

[報告]

Haemonetics CCSを用いたchair side全血分離法の検討

日本赤十字社近畿ブロック血液センター¹⁾, 神奈川県赤十字血液センター²⁾,
東海大学医学部附属病院検査部³⁾, Haemonetics Japan⁴⁾, 日本赤十字社血液事業本部⁵⁾
谷 慶彦¹⁾, 下垣一成¹⁾, 渕崎晶弘¹⁾, 河 敬世¹⁾, 稲葉頌一²⁾, 大久保理恵²⁾,
力竹てい子²⁾, 小林信昌³⁾, 松本幸子⁴⁾, 田所憲治⁵⁾

**A trial of chair side whole blood separation method
using Haemonetics CCS**

*Japanese Red Cross Kinki Block Blood Center¹⁾, Kanagawa Red Cross Blood Center²⁾,
Central Laboratory, Tokai University Hospital³⁾, Haemonetics Japan⁴⁾,
Japanese Red Cross Blood Service Headquarter⁵⁾
Yoshihiko Tani¹⁾, Kazunari Shimogaki¹⁾, Akihiro Fuchizaki¹⁾, Keisei Kawa¹⁾,
Shoichi Inaba²⁾, Rie Okubo²⁾, Teiko Rikitake²⁾, Nobumasa Kobayashi³⁾,
Sachiko Matsumoto⁴⁾ and Kenji Tadokoro³⁾*

抄 錄

はじめに：採血現場で全血を赤血球濃厚液と血漿に分離するchair side法をHaemonetics CCSを用いて評価試験を行った。

対象と方法：我が国の400mL全血採血基準に合致した20名の志願者を対象とし, Haemonetics社から専用プログラムを搭載したCCSと採取キットの提供を受け, 通常手順で実施した。

結果：操作に伴う所要時間はキット装着から採血, キット廃棄までを含めた全工程約25分であり, 通常の400mL全血採血より5~10分程度長かった。赤血球, 血漿とともに品質は現行の400mL全血から分離した新鮮凍結血漿, MAP加赤血球濃厚液と同等であった。赤血球の上清ヘモグロビン値の上昇速度がMAP加濃厚液よりも遅いことから, 赤血球機能は予期されたように, よりよく保持されていると思われた。また, 赤血球濃厚液中の赤血球容量は平均160mLで現行の濃厚液の150mLより多く, さらに比較的均質の献血者からの採血とはいえ, 標準偏差が4mLと大変小さく, 従来の赤血球濃厚液の含有赤血球容量差が大きいという欠点を大幅に改善できると期待された²⁾。今回の遠心分離条件であれば血漿は白除フィルターを使用しなくとも1×10⁶/bagを達成できることも明らかとなった。しかしながら, 血漿は現行の新鮮凍結血漿が230mLであるのに対して平均207mLと10%少なかった。

考察：Chair side systemを導入するとすれば, 年間350万本を超えるすべての全血採血を本法に切り替えることが可能かどうかという点が重要である。今回, 献血者の安全性, 採血所要時間, 赤血球と血漿の製剤としての品質の3点について評価したが, 大きな問題はなかった。したがって, すべての採

血が献血ルームで実施できるのであれば、導入は可能である。しかしながら、血液事業としての実用を考えると、全血採血の7割を占める移動採血車1台の中で4台のCCSを稼動させることにはスペース的にも電気容量的にも無理があり、現行のBag採血の簡便性を凌駕するのは難しいと思われた。米国のように体格の良い献血者からの2単位赤血球採取を行うことが認められれば、即時に利用可能であった。

Key words: chair side, whole blood separation, Haemonetics CCS

はじめに

採血現場で全血を赤血球濃厚液と血漿に分離するchair side法は、製造工程を省略できること、抗凝固薬を均一に混和できることによって、pH変動が小さくなり、単純全血採血より赤血球機能を高く保てること、赤血球製剤の赤血球量の均質化が計れることなどが利点と考えられる。今回、その評価試験を行うことができたので結果を報告する。

