

原 著

全血処理型白血球除去フィルタークローズドバッグシステム (セパセルインテグラ MAP)を用いた血液製剤の調製と長期保存試験

秋野 光明¹⁾ 山本 定光¹⁾ 才川 聡²⁾ 佐藤 雅子¹⁾
瀬川紀美子¹⁾ 小林 健次²⁾ 池淵 研二¹⁾ 池田 久實¹⁾

¹⁾北海道赤十字血液センター

²⁾旭メディカル株式会社

(平成 12 年 7 月 21 日受付)

(平成 12 年 10 月 11 日受領)

PRESTORAGE LEUKOCYTE REDUCTION WITH IN-LIN FILTRATION SYSTEM FOR WHOLE BLOOD (Sepacell Integra MAP): EVALUATION OF SYSTEM EFFICIENCY AND BLOOD PRODUCTS

Mitsuaki Akino¹⁾, Sadamitsu Yamamoto¹⁾, Satoshi Saikawa²⁾, Masako Satoh¹⁾, Kimiko Segawa¹⁾,
Kenji Kobayashi²⁾, Kenji Ikebuchi¹⁾ and Hisami Ikeda¹⁾

¹⁾Hokkaido Red Cross Blood Center

²⁾Asahi Medical Co., Ltd.

A newly developed leukoreduction filter system for whole blood was evaluated. Whole blood was leukoreduced with the closed system (Sepacell Integra MAP), followed by centrifugation to obtain red cells and plasma (Leukocyte- reduced plasma : LR-FFP)

Red cells were reconstituted with MAP solution (Leukocyte- reduced RCC : LR-RCC)

Residual leukocyte counts were $1.8 \pm 1.3 \times 10^5$ /bag after filtration and $0.9 \pm 0.5 \times 10^5$ /bag in LR-RCC. These values are well below those indicated in the AABB standard and CE guideline. Erythrocyte recovery rate in Sepacell MAP was $89.1 \pm 2.3\%$, which was not different from that in red cell concentrate without filtration (buffy coat reduced RCC : BCR-RCC)

There was no accumulation of IL-1 β , IL-8 or LDH in the supernatants of LR-RCC during storage.

Further, there was no significant difference in electrolyte levels in the supernatant and red cell fractions during storage between LR-RCC and BCR-RCC.

In LR-FFP, elevation of C3a was observed in 2 of 6 samples, while elevation of LDH was not observed.

Key words : prestorage leukocyte reduction, leukocyte depletion filter, In-line filtration system

目 的

輸血用血液中の白血球は、受血者に輸注されることによって非溶血性発熱反応 (NHFTR), 同種抗原感作, ウイルス感染などの副作用の原因となる¹⁾. さらに 赤血球製剤の保存中に白血球が蛋白分解酵素や活性酸素を放出することによって赤血

球膜蛋白質の分解を生じたり²⁾, 凝集塊の発生原因となるなど様々な悪影響を及ぼすことが知られている^{3,4)}.

そのため、白血球除去に関する多くの検討が行われ、白血球を除去するタイミングとしては、輸血時ではなく採血後の保存前に行うこと (保存前

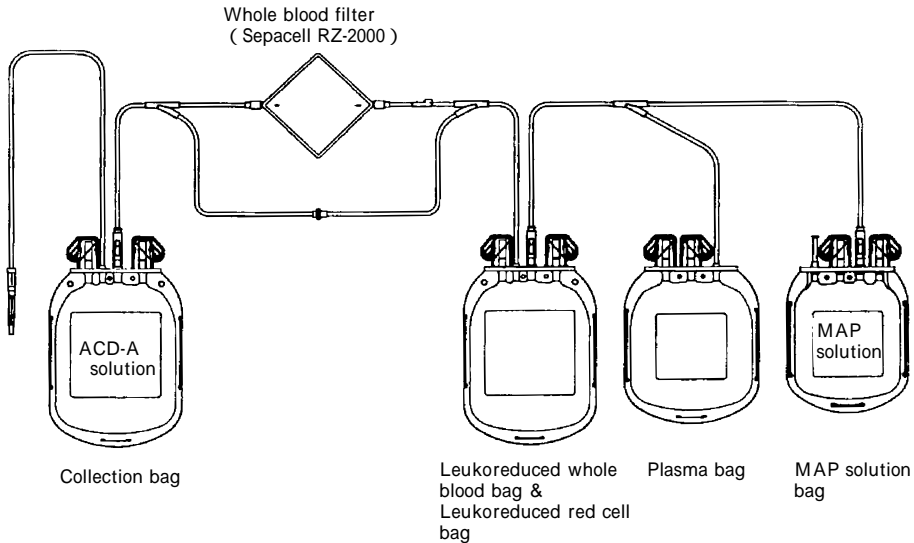


Fig. 1 Whole Blood Leukoreduction System (Sepacell Integra MAP)

白血球除去, prestorage leukocyte reduction)が, 輸血副作用の防止や輸血用血液の保存中に生じる障害の予防, さらに品質管理の点からも効果的であるとされている⁵⁾. その手段としては, フィルターを用いる方法や遠心分離によりパフィーコート層を除去する方法がある. しかし, パフィーコート層を除く操作だけでは1log以下の白血球除去率しか得られず, その臨床的意義は乏しく, 欧米においては既に採血回路中に数logの白血球除去率を有する全血用白血球除去フィルターを組み込んだバッグシステムが実用化されている⁶⁾.

我が国においても, 新鮮全血用の白血球除去フィルター(セパセルRZ-2000, 旭メディカル社)を組み込んだ保存前白血球除去が可能なバッグシステムの開発が進められ, 無菌的に白血球除去した赤血球製剤ならびに血漿製剤を同時に調製することが可能となった⁷⁾.

