

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 608 854**

51 Int. Cl.:

A61M 1/36 (2006.01)

A61M 1/02 (2006.01)

B01J 20/26 (2006.01)

B01J 20/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.03.2006 PCT/JP2006/306944**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.10.2006 WO06106972**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.03.2006 E 06730892 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.09.2016 EP 1886704**

54 Título: **Adsorbente y columna para circulación extracorpórea**

30 Prioridad:

31.03.2005 JP 2005101466

08.04.2005 JP 2005111651

08.04.2005 JP 2005111652

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

17.04.2017

73 Titular/es:

TORAY INDUSTRIES, INC. (100.0%)

1-1, Nihonbashi-Muromachi 2-chome Chuo-ku

Tokyo 103-8666, JP

72 Inventor/es:

SHIMAGAKI, MASA AKI;

YAMAMURA, YASUFUMI;

SATO, KATSUHISA;

TERAMOTO, KAZUO;

OOZEKI, TAKESHIGE y

WADA, SHIGEHISA

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 608 854 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Adsorbente y columna para circulación extracorpórea

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un adsorbente y a una columna para circulación extracorpórea, y más particularmente se refiere a un adsorbente que puede eliminar eficazmente leucocitos, citocinas inflamatorias e inmunosupresoras, y factores humorales de la sangre y se usa adecuadamente para la denominada terapia mediante leucocitaféresis, terapia inmunoestimuladora y terapia contra el cáncer, y una columna para procesar la sangre, tal como una columna para circulación extracorpórea utilizando el adsorbente.

Técnica anterior

15 La sangre contiene varios componentes tales como células sanguíneas, citocinas y otros factores humorales. Estos componentes de la sangre juegan papeles importantes en la regulación del equilibrio inmunitario de un cuerpo vivo.

La endotoxina tipificada por lipopolisacáridos es un factor que presenta varias actividades biológicas involucradas en la fiebre, disminución de la presión sanguínea, coagulación intravascular, y activación del factor de Hageman en la sangre. Particularmente, en la práctica clínica, por ejemplo, en ocasiones, la sangre de un paciente después de una operación quirúrgica se contamina con tal endotoxina que causa septicemia grave. Se sabe que los leucocitos estimulados con la endotoxina contaminante en la sangre del paciente, particularmente del paciente grave, liberan varias citocinas tales como el factor de necrosis tumoral, interleucina-1, interleucina-6 e interferón, y ácidos peróxidos. También se sabe que este exceso de citocinas genera efectos fisiológicamente dañinos.

25 Hasta ahora se han desarrollado columnas para eliminar varios componentes de la sangre. Como un ejemplo de las mismas, existe una columna destinada a eliminar los leucocitos y granulocitos (Documentos de Patente 1 y 2), una columna destinada a absorber la citocina (Documentos de Patente 3 y 4), y una columna destinada a absorber los leucocitos y toxinas simultáneamente (Documentos de Patente 5 y 6). Sin embargo, ninguna de ellas puede eliminar simultáneamente el factor humoral al que responden las células sanguíneas. También se ha informado de un filtro que elimina los leucocitos, cuyo cuerpo principal es un elemento de filtro determinado que tiene un potencial zeta de 0 mV o más (Documento de Patente 7). Sin embargo, el informe a penas desvela la eliminación de células sanguíneas. Por lo tanto, con cualquiera de estas columnas tradicionales, las células sobrantes se han normalizado insuficientemente.

35 Mientras tanto, se ha informado de que, entre los componentes celulares, varias sustancias, particularmente el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) latente, la proteína ácida inmunosupresora, la interleucina-10, el factor de necrosis tumoral (TNF) y la prostaglandina E2, y las células tales como células B y macrófagos aumentan o crecen de manera anómala entre los pacientes con cáncer avanzado, y suprimen funciones inmunitarias mediante, por ejemplo, la inhibición de la inducción y la expresión funcional de los linfocitos citolíticos específicos del cáncer (Documento de No Patente 1, "Shuyo Men-ekigaku (Tumor Immunology)" páginas 89 a 112, 1998 escrito por Hiromi Fujiwara, publicado por Chugai Igakusha). Así, se han desarrollado procedimientos, en particular dirigidos a los pacientes con cáncer, que refuerzan un sistema inmunitario del paciente eliminando estas sustancias inmunosupresoras, dando lugar a la involución del tumor y la inhibición del crecimiento del tumor.

45 Como tecnología para eliminar estas sustancias inmunosupresoras eficazmente y de manera segura, existen tecnologías desveladas destinadas a absorber el TGF- β (Documentos de Patente 8 y 9), el antígeno carcinoembrionario (Documento de Patente 10), y la proteína ácida inmunosupresora (Documento de Patente 11). Sin embargo, aún no se ha desarrollado la tecnología para eliminar eficazmente estas sustancias inmunosupresoras utilizando un adsorbente.

55 La columna descrita anteriormente tiene normalmente un elemento de filtro o un adsorbente (portador de adsorbente) para eliminar o absorber cada sustancia diana dentro de la columna, y se usan varias sustancias y formas. Por ejemplo, en el Documento de Patente 1, se usa un tejido no tejido obtenido mediante la mezcla de fibras que tienen una pluralidad de diámetros de fibra para impedir la obstrucción con las células sanguíneas. Sin embargo, el tejido no tejido tiene en sí una gran densidad aparente, y controla de manera insuficiente la eliminación de las células sanguíneas. Así, el aumento de pérdida de presión en la circulación sanguínea aún representa un problema.

60 En el portador de adsorbente compuesto de perlas de acetato de celulosa que tienen diámetros de aproximadamente 2 mm (Documento de Patente 2), la pérdida de presión no representa un gran problema. Sin embargo, es imposible alargar un área de superficie de absorción del portador, y este portador es por lo tanto ineficaz como portador de adsorbente. La reducción del diámetro de las partículas, sin embargo, da lugar al aumento de la pérdida de presión, y así no puede adoptarse tal reducción del diámetro.

65 En el Documento de Patente 6, se desvela que la densidad aparente del portador de adsorbente está ajustada a 0,05 hasta 0,15 g/cm³ para impedir la obstrucción y mantener su configuración. Sin embargo, este portador de

absorbente es pobre respecto a la viabilidad, y particularmente la estabilidad morfológica es insuficiente.

Documento de No Patente 1: "Shuyo Men-ekigaku (Tumor Immunology)" páginas 89 a 112, 1998 escrito por Hiromi Fujiwara, publicado por Chugai Igakusha.

5 Documento de Patente 1: JP Sho-60-193468-A
 Documento de Patente 2: JP Hei-5-168706-A
 Documento de Patente 3: JP Hei-10-225515-A
 Documento de Patente 4: JP 2000-237585-A
 10 Documento de Patente 5: JP 2002-113097-A
 Documento de Patente 6: JP 2002-172163-A
 Documento de Patente 7: JP Hei-6-142196-A
 Documento de Patente 8: JP 2003-339854-A
 Documento de Patente 9: JP 2004-248950-A
 15 Documento de Patentes 10: JP 2003-310751-A
 Documento de Patente 11: JP 2003-111834-A
 El documento EP 0 397 403 A1 describe un filtro de disminución de leucocitos de alta eficacia. El documento EP 0 723 794 A1 describe un absorbente para eliminar al menos una interleucina. El documento JP 2002-35118A describe una columna para tratar enfermedades inflamatorias.

20 **Divulgación de la invención**

Problema a resolver por la invención

25 La invención está solo limitada por el alcance de las reivindicaciones.

Un primer objetivo de la presente invención es eliminar células tales como granulocitos y monocitos y no dejar citocinas que promuevan la activación de las células residuales en el componente líquido sobrante. Los inventores contemplaron lograr este objetivo otorgando a un absorbente una función de eliminación simultánea de las células y de la citocina que ha aumentado de manera anómala. Es decir, es un primer objetivo de la presente invención proporcionar un material que pueda usarse adecuadamente para la absorción simultánea y la eliminación simultánea de las células y de la citocina, y una columna de procesamiento de sangre que usa el material.

35 Los presentes inventores han obtenido un hallazgo que es importante para la mejora de un estado de la sangre que contiene la endotoxina, mediante la absorción y eliminación de la endotoxina presente en el fluido corporal, que causa la liberación de la citocina, y de la endotoxina adherida a la superficie de granulocitos y monocitos, o impidiendo la producción en exceso de una citocina por endotoxina. En función de este hallazgo, el primer objetivo de la presente invención incluye: (1) absorber directamente la endotoxina en el fluido corporal hacia el absorbente, para la directa eliminación de la endotoxina; y (2) absorber los granulocitos o los monocitos de la sangre, para eliminar indirectamente la endotoxina adherida a los componentes leucocitarios tales como granulocitos o monocitos. El primer objetivo también incluye (3) eliminar la citocina atribuida a la endotoxina para impedir el aumento de la concentración de citocina en la sangre.

45 En resumen, el primer objetivo de la presente invención, anteriormente mencionado, incluye proporcionar un material de alto rendimiento que pueda usarse adecuadamente para absorber y eliminar tanto las células, tales como los granulocitos o los monocitos y las citocinas, como la endotoxina, y proporcionar una columna de procesamiento de sangre de alto rendimiento utilizando el material.

50 Un segundo objetivo de la presente invención es eliminar una sustancia inmunosupresora involucrada en el crecimiento celular canceroso. Es decir, a la luz de los problemas anteriormente mencionados de la técnica antecedente, el segundo objetivo de la invención es proporcionar un material que está disponible para el uso general, que es capaz de absorber selectiva y directamente del fluido corporal la sustancia inmunosupresora tal como el TGF-β y la proteína ácida inmunosupresora con alta eficacia y eliminar los leucocitos en el fluido corporal para llevar el equilibrio leucocitario hacia un equilibrio normal, y que es capaz de ser usado para la circulación extracorpórea de manera segura. Este segundo objetivo incluye proporcionar una columna para la terapia contra el cáncer en la que se ha introducido el material que absorbe tal sustancia inmunosupresora, y realizar la terapia contra el cáncer usando la columna.

60 Un tercer objetivo de la presente invención es asegurar la disponibilidad estable de la columna para la circulación sanguínea. Es decir, a la luz de los problemas anteriormente mencionados de la técnica antecedente, el tercer objetivo de la presente invención es proporcionar un portador de absorbente que puede eliminar los leucocitos activos tales como granulocitos y monocitos, y las células cancerosas y eliminar también la citocina que está presente en exceso, con menor pérdida de presión, así como para ofrecer estabilidad de configuración al portador en sí sin deteriorar la propiedad de absorción.

65 **Medios para resolver el problema**

Para lograr el primer objetivo anteriormente mencionado de la presente invención, la presente invención proporciona:

- 5 (1) Un absorbente que tiene un potencial zeta de -20 mV o más y que tiene la capacidad de absorber granulocitos, monocitos y citocina en la sangre, como se define en la reivindicación 1 adjunta. Las realizaciones de la invención también pueden proporcionar:
- (2) El absorbente de acuerdo con la (1) anterior en el que la tasa de absorción de los granulocitos de la sangre es de 50 % o más y una tasa de absorción de monocitos de la sangre que es de 50 % o más.
- 10 (3) El absorbente de acuerdo con (1) o (2) anteriores en la que una tasa de absorción de los linfocitos es de 40 % o menor.
- (4) El absorbente de acuerdo con cualquiera de (1) a (3) anteriores en el que la citocina es al menos una seleccionada del grupo que consiste en interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6), interleucina-8 (IL-8), interleucina-10 (IL-10), TNF- α , factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y proteína ácida inmunosupresora (IAP).
- 15 (5) El absorbente de acuerdo con cualquiera de (1) a (4) anteriores en el que la tasa de absorción para el factor de coagulación XIII es de 30 % o menor.
- (6) El absorbente de acuerdo con la (1) anterior caracterizado por que tiene un potencial zeta de -15 mV o más, y que tiene una capacidad de absorción para absorber el 90 % o más de lipopolisacáridos (LPS) en solución salina en la que se ha disuelto un 1 % en volumen de suero fetal de ternero (FCS).
- 20 (7) El absorbente de acuerdo con cualquiera de (1) a (6) anteriores que tiene una sal de amonio cuaternario y un grupo amino lineal unido a un portador insoluble en agua.
- (8) El absorbente de acuerdo con cualquiera de (1) a (7) anteriores en el que el portador insoluble en agua tiene una forma seleccionada de una fibra, una membrana, una fibra hueca y una perla.
- 25 (9) El absorbente de acuerdo con cualquiera de (1) a (8) anteriores en el que el portador insoluble en agua tiene una forma de fibra o fibra hueca, sobrepasando el diámetro del mismo los 3 μm .
- (10) El absorbente de acuerdo con la reivindicación 9 anterior que comprende una fibra A que tiene el diámetro de fibra de 4 a 8 μm y una fibra B que tiene el diámetro de fibra de 10 a 50 μm .
- 30 (11) El absorbente de acuerdo con la reivindicación 10 anterior en el que la fibra A comprende fibras que tienen el diámetro de fibra de 4,5 a 8 μm .
- (12) El absorbente de acuerdo con cualquiera de (1) a (8) anteriores en el que el portador insoluble en agua tiene una forma de perla, y una superficie del material tiene una protuberancia que tiene un diámetro más largo que 3 μm .
- 35 (13) El absorbente de acuerdo con cualquiera de (1) a (12) anteriores caracterizado por que se usa para la terapia mediante leucocitaféresis.
- (14) Una columna de procesamiento de sangre que comprende un envase y el absorbente de acuerdo con cualquiera de (1) a (13) anteriores introducido en la misma.
- (15) La columna de procesamiento de sangre de acuerdo con (14) en la que la sangre se hace circular a través de la misma.
- 40 (16) La columna de procesamiento de sangre de acuerdo con (14) o (15) caracterizada por usarse para la terapia mediante leucocitaféresis.
- (17) La columna de procesamiento de sangre de acuerdo con cualquiera de (14) a (16) anteriores en la que una circulación extracorpórea a través de la misma, con un cuerpo vivo, da lugar a un aumento del número de linfocitos y al descenso del número de granulocitos, midiéndose dichos números de 150 a 180 horas después de
- 45 terminar la circulación extracorpórea y comparándose con aquellos antes de la circulación extracorpórea.

Para lograr el segundo objetivo anteriormente mencionado de la presente invención, la presente invención incluye las siguientes constituciones.

- 50 (1) Un absorbente para terapia contra el cáncer que comprende un polímero insoluble en agua que tiene un resto de amina hidrófila unido al mismo, teniendo dicho absorbente una capacidad para absorber el factor de crecimiento transformante - β latente y la capacidad para absorber el leucocito.
- (2) El absorbente para terapia contra el cáncer de acuerdo con (1) anterior en el que la forma de dicho polímero insoluble en agua que tiene el resto de amina hidrófila unido al mismo es una membrana, una fibra o una materia
- 55 granulada.
- (3) Una columna de circulación extracorpórea para terapia contra el cáncer, utilizando el absorbente para terapia contra el cáncer de acuerdo con (1) o (2) anteriores.

Lo siguiente también se describe en el presente documento.

- 60 (1) Un portador de absorbente caracterizado por que tiene al menos una estructura bicapa de una red y un tejido no tejido.
- (2) El portador de absorbente de acuerdo con (1) anterior, en el que la red es una red que tiene 10 mm^2 o más vacíos por 100 mm^2 .
- 65 (3) El portador de absorbente de acuerdo con (1) anterior que tiene la capacidad de absorber una sustancia fisiológicamente activa y/o células.

(4) El portador de absorbente de acuerdo con cualquiera de (1) a (3) anteriores, en el que la red está compuesta de un monofilamento.

(5) El portador de absorbente de acuerdo con cualquiera de (1) a (4) en el que una densidad aparente es de 0,02 g/cm³ o más.

5 (6) Una columna de procesamiento de sangre que comprende un envase cilíndrico y el absorbente de acuerdo con cualquiera de (1) a (5) anteriores introducido en la misma.

(7) La columna de procesamiento de sangre de acuerdo con (6) anterior para su uso en la circulación de la sangre.

10 **Efecto de la invención**

De acuerdo con la presente invención, se proporcionan un absorbente y una columna para el procesamiento de sangre que son útiles para el procesamiento de sangre y el tratamiento terapéutico de la colitis ulcerosa, la enfermedad de Crohn y enfermedades autoinmunes mediante la eliminación simultánea de leucocitos que proliferan en exceso tales como granulocitos y monocitos innecesarios para el cuerpo vivo y la citocina que transmite información a estas células.

15

De acuerdo con la presente invención, se proporcionan también un absorbente y una columna para el procesamiento de sangre que son útiles para el procesamiento de sangre y el tratamiento terapéutico de la colitis ulcerosa, la enfermedad de Crohn y enfermedades autoinmunes mediante la eliminación simultánea de leucocitos que proliferan en exceso tales como granulocitos y monocitos innecesarios para el cuerpo vivo y la citocina que transmite la información a estas células, y para eliminar simultáneamente el LPS que activa los leucocitos.

