

報 告

洗浄血小板による輸血副作用の防止

麻田真由美<sup>1)</sup> 菅野知恵美<sup>1)</sup> 川本 佳代<sup>1)</sup> 伊藤 志保<sup>1)</sup>  
峯 佳子<sup>1)</sup> 藤田 往子<sup>1)</sup> 金光 靖<sup>1)</sup> 芦田 隆司<sup>2)</sup>  
椿 和央<sup>3)</sup> 金丸 昭久<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>近畿大学医学部附属病院輸血部

<sup>2)</sup>同 第三内科

<sup>3)</sup>近畿大学医学部奈良病院血液内科

(平成13年6月21日受付)

(平成13年11月20日受理)

DECREASE IN ADVERSE EFFECTS WITH BLOOD TRANSFUSION OF  
WASHED PLATELET CONCENTRATES

Mayumi Asada<sup>1)</sup>, Chiemi Sugano<sup>1)</sup>, Kayo Kawamoto<sup>1)</sup>, Shiho Ito<sup>1)</sup>, Yoshiko Mine<sup>1)</sup>, Michiko Fujita<sup>1)</sup>,  
Yasushi Kanemitsu<sup>1)</sup>, Takashi Ashida<sup>2)</sup>, Kazuo Tsubaki<sup>3)</sup> and Akihisa Kanamaru<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Division of Blood Transfusion, Kinki University Hospital

<sup>2)</sup>Third Department of Internal Medicine, Kinki University School of Medicine

<sup>3)</sup>Division of Hematology, Department of Internal Medicine,  
Nara Hospital, Kinki University School of Medicine

Most non-hemolytic transfusion reactions (NHTR) following transfusion of authentic platelet concentrates (PC) into patients were allergic symptoms such as rash, itching and urticaria. To prevent these adverse effects, plasma of PC was removed by centrifugation, and then pelleted platelets were resuspended in either saline solution including ACD-A solution or in modified Seto solution (MSS), which includes the acetate Ringer solution with glucose, sodium hydrogen carbonate, ACD-A, and water for injection. PH of MSS was 6.62. We compared aggregation responses to ADP plus collagen of washed platelets, which had been resuspended with continuous agitation immediately or 30 min after the addition of the MSS additive solution. The aggregation responses of 72-hr-old platelets were maintained when plasma-depleted platelets were resuspended with MSS after the 30-min rest period. The average CCI of transfused platelets in MSS was 7576 at one day after.

Mean incidence rates of adverse reactions by transfusion of washed PC were dramatically decreased from 50.4% to 2.2% in 71 patients compared to rates with the authentic PC. The present data indicate that platelets washed with MSS are a useful alternative in decreasing allergic NHTR in patients.

**Key words** : modified Seto solution (MSS) plasma-removed platelet concentrates, non-hemolytic transfusion reaction (NHTR)

はじめに

血小板製剤は他の血液製剤と比べて非溶血性輸血副作用の出現頻度が高いとされている<sup>1)</sup>。血小

板製剤における非溶血性輸血副作用には、発熱、蕁麻疹、アナフィラキシー・ショックなどがある。発熱反応の多くは抗白血球抗体に起因すると考え

られており<sup>2)</sup>、白血球除去フィルターを用いて血液製剤中の白血球を除去することによって、発熱の出現頻度は低下している。一方、蕁麻疹や痒み、あるいは重篤なアナフィラキシー・ショックの原因として血漿蛋白成分の関与が考えられている。今回、血漿成分を除去後、洗浄置換液を注入し血小板を再浮遊させた洗浄血小板を調製し、洗浄血小板による輸血副作用の防止効果について検討した。また、洗浄置換液、処理方法さらに処理前後の血小板凝集能の比較および血小板輸注効果も併せて検討した。

### 対象および方法

#### 1. 対象

対象期間は1992年4月～2000年12月で、血小板輸血によって、頻回に蕁麻疹などのアレルギー症状が出現し薬剤で防止できない、全身膨隆疹、気道浮腫、あるいは血圧低下、呼吸困難などの重篤な副作用が出現した患者71名を洗浄血小板使用の対象とした。洗浄血小板製剤の使用を開始する前5回までの輸血副作用と、使用開始後の輸血副作用の出現率とを比較した。

