

報 告

テルモアフエレーシス装置 AC-550  
(白血球除去フィルター組み込みタイプ)の検討

横山 繁樹<sup>1)</sup> 鈴木 篤<sup>2)</sup> 高木 愛己<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>京都府赤十字血液センター

<sup>2)</sup>テルモ株式会社

(平成 11 年 9 月 7 日受付)

(平成 11 年 11 月 11 日受理)

EVALUATION OF TERUMO LEUKOREDUCTIVE APHERESIS SYSTEM TERUSYS™

Shigeki Yokoyama<sup>1)</sup>, Atsushi Suzuki<sup>2)</sup> and Yoshiki Takagi<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Kyoto Red Cross Blood Center

<sup>2)</sup>Terumo Corporation

The newly developed Leukoreductive Apheresis System TERUSYS™ allows leukoreduction from platelet concentrates during the course of platelet collection. Seventy-two bags of leukoreduced apheresis platelets were obtained. Among them, 6 bags were filtered with leukoreduction filter IMUGARD III-PL under bedside filtration conditions after 3 days' storage to confirm that double filtration has no adverse effect on the quality of PC. Samples were taken before and after the filtration process, and daily up to 5 days' storage. Leukocyte counts, platelet count,  $\beta$ -thromboglobulin ( $\beta$ -TG) anaphylatoxins, histamine, fibrinopeptide A (FPA), cytokines and platelet storage properties were measured in all units.

No bags showed more  $1 \times 10^5$  leukocytes after filtration. Average platelet loss was 6% ( $n = 7$ ). High levels of  $\beta$ -TG and C3a were observed in samples stored for 3 and 5 days, but  $\beta$ -TG, C3a, C5a, histamine, FPA and cytokine values were comparable in pre- and post-filtration samples ( $n = 7$ ). With regard to platelet properties pH, hypotonic shock recovery and aggregation reaction results were acceptable for clinical use ( $n = 10$ ). Double filtration had no adverse effect on the quality of PC ( $n = 6$ ).

These results suggest that filtration during the course of platelet collection is effective.

**Key words** : apheresis, leukoreduction, double filtration, platelet function

はじめに

テルモ社が開発したテルモアフエレーシス装置 AC-550 (テルシス) は、わが国における唯一の国産小型軽量の血小板採取装置である。日赤の血液センターを主な使用対象としており、したがって開発当初のコンセプトも、60 分以内の穿刺時間で少なくとも 10 単位以上の血小板製剤 (PC: 血小板数  $2 \times 10^{11}$  個以上) が採取可能であること、献血

者の安全性確保対策が万全であること、装置およびその都度使用する回路セットについては、わが国で最高の品質保証が可能であること等であった。

1997 年 9 月、我々は同装置を使用して初めての臨床評価を行い、供血者の安全性には何等の問題はなかったものの、操作面で少なからずの改善点を認めた。そこでその後も適宜改良を加えながら

臨床評価を続行し、翌年5月には、同装置による血小板採取成績に十分な評価が得られる水準にまで達した<sup>1,2)</sup>。さらに、回路セットに白血球除去フィルター(イムガードIII)を組み入れたことにより、採取したPC中の混入白血球が $1 \times 10^6$ 個以下であるPCを採取することができたので、今回は白血球除去フィルター組み込み回路セットを使用した血小板採取の成績、および採取したPCの保存中における血小板機能、補体活性化などその他因子の経時的変化に検討を加えたので報告する。

### 対象および方法

京都府赤十字血液センターにおいて1997年12月～1998年3月の4カ月間、テルモアフェレシス装置AC-550と白血球除去フィルター組み込み回路セット(BB-AP410EJ)を使用してPC採取を行った男性43名、女性29名、計72名を検討対象とした。対象となった献血者は全員厚生省の血小板採取基準<sup>3)</sup>に合致した人で、平均体重は男性 $66 \pm 8$ kg、女性 $58 \pm 6$ kg、献血者の採血前色素量と血小板数は男性 $14.8 \pm 1.3$ g/dL  $26.8 \pm 6.0 \times 10^4/\mu\text{L}$ 、女性 $13.5 \pm 1.5$ g/dL、 $28.4 \pm 5.3 \times 10^4/\mu\text{L}$ であった。

採取条件はボウルの遠心回転数4,750rpm、採血速度60mL/分、返血速度90mL/分、抗凝固剤(ACD-A液)比1/10とし、3～4サイクルで10単位のPC採取(PC量200mL)を行った。

血小板採取成績は男女別に処理血液量、PC採取に要した採取時間、採取PC量と血小板数で求めた。また初期の7例については、白血球除去フィルターの性能をみるために、濾過前と濾過後のPCを対象にして血小板数、白血球数をSYSMEX SE-9000を用いて測定した。なお、濾過後の白血球混入数はNageotte Chamberを用いて測定した。

