

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2015 年 10 月 1 日(01.10.2015)



(10) 国際公開番号

WO 2015/146405 A1

- (51) 国際特許分類:
C12M 1/00 (2006.01) C12N 1/02 (2006.01)
C12M 3/00 (2006.01) C12N 5/078 (2010.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2015/054916
- (22) 国際出願日: 2015 年 2 月 23 日(23.02.2015)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2014-060981 2014 年 3 月 24 日(24.03.2014) JP
- (71) 出願人: 東レエンジニアリング株式会社(TORAY ENGINEERING CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1030021 東京都中央区日本橋本石町三丁目 3 番 1 6 号 (日本橋室町ビル) Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 津田 雄一郎 (TSUDA, Yuichiro); 〒5200842 滋賀県大津市園山 1 丁目 1 番 1 号 東レエンジニアリング株式会社内 Shiga (JP). 元井 昌司(MOTOI, Masashi); 〒5200842 滋賀県大津市園山 1 丁目 1 番 1 号 東レエンジニアリング株式会社内 Shiga (JP). 寺田 豊治 (TERADA, Toyoharu); 〒5202141 滋賀県大津市大江一丁目 1 番 4 5 号 東レエンジニアリング株式会社内 Shiga (JP). 野上 義生(NOGAMI, Yoshio); 〒5202141 滋賀

県大津市大江一丁目 1 番 4 5 号 東レエンジニアリング株式会社内 Shiga (JP). 柴田 和正 (SHIBATA, Kazuma); 〒5200842 滋賀県大津市園山 1 丁目 1 番 1 号 東レエンジニアリング株式会社内 Shiga (JP).

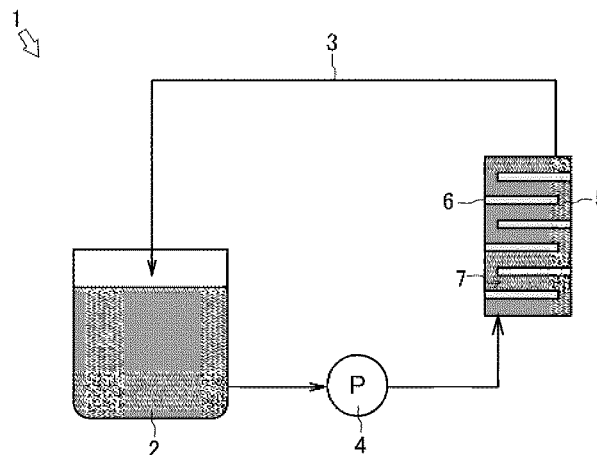
(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

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

[続葉有]

(54) Title: PLATELET PRODUCTION DEVICE AND PLATELET PRODUCTION METHOD

(54) 発明の名称: 血小板産生装置および血小板産生方法



(57) Abstract: Provided are a platelet production device and a platelet production method, whereby platelets can be efficiently produced. Specifically speaking, the platelet production device comprises: a platelet production chamber (5) that is a container storing a megakaryocyte-containing liquid; a feed pump (4) that is both a feeding means feeding a liquid culture medium, said liquid culture medium being the megakaryocyte-containing liquid, to the platelet production chamber (5) and an external force-applying means applying an external force, said external force being generated by the flow of the liquid culture medium, to megakaryocytes and thus allowing the megakaryocytes to produce platelets; and a retention member (6) that is a retaining means provided in a part of the platelet production chamber (5) for retaining the megakaryocytes using a nucleated cell-trapping material (8) capable of trapping nucleated cells.

(57) 要約:

[続葉有]



WO 2015/146405 A1

添付公開書類:

— 国際調査報告（条約第 21 条(3)）

効率よく血小板を産生することができる血小板産生装置および血小板産生方法を提供する。具体的には、巨核球が含まれる液体を貯留する容器である血小板産生室 5 と、血小板産生室 5 に巨核球が含まれる液体である培養液を供給する供給手段であるとともに、巨核球に培養液の流れによる外力を加えて血小板を産生させる外力付与手段である供給ポンプ 4 と、血小板産生室 5 の一部にもうけられ、有核細胞捕捉能を有する有核細胞捕捉材 8 によって巨核球を保持する保持手段である保持部材 6 と、を具備する。

明 細 書

発明の名称：血小板産生装置および血小板産生方法

技術分野

[0001] 本発明は、血小板産生装置および血小板産生方法に関する。詳しくは、i P S細胞から誘導された巨核球から血小板を産生させる装置および方法に関する。

背景技術

[0002] 従来、血小板は、比重の差を利用して分離する遠心分離法によって血液から分離されている。例えば特許文献1の如くである。特許文献1に記載の遠心分離機は、血液が流入された遠心分離機の遠心ボウルが高速回転することで、遠心ボウルの外縁部に形成されている貯血空間内において各血液細胞の比重毎に、血漿層、バフィーコート層および赤血球層に分離される。そして、バフィーコート層から血小板を遠心分離によって分離させる。

[0003] 一方、i P S細胞から誘導された巨核球から血小板を産生させる場合、血小板の産生後に血小板を産生せずに残留した有核細胞である巨核球を除去する必要がある。しかし、巨核球と血小板とは比重が近いため、遠心分離法によって巨核球と血小板とを分離するためには、大きな遠心加速度を付加する必要がある。このため、遠心分離法によって巨核球と血小板とが分離できても、大きな遠心加速度により破壊される血小板の割合が増大して血小板の回収率が低下する問題があった。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特開平9－108594号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 本発明の目的は、効率よく血小板を産生することができる血小板産生装置および血小板産生方法を提供することである。

課題を解決するための手段

[0006] 本発明の解決しようとする課題は以上の如くであり、次にこの課題を解決するための手段を説明する。

[0007] 即ち、本発明は、巨核球が含まれる液体を貯留する容器と、容器に巨核球が含まれる液体を供給する供給手段と、容器の一部にもうけられ、有核細胞捕捉能を有する材料によって巨核球を保持する保持手段と、保持手段により保持された巨核球に外力を加えて血小板を産生させる外力付与手段と、を具備するものである。

[0008] 本発明は、巨核球が含まれる液体が前記材料の表面に沿って流れるように前記保持手段が構成されるものである。

[0009] 本発明は、前記外力付与手段が流体の流れにより巨核球に外力を加えるものである。

[0010] 本発明は、有核細胞捕捉能を有する材料によって巨核球を保持し、外部から巨核球に力を加えて、巨核球から血小板を産生させるものである。

発明の効果

[0011] 本発明の効果として、以下に示すような効果を奏する。

[0012] 本発明においては、巨核球を保持した状態で血小板が産生されるので巨核球と血小板とを分離する工程が省かれる。これにより、効率よく血小板を産生することができる。

