

(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2016-505159

(P2016-505159A)

(43) 公表日 平成28年2月18日(2016.2.18)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/48 (2006.01)	GO 1 N 33/48 B	2 GO 4 5
	GO 1 N 33/48 E	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 20 頁)

(21) 出願番号 特願2015-556160 (P2015-556160)
 (86) (22) 出願日 平成26年1月31日 (2014.1.31)
 (85) 翻訳文提出日 平成27年9月30日 (2015.9.30)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2014/014089
 (87) 国際公開番号 W02014/121041
 (87) 国際公開日 平成26年8月7日 (2014.8.7)
 (31) 優先権主張番号 61/759,742
 (32) 優先日 平成25年2月1日 (2013.2.1)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 595117091
 ベクトン・ディキンソン・アンド・カンパニー
 BECTON, DICKINSON AND COMPANY
 アメリカ合衆国 ニュー・ジャージー 07417-1880 フランクリン・レイクス ベクトン・ドライブ 1
 1 BECTON DRIVE, FRANKLIN LAKES, NEW JERSEY 07417-1880, UNITED STATES OF AMERICA
 (74) 代理人 100099623
 弁理士 奥山 尚一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 接触経路抑制添加剤を含む血液採集装置

(57) 【要約】

抗凝固剤と、トロンビン生成のための接触経路の抑制によって凝固時間を遅延させる添加剤とを含む血液を採集するための装置を開示している。添加剤は、それぞれがトロンビン生成のための接触経路の媒介又は抑制をするのに効果的な量含まれる、ファクターX I 阻害剤、ファクターF X I I 阻害剤、カリクレイン阻害剤、これらの組み合わせのうち少なくとも一つである接触経路阻害添加剤である。本装置を含むキットと本装置の作り方及び使い方の方法もまた提供されている。

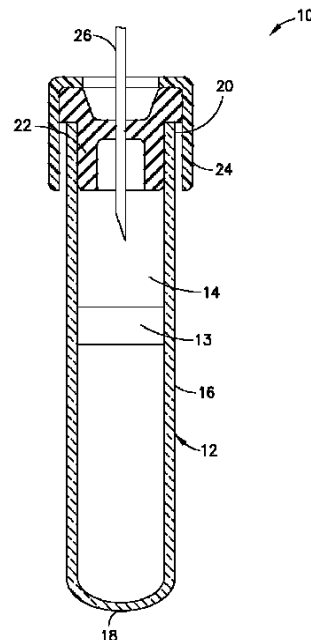


FIG.1

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

血液サンプルを受けるためのリザーバー部を規定する第一端と第二端と少なくとも一つの内壁とを有し、前記リザーバーは、ファクター X I 阻害剤と、ファクター X I I 阻害剤と、カリクレイン阻害剤と、これらの組み合わせとのうちの少なくとも一つを含むトロンビン生成のための接触経路を阻害するのに効果的な分量の添加剤と、抗凝固剤とを含むものである、血液又はその成分を採集及び安定化するための装置。

【請求項 2】

滅菌かつ減圧されており、さらに針で貫通可能な蓋を含む、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 3】

チューブである、請求項 2 に記載の装置。

【請求項 4】

さらにセパレーターを含む、請求項 3 に記載の装置。

【請求項 5】

前記添加剤はファクター X I 阻害剤を含み、該阻害剤は抗ヒト F X I 抗体である、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 6】

前記添加剤はカリクレイン阻害剤を含み、該カリクレイン阻害剤はアプロチニンである、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 7】

前記添加剤はファクター X I I 阻害剤を含み、該ファクター X I I 阻害剤はコントリプシンである、請求項 6 に記載の装置。

【請求項 8】

前記添加剤は、抗ヒト F X I 抗体と、コントリプシン阻害剤とから成るグループから選ばれる少なくとも一つの他の阻害剤と、アプロチニンとの組み合わせを含む、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 9】

前記接触経路阻害添加剤は、乾燥した形態である、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 10】

前記抗凝血剤はクエン酸ナトリウムである、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 11】

血液又は血液成分を含む組成物を、リザーバー部を規定する第一端と第二端と少なくとも一つの内壁とを有する装置に導入することを含み、前記リザーバーは、抗凝血剤と、ファクター X I 阻害剤と、ファクター X I I 阻害剤と、カリクレイン阻害剤と、これらの組み合わせとのうちの少なくとも一つを含む接触経路阻害添加剤とを含み、接触経路阻害添加剤は、トロンビン生成のための接触経路の阻害に効果的な量存在している、血液を安定化する方法。

【請求項 12】

前記組成物は、採血された血液サンプルである、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記組成物は、多血小板血漿 (P R P) である、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 14】

前記接触経路阻害添加剤は、ファクター X I 阻害剤を含み、該ファクター X I 阻害剤はヒト抗ファクター X I 抗体である、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 15】

前記接触経路阻害添加剤は、ファクター X I I 阻害剤を含み、該ファクター X I I 阻害剤はコントリプシン阻害剤である、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 16】

前記接触経路阻害添加剤は、ファクター X I 阻害剤と、ファクター X I I 阻害剤と、カリクレイン阻害剤との組み合わせを含み、前記カリクレイン阻害剤は、ファクター X I 阻

10

20

30

40

50

害剤及びファクター X I I 阻害剤の上流で血液又は血液組成物と接触するように配置されている、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記カリクレイン阻害剤はアプロチニンである、請求項 1 6 に記載の方法。

【請求項 1 8】

血液又は血液成分を含む組成物を、血液又は血液成分を含む血液組成物を受け取るためのリザーバー部を規定する第一端と第二端と少なくとも一つの内壁とを有する装置に導入し、該リザーバーは、ファクター X I 阻害剤と、ファクター X I I 阻害剤と、カリクレイン阻害剤と、これらの組み合わせとの中の少なくとも一つを含むトロンビン生成のための接触経路を阻害する添加剤と、抗凝固剤とを含み、前記ファクター X I 阻害剤は、抗ヒト F X I 阻害剤であり、前記カリクレイン阻害剤は、トロンビン生成のための接触経路を阻害するために効果的な濃度のアプロチニンである、インビトロ分析のために血液を取り扱う方法。

10

【請求項 1 9】

血液又は血液成分を含む組成物の採集装置を少なくとも一つ含むキットであって、前記装置は、血液又は組成物を受けるためのリザーバー部を規定する第一端と第二端と少なくとも一つの内壁とを有し、該リザーバーは、ファクター X I 阻害剤と、ファクター X I I 阻害剤と、カリクレイン阻害剤と、これらの組み合わせとの中の少なくとも一つを含むトロンビン生成のための接触経路を阻害する添加剤と、抗凝固剤とを含み、前記ファクター X I 阻害剤は抗ヒト F X I 阻害剤であり、前記カリクレイン阻害剤は、トロンビン生成のための接触経路を阻害するために効果的な濃度のアプロチニンである、キット。

20

【請求項 2 0】

滅菌かつ減圧されており、さらに針で貫通可能な蓋を含む、請求項 1 9 に記載のキット。

【請求項 2 1】

チューブである、請求項 2 0 に記載のキット。

【請求項 2 2】

さらにセパレーターを含む、請求項 2 1 に記載のキット。

【請求項 2 3】

前記添加剤はファクター X I 阻害剤を含み、該阻害剤は抗ヒト F X I 抗体である、請求項 1 9 に記載のキット。

30

【請求項 2 4】

前記添加剤はカリクレイン阻害剤を含み、該カリクレイン阻害剤はアプロチニンである、請求項 1 9 に記載のキット。

【請求項 2 5】

前記添加剤はファクター X I I 阻害剤を含み、該ファクター X I I 阻害剤はコーントリプシン阻害剤である、請求項 2 4 に記載のキット。

【請求項 2 6】

前記添加剤は、抗ヒト F X I 抗体とコーントリプシン阻害剤とから成るグループの中から選択された少なくとも一つの他の阻害剤と、アプロチニンとの組み合わせを含む、請求項 1 9 に記載のキット。

40

【請求項 2 7】

前記接触経路阻害添加剤は、乾燥した形態である、請求項 1 9 に記載のキット。

【請求項 2 8】

前記抗凝固剤は、クエン酸ナトリウムである、請求項 1 9 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本出願は、接触経路抑制添加剤を含む血液採集装置に関するものであり、2 0 1 3 年 2

