

原 著

保存前白血球除去に用いる全血用白血球除去フィルター付き クローズドバッグシステムの性能評価

森山 哲¹⁾ 佐竹 正博¹⁾ 安永 礼子²⁾
湯浅 武史²⁾ 鈴木 康之³⁾ 石井 一成³⁾

¹⁾東京都赤十字血液センター

²⁾川澄化学工業株式会社

³⁾日本ポール株式会社

(平成 15 年 4 月 24 日受付)

(平成 15 年 9 月 8 日受理)

EVALUATION OF QUALITIES ON A CLOSED-BAG SYSTEM WITH WHOLE BLOOD LEUKOCYTE FILTER (WBF2) FOR PRE-STORAGE LEUKOREDUCTION

Satoshi Moriyama¹⁾, Masahiro Satake¹⁾, Reiko Yasunaga²⁾, Takeshi Yuasa²⁾,
Yasuyuki Suzuki³⁾ and Kazunari Ishii³⁾

¹⁾Tokyo Red Cross Blood Center

²⁾Kawasumi Laboratories, Inc.

³⁾Nihon Pall Ltd.

In order to avoid a wide variety of side effects associated with blood transfusion such as non-hemolytic febrile transfusion reactions (NHFTR), HLA-sensitization and Cytomegalovirus infection. Leukocyte filters have come into wide use in bedside blood transfusion in Japan. During the storage of blood components, however, residual leukocytes disintegrate and release various biologically active substances, which constitute one of the causes of transfusion-related adverse events. Therefore, removal of leukocytes immediately or at an early stage after blood collection is expected to decrease the incidence of transfusion-related side effects by controlling the deterioration of blood cells or preventing the accumulation of cytokines.

The WBF2 closed-bag system is a blood collection-component separation system designed for the removal of leukocytes from whole blood and the preparation of blood components by centrifugation. In the present study, we evaluated the usefulness of the system in the preparation of leukocyte-reduced RC-MAP and FFP using WBF2, and compared the quality of these preparations with those by conventional post-storage leukoreduction or non-leukoreduction. The WBF2 system yielded red cell components with superior red cell recovery and lower accumulation of some cytokines, demonstrating its suitability for use in a blood center program. It was also noted that there was almost no macroaggregation in red cell components prepared by prestorage leukoreduction.

Key words : pre-storage leukoreduction filter, blood transfusion, adverse events, cytokines

はじめに

血液製剤中の残存白血球は、非溶血性発熱反応 (NHFR)¹⁾、同種抗体産生²⁾、サイトメガロウィルス (CMV)³⁾の伝播などの輸血副作用の原因として考えられ、近年その輸血副作用の予防を目的に、ベッドサイドにおいて白血球除去フィルターが広く使われるようになった。

一方血液製剤中の白血球は、保存期間中に酵素を放出し⁴⁾、赤血球の溶血や血小板の凝集能低下などの細胞障害を引き起こすだけでなく、サイトカインなどの生理活性物質⁵⁾を産生して NHFR を引き起こすと考えられている^{5,6)}。さらにウィルスや細菌を貪食した白血球は早期に除去されなければ、死滅して血液製剤中に病原体が拡散する可能性が指摘されている^{5,7)}。また保存中のマクロアグリゲートの生成⁸⁾にも残存白血球の関与が考えられている。

これらの問題点を解決するために、採血後、保存前にあらかじめ白血球を除去する方法 (以下、保存前白血球除去) が考案され、日本国内でもその導入が検討されている。そこで我々は、従来の採血バッグシステムに全血用白血球除去フィルターを組み込んだ保存前白血球除去システムを用いて、その白血球除去性能と白血球除去製剤の品質を検討した。

評価はおもに次の3点を目的とした。

1. 保存前白血球除去システムによる白除 RC-

MAP、白除 FFP の調製方法の妥当性

2. 従来の非白除製剤との長期保存安定性の比較

3. 従来の保存後白血球除去製剤との同等性。

材料と方法

1. 供血者の選択

国内の献血の基準にしたがって、健康成人ボランティアの中から供血者を選んだ。供血者の年齢、体重、身長、血圧、血中ヘモグロビンについて各群間に有意の差は認められなかった (Table 1)。

2. 血液成分分離調製方法

(1) 保存前白血球除去システムによる白血球除去

用いた保存前白血球除去システムは、採血後に抗凝固剤を含む全血をろ過することにより全血中の白血球を除去 (以下、白除) し、その全血を遠心、分離して、人赤血球濃厚液 (以下、白除 RC-MAP) 及び新鮮凍結人血漿 (以下、白除 FFP) を調製保存するためのものである (Fig. 1)。

白除 RC-MAP と白除 FFP の調製方法

① WBF2 群 (採血当日にろ過、調製)