[0013] 本発明においては、巨核球に加わる力が任意の値に設定されるとともに、巨核球が有核細胞捕捉能を有する材料の表面に沿って流れる時間が長くなるように経路を構成することで、前記材料と巨核球とが接触する面積が増大し、前記材料と巨核球とが接触する機会が増加するので、巨核球が前記材料に捕捉されやすくなる。これにより、効率よく血小板を産生することができる。

図面の簡単な説明

[0014] [図1]本発明の第一実施形態に係る血小板産生装置の全体構成を示す概略図。

[図2] (a) 本発明の第一実施形態に係る血小板産生装置における保持部材の

構成を示す概念図（b）同じく保持部材の他の構成を示す概念図。

[図3]（a）本発明の第一実施形態に係る血小板産生装置において巨核球が保持部材に接触した状態を示す模式図（b）同じく巨核球が保持部材の有核細胞捕捉材に付着した状態を示す模式図（c）同じく巨核球が血小板を産生している状態を示す模式図。

[図4]本発明の第二実施形態に係る血小板産生装置の全体構成を示す概略図。

[図5]（a）本発明の第二実施形態に係る血小板産生装置における保持部材の構成を示す概念図（b）同じく保持部材の他の構成を示す概念図。

[図6]本発明の第二実施形態に係る血小板産生装置において巨核球が血小板を産生している状態を示す模式図。

[図7]本発明に係る血小板産生装置を含む血小板産生システムの全体構成を示す概略図。

発明を実施するための形態

[0015] まず、図1と図2とを用いて、本発明に係る血小板産生装置の第一実施形態である血小板産生装置1について説明する。なお、以下の各実施形態において、血小板産生装置を構成する各部材は、特に記載がない限り、非反応性ポリマー、生物親和性金属、ガラス等のうち用途や強度から適切な材料によって構成されている。具体的には、非反応性ポリマーとしては、アクリロニトリルブタジエンスチレンターポリマー等のアクリロニトリルポリマー、ポリ塩化ビニル等のハロゲン化ポリマー、ポリアミド、ポリイミドポリカーボネート、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン等である。また、生物親和性金属としては、ステンレス鋼、チタン、白金およびこれらの合金、コバルトクロミウム合金等である。

[0016] 図1に示すように、血小板産生装置1は、巨核球から血小板を産生し回収するものである。血小板産生装置1は、貯留タンク2、循環流路3、供給ポンプ4、血小板産生室5、保持部材6を具備している。

[0017] 貯留タンク2は、成熟した巨核球と成熟した巨核球から産生された血小板とが含まれる液体（以下、単に「培養液」と記す）を保持するものである。

貯留タンク 2 は、外部から培養液を供給可能に構成されている。具体的には、貯留タンク 2 は、後述の培養装置 1 3 等に接続され、培養装置 1 3 等で製造された培養液が供給されるように構成されている。

[0018] 循環流路 3 は、培養液を循環させるための流路である。循環流路 3 は、非反応性ポリマー、生物親和性金属、ガラス等からなる管から構成されている。循環流路 3 は、供給ポンプ 4 を介して貯留タンク 2 と血小板産生室 5 とを接続するように構成されている。また、循環流路 3 は、血小板産生室 5 と貯留タンク 2 とを接続するように構成されている。すなわち、貯留タンク 2 内の培養液は、供給ポンプ 4 によって循環流路 3 を通じて血小板産生室 5 に供給されるように構成されている。そして、血小板産生室 5 に供給された培養液は、後述の血小板産生流路 7 を通過して血小板産生室 5 から排出された後、循環流路 3 を通じて再び貯留タンク 2 に戻されるように構成されている。

[0019] 供給手段、かつ外力付与手段である供給ポンプ 4 は、貯留タンク 2 内の培養液を循環流路 3 に供給するものである。供給ポンプ 4 は、例えばローラーポンプまたは連続シリンジポンプから構成されるがこれに限定するものではない。供給ポンプ 4 は、循環流路 3 の途中部に設けられている。これにより、供給ポンプ 4 は、貯留タンク 2 内の培養液を循環流路 3 に供給することで培養液を貯留タンク 2 と血小板産生室 5 との間で循環させるように構成されている。供給ポンプ 4 は、任意の流量で培養液を循環流路 3 に供給できるように構成されている。なお、本実施形態において、血小板産生装置 1 は、供給ポンプ 4 によって培養液を供給する構成としたがこれに限定されるものではない。

[0020] 容器である血小板産生室 5 は、巨核球から血小板を産生させる空間を構成するものである。血小板産生室 5 は、非反応性ポリマーまたは生物親和性金属等から形成される容器である。血小板産生室 5 は、循環流路 3 の途中部に設けられている。つまり、血小板産生室 5 は、循環流路 3 が接続されている供給口 5 a から貯留タンク 2 から培養液が供給されるとともに、循環流路 3 が接続されている排出口 5 b から血小板産生室 5 内の培養液が貯留タンク 2

に戻されるように構成されている。

[0021] 図1と図2に示すように、保持手段である保持部材6は、巨核球を保持するものである。保持部材6は、非反応性ポリマーまたは生物親和性金属等からなる薄板から形成されている。保持部材6は、血小板産生室5の内部に設けられている。保持部材6の表面には、有核細胞を捕捉する能力が高い材料である有核細胞捕捉材8が塗布されている。つまり、保持部材6の表面に設けられている有核細胞捕捉材8は、血小板産生室5の内部において、巨核球が含まれている培養液に接触するように構成されている。なお、本実施形態において、保持部材6は、その表面に有核細胞捕捉材8が塗布されているがこれに限定されるものではなく、有核細胞捕捉材8を蒸着したものや、有核細胞捕捉材8からなるシート等を保持部材6の表面に設けたものでもよい。また、保持部材6自体を有核細胞捕捉材8で構成してもよい。