20

De acuerdo con la presente invención se proporcionan también un absorbente para terapia contra el cáncer que es capaz de absorber selectivamente una sustancia inmunosupresora tal como el TGF- β y la proteína ácida inmunosupresora directamente del fluido corporal con alta eficacia, y es también capaz de eliminar simultáneamente los leucocitos del fluido corporal, así como una columna de circulación extracorpórea para terapia contra el cáncer utilizando el absorbente. Por lo tanto, de acuerdo con la presente invención, es posible tratar el cáncer avanzado, prolongar la vida del paciente y reforzar la QOL (calidad de vida).

25

De acuerdo con la presente invención, se proporciona además un portador de absorbente (absorbente) que causa menos pérdida de presión en la circulación de la sangre, tiene una excelente estabilidad de configuración y puede usarse adecuadamente para varias columnas para procesar la sangre. El portador de absorbente es particularmente adecuado para eliminar simultáneamente los leucocitos y las células cancerosas presentes en exceso e innecesariamente en el cuerpo humano y sustancias fisiológicamente activas tales como citocinas, y es útil para el procesamiento de la sangre y el tratamiento terapéutico de enfermedades autoinmunes, cánceres y alergia. Este material puede usarse adecuadamente en forma de artículo moldeado tal como una placa de Petri, una botella, una membrana, una fibra, una fibra hueca, una materia granular o un conjunto para el uso del mismo como una columna para cromatografía por afinidad, una columna de sangre para tratamiento y particularmente una columna de circulación extracorpórea.

30

Mejor modo de llevar a cabo la invención

Posteriormente, la presente invención se describirá con más detalle.

45

Como una constitución básica del absorbente, preferiblemente están aquellas obtenidas por la inmovilización de un grupo funcional en un portador insoluble en agua, o aquellas obtenidas mediante el revestimiento de un sustrato con un portador insoluble en agua que tiene un grupo funcional inmovilizado en el mismo.

El portador insoluble en agua usado en la presente invención no está limitado particularmente siempre y cuando sea insoluble en agua y pueda inmovilizarse en el mismo un grupo funcional. Preferiblemente son resinas con base de olefina tales como polipropileno y polietileno en términos de biocompatibilidad. Particularmente, es preferible el poliéster tipificado por poliamida y el tereftalato de polietileno.

50

Es preferible que el absorbente de la presente invención tenga un potencial zeta para reconocer el ácido siálico y el ácido fosfórico en una glucoproteína o en una superficie celular, o para reconocer el ácido siálico y el ácido fosfórico en una cadena de azúcar unida a la citocina. Los materiales de polímero usuales tales como el polipropileno, el polietileno, y el tereftalato de polietileno tienen un potencial zeta negativo, por ejemplo, de aproximadamente -30 mV. Así, los presentes inventores establecen el potencial zeta del portador insoluble en agua a -20 mV o más mediante la inmovilización en el mismo de un grupo funcional particular, por ejemplo, una sal de amonio cuaternario y/o un grupo amino lineal, y han hallado que tal portador presenta una buena propiedad de absorción, para de este modo alcanzar la presente invención. El potencial zeta es de preferiblemente -15 mV o más, porque de este modo la propiedad de absorción del lipopolisacárido (LPS) se vuelve más excelente. El potencial zeta de -10 mV o más da lugar a un efecto mayor, y el potencial zeta de -2 mV o más es más preferible.

55

60

65

En la presente invención, es preferible tener una capacidad de absorción para absorber el granulocito, el monocito y la citocina y simultáneamente tener la capacidad de absorción para absorber el LPS. El LPS es, como se describe a continuación, una toxina que tiene generalmente una bacteria gram-negativa. Se ha hallado que el LPS está unido a una proteína receptora tal como la TLR-4 en el leucocito y activa la proteína. Cuando el granulocito, el monocito y la citocina se eliminan, los estados anómalos causados por estos pueden reducirse. Sin embargo cuando el LPS que se ha generado por la bacteria presente permanece en un sitio inflamado o en un sitio ulceroso, incluso si el paciente casi se ha recuperado, el paciente puede caer en un estado anómalo de nuevo. El absorbente de la presente invención se vuelve útil para el procesamiento de sangre y el tratamiento terapéutico eficaces de colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn y enfermedades autoinmunes otorgando en los mismos el mecanismo preferible para eliminar el LPS de manera simultánea a la absorción del leucocito y la citocina. Usando tal absorbente multifuncional, es posible reducir el tamaño de la columna para el tratamiento.

En la presente invención, el "potencial zeta" se refiere al potencial zeta de la superficie del absorbente. El potencial zeta de la superficie puede calcularse midiendo un potencial de fluido, la presión aplicada para dirigir un fluido y una conductividad específica del fluido. El potencial zeta del absorbente de la presente invención es preferiblemente de -20 mV o más, más preferiblemente de -15 mV o más y particularmente preferible de -2 mV o más. El límite superior es preferiblemente de 10 mV o menor en términos de prevención de la hemólisis de los eritrocitos.

A pesar de que la forma del portador insoluble en agua no está particularmente limitada en la presente invención, el portador tiene preferiblemente forma de fibra, membrana, fibra hueca o perla, en términos de aplicabilidad y pérdida de presión en la columna de procesamiento de sangre. La forma puede también ser, por supuesto, una combinación de las mismas.

El absorbente en la presente invención tiene la capacidad de absorber los granulocitos, los monocitos y la citocina de la sangre. Particularmente, es preferible que la tasa de absorción de los granulocitos de la sangre sea de 50 % o más y la tasa de absorción de los monocitos sea de 50 % o más. La tasa de absorción en la presente invención puede medirse, cuando se toma como ejemplo el de las células sanguíneas, haciendo pasar una vez la sangre a través de la columna rellena con el absorbente, y contar el número de células sanguíneas antes y después hacerla pasar usando un hemocitómetro. La tasa se calcula de acuerdo con la fórmula mencionada a continuación. Las condiciones, por ejemplo, el tamaño y forma de la columna, y la velocidad de paso de la sangre pueden determinarse adecuadamente de acuerdo con los ejemplos.

$$\text{Tasa de absorción (\%)} = \left[\frac{(\text{número de células sanguíneas en sangre antes de pasar a través de la columna}) - (\text{número de células sanguíneas en sangre después de pasar a través de la columna})}{(\text{número de células sanguíneas en sangre antes de pasar a través de la columna})} \right] \times 100$$

El absorbente de la presente invención que tiene una función de absorción de las células sanguíneas puede tener también una función de filtración. En este caso, la tasa de absorción anteriormente mencionada se calcula en función, no solo de la cantidad de células sanguíneas eliminadas de la sangre por la absorción, sino también de la cantidad de células sanguíneas eliminadas por la filtración.

Para absorber y eliminar las células tales como granulocitos y monocitos, es preferible que el absorbente de la presente invención tenga una forma de portador insoluble en agua. Particularmente es preferible que el portador tenga un diámetro de la fibra o de la fibra hueca, o un diámetro (tamaño) de la protuberancia de la superficie de una partícula de perla que sobrepase los 3 μm . Cuando el diámetro es más pequeño que esto, la absorción y eliminación de linfocitos puede aumentar, dando lugar a la eliminación de las células de memoria, algo que no es preferible. Sin embargo, para reducir la tasa de absorción y eliminación de los linfocitos, el diámetro de la fibra es más preferiblemente de 4 μm o más y aún más preferiblemente de 4,5 μm o más. Además, para reducir la tasa de eliminación de linfocitos mientras se mantienen las tasas de eliminación de los granulocitos y los monocitos, en ocasiones el diámetro de la fibra puede ser preferiblemente de 5 μm o más. Sin embargo, cuando el diámetro de la fibra sobrepasa los 8 μm , la tasa de eliminación de los granulocitos y los monocitos tiende a disminuir, y cuando el diámetro de la fibra es de 10 μm o más, la tasa de eliminación de los granulocitos y de los monocitos disminuye. Así, no es preferible tal diámetro grande. Es preferible, en términos de uso práctico, que el diámetro de la fibra sea de 20 μm o menor.

La fibra anteriormente mencionada (denominada como fibra A), puede mezclarse con una fibra que tiene el diámetro más grande (denominada como fibra B) con el único fin de eliminar las células sanguíneas, es decir, como un cuerpo estructural de fibra para mantener la resistencia del absorbente en un determinado nivel, y no menos. El diámetro de tal fibra B no está limitado a lo anteriormente mencionado, y es preferiblemente de 10 a 50 μm . Cuando el diámetro es más pequeño que 10 μm , la fibra B puede ser incapaz de ejercer el fin esperado de la misma, es decir, el efecto de mantener la resistencia. Cuando el diámetro sobrepasa los 50 μm , se hace difícil mezclarla con la fibra A.

La tasa de eliminación de los linfocitos (tasa de absorción que usa el absorbente de la presente invención) es preferiblemente de 40 % o menor debido a la menor tendencia de reducir las células de memoria, y es preferiblemente de 30 % o menor en términos de seguridad.

El absorbente de la presente invención puede ser preferiblemente de aquellos obtenidos por la inmovilización de una sal de amonio cuaternario y/o de un grupo amino lineal como un grupo funcional en el portador insoluble en agua anteriormente mencionado. Entre los ejemplos de grupos funcionales reactivos para inmovilizar la sal de amonio cuaternario y/o el grupo amino lineal en el portador insoluble en agua pueden incluirse grupos halógenos activos tales como un grupo halometilo, un grupo haloacetilo, un grupo haloacetamidometilo y un grupo alquilo halogenado, un grupo epóxido, un grupo carboxilo, un grupo de ácido isociánico, un grupo de ácido tioisociánico, y un grupo de anhídrido ácido. Especialmente los grupos halógenos activos, y también de entre ellos, es preferible el grupo haloacetilo porque su producción es sencilla, la reactividad es apropiadamente alta, puede realizarse en una condición leve una reacción de inmovilización de la sal de amonio cuaternario y/o del grupo amino lineal, y un enlace covalente generado por esta reacción es químicamente estable.

Como grupo funcional inmovilizado, son adecuados la sal de amonio cuaternario y/o el grupo amino lineal, y estos representan el estado en el que el amoniaco y/o el grupo amino primario a terciario se han unido químicamente a un polímero. Así mismo, como los grupos amino primarios a terciarios, aquellos que tienen 18 átomos de carbono, o menos, por un átomo de nitrógeno, son preferibles para reforzar una tasa de reacción. Así mismo, aquellos que, de entre los grupos amino primarios a terciarios, tienen el grupo amonio cuaternario que se ha formado mediante la unión del grupo amino terciario que tiene un grupo alquilo que tiene de 3 a 18 átomos de carbono, particularmente de 4 a 14 átomos de carbono por un átomo de nitrógeno son excelentes en su capacidad de absorción de las citocinas. Entre los ejemplos específicos de tal grupo amino terciario pueden incluirse la trimetilamina, trietilamina, N, N-dimetilhexilamina, N, N-dimetiloctilamina, N, N-dimetillaurilamina, y N-metil-N-etil-hexilamina. Entre los ejemplos de compuestos que tienen el grupo amino lineal puede incluirse la tetraetilenpentamina.

La densidad de la unión de la sal de amonio cuaternario y/o del grupo amino lineal en la presente invención puede variar dependiendo de una estructura química y un uso previsto del portador insoluble en agua. Cuando la densidad es demasiado baja, no tiende a producirse su función. Cuando la densidad es demasiado alta, la resistencia física del portador tras la inmovilización empeora y la función como absorbente tiende a deteriorarse. Así, es preferible que la densidad sea de 0,01 a 2,0 moles y más preferiblemente de 0,1 a 1,0 mol por unidad de repetición del portador insoluble en agua. Como método para inmovilizar la sal de amonio cuaternario y/o el grupo amino lineal (cuaternización), como catalizador suele usarse una reacción que usa yoduro de potasio. Sin embargo, el método no está limitado al mismo, y puede usarse también el método públicamente conocido.

La citocina absorbida por el absorbente de la presente invención es al menos una citocina seleccionada del grupo que consiste en interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6), interleucina-8 (IL-8), interleucina-10 (IL-10), factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y proteína ácida inmunosupresora (IAP). Se apunta a que todas estas citocinas están involucradas en la patología de enfermedades inmunitarias tales como la colitis ulcerosa, la enfermedad de Crohn y la artritis reumatoide crónica que se considera que son indicativos de terapia mediante leucocitaféresis.

La sal de amonio cuaternario y/o el grupo amino lineal a inmovilizar pueden seleccionarse apropiadamente dependiendo del tipo de citocina que debe absorberse. Por ejemplo, la capacidad de absorción de la interleucina-1 (IL-1), la interleucina-6 (IL-6), el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y la proteína ácida inmunosupresora (IAP) puede otorgarse inmovilizando N, N-dimetilhexilamina, N, N-dimetiloctilamina, o N, N-dimetillaurilamina. La capacidad de absorción de la interleucina-8 (IL-8), la interleucina-10 (IL-10) y el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) puede otorgarse inmovilizando tetraetilenpentamina como componente amino. Es posible inmovilizar una pluralidad de clases de grupos funcionales combinados. Por ejemplo, es posible usar tanto la sal de amonio cuaternario como el grupo amino lineal. Usando tal combinación de una pluralidad de clases de grupos funcionales, puede ampliarse el intervalo de tipos de citocinas que deben absorberse, lo que es preferible. Adicionalmente existe una ventaja en que se refuerza la propiedad de absorción de la citocina deseada.

En la presente invención, la capacidad de absorber y eliminar estas citocinas puede evaluarse en función de los resultados de medición por el método EIA (inmunoensayo enzimático) usando tipos naturales de proteínas en todos los casos (condiciones: agitar a 37 °C durante 2 horas para conseguir la absorción discontinua). Por ejemplo, para la IL-6, es preferible que la tasa de absorción medida por la absorción discontinua mostrada en el ejemplo sea de 50 % o más. Así mismo, para reducir el efecto en las células residuales, es preferible que la tasa de absorción sea de 60 % o más. Por ejemplo, para la IL-1, es preferible que la tasa de absorción medida por la absorción discontinua mostrada en el ejemplo sea de 40 % o más. Así mismo, para reducir el efecto en las células residuales, es preferible que la tasa de absorción sea 50 % o más.

Como se ha descrito anteriormente, no existe limitación particular en la forma del absorbente. Para usarlo en una columna, la forma preferible del absorbente puede ser de perlas, fibras, fibras huecas y estructuras fibrosas tales como tejidos de punto obtenidos tricotando la fibra, tejidos tejidos y tejidos no tejidos. Si el portador insoluble en agua puede mantener su configuración por sí mismo, es posible usarlo de manera individual. Si el portador insoluble en agua tiene una estabilidad de configuración pobre, el portador puede fijarse a un sustrato apropiado revistiendo el portador. Alternativamente, el portador puede combinarse con otro absorbente y depositarse en una columna para

su uso. Las operaciones tales como la fijación y la combinación pueden realizarse antes de configurar la forma anteriormente mencionada.

En el absorbente de la presente invención, es particularmente preferible que su forma sea el tejido no tejido. En ese caso, cuando la densidad aparente del tejido no tejido es demasiado grande, se produce fácilmente la obstrucción, y por otro lado cuando la densidad aparente es demasiado pequeña, la estabilidad de configuración del absorbente se vuelve pobre. Así, la densidad aparente es preferiblemente de 0,02 g/cm³ o más, particularmente es preferible que sea de 0,02 g/cm³ o más, y es más preferible que sea de 0,05 g/cm³ o más. El límite superior es preferiblemente de 0,15 g/cm³ o menor.

A pesar de que el tejido no tejido usado en la presente invención puede crearse con una sola fibra, es particularmente preferible que el tejido no tejido esté creado con una fibra compuesta de tipo isla en el mar. Es decir, el absorbente puede producirse fácilmente preparando un tejido no tejido compuesto de tal fibra compuesta de acuerdo con cualquier método conocido públicamente, sometiendo a punzando con aguja este tejido no tejido, y después disolviendo el componente de mar para controlar la densidad aparente y reforzar la estabilidad de configuración.

Además, el tejido no tejido puede tener una forma de estructura bicapa con una red que se describirá más adelante. Particularmente, la estructura puede estar compuesta de una red, cubriendo el tejido no tejido la red. Empleando tal estructura, es posible reforzar la estabilidad de configuración cuando el tejido se enrolla para adoptar una forma cilíndrica y ser usado en una columna.