50

月 1 日に出願された米国仮出願第 6 1 / 7 5 9 7 4 2 号の出願日の利益を主張し、その開示は参照することによって本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

血液と血漿 (plasma) が、最終的にフィブリン (fibrin) を形成する凝固経路を活性化させる状態に晒されると凝塊するという事は、よく知られている。フィブリン自体は、トロンビン (thrombin) の活性を通じて形成される、つまりそれはトロンビン生成の結果によるものである。トロンビン生成は、活性トロンビンを造る共同経路に最終的に集約される複数の異なる因子 (ペプチダーゼ類: peptidases) を含む 2 つの酵素的なカスケードによって開始される。トロンビン形成を生じさせる 2 つのカスケードは、組織因子 (TF) 凝固経路 (外因性経路: extrinsic pathway としても知られている) と、接触凝固経路 (内因性経路: intrinsic pathway としても知られている) である。この TF 経路は、血管損傷 (たとえば、静脈穿刺: venipuncture) と共に生じる内皮と内皮細胞下に発現した TF への循環ファクター VII (circulating factor VII) の露出により開始される。その後のファクター VII のファクター VII a への変換によって、TF - VII a 複合体が生じ、この複合体がファクター X からファクター X a (ファクター X の活性体) への変換を、直接的に、あるいは X を X a に変換することができるファクター IX a (活性化した IX a) へのファクター IX からの変換を介するものとの両方を通じて促進する。ファクター X a の生成によって、プロトロンビン (prothrombin) のトロンビンへの変換が促進される。そして、トロンビンは、フィブリノーゲン (fibrinogen) をフィブリンへ変換できる。

10

20

【0003】

トロンビンはまた、接触凝固経路又は内因性凝固経路を経て生み出され、これは、血液が外部の表面 (特に負に帯電した表面) に接触したときに生じる。生体外接触経路活性剤の例としては、ガラス、シリカ、カオリン (kaolin) や、活性はより低いプラスチックが含まれる。この接触による経路は、ファクター XII a (ファクター XII の活性体) の形成を結果としてもたらず活性表面上に組織するファクター XII、ファクター XI、高分子量のキニンゲン (kininogen: HMK)、プレカリクレイン (prekallikrein) を含む酵素の集まりによって開始される。カリクレイン (プレカリクレインの活性体) は、タンパク分解によりファクター XII a を生み出すことができ、このファクター XII a はプレカリクレインをタンパク分解によりカリクレインに変換することができる。これらのインタラクションの正味の効果は、血液内のファクター XII a の増幅及び蓄積と、ファクター XI のファクター XI a への更なる変換とによる接触凝固経路の開始である。そしてファクター XI a は、ファクター IX からファクター IX a への変換を触媒する。ここからは、上述した接触経路と TF 経路は、同じコース (共通の経路) をたどる。

30

【0004】

血液採集の間、血液は、カニューレ (cannula)、管、血液格納装置の壁 (すなわち減圧された血液採集チューブの壁) のような、外の表面にさらされる。この接触は上述したように、結果としてファクター XII を活性ファクター XII a (FXII a) へと変換する内因性 (接触) 凝固経路を活性化する。もし放置されれば、FXII a は FXI を FXI a へと変換し、そして FXI を FXI a へと変換する。このカスケードは最終的に、活性トロンビンの生成と、フィブリンクロットの形成という結果を生む。

40

【0005】

血液サンプルが採集される時、クロット (凝血塊) の形成を抑制することが望ましい。トロンビンの形成とフィブリンクロットの生成を減らすのを助けるために、クエン酸ナトリウム (sodium citrate) のようなキレート剤が血液採集チューブに加えられている。血液にクエン酸ナトリウムが混じると、ファクター XI a、ファクター IX a、ファクター X a のカルシウム依存性の活動が阻止され、トロンビンの生成が阻まれ、故にクロットの形成が抑制される。

【先行技術文献】

50

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】米国特許US7309468号公報

【特許文献2】米国特許US5860937号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

この他の方法として、接触凝固回路を介したトロンビンの生成を阻む技術が知られている。これらの方法の中には、ファクターX IのファクターX I aへの変換に介在するファクターX I I aを直接的に抑制する、ファクターX I I aの活性を抑制するものがある。コーントリプシン阻害剤 (corn trypsin inhibitor: C T I) は、ファクターX IからファクターX I aへの変換に介在するファクターX I I aを抑制する技術における一つの阻害剤として知られている。しかしながら、C T Iを接触凝固経路によるトロンビン生成の抑制に使用することには、複数の問題が存在する。このような問題の一つとしては、カリクレイン - キニン系 (kallikrein-kinin system) の関与を介しておきる蓄積されたファクターX I I aの増幅がある。その他の問題としては、C T Iを含む血液採集チューブが、滅菌できないことで、それ故一定の臨床応用場面において使用できない。

10

【0008】

トロンビンの生成とクロットのできることを監視するのに使われる二つのアプリケーションは、トロンボエラストグラフィ (Thrombelastography: T E G) と自動校正トロンボグラム (Calibrated Automated Thrombogram: C A T) の分析 (assay) である。T E Gは、手術と麻酔において、他のテスト (例えばa P P T) がすることができない血小板の機能、クロットの強さ、フィブリン溶解反応を評価するための重要な分析法である。T E Gは、患者の血液を採取し、4 °から45 °のある角度で穏やかに回転 (例えば、1分間に6回) することにより、凝固を測定する。T E Gに使用される、採集装置の中に置かれた細いワイヤーは、トロンビンの生成によるクロットの形成を測定する。接触経路によるトロンビンの生成は、テストに使用される導管が容器に依存して、T E Gの結果を歪め得る。

20

【0009】

C A T分析は、患者の凝固性低下表現型 (hypocoagulable phenotype) 又は凝固亢進表現型 (hypercoagulable phenotype) の調査に使われるツールである。この分析では、トロンビンの生成は、T Fや、リン脂質類 (phospholipids)、C a C l₂によって誘発される。この分析はT Fによるトロンビンの生成に依存しているので、接触経路に基づくトロンビンの生成はC A T分析の結果を歪める。

30

【0010】

それ故、T E G分析とC A T分析の両方のために採集された血液サンプルの中のトロンビンの生成の接触凝固経路を選択的に阻害する組成物と方法が求められている。このような組成物と方法は、血液採集テストに使用される実験用導管又は容器から独立していることが好ましい。

【課題を解決するための手段】

40

【0011】

本発明における一側面は、血液 (例えば、全血サンプル)、又は血液のある成分 (例えば、血漿) を含む組成物を採集するための血液又はその成分を受けるためのリザーバー部分を規定する第一端と第二端と少なくとも一つの内壁とを有する装置に向けられている。このリザーバーは、接触凝固経路の活性化によって媒介される血液又は血液の成分の中におけるトロンビンの生成を安定化するのにそれぞれ効果的な量であり、接触凝固経路の活性化を妨げる添加剤、あるいはいくつかの添加剤の組み合わせを含む。これらの添加剤は、トロンビンの生成を導く接触凝固経路を抑制するもので接触凝固経路阻害剤と呼ばれている。出願人は、特定の理論に抑えられることを望んでいないが、ここで考えられる添加剤は、ファクターX I a (F X I a) の活性、ファクターX I I aの活性、カリクレインの

50

活性、又はこれらのどれかの組み合わせのうちの少なくとも一つをブロックするものであると考えている。F X I aの活性をブロックすることは、同時にF X I Iの阻害を必要とせず、とても強い効果を持つ。一つの実施態様においては、クエン酸ナトリウム減圧血液採集チューブと接触経路阻害剤の組み合わせの使用は、このようなチューブにおいて採集された血液の凝固時間を大いに延ばす。いくつかの実施例においては、採集装置は、針（例えば、血液をリザーバーに供給するため）を突き刺すことが可能な蓋が取り付けられており、滅菌かつ減圧になっている。

