

## [原著]

成分採血装置 Trima Accel<sup>®</sup>で採取した血小板保存液(PAS)  
置換血小板にみられる凝集塊の除去および凝集塊除去後の  
血小板製剤の性状と品質

日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所<sup>1)</sup>, 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター<sup>2)</sup>,  
東京都赤十字血液センター<sup>3)</sup>, 日本赤十字社血液事業本部<sup>4)</sup>

小野寺秀一<sup>1)</sup>, 金子祐次<sup>1)</sup>, 小池敏靖<sup>1)</sup>, 福田香苗<sup>1)</sup>, 宮島晴子<sup>1)</sup>, 森山理恵<sup>1)</sup>, 平山順一<sup>1)</sup>,  
西谷祐三子<sup>3)</sup>, 柴田玲子<sup>2), 3)</sup>, 柴 雅之<sup>1)</sup>, 永井 正<sup>1), 2)</sup>, 佐竹正博<sup>1)</sup>, 田所憲治<sup>4)</sup>

Removal of aggregates in platelet concentrates in platelet additive  
solution collected with Trima Accel<sup>®</sup> and the quality of the platelet  
units after the aggregates removal

*Japanese Red Cross Blood Service Headquarters Central Blood Institute<sup>1)</sup>,*

*Japanese Red Cross Kanto-Koshinetsu Block Blood Center<sup>2)</sup>,*

*Tokyo Metropolitan Red Cross Blood Center<sup>3)</sup>, Japanese Red Cross Blood Service Headquarters<sup>4)</sup>*

Hidekazu Onodera<sup>1)</sup>, Yuji Kaneko<sup>1)</sup>, Toshiyasu Koike<sup>1)</sup>, Kanae Fukuda<sup>1)</sup>, Haruko Miyajima<sup>1)</sup>,

Rie Moriyama<sup>1)</sup>, Junichi Hirayama<sup>1)</sup>, Yumiko Nishitani<sup>3)</sup>, Reiko Shibata<sup>3)</sup>,

Masayuki Shiba<sup>1)</sup>, Tadashi Nagai<sup>1), 2)</sup>, Masahiro Satake<sup>1)</sup> and Kenji Tadokoro<sup>4)</sup>

## 要 旨

本検討では採血時に血漿の一部を血小板保存液(Platelet Additive Solution: PAS)と置換したPAS置換血小板(PAS-PC)にみられる可視凝集塊を除去する方法を検討した。

成分採血装置 Trima Accel<sup>®</sup>で採取したPAS-PCについて、微小凝集塊除去フィルター HPF0607(メッシュ目開き: 40  $\mu$ m)を用いた濾過処理を検討し、凝集塊の除去が可能であるか、また、血小板機能に影響を与えるかを評価した。3名のドナーから各人2度の採血(day0)を行い、一方を処理群、他方を未処理群として経時的に品質試験を行った。その結果、可視凝集塊は採取事例の全例でみられたものの、処理群では濾過後に凝集塊がすべて消失し、day7まで再形成もみられなかった。一方で未処理群ではday7においても2例で可視凝集塊を認めた。保存中の血小板機能は、day7まで処理群と未処理群で互いに同等であった。

メッシュ目開き 40  $\mu$ mの微小凝集塊除去フィルターを用いた濾過を行うことで、PAS-PC中の可視凝集塊をすべて除去でき、day7まで凝集塊の再形成がみられないことが示された。また、この濾過処理が血小板機能に影響を与えないことが示唆された。

Key words: PAS置換血小板, 可視凝集塊, 凝集塊除去, 輸血フィルター

## 【緒 言】

現在のところ我が国において、血小板減少症を伴う疾患などへの輸血療法に使用される濃厚血小板 (Platelet Concentrate: PC) は、血漿に浮遊した血小板をアフエレーシス採取し製造されている。他方で諸外国においては、採血時に血漿の60%~70%を血小板保存液 (Platelet Additive Solution: PAS) と置換したPAS置換血小板 (PAS-PC) が使用されている<sup>1), 2)</sup>。

PAS-PCは、PASと置換した分の血漿を同時採取の血漿原料 (同時採取血漿) として活用できる利点があり、さらに、PCと比べて血漿濃度が低減されているため、アレルギー性輸血副作用の発生率が低いことが報告<sup>3)~6)</sup>されている。

既に我々は、テルモBCT社製の成分採血装置 Trima Accel<sup>®</sup>を用いたPAS-PC採取を検討し、10単位規格相当のPAS-PCを採取できること、この際に使用するPASとしてT-PAS+<sup>®</sup>の有用性が高い<sup>7)</sup>ことを示した。この採取プログラムは、高濃縮PC (全血漿浮遊のPC採取と比べ3倍程度に高濃縮した濃厚血小板) を採取したのち、設定容量までPASを添加して完結するが、採取したPAS-PCの全例 (n=10) において、高濃縮PCの採取過程で生じたと思われる可視凝集塊がみられ、さらに、これらが採取翌日以降でも分散消失しなかったこと (図1) を報告した<sup>7)</sup>。

