

[報告]

全血採血採取分離プロトコルによる白血球除去赤血球製剤と 白血球除去血漿製剤の製品品質について

日本赤十字社近畿ブロック血液センター

渕崎晶弘, 山本哲史, 寺田あかね, 下垣一成, 小河英人, 西田好宏, 平山文也, 谷 慶彦, 河 敬世

Quality tests performed on leukocyte-reduced red cell products and plasma products produced either by conventional equipment or by erythrocytapheresis

Japanese Red Cross Kinki Block Blood Center

Akihiro Fuchizaki, Tetsushi Yamamoto, Akane Terada, Kazushige Shimogaki, Hideto Ogawa, Yoshihiro Nishida, Humiya Hirayama, Yoshihiko Tani and Keisei Kawa

抄 錄

ヘモネティクス社は、採血現場で全血採血のみならず赤血球と血漿への分離および白血球除去が自動で行える全血採血採取分離プロトコルを開発した。本調製法には次の2つの特徴がある。ひとつめは、白血球除去、遠心、分離の3工程を自動化することにより、製剤調製時の作業者への負担を大幅に軽減し、製剤調製時間を短縮することである。ふたつめは、MAP液を用いて赤血球製剤の残存血漿を置換することにより、副作用¹⁾を低減させることである。

本研究では、10名の健常人から、全血採血採取分離プロトコルを用いて採血、調製された赤血球製剤および血漿製剤の品質試験を実施した。得られた製品の品質試験結果は、現行の赤血球製剤、血漿製剤と比較して、有意差($p < 0.01$)が認められた試験項目もあったが、ほぼ同程度の品質試験結果であり、現行調製方法の製品品質を確保できると考えられた。

Key words: erythrocytapheresis, leukocyte-reduced red cell products, leukocyte-reduced fresh frozen plasma, quality test

【はじめに】

全血由来血液製剤の製造工程は、ほとんど自動化されておらず、採血本数に依存して、作業量が大きく変動する。また、血液センター製造施設の集約化に伴い、原料血液搬送時間の延長や、一製造所あたりの製造本数の増加により、製造施設の稼働時間が延長している²⁾。

このような現状において、製造工程の自動化は、作業者の負担や人為的ミスを軽減すると期待される³⁾。今回、全血採血採取分離プロトコルを搭載した成分採血装置CCS(以下、CCSと略す)を用いて採血、調製された白血球除去赤血球製剤と白血球除去血漿製剤の品質試験を行ったので報告する。

【方 法】

1. 対 象

400mL全血採血基準に合致し、研究目的のための採血同意書に承諾が得られた10名の男性健常人ボランティアを対象とした。

2. 全血採血採取分離プロトコル

全血採血採取分離プロトコルをCCSに搭載し、CCS WB専用キットを用いて400mL全血採血を実施した。最初に初流血を25mL採取後、CPD液を血液に対して1:8の割合で添加しながら、供血者から採血を行い、血液をボウル内で遠心分離した。遠心分離された血漿は貯留パックに保管後、白除フィルターを用いて白血球除去を行った。赤血球は残存血漿置換工程として、MAP液を200mL注入し、洗浄した。洗浄後、白除フィルターを用いて白血球除去を行い、除去後赤血球にMAP液を92mL添加した。血液分離工程における遠心条件は、7,000rpmと7,500rpmの2種類を行った。以下、遠心条件7,000rpmで製造された血漿製剤をA群、遠心条件7,500rpmで製造された血漿製剤をB群とする。

3. 試験方法および評価方法

試験項目については、表1に示した。血漿製剤は採血当日に品質試験を実施した。赤血球製剤については、性状試験を採血当日に行い、品質試験を採血当日と以後7日ごとに、採血後42日目まで実施した。検体数は、A群5例、B群5例とした。

Controlは現行法より調製された400mL全血採血由来の新鮮凍結血漿製剤(n=10)および赤血球製剤(n=4、保管日数3日目、7日目、14日目、21日目、28日目、35日目、42日目)を用いた。評価方法は①A群 vs Control ②B群 vs Control ③A群 vs B群についてt検定を行い、有意水準1%で評価した(表1)。