今回, セパセルインテグラMAPの白血球除去性能および調製した血液製剤を長期間保存し, その性状や機能を通常のバッグシステムで調製した製剤と比較検討したので報告する.

材料と方法

(1) セパセルインテグラMAP

全血処理型白血球除去フィルタークロード

バッグシステム(セパセルインテグラMAP, 旭メディカル社)は, 採血した全血からフィルターにより白血球を除去した後, 遠心分離して血液製剤を調製する採血・分離システムである(Fig. 1). 本システムで採用したフィルター「セパセルRZ-2000」は, 既存の赤血球製剤用白血球除去フィルター「セパセルRZ」と同様に表面親水化ポリエステル不織布からなるが, 新鮮全血を処理した場合の白血球除去効率を高めるために, 不織布の枚数を増やすなどの改良を加えたものである.

(2) 血液分離調製方法

文書にて同意の得られた健常成人ドナーから400mL採血(抗凝固剤: ACD-A液)し, 室温(約20℃)に約3時間放置後, フィルターで白血球除去を行った(白血球除去全血). その後, 白血球除去全血を4~6℃で4,540g, 6分間遠心し自動血液分離装置(KL-120, 川澄化学工業社)で赤血球濃厚液と血漿に分離した. 赤血球濃厚液にはMAP液(約90mL)を添加し, 保存前白血球除去した赤血球濃厚液(leukocyte-reduced RCC: LR-RCC)を調製した. 保存前白血球除去した血漿(leukocyte-reduced plasma: LR-FFP)は, 無菌的に接続した子バッグに4分割して(約60mL)急速凍結し, -40℃以下で保存した.

Table 1 Examination of red cell functions and plasma functions

Examination items	Method(reagent)
ATP	Ultraviolet absorption spectrum method(ATP Kit, ASKA・Sigma)
2, 3-DPG	Ultraviolet absorption spectrum method(2, 3-DPG test ; Sigma)
Free hemoglobin	Spectrophotometry with three wavelengths ⁹⁾
Osmotic fragility	Coil planet centrifugation system
Morphology score	Robert T. et al. ¹⁰⁾
Total Protein	Biuret method(Clinimate TP)
Albumin	B.C.G method(RABOSEED II ALB)
NH ₃	Dry chemistry(FUJI DRI-CHEM SLIDE)
P	Electrode method(Determiner LIP)
Glucose	Electrode method(Glucose Buffer)
Na, K, Cl	Electrode method(OLYMPUS ion AU-5200 Kit)
Mg	Colorimetry(Clinimate Mg)
Ca	O-CPC method(Clinimate Ca)
Lactate	Enzymatic method(Determiner LA)
LDH	Ultraviolet absorption spectrum-rate method(Quick auto-neo LDH)
IL-1	Enzyme immunoassay(Hito Interleukin-1)
IL-6	Chemiluminescent enzyme immunoassay(TFB Kit)
IL-8	Enzyme immunoassay(Interleukin-8 ELISA Kit)
Microaggregates	Coulter Multisizer II
Fibrinogen	Coagulation method(Dade fibrinogen kit)
Factor V	Coagulation method(Clotting Factor V-Deficient Plasma)
Factor VIII	Coagulation method(Clotting Factor VIII-Deficient Plasma)
von Willebrand	Ristocetin agglutination(von Willebrand Kit)
Antithrombin III	APTT method(TESTZYM-S AT III)
Plasminogen	APTT method(TESTZYM-S PLG)
Fibrinopeptide A	Enzyme immunoassay(ASSERACHROM FPA)
APTT	Coagulation method(Dade APTT kit)
C3a	Latex agglutination
Sterility test	Oxoid Signal blood culter system
Endotoxin test	APTT method(Endospec-SP test)

(3) フィルターの性能評価

フィルター濾過は、落差 65cm で行い、全血製剤の処理を開始してから、血液がフィルター内を通過するまでの充填時間及び血液バッグが空になるまでの濾過時間を調べた。

採血した全血については、フィルター濾過前と濾過後に約 5mL サンプルングし、自動血球計数装置(Coulter counter STKS, コールター社)で赤血球数、血小板数、ヘモグロビン値、ヘマトクリット値を測定した。白血球数については、濾過前は自動血球計数装置、濾過後の微量白血球はナジェット法により測定した⁸⁾。すなわち、チュルク試薬(片山化学工業社)で 10 倍に希釈した試料を 10 分間静置後、ナジェット血算盤に充填し湿潤状態にて約 20 分間静置し、光学顕微鏡(10×20 倍)

にて 100μL の白血球細胞を数えた。計測数が 0 個の場合は検出下限値(0.2 個/μL)を総白血球数の計算に用いた。

(4) 血液製剤の長期保存試験

LR-RCC の調製直後及び 4~6 日で 1, 3, 4, 6, 7 週間保存後、無菌的に子バッグを接続してサンプルリング(約 40mL)し試験用検体とした。

LR-FFP は分離直後、保存 7 週間、1 年間、13 カ月後に融解して試験を行った。

本論文で使用した一般的な検査項目とその方法を Table 1 にまとめた。

大凝集塊は 7 週間保存した赤血球製剤について外部からの肉眼的な観察および輸血セット(径 207μm, 川澄化学工業社)に通して生理食塩液で洗浄した後、輸血フィルター内の残存物の重量を測