#### 2. 輸血副作用の調査

輸血時に、医師または看護婦が副作用の有無を観察し、血液払出伝票に添付された副作用報告書に記入後、回収したものを集計して副作用の出現率を算出した。回収率は100%であった。

#### 3. 洗浄置換液

1992年4月～1995年6月までは、生理食塩液に1/20量のACD-A液を加えたもの(ACD-S)を洗浄置換液とした。1995年7月から清水らの処方<sup>3)</sup>に基づき、ブドウ糖加アセートリンゲル液(ヴィーンD:日研化学)200ml、7%炭酸水素ナトリウム(メイロン:大塚製薬)16ml、ACD-A液(テルモ)60ml、注射用蒸留水(日本薬局)200mlを調合してセト液の性状と類似した洗浄置換液(以下Modified-Seto-Solution:MSS)を調製した。それぞれ室温保存し、調製後6時間以内に使用した。

#### 4. 方法

血液センターから供給された血小板製剤に、1/10量のACD-A液を加え、冷却遠心機で24

1,600G、10分間遠心後、分離スタンドで挟み上清を除去した。次にチューブシーラーでシールし、接続した操作アダプターから洗浄置換液を注入して再浮遊させ、総容量150mlの洗浄血小板を調製した。1992年4月～1997年11月まではただちに水平振盪して血小板の再浮遊を行った。1997年12月からは洗浄置換液を注入し室温で30分間静置した後、30分間水平緩振盪保存して血小板を再浮遊させた。調製後の洗浄血小板製剤は供給直前まで20～24で振盪保存し、6時間以内に使用した。

#### 5. 血小板機能検査と輸注効果

洗浄血小板製剤中の血小板凝集能、血漿蛋白の除去率および血小板回収率を調べた。

血小板凝集能は洗浄血小板から得たサンプルの上清を除去し、同型の血漿で血小板濃度を30万/ $\mu$ lに調製した後、1.0 $\mu$ g/mlコラーゲンと5 $\mu$ M adenine diphosphate(ADP)の同時添加による血小板凝集能をヘマトレーサー801(二光バイオサイエンス株式会社)で測定した。蛋白除去率と血小板回収率は調製前後の製剤中の濃度と容量から算出した。洗浄血小板、未処理血小板輸注24時間後の補正血小板増加数(CCI: $\times 10^4$ )を血小板絶対数より算出し、比較した。

#### 6. 統計処理

有意差検定はstudentのt-testにより行い、 $p < 0.05$ の場合を統計的有意とした。

### 結 果

#### 1. 当院における輸血副作用出現率

1998年3月から2000年12月までの全血液製剤の副作用出現率は21,040件中1,100件(5.2%)であった。内訳は、製剤別では濃厚血小板が7.3%で最も多かった。血小板製剤による副作用の中では蕁麻疹の出現率が5.6%と最も高く、血圧低下は0.1%、ショックは0.03%に認められた(Table 1)。

#### 2. 洗浄置換液による影響

洗浄血小板製剤の性状を洗浄置換液として用いたACD-SとMSSに分けて比較した(Table 2)。

洗浄置換液のpHはACD-Sの方が酸性傾向にあり有意差が認められた( $p < 0.01$ )。

Table 1 Incidence of adverse effects according to transfused blood component type

Component type	Frequency of adverse effects( % )					
	Total( adverse effects/transfusions )	Fever	Urticaria	Hypotonia	Shock	Other
PC	7.3( 483/6,636 )	0.9	5.6	0.1	0.03	1.7
WPC	1.0( 10/1,028 )	0.1	0.9			0.2
WB	3.8( 7/184 )	1.6	2.1			0.2
MAP	3.5( 96/2,770 )	3.0	0.3	0.1	0.04	0.6
LF-MAP	1.8( 79/5,012 )	1.0	0.3	0.02	0.03	0.3
LPRC	1.1( 12/1,083 )	0.1	0.6			0.5
FFP	2.8( 120/4,327 )	1.4	1.2	0.1		0.3

PC : platelet concentrates WPC : washed platelet concentrates WB : whole blood MAP : RC-MAP

LF-MAP : leukocyte-filtered MAP LPRC : leukocyte-poor red cells FFP : fresh frozen plasma

Date were obtained from April 1998 to December 2000.