[0022] 有核細胞捕捉材8として、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン、アクリル樹脂、ナイロン、ポリエステル、ポリカーボネート、ポリアクリルアミド、ポリウレタン等の合成高分子、アガロース、セルロース、酢酸セルロース、キチン、キトサン、アルギン酸塩等の天然高分子、ハイドロキシアパタイト、ガラス、アルミナ、チタニア等の無機材料、ステンレス、チタン、アルミニウム等の金属があげられる。また、これらの捕捉材はこのままでも用いることができるが、血小板通過性を高める、あるいは細胞の選択的捕捉を行う等の必要に応じ、表面改質を施したものでもよい。例えば、血小板通過性を高めるにはWO 87/05812公報で提案されている非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基を有するポリマーのコートによる方法等があげられる。

[0023] 図2(a)に示すように、保持部材6は、血小板産生室5の内部に培養液の供給口5aから培養液の排出口5bに至る血小板産生流路7を構成するように配置されている。保持部材6は、血小板産生流路7の壁面を構成している。すなわち、血小板産生流路7は、壁面を構成する保持部材6の表面に有核細胞捕捉材8が塗布されている。血小板産生流路7は、培養液に含まれる

血小板と巨核球とが十分に通過できる程度の大きさに構成されている。なお、i P S細胞から誘導される巨核球の大きさは、その培養過程により変化する。したがって、そのときの巨核球の大きさに基づいて、血小板産生流路7の大きさを決定することが望ましい。

[0024] 具体的には、図2(a)に示すように、保持部材6の配置態様の一実施形態として、複数の保持部材6が隣り合うようにして血小板産生室5に配置されている。複数の保持部材6のうち第1の保持部材6は、一側を開口して血小板産生室5を仕切るように配置されている。第1の保持部材6と隣り合う第2の保持部材6は、他側を開口して血小板産生室5を仕切るように配置されている。つまり、血小板産生室5には、隣り合う保持部材6の開口位置が重複しないように複数の保持部材6が配置されている。これにより、血小板産生室5には、複数の保持部材6によって蛇行するように培養液の供給口5aから培養液の排出口5bにいたる血小板産生流路7が構成されている。つまり、保持部材6は、培養液が血小板産生流路7の壁面を構成する保持部材6の表面に塗布されている有核細胞捕捉材8に沿って流れる時間をできるだけ長くすることで有核細胞捕捉材8と巨核球とが接触する面積が増大し、有核細胞捕捉材8と巨核球とが接触する機会を増加させるので、有核細胞捕捉材8に捕捉される巨核球の量を増大させるように構成されている。

[0025] また、図2(b)に示すように、保持部材6の配置態様の他の実施形態として、複数の保持部材6が血小板産生室5の培養液の供給口5aから培養液の排出口5bに向かって血小板産生室5を仕切るように配置してもよい。これにより、血小板産生室5には、隣り合う複数の保持部材6によって培養液の供給口5aから培養液の排出口5bにいたる複数の血小板産生流路7が構成されている。つまり、保持部材6は、単位時間あたりに培養液が血小板産生流路7を通過する総量をできるだけ多くすることで有核細胞捕捉材8に捕捉される巨核球の量を増大させるように構成されている。

[0026] なお、本実施形態において、保持部材6によって構成される血小板産生流路7の断面形状は、限定されるものではなく、例えば、内径に有核細胞捕捉

材 8 を設けた円形、矩形または楕円等の断面形状からなる管に形成してもよい。また、血小板産生室 5 に設けられる保持部材 6 の大きさや数は、血小板産生室 5 内における培養液の流れを阻害しない程度であれば特に限定されるものではない。

[0027] このように構成される血小板産生装置 1 は、貯留タンク 2 内の培養液が供給ポンプ 4 によって循環流路 3 を通じて供給口 5 a から血小板産生室 5 の内部に供給されるように構成されている（図 2（a）太矢印参照）。さらに、血小板産生装置 1 は、血小板産生室 5 に供給された培養液が循環流路 3 を通じて排出口 5 b から貯留タンク 2 に排出されるように構成されている。すなわち、血小板産生装置 1 は、貯留タンク 2 と血小板産生室 5 との間で培養液が循環するように構成されている。

[0028] 次に、図 1 と図 3 とを用いて、血小板産生装置 1 における血小板産生方法の態様について具体的に説明する。

[0029] 図 1 に示すように、血小板産生装置 1 は、供給ポンプ 4 によって、貯留タンク 2 内の培養液を循環流路 3 に供給する。これにより、培養液に含まれる巨核球と巨核球からすでに産生された血小板とが循環流路 3 を通じて血小板産生室 5 に供給される。供給口 5 a から血小板産生室 5 に供給された培養液は、血小板産生室 5 の内部に構成されている血小板産生流路 7（図 2 参照）に流れ込む。

[0030] 図 3（a）に示すように、培養液とともに血小板産生室 5 の血小板産生流路 7 に流れ込んだ巨核球は、保持部材 6（有核細胞捕捉材 8）の表面に沿って流れることでその一部の巨核球 A が保持部材 6 に接触する。そして、図 3（b）に示すように、保持部材 6 に接触した巨核球 A は、保持部材 6 の表面に塗布された有核細胞捕捉材 8 に付着することで捕捉される。有核細胞捕捉材 8 が巨核球 A を保持する力は、巨核球が有核細胞捕捉材 8 に接触している部分の面積によって定まる。また、巨核球 A には、培養液の流れによって有核細胞捕捉材 8 から引き離す力が発生する。巨核球 A を有核細胞捕捉材 8 から引き離す力は、供給ポンプ 4 が供給する培養液の流量と巨核球 A の大きさ

によって定まる。すなわち、巨核球Aが有核細胞捕捉材8に捕捉されるために必要な有核細胞捕捉材8との接触面積は、供給ポンプ4が供給する培養液の流量と巨核球Aの大きさから定まる。巨核球Aは、有核細胞捕捉材8との接触面積が捕捉されるために必要な接触面積以上の場合、有核細胞捕捉材8に捕捉されて保持部材6に保持される。一方、培養液とともに血小板産生室5に供給された血小板は、無核細胞であるため、保持部材6に接触しても有核細胞捕捉材8に捕捉されない。

[0031] 培養液に含まれる巨核球のうち、保持部材6に接触しなかった巨核球や有核細胞捕捉材8との接触面積が捕捉されるために必要な接触面積未満であった巨核球は（図3における巨核球B）、培養液とともに血小板産生室5から排出されて貯留タンク2内に戻される。同様にして、培養液に含まれる血小板は、培養液とともに血小板産生室5から排出されて貯留タンク2内に戻される。貯留タンク2に戻された巨核球と血小板とは、供給ポンプ4で他の巨核球と血小板とともに再び循環流路3を通じて血小板産生室5に供給される。

