

を計測したところ、62cP(剪断速度 $1000s^{-1}$)、70cP(剪断速度 $100s^{-1}$)、98cP(剪断速度 $10s^{-1}$)となった。回収量は0.8dLであり、0.2dLを操作工程で損失した。内包効率は、20%に留まった。ヘモグロビン濃度を $10g/dL$ に調節し、ヘモグロビン小胞体分散液70mLを得た。

【0045】

[比較例3]

実施例1に記載の方法において、ヘモグロビン溶液として酸素を結合したオキシヘモグロビンを用いて同様の方法により複合脂質粉末と混練を行った。ペーストを希釈して、遠心分離操作(2000rpm、60分)を行なったところ、褐色の不溶物の沈殿が大量に見られた。また上澄みのヘモグロビンのメト化率は10%程度に上昇していた。従って、一酸化炭素化やデオキシ化によるヘモグロビンの安定化が不可欠と判断された。

10

【0046】

[実施例2]

実施例1と同じ脂質種を用い、DPPC/cholesterol/DHSG/DSPE-PEG5000を、モル比で5/4/0.9/0.03、脂質総重量10gとなるように、t-ブタノール1dLに溶解させ、茄子型フラスコに入れた。そして、液体窒素で凍結し、凍結乾燥を行い、複合脂質粉末を得た。次いで、この複合脂質を、実施例1で用いたものと同じテフロン製の筒状容器に入れ、0.5dLの超純水を添加した。負電荷脂質DHSGの重量は1.13gであり、1.48mモルに相当するので、同量のNaOHで中和するため、1N-NaOH溶液を0.074mL添加した。そして、内蓋をして封入し、混練装置(自転公転攪拌器、シンキー社製、ARE-310)にて5分混練処理し(公転2000回転、自転800回転)、冷却に5分待ったあと、再度5分混練し、合計10分の処理を行なった。得られた脂質ラメラゲルについて、液体窒素で凍結し凍結乾燥を行い、脂質ゲルの凍結乾燥粉末を得た。この複合脂質10gについて、実施例1に記載の方法と同様にHbCO溶液を0.4dL添加し、容器をC0で封入し、混練装置(自転公転攪拌器、公転1500回転、自転600回転)にて混練し、ヘモグロビン溶液と凍結乾燥脂質粉末の混練ペーストを得た。このペーストを同一の方法により生理食塩水を添加・希釈、分散させ、遠心分離によって凝集塊等を分離除去した。得られた上層液をさらに超遠心分離し、未内包ヘモグロビンの濃度と体積を計測し、ヘモグロビンの内包効率を計算したところ、約60%が得られた。沈降したヘモグロビン小胞体を生理食塩水に再分散させ、ヘモグロビン濃度を $10g/dL$ に調節し、0.50dLずつを1dLバイアル瓶に封入した。一酸化炭素ガスで通気をして溶存酸素を追い出し、ヘモグロビンを完全に一酸化炭素化した。その後、 β -プロピオラク톤を0.5%以下の濃度で添加し、滅菌した。

20

30

【0047】

[実施例3]

DPPC/cholesterol/DHSG/DSPE-PEG5000を、モル比で5/4/0.9/0.03となるように有機溶媒中に溶解し、これをクラックス法にて有機溶媒を急速に蒸発させて得られる複合脂質粉末を日本精化(株)で作製した。この複合脂質粉末10gについて、実施例1の方法と同様に濃厚ヘモグロビン溶液0.4dLを添加し、混練装置(自転公転攪拌器、シンキー社製、ARE-310、公転速度1000回転、自転速度400回転)にて6分混練して3分冷却する操作を30回繰り返した。ペーストの温度上昇は $30^{\circ}C$ 程度に留まった。全部で180分間混練を行なった。この段階で、得られたペーストについて、レオメータ(MCR-300、Anton Paar社製)にて $25^{\circ}C$ における粘度を計測したところ、約2200cP(剪断速度 $1000s^{-1}$ 、 $23^{\circ}C$)、約10000cP(剪断速度 $100s^{-1}$ 、 $23^{\circ}C$)、約52000cP(剪断速度 $10s^{-1}$ 、 $23^{\circ}C$)となった。その後、実施例1記載の方法と同様の方法によりヘモグロビン小胞体を回収したところ、ヘモグロビンの内包効率は約74%であり、粒子径は、約280nmであった。公転および自転速度を遅くしたことで混練時間が長くなったものの、ペーストの温度上昇は抑えられ、蛋白質の変性を低減するのに適した混練条件であると考えられた。

40

【0048】

[比較例4]

実施例1の複合脂質の成分のうち、DHSGを含まない複合脂質を調製した。DPPC/cholesterol/DSPE-PEG5000を、モル比で5/4/0.03となるよう、合計10gを、t-ブタノール1dLに溶

50

解させ、0.5L茄子型フラスコに入れた。そしてドライアイス／メタノール混合冷媒で凍結し、凍結乾燥装置(東京理化製FD-1000)を24時間かけて行い、複合脂質粉末を得た。この粉末について、10gをテフロン製の円柱状容器に入れ、実施例3に記載の方法と同様に、高純度ヒトヘモグロビン溶液(一酸化炭素結合-HbCO体、45g/dL、0.4dL、pH 7.4)を添加した。そして実施例3に記載の方法と同様に、混練処理した。ヘモグロビンの内包効率は僅か26%であり、ヘモグロビンと脂質の重量比は0.94と、著しく低い値であった。従って、今回行ったヘモグロビンを内包する実験においては、Hbの収率を上げるには、DHSGが不可欠であることが判明した。なお、DHSGがヘモグロビンの収率に与える影響は上記のように明らかになったが、内包する機能物質や混練条件により、収率に対するDHSGの影響が変化する可能性はあり、本願発明はDHSGが含まれない脂質の使用を排除するものではない。

10

【0049】

[実施例4]

ピリドキサル5'-リン酸を、一酸化炭素を結合したヘモグロビン溶液に対して2.5倍モル添加した。ヘモグロビン溶液0.4dL(45g/dL、pH7.4)に対して、実施例3に記載のクラックス法にて得られた複合脂質粉末10gを加え、実施例3と同様の方法により、混練装置(自転公転攪拌器、シンキー社製、ARE-310、公転速度1000回転、自転速度400回転)にて、6分混練して3分冷却する操作を30回繰り返した。全部で180分間混練を行なった。得られたヘモグロビン小胞体のヘモグロビンの内包効率は約65%であり、粒子径は、約250nmであった。実施例1に記載の方法により、脱一酸化炭素を実施し、脱酸素操作を経て、0.50dLずつを1dLバイアル瓶に分注した。その後、 β -プロピオラク톤を0.5%以下の濃度で添加し、滅菌を完了した。

20

【0050】

[実施例5]