Table 2 Characteristics of Sepacell Integra MAP

	Sepacell Integra MAP	Control
Whole Blood		
Volume (mL)	478.4 ± 14.8	471.0 ± 21.9
Hematocrit (%)	40.7 ± 2.4	40.0 ± 2.4
Red cell (× 10 ¹² /bag)	2.01 ± 0.13	1.98 ± 0.23
Total leukocytes (× 10 ⁹ /bag)	2.91 ± 0.75	2.51 ± 0.99
Platelets (× 10 ⁹ /bag)	95.4 ± 20.9	84.1 ± 14.1
Leukocyte-poor whole blood		
Volume (mL)	441.8 ± 15.5	-
Hematocrit (%)	40.8 ± 2.4	-
Filtration time (min)	22.5 ± 4.0	-
Total leukocytes (× 10 ⁵ /bag)	1.8 ± 1.3	-
Leukocyte removal rate (- log)	4.3 ± 0.3	-
Red cell recovery rate (%)	91.6 ± 1.7	-
Platelet removal rate (%)	96.7 ± 5.3	-
Red cell concentrate	(LR-RCC)	(BCR-RCC)
Volume (mL)	305.9 ± 11.8	292.7 ± 20.3
Hematocrit (%)	57.0 ± 2.0	57.5 ± 2.3
Total leukocytes (× 10 ⁵ /bag)	0.9 ± 0.5	9,158 ± 4,744
Leukocyte removal rate (- log)	4.5 ± 0.2	0.5 ± 0.1
Red cell recovery rate (%)	89.1 ± 2.3	89.1 ± 2.2
Platelet removal rate (%)	98.9 ± 3.0	93.7 ± 3.7
Fresh plasma	(LR-FFP)	(FFP)
Volume (mL)	220.1 ± 15.5	222.4 ± 13.4
Total leukocytes (× 10 ⁵ /bag)	1.0 ± 0.8	190 ± 182

(n = Sepacell Integra MAP : 36, Control : 19)

(mean ± SD)

定した。

対照として、通常のバッグシステム(MAP 入り ACD 加 4 連バッグ)で 4,540g, 6 分間遠心した全血から、自動血液分離装置でパフィーコートを分離し、赤血球沈層に MAP 液を添加した MAP 加濃厚赤血球製剤 (buffy coat reduced RCC : BCR-RCC) および新鮮凍結血漿 (FFP) を調製して上記と同様に試験した。

(5) 統計処理

フィルター濾過前後の比較は paired t-test, 対照群との比較は unpaired t-test を用い、危険率 (P) 1% 未満を有意とした。

結 果

(1) セパセルインテグラ MAP の基本性能評価

セパセルインテグラ MAP でフィルター処理した全血および調製した血液製剤の基本性状を示した (Table 2)。

全血のフィルター濾過処理に要した時間は、22.5 ± 4.0 分 (n=36) であった。この濾過処理により 36.6 ± 4.6mL の容量の減少が認められたが、通常のバッグシステムにおいても、約 40mL のパフィーコートを除去しており、調製した LR-RCC および LR-FFP の容量は対照と比較して有意な差は認められなかった。また、LR-RCC は、BCR-RCC と比較してヘマトクリット値、ヘモグロビン値、赤血球回収率に有意な差は認められなかった。血小板除去率は LR-RCC が有意に高く、自動血球計数装置の検出限界に近い水準に達していた。

白血球の除去性能を Fig. 2 にまとめた。フィルター濾過後の全血および LR-RCC 中に混在する白血球数は全て 1 × 10⁶ 個/バッグ以下であった (n=30)。

このことから、セパセルインテグラ MAP を用いることで白血球、血小板が除去された血液製剤

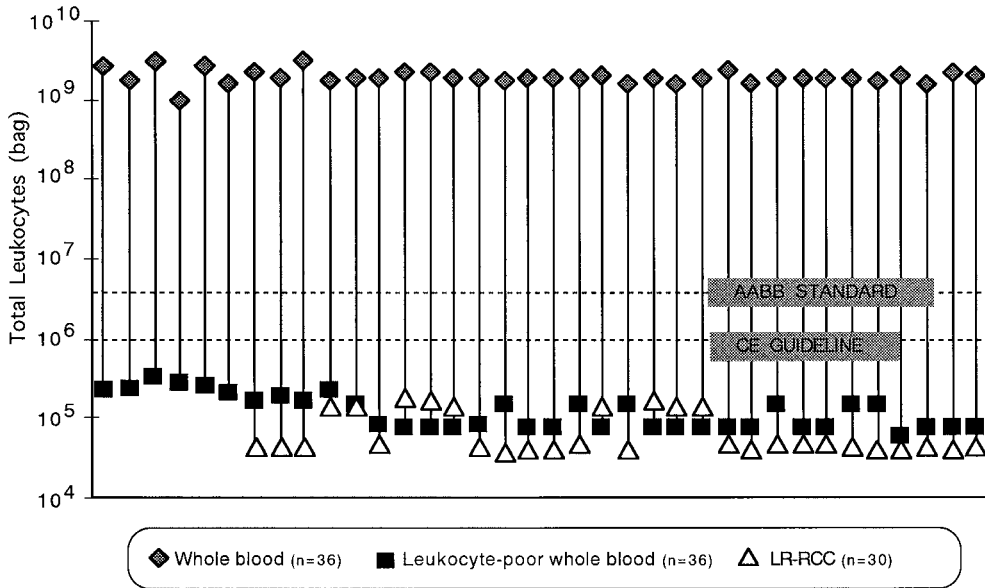


Fig. 2 Leukoreduction of whole blood by Sepacell Integra MAP

の調製が可能であり、赤血球製剤中の赤血球回収率も良好であることが確認された。

(2) 赤血球製剤の長期保存後の品質評価 (Table 3)

LR-RCC を長期間保存し、赤血球機能の変化を調べたが、検討した項目については対照製剤と同等であった (Table 3-1)。7週間保存した LR-RCC の無菌試験を実施したところ菌の発育はみられず、エンドトキシン試験の結果も対照群との間に有意差を認めなかった。