さらに6例を対象にして、白血球除去前後と保存3.5日に $\beta$ トロンボグロブリン( $\beta$ -TG)を市販のELISAキット(ベーリンガーマンハイム/アセラクロム $\beta$ -TG)で、LDHをWroblewski-LaDue法で、C3a、C5aをRIA抗体法で、ヒスタミンをRIA法(市販のキット使用)で、フィブリノペプチドA(FPA)をEIA法で求めるとともに、採取PC中のサイトカイン産生について、IL-1 $\beta$ をRIA

Table 1 Platelet collection results using TERUSYS™ (n = 72)

Items	Value
Treated blood volume [mL]	1,491 $\pm$ 199
N-N time [min]	61 $\pm$ 8
PC volume [mL]	209 $\pm$ 14
platelet count $\times 10^{11}$ [cells/bag]	2.51 $\pm$ 0.27
leukocyte count $\times 10^4$ [cells/bag]	1.6 $\pm$ 1.5

固相法で、TNF- $\alpha$ 、IL-8をELISA法で、IL-6をCLEIA法で測定して考察を加えた。さらに採取した10バグのPCは保存中の血小板機能をみるために採血後5日間保存し、採血後3.5日にpHを血液ガス分析装置(Radiometer/ABL-50)で、低浸透圧ショック回復率(%HSR)を分光光度計(Shimadzu/MPS-2000)を用いて測定した。また、血小板凝集能はADP、コラーゲン、Ristocetinを惹起物質として使用し、血小板凝集計(メバニクス/PAM-8C)を用いて最大凝集率を測定した。

次に、白血球除去フィルター組み込み回路セットを使用して採取したPC製剤について、ベッドサイドでさらに白血球除去フィルターを用いて濾過した場合の影響を検討するため、保存3日後にイムガードIII-PLを用いて流速1.2mL/分で濾過し、濾過前後での低浸透圧ショック回復率(%HSR)、血小板凝集能、 $\beta$ -TG放出率、LDH、ヒスタミン、ブラジキニン、C3a、C5a、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8を測定した。

### 成 績

#### (1) 血小板採取成績

10単位PC採取を目標単位に血小板採血を行った。3～4サイクルで平均処理血液量は1,491  $\pm$  199mL、採取時間61  $\pm$  8分で、採取血小板数2.51  $\pm$  0.27  $\times 10^{11}$ 個/バグ、混入白血球数1.6  $\pm$  1.5  $\times 10^4$ /バグのPCが得られた(Table 1)。血小板採取効率は65  $\pm$  7%で、男女間には有意の差は認められなかった。

#### (2) 白血球除去フィルターの影響

濾過前後のPC量、血小板数、白血球数、 $\beta$ -TG放出率、LDH、C3a、C5a、ヒスタミン、FPAの測定値をTable 2に示した。フィルターを通過する

Table 2 Storage studies using filtered apheresis PCs

	Before filtration	After filtration	Day 3	Day 5
PC volume * [ mL ]	225 ± 16	210 ± 8	190 ± 8	170 ± 8
platelet count * × 10 <sup>11</sup> [ cells/bag ]	2.46 ± 0.29	2.31 ± 0.33	2.16 ± 0.32	1.94 ± 0.28
leukocyte count * × 10 <sup>6</sup> [ cells/bag ]	23 ± 3.3	0.02 ± 0.02		
-TG release ** [% ]	2.0 ± 0.9	1.8 ± 0.6	13.8 ± 4.6	23.5 ± 7.5
LDH ** [ IU/L ; 37 ]	1,193 ± 343	1,144 ± 401	463 ± 99	522 ± 259
C3a ** [ ng/mL ]	372 ± 53	465 ± 223	1,421 ± 312	2,114 ± 578
C5a ** [ ng/mL ]	20	20	20	20
Histamine ** [ ng/mL ]	0.50 ± 0.31	0.45 ± 0.28	0.31 ± 0.22	0.31 ± 0.19
FPA ** [ ng/mL ]	3.4 ± 2.0	4.1 ± 1.5	2.7 ± 1.5	2.0 ± 1.4
IL-1 ** [ pg/mL ]	16.8 ± 6.7	14.2 ± 6.0	13.2 ± 4.0	16.2 ± 5.2
TNF- ** [ pg/mL ]	5	5	5	5
IL-6 ** [ pg/mL ]	2.0 ± 1.0	2.1 ± 0.9	1.8 ± 1.2	1.7 ± 1.4
IL-8 ** [ pg/mL ]	12.5	12.5	12.5	12.5

\* : n = 7 \*\* : n = 6

Table 3 Storage studies using filtered apheresis PCs (Platelet function)