【結 果】

1. 血漿製剤

品質試験結果を表2に示した。表2より①A群B群におけるグルコース濃度およびB群における上清Na⁺濃度は、Controlと比較して有意に高値を示した。②A群B群におけるpH、総タンパク濃度およびB群における乳酸濃度は、Controlと比較して有意に低値を示した。③凝固因子活性は、A群におけるPTおよびAPTTで、Controlと比較して有意に延長した。④容量および上清K⁺濃度は、A群B群ともControlと比較して有意な差はなかった。⑤総白血球数は、すべての検体で白血球除去前後ともに日赤基準である1.0×10⁶(個/bag)以下であった⁴⁾(表2)。

2. 赤血球製剤

1) 性状試験

赤血球製剤の性状について表3に示した。表3より、①容量は、Controlと比較して有意に高値を示した。②残存タンパク濃度およびA群におけるヘマトクリットは、Controlと比較して有意に

表1 試験項目

血漿製剤	赤血球製剤
pH、容量、総白血球数(白血球除去前後)	1. 性状試験
総タンパク濃度、電解質濃度(Na ⁺ 、K ⁺)	容量、残存タンパク濃度、ヘマトクリット
グルコース濃度、乳酸濃度	赤血球数、総赤血球数、ヘモグロビン濃度
プロトロンビン時間(PT)	平均赤血球容積、総白血球数
活性化トロンボプラスチン時間(APTT)	2. 製品品質試験
	pH、グルコース濃度、乳酸濃度
	上清電解質濃度(Na ⁺ 、K ⁺)、ATP濃度
	上清ヘモグロビン濃度、溶血率
	赤血球浸透圧抵抗性試験

表2 血漿製剤品質試験結果

試験項目	検体	結果		
容量 (mL)	A群	201	±	40
	B群	213	±	10
	Control	229	±	12
総白血球数(白除前) (/Bag)	A群	2.0×10^5	±	1.0×10^5
	B群	2.6×10^5	±	5.6×10^4
	Control	5.6×10^4	±	3.1×10^4
総白血球数(白除後) (/Bag)	A群	3.9×10^4	±	3.7×10^4
	B群			
	Control			
pH	A群	7.09	±	0.02
	B群	7.07	±	0.03
	Control	7.19	±	0.02
Na ⁺ 濃度 (mmol/L)	A群	151	±	1
	B群	152	±	1
	Control	150	±	1
K ⁺ 濃度 (mmol/L)	A群	2.3	±	0.2
	B群	2.4	±	0.1
	Control	2.6	±	0.2
グルコース濃度 (mg/dL)	A群	504	±	12
	B群	467	±	9
	Control	374	±	20
乳酸濃度 (mg/dL)	A群	15	±	5
	B群	14	±	4
	Control	22	±	4
PT (秒)	A群	12.8	±	0.9
	B群	11.5	±	0.6
	Control	11.1	±	0.5
APTT (秒)	A群	35.7	±	3.2
	B群	32.8	±	2.2
	Control	30.7	±	1.2
総タンパク濃度 (g/dL)	A群	5.4	±	0.4
	B群	5.6	±	0.1
	Control	6.1	±	0.3

a A群 VS Control ($p < 0.01$)b B群 VS Control ($p < 0.01$)c A群 VS B群 ($p < 0.01$)

低値を示した。③赤血球数、総赤血球数、ヘモグロビン濃度、平均赤血球容積は、Controlと比較して有意差な差はなかった。④総白血球数はすべての検体で日赤基準である 1.0×10^6 (個/bag) 以下であった (表3)。

2) 品質試験

品質試験結果を表4に示した。表4より、①pHは、A群(保管日数3日目、28日目)、B群(保管日数28日目、35日目、42日目)ともにControlと比較して有意に高値を示したが、Controlと同