実施例1に記載の方法と同様に、混合脂質組成DPPC/cholesterol/DHSG/DSPE-PEG5000を、モル比で5/4/0.9/0.03となるように有機溶媒中に溶解し、これをクラックス法にて有機溶媒を急速に蒸発させて得られる複合脂質粉末を日本精化(株)で作製した。ここでは、混合する一酸化炭素結合ヘモグロビン溶液の濃度を40g/dLに薄めた。複合脂質粉末10gと、ヘモグロビン溶液0.4dLを添加し、混練装置(自転公転攪拌器、シンキー社製、ARE-500、公転速度800回転、自転速度784回転)にて30分混練する操作を3回繰り返し、合計90分の混練を行なった。その後、実施例1に記載の方法と同様の方法により生理食塩水に希釈して遠心分離(3000rpm、30min)を行い沈殿を除去した。上澄みについて超遠心分離しヘモグロビン小胞体を回収し、これを再分散してヘモグロビン小胞体の分散液を得た。ヘモグロビンの内包効率は約80%であり、粒子径は、約280nmであった。

30

【0051】

[比較例5]

実施例5に記載の脂質の量とヘモグロビンの量を二倍にして検討した。複合脂質粉末20gと、一酸化炭素結合ヘモグロビン溶液(40g/dL)0.8dLを実施例1に記載の容器に収容し、実施例5に記載の方法で合計90分の混練を行なった。その後、実施例1に記載の方法と同様の方法により生理食塩水に希釈して遠心分離(3000rpm、30min)を行い沈殿を除去した。上澄みについて超遠心分離しヘモグロビン小胞体を回収し、これを再分散してヘモグロビン小胞体の分散液を得た。ヘモグロビンの内包効率は約50%に減少したことから、容器に収容する原料の量によって、収率が変化することが明らかになった。

40

【0052】

[実施例6]

比較例5に記載の脂質の量とヘモグロビンの量はそのままとし、収容する容器を大きなものに換えて検討した。複合脂質粉末20gと、一酸化炭素結合ヘモグロビン溶液(40g/dL)0.8dLを、実施例1に記載の容器よりも大きいもの(外径:90mm、高さ約108mm)に収容し、混練装置(自転公転攪拌器、シンキー社製、ARE-500、公転速度800回転、自転速度784回転)にて30分混練する操作を3回繰り返し、合計90分の混練を行なった。その後、実施例1に記載の方法と同様の方法により生理食塩水に希釈して遠心分離(3000rpm、30min)を行い沈

50

殿を除去した。上澄みについて限外濾過膜処理(限外分子量1000kDa, Millipore社製Bioma x V screen, 膜面積:0.1 m²)により内包されなかったヘモグロビンを除去し、ヘモグロビン小胞体の分散液を得た。ヘモグロビンの内包効率は約75%であった。回転する容器の内壁とペーストの接触面で最も強い剪断応力が発生するので、接触面積が大きいことがカプセル化効率の向上に有効と考えられた。

【0053】

[実施例7]

ホスファチジルコリン型リン脂質としてDPPCよりも相転移温度が低いPMPCを用い、PMPC/cholesterol/DHSG/DSPE-PEG5000を、モル比で5/4/0.9/0.03となるようにt-ブタノールに溶解させ、凍結乾燥を行い、乾燥脂質粉末4gを得た。これに濃厚ヘモグロビン溶液(40g/dL、0.2dL)を添加し、実施例1と同等の方法でヘモグロビン小胞体の製造を試みた。混練装置(自転公転攪拌器、シンキー社製、ARE-310、公転速度1500回転、600回転)にて3分30回混練した後、溶液を生理食塩水で4倍に希釈して、遠心分離(2000rpm、60分)したところ、分散しきれていない粒子径の大きい分画の沈殿の量は、実施例1に比較して格段に低下していた。また粒子径も200-230nmと、小さめに調節されていた。従って、相転移温度の低いホスファチジルコリン型リン脂質を用いた方が、製造が容易であると判断された。

10

【0054】

[実施例8]

実施例1で作製したDPPCを主成分とする複合脂質から調製されたヘモグロビン小胞体と、実施例7で調製したPMPCを主成分とする複合脂質から調製されたヘモグロビン小胞体について、安定性の評価を行なった。比較としてラットの洗浄赤血球を用いた。それぞれ3g/dLのヘモグロビン濃度に調節し、これらについて、(1)液体窒素による凍結のあと融解、(2)蒸留水で5倍に希釈、(3)ホスホリパーゼA2によるリン脂質の加水分解、(4)剪断速度1000s⁻¹の流動を二時間かけたときの溶血率の測定を行なった。超遠心分離によりヘモグロビン小胞体または赤血球を沈降させ、上澄みのヘモグロビン濃度と容積から溶血率を計算した。N=3とし、平均土標準偏差を計算した。(1)については、赤血球が75.9±9.2%の溶血を示したのに対し、DPPC系は33.7±4.7%、PMPC系は33.3±4.2%、(2)については、赤血球が89.0±6.6%の高い溶血を示したのに対し、DPPC系は0.9±0.4%、PMPC系は0.6±0.4%と低い値であった。また、(3)については、赤血球が6.9±1.3%であるのに対し、DPPC系は0.9±0.7%、PMPC系は0.5±0.1%であった。(4)については、赤血球が4.8±0.3%であったのに対し、DPPC系、PMPC系ともに1%以下であった。従って、DPPC系、PMPC系ヘモグロビン小胞体ともに赤血球よりも構造的に極めて安定であり、またDPPCとPMPCでは相転移温度が異なるが、ヘモグロビン小胞体としたときの安定性に特に違いは無いことが明らかになった。

20

30

【0055】

[実施例9]

低分子性の機能物質のモデルとして、蛍光物質である5(6)-カルボキシフルオレセイン(CF)が10mM濃度で溶解したリン酸緩衝溶液(pH7.4)を調製した。DPPC/cholesterol/DHSG/DSPE-PEG5000を、モル比で5/4/0.9/0.03の比で有機溶媒中に溶解し、これをクラックス法にて有機溶媒を急速に蒸発させて得られる複合脂質粉末を日本精化(株)で作製した。この複合脂質粉末10gについて、実施例1に記載の円柱状容器に入れてCF溶液40mLを添加し、混練装置(自転公転攪拌器、シンキー社製、ARE-310、公転速度1000回転、自転速度400回転)にて、6分混練して3分冷却する操作を30回繰り返した。この段階で、ハンドクリームのようなペーストが得られたので、レオメータ(MCR-300、Anton Paar社製)にて25℃における粘度を計測したところ、1020cP(剪断速度1000s⁻¹、23℃)、4600cP(剪断速度100s⁻¹、23℃)、36800cP(剪断速度10s⁻¹、23℃)となった。得られたペースト約1gに生理食塩水を約10mLを加え、震盪して小胞体分散液を得た。超遠心分離(100000g、1時間)をして小胞体を沈降させ、得られる上澄みのCF濃度と体積、また超遠心分離前の分散液のCF濃度と全体の体積から、CFの内包効率を計算した所、85%が得られた。小胞体の平均粒子径は800nmになっていた。粒子径が十分に小さくないのは、CF溶液の粘度(0.9cP程度)がヘモグロビ

