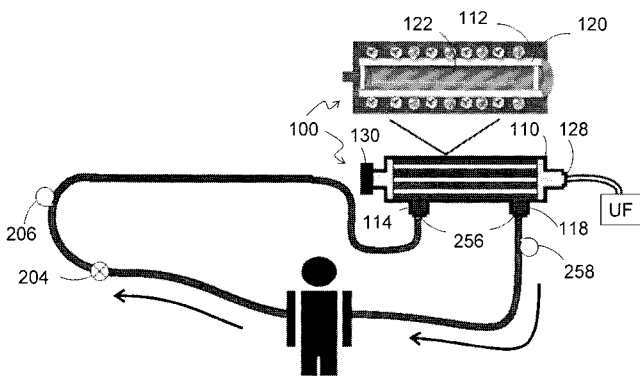
【図 2 A】



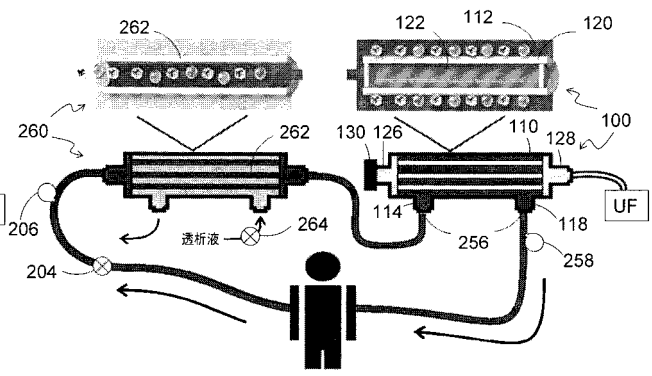
【図 1 C】



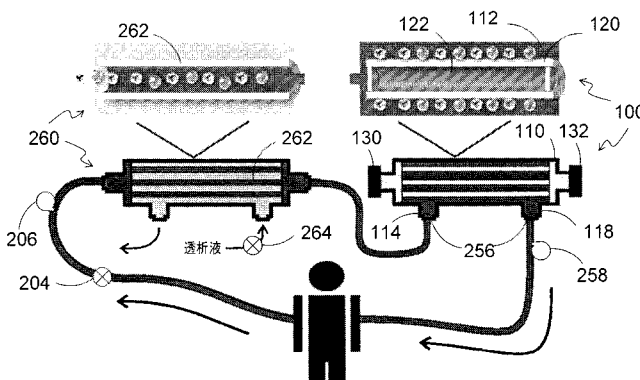
【図 2 B】



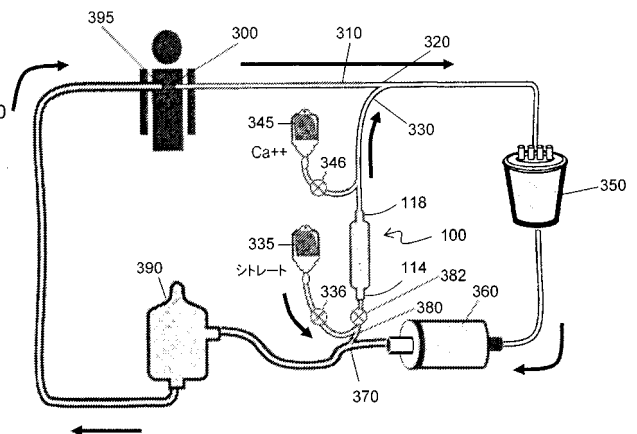
【図 2 D】



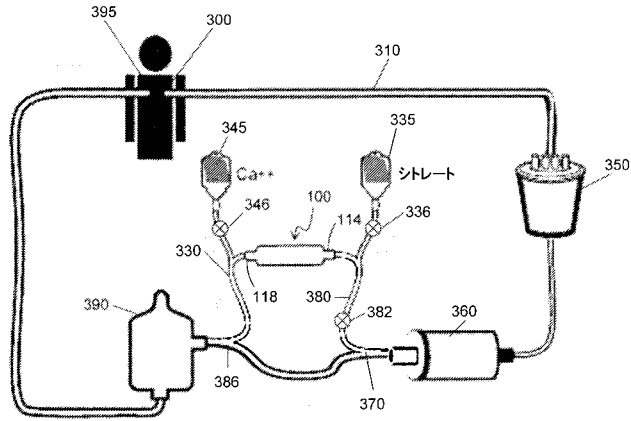