対象および方法

対象は献血経験を持つ成人に本評価試験の意義および、危険度が通常の献血と大差のないことを説明し、文書で承諾を得た20名（男性19名、女性1名）とした。

实施方法

ディスポーザブル・キット

Haemonetics CCSにchair side用のディスプロザブル・キットを作成し、通常通りエチレンオキサイドガス滅菌後に使用した。Bowl sizeは

210mLを用いた。

ディスポーザブル・キットの回路図を図1に示す

事前検査

対象者のヘモグロビン値が献血採血基準を満たしていることを、採血直前に静脈採血を行い Sysmex K-4500 血球測定装置 (Sysmex Co., Japan) で確認した。

採血手順

1. エタノールで皮膚清拭後、ポピドン・ヨード消毒を行い、18G針で穿刺した。
 2. 採血速度は50mL/minとした。
 3. CCSの回転数は7,000または7,500rpmとした。
 4. 採血量は最大400mLとした。
 5. ACD添加量は流量比8:1とした。
 6. 400mL採血後にMAP液200mLを100mL/minで注入し、赤血球を洗浄した。
 7. 分離した血漿および赤血球は白血球除去フィルターで白除を行った。

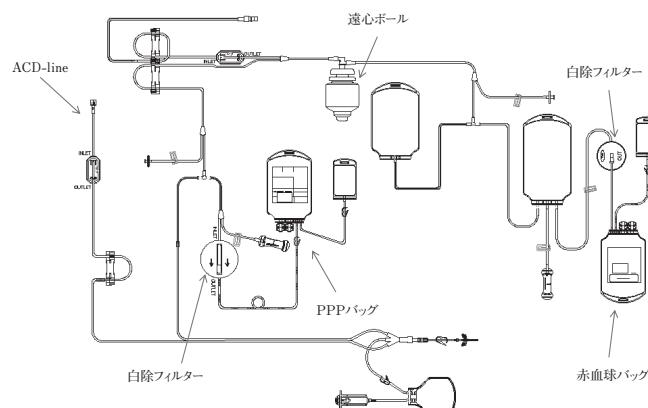


図 1 Chair side 回路図

8. 得られた赤血球濃厚液にMAP液を92mL添加した。

品質評価

a) 測定日

1. 血漿：検体採取はDay 0に製品Bagの輸血口に操作アダプター（川澄化学）を留置し、無菌的に10mL採取した。
2. 赤血球濃厚液：検体採取はDay 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42とし、Day 0に製品Bagの輸血口に操作アダプター（川澄化学）を留置し、採取日ごとに無菌的に10mL採取した。

b) 測定項目

1. 血漿：下記項目について測定した。
- a) 容量：容量は製品の重量からBag重量を減じ、平均比重値1.03で除して求めた。
- b) 残存白血球数：通常の抜き取り検査と同様にFCM法、またはNageotte チャンバーによる白血球カウンティング法で求めた。
- c) 総蛋白濃度：A/G B-テストワコーを用い、ビウレット法により測定を行った。
- d) 血液ガス、電解質、グルコース、乳酸：ABL800 FLEX（ラジオメーター社）、またはコバスb221（Roche Diagnostics社）を用いて通常通り測定した。
- e) PT, APTT：全自动血液凝固測定装置CS-2000iを用い、凝固法により測定を行った。
2. 赤血球濃厚液：下記項目について測定した。
- a) 容量：容量は製品の重量からBag重量を減じ、平均比重値1.06で除して求めた。
- b) 赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビン、平均赤血球容積、白血球数、血小板数：Sysmex K-4500、またはXS-1000iを用いて測定した。
- c) 赤血球量：容量にヘマトクリットを乗じて求めた。
- d) 血液ガス、電解質、グルコース、乳酸：ABL800 FLEX（ラジオメーター社）、またはコバスb221（Roche Diagnostics社）を用いて通常通り測定した。
- e) ATP：ATP測定用試薬キット（ルシフェール

250）を用いて測定を行った。

- f) 上清ヘモグロビン：ロイコクリスタルバイオレット法により測定を行った。
- g) 上清蛋白濃度：A/G B-テストワコーを用いてビウレット法により測定を行った。
- h) 赤血球膜抵抗試験：Parpart法で希釈系列を作成し、540nmの吸光度を測定し、10%, 50%, 90%溶血時のNaCl濃度（%）を求めた。
- i) 残存白血球数（データなし）：通常の抜き取り検査と同様にFCM法で求めた。

比較データ

比較対象には日本赤十字社ホームページ掲載の赤血球濃厚液の組成、および新鮮凍結血漿の組成データを用いた¹⁾。しかしながら、個々の日赤データが入手できなかったので、t検定による有意差検定はできなかった。

