

[原著]

洗浄血小板製剤の調製を膜型血漿分離器で行うための基礎的研究

日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター¹⁾, 日本赤十字社血液事業本部²⁾小野寺秀一¹⁾, 榎本圭介¹⁾, 金子祐次¹⁾, 茶谷 真¹⁾, 栗原勝彦¹⁾, 松崎浩史²⁾, 高橋孝喜²⁾, 中島一格¹⁾Basic study to prepare an irrigation platelet preparation
with a membrane plasma separator*Japanese Red Cross Kanto-Koshinetsu Block Blood Center¹⁾,
Japanese Red Cross Blood Service Headquarters²⁾*Hidekazu Onodera¹⁾, Keisuke Enomoto¹⁾, Yuji Kaneko¹⁾, Makoto Chatani¹⁾,
Katsuhiko Kurihara¹⁾, Koji Matsuzaki²⁾, Koki Takahashi²⁾ and Kazunori Nakajima¹⁾

抄 録

血小板製剤(PC)による輸血副作用防止にはPCの洗浄が有用だが、通常その調製には大型遠心機が必要である。一方、医療機関では中空糸膜を用いて血球と血漿を分離する方法が一般的であり、中空糸膜によるPC洗浄が可能となれば医療機関で容易に洗浄PCの自家調製が可能となる。そこで本研究では市販の膜型血漿分離器EC-4A20(川澄化学工業株式会社)を用いてPC洗浄を行うための基礎的検討を行った。方法はPCを中空糸膜モジュールに落差で充填し、ACD添加ピカネイト輸液(株式会社大塚製薬工場)で洗浄するもので、洗浄液流速、回収液流速、洗浄液量、回収操作回数(1回または2回)を検討した。その結果、それぞれ60mL/min, 150mL/min, 600mL, 2回回収でPC回収率と蛋白除去率が良好となった。この条件で洗浄PCを調製し品質試験を行った結果、PC回収率は85.3%, 各除去率は総蛋白88.8%, アルブミン94.7%, IgG 91.1%, IgM 10.6%であった。また、血小板機能は調製後3日まで良好で凝集塊の発生もなく、洗浄操作によるCD62P-selectin陽性率の上昇もみられなかったことより、中空糸膜を用いる方法は、効果的なPC洗浄法であると思われた。

Key words: bicarbonate injection, hollow fiber, membrane plasma separator,
EC-4A20

【はじめに】

血小板製剤(PC)による輸血副作用防止には、PCを洗浄して製剤中に含まれる血漿成分を取り除くことが有用とされている^{1)~3)}。通常、PCの洗浄は遠心機を使用した方法(以下遠心分離法)で行われているが、洗浄PCの調製に必要な大型遠

心機を有する医療機関は少ない。一方、血液透析や血漿交換など医療機関における血液浄化療法には、中空糸型血液浄化器を用いることが一般的である。

現在、医療機器として国内に流通する血球成分と血漿成分を分離できる程度の孔径をもつ血液浄

化器には、膜型血漿分離器(孔径約 $0.3\text{ }\mu\text{m}$ あるいは約 $0.01\sim 0.03\text{ }\mu\text{m}$)が存在する。これらによりPC洗浄を行った報告等はないが、もし、膜型血漿分離器によるPC洗浄が可能となれば、医療機関でも広く洗浄PC(以下W-PC)の自家調製が可能となる。

そこで本研究では、これら市販の膜型血漿分離器を用いてW-PC調製を行うための基礎的検討を行った。

【材料・方法】

I. 膜型血漿分離器(中空糸膜モジュール)の選定

医療機器として国内に流通する膜型血漿分離器のうち、プラズマキューア[®]PE-08(膜孔径 $0.3\text{ }\mu\text{m}$, 膜面積 0.8m^2 , 膜素材ポリエチレン, ハウジングサイズ $42\phi\times 290\text{mm}$, 川澄化学工業株式会社)とエバキューア[®]EC-4A20(膜孔径 $0.030\text{ }\mu\text{m}$, 膜面積 2.0m^2 , 膜素材エチレン-ビニルアルコール重合体, ハウジングサイズ $57\phi\times 280\text{mm}$, 川澄化学工業株式会社)の2種の中空糸膜モジュールを検討した。

洗浄液は、及川らの方法⁴⁾により、ピカネイト[®]輸液(株式会社大塚製薬工場)にACD-A液を20:1で混合して調製した(以下、BRS-Aと呼ぶ)。検討に使用する試験用PCは、採血後7日以内の同型10単位PCを2本プール後、血液バッグ(KBP-1000FPN, 川澄化学工業株式会社)に2分割し、それぞれ洗浄液で希釈して全量 $1,000\text{mL}$ に調製した(以下、これをプールPCと呼ぶ)。洗浄回路は、膜型血漿分離器、プールPC、洗浄液、W-PC回収用バッグ(KBP-1000FPN)、廃液回収用バッグ(セーフミックTPNバッグ $3,000\text{mL}$, 株式会社ジェイ・エム・エス)、輸液回路で作成した(図1)。PCの洗浄はプールPC全量を流速 60mL/min で中空糸の内側あるいは外側に充填して行い(原料PCを中空糸の内側に充填する場合を「内洗い」、外側に充填する場合を「外洗い」と呼ぶ、操作工程は図2を参照)、回収したW-PCの血小板回収率、総蛋白除去率、アルブミン除去率(以下それぞれ、PC回収率、TP除去率、Alb除去率と略記)や凝集塊の発生の有無を調査した。