様に経時的な低下が認められた。②グルコース濃度は、B群(保管日数14日目、21日目、35日目、42日目)でControlと比較して有意に高値を示したがA群B群ともControlと同様、経時に低下が認められた。③乳酸濃度は、A群(保管日数3日目、21日目、35日目) B群(保管日数3日目、14日目、21日目、28日目、35日目、42日目)ともにControlと比較して有意に低値を示したが、Controlと同様、経時に増加が認められた。④上清電解質濃度(Na⁺、K⁺)は、上清K⁺濃度(A群B群1日目 vs Control 3日目)を除いて、有意差は認められなか

表3 赤血球製剤の性状試験結果

試験項目/検体	A群		B群		Control*		T-test A群 vs Control	T-test B群 vs Control	T-test A群 vs B群
容量 (mL)	310	± 8	313	± 11	278	± 10			
残存タンパク濃度 (g/dL)	0.8	± 0.0	0.8	± 0.2	1.2	± 0.2	p<0.01	p<0.01	
ヘマトクリット (%)	52.9	± 0.9	53.2	± 1.5	56.0	± 1.5			
赤血球数 ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	592	± 17	563	± 32	608	± 72			NS
総赤血球数 (/bag)	$1.8 \times 10^{12} \pm 7.3 \times 10^{10}$		$1.8 \times 10^{12} \pm 1.5 \times 10^{11}$		$1.7 \times 10^{12} \pm 2.6 \times 10^{11}$				NS
ヘモグロビン濃度 (g/dL)	18.2	± 0.3	18.0	± 0.5	19.1	± 0.6			NS
平均赤血球容積 (fL)	89.7	± 3.3	94.7	± 3.5	92.9	± 9.3			
総白血球数 (/bag)	$1.6 \times 10^5 \pm 5.4 \times 10^4$		$1.8 \times 10^5 \pm 8.5 \times 10^4$						

※RCC-LR2 (n=4, Day 3) Mean±SD

った。⑤ATP濃度は、A群B群ともに、すべての保管日数でControlと比較して有意な差は認められなかった。⑥上清ヘモグロビン濃度は、A群において、保管日数14日目で有意に高値を示し、B群においては保管日数35日目、42日目で有意に低値を示した。⑦溶血率は、A群B群ともに、保管日数14日目でControlと比較して有意に高値を示したが、保管日数35日目のB群では、有意に低値を示した。⑧赤血球浸透圧抵抗性試験結果は、A群における50%溶血点(保管日数14日目)で、Controlと比較して有意に低値を示したが、その他の保管日数では有意差が認められなかった(表4)。

【考 察】

今回のプロトコルでは、CPD液を血液に対して1:8の割合で添加しながら、供血者から採血を行ったが、血漿製剤のグルコース濃度が現行血漿製剤より有意に高値を示し、総タンパク濃度で有意に低値を示した結果から、CPD液の混合比率が実際には1:8の割合より高かった可能性がある。とくにA群は総タンパク濃度がB群、

Controlと比較して低値を示していることから、CPD液の混合比率が最も高く、その結果、グルコース濃度が高値を示し、PT、APTTが延長したと推測された。遠心条件については、B群においてPT、APTTがControlと有意な差を認められなかったことから、7,500rpmが製剤調製に適している条件と考えられた。

Picher SMらは、成分採血装置としてMCS⁺(ヘモネティクス社製)を使用し、保存液SAGMを用いて、成分採血由来赤血球製剤を調製後、品質試験を実施した結果、現行調製法と比較してグルコース濃度およびATP濃度で低値を示し、溶血率および上清K⁺濃度で高値を示したと報告⁵⁾している。今回、我々が品質試験を行った全血採血採取分離プロトコル由来赤血球製剤は、現行製剤と比較してグルコース濃度で有意に高値を示したが、ATP濃度、溶血率および上清K⁺濃度は、同程度の品質であった。これらの結果は、赤血球製剤中にグルコースが十分に残存していたため、Na⁺/K⁺ATPase、赤血球の機能や形態維持に必要なATPが保持されていたことに起因すると考えられた。pH、グルコース濃度、乳酸濃度の結果から、