結 果

1. 対象者

同意書を取得した血液提供者は20名（男性19名、女性1名）で、年齢は30歳から60歳であった。平均体重は73.2±10.7kgであった。

採血前血算値：採血前の血算値は赤血球数503.7±36.9×10⁶/mm³、ヘモグロビン値15.4±1.1g/dL、ヘマトクリット値45.3±3.1%、平均赤血球容積90.1±4.6%、白血球数63.6±20.3×10³/mm³、血小板数262.6±57.8×10³/mm³で全員献血の採血基準を満たしていた。

採血副作用：20名の臨床試験志願者にはVVR、皮下出血による血腫、神経損傷、クエン酸中毒などの成分採血に伴う副作用は見られなかった。

2. 採血操作結果

装着時間4.0±2.1min、プライミング時間3.2±0.4min、採血時間11.5±1.4min、血漿白除時間4.2±0.1min、MAP置換時間1.3±0.1min、赤血球白除時間4.9±0.5min、装着廃棄時間1.0±1.3min、総処理時間25.9±5.8minで処理血液量は443.0±18.0mLであった。

表1 Plasma data

Measurment	Erythrocytapheresis	Control
Volume (mL)	196.0 ±21.8	228.8±13.6
Pre-filtration WBC (/μL)	0.7±0.6	—
Post-filtration WBC (/μL)	0.1±0.1	< 1.0×10 ⁶ /bag
Total protein (g/dL)	5.6±0.5	—
pH	7.05±0.04	7.34±0.03
Na ⁺ (mmol/L)	151.0±1.8	167.4±2.1
K ⁺ (mmol/L)	2.5±0.2	3.3±0.2
Glucose (mg/dL)	450.2±42.7	—
Lactate (mg/dL)	12.1±5.0	—
PT (sec)	11.2±1.3	9.2±0.3
APTT (sec)	36.6±4.3	40.3±4.2

Mean ± SD, Control: n = 8, Erythrocytapheresis: n = 20 (* n = 10)

3. 品質評価結果

a) 血漿 (表1)

採取血漿量は196.0±21.8mL, 白除前白血球数は0.7±0.6×10⁶個/bag, 白除後白血球数は0.1±0.1×10⁶個/bag, 総蛋白量5.6±0.5g/dL, pH7.05±0.04, Na⁺151.1±1.8mEq/L, K⁺2.5±0.2mEq/L, グルコース450.2±42.7mg/dL, 乳酸値12.1±5.0mg/dL, 凝固系はPT11.2±1.3sec, APTT36.6±4.3secであった。日赤ホームページの400mLFFP規格に比較すると容量で約30mL少なく、pHは0.3, Na⁺は15mEq/L, K⁺も1mEq/L低かった。PTは約2sec長かったが、測定法が異なるので有意差とは認められなかった。

b) 赤血球濃厚液(表2)

採取量は306.8±9.6mLで日赤コントロールデータの276.9±14.3mLと比較すると約30mL多く、容量のばらつきが少なかった。Hb値で約1g/dL, Hct値で約2%低かった。この変化は保存中day28までは大きな差とはならなかった。しかし、赤血球容量は160mLでコントロールデータからの計算値150mLよりも10mL多かった。保存データは採取後28日目までのpHは低かったが、比較データのない35日後、42日後がそれぞれ、6.38, 6.32と良好に維持されていた。上清電解質はNa⁺が初日から15mEq/L低く、その後も継続していた。K⁺の上昇はコントロールが早く、day28では10mEq/L以上の開きがあった。グルコース、乳酸値、ATPの変化はday42まで文献的に示されたものと大差はなかった³⁾。上清ヘモグロビン値は

chair sideのほうが経時的上昇が軽度であった。

考 察

我が国の400mL全血採血基準に合致した20名の志願者において、一人の副作用も見られなかつたことから、今回のchair side法が安全性の高いものであることが確認された。