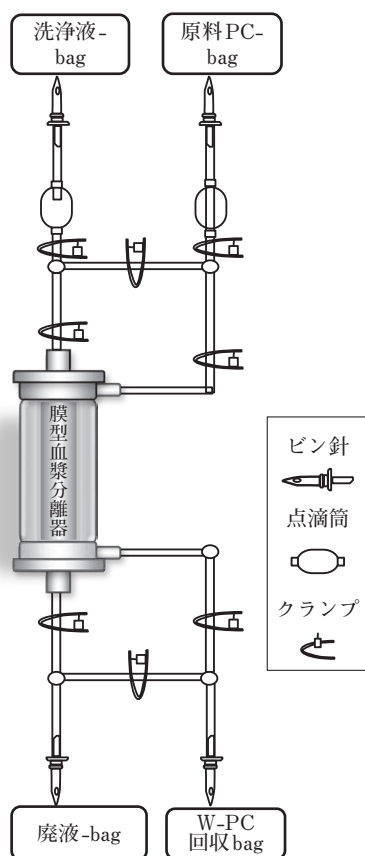
結果の評価は、PC回収率、TP除去率、Alb除去率が低値でなく、凝集塊の発生がみられない場合に、PC洗浄に適正であると判定した。

II. 洗浄条件の検討

Iの検討結果から選択された膜型血漿分離器を用いて、Iと同様の洗浄回路(図1)でプールPCを原料として「外洗い」(図2)によりW-PCを調製し、次の4項目の洗浄条件について項目ごとにPC回収率、TPおよびAlb除去率や凝集塊の発生の有無を比較検討した(表1, $n=3$)。

項目1. 洗浄液の流速(60 または 150mL/min)、項目2. 回収液の流速(60 または 150mL/min)、項目3. 洗浄液量(600 または $1,200\text{mL}$)、項目4. 回収操作の回数(1回または2回)。なお、洗浄液量の検討では、廃液を 50mL ずつ分取して蛋白濃度を測定し、蛋白除去率がプラトーに達する洗浄液量を確認した。また、回収操作回数の「回収操作1回」とは洗浄液 600mL による洗浄操作後にW-PCを一度に洗浄液 250mL で回収する方法を指し、「回収操作2回」とは洗浄液 600mL による洗浄操作後にW-PCを一旦 100mL で回収し、再び洗浄液 300mL による洗浄を行ったのち洗浄液 150mL で2回目の回収を行うことを指す。

それぞれの試験について、希釈前の原料PC容量、W-PCと廃液の容量、血小板濃度、TP濃度、Alb濃度の測定と外観試験を行った。容量は、電子天秤LP-4200S(ザルトリウス株式会社)で計測し、比重(g/mL)をそれぞれ原料PC $=1.03$, W-PC $=1.01$, 廃液 $=1.01$ として算出した。血小板濃度は、多項目自動血球分析装置XS-800i(シスメックス株式会社)により測定した。蛋白濃度は、試薬A/G B-テストワコー(和光純薬工業株式会社)とU-2900形分光光度計(株式会社日立ハイテクノロジー)により測定した。外観試験は、目視によるスワリングと凝集塊の有無の判定を行った。結果の評価は、検討項目ごとにPC回収率、TP除去率、Alb除去率を統計学的手法(by paired t-test)により比較した。凝集塊の発生がみられず、PC回収率と蛋白除去率がより高値となる操作条件を優位と判定した。