Los materiales preferibles como el portador insoluble en agua son fibras hidrófobas, por ejemplo, poliolefina tal como polietileno y polipropileno, poliéster tal como tereftalato de polietileno y tereftalato de polibutileno, y polímero fluorinado tal como teflón. Además, también pueden usarse aquellos a los que se les ha añadido varios grupos alquilo mediante la modificación de la superficie para proporcionar un sitio hidrófobo. Entre los ejemplos específicos del polímero adecuado que puede usarse individualmente para inmovilizar la sal de amonio cuaternaria y/o el grupo amino lineal pueden incluirse polímeros con base de polisulfona tales como poli(p-fenilén éter sulfona) $\text{-}\{(p\text{-C}_6\text{H}_4)\text{-SO}_2\text{-}(p\text{-C}_6\text{H}_4)\text{-O}\}_n\text{-}$, polisulfona UDEL $\text{-}\{(p\text{-C}_6\text{H}_4)\text{-SO}_2\text{-}(p\text{-C}_6\text{H}_4)\text{-O-(pC}_6\text{H}_4)\text{-C(CH}_3)_2\text{-}(p\text{-C}_6\text{H}_4)\text{-O}\}_n\text{-}$, $\text{-}\{(p\text{-C}_6\text{H}_4)\text{-SO}_2\text{-}(p\text{-C}_6\text{H}_4)\text{-O-(p-C}_6\text{H}_4)\text{-O}\}_n\text{-}$, $\text{-}(p\text{-C}_6\text{H}_4)\text{-SO}_2\text{-}(p\text{-C}_6\text{H}_4)\text{-SO}_2\text{-}(p\text{-C}_6\text{H}_4)\text{-O}\}_n\text{-}$, $\text{-}\{(p\text{-C}_6\text{H}_4)\text{-SO}_2\text{-}(p\text{-C}_6\text{H}_4)\text{-O-(P-C}_6\text{H}_4)\text{-C(CF}_3)_2\text{-}(p\text{-C}_6\text{H}_4)\text{-O}\}_n\text{-}$, poliéter imida, polimida, poliamida, poliéter, sulfuro de polifenileno, poliestireno y polímeros acrílicos, a condición de que los polímeros tengan un grupo reactivo funcional para inmovilizar el grupo amino mediante enlace covalente. De entre ellos, preferiblemente se usan los polímeros con base de polisulfona debido a su alta estabilidad y buena estabilidad de configuración.

Entre los ejemplos específicos de los mismos se pueden incluir poliestireno metilado con cloroacetamida, polisulfona UDEL metilada con cloroacetamida y poliéter imida metilada con cloroacetamida, a los que se han unido los grupos reactivos funcionales anteriormente mencionados. De entre estos polímeros, son particularmente preferibles en términos de moldeabilidad, los que son solubles en un disolvente orgánico.

El absorbente de la presente invención puede producirse moldeando el polímero en sí que tiene tal sal de amonio cuaternario y/o el grupo amino lineal, es decir, el portador insoluble en agua en sí, en forma de fibra, de fibra hueca, o de perla. Alternativamente, el absorbente de la presente invención también puede producirse revistiendo el sustrato compuesto de la fibra, de la fibra hueca o de la perla, preferiblemente el tejido no tejido en términos de productividad, con el polímero que tiene la sal de amonio cuaternario y/o el grupo amino lineal. Para tal revestimiento, el polímero puede disolverse en un disolvente, por ejemplo, cloruro de metileno, tetrahidrofurano o N, N-dimetilformamida para preparar una solución. El producto puede producirse fácilmente sumergiendo el tejido no tejido en la solución, y después evaporando el disolvente.

Como disolvente de reacción cuando se inmovilizan la sal de amonio cuaternario y/o el grupo amino lineal al portador insoluble en agua, se usan preferiblemente agua, metanol, etanol, isopropanol, dimetilsulfóxido, N, N-dimetilformamida, N, N-dimetilacetamida y N-metil pirrolidona.

Es preferible que el absorbente y la columna de procesamiento de sangre de la presente invención no reduzcan la actividad del factor de coagulación XIII (factor XIII de coagulación) al procesar la sangre considerando su seguridad. Particularmente, el nivel del factor de coagulación XIII tiende a descender entre los pacientes con colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn, y la falta de este factor puede dar lugar a la tendencia al sangrado. Si la tasa de absorción del factor de coagulación XIII es de 30 % o menor, pueden usarse de manera segura. Más preferiblemente, la tasa de absorción es de 20 % o menor. Tal tasa de absorción puede medirse calculando una proporción de una cantidad de portador con respecto a la cantidad de sangre realmente procesada (en la invención, la sangre incluye sangre total, plasma, suero, líquido ascítico y efusión pleural), preparando un plasma a partir de la sangre extraída con ácido cítrico de un voluntario sano, y midiendo las actividades del factor de coagulación XIII en la misma antes y después de agitar a 37 °C durante una hora. La actividad del factor de coagulación XIII puede medirse por un método de sustrato sintético, a pesar de que la medición puede confiarse a una empresa profesional.

El absorbente y la columna de procesamiento de sangre de la presente invención pueden tener una capacidad de

absorción para absorber 90 % o más lipopolisacárido (LPS) en solución salina que contiene un 1 % en volumen de suero fetal de ternero (FCS). Teniendo de esta manera la capacidad de absorción del lipopolisacárido, es posible impedir la producción en exceso de citocinas debido a la contaminación por endotoxinas de la sangre del paciente después de la operación quirúrgica o a la contaminación del sitio inflamado o del sitio ulceroso. Además, es posible también absorber eficazmente la endotoxina en sí para de este modo obtener efectos preventivos o terapéuticos en la fiebre, el choque, la coagulación intravascular y la activación de linfocitos derivados de la actividad biológica de la endotoxina. Por lo tanto, pueden obtenerse los efectos preventivos o terapéuticos en la fiebre, el choque, la coagulación intravascular y la activación de linfocitos derivados de la actividad biológica de la endotoxina, y el absorbente se vuelve así útil particularmente para la terapia inmunoestimuladora. Así mismo, teniendo la capacidad de absorción del lipopolisacárido y la capacidad de absorción de granulocitos, junto con los monocitos y las citocinas, es posible realizar el proceso simultáneo con un absorbente, lo que es además preferible.

"Lipopolisacárido" significa una molécula que contiene la estructura lipídica A. Entre los ejemplos de LPS típico que pueden presentarse en la sangre se puede incluir una toxina a partir de una bacteria gram-negativa.

Se sabe que cuando la endotoxina está presente en una cantidad excesiva en la sangre, causa una liberación excesiva de varias citocinas tales como el factor de necrosis tumoral, la interleucina-1, la interleucina-6 e interferón, y ácidos óxidos de los leucocitos. Otorgando adicionalmente la capacidad de absorción del lipopolisacárido al absorbente de la presente invención, es posible también reforzar la producción de interferón- γ que se piensa que se atribuye a la activación del linfocito, particularmente de los linfocitos Th1. El absorbente y la columna de procesamiento de sangre de la presente invención se vuelven de este modo útiles en la terapia inmunoestimuladora. A pesar de que no se conoce con detalle el mecanismo para la activación de tales linfocitos, se piensa que la activación se atribuye al contacto de las células sanguíneas de la sangre procesada con el LPS absorbido.

La cantidad de LPS absorbida puede medirse usando un toxinómetro suministrado por Wako Pure Chemical Industries Ltd. La cantidad eliminada y la tasa de eliminación pueden obtenerse mezclando una cantidad definida de LPS en una solución salina que contenga un 1 % en volumen de FCS, y midiendo la cantidad de LPS restante en un sobrenadante después de incubarse en un baño de agua a 37 °C durante 4 horas. Calculando una diferencia y una proporción entre la cantidad medida y la cantidad de LPS en la solución con LPS añadido que se ha medido de manera similar usando el toxinómetro, pueden obtenerse la cantidad eliminada y la tasa de eliminación. La cantidad eliminada deseable es de 100 pg/mg y más preferiblemente de 200 pg/mg. La capacidad de la presente invención para absorber simultáneamente los granulocitos y/o los monocitos y la citocina del fluido corporal y absorber el LPS en la solución salina que contiene un 1 % en volumen de FCS puede efectuarse también combinando los distintos absorbentes. En este caso, los respectivos absorbentes pueden usarse conjuntamente para rellenar una columna, o cada absorbente puede introducirse en una columna separada para constituir un módulo de columnas. Ya que el módulo de columnas tiende a tener una constitución no compacta, es más conveniente una realización con una constitución compacta. La presente invención no está limitada a los ejemplos anteriormente mencionados y es posible seleccionar apropiadamente la constitución adecuada.

La columna para el procesamiento de sangre de la presente invención puede producirse rellenando un envase de columna con el absorbente de la presente invención. Como el envase de columna, es posible usar los envases de columna conocidos públicamente para el procesamiento de sangre. La constitución preferible de la columna puede ser: una columna en la que el absorbente tiene una forma de placas lisas que están apiladas e introducidas; una columna en la que un filtro cilíndrico compuesto del absorbente enrollado en una forma cilíndrica se aloja en un envase cilíndrico que tiene una entrada de sangre y una salida de sangre en ambos extremos; y una columna en la que un filtro cilíndrico hueco compuesto del absorbente enrollado en una forma cilíndrica con ambos extremos sellados se aloja en un envase cilíndrico que tiene una entrada de sangre y una salida de sangre, proporcionándose la salida de sangre del envase en el sitio que lleva a una circunferencia externa del filtro cilíndrico hueco y proporcionándose la salida de sangre del envase en el sitio que lleva a una circunferencia interna del filtro cilíndrico hueco. De entre ellas, la columna que tiene el filtro cilíndrico hueco es la más preferible debido a que eliminan eficazmente los leucocitos inflamatorios puesto que la mayoría de los leucocitos inflamatorios de la sangre se eliminan rápidamente gracias al tejido no tejido que tiene un área grande en la circunferencia externa del filtro cilíndrico, y los pocos leucocitos sobrantes que se dirigen a la circunferencia interna del filtro cilíndrico se eliminan completamente gracias a el tejido no tejido que tiene un área pequeña. Cuando el absorbente de la presente invención tiene una forma de tejido no tejido, es posible reforzar la estabilidad de configuración, al preparar la columna de circulación extracorpórea para terapia contra el cáncer, creando la estructura bicapa mencionada a continuación con una red, preferiblemente creando una estructura en la que la red esté cubierta con el tejido no tejido y después enrollada en la forma cilíndrica.

La columna para el procesamiento de sangre de la presente invención puede usarse para la terapia mediante leucocitaféresis y la terapia inmunoestimuladora. Como se describe más adelante, como resultado de la circulación extracorpórea con el cuerpo vivo usando la columna para el procesamiento de sangre de la presente invención, tras haber pasado de 150 a 180 horas desde la finalización de la circulación extracorpórea, el número de leucocitos, particularmente el número de granulocitos de la sangre disminuye y el número de linfocitos aumenta más que el número anterior a la circulación extracorpórea. Esto indica que la columna para el procesamiento de sangre de la presente invención tiene una función de reforma del estado inmunitario. Particularmente, se sabe que, en un

paciente con cáncer avanzado, el número de granulocitos aumenta y el número de linfocitos disminuye, conforme lo cual se suprime el estado inmunitario. Con el uso de la presente columna, se reforma el estado a un estado normal. Este efecto no permanece durante un largo periodo de tiempo después de la circulación extracorpórea. Después del transcurso de aproximadamente una semana, el número de granulocitos tiende a aumentar mientras que el número de linfocitos tiende a disminuir. Así, es deseable ofrecer este procedimiento aproximadamente una vez a la semana.

Mientras tanto, el absorbente de la presente invención puede usarse para la terapia contra el cáncer, y la presente invención proporciona también el absorbente para terapia contra el cáncer. Posteriormente, el absorbente para terapia contra el cáncer de la presente invención se describirá con más detalle.

En la presente invención, una proteína supresora de la función inmunitaria se refiere a una proteína presente en la sangre, que suprime una función inmunitaria en animales mamíferos, por ejemplo, el TGF- β , la proteína ácida inmunosupresora, la interleucina-10 y el TNF- α .

Cuando el absorbente de la presente invención se usa como absorbente para terapia contra el cáncer, el absorbente puede ser de aquellos que tienen la capacidad de absorber una proteína inmunosupresora (proteína supresora de la función inmunitaria). Cuanto más grande sea la capacidad de absorción, más pequeña será la cantidad de sangre requerida para el procesamiento extracorpóreo, lo que es de este modo preferible. Para obtener una evaluación aproximada de la capacidad de absorción del absorbente para terapia contra el cáncer y de la columna de circulación extracorpórea para terapia contra el cáncer que se describirá más adelante, el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) latente que es el TGF- β en sangre puede usarse como una sustancia estándar. En cuanto a la capacidad de absorción de la columna de circulación extracorpórea para terapia contra el cáncer, es deseable que la columna sea capaz de absorber 100 ng o más de TGF- β latente por kg de peso corporal en el animal mamífero portador del tumor. Para la aplicación en un paciente con cáncer avanzado, es deseable que absorba 250 ng o más ya que la concentración de sustancias en la sangre a absorber es más elevada en tales pacientes. La capacidad de absorción puede calcularse multiplicando una cantidad de absorción de equilibrio de TGF- β latente por un gramo de absorbente, mediante una cantidad (gramo) de absorbente introducida en la columna.

La cantidad de absorción en equilibrio de TGF- β latente en la presente invención es un valor obtenido añadiendo 30 mg del absorbente para terapia contra el cáncer en 1 ml de suero de una rata portadora del tumor, agitándolo a 37 °C durante 4 horas, después midiendo la concentración de TGF- β en el sobrenadante, y dividiendo una diferencia de concentración entre antes y después de la absorción por el peso (0,03 g) del absorbente para terapia contra el cáncer. La concentración de TGF- β en el sobrenadante puede obtenerse pretratando la muestra de suero con ácido para convertir el TGF- β latente en TGF- β libre, y después midiendo el nivel de TGF- β mediante un ensayo inmunoenzimático usando un anticuerpo anti-TGF- β . En el caso del TGF- β latente, la tasa de absorción es preferiblemente de 40 % o más en la condición del método de absorción discontinua descrito en los ejemplos. La tasa de absorción es más preferiblemente de 50 % o más para reducir la influencia en el efecto inmunosupresor. Los kits comercialmente disponibles pueden usarse para medir la concentración de TGF- β . Se sabe que hay miembros de la superfamilia del TGF- β que son diferentes en secuencias del mismo, tales como el TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 1.2, TGF- β 4 y el TGF- β 5. Las secuencias de aminoácidos del mismo son altamente homólogas, y sus naturalezas cuando se absorben en el absorbente son similares. La naturaleza del TGF- β se representa básicamente por la naturaleza del TGF- β 1. Así, para su contabilización, frecuentemente se usa en particular el kit para medir el TGF- β 1.

En la presente invención, el animal mamífero portador del tumor significa animales mamíferos terrestres tales como seres humanos, monos, ganado, caballos, perros, gatos, cerdos y ovejas que portan un tumor.

Tal absorbente para terapia contra el cáncer de la presente invención puede usarse como una columna de circulación extracorpórea para terapia contra el cáncer. Cuanto menor sea la cantidad del absorbente para absorber la proteína inmunosupresora para la terapia contra el cáncer que se rellena en la columna de circulación extracorpórea para la terapia contra el cáncer de la presente invención, menor será la cantidad de sangre necesaria para procesar extracorpóreamente, lo cual es preferible. Sin embargo, cuando la cantidad es demasiado pequeña, la capacidad de absorción disminuye y el efecto se pierde. Cuando es demasiado grande, aumenta la carga en el cuerpo vivo. En términos generales de seguridad, se ha informado de que la cantidad adecuada permitida de sangre que debe circular en un circuito extracorpóreo en la circulación extracorpórea es de hasta 200 ml, que es la cantidad permitida cuando se extrae sangre para la infusión de sangre. La cantidad de sangre total en una persona con un peso corporal de 60 kg es de aproximadamente 4,6 L. Así, es aceptable que la cantidad de sangre que debe procesarse extracorpóreamente sea del 4 % o menor de la cantidad de sangre total. Mientras tanto, cuando el absorbente se introduce en la columna, se requiere una proporción de vacíos del 15 % o más para pasar la sangre. A partir de estas condiciones, el material para absorber la proteína inmunosupresora puede introducirse preferiblemente en la columna en una cantidad de 0,05 g o más y 3,5 g o menor por kg de peso corporal del animal mamífero portador del tumor.

El absorbente para terapia contra el cáncer y la columna de circulación extracorpórea para terapia contra el cáncer de acuerdo con la presente invención pueden absorber y eliminar simultáneamente los leucocitos tales como los granulocitos y los monocitos que han aumentado en la sangre. Es deseable que tenga un alto rendimiento de eliminación de los granulocitos y los monocitos. En la evaluación de eliminación *in vitro*, la tasa de eliminación es preferiblemente de 35 % o más y más preferiblemente de 50 % o más. Particularmente, es preferible que las tasas de absorción sean de 50 % o más para tanto los granulocitos como los monocitos. Para absorber y eliminar estos granulocitos y monocitos, es preferible seleccionar apropiadamente la forma del absorbente para terapia contra el cáncer. Específicamente, es preferible que la forma del absorbente para terapia contra el cáncer sea una fibra (incluyendo un hilado compuesto y un hilado tejido, y puede ser una fibra corta o una fibra continua), una membrana, una fibra hueca o una perla. La fibra puede usarse como una estructura de fibra apropiada (tejidos tejidos, tejidos de punto, tejidos no tejidos, y materias floculadas). Cuando se emplea la forma de tejido no tejido, tal tejido no tejido puede configurarse, como se describirá más adelante, en una estructura bicapa con una red, particularmente la estructura en la que la red está cubierta con el tejido no tejido. Empleando tal estructura, es posible reforzar la estabilidad de configuración cuando la columna se forma enrollándola en la forma cilíndrica.