操作に伴う所要時間はキット装着から採血、キット廃棄までを含めた全工程約25分であり、通常の400mL全血採血より5~10分程度長かった。

赤血球、血漿とともに品質は現行の400mL全血から分離した新鮮凍結血漿、MAP加赤血球濃厚液と同等であった。赤血球の上清ヘモグロビン値の上昇速度がMAP加濃厚液よりも遅いことから、赤血球機能は予期されたように、よりよく保持されていると思われた。また、赤血球濃厚液中の赤血球容量は平均160mLで現行の濃厚液の150mLよりも多く、さらに比較的均質の献血者からの採血とはいえ、標準偏差が4mLと大変小さく、従来の赤血球濃厚液の含有赤血球容量差が大きいという欠点を大幅に改善できると期待された²⁾。今回の遠心分離条件であれば血漿は白除フィルターを使用しなくとも1×10⁶/bagを達成できることも明らかとなった。しかしながら、血漿は現行の新鮮凍結血漿が230mLであるのに対して平均207mLと10%少なかった。Bowlの容量は210mLのキットを用いたので、採取量を10%以上増やすことによって製剤としての血漿容量は達成できると考えられるが、処理血液量が500mL近くに増加することになり、採血基準を変更せざるを得ないことも明

表2 RBC product

Measurement	Method	Day 1	Day 7	Day 14	Day 21	Day 28	Day 35	Day 42
Volume (mL)	Erythrocytapheresis	306.8±9.6	—	—	—	—	—	—
	Control	276.9±14.3	—	—	—	—	—	—
RBC ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	Erythrocytapheresis	580±25	577±24	582±34	575±26	574±25	573±25	566±24
	Control	602±32	603±35	602±36	603±36	602±38	—	—
Hct (%)	Erythrocytapheresis	52.1±1.5	51.9±1.8	52.3±2.2	51.7±2.1	51.5±2.1	51.4±2.2	50.9±2.6
	Control	54.2±1.9	53.2±1.8	53.1±1.9	53.2±2.2	52.8±2.3	—	—
Hemoglobin (g/dL)	Erythrocytapheresis	17.8±0.6	17.7±0.7	18.0±1.0	17.7±0.7	17.8±0.7	17.8±0.7	17.7±0.8
	Control	18.9±0.8	19.0±0.7	18.9±0.8	18.8±0.7	18.8±0.8	—	—
MCV (fL)	Erythrocytapheresis	90.1±4.0	90.1±4.2	90.0±4.2	90.0±4.5	89.8±4.5	89.9±4.6	90.0±4.8
	Control	90.2±4.2	88.3±4.1	88.3±4.1	88.4±4.3	87.8±4.3	—	—
WBC ($\times 10^2/\mu\text{L}$)	Erythrocytapheresis	0.04±0.07	0.01±0.02	0.01±0.02	0.00±0.00	0.01±0.02	0.01±0.02	0.02±0.03
	Control	—	—	—	—	—	—	—
RBC volume (mL)	Erythrocytapheresis	160.0±8.9	157.5±3.6	158.9±6.4	156.9±4.8	156.4±4.8	156.1±5.5	154.5±5.9
	Control	—	—	—	—	—	—	—
pH	Erythrocytapheresis	6.93±0.03	6.75±0.07	6.61±0.08	6.50±0.08	6.43±0.07	6.38±0.06	6.32±0.06
	Control	7.23±0.03	7.08±0.02	6.87±0.02	6.71±0.03	6.63±0.03	—	—
Na ⁺ (mmol/L)	Erythrocytapheresis	108.1±3.2	101.0±2.4	95.6±2.5	91.9±2.2	87.8±2.4	86.4±2.8	83.4±2.2
	Control	124.9±1.7	114.3±1.5	109.8±1.0	106.5±2.4	102.4±3.2	—	—
K ⁺ (mmol/L)	Erythrocytapheresis	1.1±0.2	1.3.1±2.3	21.3±5.2	29.7±5.6	34.0±6.8	35.2±11.2	38.2±12.0
	Control	1.2±0.1	19.3±2.1	30.5±2.9	38.7±2.6	45.0±2.4	—	—
Glucose (mg/dL)	Erythrocytapheresis	456.4±31.4	387.1±43.4	323.4±47.7	279.2±32.7	236.9±29.1	196.8±43.7	171.0±31.1
	Control	—	—	—	—	—	—	—
Lactate (mg/dL)	Erythrocytapheresis	17.0±5.1	83.2±9.7	140.4±16.4	181.1±17.6	227.0±34.6	237.1±54.5	272.6±44.5
	Control	—	—	—	—	—	—	—
ATP ($\mu\text{mol/gHgb}$)*	Erythrocytapheresis	5.2±0.5	5.7±0.7	5.9±0.2	5.4±1.0	4.9±0.5	3.7±0.5	3.1±0.5
	Control	5.5±0.9	7.3±0.9	6.5±0.9	6.0±1.1	5.3±1.2	—	—
Supernatant Hb (mg/dL)	Erythrocytapheresis	13.2±3.7	19.2±5.3	19.0±4.8	21.7±5.4	27.0±6.3	31.4±7.7	38.9±11.9
	Control	12.8±3.5	25.6±5.4	28.9±6.3	42.7±9.2	55.9±14.1	—	—
Supernatant protein (g/dL)	Erythrocytapheresis	0.8±0.1	—	—	—	—	—	—
	Control	—	—	—	—	—	—	—
Erythrocyte osmotic fragility test (Parpart method)10% hemolysis (%NaCl)	Erythrocytapheresis	0.520±0.041	0.527±0.056	0.540±0.061	0.546±0.071	0.530±0.051	0.537±0.063	0.527±0.060
	Control	0.517±0.018	0.495±0.015	0.499±0.017	0.500±0.020	0.501±0.023	—	—
Erythrocyte osmotic fragility test (Parpart method)50% hemolysis (%NaCl)	Erythrocytapheresis	0.466±0.030	0.464±0.050	0.482±0.052	0.485±0.064	0.473±0.048	0.471±0.054	0.463±0.051
	Control	0.473±0.018	0.452±0.019	0.452±0.019	0.449±0.021	0.446±0.021	—	—
Erythrocyte osmotic fragility test (Parpart method)90% hemolysis (%NaCl)	Erythrocytapheresis	0.413±0.033	0.397±0.055	0.414±0.054	0.406±0.054	0.389±0.042	0.388±0.047	0.374±0.037
	Control	0.422±0.025	0.386±0.021	0.380±0.022	0.372±0.024	0.372±0.025	—	—