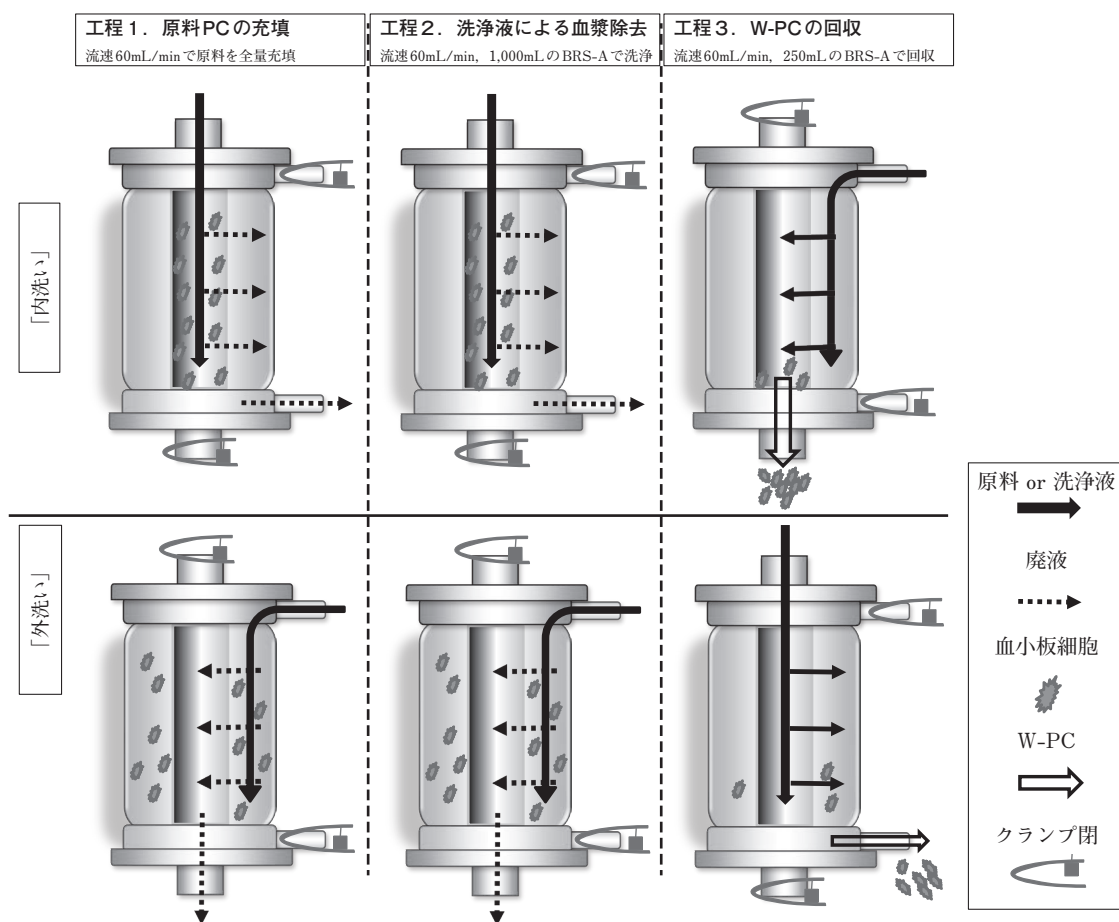
流路の制御はクランプ開閉により行い、流量の制御は、点滴筒液面 vs. 廃液 or 回収-bag に穿刺するピン針間の落差設定により行う。

図1 洗浄回路. 略図と全景写真

Ⅲ. 品質試験

品質試験用の原料PCは、採血翌日の10単位PCを洗浄液で希釈して全量1,000mLに調製した(以下、これをシングルPCと呼ぶ)。EC-4A20とシングルPCを用いて、Ⅱ(洗浄条件の検討)で決定した条件の洗浄法(図5)により洗浄PCの調製を行った($n=6$)。W-PCは調製後30分間静置したのち、血小板振とう保存装置(株式会社プリス製; PRK-Mini型, 庫内温度設定22℃)で調製後48時間まで振とう保存した。検体採取は、分離バッグKBP-50C-2(川澄化学工業株式会社)を無菌接合装置TSCD-SC-201A(テルモ株式会社)で接続して行った。検体採取時期は、①原料PC希

釈前, ②W-PC(調製後1時間), ③W-PC(同24時間), ④W-PC(同48時間)の4点とし, それぞれ, pre, day1, day2, day3の結果とした。容量, 血小板濃度, TP濃度, Alb濃度の測定および外観試験の方法は, Ⅱと同一の手法によった。また, 経時的に血小板機能試験, スワリングの有無, 凝集塊の有無を観察した。血液ガス分析とグルコース濃度(Glu濃度)の測定は, 血液ガス分析装置Rapid Point 405(シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社)で行った。乳酸濃度(Lac濃度)の測定は, 試薬デタミナーLA(協和メディックス株式会社)とU-2900形分光光度計により測定した。CD62P-selectin陽性率の測定は,



「内洗い」=原料PCを中空糸の内側に充填する方法。「外洗い」=原料PCを中空糸の外側に充填する方法。

工程 1 : 洗浄液BRS-Aで希釈した原料PCを血漿分離器に流入させ、膜を介して血小板細胞を捕らえる。血漿成分は膜を通過し、廃液路に排出される。

工程 2 : 血小板細胞を捕らえた膜面に洗浄液を流入させ濾過洗浄する。血漿成分は膜を通過し、廃液路に排出される。

工程 3 : 血小板細胞を捕らえた膜面の逆から洗浄液を流入させ、血小板細胞を回収する。

図2 洗浄法の原型

CD41-PC5抗体とCD62P-PE抗体(ともにベクマン・コールター株式会社)で染色した血小板細胞を1%-パラホルムアルデヒド・リン酸緩衝液で固定し、全自動細胞解析装置Cytomics FC 500(ベクマン・コールター株式会社)によるフローサイトメトリーで測定した。平均血小板容積(MPV)は、多項目自動血球分析装置XS-800i(シスメックス株式会社)で測定した。凝集能は、PRP(血小板濃度を30万/ μ Lに調製)をADP(10