40

50

ン溶液に比較して低く、剪断応力が十分に得られなかったものと考えられた。粒子径をより小さくするには、混錬する時間を更に延長する必要がある。

【0056】

尚、上記では、ヘモグロビンを内包した小胞体とモデル分子としての蛍光物質CFを内包した小胞体を製造する方法について示したが、内包するものはヘモグロビンやCFに限定されず、各種機能物質を内包する小胞体を製造することが可能である。例えば、特表第2008-542360号公報に記載があるように、疾患の治療、予防、診断等に適用する薬物や治療剤を機能物質として内包した小胞体を製造することが可能である。この場合の機能物質は例えば抗ウイルス剤、抗微生物剤、抗細菌剤、抗真菌剤、抗新生物剤、抗炎症剤、放射標識剤、放射線不透過化合物、蛍光化合物、色素化合物、核酸配列、抗癌剤、細胞増殖因子、造血因子（エリスロポエチン、G-CSF）、生理活性物質等から選択される薬物となる。また、これらを内包する脂質としては前記上記のものを使用することも可能であり、各薬物や治療剤に適した他の脂質を用いることも可能である。また、水溶性に乏しい機能性物質、或は分子量が小さい機能性物質の場合、例えば、水溶性高分子（アルブミン、ゼラチン等）に吸着、あるいは化学的結合により固定させたあと、この水溶性高分子-機能性分子の複合体が溶解した水溶液を小胞体に安定に内包させることも可能である。以下の機能物質の例についても同様であるが、水溶性が乏しい又は分子量が小さい機能物質の場合は、当該機能物質を水に分散させるために水溶性高分子等の補助物質を用いることにより、その機能物質を小胞体に安定して内包させることが可能になる。また、上述の方法による水中への溶解が困難な脂溶性の機能性物質について、小胞体を構成する脂質粉末に予め混合させ、その混合物を水中に分散させ、混錬法により効率よく小胞体を構成させることも原理的には可能である。

【0057】

[実施例10]

アルブミンは様々な脂溶性機能物質を物理的に吸着し、その担体になりうる。そこで、ここでは濃厚アルブミン溶液を内包した小胞体の調製を行なった。実施例1に記載の混合脂質10g (DPPC/cholesterol/DHSG/PEG-DSPE, モル比で5/4/0.9/0.03に混合)を、実施例1に記載の円柱状容器に収容した。次いで、ヒト血清由来アルブミン(Baxter社製, 25 g/dL)を40mL添加し、混錬装置(自転公転攪拌器、シンキー社製、ARE-310、公転速度1000回転、自転速度400回転)にて、6分混錬して3分冷却する操作を30回繰り返した。得られたペーストに冷却した生理食塩水120 mLを加え、再度1分間混錬し、粘性を低下させた。これを超遠心分離(50,000g、1時間)をして小胞体を沈降させ、内包されなかったアルブミンを除去した。沈殿を再分散させ、アルブミンを内包した小胞体を得た。

【0058】

[実施例11]

脂溶性の機能物質としてクルクミンを担持した小胞体の調製を行なった。t-ブチルアルコールに、DMPC/cholesterol/DHSG/PEG-SDPE/クルクミンをモル比で、5/1/1/0.03/1の割合で加熱して溶解させ、これを凍結乾燥し、クルクミンと脂質が混合した粉末を得た。この混合粉末20gについて、実施例1に記載の円柱状容器に収容し、更にリン酸緩衝生理食塩水(pH7.4)0.8dLを添加し、混錬装置(自転公転攪拌器、シンキー社製、ARE-500、公転速度800回転、自転速度784回転)にて窒素雰囲気において合計150分間の混錬を行い、クルクミンを担持した小胞体分散液を得た。

【0059】

抗ウイルス薬剤の具体例には、オセルタミビルホスフェートおよびインジナビルスルフェートが含まれる。抗微生物剤には、シプロフロキサシン、デフォテタン(defotetan)およびアジスロマイシンのような抗細菌剤、アムホテリシンB、ナイスタチンおよびケトコナゾールのような抗真菌剤、並びにイソニアジド、ストレプトマイシンおよびリファンピンのようなアニチューバキュラー(anitubercular)剤が含まれる。ビタミンD、カルシウム、PTH拮抗剤またはビスホスホネートのような、骨の成長を刺激し、または骨の消失から保護するための剤も企図されている。

【0060】

抗新生物剤も、本発明の送達物質による送達のための薬物として企図されている。本発明に従い、広範な化学療法剤を用いることができる。用語「化学療法」は、癌を治療するための薬剤の使用をいう。「化学療法剤」は、癌の治療において投与される化合物または組成物を意味するのに用いられる。これらの剤または薬物は、細胞内でのそれらの活性の様式、例えば、それらが細胞サイクルに影響を及ぼすかどうか、およびどの段階でかかる影響を及ぼすかにより分類される。あるいは、剤は、DNAを直接結合する、DNA中に挿入される、または核酸合成に影響を及ぼすことにより染色体および有糸分裂異常を誘起する能力に基づいて特徴付けられる。ほとんどの化学療法剤は、次のカテゴリー：アルキル化薬、代謝拮抗物質、抗腫瘍抗生物質、有糸分裂阻害剤、およびニトロソ尿素に分類される。

10

【0061】

化学療法剤の例には、チオテパおよびシクロスホスファミドのようなアルキル化薬；ブスルファン、インプロスルファンおよびピボスルファンのようなアルキルスルホネート；ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパおよびウレドーパのようなアジリジン；アルトレタミン、トリエチレンアミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミドおよびトリメチロールアミン等のエチレンイミンおよびメチルアメラミン；アセトゲニン（特に、プラタシンおよびプラタシノン）；カンプトテシン（合成類似体トポテカンを含む）；プリオスタチン；カリスタチン；CC-1065（そのアドゼレシン、カルゼレシンおよびビゼレシン合成類似体を含む）；クリプトフィシン（特に、クリプトフィシン1およびクリプトフィシン8）；ドラスタチン；ドウオカルマイシン（duocarumycin）（合成類似体、KW2189およびCB1-TM1を含む）；エロイスロビン（eleutherobin）；パンクラチスタチン；サルコジクチン；スポンジスタチン；ナイトジェンマスタード、例えば、クロラムブシル（chlorambucil）、クロルナファジン、クロフォスフェミド、エストラムスチン；イホスファミド、メクロルエタミン、塩酸メクロレタミンオキシド、メルファラン、ノベンピシン；フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタード；ニトロスウレア、例えば、カルムスチン、クロロゾトシン、ホテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、およびランニヌスチン（ranimustine）；抗生物質、例えば、エネジイン系抗生物質（例えば、カリケアミシン、特に、カリケアミシン・ガンマ11、カリケアミシン・オメガ11；ダイネミシンAを含むダイネミシン；ビスホスホネート、例えば、クロドロネート；エスペラマイシン；並びにネオカルジノスタチンクロモフォアおよび関連するクロモプロテイン・エンジイン・アンチバイオティック・クロモフォア、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、オーラルナイシン（authrarnycin）、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カラピシン、カルミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシニス（chromomycinis）、ダクチノマイシン、ダウノルピシン、デトルピシン、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、ドキシソルピシン（モルホリン-ドキシソルピシン、シアノモルホリン-ドキシソルピシン、2-ピロリノ-ドキシソルピシンおよびデオキシドキシソルピシンを含む）、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、マルセロマイシン、ミトマイシン、例えば、ミトマイシンC、マイクフェノリックアシッド、ノガラルナイシン（nogalarnycin）、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン、プロマイシン（puromycin）、クエラマイシン、ロドルピシン、ストレプトニグリンストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベンメックス、ジノスタチン、ゾルピシン；代謝拮抗剤、例えば、メソトレキセートおよび5-フルオロウラシル（5-FU）；葉酸類似体、例えば、デノプテリン、メソトレキセート、プテロプテリン、トリメトレキサート；プリン類似体、例えば、フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン；ピリミジン類似体、例えば、アンシナビン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シナラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロキシウリジン；アンドロゲン、例えば、カルステロン（calusterone）、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン；抗副腎、例えば、アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン；葉酸補給剤、