	Prefiltration	Postfiltration	Day 3	Day 5
pH (at 37 °C)			7.19 ± 0.09	7.08 ± 0.18
%HSR	66.4 ± 20.0	74.8 ± 14.0	66.2 ± 6.7	68.5 ± 19.1
Max. aggregation ratio				
ADP 10 μmol/L	24.0 ± 13.0	46.3 ± 7.9	46.3 ± 10.7	46.3 ± 7.9
Collagen 10 μmol/L	64.6 ± 42.9	86.5 ± 16.6	82.0 ± 22.0	86.5 ± 16.6
Ristocetin 1.5mg/mL		91 ± 11	95 ± 9	91 ± 11

ことにより PC 量は 14 ± 8mL 減少したが,血小板回収率は 94 ± 8%,白血球除去率は 99.9 ± 0.1% と良好な成績を示した。

一方, β-TG 放出率, LDH, C3a, C5a, FPA, およびヒスタミン, IL-1β, TNF-α, IL-6, IL-8 はともに白血球除去フィルターを通すことによる有意の変化は認めない。

### (3) PC 保存中の各種測定因子の変化

β-TG 放出率と C3a は保存 3 日, 5 日と高値を示した (Table 2)。一方, LDH 値は保存 3 日以降低下し, 正常値となった。その他の測定値はいずれも保存 3 5 日の成績に変化は認められなかった。

保存 3 5 日における血小板機能検査の成績を Table 3 に示した。pH, %HSR, ADP, コラーゲン, Ristocetin を惹起物質としたときの最大凝集率についても, いずれも保存 3 5 日の成績に変化は認められなかった。

### (4) ベッドサイド白血球除去を想定した濾過の

Table 4 Effect of double filtration

	Single filtration	Double filtration
-TG release [% ]	22.8 ± 8.4	26.5 ± 12.9
LDH [ IU/L ; 37 ]	256 ± 46	258 ± 47
C3a [ ng/mL ]	1,813 ± 340	1,900 ± 394
C5a [ ng/mL ]	20	20
Histamine [ ng/mL ]	0.26 ± 0.11	0.40 ± 0.21
IL-1 [ pg/mL ]	10.0 ± 0.0	14.5 ± 5.3
TNF- [ pg/mL ]	5	5
IL-6 [ pg/mL ]	1.2 ± 0.3	1.1 ± 0.2
IL-8 [ pg/mL ]	12.5	12.5

### 影響

ベッドサイド白血球除去を想定した 2 回目の濾過前後の β-TG 放出率, LDH, C3a, C5a, ヒスタミン, サイトカインの測定値を Table 4 に示した。いずれの項目についても白血球除去フィルターを通すことによる有意の変化は認めない。

## 考 察

1998年、テルモ社が開発した新しい成分採血装置テルシスは、遠心ボウルを用いた片腕採血方式であり、従来のボウル型遠心方式の成分採血装置と異なる点はパフィーコートリサイクル方式を採用していることである。すなわち、採血ポンプにより採血されたACD-A液加血液は、まず遠心ボウル内で赤血球、パフィーコートおよび乏血小板血漿(血漿)に分離され、最初に血漿が遠心ボウルより溢れ出し採取バッグに移される。次に採取された血漿を遠心ボウルに高速で戻すことにより、血小板とパフィーコートを遠心ボウルから取り出し、各々の採取バッグに移され、赤血球は献血者に返血される。次にパフィーコートを遠心ボウルに戻すとともに、採血を行い、再度遠心ボウル内で遠心分離を行う。このような操作により、遠心ボウル内部でパフィーコートの濃縮を行いながら白血球と血小板をプラズマ加速循環方式で分離し、通常約60分の操作で $2 \times 10^{11}$ 個以上の(白血球除去フィルター組込みの回路セットを使用すれば混入白血球数が $1 \times 10^6$ 以下の)PCが得られている<sup>1)</sup>。

その他の特徴として、回路セットを専用カセットにコンパクトにまとめてあり、セットの装着が容易であること、またパネル表示が大型漢字ディスプレイを採用しているので見やすい<sup>9)</sup>ことがあげられている。

本装置によって採取されたPCは白血球除去フィルターを欠く標準タイプの回路セットを使用した場合、献血者の採血前検査値がHct値43~50%、血小板数 $20 \sim 34 \times 10^4/\mu\text{L}$ の条件で約60分の採血時間で、 $2.26 \pm 0.24 \times 10^{11}$ 個の血小板採取が可能であった。しかし混入白血球数をみると、 $1.1 \sim 16.3 \times 10^6$ 個/バッグあり、白血球除去フィルターの組み入れ回路セットの必要性が認められた<sup>1)</sup>。

したがって、今回はイムガードII(テルモ社)を組み入れた回路セットを使用してPC採取を行ったところ、約60分で10単位のPC採取が可能であり、かつ混入白血球数も $2 \pm 2 \times 10^4$ 個/バッグと減少させることが可能であった。この白血球除去成績は我々が既に報告<sup>4)</sup>したアミカス(バクス