我が国では献血血液の細菌汚染対策として、問診の強化や皮膚消毒法の改良、初流血除去の導入に加えて、外観確認による色調、スワリングおよび凝集塊の確認を行い、異常のあるものは出庫を止めている<sup>8), 9)</sup>ため、PAS-PCの採取で生じた可視凝集塊が分散消失し難いことは、製剤の安定供給の妨げとなり得る。

我々の予備的検討において、これらの凝集塊は一般的に我が国で用いられる輸血フィルター (メッシュ目開き: 170  $\mu$ m程度) と同仕様のメッシュによっては完全に除去することができず、また、より孔径が小さい白血球除去フィルターの使用によれば凝集塊は除去できるが、血小板濃度と製剤容量が低下し、血小板数の損失が大きいことが確認された。

そこで本検討では、欧州他で微小凝集塊除去の

用途で使用されている微小凝集塊除去フィルター (メッシュ目開き: 約40  $\mu$ m) を用いた濾過を行うことで、PAS-PC中の可視凝集塊を除去できるか、また、濾過処理が血小板機能に影響を及ぼすかを検討した。

## 【方 法】

### 1. PAS-PCと同時採取血漿の採取

Trima Accel<sup>®</sup> (採取プログラム Ver.6.4, テルモBCT社製) の採血目標は、最終容量200mL、血小板単位12.5単位 (血小板数:  $2.5 \times 10^{11}$ /bag)、残存血漿濃度35%に設定した。ACD-A液の添加比率は全血: ACD-A液 = 9: 1とした。なお、ここで目標とした最終容量と血小板単位の値は、現行の10単位PC製剤 (規格は血小板数が  $2.0 \times 10^{11}$  個以上かつ  $3.0 \times 10^{11}$  個未満、容量が160mL以上かつ240mL以下) の規格中央値である。

日本赤十字社の採血基準と採血手順にしたがって、文書による同意の得られた3名 (男性2名、女性1名) の供血者を対象に十分な採血間隔を設けて、1名につき2度の採血を行い、T-PAS+<sup>®</sup> (テルモBCT社製) を添加して、PAS-PCと同時採取血漿をPVCバッグ (Trima Accel用血液回路、テルモBCT社製) に採取した。

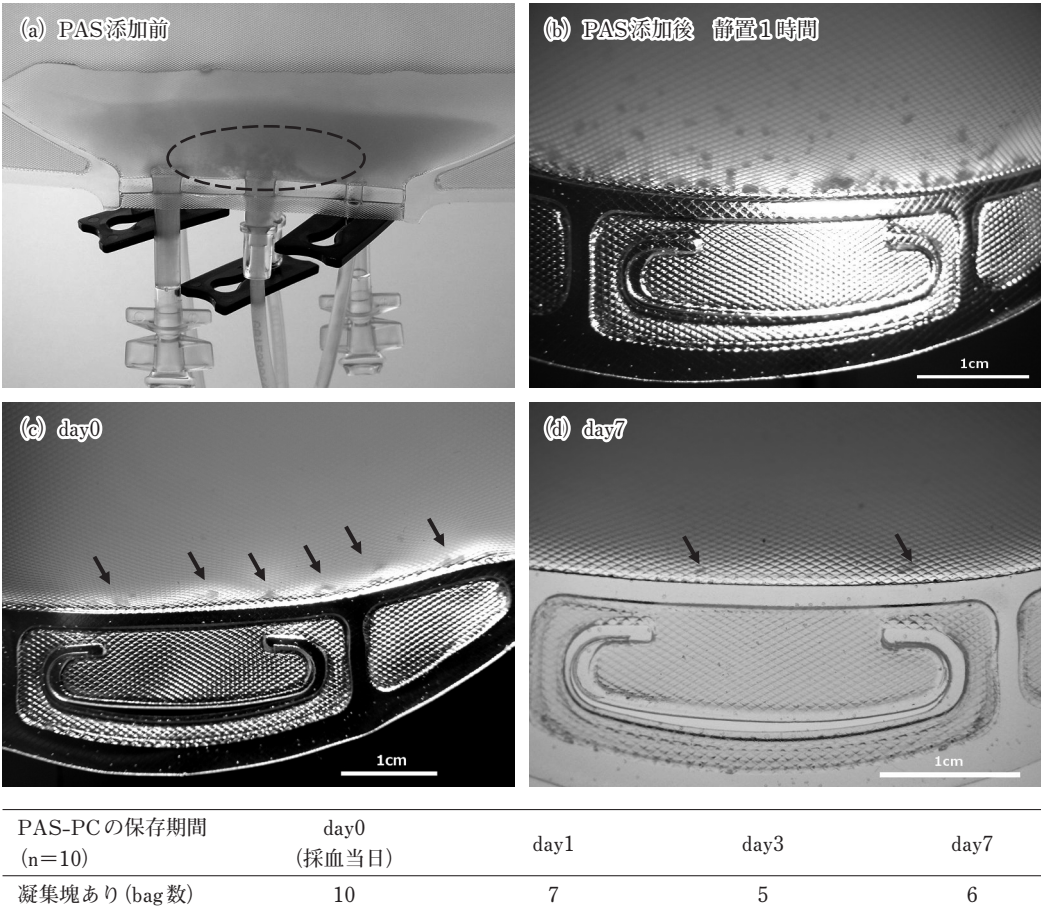
各人から2度採血した内の一方を濾過処理 (Test) 群、他方を未処理 (Control) 群として扱った。