表4 赤血球製剤品質試験結果

		項目/保存日数	1日(3日目)	7日目	14日目	21日目	28日目	35日目	42日目
pH	A群	6.96 ± 0.02 a	6.82 ± 0.03	6.69 ± 0.03	6.58 ± 0.03	6.49 ± 0.03 a	6.41 ± 0.03	6.36 ± 0.04	
	B群	6.95 ± 0.03	6.81 ± 0.03	6.68 ± 0.03	6.57 ± 0.02	6.50 ± 0.02 b	6.43 ± 0.02 b	6.38 ± 0.02 b	
	Control	6.87 ± 0.05	6.79 ± 0.06	6.61 ± 0.04	6.50 ± 0.05	6.39 ± 0.04	6.36 ± 0.03	6.31 ± 0.03	
グルコース濃度 (mg/dL)	A群	496 ± 6	426 ± 6	364 ± 12	304 ± 17	259 ± 21	220 ± 28	163 ± 33	
	B群	473 ± 9	430 ± 9	362 ± 8 b	307 ± 9 b	249 ± 16	231 ± 19 b	197 ± 19 b	
	Control	471 ± 21 c	417 ± 17	333 ± 16	266 ± 19	212 ± 19	172 ± 22	139 ± 20	
乳酸濃度 (mg/dL)	A群	22 ± 4 a	90 ± 8	156 ± 12	197 ± 13 a	267 ± 20	296 ± 21 a	320 ± 24	
	B群	19 ± 4 b	91 ± 6	148 ± 10 b	187 ± 12 b	242 ± 18 b	275 ± 18 b	301 ± 20 b	
	Control	56 ± 3	102 ± 9	188 ± 17	255 ± 17	303 ± 11	335 ± 10	361 ± 11	
上清Na ⁺ 濃度 (mmol/L)	A群	110.8 ± 0.7	101.2 ± 1.5	95.5 ± 1.4	91.0 ± 1.3	87.4 ± 1.4	84.8 ± 1.6	82.5 ± 1.3	
	B群	111.1 ± 1.2	103.3 ± 2.0	97.4 ± 2.5	92.7 ± 2.6	89.2 ± 2.9	87.2 ± 3.0	83.6 ± 3.3	
	Control	108.6 ± 2.1	103.9 ± 1.9	98.2 ± 2.0	93.5 ± 1.7	89.3 ± 1.2	85.4 ± 0.8	82.3 ± 0.7	
上清K ⁺ 濃度 (mmol/L)	A群	1.1 ± 0.2 a	15.9 ± 1.0	27.0 ± 1.8	35.4 ± 2.1	41.3 ± 2.4	47.3 ± 2.7	50.5 ± 2.8	
	B群	1.0 ± 0.1 b	13.8 ± 1.4	24.5 ± 2.3	32.7 ± 3.0	38.7 ± 3.5	44.3 ± 3.9	48.7 ± 4.1	
	Control	6.9 ± 1.4	14.4 ± 2.4	25.6 ± 3.4	34.6 ± 3.7	42.2 ± 3.4	48.9 ± 3.0	54.7 ± 2.7	
ATP濃度 (μmol/gHgb)	A群	5.0 ± 0.7	5.6 ± 0.7	5.8 ± 0.1	4.9 ± 1.3	4.9 ± 0.6	3.5 ± 0.5	2.9 ± 0.6	
	B群	5.4 ± 0.2	5.8 ± 0.8	6.1 ± 0.2	5.8 ± 0.3	4.9 ± 0.6	3.8 ± 0.4	3.3 ± 0.3	
	Control	5.4 ± 0.5	6.5 ± 1.1	6.9 ± 1.0	5.6 ± 0.9	4.8 ± 0.7	3.8 ± 0.8	2.7 ± 0.7	
上清ヘモグロビン濃度 (mg/dL)	A群	14.0 ± 2.7	21.0 ± 1.0	24.2 ± 2.0 a	24.4 ± 1.7	30.8 ± 2.9	34.4 ± 5.1	42.4 ± 6.9	
	B群	12.6 ± 3.4	17.3 ± 4.1	19.7 ± 2.6	22.3 ± 2.9	26.3 ± 7.3	26.4 ± 4.4 b	32.0 ± 6.1 b	
	Control	12.8 ± 1.8	18.4 ± 3.6	18.0 ± 2.6	23.4 ± 1.7	31.3 ± 2.8	52.6 ± 11.2	61.4 ± 16.7	
溶血率 (%)	A群	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.00	0.06 ± 0.00 a	0.06 ± 0.00	0.08 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.11 ± 0.01	
	B群	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.01 b	0.06 ± 0.01	0.07 ± 0.02	0.07 ± 0.01 b	0.09 ± 0.02	
	Control	0.03 ± 0.00	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.00 c	0.05 ± 0.01	0.07 ± 0.00	0.12 ± 0.02	0.13 ± 0.03	
10%溶血点 (% NaCl)	A群	0.487 ± 0.005	0.489 ± 0.008	0.479 ± 0.009	0.477 ± 0.011	0.480 ± 0.012	0.478 ± 0.013	0.475 ± 0.015	
	B群	0.491 ± 0.022	0.491 ± 0.027	0.488 ± 0.026	0.484 ± 0.023	0.484 ± 0.024	0.478 ± 0.023	0.470 ± 0.029	
	Control	0.493 ± 0.010	0.499 ± 0.012	0.504 ± 0.017	0.501 ± 0.016	0.493 ± 0.014	0.498 ± 0.014	0.505 ± 0.018	
50%溶血点 (% NaCl)	A群	0.442 ± 0.010	0.441 ± 0.013	0.427 ± 0.012 a	0.424 ± 0.012	0.425 ± 0.012	0.419 ± 0.011	0.414 ± 0.010	
	B群	0.454 ± 0.021	0.448 ± 0.022	0.441 ± 0.022	0.434 ± 0.021	0.431 ± 0.024	0.422 ± 0.022	0.417 ± 0.024	
	Control	0.452 ± 0.016	0.458 ± 0.015	0.460 ± 0.014	0.451 ± 0.015	0.435 ± 0.014	0.439 ± 0.018	0.442 ± 0.017	
90%溶血点 (% NaCl)	A群	0.396 ± 0.009	0.376 ± 0.026	0.355 ± 0.014	0.350 ± 0.012	0.347 ± 0.019	0.340 ± 0.009	0.338 ± 0.009	
	B群	0.409 ± 0.022	0.396 ± 0.028	0.378 ± 0.020	0.365 ± 0.022	0.361 ± 0.028	0.350 ± 0.023	0.349 ± 0.025	
	Control	0.363 ± 0.023	0.369 ± 0.016	0.362 ± 0.019	0.342 ± 0.006	0.346 ± 0.014	0.345 ± 0.010	0.352 ± 0.010	