LR-RCC 上清の生化学的検査成績 (Table 3-2) では、アルブミン含量が対照群に比べてやや高い値を示したが、上清中 P, Na, K, Cl, Mg, Ca などの電解質および NH₃ やグルコースは対照製剤と同様の結果であった。保存における LDH の放出は LR-RCC の方が低下していた。

LR-RCC 上清中のサイトカイン濃度を測定したところ、IL-1β はほとんど検出されなかったのに対して、対照群では保存 1 週目から増加し 4 週目では有意な増加が認められた (Fig. 3)。IL-6 は両群とも保存中の変動は認められなかったが、IL-8 は保存 1 週目から対照群で有意な増加が認められた。

LR-RCC 上清中の微小凝集塊を測定したところ、BCR-RCC と比較して有意差は認められなかったものの、20~40μm の凝集塊の形成が抑制される傾向が認められた (Fig. 4)。

目視検査により大凝集塊の発生を調べたところ、BCR-RCC (11 例) の全例に認められたのに対して、LR-RCC (16 例) では全く認められなかった。さらに、輸血フィルターに捕捉された凝集塊の重量を測定した結果、LR-RCC では 49 ± 23mg と BCR-RCC の 921 ± 650mg に比べて約 20 分の 1 以下の値であった。

(3) 血漿製剤の長期保存後の品質評価

フィルター濾過後の血漿製剤を長期保存した場合の生化学的検査の成績を示した (Table 4)。対照群 (FFP) では保存中に LDH の増加が認められたが、フィルター群 (LR-FFP) では変化がみられなかった。C3a は両群に有意差は認められなかったが、LR-FFP では濾過後に 6 例中 2 例で高値を示したことにより、平均値が FFP に比べて高い値となった。pH および電解質は両群で有意差は認められなかった。

凝固・線溶系の検査成績を示した (Table 5)。測

Table 3-1 Red cell function during storage period-1

Storage period		Whole blood		Red cell concentrate			
		Pre-filtration	Post-filtration	0 day	1 week	3 weeks	7 weeks
pH	LR-RCC	6.89 ± 0.28	6.91 ± 0.30	7.01 ± 0.13	6.83 ± 0.07	6.71 ± 0.04	6.61 ± 0.07
	BCR-RCC	6.88 ± 0.29	-	7.01 ± 0.18	6.81 ± 0.07	6.67 ± 0.05	6.56 ± 0.03
ATP ($\mu\text{mol/gHb}$)	LR-RCC	3.6 ± 0.5	3.7 ± 0.4	3.3 ± 0.3	3.3 ± 0.2	2.8 ± 0.5	1.7 ± 0.5
	BCR-RCC	3.7 ± 0.3	-	3.4 ± 0.3	3.4 ± 0.4	3.0 ± 0.3	1.7 ± 0.3
2,3-DPG ($\mu\text{mol/gHb}$)	LR-RCC	11.1 ± 1.4	11.3 ± 1.6	10.2 ± 1.5	2.5 ± 1.7	0.1 ± 0.1	/
	BCR-RCC	11.4 ± 0.7	-	10.5 ± 0.9	1.8 ± 0.4	0.1 ± 0.0	/
Free hemoglobin (mg/dL)	LR-RCC	92.3 ± 4.3	91.9 ± 4.8	92.8 ± 4.1	91.8 ± 4.1	90.5 ± 4.3	89.5 ± 3.7
	BCR-RCC	93.7 ± 3.8	-	93.8 ± 3.5	93.0 ± 3.5	92.1 ± 3.6	91.2 ± 4.1
Osmotic fragility HW (mOsm/kg)	LR-RCC	41 ± 5	41 ± 5	42 ± 7	48 ± 3	50 ± 4	52 ± 3
	BCR-RCC	43 ± 5	-	41 ± 3	49 ± 3	50 ± 3	54 ± 3
Morphology score	LR-RCC	99.6 ± 0.5	99.4 ± 0.6	99.3 ± 0.6	/	74.9 ± 8.4	61.8 ± 10.3
	BCR-RCC	99.0 ± 1.6	-	98.3 ± 2.6	/	71.9 ± 4.8	60.5 ± 7.5
Sterility test	LR-RCC	/	/	Negative	/	/	Negative
	BCR-RCC	/	/	Negative	/	/	Negative
Endotoxin test (pg/mL)	LR-RCC	/	/	0.3 ± 0.8	/	/	0.9 ± 1.8
	BCR-RCC	/	/	1.3 ± 3.1	/	/	0.6 ± 0.9

LR-RCC : Leukocyte-reduced RCC, BCR-RCC : buffy coat reduced RCC

(mean ± SD, n = 6)

Table 3-2 Red cell function during storage period-2

Storage period		Whole blood	Red cell concentrate			
		Pre-filtration	0 day	1 week	3 weeks	7 weeks
Total Protein (g/dL)	LR-RCC	6.1 ± 0.3	1.1 ± 0.2	/	/	/
	BCR-RCC	6.1 ± 0.2	0.8 ± 0.1**	/	/	/
Albumin (g/dL)	LR-RCC	4.2 ± 0.1	0.7 ± 0.1	/	/	/
	BCR-RCC	4.1 ± 0.2	0.5 ± 0.1**	/	/	/
NH ₃ ($\mu\text{g/dL}$)	LR-RCC	102 ± 10	68 ± 11	201 ± 18	556 ± 61	1,297 ± 249
	BCR-RCC	102 ± 15	68 ± 7	211 ± 19	618 ± 71	1,454 ± 301
P (mg/dL)	LR-RCC	2.8 ± 0.3	12.5 ± 1.1	13.5 ± 0.4	15.3 ± 0.6	19.0 ± 1.2
	BCR-RCC	2.7 ± 0.4	13.1 ± 0.9	13.9 ± 0.6	15.9 ± 0.3	20.2 ± 0.8
Glucose (mg/dL)	LR-RCC	398 ± 17	505 ± 30	458 ± 58	418 ± 6	322 ± 17
	BCR-RCC	378 ± 14	502 ± 10	455 ± 17	384 ± 24	285 ± 28
Na (mEq/L)	LR-RCC	161 ± 2	119 ± 2	107 ± 2	94 ± 3	83 ± 2
	BCR-RCC	161 ± 2	115 ± 1	105 ± 2	94 ± 1	80 ± 1
K (mEq/L)	LR-RCC	3.8 ± 0.3	1.3 ± 0.2	18.4 ± 2.8	36.7 ± 3.7	53.4 ± 4.4
	BCR-RCC	3.6 ± 0.3	1.2 ± 0.2	19.0 ± 1.3	37.8 ± 1.8	56.7 ± 1.1
LDH (IU/L)	LR-RCC	232 ± 29	57 ± 14	71 ± 11	90 ± 20	218 ± 87
	BCR-RCC	278 ± 58	53 ± 7	500 ± 224**	761 ± 259**	1,152 ± 213**