[0032] 図3（b）に示すように、保持部材6に保持されている巨核球Aには、外力付与手段である供給ポンプ4によって血小板産生流路7内を通過している培養液からその流れ方向に押す力が加わる（図3（b）（c）細矢印参照）。保持部材6に保持されている巨核球Aには、供給ポンプ4が供給する培養液の流れによる力のみが加わっている。従って、血小板産生装置1は、供給ポンプ4の流量を制御することで巨核球Aに加わる力を制御することができる。培養液の流れ方向に押された巨核球Aには、培養液の流れによる力が加わっている箇所にせん断応力が生じる。

[0033] 図3（c）に示すように、巨核球Aは、培養液の流れによってせん断応力が発生している箇所を起点として巨核球Aを形成している細胞質の一部がせん断される。つまり、巨核球Aは、培養液の流れによる力によってその細胞質の一部が分離して血小板Cが産生される。産生された血小板は、培養液中に混入して培養液とともに血小板産生室5から排出された後、循環流路

3を通じて貯留タンク2に搬送される。

[0034] 保持部材6に保持されている巨核球は、培養液の流れによる力が加わっている間、血小板の産生が続けられる。保持部材6から離間した巨核球は、血小板の産生を停止し、培養液とともに血小板産生室5から排出され貯留タンク2内に戻される。また、血小板産生流路7内において保持部材6に再び保持された巨核球は、血小板の産生を再開する。血小板産生室5から排出されて貯留タンク2に戻された巨核球と血小板とは、供給ポンプ4で他の巨核球と血小板とともに再び循環流路3を通じて血小板産生室5の血小板産生流路7に供給される。

[0035] このように構成することで、血小板産生装置1は、保持部材6に保持されている巨核球に培養液の流れによる力を加えることで血小板を産生させる。さらに、血小板産生装置1は、培養液に含まれる巨核球から血小板を産生させることで巨核球を消滅させるので培養液に含まれる巨核球と血小板とを分離する工程が省かれる。また、血小板産生装置1は、供給ポンプ4の流量を制御することによって血小板の産生に適切な力が巨核球に加わるように設定される。さらに、血小板産生装置1は、巨核球が有核細胞捕捉材8の表面に沿って流れることで有核細胞捕捉材8と巨核球とが接触する面積が増大するとともに有核細胞捕捉材8に接触する機会が増加し、巨核球が前記材料に捕捉されやすくなる。これにより、血小板産生装置1は、効率よく血小板を産生することができる。

[0036] 以下では、図4と図5とを用いて、本発明に係る血小板産生装置の第二実施形態における血小板産生装置10について説明する。なお、以下の実施形態において、既に説明した実施形態と同様の点に関してはその具体的説明を省略し、相違する部分を中心に説明する。

[0037] 図4に示すように、血小板産生装置10は、貯留タンク2、循環流路3、供給ポンプ4、血小板産生室5および保持部材11を具備している。

[0038] 血小板産生装置10の培養液を循環させる構成は、前述の第一実施形態にかかる血小板産生装置1の構成と同一である。

[0039] 図4に示すように、保持手段である保持部材11は、巨核球を保持するものである。保持部材11は、非反応性ポリマーまたは生物親和性金属等からなる不織布や網目状素材が積層されて形成されている。保持部材11は、血小板産生室5の内部に設けられている。保持部材11の表面には、有核細胞を捕捉する能力が高い材料である有核細胞捕捉材8が塗布されている。つまり、保持部材11の表面に設けられている有核細胞捕捉材8は、血小板産生室5の内部において、培養液に含まれている巨核球が接触するように構成されている。なお、本実施形態において、保持部材11は、その表面に有核細胞捕捉材8が塗布されているがこれに限定されるものではなく、有核捕捉材を蒸着したものや、有核細胞捕捉材8からなる不織布や網目状素材材から形成されるものでもよい。

[0040] 保持部材11は、血小板と巨核球とが十分に通過できる程度の大きさの隙間を有する不織布や網目状素材から構成されている。つまり、保持部材11は、隙間と対象物の大きさとの関係を利用して対象物を分離する一般的なフィルターと異なり、巨核球の大きさと隙間の関係から巨核球を分離することを目的としない。なお、iPS細胞から誘導される巨核球の大きさは、その培養過程により変化する。したがって、そのときの巨核球の大きさに基づいて、不織布や網目状素材の隙間の大きさを決定することが望ましい。

[0041] 具体的には、図5(a)に示すように、保持部材11は、複数の不織布や網目状素材を板状に積層させて血小板産生室5の供給口5aと排出口5bとの間に血小板産生室5を仕切るようにして一つ以上配置されている。これにより、血小板産生室5は、供給口5aから供給された全ての培養液が保持部材11を通過するように構成されている。また、図5(b)に示すように、保持部材11は、血小板産生室5内における表面積を増大させるために蛇腹状に形成して配置する構成でもよい。つまり、保持部材11は、培養液が有核細胞捕捉材8の近傍を通過している時間を長くすることで有核細胞捕捉材8に捕捉される巨核球の量を増大させるように構成されている。

[0042] このように構成される血小板産生装置10は、貯留タンク2内の培養液が

供給ポンプ４によって循環流路３を通じて血小板産生室５に供給されるように構成されている（図５（ａ）太矢印参照）。さらに、血小板産生装置１は、血小板産生室５に供給された培養液のすべてが保持部材１１を通過した後に循環流路３を通じて貯留タンク２に排出されるように構成されている。すなわち、血小板産生装置１は、貯留タンク２と血小板産生室５との間で培養液が保持部材１１を通過しながら循環するように構成されている。

[0043] 次に、図４から図６を用いて、血小板産生装置１０における血小板産生方法の態様について具体的に説明する。

[0044] 図４に示すように、血小板産生装置１は、供給ポンプ４によって、貯留タンク２内の培養液を循環流路３に供給する。これにより、培養液に含まれる巨核球と巨核球からすでに産生された血小板とが循環流路３を通じて血小板産生室５に供給される。

