

O-089

細菌スクリーニングを想定した血小板製剤の
長期保存時の品質

日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所¹⁾、
日本赤十字社東北ブロック血液センター²⁾

福田香苗¹⁾、小池敏靖¹⁾、徳倉将人¹⁾、
遠藤希美加²⁾、平山順一¹⁾、宮田茂樹¹⁾、
佐竹正博¹⁾

【目的】

本邦では、血小板製剤（PC）の有効期間を採血後4日間と諸外国に比べ短く設定し、細菌由来の副作用発生リスク低減に努めてきた。最近、採血から培養開始までに36～48時間の待機時間を設ける、イングラッド方式の細菌スクリーニング（BS）のリスク低減効果が高いことが報告され、日本赤十字社でもこの手法に基づいたBSの導入を検討している。イングラッド方式のBS導入には、PCの有効期限延長が必須となるため、10単位PCの6日目までの品質を調べた。

【方法】

成分採血装置 Trima Accel 由来の分割原料を使用した。採血後40時間以上未分割で振とう保管した後、Trima Accel 付属のPVCバッグ及び1000 mL POバッグへ分割し、10単位PCを調製した（N=4）。検体採取は調製日（採血後3日目）分割前と想定される有効期間の6日目に行い、外観、血小板濃度、平均血小板容積、pH、pCO₂、pO₂、グルコース濃度、低浸透圧ショック回復率、Stop & Flow、血小板凝集能（5 μM ADP + 2.5 μg/mL コラーゲン）、CD62P 陽性率を測定した。また、採血後7日目以降において、平板寒天混濁培養法による菌の検出を試みた。

【結果】

pCO₂ (mmHg) はPVCバッグ（平均±SD：11.1 ± 0.6）と比較し、POバッグ（14.8 ± 0.8）で有意に高値であった。CD62P 陽性率（%）は、3日目（22.9 ± 7.3）と比較し、6日目（PVC：45.2 ± 13.7、PO：41.2 ± 15.1）で有意に高値であったが、著しいものではなかった。また、経時的に血小板凝集塊が発生したが細菌は検出されなかった。その他の血小板品質には、保存バッグ間及び保存日数間において有意差は認められなかった。

【考察】

本検討から、分割原料を未分割で40時間以上振とう保管後に分割調製したPCは、6日目まで品質に著しい変化はみられないことが明らかになった。そのため、細菌スクリーニングを考慮した10単位PCの6日目までの有効期間延長は、微小凝集塊をある程度許容することで、十分可能であると考えられる。

O-090

PAS 血小板から調製した洗浄血小板の品質

日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

平山順一、金子祐次、宮田茂樹、佐竹正博

【目的】 現在、日本赤十字社では輸血副作用低減や原料血漿の効率的確保を目的に、血小板製剤（PC）の血漿の一部を血小板保存液（Platelet Additive Solution：PAS）で置換したPAS-PCの実用化を目指している。導入後、洗浄血小板（WPC）はPAS-PCから製造する可能性があるものの、そのようなWPCに関する報告は少ない。本研究ではPAS-PCから調製したWPCの品質について検討した。【方法】 採血翌日（Day2）、20単位相当PC（同型の照射10単位PCを2本ブールしたもの）から用手法（遠心条件：2560g × 10min）によりPAS-PCを調製し（保存液：T-PAS+、血漿濃度35%）、POバッグに分割（コントロール群及びテスト群）した後、Day4まで振とう保存した。Day4（PAS-PC運用案から推測される洗浄候補日の一つ）で一方のPAS-PC（テスト群）から血球洗浄装置ACP215を用いてWPCを調製した（保存液：BRS-A）。両群ともDay7まで振とう保存し、各種測定項目について両群間で比較検討した（n=5）。【結果】 洗浄後の血小板回収率は92.2%、タンパク残存率は0.2%であった。微小凝集塊は洗浄直後に多数観察されたが数時間以内に消失しその後Day7まで観察されなかった。保存期間中は両群とも血小板濃度にほとんど変化はなく、グルコースが枯渇することはいなかった。またpHは7以上を維持した。浸透圧ショック反応、平均血小板体積、血小板形態、CD62P 陽性率は両群間で有意な差がなかった。凝集能は、ADP 単独刺激（10 μM）の場合WPCで有意に低値を示したが、Collagen 単独刺激（5 μg/mL）および同時刺激（ADP 5 μM + Collagen 2.5 μg/mL）の場合は両群間で有意差はなかった。【結論】 用手法で調製したPAS-PCをDay4（採血後4日目）で洗浄したWPCのin vitroの品質は、ADP 単独刺激凝集能を除きDay7までPAS-PCと大きな差がないと考えられる。