### 2. 血液の搬送と保存

採取したPAS-PCと同時採取血漿 (併せて採取血液と略す) は、採血施設で室温下約1時間静置したのち、測定施設に搬送した。PAS-PCは低温恒温チャンバー FMC-100型内の振とう機マルチシェーカー MMS-100型 (ともに東京理科器械社製) で温度: 22°C、振とう速度: 60rpm/minに設定し、振とう保存した。

### 3. 輸血フィルターを用いた濾過処理および検体採取

測定施設に搬送後、約1時間振とう保存したTest群のPAS-PCバッグに、微小凝集塊除去フィルター HPF0607 (BELDICO Sterile cell



凝集塊は1～5 mmの大きさで、PAS添加前(高濃縮PCの採取過程)からみられた(a)。これらの凝集塊は保存によって分散し、縮小減少傾向を示したが、day7においても残存した(d)。(文献7の図を一部改変して引用した)

図1 PAS-PCでみられた目視可能な凝集塊

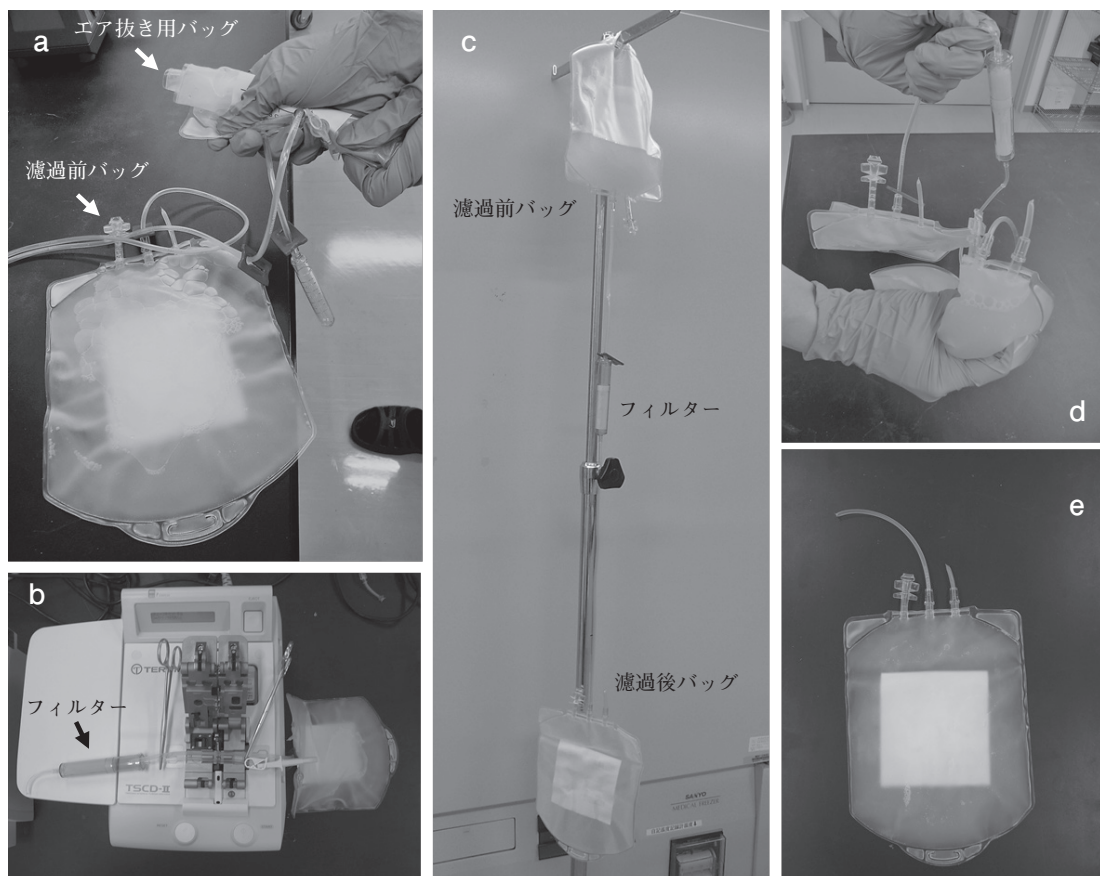
transfer set, メッシュ目開き: 約40  $\mu$ m, BELDICO社製)と濾過処理後の回収用のPVCバッグ(テルモBCT社製)をテルモ無菌接合装置TSCD-II(テルモ社製)を用いて接合した(図2)。

つづいて、濾過処理前のPAS-PCバッグ(濾過前バッグ)を架台に掛け、回収バッグを宙吊りの状態とした後、SCD接合部を開放して濾過処理を行った。なお、濾過処理はエア抜き用バッグ内のエアを濾過前バッグ内に戻してから実施した。この際、濾過処理の開始(SCD接合部の開放)から終了に要した時間をストップウォッチで計測し