20

30

40

50

例えば、葉酸；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；エニルラシン；アムサクリン；ベストラブシル (bestrabucil)；ピサントレン；エダトラキサート；デフォファミン；デメコルシン；ジアジクオン；エルフォルミチン (elformithine)；酢酸エリプチニウム；エポチロン；エトグルシド；ガリウムニトレート；ヒドロキシウレア；レンチナン；ロニダイニン；メイタンシノイズ、例えば、メイタンシンおよびアンサミトシン；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダンモール (mopidanmol)；ニトラエリン；ペントスタチン；フェナメット；ピラルピシン；ロソキサントロン；ポドフィルリニックアシデド (podophyllinic acid)；2-エチルヒドラジン；プロカルバジン；PSK (ポリサッカライドコンプレックス)；ラゾキサン；リゾキシン；ジゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾニックアシッド (tenuazonic acid)；トリアジクオン；2, 2'-2"-トリクロロトリエチルアミン；トリコテシン (特に、T-2トキシシン、ヴェルラクリンA、ロリジンAおよびアングイジン)；ウレタン；ヴィンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトプロニトール；ミトラクトール；ピポプロマン；ガシトシン；アラビノシド (「Ara-C」)；シクロホスファミド；チオテパ；タキソイド、例えば、パクリタキセルおよびドキセタキセル；クロラムブシル；ゲムシタピン；6-チオグアニン；メルカプトプリン；メソトレキセート；白金錯体、例えば、シスプラチン、オキサリプラチンおよびカルボプラチン；ヴィンブラスチン；白金；エトポシド (VP-16)；イホスファミド；ミトキサントロン；ピンクリスチン；ピノレルピン；ノバントロン；テニポシド；エダトレキサート；ダウノマイシン；アミノプテリン；キセローダ；イバンドロネート；イリノテカン (例えば、CPT-11)；トポイソメラーゼ阻害剤 RFS2000；ジフルオロメチルオルニチン (DMFO)；レチノイド、例えば、レチオニックアシッド；カペシタピン；および上記何れかの薬学的に許容される塩、酸または誘導体が含まれる。特別の態様において、化学療法剤は、以下からなる群から選択される；ドキシソルピシン、トポイソメラーゼ I 阻害剤、例えば、トポテカンおよびイリノテカン、および分裂阻害剤、例えば、パクリタキセルおよびエトポシド、および代謝拮抗剤、例えば、メソトレキセート、およびモノクローナル抗体、例えば、リツキシマブ。

【0062】

赤血球生産の刺激因子もまた、送達のために企図されており、鉄、エポエチンアルファおよびフィルグラチンを含む。骨髄を、放射線および化学療法誘起損傷から保護するための剤も、企図され、アミフォスチン、天然抗酸化剤例えばビタミンeおよびクルクミンのようなフェノール含有天然生成物、並びにロイコボリンのようなメソトレキセートレスキュー剤を含む。

【0063】

薬物は、ペンテト酸カルシウム三ナトリウムのような、骨髄から重金属を除去するために用いられる剤であり得る。プレドニゾン、ヒドロコルチゾン、アスピリン、インドメタシン、セレコキシブおよびイブプロフェンのような抗炎症剤も、 ^{99m}Tc 、 ^{111}In 、 ^{186}Re および ^{188}Re のような放射標識剤と同様に、送達のために企図されている。ヨウ素含有CT造影剤のような放射線不透過化合物も、ガドペンテト酸ジメグルミンのようなMRI診断剤と同様に、送達のために企図されている。

【0064】

また、前記機能物質として、骨形成促進剤、骨疾患予防または治療剤、骨折予防または治療剤、軟骨形成促進剤および軟骨疾患予防または治療剤、あるいは変形性関節症または慢性関節リウマチ等の軟骨疾患の予防または治療薬、骨折、脱臼および骨破損等の外傷、骨膜炎、結核性骨関節炎、梅毒性骨炎、ハンセン病による骨変化、放線菌症、プラストマイコーシスおよびブルセローシス等の炎症性疾患、良性骨腫、骨軟骨腫、類骨骨腫、多発性軟骨性外骨腫、孤立性骨嚢腫、骨巨細胞腫、繊維性骨異常形成、骨組織球症X、傍肩性骨肉腫、骨肉腫、軟骨肉腫、骨繊維肉腫、ユーイング肉腫、多発性骨髄腫および癌の骨転移等の腫瘍、くる病、骨軟化症、壊血病、副甲状腺機能亢進症、ページェット病、脳下垂体機能異常、鉄欠乏性貧血、線維性骨炎、腎性骨異常栄養症、骨粗鬆症、骨欠損および硬直性脊椎炎等の代謝性・内分泌疾患、または軟骨無形成症、鎖骨・頭蓋骨無形成症、変形性骨

10

20

30

40

50

異形成、骨形成不全症、大理石骨病、頭蓋骨縫合早期閉鎖、歯突起形成不全、クリペルフェーユ症候群、脊椎披裂、半椎、骨変形・変形脊椎症、側弯症およびペルテス病等の先天性骨系統疾患・奇形症候群の治療剤あるいは診断剤を用いることができる。

【0065】

また、前記機能物質として、骨髄炎症、骨髄性白血病、多発性骨髄腫、造血障害、鉄欠乏性貧血、悪性貧血、巨赤芽球、溶血性貧血、遺伝性球状赤血球症、鎌状赤血球性貧血および再生不良性貧血等の骨髄疾患の治療剤または診断剤の高効率送達のために、あるいは腎臓病に伴う貧血の改善薬として遺伝子組換えにより産生されるエリスロポエチン、制癌療法で使用される顆粒球減少症の治療薬物、並びに骨髄移植および後天性免疫不全症候群（AIDS）に適用されるコロニー刺激因子（CSF）を送達するために好適に用いることができる。骨髄性腫瘍の治療剤の例には、シタラビン、ダウノルビシン、イダルビシン、アクリルビシン、ミトキサントロン、エノシタビン、6-メルカプトプリン、チオグアニン、アザシチジン、アムサクリン、ステロイド、亜硫酸、ヒドロキシカルバミド、ハイドレア、サイトシンアラビノシド、アントラサイクリン系薬物、レチノイン酸、ビンカアルカロイド系薬物、プレドニン、L-アスパラギナーゼ、インターフェロン、メルファラン、ピンクリスチン、アドリアマイシン、エンドキサン、メソトレキセート、サリドマイド、エトポシド、シクロホスファミド、カルムスチン、デキサメタゾン、サイトカイン、インターフェロン製剤、ブスルファン、ヒドロキシウレア、メシル酸イマチニブ、プレドニゾロンおよびボルテゾミブを用いることができる。