Table 2 Effects of different types of wash solution on platelet recovery, plasma removal rate, and pH of the solutions

	Wash solution	
	ACD-S	MSS
Platelets recovery( % )	84.1 ± 9.2 ( n = 8 )	83.7 ± 6.7 ( n = 35 )
Plasma removal( % )	96.8 ± 1.3 ( n = 8 )	94.2 ± 2.9 ( n = 21 )
Wash solution	4.87 ± 0.08( n = 8 )	6.62 ± 0.05( n = 8 )*

Date are the mean ± Standard Deviation( SD )

\* p : < 0.01

### 3. 血小板機能検査と輸注効果

MSS 注入後、ただちに再浮遊を行った場合と、室温で 30 分間静置し、30 分間水平振盪保存して血小板を再浮遊させた場合の処理前後の血小板凝集能を検討した( Table 3 ). いずれも、ランダムに血小板製剤を選び同一の条件で検討した. 採血後 48 時間の製剤では、直後振盪群と 30 分静置群の処理前の凝集能に有意差が認められるものの、いずれも血漿除去処理前後の比較では有意差は認められなかった. 一方、採血後 72 時間の製剤では、直後振盪群と 30 分静置群の処理前の凝集能に有意差は認められなかったが、血漿除去処理前後の比較では 30 分静置群では有意差は認められず、直後振盪群で凝集能は有意に低下した(  $p < 0.05$  ). MSS で置換した洗浄血小板および未処理の血小板輸血を施行した患者、各々 41 名の輸血 24 時間

後の CCI の平均値はそれぞれ  $7,576 \pm 7,926$ 、 $7,834 \pm 7,773$  で有意差は認められなかった(  $p > 0.05$  ).

### 4. 洗浄血小板輸血の副作用

洗浄血小板輸血を行った患者 71 名における洗浄血小板製剤使用前後の副作用出現率を比較すると、洗浄血小板を使用する前は血小板輸血の約半数( 50.4% )で出現したが、洗浄血小板を用いると 2.2% と有意に減少した(  $p < 0.05$  ). 蕁麻疹、搔痒感、呼吸困難がそれぞれ 40.3% から 1.7%、5.8% から 0.2%、4.3% から 0.01% に低下し、いずれも有意差が認められた(  $p < 0.01$  ). また、発熱も 6.1% から 0.5% へと有意な減少が認められた(  $p < 0.01$  )( Table 4 ). なお、用いた 2 種類の洗浄置換液による洗浄血小板使用後の副作用出現率に明らかな差は認められなかった.

### 考 察

血小板製剤中の血漿蛋白成分による輸血副作用を防止するために洗浄血小板を調製した.

洗浄血小板の調製は、1992 年 4 月 ~ 1995 年 6 月までは ACD-S を洗浄置換液として使用した. MSS と比較して洗浄血小板使用後の副作用出現率に有意差は認められなかった. しかし、MSS の pH が 6.6 であったのに対し、ACD-S の pH は 5.0 以下となり再浮遊後の血小板製剤の pH が低下する傾向があった. 血小板製剤の至適 pH は中性付近で、pH が酸性に傾くと輸血後の血小板の半減期、回収率が著しく低下し輸血効果に影響が出るとされている<sup>4)</sup>. われわれのデータでは、

Table 3 Comparison of aggregation activities of platelets resuspended with MSS immediately or 30 min after centrifugation

	Immediate group (n = 6)		30-Min group (n = 10)	
	Plasma PC	Washed PC	Plasma PC	Washed PC
48-hr-old-PC	85.7 ± 11.7	69.5 ± 32.5	57.6 ± 14.7 * <sup>1</sup>	57.7 ± 14.6
72-hr-old-PC	68.5 ± 13.8	44.0 ± 15.0 * <sup>2</sup>	58.3 ± 19.6	61.0 ± 22.7

Date are the mean ± SD.

PC stored for 48 or 72 hr at room temperature were centrifuged, and then the supernatant plasma was removed following the addition of MSS. The reconstituted PC were subjected to shaking immediately or 30 min after at a constant rate of 60 cycle/min.

Platelet aggregation responses were induced by 5 μM ADP plus 1.0 μg/ml collagen.