[0045] 図５（ａ）に示すように、供給口５ａから血小板産生室５に供給された全ての培養液は、保持部材１１を通過する。図６に示すように、培養液に含まれている巨核球は、保持部材１１と通過する際に一部の巨核球Ａが保持部材１１（有核細胞捕捉材８）に接触する。保持部材１１に接触した巨核球Ａは、保持部材１１の表面に塗布された有核細胞捕捉材８に付着することで捕捉される。一方、培養液とともに血小板産生室５に供給された血小板は、無核細胞であるため、保持部材１１（有核細胞捕捉材８）に接触しても有核細胞捕捉材８に捕捉されない。

[0046] 保持部材１１に保持された巨核球Ａは、培養液の流れによる力によってその細胞質の一部分が分離して血小板Ｃが産生される。培養液に含まれる巨核球のうち、保持部材１１に接触しなかった巨核球や有核細胞捕捉材８との接触面積が有核細胞捕捉材８に捕捉されるために必要な接触面積未満であった巨核球は、培養液とともに保持部材１１を通過して血小板産生室５から排出されて貯留タンク２内に戻される（図６における巨核球Ｂ）。同様にして、培養液に含まれる血小板は、培養液とともに保持部材１１を通過して血小板産生室５から排出されて貯留タンク２内に戻される。貯留タンク２に戻され

た巨核球と血小板とは、供給ポンプ４で他の巨核球と血小板とともに再び循環流路３を通じて血小板産生室５に供給される。

[0047] このように構成することで、血小板産生装置１は、保持部材１１に保持されている巨核球に培養液の流れによる力（図６細矢印参照）を加えることで血小板を産生させる。さらに、血小板産生装置１は、培養液に含まれる巨核球から血小板を産生させることで巨核球を消滅させるので培養液に含まれる巨核球と血小板とを分離する工程が省かれる。また、血小板産生装置１は、供給ポンプ４の流量を制御することによって血小板の産生に適切な力が巨核球に加わるように設定される。さらに、血小板産生装置１は、保持部材１１の数量や形状の態様に応じて巨核球が有核細胞捕捉材８に接触する機会が増大し、巨核球が前記材料に捕捉されやすくなる。これにより、血小板産生装置１は、効率よく血小板を産生することができる。

[0048] 図７に示すように、前述の第一実施形態と第二実施形態にかかる血小板産生装置は、i P S細胞から誘導された巨核球前駆細胞を所定の条件で培養し、成熟した巨核球を製造する培養装置１３、培養液中の巨核球量を検出するための液中パーティクルカウンター等から構成される検出装置１３、回収液から巨核球の核やDNAを除去するごみ分離装置１４および回収した血小板を濃縮する濃縮装置１５を具備する血小板産生システム１２として構成してもよい。このように構成することで、i P S細胞から誘導された巨核球前駆細胞から血小板製剤を連続的に製造することができる。