10

【0066】

また、前記機能物質は、ガンマ線放射またはポジトロン放射性同位元素を担持させた場合、骨または骨髄疾患の診断薬として使用されてもよい。前記機能物質はまた、骨または骨髄疾患を放射性核種治療のための治療学的放射性核種（オージェ電子、ベータ放射性またはアルファ粒子放射性）を担持させてもよい。更に、前記機能物質は、放射性不透過剤を担持させた場合には、X線およびX線コンピュータ断層撮影のための診断薬として使用されてもよい。前記機能物質は、超常磁性または常磁性薬剤を噴じさせた場合には、磁気共鳴映像法のための診断薬として使用されてもよい。加えて、前記機能物質は、骨髄に効率高く遺伝子を輸送および導入することが可能であるため、当該送達物質は、例えば、薬物耐性遺伝子を骨髄に輸送し、抗がん剤を使用する治療のための補助療法において骨髄を保護することを可能にするものである。

20

30

【0067】

上記の実施形態は、この発明の原理の適用を例示する多数の可能な実施形態のうちのいくつかを例示したものである。その他の数々のかつ様々な変形は、この発明の要旨を変更しない範囲で、この分野の当業者によって容易に構成することができる。

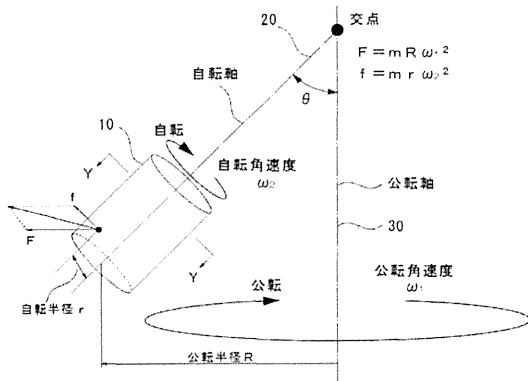
【符号の説明】

【0068】

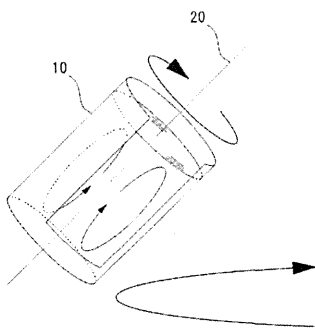
- 10 筒状容器
- 11 内周面
- 12 凹曲面
- 13 突部
- 20 中心軸（自転軸）

40

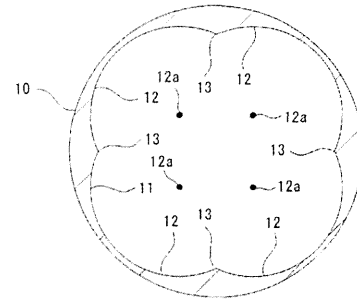
【図 1】



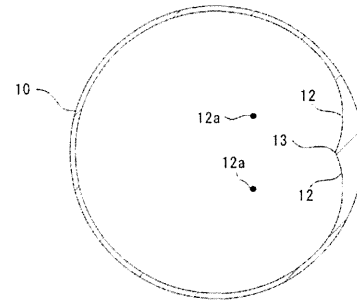
【図 2】



【図 3】



【図 4】



【手続補正書】

【提出日】平成25年1月31日(2013.1.31)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

機能物質を含有する小胞体の製造方法であって、

(a) 前記機能物質、脂質および水を筒状容器内に収容する工程と、

(b) 前記筒状容器をその中心軸周りに自転させると共に所定の公転軸周りに公転させて前記筒状容器内の収容物を混練することにより、前記脂質を主成分とする脂質小胞体の中に前記機能物質を含有した前記小胞体を製造する工程と

を有する

ことを特徴とする小胞体の製造方法。

【請求項2】

請求項1記載の小胞体の製造方法において、

前記(a)の工程で前記筒状容器内に収容される前記収容物は、前記機能物質を含有する水溶液に前記脂質を加えることにより調製される

ことを特徴とする小胞体の製造方法。

【請求項3】

請求項1記載の小胞体の製造方法において、

前記(a)の工程で前記筒状容器内に収容される前記収容物は、前記機能物質を含有する前記脂質を乾燥させて成る脂質粉末を水中に分散させることにより調製される

ことを特徴とする小胞体の製造方法。

【請求項4】

請求項1記載の小胞体の製造方法において、

前記機能物質はヘモグロビンであり、

前記工程(a)で前記筒状容器内に收容される前記收容物は、前記ヘモグロビンを30～50g/dL溶解したヘモグロビン水溶液に、前記脂質としての複合脂質粉末を前記ヘモグロビン水溶液1dLあたり15g以上加えることにより調製される

ことを特徴とする小胞体の製造方法。

【請求項5】

請求項1、2、3又は4記載の小胞体の製造方法において、

前記工程(b)では、前記筒状容器の公転速度が200～3000rpmとなり、前記筒状容器の自転速度が100～3000rpmとなるように、前記筒状容器を自転および公転させて前記水溶液を混練する

ことを特徴とする小胞体の製造方法。

【請求項6】

請求項1、2、3、4又は5記載の小胞体の製造方法において、

(c)前記工程(b)の後に、前記筒状容器中の液体又はペーストに水又は生理食塩水を加える工程と、

(d)前記工程(c)の後に、前記筒状容器をさらに前記中心軸周りに自転させると共に前記所定の公転軸周りに公転させて前記筒状容器内の液体又はペーストの粘度を低下させる工程と

をさらに有する

ことを特徴とする小胞体の製造方法。

【請求項7】

請求項6記載の小胞体の製造方法において、

(e)前記工程(d)の後に、前記筒状容器中の液体又はペーストに限外濾過膜又は超遠心分離法を適用することにより、前記液体又はペーストから前記脂質に内包されなかった前記機能物質を除去する工程

をさらに有する

ことを特徴とする小胞体の製造方法。

【請求項8】

請求項1、2、3、4、5、6又は7記載の小胞体の製造方法において、

前記工程(b)では、前記筒状容器を前記中心軸周りに自転させると共に前記所定の公転軸周りに公転させて前記水溶液を混練する混練処理を複数回行い、且つ、前記各混練処理の間に、前記筒状容器の自転および公転の少なくとも一方を停止させ又は前記筒状容器の自転および公転の少なくとも一方の回転速度を低減することにより前記液体又はペーストを冷却する冷却処理を行う