【図 2 C】



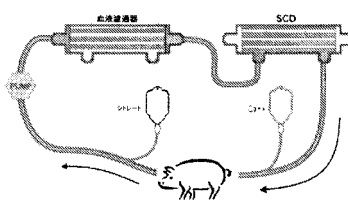
【図 3 A】



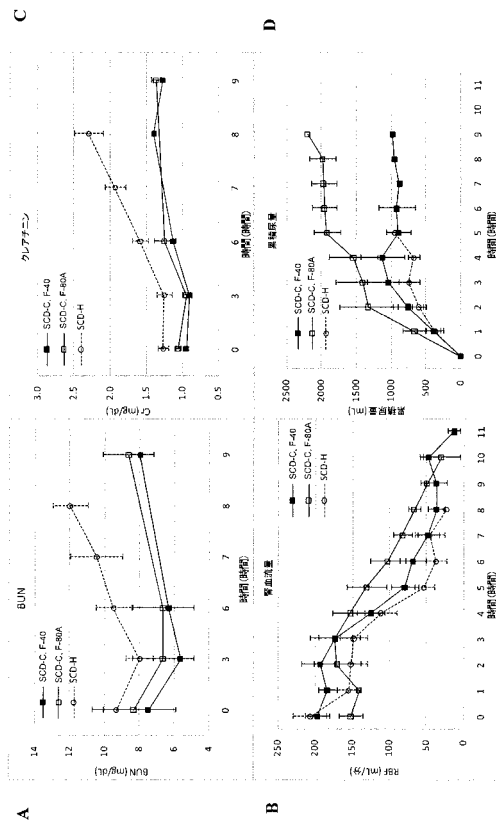
【図 3 B】



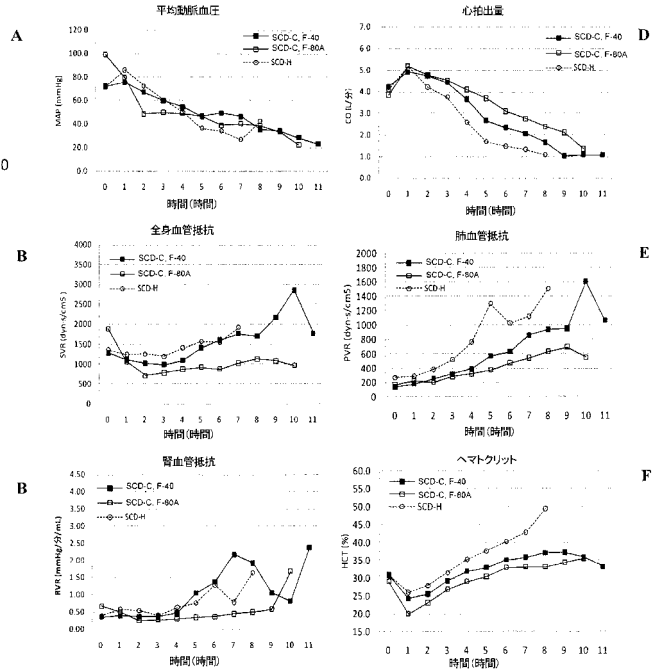
【図 4】



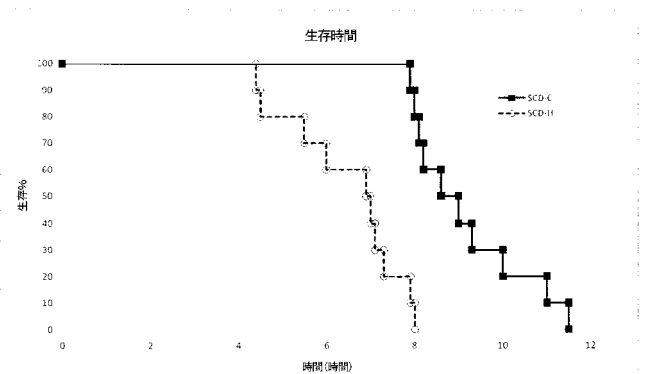
【図 6】