O-091

265 nm UV-LED の凝固活性に及ぼす影響

日本赤十字社近畿ブロック血液センター¹⁾、
 東京大学大学院工学系研究科²⁾、
 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所³⁾、
 日本赤十字社血液事業本部⁴⁾

林 智也¹⁾、藤村吉博¹⁾、小熊久美子²⁾、
 正木美香子¹⁾、淵崎晶弘¹⁾、三島優一¹⁾、
 田中光信¹⁾、保井一太¹⁾、古田里佳³⁾、
 新畑泰仁¹⁾、高橋孝喜⁴⁾、谷 慶彦³⁾、
 平山文也¹⁾、瀧原義宏¹⁾

【目的】 血液製剤の感染性因子低減化は喫緊の課題となっている。UV-C を中心とした紫外線の病原体低減化効果は古くから知られており、様々な光源を用いた方法が試みられている。我々は先回の総会にて、血小板製剤の細菌低減化における 265 nm UV-LED の有用性を示した。今回、血漿製剤への応用を見込み、265 nm UV-LED の凝固活性への影響について基礎的なデータを取得したので報告する。

【方法】 常法により 37℃ で融解した新鮮凍結血漿を検体とした。分光光度計を用いて検体の吸収スペクトルを取得した。次に検体を 265nm UV-LED 小型照射装置に導入し、60 分間照射した。照射後、下記の測定を行った。プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) および凝固因子 (FII, FV, FVII, FVIII, FIX, FX, FXII, FXIII) 活性、ATIII 活性、リストセチンコファクター活性、フィブリノゲン量を Cs-2000i (シスメックス) にて測定した。1% アガロースゲル電気泳動および western blot 法にて VWF 多量体解析を行った。

【結果】 60 分間の照射による平均線量 (n=6) は 68.5mJ/cm² と推定された。既報の数値を参照すると、細菌やウイルスの種類により感受性が異なるため効果に幅が見られるが、今回の実験条件では 2log ~ 4log の低減化が可能であると推測された。非照射血漿と比較すると照射血漿は PT、APTT が約 1.3 倍に延長し、フィブリノゲン量が約 40% に、各凝固因子の活性が 40% ~ 90% に減弱した。一方で ATIII およびリストセチンコファクターは同等であった。VWF 高分子多量体は約 40% に低下し、低分子多量体が 150% に増加した。

【考察】 今回検討した 265 nm UV-LED の線量と凝固因子活性低下の水準は水銀ランプによる既報と同等であったことから、光源に依らず UV-C 照射により凝固活性が低下することが示唆される。また、UV-C による血漿製剤感染性因子不活化を実現するためには、UV-C による凝固活性低下の原因究明とその対策が必要と考えられる。

O-092

原料臍帯血の保管温度等諸条件の最適化の検討

日本赤十字社近畿ブロック血液センター

入江與利子、保井一太、田中光信、木村貴文、
 瀧原義宏

【目的】

原料臍帯血の保管温度は「4℃ から 25℃」と臍帯血事業関連文書に規定されているが、その幅は大きく、品質への影響が危惧されている。本研究は、原料臍帯血の品質低下を抑制しつつ長期間保管可能な保管温度を検討することで、移植用臍帯血の品質向上および事業の効率化を図ることを目的としている。これまでの検討により 20℃ 以上の保管では 48 時間で原料臍帯血の品質がすでに低下し始めることを確認している。

【方法】

今回は、20℃ 未満の保管温度での品質を有核細胞数、CD34+ 細胞率、コロニー形成率を指標に評価した。研究用に提供された原料臍帯血は、当日検査分を分取後、3 分割し、それらを 5℃、10℃、15℃ でさらに 2 日間（採取後 72 時間）保管した。それぞれの臍帯血から HES40 法で有核細胞を調製し、一部は凍結前臍帯血として有核細胞数、CD34+ 細胞数、コロニー数を測定した。残りは -80℃ で凍結保存し、一定期間後に解凍試験として同様の項目を測定した。