ことを特徴とする小胞体の製造方法。

【請求項9】

請求項1、2、3、4、5、6、7又は8記載の小胞体の製造方法において、

前記筒状容器は、その側壁の内周面に複数の凹曲面を有すると共に、隣接する前記各凹曲面は互いに曲率中心の位置が異なるものであり、これにより、隣接する各凹曲面の間に前記筒状容器の内側に向かって凸形状の突部が形成されているものである

ことを特徴とする小胞体の製造方法。

【請求項10】

機能物質を脂質で内包した小胞体を製造する小胞体の製造方法であって、

(a)前記機能物質を水に溶解した機能物質水溶液に脂質を添加する工程であって、前記機能性水溶液の粘度は剪断速度 1000 s^{-1} の条件で $23\text{ }^{\circ}\text{C}$ における粘度が 4 cP 以上である、前記工程と、

(b)前記調製された混合物を混練することにより前記機能物質を前記脂質で内包する

工程であって、その混練物の粘度は剪断速度 1000 s^{-1} の条件で 23°C における粘度が 1000 cP 以上である、前記工程と

を有する

ことを特徴とする小胞体の製造方法。

【請求項 11】

請求項 4 記載の小胞体の製造方法において、

前記ヘモグロビンはヘムが鉄二価の状態であるカルボニルヘモグロビン又はヘムが鉄二価の状態であるデオキシヘモグロビンである

ことを特徴とする小胞体の製造方法。

【請求項 12】

請求項 4 記載の小胞体の製造方法において、

前記ヘモグロビン水溶液に前記脂質を加える前に、前記ヘモグロビン水溶液を 50°C 以上で 5 時間以上の加熱処理を行い、夾雑する不安定な蛋白質を変性させて限外濾過膜または遠心分離により除去しておく除去工程をさらに有し、

前記除去工程は、前記工程 (b) における前記混練において、変性蛋白質の不溶化物の発生を低減するための工程である

ことを特徴とする小胞体の製造方法。

【請求項 13】

請求項 10 記載の小胞体の製造方法において、

前記機能物質水溶液に前記脂質を加える前に、前記機能物質水溶液を 50°C 以上で 5 時間以上の加熱処理を行い、夾雑する不安定な蛋白質を変性させて限外濾過膜または遠心分離により除去しておく除去工程をさらに有し、

前記除去工程は、前記工程 (b) における前記混練において、変性蛋白質の不溶化物の発生を低減するための工程である

ことを特徴とする小胞体の製造方法。

【請求項 14】

請求項 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 又は 13 記載の小胞体の製造方法において、

前記脂質は、ホスファチジルコリン型リン脂質、コレステロール、負電荷脂質、およびポリエチレングリコールを結合した脂質を含有している

ことを特徴とする小胞体の製造方法。

【請求項 15】

請求項 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13 又は 14 記載の小胞体の製造方法において、

前記脂質は、ホスファチジルコリン型リン脂質である $1,2\text{-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphatidylcholine}$ 、コレステロール、負電荷脂質である $1,5\text{-O-dihexadecyl-N-succinyl-glutamate}$ 、および、ポリエチレングリコールを結合した脂質である $1,2\text{-distearoyl-sn-glycero-3-phosphatidylethanolamine-N-Poly(oxyethylene)5000}$ (ポリエチレングリコール鎖の分子量 5000) を含有している

ことを特徴とする小胞体の製造方法。

【請求項 16】

請求項 14 記載の小胞体の製造方法において、

前記ホスファチジルコリン型リン脂質のゲル-液晶相転移温度は 30°C 以下である

ことを特徴とする小胞体の製造方法。

【請求項 17】

請求項 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15 又は 16 記載の小胞体の製造方法において、

この方法は、前記脂質として脂質ラメラゲル乾燥脂質粉末を製作する脂質粉末製作工程

を有し、

前記脂質粉末製作工程は、

実質的に溶質を含まない純水に脂質粉末を15g/dL濃度以上で加えた脂質水溶液を作製する工程と、

前記脂質水溶液を筒状の容器に収容し、当該容器をその中心軸周りに自転させると共に所定の公転軸周りに公転させることにより前記脂質水溶液を混練する工程と、

前記混練を行った前記脂質水溶液を凍結乾燥して前記脂質ラメラゲル乾燥脂質粉末を得る工程と

を有する

ことを特徴とする小胞体の製造方法。

【請求項18】

請求項7記載の小胞体の製造方法において、

前記工程(e)の後に、前記脂質に内包されなかった前記機能物質を除去することによって得られる生成物にβ-プロピオラク톤を添加する工程をさらに有する

ことを特徴とする小胞体の製造方法。

【請求項19】

請求項10記載の小胞体の製造方法において、

前記工程(b)の後に、前記機能物質を脂質で内包した生成物にβ-プロピオラク톤を添加する工程をさらに有する

ことを特徴とする小胞体の製造方法。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2012/059233															
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K9/127(2006.01)i, A61K38/16(2006.01)i, A61K47/18(2006.01)i, A61K47/24(2006.01)i, A61K47/28(2006.01)i, A61K47/44(2006.01)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) A61K9/127, A61K38/16, A61K47/18, A61K47/24, A61K47/28, A61K47/44 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 1996-2012 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2012 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2012 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)																	
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">Category*</th> <th style="width: 70%;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="width: 20%;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">A</td> <td>JP 2003-290642 A (Thinky Corp.), 14 October 2003 (14.10.2003), (Family: none)</td> <td style="text-align: center;">1-16</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">A</td> <td>JP 6-71110 A (Kabushiki Kaisha IKS), 15 March 1994 (15.03.1994), (Family: none)</td> <td style="text-align: center;">1-16</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">A</td> <td>JP 3-173813 A (Terumo Corp.), 29 July 1991 (29.07.1991), (Family: none)</td> <td style="text-align: center;">1-16</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">A</td> <td>JP 63-209746 A (Terumo Corp.), 31 August 1988 (31.08.1988), & US 5049391 A & EP 357773 A1 & WO 1988/006437 A1</td> <td style="text-align: center;">1-16</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	A	JP 2003-290642 A (Thinky Corp.), 14 October 2003 (14.10.2003), (Family: none)	1-16	A	JP 6-71110 A (Kabushiki Kaisha IKS), 15 March 1994 (15.03.1994), (Family: none)	1-16	A	JP 3-173813 A (Terumo Corp.), 29 July 1991 (29.07.1991), (Family: none)	1-16	A	JP 63-209746 A (Terumo Corp.), 31 August 1988 (31.08.1988), & US 5049391 A & EP 357773 A1 & WO 1988/006437 A1	1-16
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.															
A	JP 2003-290642 A (Thinky Corp.), 14 October 2003 (14.10.2003), (Family: none)	1-16															
A	JP 6-71110 A (Kabushiki Kaisha IKS), 15 March 1994 (15.03.1994), (Family: none)	1-16															
A	JP 3-173813 A (Terumo Corp.), 29 July 1991 (29.07.1991), (Family: none)	1-16															
A	JP 63-209746 A (Terumo Corp.), 31 August 1988 (31.08.1988), & US 5049391 A & EP 357773 A1 & WO 1988/006437 A1	1-16															
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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 "J" 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 26 April, 2012 (26.04.12)		Date of mailing of the international search report 15 May, 2012 (15.05.12)															
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer															
Facsimile No.		Telephone No.															

