

[ブロック血液センター所長推薦優秀演題]

液体凍結装置を用いた高速凍結技術の血漿製剤への応用

日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター

榎本圭介, 小野寺秀一, 金子祐次, 茶谷 真, 栗原勝彦, 百瀬俊也, 佐竹正博, 中島一格, 南 陸彦

Application to plasma products fast freezing technique
using a liquid freezing equipment

Japanese Red Cross Kanto-Koshinetsu Block Blood Center

Keisuke Enomoto, Hidekazu Onodera, Yuji Kaneko, Makoto Chatani, Katsuhiko Kurihara,
Shunya Momose, Masahiro Satake, Kazunori Nakajima and Mutsuhiko Minami

【目 的】

新鮮凍結血漿 (FFP) の凍結基準は、採血から凍結装置へ収納するまでの時間や、収納時の凍結装置の庫内温度が規定されている。しかしながら、各血液センター製造所により、凍結装置の設定温度や冷却能力の違いがあり、必ずしも全国同条件で凍結されていない。

今回、食品業界で用いられているエタノールによる液体凍結装置「凍眠」(S-220W, テクニカン株式会社) (図1) を使用する機会を得たので、最大氷結晶生成帯時間、融解後の凝固因子活性を測

定し、血液センターで使用されているブラストフリーザーと比較し、血液事業に応用できるか検討した。

【方 法】

1. バッグ中心温度

FFP-LR240用のバッグに水240mLを入れ、おんどとりHi (TR-81, 株式会社T&D) のセンサーをバッグ中心部にセットした。バッグを「凍眠」(−35℃) およびブラストフリーザー (−70℃) (TBF-400S, 株式会社ティオン) で凍結させ、温度変化を記録した。(n = 3) 最大氷結晶生成帯は−5 ~ 0℃とした。

2. 血液凝固因子活性

ALT等の検査不適のFFP-LR-2を3本融解後プールし、240mLずつ2バッグに分け、「凍眠」およびブラストフリーザーでそれぞれ翌日まで再凍結させた。凍結したFFPを−35℃の冷凍室に2日間保管後、37℃の融解装置 (FP-40, 川澄化学工業株式会社) で融解し、全自動血液凝固測定装置 (CS-2000i, シスメックス株式会社) によりPT (プロトロンビン時間), APTT (活性化部分トロンボプラスチン時間), フィブリノーゲン (Fbg), 血液凝固第Ⅱ, V, VIII, IX因子活性を測定した。(n = 3) 有意差検定は、t-testにより行った。



図1 リキッドフリーザー「凍眠」

【結 果】

1. バッグ中心温度

ブラストフリーザーの最大氷結晶生成帯時間は 68.3 ± 10.5 分であり(図2),「凍眠」は 9.3 ± 2.1 分だった(図3)。 -20°C までの到達時間は,ブラストフリーザーでは 142.7 ± 9.5 分,「凍眠」では 25.0 ± 3.1 分で到達し, -30°C までの到達時間は,ブラストフリーザーでは 155.3 ± 11.1 分,「凍眠」では 29.7 ± 3.1 分で到達した。

2. 血液凝固因子活性

ブラストフリーザーと「凍眠」による凍結後の凝固因子活性は,第Ⅷ因子に大きな差が見られ,ブラストフリーザーの $1.022 \pm 0.034 \text{ IU/mL}$ と比較し「凍眠」では $1.099 \pm 0.032 \text{ IU/mL}$ と有意差($p < 0.01$)が認められた(表1)。その他の項目は大きな差は見られなかった。

【考 察】

「凍眠」による液体凍結では,現在多くの血液センターで製造に用いられているブラストフリーザー

一の気層凍結と比較し,最大氷結晶生成帯時間を短くすることが可能だった。 -20°C および -30°C までの到達時間は,「凍眠」がブラストフリーザーよりも高い設定温度ではあるが,いずれも短時間で到達できた。EUの基準では「1時間以内にバッグ中心温度を -30°C 」¹⁾にすることが望ましいとされており,「凍眠」では30分で到達できるが,ブラストフリーザーでは2時間程度かかっているのが現状である。

凍結速度や最大氷結晶生成帯時間が,血液凝固第Ⅷ因子活性に影響を与えることはSward-Nilssonらにより報告されている²⁾。本試験においても,ブラストフリーザーと「凍眠」による凍結において血液凝固第Ⅷ因子活性に約7%の差がみられ,同様の結果となった。この活性の差が分画製剤の収率に直接影響するため,原料血漿確保や生産コスト抑制に効果があると考えられ,優れた血漿製剤製造法の可能性が示唆された。