た。

濾過処理後のPAS-PCバッグ(濾過後バッグ)は、エアを濾過前バッグに戻した後、シールして微小凝集塊除去フィルターから切り離し、振とう保存した。

品質試験のための検体採取は、day0(採血後約3時間)、day0-濾過後(Test群のみ採取)、day1、day3、day7の時期にPAS-PCバッグに血液分離バッグKBP-50C-2(川澄化学工業社製)をTSCD-IIで接合して行った。同時採取血漿を遠心機LX-131(トミー精工社製)で遠心分離(3,000rpm  $\times$  10min, 24 $^{\circ}$ C)し、その上清をポリプロピレン



- a) エア抜き用バッグ内のエアをPAS-PCバッグ(濾過前バッグ)に戻した。  
 b) 濾過前バッグにフィルターとPVCバッグを無菌接合(SCD接合)した。  
 c) 濾過回路全景。濾過前バッグを架台に下げ、SCD接合部を開放して濾過した。  
 d) 濾過後バッグ内のエアを濾過前バッグに戻した。  
 e) 濾過後バッグを濾過回路からシールして切り離した。

図2 微小凝集塊除去フィルター HPF0607を用いたPAS-PCの濾過処理

素材の15mLコニカルチューブ (BD Falcon 社製) に分注し、メディカルフリーザー MDF-U539 (設定温度:  $-30^{\circ}\text{C}$ , Panasonic 社製) で凍結保管した。

#### 4. 容量と残存血漿濃度の算出

採取血液の容量は、電子天秤MS4002S (メトラー・トレド社製) で血液バッグの総重量を計測して風袋重量を引き、比重 ( $\text{g/mL}$ ) をそれぞれPAS-PCを1.02<sup>7)</sup>、付属血漿を1.03として除して

求めた。

PAS-PCの上清および同時採取血漿の総蛋白濃度を、試薬 BCA Protein Assay Kit (Thermo Scientific 社製) と分光光度計 UV-2550 (島津製作所社製) により測定し、以下の式からPAS-PCの残存血漿濃度を算出した。

残存血漿濃度 (%) =  $\text{PAS-PC上清の総蛋白濃度} \div \text{同時採取血漿の総蛋白濃度} \times 100$



## 5. 各種パラメータの測定

血小板濃度と平均血小板容積 (MPV) は、多項目自動血球分析装置 XS-800i (シスメックス社製) により測定した。pH は pH メーター F-52 に接続したガラス電極 9618S-10D (ともに堀場製作所社製) で測定した。白血球数は日本赤十字社の標準法に従い、FACS Calibur (BD bioscience 社製) によるフローサイトメトリーで測定した。血液ガス分析は、血液ガス分析装置 Rapid Point 405 (シーメンスヘルスケア社製) で行った。低浸透圧ショック回復率 (% HSR), 血小板凝集能および血小板形態の測定に使用した多血小板血漿 (PRP) は、PAS-PC を同時採取血漿で血小板濃度を約 30 万 /  $\mu$  L に希釈して調製した。% HSR は分光光度計 UV-2550 を用いた常法<sup>10)</sup>により、血小板凝集能は、血小板凝集能測定装置ヘマトレーサー 313M (タイヨウ社製) を用いて、PRP 180  $\mu$  L に  $\text{CaCl}_2$  (200mM) を 4  $\mu$  L, ADP (100  $\mu$  M, アグリパック, アークレイ社製) を 10  $\mu$  L, Collagen (50  $\mu$  g/mL, コラーゲンリエージェントホルム, NYCOMED PHARMA GMBH 社製) を 10  $\mu$  L 添加して測定した。血小板形態は、大軒らが報告したストップ&フロー法<sup>11)</sup>にしたがって、PRP の攪拌時 (800rpm) と静止時の吸光度比 (E8/E0) をヘマトレーサー 313M により測定して評価した。CD62P-selectin 陽性率 (CD62P 陽性率) の測定は、CD61-PerCP 抗体と CD62P-PE 抗体 (ともに BD 社製) で染色した細胞を 1 % パラホルムアルデヒド・リン酸緩衝液 (和光純薬工業社製) で固定し、全自動細胞解析装置 Cytomics FC 500 (ベックマン・コールター社製) によるフローサイトメトリーで測定した。グルコース濃度と乳酸濃度の測定は、遠心機 LX-131 で遠心上清を調製 (3,000rpm  $\times$  10min, 24 $^{\circ}$ C) し、それぞれ測定キット グルコース C II テストワコー (和光純薬工業社製) と デタミンナー LA (協和メディックス社製) を使用して、分光光度計 UV-2550 により測定した。RANTES 濃度, sCD62P-selectin 濃度 (sCD62P 濃度) と PDMP 濃度は、微量高速冷却遠心機 MX-201 (トミー精工社製) で遠心上清を調製 (9,400rpm  $\times$  5 min, 24 $^{\circ}$ C) し、それぞれ ELISA 測定用キット Quantikine<sup>®</sup> ELISA Human