【結果】

原料臍帯血を、5℃、10℃、15℃ で保管した場合、採取後 48 時間までは有核細胞数、CD34+ 細胞率、コロニー形成細胞率の低下に有意な差は観察されなかった。

【考察】

原料臍帯血を 15℃ 以下で保管することで、調製開始に到るまでの保管可能時間を現在手順書で規定されている 36 時間から延長できる可能性が示唆された。今後、保管温度ごとの臍帯血造血幹・前駆細胞分画の増殖・分化能の維持について液体培養後のフローサイト解析も加えた検討を行い、保管温度と保管可能時間のさらなる適正化に繋げる予定である。

O-093

コロニーアッセイ自動判定装置
「STEMvision」における精度管理について

日本赤十字社近畿ブロック血液センター¹⁾、
日本赤十字社血液事業本部²⁾

坂元宏隆¹⁾、松山宣樹¹⁾、勝田通子¹⁾、
小野明子¹⁾、石井博之¹⁾、市原孝浩²⁾、
東 史啓²⁾、平山文也¹⁾、瀧原義宏¹⁾、
高梨美乃子²⁾、木村貴文¹⁾

【はじめに】臍帯血バンクでは、移植に用いる臍帯血の移植後造血支持能を間接的に確認するための品質試験としてコロニー形成試験を行っている。同検査は、半固形培地に至適濃度の臍帯血を播種し、2週間の培養後に形成された造血細胞コロニーの種類と数を顕微鏡下に判定する検査法である。近年、従来の目視判定に代わり、全自動のコロニー判定と解析を可能にしたSTEMvision（ステムセルテクノロジー社）が開発され、判定作業に要する多大な時間と労力の抑制や目視による主観的な判定に対する懸念の払拭に加えて、目視判定者育成に係る教育訓練の低減化を可能にした。しかし、同システムは機器の精度管理用ツールが存在しないために日常検査への導入が困難であった。このたび精度管理を目的とするQC Plateが開発されたので、その有用性について評価を行った。【材料】赤芽球または骨髓球コロニーを模倣した2種類の擬似マイクロビーズコロニーを3段階の濃度で2ウェルずつ樹脂固定した6ウェルQC Plateを評価対象とした。【方法】2名の職員による顕微鏡下の目視判定とSTEMvisionによる自動判定の比較を行った。STEMvisionによる擬似コロニー判定の同時再現性及び日差変動についても解析した。【結果】職員による目視判定結果及びSTEMvisionによる判定結果は、いずれも設定値（添付文書）とほぼ一致した。また、10回測定した場合の同時再現性と9日間の日差変動は全て管理範囲内であった。【考察】精度管理用QC Plateの有用性に関する初めての評価となったが、職員とSTEMvisionによる擬似コロニー判定結果は同等であり、STEMvisionによる擬似コロニー判定の同時再現性と日差変動についても良好な結果が得られた。QC Plateの利用によりSTEMvisionを日常標準検査として導入することが可能であると考えられる。

O-094

北海道さい帯血バンクにおけるホームページ
の更新とその効果

日本赤十字社北海道ブロック血液センター¹⁾、
北海道赤十字血液センター²⁾

増子和尚¹⁾、内藤友紀¹⁾、関本達也¹⁾、
秋野光明¹⁾、生田克哉²⁾、紀野修一¹⁾

【はじめに】移植用臍帯血の保存数は9272本（2020年末）で、厚生労働省の最低目標1万件を下回っている。2020年における非血縁者間の同種造血幹細胞移植では、臍帯血移植が約58%であるため、目標以上の移植用臍帯血を確保する必要がある。移植用臍帯血の必要性を広く一般に周知し臍帯血の提供者を増やすために、当バンクのホームページをリニューアルし、内容を充実させた。