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/059233

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 4-256430 A (Terumo Corp.), 11 September 1992 (11.09.1992), (Family: none)	1-16
A	JP 2009-35517 A (Terumo Corp.), 19 February 2009 (19.02.2009), (Family: none)	1-16

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2012/059233									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. A61K9/127(2006.01)i, A61K38/16(2006.01)i, A61K47/18(2006.01)i, A61K47/24(2006.01)i, A61K47/28(2006.01)i, A61K47/44(2006.01)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 (IPC)) Int.Cl. A61K9/127, A61K38/16, A61K47/18, A61K47/24, A61K47/28, A61K47/44											
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 <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2012年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2012年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2012年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2012年	日本国実用新案登録公報	1996-2012年	日本国登録実用新案公報	1994-2012年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2012年										
日本国実用新案登録公報	1996-2012年										
日本国登録実用新案公報	1994-2012年										
国際調査でを使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)											
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									
A	JP 2003-290642 A (株式会社シンキー) 2003.10.14 (ファミリーなし)	1-16									
A	JP 6-71110 A (株式会社アイ・ケイ・エス) 1994.03.15 (ファミリーなし)	1-16									
A	JP 3-173813 A (テルモ株式会社) 1991.07.29 (ファミリーなし)	1-16									
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> 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		の日の後に公表された文献									
「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		「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									
「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		「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									
「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)		「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									
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		「&」同一パテントファミリー文献									
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願											
国際調査を完了した日 26.04.2012	国際調査報告の発送日 15.05.2012										
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 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) 三輪 繁	4C	4148								
	電話番号 03-3581-1101	内線	3452								

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2012/059233

C (続き) . 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
A	JP 63-209746 A (テルモ株式会社) 1988.08.31 & US 5049391 A & EP 357773 A1 & WO 1988/006437 A1	1-16
A	JP 4-256430 A (テルモ株式会社) 1992.09.11 (ファミリーなし)	1-16
A	JP 2009-35517 A (テルモ株式会社) 2009.02.19 (ファミリーなし)	1-16

フロントページの続き

(51) Int. Cl. F I テーマコード (参考)
A 6 I K 38/16 (2006.01) A 6 I K 37/14

(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, T J, 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, R O, 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, H U, 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

(注) この公表は、国際事務局 (W I P O) により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願 (日本語実用新案登録出願) の国際公開の効果は、特許法第 1 8 4 条の 1 0 第 1 項 (実用新案法第 4 8 条の 1 3 第 2 項) により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。

日本テレビ「世界一受けたい授業」で紹介(2014年7月5日)

ここがすごい！ 世界に誇るニホンの医療製品！



人工赤血球は一体何から作られているでしょう？



レッツ！ホニャララ ↓



正解は...期限切れの血液

血液の中で一番大事な細胞が赤血球の中にあるヘモグロビン。これを期限切れの血液から特殊な方法で取り出し、

人口の細胞膜の中に移し替えることで、どんな血液型でも合う長期保存可能な人口赤血球を作り出すことに成功したのです。

しかも通常の赤血球と比べると、大きさは30分の1と細かいので、流れもスムーズ！なので、脳梗塞など、毛細血管が細くなる病気が発症した場合にも、効果が期待できます。

シンポジウム 10 TTPとHUS (総会長シンポジウム)

(共催：アレクシオン ファーマ)

5月16日(金) 15:30~17:30 第4会場 (奈良県新公会堂 1F 能楽ホール)

座長：藤村 吉博 (奈良県立医科大学輸血部)
森岡 正信 (愛育病院血液内科)

- S-10-1 TTP/HUS の遺伝子解析
宮田敏行
(国立循環器病研究センター分子病態部)
- S-10-2 TTP の診断と治療
松本雅則
(奈良県立医科大学輸血部)
- S-10-3 STEC-HUS の診断と治療
上田恭典¹²⁾
(公益財団法人大原記念倉敷中央医療機構倉敷中央病院血液内科¹⁾,
公益財団法人大原記念倉敷中央医療機構倉敷中央病院血液治療センター²⁾)
- S-10-4 aHUS の診断
吉田瑠子
(奈良県立医科大学輸血部)
- S-10-5 aHUS の治療
芦田 明, 玉井 浩
(大阪医科大学泌尿生殖・発達医学講座小児科)

シンポジウム 11 輸血後鉄過剰症のマネジメント

(共催：ノバルティス ファーマ株式会社)

5月16日(金) 10:00~11:30 第6会場 (奈良県新公会堂 2F レセプションホール)

座長：藤井 康彦 (山口大学医学部附属病院輸血部)

芦田 隆司 (近畿大学医学部血液・膠原病内科/近畿大学医学部附属病院輸血・細胞治療センター)

- S-11-1 輸血後鉄過剰症の病態と治療
鈴木隆浩
(自治医科大学医学部内科学講座血液学部門)
- S-11-2 輸血後鉄過剰症のマネジメント～具体的な取り組み事例～医師の立場から～
末岡榮三朗
(佐賀大学医学部臨床検査医学講座)
- S-11-3 輸血後鉄過剰症に対する輸血部の役割
井上まどか, 山岡 学, 山本茉美, 寺嶋由香利, 阿部 操, 大西修司, 石井一慶, 野村昌作
(関西医科大学附属枚方病院輸血・細胞療法部)
- S-11-4 臨床輸血看護師による輸血後鉄過剰症に対する患者教育への取り組み
松本真弓
(神鋼病院看護部)

シンポジウム 12 輸血治療を補完する人工赤血球製剤の効力と安全性

5月17日(土) 10:00~12:00 第4会場 (奈良県新公会堂 1F 能楽ホール)

座長：酒井 宏水 (奈良県立医科大学医学部化学教室)

高折 益彦 (川崎医科大学名誉教授)

- S-12-1 人工赤血球 (ヘモグロビン小胞体) 製剤の開発状況
酒井宏水
(奈良県立医科大学化学教室)