LR-RCC : Leukocyte-reduced RCC, BCR-RCC : buffy coat reduced RC (mean ± SD, n = 6)

**p < 0.01

定した各項目については、両群とも13カ月間の保存中に大きな変動は認められなかった。

考 察

保存前白血球除去は、輸血用の血液を採取直後

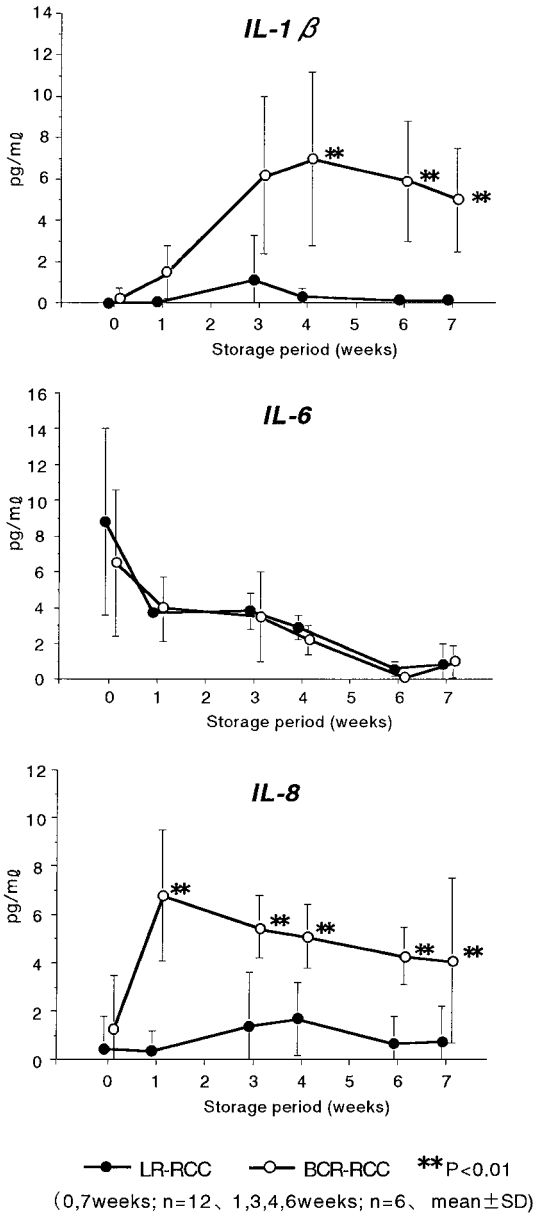


Fig. 3 Generation of cytokines in LR-RCC during storage

あるいは成分分離調製した後、保存工程に入る前にフィルターによって白血球を除くことにより、保存中の変化を抑制して副作用予防をはかるものである⁵⁾¹¹⁾。その有効性については多くの報告があり^{12)~14)}、我々も以前から、保存前白血球除去可

能な採血バッグシステムの開発を進めてきた⁷⁾¹⁵⁾。今回、開発したセパセルインテグラ MAP には新鮮全血用に設計した新型のフィルターを使用している。このフィルターの白血球除去能の評価として製剤中の残存白血球数を検討したところ、今回用いた測定法(ナジェット法)の検出限界以下のものがほとんどであった。本検討で使用したような新規高性能フィルターの評価を行う場合には、試料を遠心濃縮し計測する方法^{16)~18)}など、さらに高感度な方法を用いることが必要であると考えられた。

LR-RCC と BCR-RCC の赤血球機能は、ほぼ同等であったが、保存後の LR-RCC は LDH が著明に低下していた。これは、LDH を放出する白血球および血小板が除去されたことに起因すると思われる。また、総タンパクおよびアルブミン含量が対照群に比べてやや高い値を示したが、これは、赤血球製剤中に残存する血漿量の違いによるものと推定された。

輸血副作用で最も頻度の高い NHFTR の一部は、白血球が保存中に放出するヒスタミンやサイトカインの蓄積により誘発されることがわかってきた。Hedde ら¹⁹⁾は輸血後の急性反応と赤血球製剤の保存期間に相関があることを報告しており、Shanwell ら²⁰⁾は赤血球製剤の保存中のサイトカインの産生は、保存前の白血球除去によって防止できるとしている。今回、IL-1β、IL-6、IL-8 の保存中の変化を測定したところ、通常の BCR-RCC では IL-1β、IL-8 の増加がみられたが、LR-RCC ではそれらの産生が認められなかった。本検討において検出されたサイトカイン濃度は低値ではあるが、種々のサイトカインの相互作用や輸血を受ける患者の感受性の違いによって NHFTR を引き起こす可能性も否定できない。