全血約 400mL を抗凝固剤 (ACD-A 液/60 mL) 入り採血バッグに採血後、十分に混和して常温 (23~25) の恒温槽内に保存した。2~3 時間後に全血用白血球除去フィルター (WBF2: 日本ポール社) により白血球を除去した。ろ過は 150 cm の自然落差とし、バイパスラインによるエ

Table 1 Characteristics of blood donors

	Blood storage before filtration and separation	n	Age (years)	Body weight (kg)	Height (cm)	Blood pressure (mmHg)		Hemoglobin (g/dL)
						Diastolic	systolic	
WBF2	room temp. (23 ~ 25)	8	35 ± 7 (27 ~ 49)	67 ± 9 (52 ~ 78)	171 ± 7 (160 ~ 181)	75 ± 14 (52 ~ 96)	114 ± 15 (96 ~ 136)	15 ± 1 (13.2 ~ 15.6)
n-WBF2	overnight (4 ~ 6)	8	35 ± 11 (22 ~ 56)	60 ± 6 (52 ~ 68)	167 ± 7 (160 ~ 183)	68 ± 10 (54 ~ 84)	110 ± 12 (96 ~ 126)	14 ± 1 (13.0 ~ 14.6)
Control	room temp. (23 ~ 25)	8	39 ± 10 (28 ~ 59)	64 ± 9 (50 ~ 74)	166 ± 6 (159 ~ 173)	72 ± 16 (48 ~ 96)	116 ± 19 (94 ~ 142)	14 ± 1 (12.4 ~ 15.3)
n-Control	overnight (4 ~ 6)	8	31 ± 6 (26 ~ 41)	62 ± 6 (55 ~ 70)	170 ± 5 (160 ~ 176)	60 ± 11 (48 ~ 82)	106 ± 7 (98 ~ 120)	14 ± 1 (13.4 ~ 16.2)
BPF4	1 week storage before filtration (4 ~ 6)	8	35 ± 9 (25 ~ 54)	68 ± 6 (60 ~ 75)	173 ± 7 (167 ~ 185)	67 ± 13 (48 ~ 88)	114 ± 9 (98 ~ 128)	15 ± 1 (13.6 ~ 15.1)

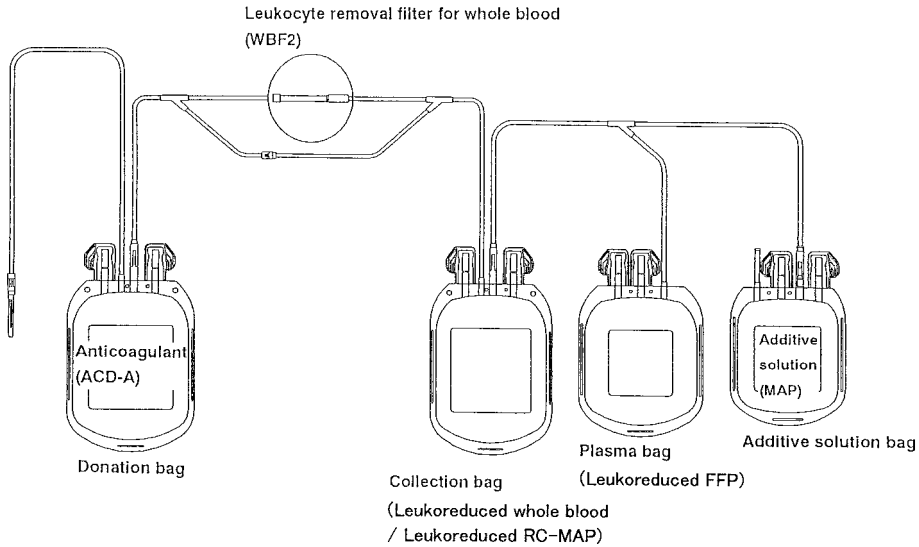


Fig. 1 Schematic representation of the WBF2 Closed-bag System (Prestorage Leukocyte Reduction System)

アー抜き及びフィルター内の製剤の回収を行った。白除全血を4~6で4,600×g, 6分間遠心した後, 自動血液分離装置 (KL-120: 川澄化学工業社) を用いて, 白除 RC-MAP と白除血漿に分離, 調製した。白除血漿は採血後6時間以内に凍結した。

② n-WBF2 群 (採血翌日にろ過, 調製)

WBF2 群と同様に採血後全血を恒温槽内に2~3時間常温保存した後, 4~6の恒温槽内に一昼夜保存した。翌日 (採血後24時間以内) WBF2 により白血球を除去し, WBF2 群と同様に白除 RC-MAP と白除血漿を調製した。白除血漿は採血後30時間以内に凍結した。

(2) 従来の採血バッグシステムによる非白除の RC-MAP と FFP の調製方法

① Control 群 (採血当日に調製)

従来の四連採血バッグシステム (カーミ A MAP 液: 川澄化学工業社) に採血した後, 現行法に従い, 血漿を分離しバフィーコート除去してフィルター非ろ過の RC-MAP 製剤を調製した。調製までの保存条件は WBF2 群と同じである。