Mean ± SD, Control: n = 8, Erythrocytapheresis: n = 20 (* n = 10)

らかになった。また、遠心力を変えて分離効率を検討したが、7,000rpmと7,500rpmでは回収血漿量に差を認めなかった。(data not shown) Chair side systemを導入するすれば、年間350万本を超えるすべての全血採血を本法に切り替えることが可能かどうかという点が重要である。今回、献血者の安全性、採血所要時間、赤血球と血漿の製剤としての品質の3点について評価したが、大きな問題はなかった。したがって、すべての採血が献血ルームで実施できるのであれば、導入は可能である。しかしながら、血液事業としての実用を考えると、全血採血の7割を占める移動採血車1台の中で4台のCCSを稼動させることにはスペ

ース的にも電気容量的にも無理があり、現行のBag採血の簡便性を凌駕するのは難しいと思われた。米国のように体格の良い献血者からの2単位赤血球採取を行うことが認められれば、即時に利用可能であった^{4)~6)}。

利益相反

本臨床試験は医師主導で実施し、キットの供与はHaemonetics corporationの援助を受けたが、検査費用などその他の費用負担は血液センターおよび東海大学病院が行い、同社の資金提供もないので、利益相反には該当しない。

文 献

- 1) 日本赤十字社ホームページ：<http://www.jrc.or.jp/mr/list/index.html>
- 2) Hogman CF: What quality of red blood cells shall we offer the transfused patients? 3PL-03-04 Vox Sanguinis 2006; 1 (1): 120-126.
- 3) Hess LE, Lippert LE, Derse-Anthony CP, *et al.*: The effects of phosphate, pH, and AS volume on RBCs stored in saline-adenine-glucose-mannitol solutions. Transfusion. 2000; 40 (8): 1000-6.
- 4) Moog R. Collection of red blood cell units by apheresis. Transfus Apher Sci. 2013; 48 (2): 141-3.
- 5) Picker SM, Radojska SM, Gathof BS. Prospective evaluation of double RBC collection using three different apheresis systems. Transfus Apher Sci. 2006; 35 (3): 197-205.
- 6) Radtke H, Mayer B, Röcker L, Salama A, Kiesewetter H. Iron supplementation and 2-unit red blood cell apheresis: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. Transfusion. 2004; 44 (10): 1463-7.