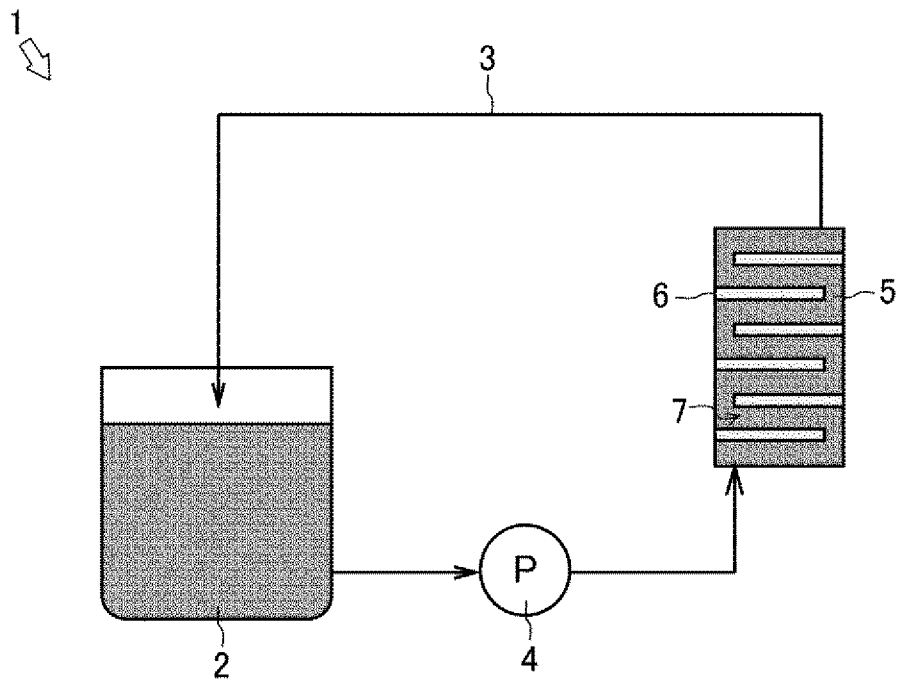
符号の説明

- [0049]
- １ 血小板産生装置
 - ４ 供給ポンプ
 - ５ 血小板産生室
 - ６ 保持部材
 - ８ 有核細胞捕捉材

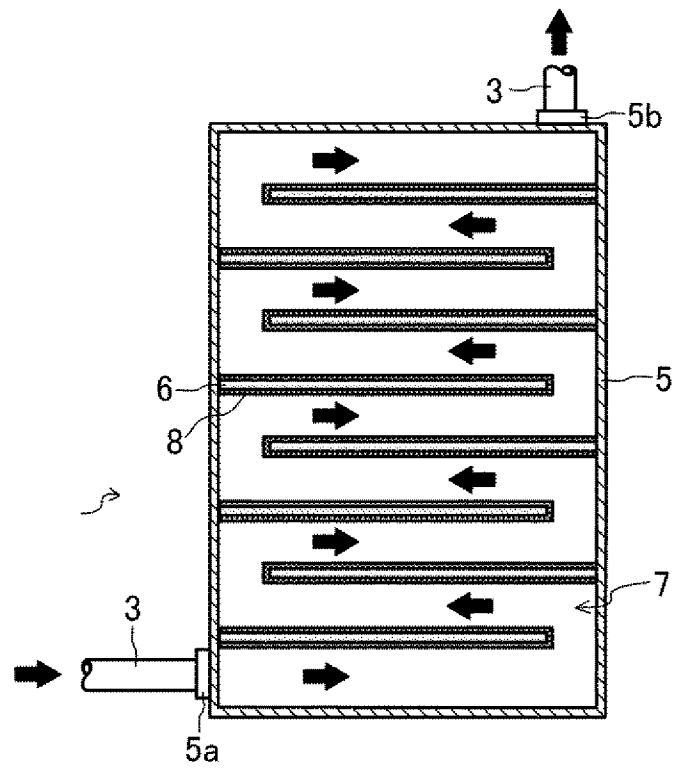
請求の範囲

- [請求項1] 巨核球が含まれる液体を貯留する容器と、
容器に巨核球が含まれる液体を供給する供給手段と、
容器の一部にもうけられ、有核細胞捕捉能を有する材料によって巨核球を保持する保持手段と、
保持手段により保持された巨核球に外力を加えて血小板を産生させる外力付与手段と、
を具備する血小板産生装置。
- [請求項2] 巨核球が含まれる液体が前記材料の表面に沿って流れるように前記保持手段が構成される請求項1に記載の血小板産生装置。
- [請求項3] 前記外力付与手段が流体の流れにより巨核球に外力を加える請求項1または請求項2に記載の血小板産生装置。
- [請求項4] 有核細胞捕捉能を有する材料によって巨核球を保持し、外部から巨核球に力を加えて、巨核球から血小板を産生させる血小板産生方法。

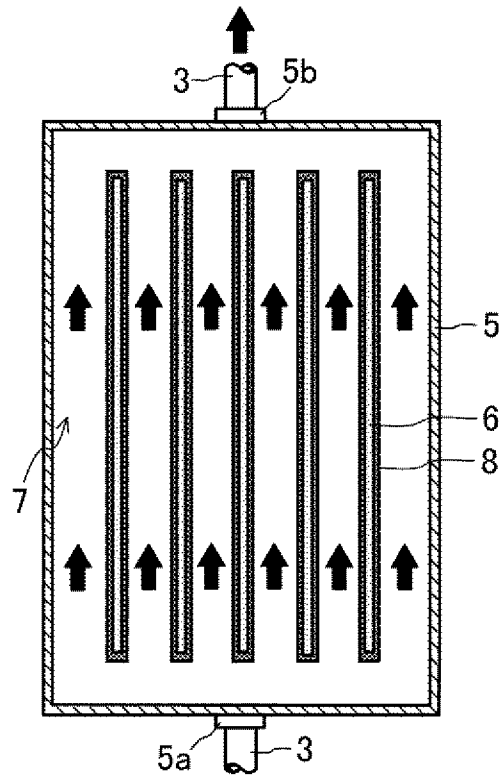
[図1]



[図2]

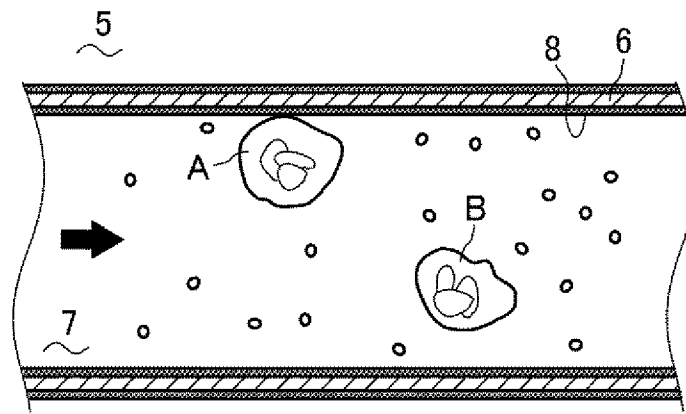


(a)

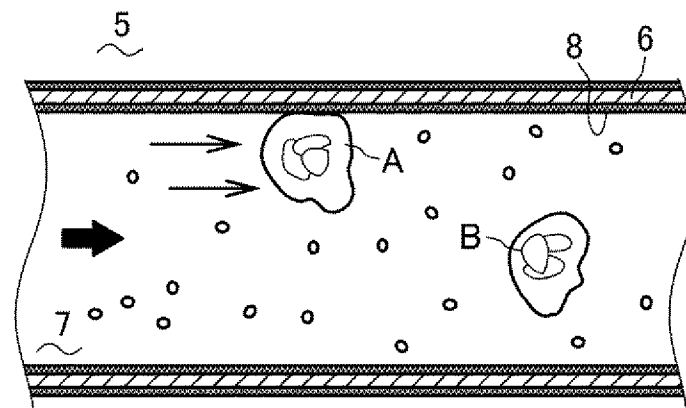


(b)

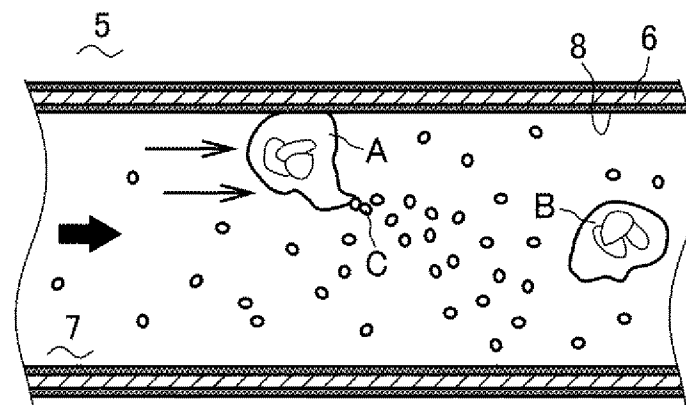
[図3]



(a)

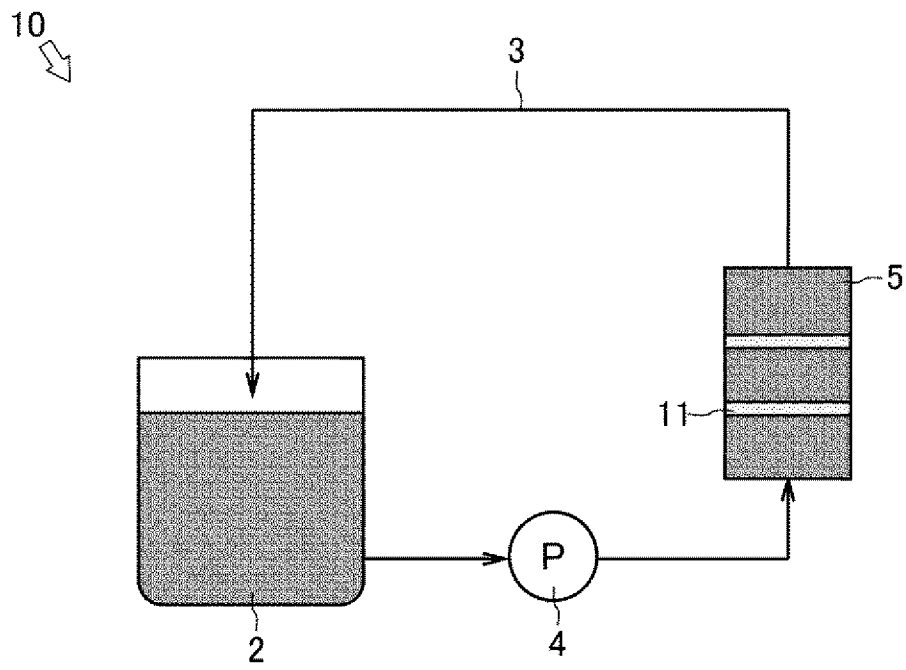


(b)