CCL5/RANTES, Quantikine<sup>®</sup> ELISA Human P-Selectin/CD62P (ともに R&D System 社製) と PDMP ELISA キット (蛋白精製工業社製) を使用して、xMark マイクロプレートリーダー BIO-RAD168-1150J1 (バイオ・ラッド・ラボラトリーズ社製) で測定した。スワリングと凝集塊の有無は、血液バッグを白色蛍光灯にかざし肉眼観察して判定した。

## 6. 統計処理

統計処理には、医学統計ソフト GraphPad Prism 7J (GraphPad Software 社製) を用いた。試験結果について、Test 群と Control 群の群間を paired t-test で解析し、濾過処理が品質に影響を与えたかを評価した。また、群内の値について、各値の間を Repeated measures ANOVA によりパラメトリック検定を実施し、その後、Bonferroni correction で多重検定を行った。群内の結果値について、各群の day0 値を対象として比較し、採取から保存中における品質の変化を評価した。P 値が 0.05 未満の場合を有意差ありとした。

### 【結 果】

#### 1. 採取血液の容量など

採取血液の容量や血小板数、残存血漿濃度などを表 1 に示した。容量、血小板濃度、血小板数、残存血漿濃度、同時採取血漿容量の各結果について、Test 群と Control 群の群間に差を認めなかった。白血球数はすべて  $1 \times 10^6$ /bag より低く、採取した PAS-PC は全例で 10 単位製剤の規格を満たした。

#### 2. 濾過処理前後の容量、血小板数、総血小板数、外観試験項目の比較

結果を表 2 に示した (n = 3)。濾過処理により、PAS-PC の容量と総血小板数が平均でそれぞれ 3.4mL と  $0.03 \times 10^{11}$  個/bag 低下したが、血小板濃度は低下しなかった。可視凝集塊は濾過処理前には 3 例全例でみられたが、濾過処理によりすべてみられなくなった。スワリングは全検体で強く認められた。濾過処理に要した時間は 40 秒程であった。

表 1 採取血液の容量や血小板数, 残存血漿濃度など (Mean  $\pm$  SD)

測定項目	Test	Control	P-value *
容量 (mL)	196.8 $\pm$ 1.2	195.2 $\pm$ 1.1	0.173
血小板濃度 ( $\times 10^4 / \mu\text{L}$ )	141.3 $\pm$ 16.9	138.5 $\pm$ 11.3	0.825
血小板数 ( $\times 10^{11} / \text{bag}$ )	2.78 $\pm$ 0.31	2.70 $\pm$ 0.20	0.744
残存血漿濃度 (%)	34.1 $\pm$ 1.4	34.4 $\pm$ 1.2	0.628
同時採取血漿容量 (mL)	403.9 $\pm$ 21.6	403.0 $\pm$ 17.3	0.954

\* : Test vs. Control の結果群間の P 値 (by paired t-test)

表 2 濾過処理前後の容量, 血小板数, 総血小板数, 外観試験項目の比較 (Mean  $\pm$  SD)

測定項目	Test (day0)	Test (day0- 濾過後)	濾過処理の影響
容量 (mL)	178.7 $\pm$ 2.3	175.3 $\pm$ 2.3	3.4mL 低下
血小板濃度 ( $\times 10^4 / \mu\text{L}$ )	141.3 $\pm$ 16.9	141.9 $\pm$ 16.4	なし
血小板数 ( $\times 10^{11} / \text{bag}$ )	2.52 $\pm$ 0.27	2.49 $\pm$ 0.27	0.03 $\times 10^{11}$ 個低下 (総数で約 1% の低下)
可視凝集塊あり (bag 数)	3	0	可視凝集塊がすべて消失
スワリング*	++	++	なし

\* : スワリングの強度を肉眼観察した結果を示した。(－: スワリングなし, +: 弱い, ++: 強い)

### 3. PAS-PC の品質試験

凝集塊除去フィルターで濾過処理した PAS-PC (Test 群,  $n = 3$ ) の経時的な検査を行い, 未処理群 (Control 群,  $n = 3$ ) と比較検討した。

#### 3-1. 可視凝集塊とスワリングの観察

結果を表 3 に示した。Day0 における全検体で可視凝集塊を認めたが, 濾過処理後の Test 群については, すべて可視凝集塊を認めなかった。Control 群では 2 例が day7 まで可視凝集塊を認めた。スワリングは全検体で強く認められた。

#### 3-2. 血小板濃度, MPV, 血液ガス分析, グルコース濃度, 乳酸濃度 (表 4)

各種パラメータの検査結果を表 4 に示した。

血小板濃度は, Test 群と Control 群の群間に差を認めなかった。MPV は, 両群ともに採取当日の値 (day0) と比べて, 振とう保存後に一旦低下し, その後 day7 までの保存期間中に MPV が再び上昇し day0 と同等の値を示す傾向がみられた。保存期間中の MPV は, day3 の結果を除いて群間に差を認めなかった。pH は, 濾過処理後の Test 群と Control 群の間で保存期間中, ともに同等の