現行のFFPの製品形態は,袋に添付文書と同封され,さらに紙製の包装箱に入っている。紙製の包装箱は液体に浸けると強度を失い形状は歪

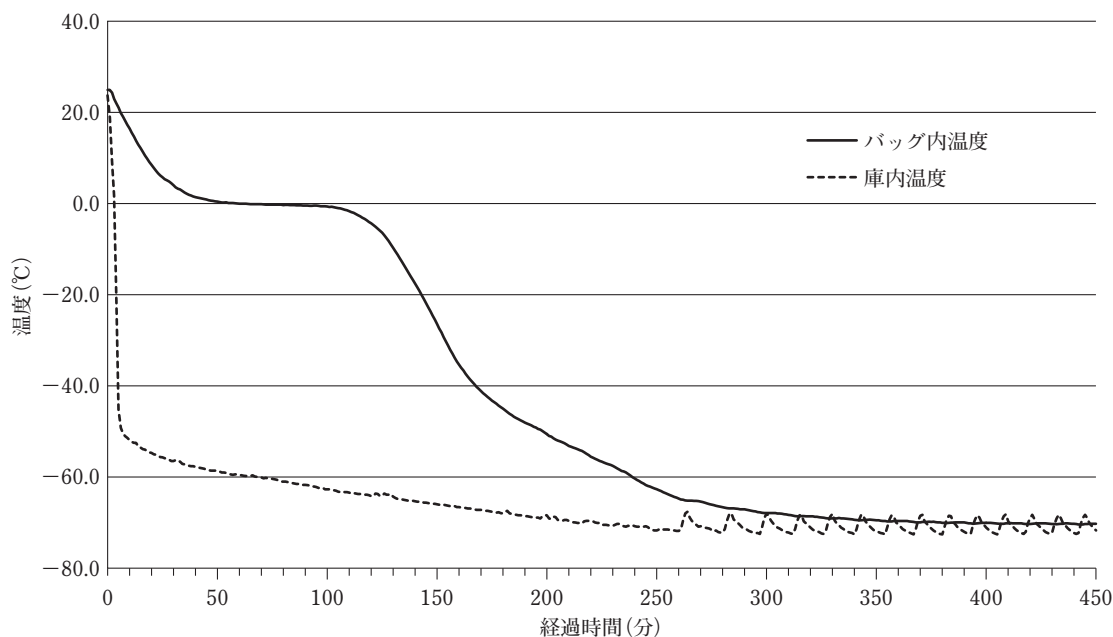


図2 バッグ中心温度 ブラストフリーザー (設定温度 -70°C)

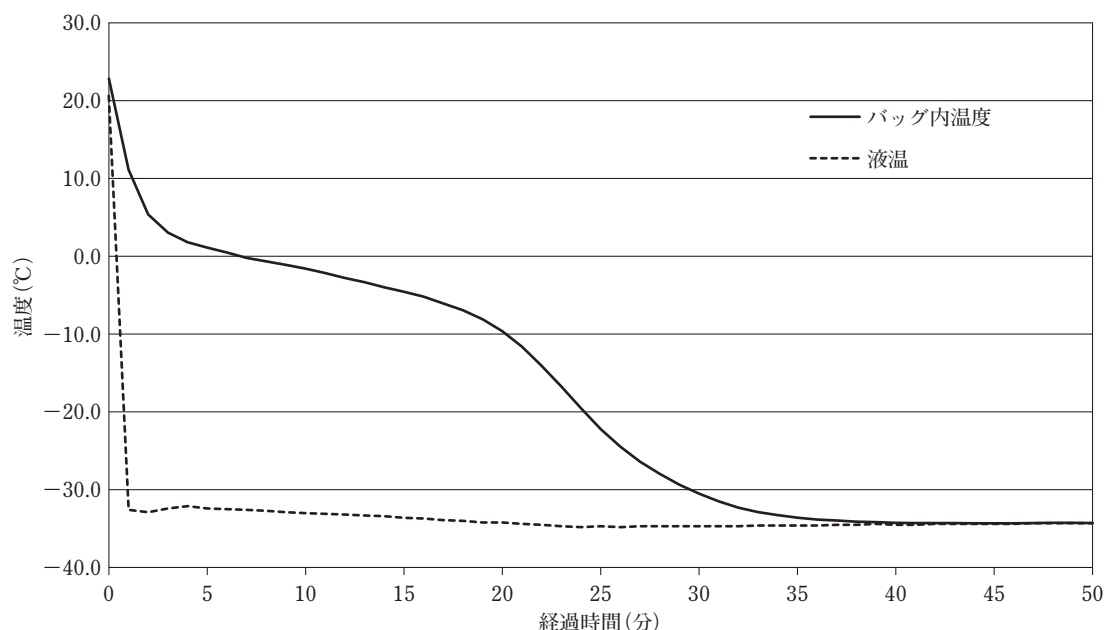
図3 バッグ中心温度「凍眠」(設定温度 -35°C)

表1 融解後の血液凝固因子活性

	PT sec	APTT sec	Fbg mg/dL	F V IU/mL	F VIII IU/mL	F II IU/mL	F IX IU/mL
プラストフリーザー	11.3 ± 0.3	29.5 ± 0.4	203.6 ± 14.3	0.905 ± 0.077	$1.022 \pm 0.034^*$	1.052 ± 0.038	1.037 ± 0.034
凍眠	11.2 ± 0.2	29.2 ± 0.4	202.0 ± 12.9	0.915 ± 0.108	1.099 ± 0.032	1.055 ± 0.087	1.055 ± 0.028

*: $P < 0.01$

み、添付文書と袋に同封されることで冷却能力が落ち、凍結時間も大幅に伸びてしまう。また、FFPバッグを直接エタノールの凍結液に浸け込んだ場合、凍結後に取り出す際のエタノールの除去方法や、ラベルおよびバッグのエタノールへの耐性を検討する必要がある、そのまま血漿製剤の製造に用いることは多くの問題がある。

液体凍結は、大量の製品を同条件で均一に凍結

し、凝固因子活性を維持できる優れた方法ではあるが、現状では製造に取り入れることは難しい。しかし、エタノールを封入したフローゼンバッグを利用した冷凍赤血球の製造において、赤血球回収率が高く、上清ヘモグロビン値が抑えられる結果も出ており³⁾、血液事業のさまざまな分野で利用できないかさらなる検討が必要である。

参考文献

- 1) Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components (European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare)
- 2) A.-M. Swärd-Nilsson *et al*, *Vox Sanguinis* 2006; 90, 33-39
- 3) 茶谷真ら, 血液事業 第36巻第2号 (第37回日本血液事業学会総会抄録集) 2013