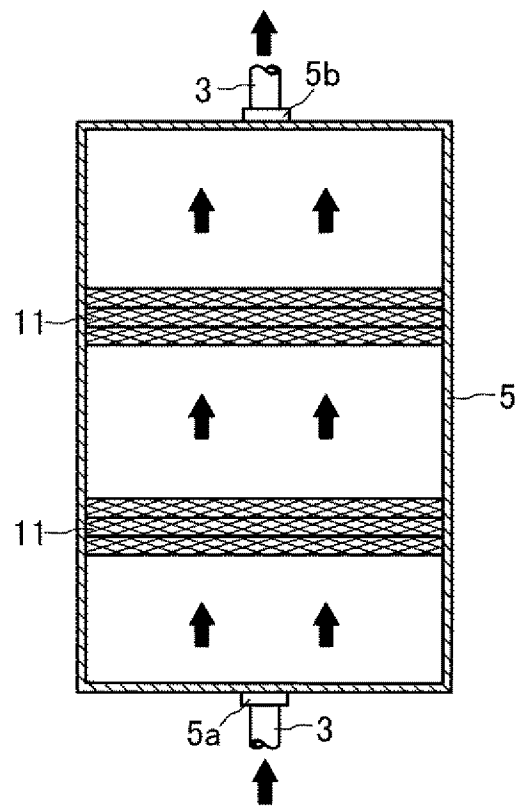


(c)

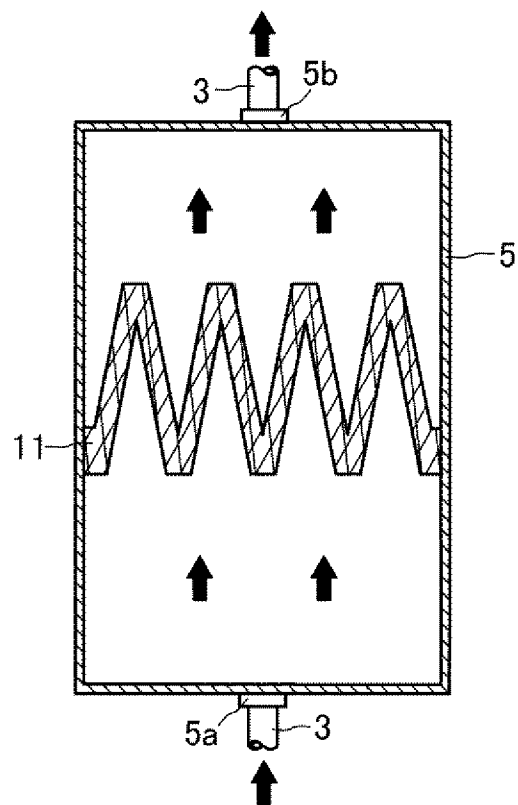
[図4]



[図5]

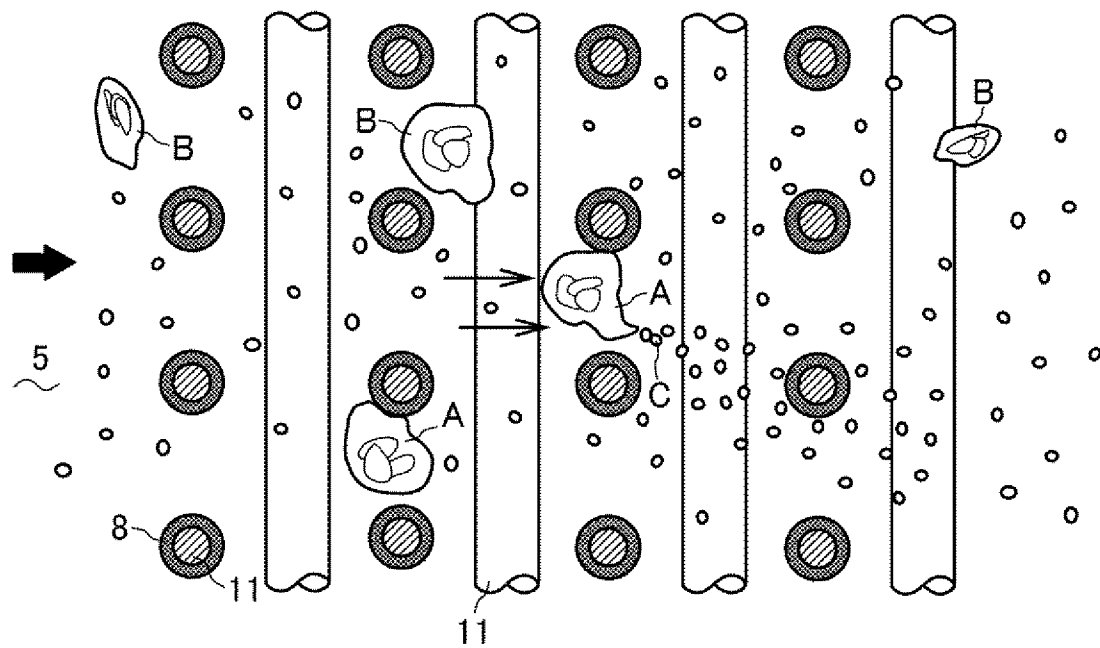


(a)