a A群 VS control (p<0.01)

b B群 VS control (p<0.01)

c A群 VS B群 (p<0.01)

B群はA群やControlと比較して嫌気的解凍が進んでいないと考えられるが、これは赤血球数が低値であることに起因すると考えられた。また、A群B群の残存タンパク濃度が現行赤血球製剤と比較して低値を示していることから、本調製法は副作用の低減に寄与すると考えられた。今後、実運用を考えた時、全血採血の7割を占めている移動採

血車で1台あたりCCSを4台稼働させることは、スペース、電気容量において課題がある。しかし、採血部門で現行通り全血採血を実施し、本プロトコルCCSを製造装置として開発することを検討することは、作業者への負担や人為的ミスを軽減し、副作用を低減するという利点から必要であると考えられた。

参考文献

- 1) 日本赤十字社 血液事業本部 医薬情報課、日本赤十字社ホームページ輸血情報1209-134, 2012【赤十字血液センターに報告された非溶血性輸血副作用—2011年—】
- 2) 粟倉裕美ほか：製剤作業人数の算出法に関する一考察—血液事業, 35: 442; 2012
- 3) 江口祐司：製剤業務の自動化と経済効率—血液事業, 33(2): 153; 2010
- 4) 森岡仁ほか：保存前白血球除去製剤の白血球数試験結果について(2005-2009年)—血液事業, 32: 215; 2009
- 5) Picher SMetal.; *In vitro quality of red blood cells (RBCs) collected by multicomponent apheresis compared to manually collected RBCs during 49 days of storage—TRANSFUSION*, 47: 687-696; 2007