【0012】

本発明のその他の側面は、接触凝固経路を阻害しつつ血液又はその成分（例えば血漿）を含む組成物を採集する方法であって、血液又は組成物を受けるリザーバー部を規定する第一端と第二端と少なくとも一つの内壁とを有し、リザーバー内にクエン酸塩（citrate）に加えて接触経路阻害添加剤（これに添加する意味で）が配置されている装置に、血液又は組成物を導入することを含む方法に向けられている。特定の実施例においては、添加剤はカリクレイン阻害剤である。その他の実施例における添加剤は、i) 抗ヒトF X I抗体を例とするがこれに限られないファクターX I阻害剤と、ii) ファクターX I I阻害剤と、iii) カリクレイン阻害剤と、iv) i、ii、iiiのうちいずれかの組み合わせとのうちの少なくとも一つを含む。ファクターX I I阻害剤の例としては、コントリプシン阻害剤があるが、これに限るものではない。カリクレイン阻害剤の例としては、アプロチニンがあるが、これに限るものではない。アプロチニンの量は、トロンビン生成を抑制するのに有効な量である。そのような量は、血液が採集及び保存されるチューブ内で、ブロードベースセリンプロテアーゼ阻害剤として使用される際のアプロチニンの存在量を超える。このチューブは、典型的には、ここに記載したチューブ内に「EDTA」及びその他の安定剤を含む。採集及び格納の後、血液又は組成物は、例えば、診断分析又は治療目的に利用することができる。カリクレイン阻害剤の濃度は、サンプル（例えば血液）中に（例えばアプロチニンは）約500カリクレイン阻害剤単位（kallikrein inhibitor units: KIU）から約5000 KIU/mLである。抗ヒトファクターX I a抗体（もし存在するならば）の濃度は、サンプル（例えば血液）中に約2 µg/mLから約4 µg/mLである。

【0013】

本発明の更なる側面は、このような装置（デバイス）を少なくとも一つ（また、好ましくは複数のこのような装置）を含むキット又はパッケージを対象としている。

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】本発明の添加剤が置かれた従来の減圧採集チューブの概略図である。

【図2A】各種素材から作られたチューブについてクエン酸添加の場合の凝固時間を比較した表である。

【図2B】図2Aのデータを含むグラフである。

【図3A】様々な素材のチューブから供給されるクエン酸を添加した血漿の、TFの存在下、不存在下の両方におけるトロンビン生成の分析の実績を比較した表である。

【図3B】図3Aの値を得るためのトロンビン生成カーブのグラフである。

【図4A】アプロチニン（aprotinin）を使用したファクターX I I aの上流での接触凝固経路の投与量依存性の阻害を示すグラフのセットである。

【図4B】組織因子（TF）無しで、自動校正トロンボグラム（CAT）分析を使用した際のトロンビン生成カーブ（接触凝固経路におけるガラス製品とプラスチック製品の影響の大きさを示している）と、ここに記載した添加剤による緩和状況を示すグラフである。

【図5A】クエン酸塩ガラスチューブで培養（incubated）されたサンプルから、クエン酸添加ネイティブ全血液の凝固時間を延長するモノクローナル抗F X I抗体の投与量依存性を示すグラフである。

【図5B】TFの不存在下で、抗ファクターX I抗体による、ファクターX I I aの下流での凝固経路の活性の緩和を示すグラフである。

10

20

30

40

50

【図6】TFによるトロンビン生成とトロンビン活性を維持しつつ、アプロチニンと抗ファクターXI抗体による接触凝固経路における選択的な阻害を示すグラフである。

【図7】抗ファクターXI抗体を用いたアプロチニンとファクターXI阻害によるカリクレインの選択的阻害がCTIを用いてファクターXI Iaを阻害する接触凝固経路の緩和と等価の接触経路の緩和を提供することを示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0015】

広範には、本発明の採集装置は、テストチューブや遠心分離機のチューブのようなチューブ、採集バッグのようなクローズド血液採集システム、特にプレフィル注射器を含む注射器、カテーテル、マイクロタイタープレートとマルチウェルプレート、アレイ (arrays)、管類 (tubing)、フラスコのような実験用容器、スピナーフラスコ、ローラーボトル、試料瓶 (vials)、マイクロスライダー、顕微鏡スライダアッセンブリー、カバーガラス、フィルムと多孔性基板とそのアッセンブリ、ピペットとピペットチップ、組織や他の生体サンプル採集容器、生体サンプルを収容するためのその他の容器、同様にサンプルを移す容器と要素を含む採集装置を包含することができる。このような装置の例と記載は、Stevensらに付与された米国特許7309468号公報で一般に公開されている。本装置は、減圧及び滅菌されていてもよく、針で貫通可能な蓋を含んでいてもよい。あるいは、この装置は、部分的に減圧されていても、減圧されていても良い血液採取システムである。減圧システムの適合する例は、閉じたチューブである。手動の注射器吸引は、部分的に減圧された吸引システムと減圧されていない吸引システムの両方に適合する例である。減圧されていないシステムは、自動吸引システムを含んでいても良い。

10

20

【0016】

図1 (米国特許7309468号公報にも記載されている) は、典型的な血液採集装置10を示しており、この装置10は、内部のチャンバー (chamber) 又はリザーバー14を規定又は画定する容器12を含んでいる本発明に有用である。例に記載の通り容器12は、側壁16、閉鎖された下端18、開放された上端20を有する中空のチューブである。任意選択的に、セパレーター13はコンテナチャンバー14の中に備えられる。セパレーター13は、例えば遠心分離によって、血液サンプル中の成分の分離のアシストを提供する。容器12は適量の血液を採集するための大きさになっている。開放端20をカバーして容器12を閉じる蓋手段22は、滅菌製品が要求された場合に必要である。いくつかの実施例においては、チューブはスクリュキャップ用の構造をしている。好ましくは、蓋22は、容器12を効果的に閉じることができる封止を形成し、チャンバー14で生体サンプルを保存する。蓋22は、(これに限らないが) ゴムの蓋、「HEMOGUARD (登録商標)」の蓋、金属のシール、金属バンドがあるゴムシール、異なるポリマーやデザインのシールを含む、様々なもののうちの一つであっても良い。保護シールド24は、蓋22の上に重ねても良い。

30

【0017】

容器12は、例えばプラスチック (例として、ポリオレフィン類、ポリアミド類、ポリエステル類、シリコン類、ポリウレタン類、エポキシ類、アクリル類、ポリアクリレート類、ポリスルホン類、ポリメタクリル酸塩類、ポリエーテルエーテルケトン (PEEK)、ポリイミドとフッ素重合体) を含む実験容器に適合するように、作ることができる。好ましくは、容器12は透明であるとよい。容器12に適合する透明な熱可塑性のプラスチック素材の例としては、ポリカーボネート類、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリエチレンテレフタレートが含まれる。プラスチック素材は、酸素不透過性とすることができ、又は、酸素不透過性が半透過性の層を含むものとすることもできる。また代替的には、容器12は水と空気を通すプラスチック素材で作ることもできる。

40

【0018】

チャンバー14の圧力は、チャンバー14に所定の量の生体サンプルを引き込むように選択されている。好ましくは、蓋22は、大気圧と大気圧以下の圧力の間で、内部圧力差を保つことができる弾性のある材料で作られている。蓋22は、針26又生体サンプル

50

を容器 1 2 に導くものとして知られるその他のカニューレで貫通が可能である。好ましくは、蓋 2 2 は再び閉じることができる。蓋 2 2 に適合する素材は、例えば、シリコーンゴム、天然ゴム、スチレンブタジエンゴム、エチレンプロピレン共重合体、ポリクロロブレンを含んでいる。

【 0 0 1 9 】

容器 1 2 の適合する例は、単壁で複数層があるチューブを含んでいる。容器 1 2 に適合する、さらなる詳細な例は、米国特許 5 8 6 0 9 3 7 号公報に開示されている。