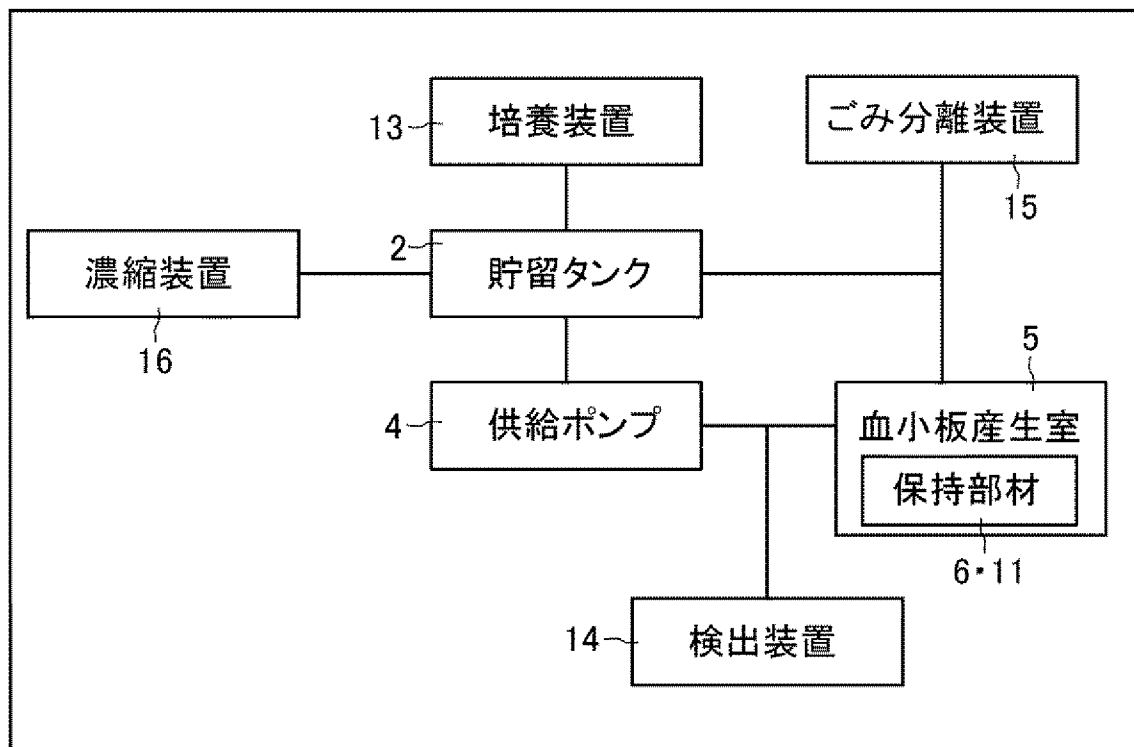


(b)

[図6]



[図7]

12
↓

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/054916

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12M1/00(2006.01)i, C12M3/00(2006.01)i, C12N1/02(2006.01)i, C12N5/078(2010.01)i

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)

C12M1/00, C12M3/00, C12N1/02, C12N5/078

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

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2015
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2015 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2015

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

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN),
JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580 (JDreamIII), PubMed

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DUNOIS-LARDE C et al., Exposure of human megakaryocytes to high shear rates accelerates platelet production, Blood, 2009, Vol.114, p.1875-1883	1-4
X	JP 2012-510804 A (Inserm (Institut National de la Sante et de la Recherche Medicale)), 17 May 2012 (17.05.2012), claims; examples; drawings & EP 2352815 A1 & US 2012-0014933 A1 & CN 102300984 A	1-4
X	JP 2013-031428 A (The University of Tokyo), 14 February 2013 (14.02.2013), claims; examples; drawings; paragraphs [0033], [0039], [0058] (Family: none)	1-4



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
14 May 2015 (14.05.15)

Date of mailing of the international search report
26 May 2015 (26.05.15)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/054916

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	NAKAGAWA Y et al., Two differential flows in a bioreactor promoted platelet generation from human pluripotent stem cell-derived megakaryocytes, Experimental Hematology, 2013, Vol.41, p.742-748	1-4
X	WO 2012/129109 A2 (NEW YORK BLOOD CENTER, INC.), 27 September 2012 (27.09.2012), claims; examples; paragraphs [0050] to [0059] & EP 2686420 A2	1-4
X/A	JP 2009-297023 A (Asahi Kasei Corp.), 24 December 2009 (24.12.2009), claims; example 3; fig. 5 (Family: none)	1, 3, 4/2

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C）） Int.Cl. C12M1/00(2006.01)i, C12M3/00(2006.01)i, C12N1/02(2006.01)i, C12N5/078(2010.01)i			
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C）） Int.Cl. C12M1/00, C12M3/00, C12N1/02, C12N5/078			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1 9 2 2 - 1 9 9 6 年 日本国公開実用新案公報 1 9 7 1 - 2 0 1 5 年 日本国実用新案登録公報 1 9 9 6 - 2 0 1 5 年 日本国登録実用新案公報 1 9 9 4 - 2 0 1 5 年			
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS(STN), JSTplus/JMEDplus/JST7580(JDreamIII), PubMed			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	
X	DUNOIS-LARDE C et al., Exposure of human megakaryocytes to high shear rates accelerates platelet production, Blood, 2009, Vol. 114, p. 1875-1883	1-4	
X	JP 2012-510804 A（インセルム（アンステイテュ・ナショナル・ドゥ・ラ・サント・エ・ドゥ・ラ・ルシエルシュ・メディカル）） 2012.05.17, 特許請求の範囲、実施例、図面 & EP 2352815 A1 & US 2012-0014933 A1 & CN 102300984 A	1-4	
☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。 ☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献			
国際調査を完了した日 1 4 . 0 5 . 2 0 1 5		国際調査報告の発送日 2 6 . 0 5 . 2 0 1 5	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁（I S A / J P） 郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官（権限のある職員） 北田 祐介 電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 8 8	4 N 4 8 6 8

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	JP 2013-031428 A (国立大学法人 東京大学) 2013.02.14, 特許請求の範囲、実施例、図面、[0033]、[0039]、[0058] (ファミリーなし)	1-4
X	NAKAGAWA Y et al., Two differential flows in a bioreactor promoted platelet generation from human pluripotent stem cell-derived megakaryocytes, Experimental Hematology, 2013, Vol.41, p.742-748	1-4
X	WO 2012/129109 A2 (NEW YORK BLOOD CENTER, INC.) 2012.09.27, 請求の範囲、実施例、[0050] - [0059] & EP 2686420 A2	1-4
X/A	JP 2009-297023 A (旭化成株式会社) 2009.12.24, 特許請求の範囲、実施例3、図5 (ファミリーなし)	1, 3, 4/2