μ M)+Collagen(1 μ g/mL)により同時刺激し、血小板凝集能測定装置PRP313M(IMI株式会社)を用いて測定した。浸透圧ショック回復率(%HSR)は常法により、U-2900形分光光度計を用いて測定した。免疫グロブリン量は、業者委託測定(三菱化学メディエンスに委託)した。

結果は統計学的手法(by Dunnett test)により解析し、洗浄操作による影響はpreとday1の比較で、振とう保存中の品質の変化はday1とday2または

表 1 洗浄法の検討における操作条件

検証項目	工程 1.	工程 2.		工程 3.	
	原料 PC の充填 充填時の流量	洗浄液による血漿除去 (洗浄操作) 洗浄時の流量	洗浄液量	W-PC の回収 (回収操作)	
				流量 mL/min	操作回数
洗浄法の原型「外洗い」	60mL/min	60mL/min	1,000mL	60mL/min	回収操作 1 回で 250mL 回収
項目 1. 洗浄液の流速		60mL/min 150mL/min	1,000mL	60mL/min	回収操作 1 回で 250mL 回収
項目 2. 回収液の流速				60mL/min 150mL/min	
項目 3. 洗浄液量	60mL/min	60mL/min	600mL 1,200mL	150mL/min	回収操作 1 回で 250mL 回収 回収操作 2 回で 250mL 回収
項目 4. 回収操作の回数			600mL		

洗浄法の原型「外洗い」の基礎となる洗浄の条件 4 項目について、条件を変更して比較検討した (n = 3, 網掛け部が条件比較)。

・「回収操作 1 回」とは洗浄液 600mL による洗浄操作後に W-PC を一度に洗浄液 250mL で回収する方法

・「回収操作 2 回」とは洗浄液 600mL による洗浄操作後に W-PC を一旦 100mL で回収し、再び洗浄液 300mL による洗浄を行ったのち、洗浄液 150mL で 2 回目の回収を行う方法を指す。

day3 の比較により評価した。

【結 果】

I. 膜型血漿分離器の選定

PE-08 または EC-4A20 を使用して「内洗い」若しくは「外洗い」により調製した W-PC の PC 回収率、TP 除去率、Alb 除去率、凝集塊発生の有無を表 2 に示す。PE-08 では、TP 除去率や Alb 除去率は洗浄法によらず約 98 % と良好であったが、PC 回収率は「内洗い」で 24.9 %、「外洗い」で 33.2 % であり、いずれの場合にも多数の凝集塊が発生した。一方、EC-4A20 では、洗浄法によらず、TP 除去率は約 88 %、Alb 除去率は約 95 % と蛋白除去率は同等であったが、PC 回収率は「内洗い」で 42.1 % であったのに対し、「外洗い」では 80.4 % と有意 ($p < 0.05$) に高値となった。また、「内洗い」では凝集塊が発生したが、「外洗い」で凝集塊の発生はみられなかった。

これらの結果から、PC を洗浄する膜型血漿分離器には EC-4A20 を選択し、原料 PC を中空糸の外側に充填する「外洗い」を洗浄法の原型として、次の検討 (II. 洗浄条件の検討) を行った。

II. 洗浄条件の検討

EC-4A20 を用い、検討項目ごとに調製した

W-PC の PC 回収率、TP 除去率、Alb 除去率、凝集塊発生の有無を表 3 に示す。項目 1. 洗浄液の流速 (60 または 150mL/min) は、流速が 60mL/min のとき、PC 回収率、TP 除去率、Alb 除去率はいずれも有意に高値となった。両条件ともに凝集塊の発生はみられなかった。これらの結果から、洗浄液の流速は 60mL/min が優位と判断した。項目 2. 回収液の流速 (60 または 150mL/min) は、速度によらず、TP 除去率と Alb 除去率は同等であったが、速度が 150mL/min のとき、PC 回収率は有意に高値となった。両条件ともに凝集塊の発生はみられなかった。これらの結果から、回収液の流速は 150mL/min が優位と判断した。項目 3. 洗浄液量 (600 または 1,200mL) は洗浄液量によらず、TP 除去率と Alb 除去率は同等であったが、洗浄液量が 600mL のとき、PC 回収率は有意に高値となった。両条件ともに凝集塊の発生はみられなかった。廃液中の蛋白濃度および蛋白除去率と洗浄液量の関係を図 3 に示す。洗浄液量が約 600mL の時点で、廃液中の蛋白濃度がほぼゼロとなり、蛋白除去率は TP、Alb とともに概ねプラトーとなった。これらの結果から、洗浄液量は 600mL が優位と判断した。項目 4. 回収操作の回数は、回数によらず、Alb 除去率は同等であったが、回収操作 2 回のとき、PC 回収率と TP 除去