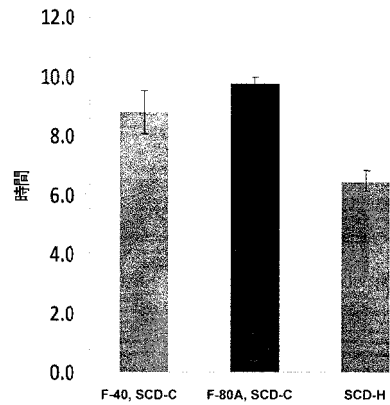
【図 5】



【図 7】

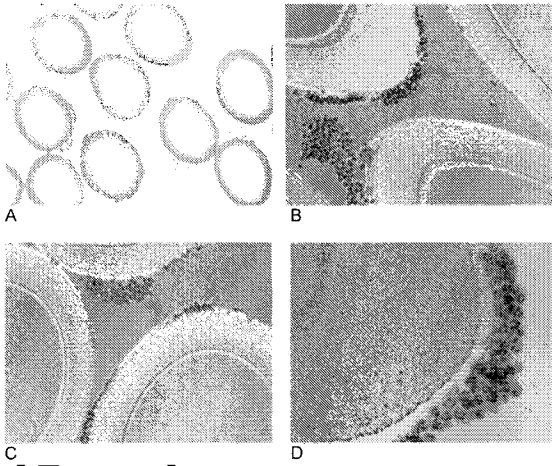


【図 8】

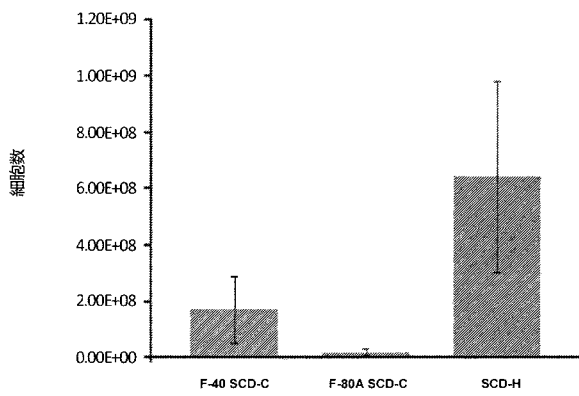


敗血症モデルでの生存時間に対する SCD-C 対 SCD-H の影響、  
 $p < 0.005$  (F-40) および  $< 0.0004$  (F-80A)