値を維持した。pCO<sub>2</sub> 分圧と pO<sub>2</sub> 分圧は, day0 において群間の差を認めなかったが, Control 群 (day0) と比べ, 濾過処理後の Test 群 (day0-濾過後) で pCO<sub>2</sub> が低値, pO<sub>2</sub> が高値を示した。Day1 以降の pCO<sub>2</sub> 分圧と pO<sub>2</sub> 分圧については群間に差を認めなかった。

グルコース濃度と乳酸濃度について, 群間に差を認めず, 両群ともに保存に伴ってグルコース濃度の低下と乳酸濃度の上昇がみられた。

#### 3-3. % HSR, 血小板凝集能と形態, CD62P 陽性率など (表 5)

% HSR は群間に差を認めず, day3 まで保存による低下がみられなかったが, day7 において Test 群で 57.3 %, Control 群で 63.6 % まで低下した。

血小板凝集能は群間に差を認めず, day7 においても Test 群で 75.7 %, Control 群で 77.3 % を示した。

血小板形態 (E08/E0) は群間に差を認めず, day0 (Test 群 : 0.903, Control 群 : 0.904) から day1 (同じ順に 0.883, 0.879) にかけて, 形態が回復する傾向が同様にみられた。なお E8/E0 の値は,

表3 可視凝集塊とスワリングの観察結果(n = 3)

検査項目	種別	day0	day0-濾過後	day1	day3	day7
凝集塊あり (bag数)	Test	3	0	0	0	0
	Control	3	—	2	2	2
スワリング* (-, +, ++)	Test	++	++	++	++	++
	Control	++	++	++	++	++

\* : スワリングの強度を肉眼観察した結果を示した。( - : スワリング無し, + : 弱い, ++ : 強い)

表4 PAS-PCの品質①(Mean ± SD, n = 3)

検査項目	種別	day0	day0-濾過後	day1	day3	day7
血小板濃度 ( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	Test	141.3 ± 16.9	141.9 ± 16.4	141.1 ± 16.5	142.0 ± 17.4	138.5 ± 20.0
	Control	138.5 ± 11.3	—	136.9 ± 10.2	137.8 ± 10.3	133.5 ± 13.3 <sup>†</sup>
MPV (fL)	Test	8.8 ± 0.1	8.7 ± 0.1	8.5 ± 0.2	8.4 ± 0.2 <sup>*†</sup>	8.9 ± 0.2
	Control	8.7 ± 0.2	—	8.3 ± 0.3 <sup>†</sup>	8.2 ± 0.2 <sup>†</sup>	8.4 ± 0.2
pH (at 22°C)	Test	7.14 ± 0.02 <sup>*</sup>	7.17 ± 0.02	7.25 ± 0.04	7.30 ± 0.09	7.14 ± 0.20
	Control	7.18 ± 0.02	—	7.26 ± 0.04	7.33 ± 0.07	7.21 ± 0.16
pCO <sub>2</sub> (mmHg, at 22°C)	Test	11.6 ± 0.5	10.4 ± 0.3 <sup>*</sup>	8.3 ± 0.8 <sup>†</sup>	6.5 ± 1.0 <sup>†</sup>	5.4 ± 0.5 <sup>†</sup>
	Control	12.9 ± 0.9	—	9.5 ± 0.8 <sup>†</sup>	7.3 ± 1.2 <sup>†</sup>	6.5 ± 1.8 <sup>†</sup>
pO <sub>2</sub> (mmHg, at 22°C)	Test	38.9 ± 3.5	56.9 ± 3.6 <sup>*†</sup>	52.4 ± 4.7 <sup>†</sup>	62.5 ± 9.1 <sup>†</sup>	73.6 ± 5.3 <sup>†</sup>
	Control	43.9 ± 6.0	—	50.9 ± 6.2 <sup>†</sup>	58.7 ± 2.3 <sup>†</sup>	71.3 ± 3.6 <sup>†</sup>
グルコース濃度 (mmol/L)	Test	6.2 ± 0.5	6.2 ± 0.4	5.8 ± 0.7	4.7 ± 1.0 <sup>†</sup>	1.1 ± 1.7 <sup>†</sup>
	Control	6.9 ± 0.1	—	6.5 ± 0.1	5.3 ± 0.4 <sup>†</sup>	2.0 ± 1.2 <sup>†</sup>
乳酸濃度 (mmol/L)	Test	1.4 ± 0.4	1.5 ± 0.5	2.4 ± 0.8	5.1 ± 1.5 <sup>†</sup>	12.6 ± 3.3 <sup>†</sup>
	Control	1.3 ± 0.2	—	2.4 ± 0.4	5.2 ± 1.3 <sup>†</sup>	11.7 ± 3.0 <sup>†</sup>

\* : 同保存期間のControlと比較して有意差あり[by paired t-test,  $P < 0.05$ , Test (day0-濾過後)の結果はvs. Control (day0)で評価した。]

† : day0の値に対して有意差あり (by Bonferroni correction,  $P < 0.05$ )