表2 洗浄法の違いによる血小板回収率, 蛋白除去率, 凝集塊の有無

血漿分離器	洗浄法	血小板回収率 (%)	蛋白除去率 (%)		凝集塊
			TP	Alb	
PE-08	「外洗い」	33.2 ± 7.9	98.3 ± 0.6	98.2 ± 0.7	多数発生
	「内洗い」	24.9 ± 8.5	98.3 ± 0.8	98.4 ± 0.9	多数発生
EC-4A20	「外洗い」	80.4 ± 1.2 [†]	87.6 ± 0.5	95.0 ± 0.8	無
	「内洗い」	42.1 ± 5.3	88.0 ± 1.0	94.6 ± 0.5	発生

mean ± SD, 条件毎 n = 3

[†] : 他方の洗浄法と比較し有意 (p < 0.05) に高値 (by paired t-test)

表3 操作条件の検討結果

検証項目	操作条件 (「外洗い」の条件変更)	血小板回収率 (%)	蛋白除去率 (%)		凝集塊
			TP	Alb	
項目1. 洗浄液の流速	60mL/min	83.0 ± 1.2 [†]	88.4 ± 1.0 [†]	94.3 ± 0.5 [†]	無
	150mL/min	78.3 ± 0.8	85.5 ± 1.4	91.9 ± 0.8	無
項目2. 回収液の流速	60mL/min	69.7 ± 4.1	88.1 ± 1.3	95.8 ± 0.6	無
	150mL/min	73.7 ± 3.8 [†]	88.0 ± 1.6	95.4 ± 0.3	無
項目3. 洗浄液量	600mL	78.7 ± 2.2 [†]	88.1 ± 0.7	95.0 ± 0.6	無
	1,200mL	74.1 ± 3.3	90.0 ± 1.6	96.1 ± 0.9	無
項目4. 回収操作の回数	回収操作1回	70.1 ± 2.6	87.9 ± 0.4	95.7 ± 1.1	無
	回収操作2回	75.1 ± 4.4 [†]	88.5 ± 0.6 [†]	95.4 ± 0.3	無

mean ± SD, 条件毎 n = 3

[†] : 検証項目内において, 他方条件と比較し有意 (p < 0.05) に高値 (by paired t-test) 洗浄法の原型「外洗い」の基礎となる洗浄の条件4項目について比較検討し, 血小板回収率や蛋白除去率, 凝集能の有無を調査した。

率はいずれも有意に高値となった。ここで, 回収液を 50mL 毎に分画し, それぞれの血小板濃度を測定した結果を図4に示す。0 ~ 50mL 分画と 50 ~ 100mL 分画の血小板濃度は同等であったが, その後に 300mL の追加洗浄を行う回収操作2回において血小板濃度が 100 ~ 150mL 分画と 150 ~ 200mL 分画で有意に高値となった。これらの結果から回収操作回数は2回が優位と判断した。

以上の結果から, 膜型血漿分離器EC-4A20を用い, 洗浄の条件を洗浄液流速60mL/min, 回収液流速150mL/min, 洗浄液量600mL, 回収操作回数2回とする方法(以下, 本法という)をPC洗浄法に決定した(図5)。

Ⅲ. 品質試験

Ⅱで決定した洗浄法(図5)により調製したW-PCの品質試験結果を表4に示す。本法による容量は原料PCが192.2 ± 5.9mL, 調製後のW-PCが239.5 ± 7.1mLで, PC回収率は85.3 ±

4.9%であった。TP濃度は原料PCで5.91 ± 0.28g/dLであったが, W-PCでは0.53 ± 0.10g/dLとなり, 洗浄による総蛋白除去率は88.8 ± 1.7%であった。一方, Alb除去率は94.7 ± 0.8%であった。また, グロブリン分画の除去率はIgGで91.1 ± 2.2%と良好であったが, IgAは74.3 ± 4.0%とやや低く, IgMでは10.6 ± 2.3%と低値であった。洗浄操作や保存に伴う影響をみると, 血小板濃度(×10⁴/μL)は, pre : 109.0 ± 5.8, day1 : 74.5 ± 2.5, day2 : 74.3 ± 2.6, day3 : 73.9 ± 2.3であり, 洗浄操作による血小板濃度の低下はみられる(pre vs day1)が, 保存中の有意な低下はみられなかった(day1 vs day2, day3)。MPVは, 洗浄操作や保存により変化しなかった。pH(at 22℃)は, pre : 7.31 ± 0.05, day1 : 7.17 ± 0.07, day2 : 7.59 ± 0.09, day3 : 7.61 ± 0.13であり, 洗浄操作により僅かに低下したが, 保存中に回復し, day3まで概ねpH7.6前後を維持した。GluおよびLac濃度は, 洗浄操作により急激に低下し,