【 0 0 2 0 】

容器 1 2 はまた、例えば、ゲル、機械式セパレーター、その他のタイプのセパレート部材（例えばフィルターペーパーのようなもの）を含むセパレーター 1 3 を含んでも良い。セパレーターは、一般に、血漿の処理のため、特にヒトや動物の全血から血漿を分離するのに有用である。いくつかの実施例においては、セパレーターは、白血球と血小板との間の中間の密度を持っており、これは P R P を全血サンプル中のその他の細胞要素から隔離するのに有用である。このゲルは、望ましくは、チキソトロピー重合ゲル製剤（thixotropic polymeric gel formulation）である。このゲルは、同種重合体又は共重合体、例えばポリアクリル類、ポリエステル類、ポリオレフィン類、酸化されたシス-ポリブタジエン類、ポリブテン類、エポキシ化大豆油と塩素化炭化水素類の混合物、二塩基酸とプロパンジオールの共重合体、水素化されたシクロペンタジエン類、ジアルキルマレイン酸エステル類（dialkylmaleates）とアルファオレフィン類の共重合体でもよい。本発明に有用な機械式セパレーターの例は、米国特許 6 5 1 6 9 5 3 号公報、同 6 4 0 6 6 7 1 号公報、同 6 4 0 9 5 2 8 号公報、同 6 4 9 7 3 2 5 号公報に記載されている。

10

20

【 0 0 2 1 】

容器 1 2 はまた、リンパ球と単球（monocytes）を、全血サンプル中のより重い相から遠心分離するのに適合するものであってもよい。このような実施例では、この装置はまた、液体密度勾配媒体（liquid density gradient medium）と、遠心分離の前に液体密度勾配媒体を血液サンプルに混ぜる手段を含む。リンパ球 / 単球採集チューブに適した例は、米国特許 5 0 5 3 1 3 4 号公報に開示されている。

【 0 0 2 2 】

その他の実施例では、この装置は、試験カートリッジ内に統合されたりザーバーを含んでもよく、このリザーバーは 2 ~ 2 0 0 μ L（より好ましくは、5 0 ~ 1 5 0 μ L）の範囲の全血を収容できる。このようなカートリッジは、例えば、i-STAT（登録商標）Point of Care System という名前で Abbott Laboratories（Abbott Park, Illinois）によって販売されており、カートリッジに適合することができるハンドヘルド分析器と一緒に使うことができる。このような、本発明と一緒に使える、カートリッジとハンドヘルド分析器の例としては、i-STAT（登録商標）PT/INR カートリッジや、i-STAT（登録商標）1 ハンドヘルド分析器がそれぞれ含まれる。

30

【 0 0 2 3 】

いくつかの実施例においては、この装置は注射器である。注射器アセンブリは、オープンな近端と、遠端と、これらの近端と遠端の間の血液を受けるための滅菌された胴体（barrel）と、オープンな近端にあるプランジャー（plunger）と、胴体に固定された針と、チャンパー内にある血小板安定化剤（platelet stabilizing agent）とを有していてもよい。

40

【 0 0 2 4 】

本発明に係る装置は、公知の技術による素材、試薬、工程で作られ、又は組み立ててもよい。例として、そのような一つの方法は、少なくとも一つの影響経路阻害剤（ここに記載したものは乾燥されたもの、凍結乾燥されたもの、液状のものでもよい）を、トロンビン生成に媒介される影響経路を安定にするか又は抑制するのに効果的な分量で含んでおり、また、任意選択的にセパレーター部材を装置に加え、装置を減圧又は滅菌し、或いはその両方を行う。

【 0 0 2 5 】

50

ここで使っている用語「血液」及び「血液サンプル」は、全血又は血液の成分（例えば、血液のある成分を含むその他の体組織又は流体）、特にその細胞成分を意味するものであり、例えば、赤血球の濃縮物、血小板の濃縮物（例えば、多血小板血漿：platelet-rich plasma (PRP)）、血漿及び血清を含む。したがって、その他の実施例においては、サンプルは、血液細胞又は未成熟の血液細胞（骨髄のようなもの）を含む体液又は組織であってもよい。

【0026】

図2Aと2Bは、Thrombelastograph（登録商標）（TEG）5000 Hemostasis Analyzerを使用した様々な素材で作られたチューブのカルシウム再加凝固時間(recalcified clotting time)を比較した表とグラフである。市販のクエン酸ヒト全血（commercial citrate human whole blood）を使用したクエン酸自然血TEGは、BD Vacutainer（登録商標）369714というガラスクエン酸塩チューブが、363083の品番のプラスチッククエン酸塩チューブと比較して、とても大きなプロコアギュラント活性（procoagulant activity）を有することを示している。簡潔には、BD Vacutainer（登録商標）369714ガラス及び363083プラスチッククエン酸塩チューブは、クエン酸塩添加物を除去するために洗浄され、乾燥された。その後、チューブは、クエン酸ヒト全血の市販のバッグを使用して、その容量まで満たされる。サンプルは、室温で、血液がチューブの壁の表面素材と接触するよう穏やかな振動と共に15分間培養された。最終的に、全血の凝固時間はカルシウム再加とTEGの結合を使用して測定された。これらの結果は、プラスチッククエン酸塩チューブは、ガラスチューブと比べて、分析前（pre-analytically）に誘導された凝固時間の加速の緩和を提供することを明確に示している。出願人は、特定の理論に抑えられることを望んでいないが、この違いはシリコン処理されたガラス製品における凝固経路のより大きな活性化によるものだと信じている。さらに、強い凝固経路活性剤の不存在下で実施された高敏感凝固分析のみが、これらの違いに敏感であることは重要である。

【0027】

図3Aと3Bは、自動校正トロンボグラム（Calibrated Automated Thrombogram：CAT）分析を使用した、様々な素材から作られたチューブから得られるクエン酸血漿からのトロンビン生成を比較した表とグラフである。このCAT分析は、凝固の測定よりむしろ、カルシウム再加した血小板サンプルにおけるトロンビン生成の定量的な測定を提供するために、トロンビンの存在下で開裂する蛍光性基質の使用をキャリブレーターと組み合わせる。この分析は、組織因子（TF）に反応した臨床試験サンプルにおけるトロンビン生成プロファイルを調べるために多く使用される。組織因子は、トロンビン生成のために接触経路を用いないので、この分析法は接触による活性化に対して信じられないほど敏感である。図3Aに示す通り、トロンビン生成の時間差（lag times）及びピークまでの時間（time to peak）は、1 pMのTFの存在、不存在下の両方において、シリコン処理されたガラスチューブからのクエン酸血小板サンプルにおけるものが、プラスチックチューブからのものよりも大きく下回る。これらの結果は明確に、一般の血液格納装置に用いられる異なる表面素材が、様々なトロンビン生成の速度をもたらすことを示している。さらに、シリコン処理されたガラスによるクエン酸血小板サンプルにおける、ピークトロンビン値もまた、プラスチックチューブから提供されたものと比較してより高く、トロンビン生成の強さもまた接触経路の活性化次第であることを示している。図3Bに含まれるグラフは、図3Aのデータ表にまとめたトロンビン生成カーブの例を提供している。

【0028】

図4は、アプロチニンと呼ばれる公知のカリクレイン阻害剤は、クエン酸ナトリウムのバックグラウンドと組み合わせて血液に加えた時に、接触経路による凝固をブロックするのに使用できることを示している。滴定（titration）を全血凝固時間（TEG R time）によって実施した。最小限の効果的な投与量は、それ以下の濃度ではシリコン処理されたガラスの平均凝固時間と同等又はそれ以下の平均凝固時間にしかならなかったため、血液毎mL中に1000カリクレイン阻害剤ユニット（1000 KIU）の濃度であるこ

とが分かった。2000 KIU/mLの濃度にしても、コートされていないガラスに納めた血液の凝固時間は、シリコン処理されたガラス又はプラスチックのいずれか一方に納めた血液の凝固時間より長くなった。これらの結果は明確に、分析前に誘発された凝固時間の減少に関する潜在的なメカニズムとして、接触凝固経路活性化があることを示しており、表面材料の選択を超えた緩和方法を示しているといえる。

【0029】

図4Bは、全血滴定結果から予見されたように、投与量に依存する態様で、アプロチニンが首尾よくトロンビンの生成を遅延及び減少させることを示している。

【0030】

図5Aは、シリコン処理されたガラスチューブで培養された全血での抗ファクターIX抗体(-FXI)の滴定を示している。この滴定は、全血の凝固時間(TEG Rtime)を評価することによって実施されている。このデータは、おおよそ5 µg/mL以上のあたりで頭打ちが起き、7.5 µg/mLの濃度がさらなる評価のために選択されたことを示している。