血小板がすべて球状化した場合に理論上1.0となり、円盤状の血小板の割合が高いほど低値を示す。

CD62P陽性率とsCD62P濃度およびRANTES濃度は、群間に差を認めず、保存に伴って上昇した。保存期間中のPDMP濃度に群間の差を認めなかった。

### 【考 察】

凝集塊除去フィルター HPF0607(メッシュ目開き: 40  $\mu\text{m}$ )を用いた濾過を行い、PAS-PCの採取に伴って発生した可視凝集塊を除去できるかを検討(n = 3)したところ、全例で可視凝集塊の除去が可能で、振とう保存中に凝集塊の再形成がみられないことが示された(表3)。

濾過処理による血小板の損失量は、バッグ当たり総数の約1%程度であったが(表2)、これはフィルターが単層メッシュ構造であること、濾過前

バッグにエアを充填した後の濾過処理とすることで、製剤容量の損失が抑制された結果である。

つづいて、day7までの保存期間中の品質(表4, 表5)について検討したところ、Test群とControl群の間で異なったのは、①day0におけるpH、②day0-濾過後におけるpO<sub>2</sub>とpCO<sub>2</sub>、③day3におけるMPVの三点のみであった。

まず、濾過処理の前後において、ガス分圧で群間に差が生じ、逆にpHで差が消失した理由であるが、これには、濾過に伴ってPAS-PCと空気が攪拌されたことが影響したと考えられた。なお、この影響は一過性で、day1以降のpHやガス分圧に影響を与えなかった。また、Test群のday3でMPVが高値傾向となったが、顕著な上昇ではなく、その後day7までの保存中にControl群との間で差が消失したこと、血小板の形態を反映するE8/E0<sup>11)</sup>の値について、保存期間中に群間の差を

表5 PAS-PCの品質② (Mean  $\pm$  SD, n = 3)

検査項目	種別	day0	day0-濾過後	day1	day3	day7
% HSR	Test	72.0 $\pm$ 9.5	74.4 $\pm$ 9.5	76.2 $\pm$ 7.6	71.6 $\pm$ 8.5	57.3 $\pm$ 4.7 <sup>†</sup>
(%)	Control	73.7 $\pm$ 8.2	—	78.4 $\pm$ 6.1	72.5 $\pm$ 7.6	63.6 $\pm$ 6.8 <sup>†</sup>
血小板凝集能	Test	87.3 $\pm$ 2.9	86.2 $\pm$ 2.5	85.8 $\pm$ 3.0	84.2 $\pm$ 0.8	75.7 $\pm$ 8.0 <sup>†</sup>
(%)	Control	86.5 $\pm$ 3.3	—	83.5 $\pm$ 4.1	85.0 $\pm$ 5.2	77.3 $\pm$ 10.5
血小板形態 (E8/E0)	Test	0.903 $\pm$ 0.015	0.893 $\pm$ 0.016	0.883 $\pm$ 0.009 <sup>†</sup>	0.893 $\pm$ 0.006	0.927 $\pm$ 0.002 <sup>†</sup>
	Control	0.904 $\pm$ 0.009	—	0.879 $\pm$ 0.013 <sup>†</sup>	0.890 $\pm$ 0.004	0.913 $\pm$ 0.006
CD62P-陽性率 (%)	Test	22.1 $\pm$ 12.3	21.2 $\pm$ 10.6	27.8 $\pm$ 15.8	36.1 $\pm$ 10.1 <sup>†</sup>	65.1 $\pm$ 4.8 <sup>†</sup>
	Control	24.4 $\pm$ 11.2	—	21.1 $\pm$ 6.6	32.9 $\pm$ 5.4	59.1 $\pm$ 4.0 <sup>†</sup>
sCD62P濃度 (ng/mL)	Test	8.8 $\pm$ 2.3	9.1 $\pm$ 1.9	12.8 $\pm$ 3.0	18.5 $\pm$ 5.4 <sup>†</sup>	32.0 $\pm$ 7.2 <sup>†</sup>
	Control	9.4 $\pm$ 2.7	—	11.1 $\pm$ 3.0	16.9 $\pm$ 5.8 <sup>†</sup>	27.7 $\pm$ 8.7 <sup>†</sup>
RANTES濃度 (ng/mL)	Test	24.4 $\pm$ 10.3	23.7 $\pm$ 10.7	50.8 $\pm$ 25.1	98.6 $\pm$ 31.9 <sup>†</sup>	194.5 $\pm$ 48.9 <sup>†</sup>
	Control	25.2 $\pm$ 12.6	—	42.4 $\pm$ 17.5	83.3 $\pm$ 24.7 <sup>†</sup>	183.3 $\pm$ 49.0 <sup>†</sup>
PDMP濃度 (ng/mL)	Test	66.4 $\pm$ 17.2	74.9 $\pm$ 16.1	87.8 $\pm$ 20.5	108.7 $\pm$ 22.7 <sup>†</sup>	130.2 $\pm$ 20.5 <sup>†</sup>
	Control	79.0 $\pm$ 22.4	—	80.1 $\pm$ 10.6	87.9 $\pm$ 9.8	100.1 $\pm$ 12.0

\* : 同保存期間のControlと比較して有意差あり [by paired t-test,  $P < 0.05$ , Test (day0-濾過後)の結果は vs. Control (day0) で評価した。]