Particularmente, para reforzar la capacidad de absorción y eliminación de los granulocitos y monocitos, es preferible que un diámetro de fibra de la fibra o de la fibra hueca, o un diámetro (tamaño) de la protuberancia de la superficie de la partícula de perla sobrepase los 3 μm . Cuando el diámetro es más pequeño que esto, puede aumentar la absorción y eliminación de los linfocitos, dando lugar a la eliminación de células de memoria, lo que no es preferible. Sin embargo, para reducir la tasa de absorción y eliminación de los linfocitos, el diámetro de la fibra es preferiblemente de 4 μm o más y más preferiblemente de 4,5 μm o más. Así mismo, para reducir la tasa de eliminación de linfocitos mientras se mantiene la tasa de eliminación de los granulocitos y monocitos, en ocasiones el diámetro de la fibra puede ser preferiblemente de 5 μm o más. Sin embargo, cuando el diámetro de la fibra sobrepasa los 8 μm , la tasa de eliminación de los granulocitos y monocitos tiende a disminuir, y cuando el diámetro de la fibra es de 10 μm o más, la tasa de eliminación de los granulocitos y monocitos disminuye. Así, no es preferible tal diámetro tan grande. En términos de uso práctico, es preferible que el diámetro de la fibra sea de 20 μm o menor ya que la tasa de eliminación disminuye también cuando el diámetro es de 20 μm o más.

Sin embargo, el diámetro del cuerpo estructural de la fibra mezclada para otro fin que no sea la eliminación de células sanguíneas no está limitado a lo anteriormente mencionado. Por ejemplo, además de la fibra anteriormente mencionada (denominada como la fibra A), la fibra que tiene el diámetro más grande (denominada como la fibra B) puede mezclarse para otro fin que no sea la eliminación de las células sanguíneas, es decir, como el cuerpo estructural de la fibra para mantener la resistencia del absorbente a no menos de un cierto nivel. El diámetro de tal fibra B no está limitado a lo anteriormente mencionado, y es preferiblemente de 10 a 50 μm . Cuando el diámetro es más pequeño que 10 μm , la fibra B puede ser incapaz de ejercer el fin esperado de la misma, es decir, el efecto de mantener la resistencia. Cuando el diámetro sobrepasa los 50 μm , se hace difícil mezclarla con la fibra A.

La tasa de eliminación de los linfocitos (tasa de absorción usando el absorbente de la presente invención) es preferiblemente del 40 % o menor debido a la menor tendencia a reducir las células de memoria, y es preferiblemente del 30 % o menor en términos de seguridad. Particularmente, entre los pacientes con cáncer avanzado o cáncer terminal, es más preferiblemente de 20 % o menor ya que el número de linfocitos en sangre ha disminuido en tales pacientes.

La preparación de la columna de circulación extracorpórea para terapia contra el cáncer de la presente invención puede lograrse introduciendo el absorbente para terapia contra el cáncer de la presente invención en un envase de columna. En tal uso, el absorbente para terapia contra el cáncer de la presente invención puede tener forma de, como se ha descrito anteriormente, tejido no tejido, tejido tejido, tejido de punto, floculado, fibra hueca o perla. La forma del envase no está particularmente limitada, y pueden emplearse aquellos tradicionalmente usados para la columna de circulación extracorpórea. La forma es, por lo general, cilíndrica. Cuando se usa tal envase cilíndrico, la estabilidad de configuración del absorbente para terapia contra el cáncer de la presente invención puede reforzarse creando el absorbente en forma de tejido no tejido, y creando la estructura bicapa con una red como se describe más adelante, preferiblemente una estructura en la que la red está cubierta con el tejido no tejido y después enrollada en la forma cilíndrica, para introducirla en la columna.

El absorbente para terapia contra el cáncer de la presente invención comprende un polímero insoluble en agua que tiene un resto de amina hidrófila unido al mismo. La preparación del polímero insoluble en agua que tiene el resto de amina hidrófila unido al mismo puede lograrse haciendo actuar el portador insoluble en agua con la amina hidrófila en un disolvente.

Entre los ejemplos específicos del portador insoluble en agua usado pueden incluirse compuestos poli(vinílicos) aromáticos, tales como poliestireno, polímeros basados en polisulfona, tales como poli(p-fenilén éter sulfona) y $-\{(p\text{-C}_6\text{H}_4)\text{-C}(\text{CH}_3)_2\text{-}(\text{C}_6\text{H}_4)\text{-O-(pC}_6\text{H}_4)\text{-SO}_2\text{-}(p\text{-C}_6\text{H}_4)\text{-O}\}_n$ (polisulfona UDEL), poliéter imida, polimida, poliamida, poliéter y sulfuro de polifenileno, que tienen un grupo reactivo funcional para inmovilizar la amina hidrófila. Entre los ejemplos del grupo reactivo funcional para inmovilizar la amina hidrófila se pueden incluir grupos halógenos activos tales como un grupo halometilo, un grupo haloacetilo, un grupo haloacetamidometilo y un grupo alquilo halogenado, un grupo epóxido, un grupo carboxilo, un grupo de ácido isociánico, un grupo de ácido isotiocianico y un grupo de anhídrido

acético. Entre más ejemplos específicos del polímero insoluble en agua se pueden incluir, poliestireno metilado con cloroacetamida, poliestireno UDEL metilado con cloroacetamida y poliéter imida metilada con cloroacetamida. Así mismo, si estos polímeros son solubles en el disolvente orgánico, existe una ventaja en términos de moldeabilidad.

5 El resto de amina hidrófila referido en esta invención significa una amina hidrófila que individualmente es soluble en agua o capaz de disolverse en la misma, estando la amina en un estado en el que se enlaza químicamente al polímero. La amina hidrófila que forma el resto de amina hidrófila puede ser de aquellas que tienen 18 átomos de carbono, o menos, por un átomo de nitrógeno.

10 Particularmente excelentes son aquellas que tienen unidas a estas, de entre las aminas hidrófilas, un grupo amonio cuaternario obtenido a partir de una amina terciaria que tiene un grupo alquilo que tiene de 3 a 18 átomos de carbono, particularmente de 4 a 14 átomos de carbono por un átomo de nitrógeno. De entre los ejemplos específicos de tal amina terciaria se pueden incluir trimetilamina, trietilamina, N, N-dimetilhexilamina, N, N-dimetil-octilamina, N, N-dimetillaurilamina, y N-metil-N-etil-hexilamina. Así mismo, como amina hidrófila preferiblemente se usan aquellas que tienen un grupo alquilo que comprende un grupo hidrófilo tal como un grupo hidroxilo o un grupo éter, por ejemplo, N,N-dimetil-6-hidroxihexilamina y N,N-dimetil-4-metoxibutilamina.

La densidad del resto de amina hidrófila unida en la presente invención puede variar dependiendo de la estructura química del polímero insoluble en agua. Cuando la densidad es demasiado baja, su función no tiende a producirse. Cuando la densidad es demasiado alta, la resistencia física del polímero insoluble en agua tras la inmovilización empeora y la función como absorbente tiende a deteriorarse. Así, la densidad es preferiblemente de 0,01 a 2,0 moles y más preferiblemente de 0,1 a 1,0 mol por mol de la unidad de repetición del polímero insoluble en agua.

20 Para la terapia contra el cáncer de la presente invención, un área de superficie del absorbente es preferiblemente de 0,1 m² o más y más preferiblemente de 0,3 m² o más por un gramo de absorbente. Ya que el área de superficie no puede expandirse infinitamente, hay un límite práctico en la misma. Preferiblemente, el área de superficie puede ser de 10 m² o menor. Esta área de superficie puede medirse mediante porosimetría de mercurio.

El absorbente para terapia contra el cáncer de la presente invención se obtiene moldeando el polímero insoluble en agua que tiene el resto de amina hidrófila en una forma tal como membranas, fibras o partículas; o revistiendo el sustrato que tiene la forma tal como membranas, fibras o partículas con el polímero insoluble en agua que tiene el resto de amina hidrófila; o uniendo el resto de amina hidrófila a un artículo tal como membranas, fibras o partículas que se ha creado con polímero insoluble en agua.

35 Existen ciertos métodos para producir el artículo de polímero insoluble en agua que tiene el resto de amina hidrófila unido al mismo; uno de ellos es un sistema heterogéneo de reacción en el que una solución de amina hidrófila se pone en contacto con el artículo de polímero insoluble en agua; y otro de ellos es un sistema homogéneo de reacción en el que la solución de polímero insoluble en agua y la solución de amina hidrófila se mezclan y reaccionan y después se moldean. Como un ejemplo del método para el sistema de reacción heterogénea, la reacción puede lograrse fácilmente sumergiendo el artículo tal como fibras o fibras huecas de polisulfona metilada con cloroacetamida en una solución que contiene dimetilhexilamina o polialquilenimina en isopropanol, y después hacer que reaccionen a una temperatura de 0 a 100 °C. Como un ejemplo del método del sistema homogéneo de reacción, la reacción puede lograrse añadiendo la poliamina correspondiente a la solución de polisulfona metilada con cloroacetamida y haciendo que reaccionen a una temperatura de 0 a 100 °C. A pesar de que la cantidad de los mismos no está limitada particularmente, es preferible usar un mol de veces o más con respecto al grupo metil haloacetamida para obtener un polímero soluble. Particularmente, para obtener un polímero soluble de poliamina, es preferible usar amina hidrófila en una cantidad extremadamente excesiva.

50 Como disolvente de reacción, los disolventes altamente polares tales como agua, metanol, etanol, isopropanol, dimetilsulfóxido y N, N-dimetilformamida (DMF) son ventajosos para acelerar la reacción. En el sistema heterogéneo de reacción, el disolvente no está limitado particularmente siempre y cuando la amina hidrófila pueda disolverse en el mismo. En el sistema homogéneo de reacción, el disolvente en el que se disuelven tanto el portador insoluble en agua como la amina hidrófila, específicamente, se usan preferiblemente tetrahidrofurano, dimetilsulfóxido, N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida y N-metil pirrolidona. Es posible también ofrecer un tratamiento de superficie en el artículo. Para tal tratamiento, se usa preferiblemente el disolvente tal como agua, metano o etanol que no disuelve la polisulfona y disuelve la amina hidrófila.

60 Cuando la superficie del artículo tal como fibras de poliéster, fibras de nylon y fibras de sulfuro de polifenileno se recubre con el polímero insoluble en agua de la presente invención que tiene el resto de amina hidrófila, es posible obtener ventajosamente un artículo de alto grado que tenga un área de superficie más grande de una manera simple y económica. El revestimiento puede lograrse fácilmente sumergiendo el tejido de punto o el tejido tejido de nylon en una solución en la que el polímero insoluble en agua que tiene el resto de amina hidrófila se ha disuelto en un disolvente que tiene un punto de ebullición bajo tal como cloruro de metileno o tetrahidrofurano, y después volatilizándolo el disolvente. También es posible realizar un método de revestimiento húmedo para disolver el material en un disolvente tal como N,N-dimetilformamida, que se coloca entonces en un disolvente pobre del polímero tal como agua. El polímero del artículo moldeado a revestir no está limitado particularmente siempre y cuando tenga

una buena adhesividad con el polímero insoluble en agua de la presente invención que tiene el resto de amina hidrófila, y puede ser cualquier poliamida, poliuretano, polimida, polisulfona, cloruro de polivinilo, y poliéster. A pesar de que su tipo no está limitado particularmente, los polímeros con base amida tales como nylon y poliéster imida se usan preferiblemente debido a que su adhesividad es particularmente buena.

5 Al moldear o revestir el sustrato como se ha mencionado anteriormente, es preferible emplear la forma de fibra hueca como la fibra para el artículo moldeado o el sustrato. Ya que puede producirse de este modo un absorbente que tiene una función de filtración, esto es ventajoso en que la sustancia inmunosupresora y los leucocitos pueden eliminarse cuando se usa el producto como un dispositivo de diálisis artificial o un separador de plasma.

10 La columna de circulación extracorpórea para terapia de cáncer de la presente invención se usa para una terapia de circulación extracorpórea de pacientes con cáncer, particularmente de cáncer avanzado con el fin de inhibir el progreso del cáncer en el paciente portador del tumor o reforzar la calidad de vida del paciente con cáncer. El absorbente de la presente invención puede usarse también con el fin de eliminar la proteína inmunosupresora cuando la sangre extraída se vuelve a introducir en el cuerpo durante la operación quirúrgica de extirpación del

15 La presente invención proporciona además un absorbente (portador de absorbente) que comprende el tejido no tejido tales como aquellos descritos anteriormente como realizaciones preferidas de entre los absorbentes, y una red combinada con el mismo. Es decir, la presente invención proporciona además un absorbente (portador de absorbente) que tiene al menos una estructura bicapa de red y tejido no tejido, que se describirá con detalle a continuación.

20 Los presentes inventores han estudiado a fondo los problemas anteriormente mencionados, es decir, obtener un absorbente que puede absorber y eliminar simultánea y selectivamente con gran eficacia tanto las células, tales como los leucocitos o las células cancerosas, como la sustancia fisiológicamente activa, tal como la citocina que está presente en exceso en la sangre, y puede usarse de manera segura para la circulación extracorpórea. Después, los presentes inventores se centraron en que el absorbente de la técnica antecedente era problemático ya que tenía una densidad aparente demasiado grande, y porque, incluso si se obtiene el tejido no tejido que tiene una densidad aparente meramente pequeña, la falta de estabilidad de configuración del mismo finalmente resulta en que se produce la obstrucción. La presente invención se logró en función de lo antecedente. Es decir, los presentes inventores tuvieron éxito tanto en hacer descender la densidad aparente, como en ofrecer estabilidad de configuración.

25 Entre los ejemplos de sustancia fisiológicamente activa se pueden incluir proteínas, lípidos, azúcares y hormonas procedentes de organismos tales como quimiotaxis, anticuerpos, complementos, linfocinas y otros factores humorales, además de las citocinas descritas anteriormente. En particular, se someten investigación las sustancias seleccionadas como dianas de los trabajos de eliminación y con fines terapéuticos para los análisis estructurales y análisis de patrones. Además, las bacterias, las toxinas bacterianas y los virus que afectan perjudicialmente al cuerpo vivo también se abordan como sustancias fisiológicamente activas. En cuanto a las células, principalmente se someten a investigación las células sanguíneas y las células cancerosas, y las células que aparecen en la sangre, fluido linfático y exudados tales como el líquido ascítico y la efusión pleural. También se someten a investigación las células cultivadas, las levaduras y las bacterias.

35 Como material del tejido no tejido en la presente invención, pueden usarse los polímeros conocidos públicamente tales como poliamida, poliéster, poliacrilonitrilo con base de polímeros, polietileno y polipropileno. Estos polímeros pueden usarse individualmente o en compuestos, por ejemplo, un tipo núcleo-recubrimiento, un tipo isla en el mar o un tipo *side by side* (de lado a lado). La forma de la sección transversal de la fibra puede ser una sección circular o una sección variante diferente a esa. Como el método para producir el tejido no tejido, puede usarse el método conocido públicamente para producir tejido no tejido, por ejemplo, un método húmedo, un método de cardado, un método de capa de aire, un método de unión por hilado y un método de soplado en fusión.

45 El diámetro de la fibra que compone tal tejido no tejido debería determinarse teniendo en cuenta un rendimiento de absorción al que se aspira. Por ejemplo, para eliminar los granulocitos, el diámetro es preferiblemente de más de 3 μm , preferiblemente 4 μm o más, y más preferiblemente de 5 a 10 μm . Además, puede usarse también un tejido no tejido que es una mezcla que contiene otra fibra más gruesa que la fibra anteriormente mencionada. Si se usa la fibra de 0,5 a 4 μm , los linfocitos pueden eliminarse adecuadamente. Así mismo, si se usa la fibra menor de 0,5 μm , es posible reforzar la eficacia de eliminación de la sustancia fisiológicamente activa.

55 El diámetro mostrado en el presente documento no solo se aplica a aquellas que tienen forma cilíndrica sino también a aquellas que tienen una forma elíptica, una forma rectangular o una forma poligonal. Se calcula un área de una figura obtenida conectando los puntos exteriores, y se calcula el diámetro de un círculo que corresponde al área. Tomando como ejemplo una forma de estrella que tiene cinco salientes, se considera la figura obtenida conectando esos cinco vértices. Se calcula el área de la misma, y el diámetro del círculo que corresponde al área se contempla como el diámetro de la presente invención.

65

Las realizaciones preferibles de tal tejido no tejido de la presente invención pueden incluir aquellas con forma de tejido no tejido de entre los absorbentes anteriormente mencionados y los absorbentes para terapia contra el cáncer, que absorben los granulocitos, los monocitos y la citocina.