【図 9】

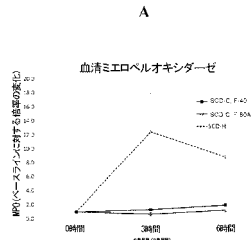


【図 10 A】

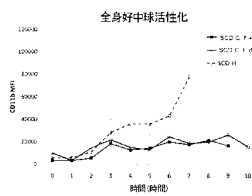


敗血症プラ試験の終点の後に SCD-C および SCD-H カートリッジから溶出した接着細胞

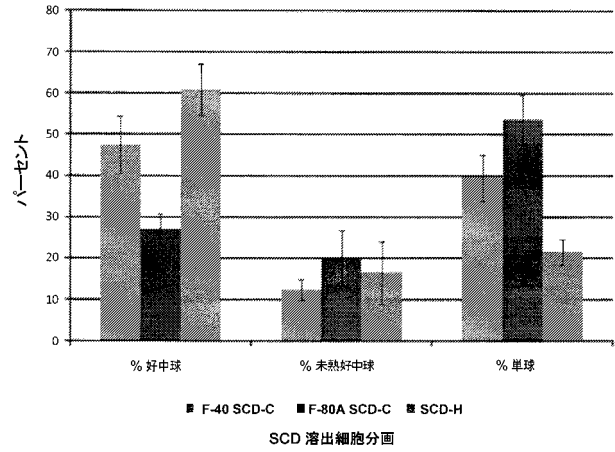
【図 11】



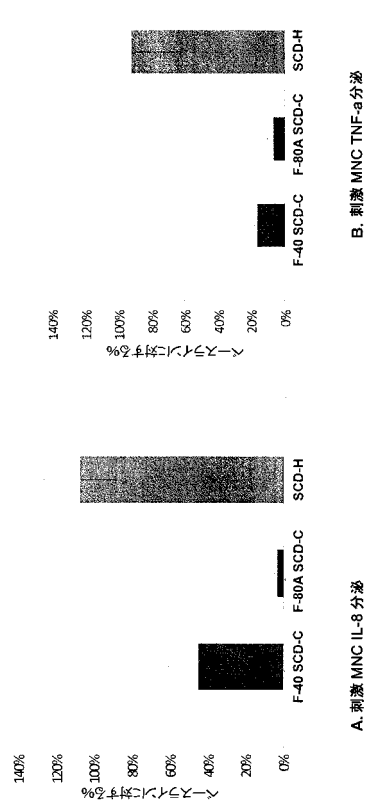
B



【図 10 B】

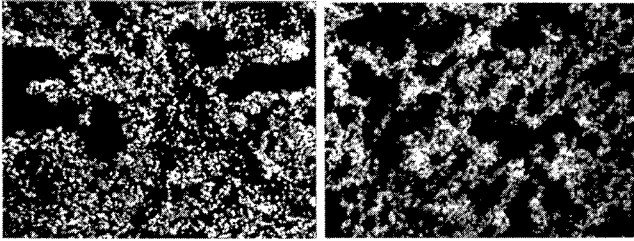


【図 12】

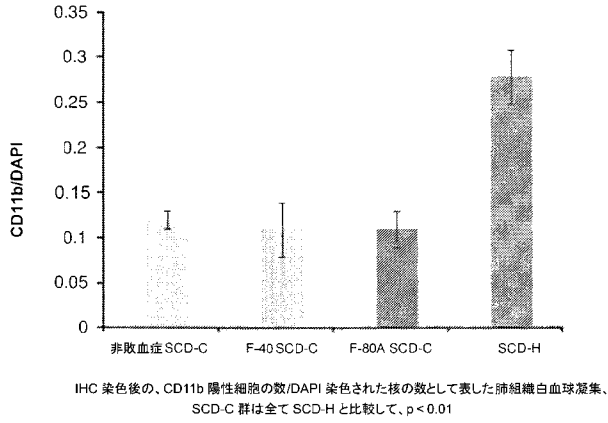


B. 刺激 MNC TNF- $\alpha$  分泌  
A. 刺激 MNC IL-8 分泌  
全ての値は、LPS 刺激 0 時間のベースラインに対する LPS 刺激 6 時間の敗血症時点におけるパーセントとして表しており、IL-8 および TNF- $\alpha$  に関しては、SCD-C 群は全て SCD-H 群と比較して  $p < 0.05$  である