- S-12-2 人工赤血球製剤の血液学的, 免疫学的安全性
東 寛¹⁾, 藤原満博²⁾, 酒井宏水³⁾
(旭川医科大学¹⁾, 北海道ブロック血液センター²⁾, 奈良県立医科大学³⁾)
- S-12-3 人工酸素運搬体ヘモグロビン小胞体の体内動態解析に基づく安全性評価
小田切優樹¹⁾, 田口和明¹⁾, 丸山 徹²⁾, 酒井宏水³⁾, 小林紘一⁴⁾
(崇城大学薬学部¹⁾, 熊本大学薬学部²⁾, 奈良県立医科大学³⁾, 慶應義塾大学医学部⁴⁾)
- S-12-4 人工赤血球製剤による救命救急の可能性
木下 学¹⁾, 高瀬凡平²⁾, 田中良弘³⁾, 西川可穂子³⁾, 萩沢康介⁴⁾, 柳川錬平⁵⁾, 斎藤大蔵⁶⁾, 酒井宏水⁷⁾,
関 修司¹⁾
(防衛医科大学校免疫微生物¹⁾, 防衛医科大学校集中治療部²⁾, 防衛医科大学校救急部³⁾,
防衛医科大学校生理学⁴⁾, 防衛医科大学校防衛医学⁵⁾, 防衛医学研究センター外傷研究部門⁶⁾,
奈良県立医科大学化学⁷⁾)
- S-12-5 人工赤血球製剤の臨床応用を目指して: 動物モデルを用いた検討
堀之内宏久¹⁾, 酒井宏水²⁾, 泉 陽太郎³⁾, 饗庭 了⁴⁾, 勢司泰久⁵⁾, 小林紘一⁶⁾
(さいたま市立病院呼吸器外科¹⁾, 奈良県立医科大学化学教室²⁾,
埼玉医科大学総合医療センター呼吸器外科³⁾, 慶應義塾大学医学部⁴⁾)

シンポジウム 13 学会認定・自己血輸血医師看護師制度の課題—認定取得看護師はどこまで責任を負えるか—
(第25回学会認定・自己血輸血医師看護師制度協議会指定セミナー)

(共催: 協和発酵キリン株式会社/川澄化学工業株式会社/ヘモネティクスジャパン合同会社)

5月17日(土) 9:30~11:00 第5会場(奈良県新公会堂 1F 会議室1+2)

座長: 脇本 信博(帝京大学医学部附属病院整形外科)

面川 進(秋田県赤十字血液センター)

- S-13-1 基調報告—学会認定・自己血輸血医師看護師制度の課題と今後の展開
脇本信博
(帝京大学医学部附属病院整形外科)
- S-13-2 看護師の立場から一当院における貯血式自己血採血の現状
足立栄子
(社会福祉法人函館厚生院函館五稜郭病院看護部)
- S-13-3 看護師の立場から一当院の自己血貯血時体制について
村田真由美, 石田涼子, 上田恭典
(倉敷中央病院血液治療センター)
- S-13-4 医師の立場から一貯血式自己血輸血における貯血時の安全性確保への取り組み
中村文彦
(天理よろづ相談所病院臨床検査部)
- S-13-5 医師の立場から一中電病院における自己血輸血の現状
高橋和寛
(中国電力(株)中電病院整形外科)

シンポジウム 14 輸血医療における看護師の役割

5月17日(土) 11:00~12:30 第5会場(奈良県新公会堂 1F 会議室1+2)

座長: 田崎 哲典(東京慈恵会医科大学附属病院輸血部)

梶原 道子(国立大学法人東京医科歯科大学医学部附属病院輸血部)

- S-14-1 市中病院における臨床輸血看護師の役割
大西まり, 森尾志保
(伊勢赤十字病院看護部)

シンポジウム 12 輸血治療を補完する人工赤血球製剤の効力と安全性

S-12-1 人工赤血球 (ヘモグロビン小胞体) 製剤の開発状況

奈良県立医科大学化学教室
酒井宏水

輸血代替の創製を目的として開発されて来た人工赤血球 (Hb 小胞体) 製剤は、血液と同等の酸素運搬機能をもつ濃厚な微粒子分散液である [平均粒子径: 250 nm, [Hb] = 10g/dL, 粒子占有体積 (Hct に相当): 40% 程度; 酸素親和度 (P_{50}) = 25-28 torr]。日本赤十字社から研究用として譲渡を受けた非使用赤血球 (期限切れ) をもとに、加熱処理とナノフィルトレーションを経て高純度・高濃度 Hb を調製し、リン脂質小胞体内に封入する。この時点で「ナマモノ」から「物質」に変換されたといえる。Hb 小胞体は、赤血球と類似のカプセル構造により NO 捕捉など Hb の副作用を遮断する。我々は厚生労働科学研究として本製剤の製造法を確立するとともに、非臨床試験により有効性と安全性について検討して来た。出血性ショック蘇生液として、また体外循環回路補填液としての有効性などを明らかにするとともに、製剤の特性 (小粒子径、酸素親和度の調整、比較的高い粘性、CO 結合性) を活かし、輸血では対応の出来ない疾患や治療など、新しい臨床応用の可能性も実証してきた。他方、人工赤血球製剤の安全性については、投与量が一人当たり数リットル以上になることも想定されるので、生体に対する影響を注意深く検討してきた。本シンポジウムでは、人工赤血球の微粒子分散液にどのような性質があるのか、また、これまでに明らかになった輸血代替としての効力と安全性について理解を深めていきたい。

S-12-2 人工赤血球製剤の血液学的、免疫学的安全性

旭川医科大学¹⁾、北海道ブロック血液センター²⁾、奈良県立医科大学³⁾
東 寛¹⁾、藤原満博²⁾、酒井宏水³⁾
TEL: 0166-68-2481 FAX: 0166-68-2489 E-mail: azuma5p@asahikawa-med.ac.jp

我が国の人工酸素運搬体は、脂質二分子膜 (リボソーム) にヒトヘモグロビンを内包した、いわゆる細胞型人工赤血球で、Hemoglobin vesicle (HbV) と呼称されている。その酸素運搬能は、ヒト赤血球のそれと遜色がない。実際に脱血モデル動物を用いた実験では血液代替物として安全に使用できることが示されている。その血液代替物としての使用を考えると、通常のリボソーム製剤での投与量を遥かに越える量のリボソームを投与することになり、予期せぬ副作用の発症が懸念される。その為に、開発に際して、大量投与に伴う有害事象が様々な角度から検討されてきた。我々は、HbV のヒトあるいはラットの血液成分に与える影響を *ex vivo* あるいは *in vivo* で検討してきた。即ち、HbV が血小板、好中球、補体系等と直接接触することによりいかなる影響を受けるかについて検討を行なった。生命に危険を及ぼすと考えられる重大な副作用や、軽微であっても長期に持続する無視できない副作用は観察されず、結果として、そのすぐれた生体適合性を実証してきた。また、投与された HbV は細網内皮系に速やかに取り込まれることが示されている。そのことが免疫応答に与える影響についても、詳細な検討が行われている。その結果 1) HbV を投与後に採取したラットの脾細胞では特異的および非特異的の刺激に対する T 細胞増殖反応が一過性に抑制される。2) しかし、その抑制は HbV 投与後 1 週間程度で完全に解除される。3) この抑制には一酸化窒素が関与している。4) HbV の投与によっても外来抗原に対する生体の抗体産生反応は抑制されない、ことを明らかにした。これらの結果から、HbV を投与することにより、一過性に T 細胞増殖能に影響が与えられる可能性はあるものの、重篤な免疫不全状態が長期わたり持続する可能性は極めて少ないと判断される。本シンポジウムでは、以上の諸々の知見についての実際のデータを紹介し、HbV の安全性について再考する。