5 En la presente invención, el tejido no tejido anteriormente mencionado puede constituir una estructura laminada combinada con la red. La estructura laminada puede ser la estructura bicapa del tejido no tejido y la red. Más preferiblemente, la estructura laminada puede ser una estructura intercalada (estructura tricapa) de tejido no tejido-red-tejido no tejido, obtenida intercalando la red con los tejidos no tejidos. Por supuesto, es posible crear un laminado que tenga más capas siempre y cuando se considere que la densidad aparente, como se describirá más adelante, no genera efecto en la pérdida de presión.

10 Como los materiales de la red de la presente invención, pueden usarse polímeros públicamente conocidos tales como poliamida, poliéster, poliácridonitrilo con base de polímeros, polietileno y polipropileno. Como se describirá más adelante, cuando el tejido no tejido se integra con la red y después se somete a una reacción de síntesis orgánica para introducir el grupo funcional, el material puede seleccionarse adecuadamente dependiendo del tipo de disolvente y la temperatura de reacción. El polipropileno es particularmente preferible en términos de biocompatibilidad.

15 Cuando la estructura de red está formada de multifilamentos obtenidos combinando múltiples fibras o hilado tejido, el incremento en la pérdida de presión presenta un problema porque los medios, tales como la sangre a procesar, pasan entre las fibras de los multifilamentos. Así, es preferible que la red esté formada de un monofilamento. Cuando la red está formada del monofilamento, se mantiene fácilmente la resistencia mecánica por fibra.

20 La constitución de la red no está particularmente limitada y puede usarse una red anudada, una red no anudada o una red raschel. De entre ellas, pueden usarse adecuadamente aquellas en las que partes de los componentes están entramadas, por ejemplo, en las que los monofilamentos que componen la red están cruzados. Con el uso de tal red, es posible obtener el portador de absorbente donde los componentes, tal como el monofilamento, no se mueven, así como donde la estabilidad de configuración y la propiedad de manejo están reforzadas si se comparan con la red que no tiene tal entramado. En la red, los monofilamentos que la componen pueden estar entramados unos con otros. Como método de entramado, están disponibles el anudado y la adhesión por calor. La adhesión por calor es preferible ya que el grosor se controla fácilmente y este método puede realizarse de manera económica. La forma de un vacío (malla) de la red no está particularmente limitada, y pueden emplearse varias formas tales como un cuadrilátero tal como un rectángulo, un rombo y una forma hexagonal. De entre ellas, el cuadrilátero, particularmente el rectángulo es preferible ya que la resistencia, cuando los tejidos no tejidos se laminan, y la propiedad de manejo se refuerzan. Así mismo, la resistencia, cuando los tejidos no tejidos se laminan, y la propiedad de manejo se refuerzan colocando el componente de la red en una dirección que tenga $90 \pm 10^\circ$ contra una dirección del eje mayor o menor del tejido no tejido cuando la forma del vacío de la red es el cuadrilátero.

25 El diámetro de los monofilamentos que componen la red es preferiblemente de 50 μm o más y de 1 mm o menor, y el grosor de la red es preferiblemente de 50 μm o más y de 1,2 mm o menor. A pesar de que el diámetro puede ser más grande, tal diámetro grande no es preferible ya que se reduce de este modo una cantidad del absorbente en sí mismo por volumen de unidad.

30 Usando la red, puede conferirse al tejido no tejido la estabilidad de configuración. Así, incluso si la densidad aparente es baja, puede producirse el portador de absorbente que tenga una configuración estable. Es deseable que las aberturas de la red sean tan grandes como sea posible ya que la red en sí afecta a la pérdida de presión. Así, es deseable que tenga una proporción de vacíos de 10 mm^2 o más por 100 mm^2 . Preferiblemente en particular, si la red tiene las aberturas de aproximadamente 3 mm cuadrados, la estabilidad de configuración mejora y la red puede usarse adecuadamente.

35 A pesar de que el grosor del absorbente no está particularmente limitado, en términos de manejo, el grosor es preferiblemente de 0,1 mm o más y de 10 cm o menor. Por ejemplo, cuando el absorbente se incorpora a un módulo de tipo de flujo radial tal como "Toraymyxin" (marca comercial registrada) suministrado por Toray Industries, Inc., el grosor es preferiblemente de 1 cm o menor porque el absorbente se envuelve alrededor de un conducto central. Esto se determina de acuerdo con el método de manejo.

40 La densidad aparente del absorbente que tiene la estructura bicapa de red y tejido no tejido en la presente invención es preferiblemente de 0,02 a 0,25 g/cm^3 , y más preferiblemente de 0,05 a 0,15 g/cm^3 . Cuando la densidad aparente aumenta, aumenta la capacidad para filtrar las sustancias grandes tales como leucocitos y células, mientras que cuando es demasiado grande, al circular la sangre se produce fácilmente la obstrucción. Así, es preferible el intervalo anteriormente mencionado. Aquellas que tienen la densidad aparente de más de 0,15 g/cm^3 pueden ser capaces de mantener la estabilidad de configuración incluso con el tejido no tejido individualmente sin tomar la constitución de la presente invención, es decir, la estructura laminada de la red y el tejido no tejido. Sin embargo, por supuesto, puede emplearse en la presente invención la densidad aparente de más de 0,15 g/cm^3 . La densidad aparente puede medirse, por ejemplo, como sigue. El absorbente se corta en una pieza cuadrada que tiene lados de 3 cm. Se pone una placa de polipropileno que tiene un grosor de 1 mm en la pieza. El grosor del absorbente se mide

cinco veces, y su valor medio se calcula como el grosor. La densidad aparente se calcula dividiendo el peso de esta pieza por su volumen. Esta medición se realiza con cinco muestras, y se calcula el valor medio como la densidad aparente.

5 Como se ha descrito anteriormente, cuando se usa el tejido no tejido en la presente invención, pueden eliminarse en primer lugar los leucocitos y las células cancerosas por la absorción y la filtración con la parte de tejido no tejido. Además, es posible absorber y eliminar la sustancia fisiológicamente activa tal como la citocina junto con los leucocitos y las células cancerosas seleccionando apropiadamente el material y el diámetro de la fibra de la parte de
10 tejido no tejido. Para absorber y eliminar eficazmente la sustancia fisiológicamente activa tal como la citocina junto con los leucocitos y las células cancerosas, es preferible introducir e inmovilizar el grupo funcional particular en el portador de absorbente. Seleccionando apropiadamente el material que compone el portador de absorbente, particularmente el material que compone la parte de tejido no tejido, es posible ofrecer la capacidad de absorber y eliminar la sustancia fisiológicamente activa tal como la citocina sin introducir el grupo funcional particular. Sin embargo, introduciendo el grupo funcional, puede conseguirse una absorción más eficaz de la sustancia
15 fisiológicamente activa.

La fibra que compone el tejido no tejido está creada preferiblemente en particular con una fibra compuesta de tipo múltiple núcleo-isla en el mar en la que el núcleo puede ser el polipropileno y el recubrimiento puede ser poliestireno. A pesar de que puede emplearse cualquier combinación de materiales siempre y cuando la propiedad de creación de hilado sea buena, el uso del poliestireno como el recubrimiento es particularmente preferible porque el grupo funcional se introduce fácilmente en la estructura de recubrimiento. En este caso, el grupo funcional que tiene el grupo amino puede introducirse simplemente aplicando un método de metilación amida. Tradicionalmente, se han introducido péptidos cíclicos (poliximina B, poliximina S), polietilenimina y sales de amonio cuaternario. Como sus ejemplos específicos, pueden usarse restos de péptido cíclico que tienen un grupo amino, restos de polialquilenimina, grupos benzilamino y grupos alquilamino primarios, secundarios y terciarios. De entre ellos, son preferibles los restos de péptido cíclico que tienen el grupo amino y los restos de polialquilenimina, y los restos de péptido cíclico que tienen el grupo amino son más preferibles por su alto rendimiento de absorción de la sustancia
20 fisiológicamente activa.

30 Más específicamente, el péptido cíclico que tiene el grupo amino puede ser el péptido cíclico compuesto de 2 a 50, preferiblemente de 4 a 16 restos de aminoácidos y que tiene uno o más grupos amino en su cadena lateral, a pesar de no estar limitado a lo mismo. Como su ejemplo específico, pueden usarse la poliximina B, poliximina E, colistina, gramicidina S, o derivados alquilo del mismo o el derivado acilo del mismo.

35 El resto de polialquilenimina referido en la presente invención significa polialquilenimina tipificada mediante copolímero de polietilenimina, polihexametilenimina y poli (etilenimina/decametilenimina), aquellos que se obtienen alquilando una parte de átomos de nitrógeno del mismo con hidrocarbano halogenado tipificado mediante n-hexil bromuro, n-decanil bromuro y n-estearil bromuro o una mezcla de los mismos, o aquellos que se obtienen acilando la polialquilenimina con un ácido graso tal como ácido butírico, ácido valérico, ácido laúrico, ácido mirístico, ácido linoleico y ácido esteárico.
40

Como el método para producir el absorbente que tiene la estructura bicapa de la red y el tejido no tejido de la presente invención, está disponible el método para crear la estructura laminada a partir del tejido no tejido y la red previamente creada de manera separada usando un método de adhesión de entramado públicamente conocido, tal como un método de unión térmica, un método de calendario o un método de punzado con aguja. Como otro método, también está disponible el método para crear el portador de absorbente que tiene una estructura de capa intercalada tejido no tejido-red-tejido no tejido, creando previamente un floculado sometándolo a pre-punzado e intercalando la red con el mismo, y de nuevo sometándolo a punzado. Este método más simple y preferible. Es posible apilar el floculado sometido a pre-punzado en un lado de la red.
45

50 La columna de circulación extracorpórea de la presente invención puede producirse introduciendo el absorbente (portador de absorbente) que tiene la estructura bicapa de la red y el tejido no tejido en un envase, preferiblemente en particular un envase cilíndrico. La constitución de la columna es preferiblemente una columna en la que el portador de absorbente configurado en una forma de placas lisas se introduce de una manera apilada para formar capas múltiples; una columna en la que un filtro cilíndrico compuesto del portador de absorbente enrollado alrededor de un material núcleo o sin ningún material núcleo se aloja en el envase cilíndrico que tiene la entrada de sangre y la salida de sangre en ambos extremos; y una columna en la que un filtro cilíndrico hueco compuesto del portador de absorbente enrollado en la forma cilíndrica con ambos extremos sellados se aloja en un envase cilíndrico que tiene una entrada de sangre y una salida de sangre, estando proporcionada la salida de sangre del envase en el sitio que lleva a la circunferencia externa del filtro cilíndrico hueco y estando la salida de sangre del envase proporcionada en el sitio que lleva a la circunferencia interna del filtro cilíndrico hueco. De entre ellos, la columna que tiene el filtro cilíndrico hueco es la más preferible debido a que elimina eficazmente los leucocitos inflamatorios puesto que la mayoría de los leucocitos inflamatorios de la sangre se eliminan rápidamente gracias a el tejido no tejido que tiene un área grande en la circunferencia externa del filtro cilíndrico, y los pocos leucocitos sobrantes que se dirigen a la circunferencia interna del filtro cilíndrico se eliminan completamente gracias al tejido no tejido que tiene un área pequeña. Por ejemplo, al preparar el filtro cilíndrico hueco, el tejido no tejido que tiene la estructura intercalada
55
60
65

puede prepararse de manera que una dirección longitudinal del monofilamento de la red es perpendicular a cada sección transversal del tejido no tejido, en el que puede ofrecerse fácilmente en el tejido no tejido una alta resistencia a la tracción. Teniendo tal constitución, es posible mejorar la propiedad de manejo al enrollar el tejido no tejido alrededor del material núcleo.

5 Los absorbentes de la presente invención descritos anteriormente pueden utilizarse como las columnas de procesamiento de sangre, tales como las columnas de circulación extracorpórea. Cuando se utilizan como las columnas de circulación extracorpórea, la circulación extracorpórea del cuerpo vivo se realiza normalmente durante una o dos horas, dependiendo de la cantidad de absorbente introducida en el envase de columna y la velocidad de
10 circulación de la sangre. De 150 a 180 horas después del inicio de la circulación extracorpórea, es posible de este modo advertir la elevación del número de linfocitos, y la reducción del número de granulocitos si se compara con aquellos antes de la circulación extracorpórea. Así, el absorbente y la columna de procesamiento de la presente invención son útiles para la terapia mediante leucocitaféresis y la terapia inmunoestimuladora.

15 Ejemplos

La presente invención se describirá más específicamente con relación a los siguientes ejemplos experimentales.

Ejemplo 1 y ejemplo comparativo 1

20 (Medición del potencial zeta)

Se calculó un potencial zeta de la superficie en función de las mediciones de un potencial de flujo, una presión añadida para hacer circular un líquido, y una conductividad específica del líquido usando un aparato de medición de
25 potencial de flujo (ZP-10B suministrado por Shimadzu Corporation). Como un líquido de flujo, se usó una solución acuosa de 1 mM KCl, y la medición se realizó a pH 6 ± 1 a temperatura de 20 ± 5 °C.

(Evaluación de la capacidad de absorción de la citocina)

30 Se añadió IL-1 e IL-6 humana natural al suero fetal de ternero a 500 pg/mL cada uno. Se añadió un absorbente a esta solución de suero, que se agitó después a 37 °C durante 2 horas, y se recogió un sobrenadante como muestra. Se estableció la proporción sólido/líquido como portador : suero = 30 mg : 1 ml. Se midieron las cantidades de citocina antes y después del agitado para obtener la tasa de eliminación.

35 [Ejemplo de producción 1]

(Tejido no tejido)

40 Se obtuvo una fibra compuesta de isla en el mar con 36 componentes isla en la que cada componente de isla estaba compuesto a su vez de un compuesto núcleo-recubrimiento en condiciones de creación de hilado de una velocidad de hilado de fibra de 800 m/minuto y una proporción de estirado de 3 veces, con los siguientes componentes:

Componente núcleo en el componente de isla: polipropileno

45 Componente de recubrimiento en el componente de isla: 90 % en peso de poliestireno, 10 % en peso de polipropileno

Componente de mar: Copolímero de poliéster que contiene una unidad de tereftalato de etileno como la mayor unidad de repetición y 3 % en peso de 5-sodio sulfoisofталato como componente de copolimerización

Proporción del compuesto (proporción de peso), Núcleo : Recubrimiento : Mar = 44 : 44 : 12

50 Se preparó una lámina compuesta de 85 % en peso de esta fibra y 15 % en peso de polipropileno con un diámetro de 20 μm , y la lámina se sometió a punzado con aguja para obtener un tejido no tejido. Este tejido no tejido se trató con una solución acuosa de hidróxido de sodio a 90 °C para disolver el componente de mar de copolímero de poliéster que contenía la unidad de tereftalato de etileno como la mayor unidad de repetición y 3 % en peso de 5-sodio sulfoisofталato como el componente de copolimerización. Como resultado, se obtuvo un tejido no tejido de una
55 fibra núcleo-recubrimiento con diámetro de 5 μm con una densidad aparente de 0,05 g/cm³ (peso por unidad de área: 250 g/m²) (tejido no tejido 1).

(Producto intermedio)

60 Posteriormente, se disolvieron 3 g de paraformaldehído en una solución mixta de 600 ml de nitrobenzeno y 390 ml de ácido sulfúrico a 20 °C. Después, la mezcla se enfrió a 0 °C, y se añadieron 75,9 g de N-metilol- α -cloroacetamida a la misma y se disolvieron a 5 °C o menor. Se sumergieron en la misma 5 g del tejido no tejido 1 anteriormente mencionado y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 2 horas. Posteriormente, la fibra se sacó y se colocó para ser lavada en una cantidad extremadamente excesiva de metanol frío. La fibra se lavó completamente con
65 metanol, después con agua, y se secó para producir 7,0 g de fibra de poliestireno metilada con α -cloroacetamida (producto intermedio A1). El potencial zeta de la misma fue de -21 mV.

(Absorbente (material absorbente, portador de absorbente))

5 Se disolvieron 50 g de N,N- dimetiloctilamina y 8 g de yoduro de potasio en 360 ml de DMF para preparar una solución. Se sumergieron en la misma 5 g del producto intermedio A1, y se calentó en un baño a 85 °C durante 3 horas. La fibra se lavó con isopropanol, y después se sumergió en salmuera a 1 mol/L. Posteriormente, la fibra se lavó con agua y se secó al vacío para producir 8,3 g de fibra de dimetiloctilo amoniacomizada (absorbente A1). El potencial zeta del mismo fue de -1 mV.

10 Se disolvieron 50 g de N,N-dimetilhexilamina y 8 g de yoduro de potasio en 360 ml de DMF para preparar una solución. Se sumergieron en la misma 5 g del producto intermedio A1, y se calentó en un baño a 85 °C durante 3 horas. La fibra se lavó con isopropanol, y después se sumergió en salmuera a 1 mol/l. Posteriormente, la fibra se lavó con agua y se secó al vacío para producir 9,3 g de fibra de dimetilaurilo amoniacomizada (absorbente A2). El potencial zeta del mismo fue de 1,2 mV.