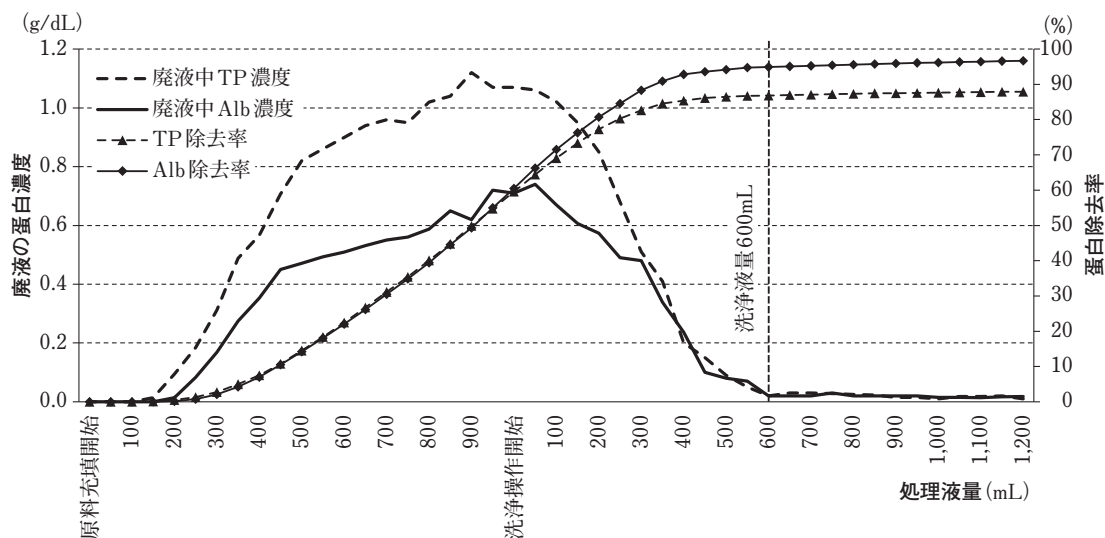


図3 廃液の蛋白濃度と蛋白除去率(廃液を50mL づつ分取して測定, n = 3 の平均)

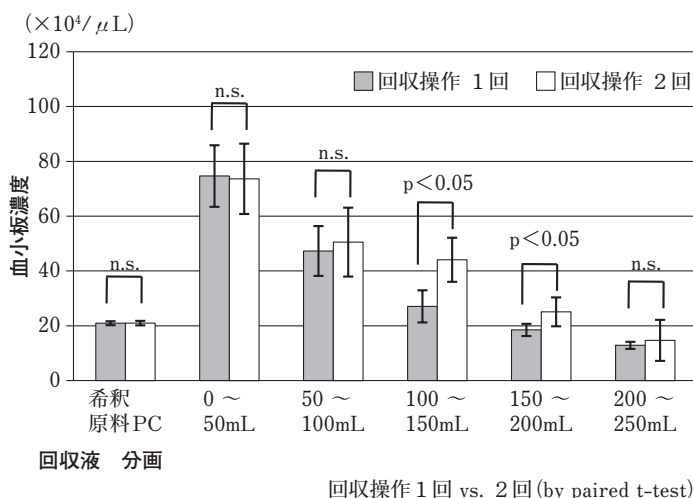


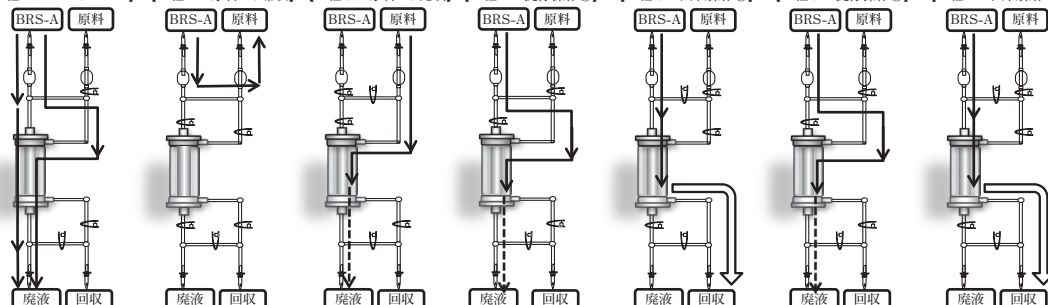
図4 回収液中の血小板濃度

保存に伴いGlu濃度は緩やかに低下し, Lac濃度は緩やかに上昇した。凝集能および% HSRは, 洗浄操作や保存に伴う変化はみられず, day3においても凝集能は $84.7 \pm 8.0\%$, % HSRは $72.5 \pm 8.1\%$ と良好であった。血小板活性化マーカーとされるCD62P-selectinの陽性率は, pre : 6.4

$\pm 2.3\%$, day1 : $9.7 \pm 5.3\%$, day2 : $9.0 \pm 4.7\%$, day3 : $11.2 \pm 6.3\%$ であり, 洗浄操作や保存による上昇はみられなかった。すべての検体で, day3までスワリング陽性であり, かつ凝集塊の発生はみられなかった。これらのW-PCの調製に要した時間は, 原料PCの希釈から起算して, 回収完

・操作工程 図説

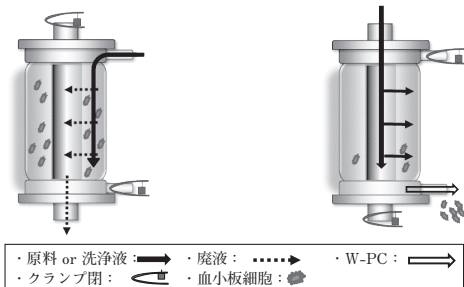
【工程1. プライミング】 【工程2. 原料PC希釈】 【工程3. 原料PC充填】 【工程4. 洗浄操作①】 【工程5. 回収操作①】 【工程6. 洗浄操作②】 【工程7. 回収操作②】