白血球が保存中の輸血用血液に対して様々な悪影響を及ぼすことは古くから知られている。その一つとしては、微小凝集塊の発生があり、肺毛細血管に肺血栓を惹起したり、肺機能不全をきたす恐れがあることが報告されている²¹⁾。今回我々は、20~40μm および 40~120μm の微小凝集塊を測定した。興味深いのは、LR-RCC は BCR-RCC

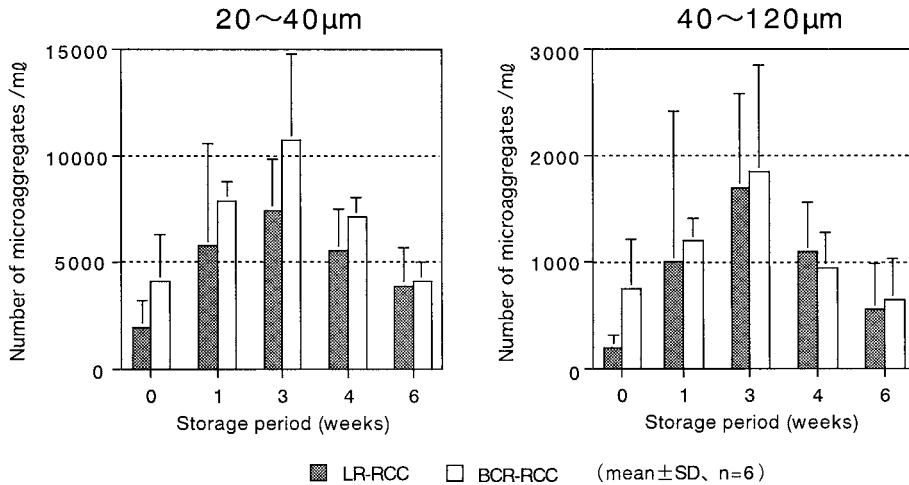


Fig. 4 Microaggregates in LR-RCC

に比べ、特に 20~40µm の微小凝集塊が少ないことである。微小凝集塊除去フィルターには、一定の流速が得られ血球成分の trap や破壊が起こりづらい 40µm のポアサイズのポリエステル製フィルターがよく用いられている²²⁾。このことから、LR-RCC は微小凝集塊除去フィルターを通過すると思われる微小凝集塊の産生が少なく、輸血副作用の軽減が期待される。

また、長期間保存した BCR-RCC では、大凝集塊が生じやすく、これにより輸血時に輸血フィルターの目詰まりを起こすことが指摘されている。大凝集塊は、保存中に細胞が崩壊した結果、少量残存する血漿の凝固系が活性化され、フィブリン形成が進むものと考えられている⁴⁾。この現象は BCR-RCC に特徴的に見られ、防止策としては、白血球の効率的な除去が有効とされている²³⁾。LR-RCC では、白血球および血小板が除去されていることにより、保存中に大凝集塊の形成が認められなかった。これらのことから、LR-RCC は保存中の凝集塊の形成を抑制するのに効果的であり、製剤の品質向上・安定化に寄与できるものと考えられる。

また、藤井ら²⁴⁾や奥山ら²⁵⁾はセパセルインテグラ MAP で採血・調製した保存前白血球除去血液を自己血輸血の症例に使用して臨床上的副作用を認めなかったとしており、近年急速に増加している

自己血を液状で長期間保存する症例についても、本システムが十分に適応可能であることを示している。

一方、血漿製剤については、フィルターの濾過作業により凝固因子活性の低下や血漿中の電解質に変化が起こることも考えられるが、1年以上保存した LR-FFP においても、そのような品質の変化は認められなかった。一部の検体においては、濾過後に補体の活性化がみられたが、これは des-arginine form となっているためアナフィラトキシンとして実害はないとされている²⁶⁾。しかし、本システムの補体に関する臨床的な影響については今後さらに検討が必要と考える。

最近、FFP 中にも白血球の生細胞が存在するため同種免疫について注意が必要との報告がある^{27)~29)}。また Nielsen ら³⁰⁾は保存前白血球除去することで、FFP 中に含まれる白血球や血小板に由来する生理活性物質の上昇を認めなかったとしている。今後、血漿製剤中の白血球混入についても考慮する必要性が生じた場合、一度に白血球除去した赤血球製剤と血漿製剤を調製可能な手段が必要となるであろう。その場合、全血状態での保存前白血球除去が可能なシステムの有用性がさらに高まるものと思われ、その手段として第 4 世代の白血球除去フィルターを組み込んだセパセルイン