† : day0の値に対して有意差あり (by Bonferroni correction,  $P < 0.05$ )

認めなかったことから、濾過処理は血小板の球状化を亢進しなかったと考えられる。

さらに、CD62P陽性率<sup>12)</sup>やRANTES<sup>13)</sup>およびPDMP濃度<sup>14)</sup>がTest群で高値傾向を示さなかったことから、濾過処理による空気との攪拌やメッシュとの接触によって、血小板の活性化は惹起されることが示唆された。

その他、Test群の% HSRや血小板凝集能、代謝関連の値についても群間差がなかったことから、濾過処理によってPAS-PCの血小板機能は低下しなかったといえる。

以上のことから、本検討の濾過処理法を応用することで、原料から可視凝集塊をすべて除去し、PAS-PCを製造することが可能と考えられた。凝集塊除去を実施する場所については、血小板製剤原料の長時間搬送後に可視凝集塊が高頻度で発

生した<sup>15), 16)</sup>との報告があることから、原料搬送先の製造所で行うのが望ましいと考える。より簡便な方法とするため、予め微小凝集塊除去フィルターと血液バッグを組み込んだ濾過用回路の製品化が望まれる。

## 【結 論】

メッシュ目開き40  $\mu$ mの微小凝集塊除去フィルターを用いた濾過を行うことで、PAS-PC中の可視凝集塊をすべて除去でき、day7まで凝集塊の再形成がみられないことが示された。また、この濾過処理が血小板機能に影響を与えないことが示唆された。

著者のCOI開示:本論文内容に関連して申告なし。

## 文 献

- 1) P. F. van der Meer, *et al.*: Aggregates in platelet concentrates. *Vox Sanguinis*, 108: 96-125, 2015.
- 2) Slichter SJ, *et al.*: Exploratory studies of extended storage of apheresis platelets in a platelet additive solution (PAS). *Blood*, 123: 271-280, 2014.
- 3) Tobian AA, *et al.*: The impact of platelet additive solution apheresis platelets on allergic transfusion reactions and corrected count increment (CME). *Transfusion*, 54: 1523-1529, 2014.
- 4) Cohn CS, *et al.*: A comparison of adverse reaction



- rates for PASC versus plasma platelet units. Transfusion, 54: 1927-1934, 2014.
- 5) Kerkhoffs JL, *et al.*: Clinical effectiveness of leucoreduced, pooled donor platelet concentrates, stored in plasma or additive solution with and without pathogen reduction. Br J Haematol, 150: 209-217, 2010.
- 6) de Wildt-Eggen J, *et al.*: Reactions and platelet increments after transfusion of platelet concentrates in plasma or an additive solution: a prospective, randomized study. Transfusion, 40: 398-403, 2000.
- 7) 小野寺秀一, ほか. : T-PAS+<sup>®</sup>またはピカネイト輸液を血小板保存液(PAS)として成分採血装置 Trima Accelで採取したPAS置換血小板の品質の比較. 日本輸血細胞治療学会誌, 63(6) : 780-787, 2017.
- 8) 厚生労働省ホームページ : 「平成29年度第4回血液事業部会運営委員会」【資料2-2】血液製剤に関する医療機関からの感染症報告事例等について <http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-11121000-Iyakushokuhinkyoku-Soumuka/0000186529.pdf> (2018年2月現在)
- 9) 日本赤十字社ホームページ : 輸血情報(2017年12月25日付) 1712-156「血小板製剤による細菌感染にご注意ください」 [http://www.jrc.or.jp/mr/news/pdf/yuketsuj\\_1712-156.pdf](http://www.jrc.or.jp/mr/news/pdf/yuketsuj_1712-156.pdf) (2018年2月現在)
- 10) Holme S, Moroff G, Murphy S: A multi-laboratory evaluation of in vitro platelet assays: the tests for extent of shape change and response to hypotonic shock. Transfusion, 38: 31-40, 1998.
- 11) 大軒子郎, 柴田弘俊. : 凝集計を用いたストップ・アンド・フロー法による血小板形態の定量法 濃厚血小板の保存における品質管理への応用. 日本輸血学会雑誌, 43(3) : 350-355, 1997.
- 12) Stenberg PE, *et al.*: A platelet alpha-granule membrane protein (GMP-140) is expressed on the plasma membrane after activation. J Cell Biol, 101: 880-886, 1985.
- 13) Wakamoto S, *et al.*: Biologic activity of RANTES in apheresis PLT concentrates and its involvement in nonhemolytic transfusion reactions. Transfusion, 43: 1038-1046, 2003.
- 14) Van der Zee PM, *et al.*: P-selectin- and CD63-exposing platelet microparticles reflect platelet activation in peripheral arterial disease and myocardial infarction. Clin Chem, 52: 657-664, 2006.
- 15) 及川伸治, ほか. : 多重ロジスティック回帰分析による血小板製剤原料の凝集塊発生要因の検討. 血液事業, 36 : 450, 2013.
- 16) 小田島千尋, ほか. : 血小板原料の凝集塊発生要因と血小板活性化の関連性について. 血液事業, 39 : 703-707, 2017.