15 [Ejemplo 1]

Se extrajeron 50 ml de sangre con heparina de un voluntario sano. Se disolvió IL-1 e IL-6 humana natural en la misma a 500 pg/ml, y se realizó el siguiente examen.

20 Se introdujeron 150 mg del absorbente A1 y del absorbente A2 en una columna con un volumen interno de 2 ml. Se hicieron circular 25 ml de la sangre anteriormente mencionada a 37 °C durante una hora. Después, se examinó la composición de las células sanguíneas usando un hemocitómetro automático. Se contabilizaron la IL-1 y la IL-2 mediante EIA. Se calculó una tasa de absorción a partir de la diferencia entre antes y después de la circulación. Con el absorbente A1, las tasas de absorción fueron de 19,5 % para los linfocitos, 78 % para los granulocitos y 85 % para los monocitos, y las tasas de absorción para la IL-1 y la IL-6 fueron de 37 % y 32 %, respectivamente. El plasma con ácido cítrico que se preparó usando la sangre de un voluntario sano también se trató de la misma manera, y se examinó un descenso en la actividad del factor de coagulación XIII que se descubrió que era del 12 % (la medición por el método de sustrato sintético se confió a la misma). Con el absorbente A2, las tasas de absorción fueron 21 % para los linfocitos, 75 % para los granulocitos y 83 % para los monocitos, y las tasas de absorción para la IL-1 y la IL-6 fueron de 37 % y 40 % respectivamente. El plasma con el ácido cítrico preparado usando la sangre de un voluntario sano se trató de la misma manera, y se examinó el descenso de la actividad del factor de coagulación XIII, que se descubrió que era del 16 %.

35 Se evaluó también por separado la capacidad de absorción de la citocina. Como resultado, las tasas de absorción para de IL-1 y la IL-6 fueron de 56 % y 88 %, respectivamente. Con el absorbente A2, las tasas de absorción para de IL-1 y la IL-6 fueron de 74 % y 93 %, respectivamente.

40 [Ejemplo comparativo 1]

Usando el producto intermedio A1, se realizó el mismo estudio que en el ejemplo 1 (sangre: 25 ml). Las tasas de absorción fueron de 19,5 % para los linfocitos, 78 % para los granulocitos y 78 % para los monocitos, y las tasas de absorción de la IL-1 y la IL-6 fueron de 2 % y 3 %, respectivamente.

45 El plasma con ácido cítrico preparado usando sangre de un voluntario sano se trató de la misma manera, y se examinó el descenso en la actividad del factor de coagulación XIII, que se descubrió que era del 16 %. Se evaluó también por separado la capacidad de absorción de la citocina. Como resultado las tasas de absorción de la IL-1 y la IL-6 fueron de 12 % y 13 %, respectivamente.

50 Como es evidente a partir de los resultados del ejemplo 1 y del ejemplo comparativo 1 anteriormente mencionados, el absorbente de la presente invención que tiene el potencial zeta de -20 mV o más puede absorber los granulocitos y los monocitos de la sangre con gran eficacia, y además puede absorber simultáneamente las citocinas con gran eficacia.

55 [Ejemplos 2 a 7]

Para examinar la correlación entre las tasas de absorción de los granulocitos y los monocitos y el diámetro de la fibra, se realizó una prueba de absorción mediante el siguiente procedimiento usando sangre (Ht = 43 %) de un donante humano sano.

60 (Medición de las tasas de absorción de los granulocitos y monocitos, y correlación de las mismas con el diámetro de la fibra)

65 Las fibras compuestas de tereftalato de polietileno, cada una con el diámetro de fibra de 2, 3, 4, 6, 10 o 17 µm, se prepararon mediante torneado en estado de fusión. Las fibras se sumergieron en sangre del donante humano sano en una proporción sólido/líquido de 20 mg/mL (prueba de absorción discontinua), se mantuvieron a 37 °C y se mezclaron volcándolas tres veces por minuto durante 5 minutos. Posteriormente, se retiraron las fibras, y se contó el

número de granulocitos (representado por el número de neutrófilos), monocitos y linfocitos en la sangre total antes y después de sumergirlas usando el hemocitómetro (XT1800iv) suministrado por Sysmex para obtener sus tasas de absorción. La tasa de absorción (tasa de eliminación) de cada célula sanguínea se muestra en la tabla 1.

5

[Tabla 1]

Tasa de eliminación promedio en 5 minutos				
	Diámetro de la fibra (µm)	Neutrófilos (Prom.)	Linfocitos (Prom.)	Monocitos (Prom.)
Ejemplo 2	2	17,53	2,03	26,20
Ejemplo 3	3	25,87	2,34	28,60
Ejemplo 4	4	33,03	2,57	44,01
Ejemplo 5	6	25,13	1,55	38,39
Ejemplo 6	10	32,52	4,48	53,05
Ejemplo 7	17	6,05	-0,45	12,76

(Análisis sobre la correlación entre la tasa de absorción y el diámetro de la fibra)

10 Para examinar la correlación entre las tasas de absorción de los granulocitos y los monocitos y el diámetro de la fibra, se realizó la prueba de absorción discontinua como se ha descrito anteriormente usando sangre (Ht = 43 %) de un donante humano sano. En esta prueba, la tasa de eliminación se obtiene como aproximadamente 1/2 en comparación con aquella en circulación usando la columna. Como resultado y como es evidente a partir de la tabla 1, se halló que la tasa de absorción de los linfocitos es baja y menos variable en el intervalo de los diámetros de la fibra examinados, y que la tasa de eliminación de los granulocitos (neutrófilos) y monocitos puede mantenerse tan alta como el 50 % o más si el diámetro de la fibra sobrepasa aproximadamente los 3 µm.

15

[Ejemplos 8 a 10 y ejemplos comparativos 2 a 4]

20 En los siguientes ejemplos, se examinaron la relación entre el potencial zeta y la capacidad de absorción del lipopolisacárido, y un efecto para facilitar la producción del interferón-γ.

20

(Medición del potencial zeta)

25 El potencial zeta de la superficie se midió en la misma condición que en el ejemplo 1 anteriormente mencionado.

25

(Evaluación de la absorción de la citocina)

30 Para la evaluación de la absorción de la citocina, se añadieron IL-1 e IL-6 humana natural al suero fetal de ternero a 500 pg/ml cada una. Se añadió un portador de absorbente a esta solución de suero, agitada a 37 °C durante 2 horas, y se recogió el sobrenadante como muestra. La proporción sólido/líquido se estableció como portador : suero = 30 mg : 1 ml. Se midieron las cantidades de citocina antes y después del agitado para obtener la tasa de eliminación. La contabilización se realizó mediante EIA usando los kits comercialmente disponibles (IL-1: kit ELISA de IL-1β humana suministrado por R & D System; IL-6: suministrado por Kamakura Techno Science).

35

(Evaluación de la producción del interferón-γ)

40 Se rellenó una columna cilíndrica creada con polipropileno y con un volumen interno de 2 ml con 0,3 g del absorbente, y se hicieron pasar 10 ml de sangre de un voluntario humano a través de la misma a un caudal de 2 ml/minuto para producir sangre estimulada con el absorbente. Las fracciones de linfocito se separaron de la sangre que había o no había pasado a través de la columna por centrifugación por gradiente de densidad Ficoll. Las soluciones enriquecidas con linfocito creadas con sangre de antes del contacto con el absorbente y de sangre de 8 horas después del contacto se estimularon con 1 a 10 µg de PHA (fitohemaglutinina-L suministrada por Wako Pure Chemical Industries Ltd.), y se midieron las concentraciones de interferón-γ antes y después de la estimulación. La contabilización se realizó mediante EIA usando el kit comercialmente disponible (kit ELISA de interferón-γ humano suministrado por ENDOGEN). Se calculó un valor de (concentración de interferón-γ después de la estimulación) / (concentración de interferón-γ antes de la estimulación) para usarlo como la actividad de producción del interferón-γ.

45

(Medición del número de células sanguíneas)

50 El número de células sanguíneas y el valor del hematocrito del fluido corporal se midieron usando XT-1800iv suministrado por Sysmex.

50

(Medición del LPS)

55 La cantidad de absorción de LPS se midió usando un toxímetro suministrado por Wako Pure Chemical Industries Ltd. El LPS (n.º de catálogo 120-04531) suministrado por Wako Pure Chemical Industries Ltd. se dispersó a 10 ng/ml

55

en solución salina que contenía un 1 % en volumen de FCS, y se incubó con 300 mg del absorbente en un baño de agua a 37 °C durante 4 horas. La cantidad de LPS sobrante en el sobrenadante se midió usando el toxímetro. Se obtuvieron la cantidad eliminada y la tasa de eliminación del LPS como una diferencia y una proporción entre la cantidad medida y la cantidad de LPS en la solución con LPS añadido. Los criterios para la capacidad de absorción del LPS son del 90 % o más de tasa de eliminación y de 100 pg/ml o más de cantidad de absorción.

[Ejemplo de producción 2]

(tejido no tejido)

Se obtuvo una fibra compuesta de isla en el mar con 36 componentes isla en la que cada componente de isla estaba compuesto a su vez de un compuesto núcleo-recubrimiento en condiciones de creación de hilado de una fibra con velocidad de hilatura de 800 m/minuto y una proporción de estirado de 3 veces, con los siguientes componentes:

Componente núcleo en el componente de isla: polipropileno

Componente de recubrimiento en el componente de isla: 90 % en peso de poliestireno, 10 % en peso de polipropileno

Componente de mar: Copolímero de poliéster que contiene una unidad de tereftalato de etileno como la mayor unidad de repetición y 3 % en peso de 5-sodio sulfoisofталato como el componente de copolimerización

Proporción del compuesto (proporción de peso), Núcleo : Recubrimiento : Mar = 44 : 49 : 12

Se preparó una lámina compuesta de 75 % en peso de esta fibra y 25 % en peso de polipropileno con un diámetro de 20 µm, y la lámina se sometió a punzado con aguja para obtener un tejido no tejido. Este tejido no tejido se trató con una solución acuosa de hidróxido de sodio a 90 °C para disolver el componente de mar del copolímero de poliéster que contenía la unidad de tereftalato de etileno como la mayor unidad de repetición y 3 % en peso de 5-sodio sulfoisofталato como el componente de copolimerización. Como resultado, se obtuvo un tejido no tejido de una fibra núcleo-recubrimiento con diámetro de 4,5 µm con una densidad aparente de 0,03 g/cm³ (peso por unidad de área: 200 g/m²) (tejido no tejido 2).

(Producto intermedio)

Posteriormente, se disolvieron 3 g de paraformaldehído en una solución mixta de 600 ml de nitrobenzeno y 390 ml de ácido sulfúrico a 20 °C. Después, la mezcla se enfrió a 0 °C, y se añadieron 75,9 g de N-metilol-α-cloroacetamida a la misma y se disolvieron a 5 °C o menor. Inmediatamente después de que la temperatura de la mezcla se elevase a 20 °C, se sumergieron en la misma 5 g del tejido no tejido 2 anteriormente mencionado y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 2 horas. Posteriormente, la fibra se sacó y se colocó para ser lavada en una cantidad extremadamente excesiva de metanol frío. La fibra se lavó completamente con metanol, después con agua, y se secó para producir 7,0 g de fibra de poliestireno metilada con α-cloroacetamida (producto intermedio A2). El potencial zeta de la misma fue de -23 mV.

(Absorbentes)

Se disolvieron 50 g de N, N-dimetiloctilamina y 8 g de yoduro de potasio en 360 ml de metanol para preparar una solución. Se sumergieron en la misma 5 g del producto intermedio A2 y se calentó en un baño a 50 °C durante 3 horas. La fibra se lavó con isopropanol, y después se sumergió en salmuera a 1 mol/L. Posteriormente, se lavó la fibra con agua, y se secó al vacío para producir 8,1 g de fibra de dimetiloctilo amoniacomizada (absorbente A3). El potencial zeta de la misma fue de -0,3 mV.

Se disolvieron 50 g de N, N-dimetilhexilamina y 8 g de yoduro de potasio en 360 ml de metanol para preparar una solución. Se sumergieron en la misma 5 g del producto intermedio A3, y se calentó en un baño a 50 °C durante 3 horas. La fibra se lavó con isopropanol y después se sumergió en salmuera a 1 mol/L. Posteriormente, la fibra se lavó con agua y se secó al vacío para producir 7,3 g de fibra de dimetilhexilo amoniacomizada (absorbente A4). El potencial zeta de la misma fue de 2,2 mV.

[Ejemplo 8]

Se extrajeron 50 ml de sangre con heparina de un voluntario sano. Se disolvió IL-1 e IL-6 humana natural en la misma a 500 pg/mL, y se realizó el siguiente examen.

Se introdujeron 150 g del absorbente A3 y del absorbente A4 en una columna con un volumen interno de 2 ml. Se hicieron circular 25 ml de la sangre anteriormente mencionada a 37 °C. Después se examinó la composición de las células sanguíneas usando un hemocitómetro automático (XT1800iv suministrado por Sysmex). La IL-1 y la IL-6 se contabilizaron mediante EIA. Con el absorbente A3, las tasas de reducción fueron de 14,5 % para los linfocitos, 72 % para los granulocitos y 82 % para los monocitos, y las tasas de reducción para la IL-1 y la IL-6 fueron de 33 % y 52%, respectivamente. Con el absorbente A4, las tasas de reducción fueron de 21 % para los linfocitos, 75 % para los granulocitos y 83 % para los monocitos, y las tasas de reducción de la IL-1 y la IL-6 fueron de 37 % y 40 %, respectivamente.

respectivamente.

Las tasas de eliminación para el LPS fueron de 98 % y 97 % con los absorbentes A3 y A4, respectivamente.

- 5 Por separado, se evaluó la absorción de la citocina. Como resultado, las tasas de eliminación con el absorbente A3 fueron de 56 % y 88 % para la IL-1 y la IL-6, respectivamente. Las tasas de eliminación con el absorbente A4 fueron de 74 % y 93 % para la IL-1 y la IL-6, respectivamente.

[Ejemplo 9]

10 (Terapia de circulación extracorpórea)

15 Se introdujeron 0,3 g del absorbente A3 en una columna cilíndrica creada con polipropileno y con un diámetro interno de 1 cm y un volumen interno de 2 ml, para preparar una columna de circulación extracorpórea. Una rata WKAH:Hkm (macho) de 12 semanas de vida se inoculó por vía subcutánea en el lomo con 1×10^6 células de células de cáncer hepático KDH-8 inducidas con 4-dimetilaminoazobenceno (Satoshi Yano, Hokkaido Ishi (Hokkaido Journal of Medical Science) vol. 68 n.º 5: 654-664, 1993). Las células cancerosas se establecieron a una probabilidad del 100 % (normalmente el tumor empieza a crecer una semana después de la inoculación, y la rata portadora del tumor muere 5,5 semanas después de la inoculación). La columna de circulación extracorpórea se lavó previamente con solución salina que contenía 1000 unidades de heparina sódica, y se lavó a su vez con 500 ml de solución salina antes de la circulación extracorpórea.

25 Se sometió a la rata a terapia de circulación extracorpórea durante 2 semanas tras de la inoculación de las células KDH. La sangre se extrajo de la vena femoral, y se contó el número de granulocitos y linfocitos de antes de la circulación extracorpórea usando el hemocitómetro automático. Como resultado, el número de granulocitos fue de 9300 células/ μ l y el número de linfocitos fue de 8100 células/ μ l. Se conformó un circuito en el que se hizo pasar la sangre a través de la columna de circulación extracorpórea y después se devolvió a la vena femoral, y la circulación extracorpórea se realizó a un caudal de 2 ml/minuto durante una hora. Durante la circulación extracorpórea, se inyectaba continuamente una solución de heparina sódica (suministrada por Ajinomoto Co., Inc.) a una velocidad de 30 200 U/hora. La columna de circulación extracorpórea se lavó previamente con solución salina que contenía 1000 unidades de heparina sódica, y se lavó a su vez con 500 ml de solución salina antes de la circulación extracorpórea. Tras realizar la circulación extracorpórea, se ofrecieron procedimientos tales como sutura. Tras el transcurso de 160 horas, se extrajo la sangre y se contó el número de granulocitos y linfocitos usando el hemocitómetro automático. Como resultado, el número de granulocitos y linfocitos fue de 6700 células/ μ l y 114000 μ l, respectivamente; el 35 número de linfocitos aumentó mientras que el número de granulocitos descendió en comparación con aquellos antes de la circulación extracorpórea. Después de esto a la rata se le extrajo sangre durante 3 semanas más y se volvió a realizar la circulación extracorpórea de la misma manera que anteriormente. Se contó el número de granulocitos y linfocitos antes de la circulación extracorpórea usando el hemocitómetro automático. El número de granulocitos y linfocitos fue de 28000 células/ μ l y 7400 células/ μ l, respectivamente. 160 horas después de la circulación 40 extracorpórea, se extrajo sangre y se contó el número de granulocitos y linfocitos usando el hemocitómetro automático. Como resultado, el número de granulocitos y linfocitos fue de 26700 células/ μ l y 8400 células/ μ l, respectivamente. Así el número de linfocitos aumentó mientras que el número de granulocitos descendió en comparación con aquellos de antes de la circulación extracorpórea.