Table 4 Characteristics of Sepacell FFP during storage

Measurement		Storage period		0 day	7 weeks	13 months
		Whole blood	Pre-filtration			
pH	LR-FFP	6.89 ± 0.25		7.20 ± 0.13	7.15 ± 0.05	7.32 ± 0.07
	FFP	6.88 ± 0.26		7.18 ± 0.10	7.19 ± 0.06	7.13 ± 0.10
Albumin (g/dL)	LR-FFP	4.2 ± 0.1		4.2 ± 0.1	4.2 ± 0.2	4.0 ± 0.1
	FFP	4.1 ± 0.2		4.1 ± 0.3	4.2 ± 0.3	4.0 ± 0.2
NH ₃ (μg/dL)	LR-FFP	102 ± 10		92 ± 14	96 ± 12	107 ± 18
	FFP	102 ± 15		84 ± 13	117 ± 13	127 ± 23
P (mg/dL)	LR-FFP	2.8 ± 0.3		2.7 ± 0.3	2.7 ± 0.4	2.7 ± 0.3
	FFP	2.7 ± 0.4		2.6 ± 0.4	2.6 ± 0.4	2.6 ± 0.4
Glucose (mg/dL)	LR-FFP	398 ± 17		399 ± 18	396 ± 24	403 ± 21
	FFP	378 ± 14		382 ± 14	381 ± 11	385 ± 13
Na (mEq/L)	LR-FFP	161 ± 2		160 ± 2	162 ± 4	161 ± 2
	FFP	161 ± 2		161 ± 2	162 ± 4	160 ± 2
K (mEq/L)	LR-FFP	3.8 ± 0.3		3.8 ± 0.3	4.0 ± 0.4	3.8 ± 0.2
	FFP	3.6 ± 0.3		3.6 ± 0.3	3.8 ± 0.3	3.6 ± 0.2
Cl (mEq/L)	LR-FFP	77 ± 3		76 ± 2	75 ± 4	74 ± 2
	FFP	76 ± 2		76 ± 2	77 ± 2	75 ± 1
Mg (mg/dL)	LR-FFP	1.9 ± 0.2		2.0 ± 0.1	1.9 ± 0.1	1.8 ± 0.2
	FFP	2.0 ± 0.3		1.9 ± 0.3	2.0 ± 0.1	1.8 ± 0.2
Ca (mg/dL)	LR-FFP	7.5 ± 0.2		7.5 ± 0.3	7.7 ± 0.5	7.6 ± 0.2
	FFP	7.5 ± 0.3		7.4 ± 0.3	7.7 ± 0.3	7.5 ± 0.1
Lactate (mmol/L)	LR-FFP	16 ± 6		16 ± 6	17 ± 6	15 ± 6
	FFP	14 ± 2		14 ± 2	14 ± 2	13 ± 2
LDH (IU/L)	LR-FFP	232 ± 29		224 ± 29	222 ± 25	224 ± 29
	FFP	278 ± 58		267 ± 58	314 ± 57**	328 ± 61**
C3a (ng/mL)	LR-FFP	270 ± 89		955 ± 1,063	909 ± 813	1,091 ± 1,151
	FFP	153 ± 40		171 ± 69	270 ± 98	222 ± 95
Sterility test	LR-FFP			Negative	Negative	Negative
	FFP			Negative	Negative	Negative
Endotoxin test (pg/mL)	LR-FFP			0.5 ± 1.2	1.8 ± 2.4	5.8 ± 1.5
	FFP			0.3 ± 0.8	8.3 ± 17.6	7.4 ± 2.0

LR-FFP : Leukocyte-reduced FFP, FFP : Fresh frozen plasma (mean ± SD, n = 6)

**p < 0.01

テグラ MAP は有望と思われる。

この他に、保存前白血球除去の利点として血液センターで品質管理が行える点が挙げられる。血液センターと大学病院でそれぞれ白血球除去製剤を調製し、白血球除去率を比較した興味深い研究がある³¹⁾。結果は血液センターでは全て基準内であったのに対して、大学病院では濾過が不十分であったケースが認められたとしている。現在、幅広く行われているベッドサイドでの白血球除去

は、濾過速度や温度など品質に関わる条件のコントロールが難しく、さらに急速大量輸血に十分対応できないなどの問題点がある。これに対し輸血用血液製剤の白血球除去を血液センターで行うことで、品質管理された製剤を調製することができ、このことは、輸血医療へ大きく貢献するものと考えられる。

また現在、血液センターで調製している白血球除去赤血球製剤は受注予約製剤で有効期間が調製

Table 5 Coagulation activity of Sepacell FFP during storage

Measurement		Storage period		
		0 day	7 weeks	13 months
Fibrinogen (mg/dL)	LR-FFP	233 ± 17	244 ± 27	244 ± 27
	FFP	227 ± 20	239 ± 26	254 ± 26
Factor V (%)	LR-FFP	93 ± 37	79 ± 19	93 ± 30
	FFP	97 ± 20	82 ± 22	95 ± 28
Factor VIII (%)	LR-FFP	77 ± 39	75 ± 26	54 ± 27
	FFP	85 ± 18	61 ± 21	59 ± 31
von Willebrand (%)	LR-FFP	98 ± 15	/	103 ± 23
	FFP	103 ± 15		112 ± 0
PT (sec)	LR-FFP	13.4 ± 0.7	13.3 ± 0.8	15.7 ± 0.7
	FFP	13.4 ± 0.6	13.2 ± 0.4	15.0 ± 0.5
APTT (sec)	LR-FFP	38.5 ± 3.6	40.1 ± 4.0	43.0 ± 3.4
	FFP	39.3 ± 4.2	41.1 ± 4.7	44.6 ± 3.6
Antithrombin III (%)	LR-FFP	119 ± 16	/	106 ± 12
	FFP	116 ± 11		100 ± 9
Plasminogen (%)	LR-FFP	111 ± 14	/	106 ± 11
	FFP	106 ± 6		100 ± 6
Fibrinopeptide A (ng/mL)	LR-FFP	3.3 ± 3.1	/	1.9 ± 1.5
	FFP	2.2 ± 1.1		1.9 ± 0.9

LR-FFP : Leukocyte-reduced FFP, FFP : Fresh frozen plasma (mean ± SD, n = 6)

後 24 時間であることは周知のとおりである。セパセルインテグラ MAP は、採血から血液製剤の調製までを無菌的に行えることから、現行の白血球除去赤血球製剤の有効期間の延長が期待される。

文 献

- 1) Sirchia, G., Wenz, B., Rebullia, P., et al. : Removal of white cells from red cells by transfusion through a new filter. *Transfusion*, 30 : 30-33, 1990.
- 2) Arend, P. and Malchow, H. : Antigenic alteration of red cells surfaces exposed to enzymatic actions of autologous polymorphonuclear leukocytes. *Vox Sang*, 26 : 344-360, 1974.
- 3) 矢野眞紀, 岡田基文, 豊田 康, 他 : RC-MAP の微小凝集塊について構成成分の検討. *日輸血会誌*, 42 : 83-89, 1996.
- 4) 千葉清司, 漆原範子, 秋野光明, 他 : 赤血球 M・A・P における大凝集塊形成の機構と形成防止法. *日輸血会誌*, 40 : 625-634, 1994.
- 5) 比留間潔 : 輸血用血液の Prcstorage leucocyte depletion. *日輸血会誌*, 44 : 1-11, 1998.
- 6) Rapaille, A., Moore, G., Siquet, J., et al. : Prcstor-

age leukocyte reduction with in-line filtration of whole blood : evaluation of red cells and plasma storage. *Vox Sang*, 73 : 28-35, 1997.