10

【0031】

図5Bは、TFの不存在下におけるトロンビンの生成カーブを示している。トロンビンの生成は、7.5 µg/mLの-FXIの存在下で、プラスチック又はシリコン処理されたガラスチューブのいずれに含まれる血液からも無効にされた。これらの結果は、7.5 µg/mLの単クローン性抗FXI抗体によって提供されたロバスタな緩和とともに、ガラスとプラスチック両方の製品から寄与される接触経路の寄与の大きさを示している。

20

【0032】

図6は、様々な阻害剤を含む血漿からの整合をとったaPTT、PT、TT分析(assays)を実施することによって得られた。これらの分析は当業者に良く知られており、ここには特に詳しく記載しない。アプロチニンは、aPTT分析が強力な接触経路の活性化の化学変化を利用するので、aPTTの凝固作用の投与量依存効果を示している。抗FXI抗体(7.5 µg/mL)は、aPTTの結果の中で、有意な遅延を示している。コントリプシン阻害剤(corn trypsin inhibitor: CTI)は、現在血液採集チューブに提供されているファクターXIIa阻害剤なので、コントロールとして含めた。aPTT分析の同等の抑制効果は、3つの阻害剤すべてで達成されていた。更に、これらの阻害剤の中のいずれも、凝固時間の結果を得るために、高い投与量の組織因子と外来性のトロンビンをそれぞれ利用するPT分析又はTT分析を延長する(prolong)ことはなかった。このデータは、アプロチニンが、他の血液採集アプリケーションにおいて使用される広帯域ペクトラムのセリンプロテアーゼ阻害剤として振る舞うというよりむしろ、接触凝固経路活性の抑制を選択的に行うことを示している。

30

【0033】

図7は、トロンピン生成への接触経路の寄与を緩和する目的のための、カリクレイン、ファクターXIIa、ファクターIXの抑制の比較を示している。このデータは、ファクターXIIaの上流又は下流のいずれかの接触経路をターゲットとすることが直接のXIIaのブロックと同程度に効果的となることができるという証拠を示している。しかし、アプロチニンだけが、滅菌に対して安定であり、CTIはそうではない。CTI同様、抗FXIもまた滅菌に対して不安定である。

40

【0034】

上記の結果に基づき、本発明は、i)例である抗ヒトFXI抗体を包含するファクターXII阻害剤、ii)ファクターXII阻害剤、iii)カリクレイン阻害剤、iv)i、ii、iiiの何らかの組み合わせのうち少なくとも一つを含む添加剤の使用を考慮している。ファクターXIIa阻害剤の例はコントリプシン阻害剤を含むが、これに限られない。カリクレイン阻害剤の例はアプロチニンを含むが、これに限られない。

【0035】

好ましい実施例としては、チューブは、添加剤に加えて、抗凝固剤としてクエン酸ナトリウムを含む。しかしながら、過剰なカルシウムの存在下では、クエン酸塩の穏やかなキ

50

レート効果は克服され、もしクエン酸ナトリウムが単独の抗凝固剤であるならば凝固カスケードは再度可能化されてしまう。このカスケードは、凝固活性剤の存在下で加速される。典型的には、凝固分析は、カルシウム再加の後に急速かつ強固な凝固反応を得るために、強い凝固活性剤（接触経路又は組織因子のいずれかに基づく）を利用する

【0036】

加速されたトロンピン生成は、組織因子ベースのトロンピン生成分析と組み合わせて使用されるBDバキューテナー（BD Vacutainer）ガラスクエン酸塩チューブ（BD Vacutainerは登録商標）を用いた採血の間に観察されている。ガラスは、高度な凝固性（procoagulant）がある表面であり、シリコンコーティング工程で、表面活性化を緩和するという製造努力にもかかわらず、プラスチッククエン酸塩チューブと比較して、ガラスクエン酸塩チューブ内で有意に大きな接触経路活性化が起きることを示すデータがある。プラスチッククエン酸塩チューブは、ガラスチューブに見られる接触経路活性化を部分的に緩和するが、これらは、血液貯蓄装置において蓄積しうる活性FXIIのプールを完全に緩和するものではない。コントリプシン阻害剤（CTI：corn trypsin inhibitor）は、トロンピン生成分析（一般的な例はDiagnostica StagoによるCAT分析）に対する接触経路の寄与の減少に効果のあることが分かっている広く知られたFXIIa阻害剤である。ここで、我々は、カリクレイン又はFXIをアプロチニン又は単クローン性FXI抗体のいずれかをそれぞれ使用することによって抑制することにより、トロンピン生成プロファイルへの接触経路の寄与をBD Vacutainerガラス及びプラスチッククエン酸塩チューブの両方から明らかに減少させることができることを示す。

10

20

【0037】

本発明における、ここに記載した添加剤とのクエン酸塩チューブの適正な使用は、これに限られるものではないが、ベクトン・ディキンソン・アンド・カンパニー（Franklin Lakes, NJ）によって販売されているクエン酸塩チューブ（カタログ番号366392、366393、366415、367947、369714のプラスチックチューブ、カタログ番号363080、363083のガラスチューブ）である

【0038】

一つの実施例では、添加剤は、減圧された血液採集チューブの中の他の関連する阻害剤が有り又は無しでの抗FXI抗体である。抗FXI抗体の量は、要求される製品寿命にわたる安定性、製造可能性、溶血の証拠の無いことを提供するべく選択される。

30

【0039】

その他の実施例においては、抗ヒトFXI抗体は、コントリプシン阻害剤（ファクターXII阻害剤）又はアプロチニン（カリクレイン阻害剤）又はこれらの阻害剤の何らかの組み合わせのいずれかと組み合わされる。阻害剤は、接触経路のブロックを改善し、また、あるいは、効果的なブロックを達成するのに要求されるFXIIa阻害剤の量を少なくする。その他の実施例においては、アプロチニン単独が、約1000から約5000（KIU/mL）の濃度で接触経路阻害のために使用される。

【0040】

採集装置の中には、接触凝固経路によるトロンピン生成を抑制するために効果的な分量で添加剤が存在している。添加剤がなかったなら得られたであろう凝固時間からサンプル凝固時間が伸びたときに、トロンピンの生成は抑制されたといえる。装置に含まれる、特定の添加剤及びその量又は濃度の選択は、サンプルの特性、各薬剤の効き目とその水への溶解性、要求される血液を安定させる時間、血液採集装置の容量、サンプルへの薬剤の添加に起因する溶血の大きさ、不特定の相互作用の特性と範囲（例として、血液中に血清アルブミン（serum albumin）のような、その他のプロテインが存在していることによる）を含む様々な要素に依存する。したがって、本発明の目的のために、許容される添加剤の量は、濃度のレンジとしてより便利に表現される（このレンジから薬剤の実際の量は簡単に計算される）。

40

【0041】

ここに記載されている添加剤は、インビトロ診断手順のための典型的な血液採集装置に

50

おける採集、移送、格納により誘発される接触凝固経路によるトロンビン生成を抑制又は阻害する。このような抑制はここでは接触経路阻害として表現される。

【0042】

いくつかの添加剤は更に、他のものより強力であり、従って、用途に依存して、サンプルmLあたりでより低い濃度しか必要としないであろう。

【0043】

当業者は、溶血したサンプルが、血液の採集、移送、格納のうちいずれかの間で血液細胞へのダメージが生じたという明らかな視覚的な手がかりがあると認めるだろう。溶血は、いずれかの一つの医療分析にとっても必ずしも有害なものではないが、いくつかの検査においては良く知られた干渉であり、従って溶血は避けるのが好ましい。溶血は、目視スケールで測定することができる（例えば、マイルド又はわずかなピンク色、穏やか又は目立つ赤色、極端な又は暗い赤色）。溶血は、ヘモグロビン自体の赤色の分光器測定によってもまた測定することができ、また、血清又は血漿に放たれたヘモグロビンの濃度で報告することもできる。（例として、20mg/dLの濃度以下のリリースされたヘモグロビン、又はヘモグロビン濃度を目視又は分光法で測ることができない程度なら「少し又は無視できるほどの」溶血を意味し、約20～100mg/dLは「マイルドな」溶血を意味し、約100～300mg/dLは「モデレートな」溶血を意味し、約100mg/dL以上は「激しい」溶血を意味する）