45 [Ejemplo comparativo 2]

Usando el producto intermedio A2, se realizó el mismo estudio que en el ejemplo 8 (sangre: 25 ml). Como resultado, el número de linfocitos, granulocitos y monocitos descendió en 19,5 %, 78 % y 78 %, respectivamente. La IL-1 y la IL-6 descendieron en 2 % y 3 %, respectivamente. La tasa de eliminación del LPS fue del 78 %. Por separado, se 50 evaluó la absorción de la citocina. Como resultado, las tasas de eliminación fueron de 12 % y 13 % para la IL-1 y la IL-6, respectivamente.

[Ejemplo comparativo 3]

55 Se introdujeron 0,3 g del producto intermedio A2 en la columna cilíndrica creada con polipropileno y con un diámetro interno de 1 cm y un volumen interno de 2 ml. Se sometió a la rata a terapia de circulación extracorpórea 2 semanas después de la inoculación de las células KDH de la misma manera que en el ejemplo 8. La sangre se extrajo de la vena femoral, y se contó el número de granulocitos y linfocitos de antes de la circulación extracorpórea usando el hemocitómetro automático. Como resultado, el número de granulocitos fue de 10300 células/ μ l y el número de 60 linfocitos fue de 8400 células/ μ l. Se ofrecieron procedimientos tales como sutura. Tras el transcurso de 160 horas, se extrajo sangre y se contó el número de granulocitos y linfocitos usando el hemocitómetro automático. Como resultado, el número de granulocitos y linfocitos fue de 15200 células/ μ l y 8100 células/ μ l, respectivamente. Así, el número de linfocitos descendió mientras que el número de granulocitos aumentó en comparación con aquellos de antes de la circulación extracorpórea.

65

[Ejemplo 10]

5 Se evaluó la capacidad de producir interferón- γ usando sangre periférica humana y el absorbente A4. Cuando no se trató con el absorbente, la proporción de concentración de interferón- γ fue de 20,4 veces. Por el contrario, cuando se trató con el absorbente, la proporción de concentración de interferón- γ fue de 35,2 veces, mostrando que se había reforzado la inmunorreactividad.

[Ejemplo comparativo 4]

10 Se evaluó la capacidad para producir interferón- γ usando sangre periférica humana y el producto intermedio A2. Cuando no se trató con el absorbente, la proporción de concentración de interferón- γ fue de 20,1 veces, mientras que cuando se trató con el absorbente, la proporción de concentración del interferón- γ fue de 21,2 veces, mostrando que la inmunorreactividad no había cambiado.

15 Ejemplo 11

(Tejido no tejido)

20 Se obtuvo una fibra compuesta de isla en el mar con 36 componentes isla en la que cada componente de isla estaba compuesto a su vez de un compuesto núcleo-recubrimiento en condiciones de creación de hilado de una fibra con velocidad de hilatura de 800 m/minuto y una proporción de estirado de 3 veces, con los siguientes componentes:

25 Componente núcleo en el componente de isla: polipropileno
 Componente de recubrimiento en el componente de isla: 90 % en peso de poliestireno, 10 % en peso de polipropileno
 Componente de mar: Copolímero de poliéster que contiene una unidad de tereftalato de etileno como la mayor unidad de repetición y 3 % en peso de 5-sodio sulfoisofталato como el componente de copolimerización
 Proporción del compuesto (proporción de peso), Núcleo : Recubrimiento : Mar = 44 : 44 : 12

30 Se preparó una lámina compuesta de 50 % en peso de esta fibra y 50 % en peso de polipropileno con un diámetro de 20 μm y la lamina se sometió a punzado con aguja para obtener un tejido no tejido. Este tejido no tejido se trató con una solución acuosa de hidróxido de sodio a 90 °C para disolver el componente de mar del copolímero de poliéster que contenía la unidad de tereftalato de etileno como la mayor unidad de repetición y 3 % en peso de 5-sodio sulfoisofталato como el componente de copolimerización. Como resultado, se obtuvo un tejido no tejido de una
 35 fibra núcleo-recubrimiento con diámetro de 4,5 μm con una densidad aparente de 0,03 g/cm³ (peso por unidad de área: 200 g/m²) (tejido no tejido 3).

(Producto intermedio)

40 Posteriormente, se disolvieron 3 g de paraformaldehído en una solución mixta de 600 ml de nitrobenzeno y 390 ml de ácido sulfúrico a 20 °C. Después, la mezcla se enfrió a 0 °C, y se añadieron a la misma 75,9 g de N-metilol- α -cloroacetamida y se disolvieron a 5 °C o menor. Inmediatamente después de que la temperatura de la mezcla se elevase a 20 °C, se sumergieron en la misma 5 g del tejido no tejido 3 anteriormente mencionado y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 2 horas. Posteriormente, la fibra se sacó y se colocó para ser lavada en una cantidad
 45 extremadamente excesiva de metanol frío. La fibra se lavó completamente con metanol, después con agua, y se secó para producir 6,3 g de fibra de poliestireno metilada con α -cloroacetamida (producto intermedio A3). El potencial zeta de la misma fue de -26 mV.

(Absorbente)

50 Se disolvieron 50 g de N, N-dimetiloctilamina y 8 g de yoduro de potasio en 360 ml de metanol para preparar una solución. Se sumergieron en la misma 5 g del producto intermedio A3, y se calentó en un baño a 50 °C durante 3 horas. La fibra se lavó con isopropanol y después se sumergió en salmuera a 1 mol/L. Posteriormente, la fibra se lavó con agua y se secó al vacío para producir 6,8 g de fibra de dimetilhexilo amoniacomizada (absorbente A5). El
 55 potencial zeta de la misma fue de -12,3 mV.

[Ejemplo 11]

60 Se extrajeron 50 ml de sangre con heparina de un voluntario sano. Se disolvió IL-1 e IL-6 humana natural en la misma a 500 pg/mL, y se realizó el siguiente examen.

65 Se introdujeron 150 g del absorbente A5 obtenido en el ejemplo de producción 3 anteriormente mencionado en una columna con un volumen interno de 2 ml. Se hicieron circular 25 ml de la sangre anteriormente mencionada a 37 °C durante una hora. Después se examinó la composición de las células sanguíneas usando un hemocitómetro automático (XT1800iv suministrado por Sysmex). La IL-1 y la IL-6 se contabilizaron mediante EIA. Con el absorbente A5, las tasas de reducción fueron de 10,5 % para los linfocitos, 61 % para los granulocitos y 67 % para los

monocitos, y las tasas de reducción para la IL-1 y la IL-6 fueron de 24 % y 38 %, respectivamente.

La tasa de eliminación del LPS fue de 90 % con el absorbente A5.

- 5 Por separado, se evaluó la absorción de la citocina. Como resultado, las tasas de eliminación del absorbente A5 fueron de 44 % y 61 % para la IL-1 y la IL-6, respectivamente.

10 A partir de los resultados de los ejemplos 8 a 11 anteriormente mencionados y de los ejemplos comparativos 2 a 4, se ha demostrado que la presente invención, que es el absorbente que tiene el potencial zeta de -20 mV o más, puede absorber los granulocitos y los monocitos de la sangre con gran eficacia, y así mismo que cuando el potencial zeta es de -15 mV o más, el absorbente puede absorber simultáneamente el LPS y la citocina con gran eficacia. Se ha hallado que la alteración en el número de granulocitos y linfocitos tras la circulación extracorpórea cambia hacia una proporción que se cree normal a pesar de que el mecanismo para la misma se desconoce.

15 [Ejemplos 12 a 15 y ejemplos comparativos 5 a 8]

Los métodos de evaluación, los procedimientos y las condiciones para realizar cada ejemplo fueron como sigue.

20 1. Análisis de los componentes de la sangre

La concentración de TGF- β se midió usando un kit de inmunoensayo de TGF- β humano suministrado por Genzyme Techne. La concentración de proteína ácida inmunosupresora se midió usando una placa de IAP de rata suministrada por Sanko Junyaku Co., Ltd. La concentración de albúmina se midió usando Wako ensayo de Albumina B, que es un kit de análisis de la albúmina.

25 2. Capacidad de absorción en equilibrio del absorbente para TGF- β

30 Se extrajeron sueros de cinco ratas portadoras de tumor para preparar 30 ml de una muestra de suero de ratas portadoras de tumor. Se colocaron 50 mg del absorbente en 1 ml de esta muestra de suero, que después se agitó a 37 °C durante 4 horas. Se midió la concentración de TGF- β en el sobrenadante, y la diferencia entre las concentraciones de antes y después de la absorción se dividieron por el peso del absorbente (0,05) para obtener la capacidad de absorción en equilibrio para TGF- β .

35 3. Preparación del absorbente

(Polímero insoluble en agua)

40 Se obtuvo una fibra compuesta de isla en el mar con 36 componentes isla en la que cada componente de isla estaba compuesto a su vez de un compuesto núcleo-recubrimiento en condiciones creación de hilado de una fibra con velocidad de hilatura de 800 m/minuto y una proporción de estirado de 3 veces, con los siguientes componentes:

Componente núcleo en el componente de isla: polipropileno

Componente de recubrimiento en el componente de isla: 90 % en peso de poliestireno, 10 % en peso de polipropileno

45 Componente de mar: Copolímero de poliéster que contiene una unidad de tereftalato de etileno como la mayor unidad de repetición y 3 % en peso de 5-sodio sulfoisofalato como el componente de copolimerización

Proporción del compuesto (proporción de peso), Núcleo : Recubrimiento : Mar = 45 : 45 : 10

50 Se preparó una lámina compuesta de 85 % en peso de esta fibra y 15 % en peso de polipropileno con un diámetro de 17 μ m y la lámina se sometió a punzado con aguja para obtener un tejido no tejido. Este tejido no tejido se trató con una solución acuosa de hidróxido de sodio a 95 °C durante dos horas para disolver el componente de mar del copolímero de poliéster que contenía la unidad de tereftalato de etileno como la mayor unidad de repetición y 3 % en peso de 5-sodio sulfoisofalato como el componente de copolimerización. Como resultado, se obtuvo un tejido no tejido de una fibra núcleo-recubrimiento con diámetro de 5 μ m con una densidad aparente de 0,07 g/cm³ (peso por unidad de área: 250 g/m²).

55 (Producto intermedio)

60 Posteriormente, se disolvieron 3 g de paraformaldehído en una solución mixta de 600 ml de nitrobenzono y 390 ml de ácido sulfúrico a 20 °C. Después, la mezcla se enfrió a 0 °C, y se añadieron 75,9 g de N-metilol- α -cloroacetamida a la misma y se disolvieron a 5 °C o menor. Se sumergieron 5 g del tejido no tejido anteriormente mencionado en la misma y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 2 horas. Posteriormente, la fibra se sacó y se colocó para ser lavada en una cantidad extremadamente excesiva de metanol frío. La fibra se lavó completamente con metanol, después con agua, y se secó para producir 7,0 g de fibra poliestireno metilada con α -cloroacetamida (producto intermedio C1).

65

(Absorbente)

5 Se disolvieron 50 g de N, N-dimetiloctilamina y 8 g de yoduro de potasio en 360 ml de DMF para preparar una solución. Se sumergieron en la misma 5 g del producto intermedio C1, y se calentó en un baño a 85 °C durante 3 horas. La fibra se lavó con isopropanol y después se sumergió en salmuera a 1 mol/L. Posteriormente, la fibra se lavó con agua y se secó al vacío para producir 8,3 g de fibra de dimetiloctilo amoniacomizada (absorbente C1).

10 Se disolvieron 50 g de N, N-dimetilhexilamina y 8 g de yoduro de potasio en 360 ml de DMF para preparar una solución. Se sumergieron en la misma 5 g del producto intermedio C1, y se calentó en un baño a 85 °C durante 3 horas. La fibra se lavó con isopropanol y después se sumergió en salmuera a 1 mol/L. Posteriormente, la fibra se lavó con agua y se secó al vacío para producir 9,3 g de fibra de dimetilaurilo amoniacomizada (absorbente C2).

(Fibra sulfonizada: fibra comparativa)

15 Se disolvieron 500 mg de paraformaldehído en 50 ml de ácido sulfúrico para preparar una solución. Se sumergieron en la misma 5 g del tejido no tejido 1, y se calentó 95 °C durante una hora. Posteriormente, la fibra se lavó con agua, se lavó con salmuera a 1 mol/L, se lavó con agua, y después se secó para producir 7,3 g de fibra sulfonizada (absorbente comparativo C1).

20 (Preparación de las ratas portadoras de tumor)

25 Una rata WKAH:Hkm (macho) de 12 semanas de vida se inoculó por vía subcutánea en el lomo con 1×10^6 células de células de cáncer hepático KDH-8 inducidas con 4-dimetilaminoazobenceno (Satoshi Yano, Hokkaido Ishi (Hokkaido Journal of Medical Science) vol. 68 n.º 5: 654-664, 1993). Las células cancerosas se establecieron a una probabilidad del 100 % (normalmente el tumor empieza a crecer una semana después de la inoculación, y la rata portadora de tumor muere 5,5 semanas después de la inoculación).

(Producción de la columna de circulación extracorpórea)

30 Una columna cilíndrica creada con polipropileno con un diámetro interno de 1 cm y un volumen interno de 2 ml se relleno con cualquiera del absorbente C1, el absorbente C2, el absorbente comparativo C1 y el tejido no tejido compuesto de fibra de tereftalato de polietileno con un diámetro de 25 μm , para preparar una columna de circulación extracorpórea para terapia contra el cáncer. Las columnas rellenas con 0,38 g de cada absorbente se asignaron al ejemplo 12 (absorbente C1), ejemplo 13 (absorbente C2), ejemplo comparativo 5 (absorbente comparativo C1), y ejemplo comparativo 6 (fibra de tereftalato de polietileno con un diámetro de 25 μm). Igualmente, las columnas rellenas con 0,18 g de cada absorbente se asignaron al ejemplo 14 (absorbente C1), ejemplo 15 (absorbente C2), ejemplo comparativo 7 (absorbente comparativo C1), y ejemplo comparativo 8 (fibra de tereftalato de polietileno con un diámetro de 25 μm). El potencial zeta del absorbente fue de -20 mV o más en todos los ejemplos.

40 (Preparación de las ratas portadoras de tumor y de la circulación extracorpórea)

45 La columna de circulación extracorpórea para terapia contra el cáncer se lavó previamente con solución salina que contenía 1000 unidades de heparina sódica, y se lavó a su vez con 500 ml de solución salina antes de la circulación extracorpórea.

50 Dos semanas después de la inoculación de las células KDH, se realizó la circulación extracorpórea a un caudal de 2 mL/mL durante 60 minutos. La sangre se extrajo de la arteria femoral, se hizo pasar a través de la columna de absorbente y después se devolvió a la vena femoral. Durante la circulación extracorpórea, la solución de heparina sódica para inyección (suministrada por Takeda Chemical Industries, Ltd.) se inyectó continuamente a una tasa de 100 U/hora.

55 Se extrajo sangre de la rata antes y después de la circulación extracorpórea, y se midió la concentración de TGF- β en el suero. Se observaron los días de supervivencia después de inocular las células cancerosas. Los resultados que se obtuvieron de este modo se encuentran en la tabla 2).

(Evaluación de la eliminación *in vitro* de células sanguíneas)

60 Se extraen 25 ml de sangre de un voluntario sano. Inmediatamente después de la extracción, se añaden 10 U/mL de heparina a la misma, y se realiza la siguiente circulación en 3 horas. La sangre se mantiene a 37 °C y se hace circular a través de la columna con un volumen de 2 ml (rellenada con la cantidad predeterminada de absorbente que se ha punzado para ser configurado con una forma con diámetro de 1 cm) a un caudal de 2 mL/minuto durante 90 minutos. Después del tratamiento con la columna, se fraccionan los leucocitos de la sangre usando un contador de células sanguíneas y se calculan las tasas de eliminación de los linfocitos, granulocitos (neutrófilos) y monocitos. La tasa de eliminación estándar se ajusta al valor en el punto temporal de 60 minutos.