ター)の $0.63 \pm 0.7 \times 10^6$ 個/バッグ、長田らの報告<sup>5)</sup>したCOBE Spectra LRSシステムの $1.6 \pm 1.6 \times 10^4$ 個/バッグ、Ogawaら<sup>6)</sup>のPall LRF6Hフィルターを組み入れたHaemonetics Multiの $0.70 \pm 0.60 \times 10^6$ 個/バッグと比較してむしろ良好な成績が得られた。ただ献血者の差、採血条件の差などがあり、同一基準での評価はできないが、今回の我々の白血球除去成績はAABB(American Association of Blood Banks)の基準<sup>7)</sup>、CE(Council of Europe)の基準<sup>8)</sup>をはるかに下まわるものであり、現時点では了解できる成績といえよう。

採取したPC5日間保存中の血小板機能検査をpH,%HSR,血小板凝集能の変化で調べたところ、Table3の成績が得られ、保存5日までのPC中の血小板機能は十分臨床使用に値する成績であった。ただ、血小板破壊の指標として調べたLDHも一過性の高値を認めたが(Table2)、フィルター組み込みを否定するほどの異常所見であるとは考えられない。

$\beta$ -TG放出率,C3aは保存により上昇した。 $\beta$ -TG放出率の上昇は保存による血小板の活性化により、またC3aは保存中にC3が分解され生成されたと考えられたが、いずれも他のPCにおいて認められるレベル<sup>10,11)</sup>であった。

その他C5a,ヒスタミン,FPAには濾過及び保存による影響を認められず、また今回我々が行ったサイトカインの検討でもIL-1 $\beta$ ,TNF- $\alpha$ ,IL-6,IL-8は何らの異常所見も認められなかった。さらに装置及び回路セットの品質面では特に問題となるような不良品は現在まで認められていない。

このようにして得られたPCの混入白血球数は十分に低値であることが考えられたが、現在、日赤のPCには白血球除去の概念が存在しないため、テルシスのような低白血球PCであってもベッドサイドで再び白血球除去されてしまう可能性が考えられたので、2回濾過につき検討した。%HSR,ADP,コラーゲンを惹起物質としたときの最大凝集率からみて2回目の濾過後のPC中の血小板機能は十分臨床使用に値する成績であった。また $\beta$ -TG放出率,LDH,C3a,C5a,ヒスタミン,サイトカインには影響は認められなていない。

## 結 論

テルモアフェレーシス装置 AC-550 に白血球除去フィルター(イムガード III)組み込み回路セットを使用して 72 例の献血者に血小板成分採血を行い、採取した PC について種々の検討を加えてみた。その結果約 60 分で白血球混入が  $1 \times 10^6$  個/バッグ以下の 10 単位の PC を得ることができた。濾過による血小板ロス率は約 6% であり、5 日保存までの pH, %HSR, 補体活性, サイトカイン等の検査値には異常所見を認めなかった。さらに濾過済み血小板をさらにイムガード III-PL を用いて濾過しても %HSR, 補体活性, サイトカイン等の検査値には異常所見を認めなかった。したがって、本システムを使用して低白血球混入の高品質 PC を効率的に採取することは十分可能であるとの結論が得られた。

## 文 献

- 1) Yokoyama S, et al. : Platelet concentrate collection with new apheresis system ; The 8th Asia-Pacific Regional Congress International Society of Blood Transfusion, Beijing, Abstracts p. 80, 1997.
- 2) 清水和枝, 他 : 新しい成分採血装置(テルモ製)による血小板採取の検討。血液事業 20(2) : 84, 1997.
- 3) 薬務公報第 1328 号 : 薬務公報社発行。厚生省薬務局監修, 昭和 61 年 3 月 31 日発行。
- 4) 清水和枝, 他 : アミカスによる血小板採取の検討。日輸会誌 42 : 139, 1996.
- 5) 長田広司, 他 : 新しい白血球除去システムによる血小板採取。第 17 回日本アフェレーシス学会学術大会抄録集 p. 53, 1997.
- 6) Ogawa Y, et al. : Clinical Evaluation of Transfusion of prestorage-leukoreduced apheresis platelets. Vox Sang 75 : 103-109, 1998.
- 7) AABB : Leukocyte-reduced red blood cells, standards for blood banks and transfusion services. 16th ed., p. 12, 1994.
- 8) Council of Europe : Platelets single unit apheresis, Guide to the preparation use and quality assurance of blood components, pp. 69-78, 1992.
- 9) 清水和枝, 他 : 血液事業 20(2) : 84, 1993.
- 10) Rinder HM, et al. : Transfusion 33(1) : 25-29, 1993.
- 11) Schleuning M, et al. : Vox Sang 67 : 144-148, 1994.