10

【0044】

接触凝固経路媒介トロンビン生成阻害剤は、溶液、懸濁液（suspension）又は液体、ペレット、タブレット、カプセル、噴射乾燥材料、フリーズドライ材料、パウダー、粒子、ゲル、結晶、又は凍結乾燥（lyophilized）した材料を含む何らかの適切な形態であってよい。血液安定化剤は、好ましくは、安定化剤の貯蔵寿命が最適化されるような形態で容器のリザーバーの中に導入される（すなわち、結果として効力の削減につながる血液安定化剤の変質（degradation）を防ぐように）。リザーバー中の配置に加えて、接触凝固経路媒介トロンビン生成剤を、本装置のいずれかの表面に配置することもできる。また、接触凝固経路媒介トロンビン生成剤は、内壁上、又はこのような装置を閉じるためのストッパー又はシール上、又はこのような装置内へ置かれる機械的又はその他の挿入物の上でもよい。

20

【0045】

添加剤及び抗凝固剤は、リザーバーの中及び/又はこれらの意図した効果を提供するよう装置に入ってきたサンプルと接触するのであればそれ以外のどこかに配置されていても良い。例えば、これらの成分は内壁に配置され、ストッパーやシール、又はこのような装置を閉じるためのストッパー又はシール上、又はこのような装置内へ置かれる機械的又はその他の挿入物の上であってもよい。

30

【0046】

本発明にかかる方法は、血液又は血液サンプルを、血液安定化剤を含む装置（デバイス）に導入することを含む。いくつかの実施例においては、血液サンプルは何の手順も介さずに患者から容器へと直接に引き出される。その他の実施例においては、採集されたサンプルは、PRPのような血液成分を含む濃縮された組成物といった組成物を作るための処理がされる。

40

【0047】

本発明の使用を容易にするため、一つ又はそれ以上の装置（デバイス）がキットの中に入れていてもよい。いくつかの実施例においては、キットは一つ又は複数の装置（例えば、ラック又は密封したパッケージに並べられた）を含む。このキットはまた、血液を引き込み、採集するのに有用な一つ以上の要素（例えば針、止血帯、バンデージ、アルコールとワイプ（wipes）、ランセット（lancets））を含んでもよい。また、キットは、その中に、例えば、EDTAチューブ（例として、通常のヘマトロジー測定（routine hematology counts）のため）、ヘパリンチューブ（臨床化学分析（clinical chemistry）のため）、クエン酸塩チューブ（凝固テストのため）、その他の特別なチューブ（プロテオ

50

ミクス (proteomics) や、ゲノム科学 (genomics) などのため) を含む既知の血液安定化剤及び / 又は抗凝固剤を配置されたチューブのような、他のタイプの血液採集装置を含んでいても良い。また、本発明にかかるキットは取扱い説明書を含む。

【0048】

その他のいくつかの実施例においては、キットは、基本的な採集装置 (例えば、分離要素をその中に有する血漿分離チューブを有する血漿チューブ) と、例えば、採集した血漿を注ぐかその他の方法で供給するためのテスト用の第2チューブを含んでいても良い。この基本的なチューブにおける分離要素は、多血小板血漿を、血液におけるその他の細胞構成物から分離するのを可能とするために適切な密度を有するものであってもよい。第2のテストチューブは、要求される試験に応じて、基本的なチューブと同様の又は異なるサイズであってよい。いずれのチューブも、その中に血小板安定化剤を配置していてもよい。このキットは、さらに、注ぎ込むような安全でない移送をする必要をなくするため、チューブからチューブへの移送装置を含んでいても良く、この場合、第2チューブは血漿を引き込むために圧力を減少させておくであろう。

【0049】

この発明は、後述の非限定的な例により示される。

[例1]

トロンボエラストグラフィ (Thrombelastography: TEG) は、全血 (WB) の凝固の効率性をテストするのに有用であり、また、手術と麻酔において重要なアプリケーションであると分かっている。血漿について実施されるCAT分析は、低凝固障害又は過凝固障害の患者の検査に使用される。これらの分析は、伝統的な凝固テストと比較して、非常に敏感で、接触活性化に脆弱で、クエン酸化サンプル中 (citrate specimens) の蓄積されたファクターXIIaが下流のトロンビン生成 (TG) を著しく増大させるおそれがある。それゆえ、TEG分析とCAT分析の選択された出力をターゲットとして、異なる重合抑制素材を含む血液採取チューブの効果と、ターゲットとする内因性経路阻害剤の選択的な使用を試験する。

【0050】

クエン酸ヒトWBは、単独、若しくはカリクレインをターゲットとする阻害剤 (例えばアプロチニン) 又はFXIIa (例えば抗ヒトファクターXII抗体) の存在下のどちらかで、血液採集バッグから (シリコン処理された) ガラス又はプラスチックの血液採集チューブ、若しくは、非コートガラス、又はポリプロピレン (PP)、又はポリエステル (PS)、又はポリエチレンテレフタレート (PET) の円錐底チューブの中に移送される。15分の培養の後、TEGのR値を、10mMのCaCl₂の添加の後にすぐに得る。適合させた血漿サンプルは、1ピコモル濃度の組織因子 (TF) の存在下及び不存在下でCATによって、活性化部分トロンボプラスティンタイム (APTT: Stago Compact) によって分析される。データはTukey's post-testを用いたANOVAと線形回帰によって解析される。

【0051】

プラスチック血液採集チューブは、 15 ± 1.0 から 17.7 ± 1.9 分 ($p > 0.05$) の範囲のその他のすべてのプラスチック容器と等価の結果を提供した一方で、非コート (6.3 ± 0.73) ガラス、又はコートガラス (9.9 ± 0.58 , $p < 0.01$)、のいずれよりもより高いWB凝固「R」時間 (CT) (15.0 ± 1.02 分) を提供した。APTT分析は、非コートのガラスチューブ (29.5 ± 1.6 秒) とPPチューブ (29.8 ± 1.06 秒) の間で違いがなかった。さらには、CATのピークトロンビンレベルは、TFの不存在下 (22.2 ± 4.4 nM対 167.7 ± 2 nM, $p < 0.05$)、不存在下 (16.7 ± 3.4 nM対 127.3 ± 9 nM ($p < 0.05$)) のいずれにおいてもプラスチック採集チューブについてコートされたガラスと比較して有意に低い。TEGのWBのCTは、TFにより開始されたCATラグタイム (TF-initiated CAT lag time, $R^2 = 0.8116$)、ピークTGまでの時間 ($R^2 = 0.8308$)、ピークTGととてもよく相関している、後者は内因性阻害剤の不存在下で ($R^2 = 0.8$

10

20

30

40

50

401)であった。阻害剤の不存在下で、カリクレインをターゲットにした抑制もまた、非コートのガラスサンプル内のWBC Tを 4.9 ± 0.30 から 27.5 ± 8.30 まで増大させており、これは、コートされたガラスチューブ(9.4 ± 0.40)又はプラスチックチューブ(14.3 ± 2.60)のいずれのチューブよりも、有意に高い($p < 0.001$)。同時に、FXI aをターゲットにした抑制は、コートされたガラス及びプラスチックチューブ内で18分より上にWBT E G C Tを増大させ、TFの不存在下でTGを抑止した。

【0052】

A P T T分析がこれらの高分子的な違いについて敏感でなかった一方で、プラスチック血液採集チューブは、CAT及びTEGのためにコートされたガラスよりも勝る利点を提供した。カリクレインの抑制は(非コートのガラス内においても)、WBC Tをプラスチック以上に向上させたが、このことは、ポリマーによって媒介される抑制以上の接触凝固経路抑制における追加的な利益を示唆している。FXI aを抑制することは、TFの不存在下においてTGを抑止する。

10

[例2]

【0053】

図4Aに示すように、TEGを使用して全血の凝固時間への影響を決定するために、様々な濃度のアプロチニン进行测试に使用した。非コートガラスチューブで培養されたクエン酸血液サンプルは、KIUにより測定された異なる濃度のアプロチニンにさらされ、アプロチニン無しの、しかしシリコン処理されたガラスチューブ又はプラスチックチューブに含まれる血液サンプルと比較された。この分析の結果は、1000 KIU/mL以上の濃度のアプロチニンが、非コートのガラスチューブ内の接触凝固経路をシリコン処理されたガラスチューブ又はプラスチックチューブ内の血液サンプル接触凝固経路の緩和と同等レベルにまで緩和することを示している。