- 7) 秋野光明, 瀬川紀美子, 新保雅之, 他 : 血液製剤調製に用いる全血処理型白血球除去フィルタークローズドシステムの開発とその性能評価. *薬理と臨床*, 8 : 119-140, 1998.
- 8) Madde, M., Naegelen, C., Pellegrini, N., et al. : Validation of a simple method to count very low white cell concentrations in filtered red cells or platelets. *Transfusion*, 32 : 565-571, 1992.
- 9) 山田輝雄, 吉永由香, 平山恵子, 他 : 3 波長吸光分析を用いた血漿ヘモグロビンの測定法, *医学検査*, 40 : 146-152, 1991.
- 10) Robert, T.U., Gerald, L.M., Fred, W. : Morphology of stored, rejuvenated human erythrocytes. *Vox Sang*, 28 : 176-183, 1975.
- 11) 関口定美 : Prestorage filtration. *医学のあゆみ*, 181 : 669-670, 1997.
- 12) Riggert, J., Schwartz, W.M., Wjeding, J.U. : Prestorage inline filtration of whole blood for obtaining white cell-reduced blood components. *Transfusion*, 37 : 1039-1043, 1997.
- 13) Jensen, L.S., Grunnet, N., et al. : Cost-

- effectiveness of blood transfusion and white cell reduction in elective colorectal surgery. *Transfusion*, 35 : 719-722, 1995.
- 14) Paul, I.T., Kala, M., Penny, A., et al. : Randomized trial comparing packed red cell blood transfusion with and without leukocyte depletion for gastrointestinal surgery. *The American Journal of Surgery*, 176 : 462-466, 1998.
- 15) 高橋恒夫, 岡慎一郎, 西村隆雄, 他 : 白血球除去フィルター R-S350 の評価とそのクローズドシステム化. *日輸血会誌*, 38 : 401-407, 1992.
- 16) Masse, M., Naegelen, C., Pellegrini, N., et al. : Validation of a simple method to count very low white cell concentrations in filtered red cells or platelets. *Transfusion*, 32 : 565-571, 1992.
- 17) Szufiad, P., Dzik, W.H. : A general method concentrating blood samples in preparation for counting very low numbers of white cells. *Transfusion*, 37 : 277-283, 1997.
- 18) Prati, D., Brandwein, H., Capelli C, et al. : Multi-center evaluation of the 3% PFA method for white cell counting in leukocyte-reduced red blood cells. *Vox Sang*, 70 : 241-245, 1996.
- 19) Heddle, N.M., Klama, L.M., Giffith, L., et al. : A prospective study to identify the risk factors associated with acute reactions to platelet and red cell transfusions. *Transfusion*, 33 : 794-797, 1993.
- 20) Shanwell, A., Kristiansson, M., Remberger, M., et al. : Generation of cytokines in red cell concentrates during storage is prevented by prestorage white cell reduction. *Transfusion*, 37 : 678-684, 1997.
- 21) Ramanathan, R.K., Darrell, J.T., Theodore, F.L. : Transfusion-related acute lung injury following random donor platelet transfusion. *Vox Sang*, 73 : 43-45, 1997.
- 22) 奥秋 晟, 藤井真行 : Microaggregate の形成とその対策. *外科 Mook*, 13 : 121-127, 1980.
- 23) 関口定美, 千葉真彰 : 新しい輸血用血液製剤とその特徴. *日本医事新報*, 3628 : 11-14, 1993.
- 24) 藤井寿一, 岡本好雄, 今野マユミ, 他 : 循環器外科領域における自己血の保存前白血球除去の有効性と安全性. *日輸血会誌*, 45 : 239, 1999.
- 25) 奥山美樹, 比留間潔, 中山 伸, 他 : 自己血における保存前白血球除去の有用性. *日輸血会誌*, 45 : 240, 1999.
- 26) 合谷信行, 阿岸鉄三, 他 : 自己血輸血とプラズマフェレーシス, 編集 阿岸鉄三, 血漿浄化療法, 医学書院, 東京, 1996, 319-322.
- 27) Willis, J.I., Lown, J.A.G., Simpson, M.C., et al. : White cells in fresh-frozen plasma : evaluation of new white cell-reduction filter. *Transfusion*, 38 : 645-649, 1998.
- 28) Ohto, H., Yasuda, H., Yokota, M., et al. : Alloimmunization by the transfusion of fresh frozen plasma. *Transfusion*, 39 (sup.): 98-99, 1999.
- 29) 比留間潔, 大内香枝, 金子幸子, 他 : 新鮮凍結血漿中の残存白血球に起因する同種免疫原性. *日輸血会誌*, 44 : 221, 1998.
- 30) Nielsen, H.J., Skov, F., Dybkjaer, et al. : Leucocyte and platelet-derived bioactive substances in stored blood : effect of prestorage leucocyte filtration. *European J. hematology*, 58 : 273-278, 1997.
- 31) Sprog ̄e-Jakobsen, U., Saetre, A.M. and Georgsen, J. : Preparation of white cell-reduced red cells by filtration : comparison of a bedside filter and two blood bank filter systems. *Transfusion*, 35 : 421-426, 1995.