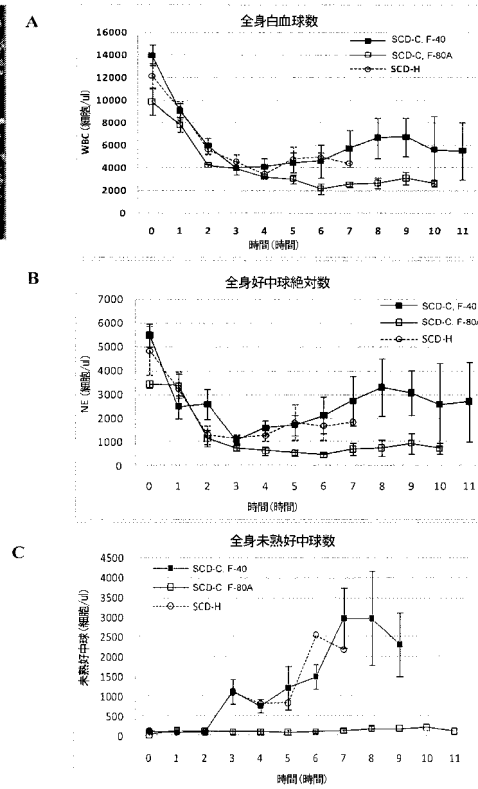
【図 1 3】



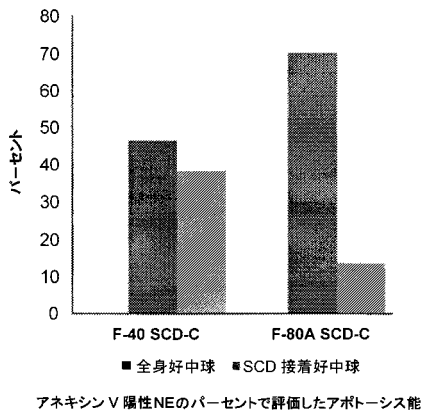
【図 1 4】



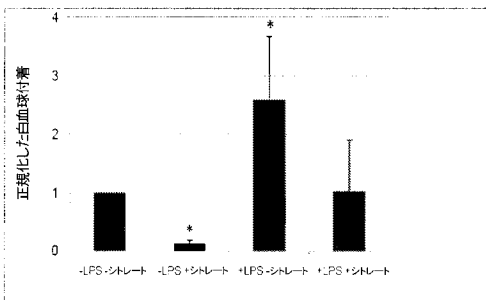
【図 1 5】



【図 1 6】



【図 1 7】



## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2011/056469

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61M1/34 A61M1/36 B01D27/00  
ADD.

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)

A61M B01D

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

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

EPO-Internal

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2009/029801 A2 (UNIV MICHIGAN [US]; HUMES H DAVID [US]; BUFFINGTON DEBORAH [US]) 5 March 2009 (2009-03-05) paragraphs [0045], [0082]; figures 2, 4F -----	1-38, 62-110

☐ 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 document 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.

\*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 February 2012

Date of mailing of the international search report

15/02/2012

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Westsson, David



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US2011/056469

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2. ☒ Claims Nos.: 39-61, 111  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:  
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
  
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
  
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
  
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2011/056469

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210**

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: 39-61, 111

Claims 39-61 and 111 refer to a method for treatment of the human or animal body by therapy and surgery, which is against Rule 39.1(iv) PCT and Rule 67.1(iv). Even if it is not explicitly claimed, it is clear from the description (see e.g. ¶12 and ¶60) that the intended use is to treat the patient by removing or deactivating blood components in the patient's blood.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guideline C-VI, 8.2), should the problems which led to the Article 17(2) declaration be overcome.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/US2011/056469

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2009029801 A2	05-03-2009	AU 2008293431 A1	05-03-2009
		CA 2697681 A1	05-03-2009
		CN 101842111 A	22-09-2010
		EP 2187957 A2	26-05-2010
		JP 2010538973 A	16-12-2010
		KR 20100061704 A	08-06-2010
		US 2009060890 A1	05-03-2009
		US 2010266562 A1	21-10-2010
		US 2010266563 A1	21-10-2010
		US 2010268146 A1	21-10-2010
		US 2010268147 A1	21-10-2010
		US 2011196280 A1	11-08-2011
		WO 2009029801 A2	05-03-2009
-----			

## フロントページの続き

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

(74)代理人 100148699  
弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048  
弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506  
弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100130845  
弁理士 渡邊 伸一

(74)代理人 100114340  
弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889  
弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072  
弁理士 川本 和弥

(72)発明者 ヒュームズ エイチ . デビット  
アメリカ合衆国 ミシガン州 アナーバー パークリッジ ドライブ 2 9 1 8

(72)発明者 バフィントン デボラ  
アメリカ合衆国 ミシガン州 アナーバー ミラー ロード 3 4 5 3

(72)発明者 ピノ クリストファー ジェイ .  
アメリカ合衆国 ミシガン州 サリン カントリー クリーク ドライブ 8 5 9

F ターム(参考) 4C077 AA07 AA09 BB03 CC04 LL01 LL05 LL21 LL23 MM07 MM09  
NN18 PP15 PP21