20

【0054】

異なる量のアプロチニンを含むサンプルにおけるCAT分析は、CaCl₂及びTFの存在下においても、サンプルあたりのアプロチニンの量が増えるにつれて、トロンビンの生成は減少し、遅れることを示している。図4Bに、シリコンコートガラス(上図)及びプラスチックチューブ(下図)におけるこれらの結果が示されている。これらのテストのコントロールは、アプロチニンの不存在下の、同様のクエン酸ヒト全血を含む複数のチューブであった。

30

【0055】

[例3]

CTI及び抗ファクターXI抗体による抑制と同等のやり方でアプロチニンが接触凝固経路を緩和することを示すためにa P T T分析を使用した。図6に示すように、CTI及び抗ファクターXI抗体の存在下では、アプロチニンの量を増加させると、トロンビンの生成時間がCTI及び抗ファクターXI抗体の存在下と同等又はこれより長く延びる。図6(下方の図)は、TF凝固経路のみをモニターするテストにおいて同一のサンプルを使用することにより、トロンビン生成がアプロチニン又はCTI又は抗ファクターXI抗体による影響を受けないことを示している。このことは、TF経路を通じることなく、アプロチニンが接触凝固経路のみを通じてトロンビンの形成を抑制することを実証している。

40

【0056】

[例4]

図7は、CAT分析を用いて、適量のアプロチニンが、CTI及び抗ファクターXI抗体と同じように、トロンビンの接触凝固経路による生成を抑制することができることを示している。アプロチニンの使用のCTI又は抗ファクターXI抗体に対する利点は、後者の2つの阻害剤は滅菌されたチューブ内に存在できない点である。

【0057】

しかしながら、本発明は特別な実施例を参照することによって説明されており、これらの実施例は単にここに記載されている原理とアプリケーションの例示にすぎないことが理

50

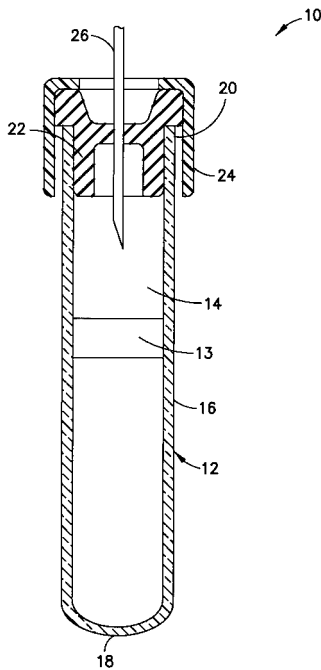
解される。したがって、例示した実施例にいくつかの変更がされてもよく、また、添付の請求項によって定義したように、ここに記載した様々な実施例における意図及び範囲から脱しないで、その他のアレンジメントも考えることができると理解される。

【符号の説明】

【0058】

- 10 血液採集装置
- 12 容器
- 13 セパレーター
- 14 チャンバー
- 16 側壁
- 18 閉鎖下端
- 20 開放端
- 22 蓋
- 24 保護シールド
- 26 針

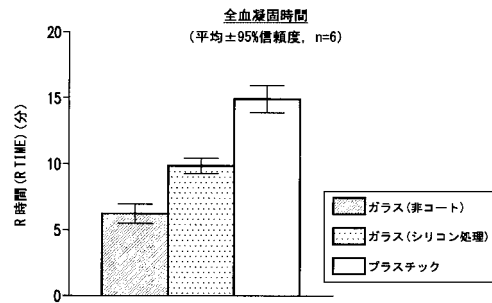
【図1】



【図2A】

血液採集チューブ	ガラス (非コート)	ガラス (コート)	プラスチック
TEG WB CT (分)	6.3 ± 0.7	9.9 ± 0.6	15.0 ± 1.0

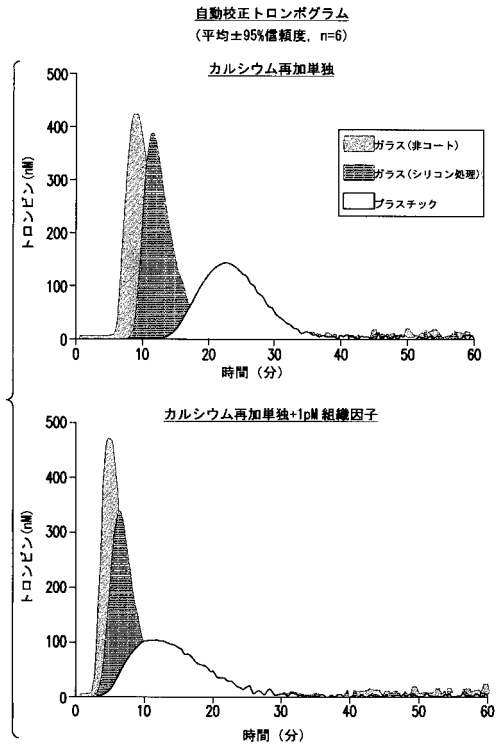
【図2B】



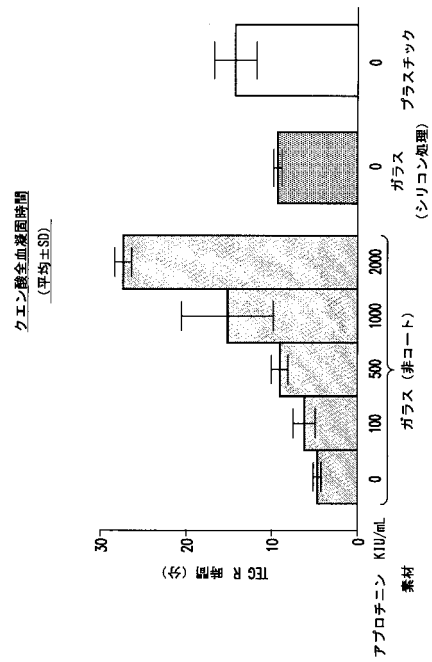
【図3A】

血液採集チューブ	ガラス (シリコン処理)		プラスチック	
	-TF	+1pM TF	-TF	+1pM TF
ラグタイム (min)	9.09 (± 1.12)	3.71 (± 0.16)	16.32 (± 4.01)	5.00 (± 0.27)
ピーク (nM)	401.91 (± 23.55)	339.84 (± 23.37)	151.39 (± 15.06)	105.15 (± 7.90)
ピークまでの時間 (min)	11.50 (± 1.15)	6.38 (± 0.16)	23.15 (± 4.70)	11.31 (± 1.15)