・各工程におけるモジュール内の液流方向など

工程3, 4, 6

工程5, 7



・原料 or 洗浄液：→ ・廃液：..... ・W-PC：→
 ・クランプ閉：⌞ ・血小板細胞：●

膜型血漿分離器はEC-4A20、洗浄液はBRS-Aを使用する。

【工程1. プライミング】

・モジュールの内部（ハウジング内および中空糸膜内）をBRS-Aでプライミング。

【工程2. 原料PC希釈】

・原料PCをBRS-Aで希釈し、全量1,000mLに調製。

【工程3. 原料PC充填】

・希釈した原料PCの全量をモジュール内に充填。膜を介して、血漿成分を含む
 廃液は排出され、血小板細胞はハウジング内に残る。(流速 60mL/min)
 ・中空糸の「外側から内側」に向かって送液。

【工程4. 洗浄操作①】

・BRS-Aをモジュール内に送液して、血小板を洗浄。(流速 60mL/min, 600mL)
 ・中空糸の「外側から内側」に向かって送液。

【工程5. 回収操作①】

・BRS-Aをモジュール内に送液して、W-PCを回収。(流速 150mL/min, 100mL)
 ・中空糸の「内側から外側」に向かって送液。

【工程6. 洗浄操作②】

・工程4の洗浄操作に準じて洗浄。(流速 60mL/min, 300mL)

【工程7. 回収操作②】

・工程5の回収操作に準じてW-PCを回収。(流速 150mL/min, 140mL)

図5 膜型血漿分離器EC-4A20を用いた血小板洗浄法手順

了までおよそ40分であった。

【考 察】

本法によるPC回収率と総蛋白除去率は、それぞれ $85.3 \pm 4.9\%$ 、 $88.8 \pm 1.7\%$ で、Alb除去率は $94.7 \pm 0.8\%$ であった。遠心分離法によるPC回収率と総蛋白除去率は、及川らの報告⁵⁾によれば $88.7 \pm 5.5\%$ 、 $97.1 \pm 1.2\%$ ($n=55$)で、東らの報告⁶⁾では $86.6 \pm 2.4\%$ 、 $96.5 \pm 2.0\%$ ($n=75$)、小嶋らの報告⁷⁾では $90.8 \pm 3.2\%$ 、 $93.3 \pm 1.6\%$ ($n=8$)とされる。これらと比較するとき、本法のPC回収率は遠心分離法と同等で、TP除去率はやや低かった。しかしながら、Alb除去率はこれらと同等であったことから、本法では膜孔径よりも小さなサイズの物質は遠心分離法と同等に除かれることが示唆された。また、今回の検討でIgGの90%以上が除去されたことは、HLA抗体など同種免疫抗体の除去が可能であることを示唆するばかりでなく、IgGの分子サイズ以下である物質、

たとえばサイトカインやケモカインの除去も良好であることが示唆された。一方、IgMは10%ほどしか除去できていないが(表4)、IgMなどの分子サイズの大きな物質がどの程度輸血副作用の発生に関与するかについては、さらなる知見の集積が必要であり、このことがPC輸血における輸血副作用の防止効果にどの程度不利に働くかは不明である。

PC回収率の低下には血小板の活性化が関与すると考えられており、今回の検討においても、洗浄に伴うシェアストレスの大きい「内洗い」では、PCの回収率は不良であった。本法で調製したW-PCの血小板機能等は、遠心分離法で調製したW-PCの品質⁴⁾と遜色なく良好であり、遠心分離法で洗浄直後にみられるCD62P-selectinの上昇もなく、W-PCの調製に伴う血小板の活性化は遠心分離法よりも少ないと考えられる。このことが、輸血後の血小板機能にどのような影響を及ぼすかについては今後の課題である。

表4 膜型血漿分離器EC-4A20を用いた血小板洗浄法によるW-PCの品質(mean ± SD, n = 6)