【方法】以下1～8の更新作業を行い、その効果をアクセス数で検証した。1. 血液センターTOPページに当バンクの専用リンクを設置。2. 臍帯血移植関連の動画を集めた視聴ページを新規に作成。3. ページ間の移動を簡素化するためにサイドメニューを細分化。4. 提携産科施設のホームページとの相互リンク。5. 新着／お知らせ情報を随時更新。6. 直近のお知らせ情報や重要情報を明示化。7. 臍帯血の提供者向けに子育て情報等の関連ページをリンク。8. お手紙集やリンク先一覧のページを新規作成。

【結果】当バンクのホームページへのアクセス数は2018年度までは月平均60件程度であった。2019年4月から1～5の作業を開始し、2019年度のアクセス数は月平均で約350件となった。2020年3月から6～8の作業を追加すると、アクセス数が400件を超える月もみられ現在も維持している。アクセス数が最も多いのは臍帯血採取施設に関する情報であった。従前は年2回程度であった新着・お知らせ情報の更新を、2019年は29回、2020年では28回行った。

【まとめ】当バンクへの臍帯血到着数は718本（2018年度）であったが、920本（2019年度）、1117本（2020年度）と増加した。臍帯血到着数の増加にはホームページの充実化も寄与したと考える。また、どの更新作業が効果的であったのかを検証することも大切であると考えている。今後も閲覧者が興味を持ち、役に立つ、質の高いコンテンツの掲載を検討し、ホームページを通じた臍帯血移植及び臍帯血バンクの普及啓発を進めていきたい。

O-095

臍帯血の無菌検査における抗生物質中和剤入り培養ボトルの検討

日本赤十字社血液事業本部¹⁾、
日本赤十字社北海道ブロック血液センター²⁾、
日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター³⁾、
日本赤十字社近畿ブロック血液センター⁴⁾、
日本赤十字社九州ブロック血液センター⁵⁾

阿部和真¹⁾、市原孝浩¹⁾、小野あいこ¹⁾、
関本達也²⁾、峯元睦子³⁾、石井博之⁴⁾、
森 鉄男⁵⁾、宮本 彰⁵⁾、東 史啓¹⁾、
木村貴文¹⁾、高梨美乃子¹⁾

【はじめに】日本赤十字社は、2014年に施行された法律に基づき臍帯血供給事業者として許可を受け、移植に用いる臍帯血の安全性その他の品質を確保するため、無菌検査等の試験検査を実施している。

【目的】周産期感染症予防として、妊婦に抗生物質が投与される場合があるが、その影響により臍帯血の無菌検査が偽陰性になる可能性が示唆されている。現在、臍帯血バンク業務で使用している培養ボトルは、抗生物質の中和能がなく、その影響を受けている可能性があることから、抗生物質中和剤入り培養ボトルの有用性について検討した。

【方法】ビオメリュー社製の「BPA 血液製剤好気培養ボトル」及び「BPN 血液製剤嫌気培養ボトル」（以下、現行ボトル）、「iFA Plus ボトル（好気用）」及び「iFN Plus ボトル（嫌気用）」（以下、検討ボトル）を用いて、同社製 BacT/ALERT 3D にて 14 日間比較培養した。＜検討 1＞2019 年 11 月から 2020 年 1 月までに 24 時間以内に抗生物質を投与された妊婦から採取された臍帯血を対象とし、各 100 セット実施した。＜検討 2＞2020 年 10 月から 11 月までに妊婦への抗生物質投与の有無は問わずに採取された臍帯血を対象とし、各 101 セット実施した。

【結果】＜検討 1＞現行ボトル、検討ボトルともに全て陰性であった。＜検討 2＞現行ボトル、検討ボトルどちらも陽性が 4 件、現行ボトル陽性で検討ボトル陰性が 3 件、現行ボトル陰性で検討ボトル陽性が 3 件、現行ボトル、検討ボトルどちらも陰性が 91 件であり陽性率はどちらも 7.0% だった。

【考察】現行ボトルと検討ボトルの結果不一致の理由は、培養ボトルへ接種された菌量が非常に少なかったためとみられる。本検討では、両ボトルの陽性率が同等であること、及び 2019 年度に調製した臍帯血の約 54% に抗生物質の投与があったことから、検討ボトルの導入は有用であると考えられた。今年度より臍帯血バンクの無菌検査は、検討ボトルに順次変更予定である。