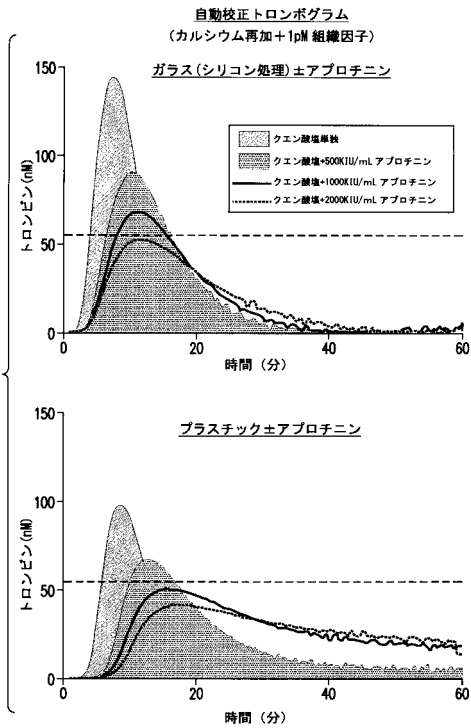
【 図 3 B 】



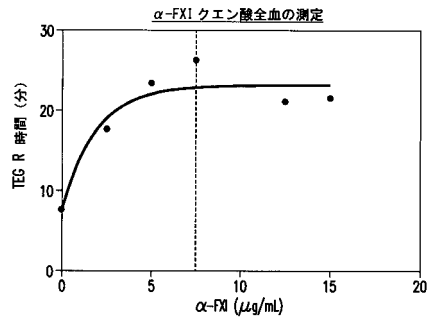
【 図 4 A 】



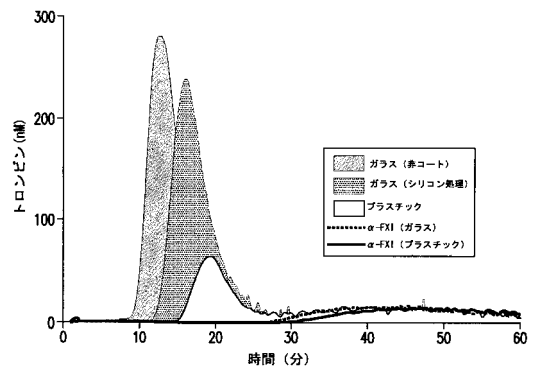
【 図 4 B 】



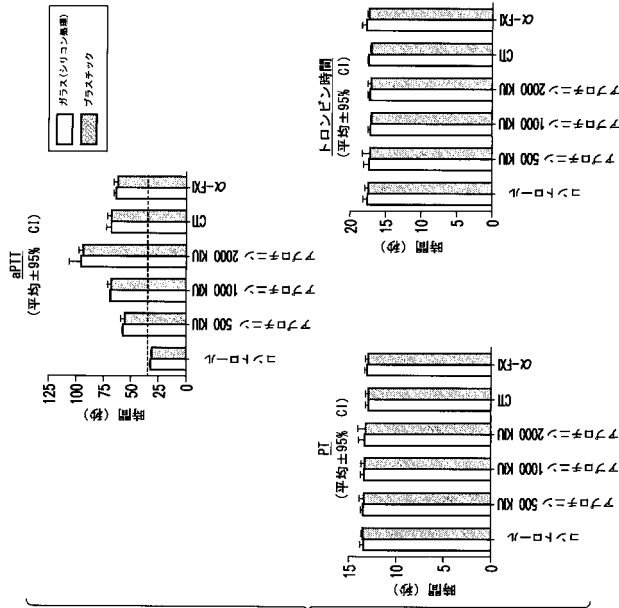
【 図 5 A 】



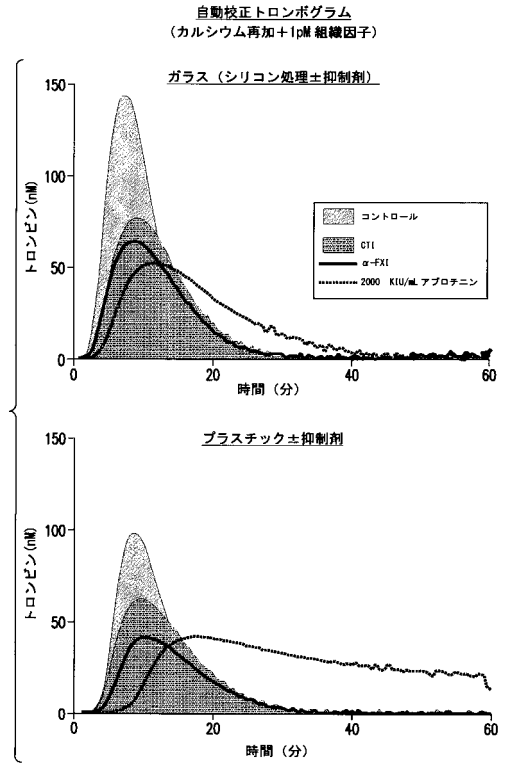
【 図 5 B 】





【 図 6 】



【 図 7 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2014/014089
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61B 5/151(2006.01)		
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) A61B 5/151; A01N 1/02; A61K 39/395; C12N 15/63; G01N 33/567; A61K 38/57; G01N 33/86; B01L 3/00; A61K 38/55; G01N 33/50; C12Q 1/56		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: blood coagulation, contact pathway, kallikrein, inhibitor		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2012-0149004 A1 (CRAIG A. GELFAND et al.) 14 June 2012 See abstract; and claims 1-32.	1-28
Y	US 2002-0042144 A1 (KENNETH G. MANN et al.) 11 April 2002 See abstract; paragraphs 150, 250 and 261.	1-28
A	US 2003-0064414 A1 (MICHAEL J. BENECKY et al.) 03 April 2003 See abstract; claims 1-50; and paragraphs 1-87.	1-28
A	US 2012-0276112 A1 (ANDRAS GRUBER et al.) 01 November 2012 See abstract; claims 1-19; and paragraphs 1-256.	1-28
A	WO 2012-120128 A1 (CSL BEHRING GMBH) 13 September 2012 See abstract; and claims 1-20.	1-28
A	US 7309468 B2 (TIMOTHY STEVENS et al.) 18 December 2007 See abstract; and claims 1-25.	1-28
A	WO 2008-155658 A2 (INSTITUTE OF ZOOLOGY OF THE SLOVAK ACADEMY OF SCIENCES et al.) 24 December 2008 See abstract; and claims 1-30.	1-28
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" 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		"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 26 May 2014 (26.05.2014)		Date of mailing of the international search report 26 May 2014 (26.05.2014)
Name and mailing address of the ISA/KR  International Application Division Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsu-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan City, 302-701, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-472-7140		Authorized officer KANG, Sung Chul Telephone No. +82-42-481-8405 

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/US2014/014089

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2012-0149004 A1	14/06/2012	AU 2011-336345 A1 CA 2818522 A1 EP 2645932 A2 WO 2012-075407 A2 WO 2012-075407 A3	20/06/2013 07/06/2012 09/10/2013 07/06/2012 04/10/2012
US 2002-0042144 A1	11/04/2002	AU 4548699 A CA 2333890 A1 EP 1084270 A1 JP 2002-517739 A US 6403381 B1 WO 99-64622 A1	30/12/1999 16/12/1999 21/03/2001 18/06/2002 11/06/2002 16/12/1999
US 2003-0064414 A1	03/04/2003	WO 02-079375 A1	10/10/2002
US 2012-0276112 A1	01/11/2012	AU 2008-326348 A1 CA 2705851 A1 EP 2222707 A2 JP 2011-504371 A US 2011-020349 A1 US 2013-171144 A1 US 8236316 B2 US 8399648 B2 WO 2009-067660 A2 WO 2009-067660 A3	28/05/2009 28/05/2009 01/09/2010 10/02/2011 27/01/2011 04/07/2013 07/08/2012 19/03/2013 28/05/2009 09/07/2009
WO 2012-120128 A1	13/09/2012	AU 2012-224514 A1 CA 2829037 A1 EP 2683397 A1 KR 10-2014-0011372 A US 2014-0072600 A1	02/05/2013 13/09/2012 15/01/2014 28/01/2014 13/03/2014
US 7309468 B2	18/12/2007	AU 2003-234382 A1 EP 1549434 A1 US 2004-0013575 A1 US 2008-0241001 A1 US 2010-0280414 A1 US 7645425 B2 US 7985387 B2	02/12/2003 06/07/2005 22/01/2004 02/10/2008 04/11/2010 12/01/2010 26/07/2011
WO 2008-155658 A2	24/12/2008	AU 2008-264890 A1 CA 2691243 A1 EP 2185185 A2 US 2013-183237 A1 WO 2008-155658 A3	24/12/2008 24/12/2008 19/05/2010 18/07/2013 04/03/2010

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, 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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), 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, JP, KE, KG, 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, 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

(74)代理人 100096769
弁理士 有原 幸一

(74)代理人 100107319
弁理士 松島 鉄男

(74)代理人 100114591
弁理士 河村 英文

(74)代理人 100125380
弁理士 中村 綾子

(74)代理人 100142996
弁理士 森本 聡二

(74)代理人 100166268
弁理士 田中 祐

(74)代理人 100170379
弁理士 徳本 浩一

(74)代理人 100179154
弁理士 児玉 真衣

(74)代理人 100180231
弁理士 水島 亜希子

(74)代理人 100184424
弁理士 増屋 徹

(72)発明者 モスコウィッツ, キース・エイ
アメリカ合衆国ニューヨーク州10950, モンロー, デンジェリス・ドライヴ 34

(72)発明者 シンクウェット, フランク・エル
アメリカ合衆国ニュージャージー州07081, スプリングフィールド, アスター・プレイス 6
8

Fターム(参考) 2G045 AA01 AA25 BA01 BA08 BA10 BA11 BA13 BB32 BB34 CA24
CA25 CA26 DA41 HA06 HA13 HA20 HB01 HB20