65

[Tabla 2]

	Cantidad introducida de absorbente para terapia contra el cáncer (g)	Peso corporal de la rata (kg)	Concentración de TGF- β en suero (ng/mL)	Tasa de eliminación de granulocitos (%)
Ejemplo 12	0,38	0,31	33	78
Ejemplo 13	0,38	0,32	36	68
Ejemplo 14	0,18	0,34	35	52
Ejemplo 15	0,18	0,31	33	52
Ejemplo comparativo 5	0,38	0,33	33	58
Ejemplo comparativo 6	0,38	0,31	34	21
Ejemplo comparativo 7	0,18	0,37	35	44
Ejemplo comparativo 8	0,18	0,32	36	18

[Tabla 2] (continuación)

5

	Tasa de eliminación de monocitos (%)	Tasa de eliminación de linfocitos (%)	Tasa de eliminación de TGF- β latente en sangre (%)	Supervivencia tras la inoculación de las células cancerosas (semanas)
Ejemplo 12	88	19	61	7,3
Ejemplo 13	84	17	72	8,6
Ejemplo 14	66	12	26	6,7
Ejemplo 15	68	13	39	7,3
Ejemplo comparativo 5	59	12	3	4,3
Ejemplo comparativo 6	16	11	6	4,7
Ejemplo comparativo 7	22	12	3	4,3
Ejemplo comparativo 8	14	10	3	4,3

En los ejemplos 12 y 13 las concentraciones de TGF- β en sangre descendieron y se prolongó la duración de la vida. En los ejemplos 12 a 15 y los ejemplos comparativos 5 a 8, se ha mostrado que las concentraciones de TGF- β en sangre tras la circulación extracorpórea son inversas en proporción respecto a la duración de la vida tras inocular las células cancerosas. Se ha mostrado también que las concentraciones de TGF- β en sangre disminuyen en proporción respecto a la cantidad de absorbente usada. En los ejemplos comparativos, las concentraciones de TGF- β en sangre no disminuyeron, y la duración de la vida tras inocular las células cancerosas fue corta. Ya que la duración de la vida de las ratas que no fueron tratadas fue de 5,5 semanas, los ejemplos comparativos 5 a 8 demuestran que, cuando se realiza la circulación extracorpórea usando la columna que tiene la capacidad de absorción baja de TGF- β , la duración de la vida más bien se acorta.

15

[Ejemplos 16 y 17 y ejemplos comparativos 9 a 10]

[Ejemplo 16]

20

(Portador de absorbente)

Se obtuvo una fibra compuesta de isla en el mar con 36 componentes isla en la que cada componente de isla estaba compuesto a su vez de un compuesto núcleo-recubrimiento en condiciones de creación de hilado de una fibra con velocidad de hilatura de 800 m/minuto y una proporción de estirado de 3 veces, con los siguientes componentes:

25

Componente núcleo en el componente de isla: polipropileno

Componente de recubrimiento en el componente de isla: 90 % en peso de poliestireno, 10 % en peso de polipropileno

30

Componente de mar: Copolímero de poliéster que contiene una unidad de tereftalato de etileno como la mayor unidad de repetición y 3 % en peso de 5-sodio sulfoisofalato como el componente de copolimerización

Proporción del compuesto (proporción de peso), Núcleo : Recubrimiento : Mar = 42 : 43 : 15

Se preparó una lámina compuesta de 85 % en peso de esta fibra y 15 % en peso de polipropileno con un diámetro de 20 μm y la lámina se sometió a punzado con aguja para obtener un tejido no tejido. Con dos laminas de tejido no tejido, se intercaló una red de poliéster (grosor: 0,4 mm, diámetro del monofilamento: 0,3 mm) con aberturas de 2 mm cuadrados. Se realizó el punzado con aguja ajustando la lámina intercalada de manera que la inclinación contra la superficie recortada del tejido no tejido fuera de 90 °. Este tejido no tejido fue tratado con una solución acuosa de hidróxido de sodio a 90 °C para disolver el componente de mar del copolímero de poliéster que contenía la unidad de tereftalato de polietileno como la mayor unidad de repetición y el 3 % en peso de 5-sodio sulfoisofталato como el componente de copolimerización. Como resultado, se obtuvo un portador de absorbente de una fibra núcleo-recubrimiento con diámetro de 5 μm con una densidad aparente de 0,02 g/cm³ (peso por unidad de área: 150 g/m²) (portador de absorbente B1). El portador de absorbente se enrolló a una velocidad constante, y se halló que el portador era capaz de enrollarse de manera estable. Así, se obtuvieron filtros cilíndricos con una forma uniforme.

(Producto intermedio)

Posteriormente, se disolvieron 3 g de paraformaldehído en una solución mixta de 600 ml de nitrobenzeno y 390 ml de ácido sulfúrico a 20 °C. Después, la mezcla se enfrió a 0 °C, y se añadieron 75,9 g de N-metilol- α -cloroacetamida a la misma y se disolvieron a 5 °C o menor. Se sumergieron 5 g del portador de absorbente B1 anteriormente mencionado y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 2 horas. Posteriormente, la fibra se sacó y se colocó para ser lavada en una cantidad extremadamente excesiva de metanol frío. La fibra se lavó completamente con metanol, después con agua, y se secó para producir 7,0 g de fibra poliestireno metilada con α -cloroacetamida (producto intermedio B1).

(Grupo funcional introducido en el absorbente (portador de absorbente))

Se disolvieron 50 g de N,N-dimetiloctilamina y 8 g de yoduro de potasio en 360 ml de DMF para preparar una solución. Se sumergieron en la misma 5 g del producto intermedio B1, y se calentó en un baño a 85 °C durante 3 horas. La fibra se lavó con isopropanol y después se sumergió en salmuera a 1 mol/L. Posteriormente, la fibra se lavó con agua y se secó al vacío para producir 8,3 g de fibra de dimetiloctilo amoniacomizada (grupo funcional introducido en portador de absorbente B1).

Por separado, se disolvieron 50 g de N,N-dimetilaurilamina y 8 g de yoduro de potasio en 360 ml de DMF para preparar una solución. Se sumergieron en la misma 5 g del producto intermedio B1 anteriormente mencionado, y se calentó en un baño a 85 °C durante 3 horas. La fibra se lavó con isopropanol y después se sumergió en salmuera a 1 mol/L. Posteriormente, la fibra se lavó con agua y se secó al vacío para producir 9,3 g de fibra de dimetilaurilo amoniacomizada (grupo funcional introducido en el portador de absorbente B2). Los portadores de absorbente B1 y B2 que contenían la red en los que se introdujo el grupo funcional eran así indeformables y capaces de mantener buenas formas.

[Ejemplo comparativo 9]

El tejido no tejido se preparó de la misma manera que en el ejemplo 16, exceptuando que la fibra compuesta de isla en el mar se sometió al punzado con aguja realizado en el ejemplo 16 sin usar la red. Este tejido no tejido se trató con una solución acuosa de hidróxido de sodio a 90 °C para disolver el componente de mar del copolímero de poliéster que contenía la unidad de tereftalato de etileno como la mayor unidad de repetición y 3 % en peso de 5-sodio sulfoisofталato como el componente de copolimerización. Como resultado, se obtuvo un tejido no tejido de fibra núcleo-recubrimiento con diámetro de 5 μm , con una densidad aparente de 0,02 g/cm³ (peso por unidad de área: 150 g/m²) (tejido no tejido B1). Este tejido no tejido tenía resistencia pobre en una dirección en sentido transversal. Este tejido se alargó durante la síntesis del producto intermedio y del absorbente, y de este modo no pudo mantener su densidad aparente.

[Ejemplo 17]

Se extrajeron 50 ml de sangre con heparina de un voluntario sano. Se disolvió IL-6 humana natural (denominada de aquí en adelante como IL-6) en la misma a 500 pg/mL, y se realizó el siguiente examen.

Se introdujeron 150 mg del absorbente (grupo funcional introducido en el portador de absorbente B1) en la columna con un volumen interno de 2 ml. Se hicieron circular 25 ml de la sangre anteriormente mencionada a 37 °C durante una hora. Después, se examinó la composición de las células sanguíneas usando el hemocitómetro automático, y se contabilizó la IL-6 mediante EIA. El número de linfocitos y granulocitos descendió en 12,5 % y 67 %, respectivamente. La IL-6 también descendió en 35 %. En este experimento, la pérdida de presión no aumentó.

[Ejemplo comparativo 10]

El tejido no tejido preparado en el ejemplo comparativo 10 se introdujo en la columna en la misma cantidad y de la misma manera que en el ejemplo 17, y el examen se realizó usando 25 ml de sangre sobrante.

En este experimento, la pérdida de presión aumentó a 45 minutos, y sobrepasó los 200 mmHg, y por lo tanto, el examen fue discontinuo. El número de linfocitos y granulocitos descendió en 31,5 % y 69 %, respectivamente, y la IL-6 también descendió en 35 %.

5 [Ejemplo 18]

10 Al preparar un tejido no tejido de la misma manera que en el ejemplo 16, la red de poliéster (grosor: 0,4 mm, diámetro del monofilamento: 0,3 mm) con aberturas de 2 mm cuadrados se intercaló con las láminas de tejido no tejido, y se ajustó la lámina intercalada de manera que la inclinación contra la superficie recortada del tejido no tejido fuera de 110 grados contra la superficie recortada del tejido no tejido. Cuando se enrolló a una velocidad constante, se confirmó el alargamiento del tejido no tejido y la tensión de enrollamiento no se estabilizó. El grosor del tejido no tejido no fue constante, y no se pudieron obtener filtros cilíndricos con una forma uniforme.

15 Se introdujeron 150 g de este tejido no tejido en la columna con un volumen interno de 2 ml. Se hicieron circular 25 ml de la sangre anteriormente mencionada a 37 °C durante una hora, y después se examinó la composición de las células usando el hemocitómetro automático. Se contabilizó también la IL-6 mediante EIA. Como resultado, el número de linfocitos y granulocitos descendió en 12,5 % y 67 %, respectivamente. La IL-6 también descendió en 35 %. En este experimento, la pérdida de presión no aumentó.

20 **Aplicabilidad industrial**

25 De acuerdo con la presente invención, se proporciona un absorbente capaz de absorber y eliminar de la sangre los leucocitos y las citocinas inflamatorias e inmunosupresoras, con una tasa de eliminación baja de componentes útiles de la sangre. Tal absorbente de la presente invención puede proporcionarse para varios usos tales como terapia mediante leucocitaféresis, terapia inmunoestimuladora y terapia contra el cáncer.

30 Este material es adecuadamente aplicable a una columna para cromatografía por afinidad y a una columna de sangre para tratamiento, particularmente una columna de circulación extracorpórea, con forma de artículos moldeados tales como una placa de Petri, una botella, una membrana, una fibra, una fibra hueca, una materia granular o un conjunto de los mismos.

REIVINDICACIONES

1. Un absorbente que tiene la capacidad de absorber granulocitos, monocitos y citocina en sangre, **caracterizado por que** el absorbente tiene un potencial zeta de -20 mV o más, el absorbente comprende un portador insoluble en agua que tiene un grupo funcional unido al mismo y el portador insoluble en agua tiene una sal de amonio cuaternario y/o un grupo amino de cadena lineal unidos al mismo.
2. El absorbente de acuerdo con la reivindicación 1 en el que la forma de dicho absorbente es una forma seleccionada de una fibra, una membrana, una fibra hueca y una perla.
3. El absorbente de acuerdo con la reivindicación 2 en el que la forma de dicho portador insoluble en agua se selecciona de una fibra o de una fibra hueca que tienen un diámetro de fibra de más de 3 μm , y una perla con una protuberancia que tiene un diámetro de más de 3 μm en su superficie.
4. El absorbente de acuerdo con la reivindicación 2 en el que la forma de dicho portador insoluble en agua se selecciona de una fibra o de una fibra hueca que tienen un diámetro de fibra de 4 a 8 μm , y una perla con una protuberancia que tiene un diámetro de 4 a 8 μm en su superficie.
5. El absorbente de acuerdo con la reivindicación 2 en el que la forma de dicho portador insoluble en agua se selecciona de una fibra o de una fibra hueca que tienen un diámetro de 4,5 a 8 μm , y una perla con una protuberancia que tiene un diámetro de 4,5 a 8 μm en su superficie.
6. El absorbente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5 en el que dicho portador insoluble en agua comprende además una fibra o una fibra hueca que tienen un diámetro de fibra de 10 a 50 μm .
7. El absorbente de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en el que la sal de amonio cuaternario es un grupo que puede obtenerse inmovilizando al menos un grupo seleccionado de N,N-dimetilhexilamina, N,N-dimetiloctilamina y N,N-dimetillaurilamina en el portador insoluble en agua.
8. El absorbente de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en el que el grupo amino de cadena lineal que puede obtenerse inmovilizando tetraetilenpentamina en el portador insoluble en agua.
9. El absorbente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 en el que una tasa de absorción de los linfocitos es del 40 % o menor, midiéndose la tasa de absorción haciendo pasar la sangre una vez a través de una columna rellena con el absorbente, contando el número de células sanguíneas antes y después de hacerla pasar y calculando la tasa de acuerdo con la fórmula:
- $$\text{Tasa de absorción (\%)} = \frac{[(\text{número de linfocitos en sangre antes de pasar a través de la columna}) - (\text{número de linfocitos en sangre después de pasar a través de la columna})]}{(\text{número de linfocitos en sangre antes de pasar a través de la columna})} \times 100$$
10. El absorbente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 en el que dicha citocina es al menos una seleccionada del grupo que consiste en interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6), interleucina-8 (IL-8), interleucina-10 (IL-10), TNF- α , factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y proteína ácida inmunosupresora (IAP).
11. El absorbente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 en el que la tasa de absorción del factor de coagulación XIII es del 30 % o menor.
12. El absorbente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 que tiene el potencial zeta de -15 mV o más y que tiene la capacidad de absorber el 90 % o más de lipopolisacárido (LPS) en solución salina que contiene un 1 % en volumen de suero fetal de ternero (FCS).
13. Un absorbente para terapia contra el cáncer que comprende un polímero insoluble en agua que es el absorbente de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho absorbente tiene una capacidad para absorber el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) latente.
14. El absorbente para terapia contra el cáncer de acuerdo con la reivindicación 13 en el que una tasa de absorción de los granulocitos es del 35 % o más y una tasa de absorción de los monocitos es del 35 % o más, midiéndose la tasa de absorción haciendo pasar la sangre una vez a través de una columna rellena con el absorbente, contando el número de células sanguíneas antes y después de hacerla pasar y calculando la tasa de acuerdo con las fórmulas:

Tasa de absorción de granulocitos (%) = [(número de granulocitos en sangre antes de pasar a través de la columna) – (número de granulocitos en sangre después de pasar a través de la columna)] / (número de granulocitos en sangre antes de pasar a través de la columna) x 100;

5 Tasa de absorción de monocitos (%) = [(número de monocitos en sangre antes de pasar a través de la columna) – (número de monocitos en sangre después de pasar a través de la columna)] / (número de monocitos en sangre antes de pasar a través de la columna) x 100;

10 15. El absorbente para terapia contra el cáncer de acuerdo con las reivindicaciones 13 o 14 en el que la forma de dicho polímero insoluble en agua que tiene el resto de amina hidrófila unido al mismo es una membrana, una fibra o una materia granular.

15 16. El absorbente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 en el que la tasa de absorción de los granulocitos es del 50 % o más y la tasa de absorción de los monocitos es del 50 % o más, midiéndose la tasa de absorción haciendo pasar la sangre una vez a través de una columna rellena con el absorbente, contando el número de células sanguíneas antes y después de hacerla pasar y calculando la tasa de acuerdo con las fórmulas:

20 Tasa de absorción de granulocitos (%) = [(número de granulocitos en sangre antes de pasar a través de la columna) – (número de granulocitos en sangre después de pasar a través de la columna)] / (número de granulocitos en sangre antes de pasar a través de la columna) x 100;

25 Tasa de absorción de monocitos (%) = [(número de monocitos en sangre antes de pasar a través de la columna) – (número de monocitos en sangre después de pasar a través de la columna)] / (número de monocitos en sangre antes de pasar a través de la columna) x 100;

17. El absorbente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 que tiene al menos una estructura bicapa de una red y un tejido no tejido.

30 18. El absorbente de acuerdo con la reivindicación 17 en el que dicha red es una red que tiene 10 mm² o más vacíos por 100 mm².

19. El absorbente de acuerdo con las reivindicaciones 17 o 18 en el que una forma de vacíos de dicha red es un cuadrilátero.

35 20. El absorbente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 17 a 19 en el que un componente de dicha red está dispuesto en una dirección de un ángulo de 90 ° ± 10 ° contra un eje mayor o un eje menor de dicho tejido no tejido en dicha estructura bicapa.

40 21. El absorbente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 17 a 20 que tiene la capacidad de absorber una sustancia fisiológicamente activa y/o células.

22. El absorbente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 17 a 21 en el que dicha red está compuesta de un monofilamento.

45 23. El absorbente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 17 a 21 en el que en dicha red, las partes donde se cruzan sus componentes están entramadas.

50 24. El absorbente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 17 a 23 en el que la densidad aparente es de 0,02 g/cm³ o más.

25. Una columna de procesamiento que comprende un envase y el absorbente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24 introducidos en la misma.

55 26. Una columna de procesamiento que comprende un envase cilíndrico y el absorbente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24 introducidos en la misma.

27. Una columna de circulación extracorpórea para terapia contra el cáncer que comprende el absorbente para terapia contra el cáncer de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15.