	試験項目	原料PC		W-PC	
		pre	day1	day2	day3
洗浄性能試験	容量(mL)	192.2 ± 5.9	239.5 ± 7.1 [†]	—	—
	血小板総数(× 10 ¹¹ /bag)	2.1 ± 0.1	1.8 ± 0.1 [†]	—	—
	血小板回収率(%)	—	—	85.3 ± 4.9	—
	蛋白濃度(g/dL)	TP	5.91 ± 0.28	0.53 ± 0.10 [†]	—
		Alb	3.80 ± 0.19	0.16 ± 0.02 [†]	—
	グロブリン濃度(mg/dL)	IgG	804.2 ± 79.0	56.3 ± 10.4 [†]	—
		IgA	178.5 ± 29.1	36.2 ± 3.8 [†]	—
		IgM	77.5 ± 10.6	55.6 ± 7.4 [†]	—
	蛋白除去率(%)	TP	—	88.8 ± 1.7	—
		Alb	—	94.7 ± 0.8	—
	グロブリン除去率(%)	IgG	—	91.1 ± 2.2	—
		IgA	—	74.3 ± 4.0	—
外観試験	IgM	—	—	10.6 ± 2.3	—
	凝集塊(有 or 無)	無	無	無	無
血小板機能試験	スワリングスコア(0-3)	3	3	3	3
	血小板濃度(× 10 ⁴ /μL)	109.0 ± 5.8	74.5 ± 2.5 [†]	74.3 ± 2.6	73.9 ± 2.3
	MPV(fL)	9.1 ± 0.6	8.8 ± 0.6	9.3 ± 0.8	9.1 ± 0.7
	pH(at 22℃)	7.31 ± 0.05	7.17 ± 0.07 [†]	7.59 ± 0.09 [‡]	7.61 ± 0.13 [‡]
	pO ₂ (at 22℃)	53.8 ± 7.3	77.1 ± 5.1 [†]	80.4 ± 4.4	80.9 ± 5.9
	pCO ₂ (at 22℃)	24.5 ± 1.8	47.7 ± 5.2 [†]	17.1 ± 2.5 [‡]	14.5 ± 2.9 [‡]
	Glu(mmol/L)	23.9 ± 1.8	6.1 ± 2.3 [†]	5.1 ± 2.0 [‡]	3.7 ± 1.6 [‡]
	Lac(mmol/L)	2.4 ± 0.5	0.1 ± 0.1 [†]	1.7 ± 0.7 [‡]	3.9 ± 1.2 [‡]
	凝集能(ADP+Collagen刺激)	91.1 ± 7.0	86.1 ± 7.0	86.5 ± 5.0	84.7 ± 8.0
	HSR(%)	76.5 ± 8.3	74.5 ± 7.2	70.8 ± 7.6	72.5 ± 8.1
	CD62P-selectin(%)	6.4 ± 2.3	9.7 ± 5.3	9.0 ± 4.7	11.2 ± 6.3

† : pre vs. day1間に有意差有り(Dunnett-test, 5%基準値以上)

‡ : day1 vs. day2, day3間に有意差有り(Dunnett-test, 5%基準値以上)

本法で使用する機材は、既に医療機器として販売されている膜型血漿分離器と血液バッグ、輸液回路等で構成されており、遠心分離法と異なり機器の整備を求めず、どの医療機関でも容易に入手できる。洗浄液の注入は落差で行うため送液ポンプ等の機器も必要ない。また、調製手技はクランプの開閉操作のみであり、これもどの医療機関でも実施可能な手技である。したがって、より多くの医療機関でW-PCの自家調製が本法により可能となることが考えられる。調製にかかる時間はおよそ40分間で、調製過程で血小板ペレットができないことから再浮遊操作の必要がなく、調製直後よりW-PCとして使用可能であることも遠心分離法の調製法と異なる点である。しかし

ながら、洗浄工程はいまだ煩雑であることから、洗浄工程を簡素化するなど、より簡便な方法に改善することが肝要であると思われる。

【結 論】

市販の膜型血漿分離器EC-4A20の中空糸外側にPCを充填し、洗浄液BRS-Aを用いて血漿成分を除去することでW-PCは調製可能であることが示された。さらに、調製されたW-PCの血小板回収率や血小板機能は遠心分離法と遜色なく、調製による血小板の活性化がみられないこと、調製の過程で血小板ペレットを形成しないため再浮遊の必要がないことは、遠心分離法にはない本法の利点であると思われる。

引用文献

- 1) 日本輸血・細胞治療学会ホームページ：洗浄・置換血小板の適応およびその調製の指針 (Version III)
<http://www.jstmct.or.jp/jstmct/Document/Guideline/Ref9-1-130722.pdf>
- 2) Hiroshi A. *et al.*: Reduction in adverse reactions to platelets by the removal of plasma supernatant and resuspension in a new additive solution (M-sol). *Transfusion* 2009; 49: 214-218.
- 3) Ryu Y. *et al.*: Replaced platelet concentrates containing a new additive solution, M-sol: safety and efficacy for pediatric patients. *Transfusion* 2013; 53: 2053-2060.
- 4) Oikawa S. *et al.*: Comparative in vitro evaluation of apheresis platelets stored with less 100% plasma versus bicarbonated Ringer's solution with less than 5% plasma. *Transfusion* 2013; 53: 655-660.
- 5) 及川伸治ほか. : 重炭酸リンゲル液により調製した洗浄血小板の性状と臨床効果. 日本輸血細胞治療学会誌, 2014 : Vol.60. No.2 : 386
- 6) 東寛, 池田久實. : 洗浄血小板の調製および副作用防止効果について. 病態と抗体 : 診断検査と輸血療法2008 : 39-52
- 7) 小嶋俊介ほか. : 置換液M-solを用いた置換血小板 (R-PC) 調製のプロセスバリデーションに関する検討. 日本輸血細胞治療学会誌, 2011 : Vol.57. No.5 : 379-385.