\* 1 : p < 0.05 (plasma PC of the immediate group vs. plasma PC of the 30-min-after group)

\* 2 : p < 0.05 (plasma PC vs. washed PC in the immediate group)

Table 4 Comparison of adverse effects following transfusion of Plasma PC with that of washed PC

	Frequency of adverse effects (%)	
	Plasma-PC	ACD-S or MSS-washed PC
Urticaria	40.3	1.7 *
Fever	6.1	0.5 *
Itching	5.8	0.2 *
Dyspnea	4.3	0.01 *
Hypotonia	1.8	0.01 *
Shock	1.1	0 *
Other	4.7	0.2 *

The frequency of the adverse effects was determined as follows : the numbers of adverse effects/278 plasma PC transfusions or 2070 washed PC transfusions × 100.

\* p : < 0.01

ACD-S と MSS の間で pH においての有意差が認められたため、血小板への影響を考慮して洗浄置換液を MSS に変更した。また、洗浄置換液注入後の血小板の再浮遊方法の違いによって処理後の凝集能に違いがみられた。洗浄置換液注入後、ただちに再浮遊を行った製剤では凝集能の低下が認められたため、室温で 30 分間静置後、30 分間水平振盪保存して血小板を再浮遊する方法に変更した。このように洗浄置換液の性質や処理方法、あるいは患者に輸血されるまでの保存方法によっても血小板製剤に影響があり、さらに血小板に与える損傷を最小限にする工夫が必要であると考えられた。MSS による血小板保存は血漿と同等の保存能

を有しており<sup>5)</sup>、吉田らは、血漿を除去してセト液に置換した血小板製剤を輸血した結果、セト液中血小板回収率、血小板生体内回収率が良好であり、輸血副作用および ABO 不適合血小板輸血時の溶血反応の防止に有効であったことを報告している<sup>6)</sup>。我々も、ABO 不適合 HLA 適合血小板使用時には、抗 A 抗 B 抗体除去の目的で洗浄血小板を調製している。しかし、今回の検討では洗浄処理による血小板の回収率は約 85% であった。血小板輸血不応状態の患者や HLA 適合血小板を使用する患者においては、洗浄血小板を使用する場合、処理による損失についても考慮する必要があり、回収率の向上のために処理条件を検討することが望まれた。血漿を除去した洗浄血小板を使用した結果、蕁麻疹、掻痒感などの血漿蛋白成分が影響していると思われるアレルギー性の副作用出現率は有意に低下した。また、同時に発熱も有意に減少した。発熱反応の原因の一部として、採血後、保存中に血小板製剤に含まれる単球、リンパ球などから放出される IL-1, IL-6, TNFα などサイトカインの関与が報告されており<sup>7)</sup>、血漿除去によってこれらのサイトカインが除去されることで発熱反応も軽減したと考えられた。近年、当院で重篤な副作用を認めた症例のうち、血液センターでの調査によって抗血漿蛋白抗体の存在が認められた例があった。今後血小板製剤による輸血副作用の原因を究明し、症例ごとに、実際に血漿除去が必要であるのか、また、除去率をさらにあげる必要

があるのかなどの検討を要すると考えられた。

### ま と め

重篤な副作用が出現した患者に洗浄血小板を使用した結果、副作用出現率は有意に減少した。特に蕁麻疹、掻痒感、呼吸困難などのアレルギー反応の防止に有効であった。

### 文 献

- 1) Heddle, N.M., et al. : A prospective study to identify the risk factors associated with acute reactions to platelet and red cell transfusion. *Transfusion*, 33 : 794 - 797, 1993.
  - 2) Brubaker, D.B. : Clinical significance of white cell antibodies in febrile non-hemolytic transfusion reactions. *Transfusion*, 30 : 733 - 737, 1993.
  - 3) 清水哲夫, 他 : 市販の輸液を調合した液にて洗浄した血小板の品質および臨床使用経験. *日輸血会誌*, 40 : 390, 1994.
  - 4) 清水哲夫 : 血小板保存法. *最新医学*, 48 : 997 - 1005, 1993.
  - 5) Shimizu, T., et al. : First autoclave-sterilized platelet-additive solution containing glucose with a physiological pH for the preparation of plasma-poor platelet concentrates. *Vox Sang.*, 62 : 87 - 93, 1992.
  - 6) 吉田久博, 他 : 血小板保存液“セト液”の臨床使用. *日輸血会誌*, 40 : 589 - 592, 1994.
  - 7) Heddle, N.M., et al. : The role of the plasma from platelet concentrates in transfusion reaction. *N. Engl. J. Med.*, 331 : 625, 1994.
-