② n-Control 群 (採血翌日に調製)

Control 群と同様にして n-WBF2 群に対する非

ろ過の対照製剤を調製した。調製までの保存条件は n-WBF2 群と同じで一昼夜保存する。

(3) 従来の保存後白除 RC-MAP の調製方法 (BPF4 群)

Control 群と同じ方法で RC-MAP を調製して4~6の恒温槽内に1週間保存した後, RC-MAP 用白血球除去フィルター BPF4 (日本ポール社) で白血球を除去した。なお赤血球回収率の比較用には, 生理的食塩水を用いた現行法で調製された日赤「白血球除去赤血球」を対照とし, 順序通り同等性を比較する際には, RC-MAP を直接白血球除去フィルター BPF4 に通し調製したものを対照とした。

3. 容量と性能の評価

ろ過前後の全血容量, 白除 RC-MAP 容量, 白除血漿容量は, 製剤重量を測定して容量換算した。容量への換算には, 全血製剤比重 1.055, RC-MAP 比重 1.063, 血漿比重 1.025 の値を用いた。微量白血球はフローサイトメトリー法で計測した (FACSCalibur: 日本ベクトン・ディキンソン社)。容量と血球数より, 白血球除去率, 赤血球回収率, 血小板除去率を算出した。

フィルター充填時間は, バッグから血液が流出

し始めてからフィルターより血液が流出してくるまでの時間とし、ろ過時間はRC-MAPバッグに血液が流入し始めてから、ろ過が終了するまでとした。

4. 測定

マクロアグリゲートは製剤をメッシュに通してメッシュに残ったものを目視で算定した。赤血球の溶血のし易さは浸透圧膜抵抗性試験(CPCコイル法)で評価した。モルフォロジスコアは通常法に即して判定した。その他の電解質、蛋白濃度、サイトカイン、凝固因子、酵素、補体等はスペシャルレファレンスラボラトリー(SRL社)で計測した。

各群のRC-MAPおよびFFPは、それぞれ小分けバッグに分割して保存し、以下のタイミングでサンプリングした。

(1) 長期保存安定性

- ① 人全血：ろ過前(調製前), ろ過後
- ② RC-MAP：保存0, 1, 3, 4, 6, 7週目
- ③ FFP：保存0, 7週目, 6, 12カ月目

(2) 同源性比較(BPF4群)

RC-MAP：ろ過前(保存1週目), ろ過後

5. 血液バッグの温度測定法

血液バッグ表面にペンシルタイプ温度計(CT-310:カスタム社)の先端を接触させ、その上から発泡スチロールで被い、温度が安定してから血液バッグの表面温度を測定した。

結 果

1. 血液容量の変化と回収率

WBF2群とn-WBF2群の間で、ろ過後の全血量、分離後調製されたRC-MAPの容量及びヘマトクリット値に有意差はなかった。フィルター処理後の赤血球回収率(RC-MAPにおける)は、WBF2群で平均92.1%, n-WBF2群で平均91.4%であった。白除RC-MAP中の総赤血球数は、WBF2群, n-WBF2群でそれぞれ平均 1.86×10^{12} /bag, 1.84×10^{12} /bagであり、ともにControl群, n-Control群を上回った。またWBF2群とn-WBF2群間でのろ過後全血中の残存白血球数には有意差はなかった(t検定)。一方、血漿容量はWBF2群がControl群より平均15.4mL少なく、逆にn-WBF

2群はn-Control群より平均12.7mL多かった(Table 2)。

2. フィルター性能(WBF2の性能)

フィルター処理時の血液バッグ温度は、WBF2群で 24.7 ± 0.4 , n-WBF2群で 14.2 ± 0.7 であった。n-WBF2群は低温室から室温の作業室に移動しる過処理されるまでの数分間に、血液バッグの表面温度が14 まで上昇した。ろ過時間はWBF2群で 5.97 ± 0.57 分, n-WBF2群で 7.86 ± 0.80 分と、一昼夜保存によりろ過時間が延長した。最終RC-MAP中の残存白血球数は、WBF2群で $9.88 \pm 4.89 \times 10^4$ /bag, n-WBF2群で $9.42 \pm 4.92 \times 10^4$ /bagであり、有意差は認められなかった(t検定)。一方, Control群, n-Control群では 7×10^8 /bagを上回っていた(Table 2)。フィルターによる血小板除去率は、ともに平均96%以上であった。

3. 長期保存安定性(Table 3, 4, 5)

輸血後赤血球の生体内寿命と酸素運搬能の指標としてATP, 2, 3-DPGを測定した。保存1週目に、WBF2群で2, 3-DPGが有意に高く, n-WBF2でATPが有意に高かった以外は、両者共に保存期間7週を通して同等の値を示した。また赤血球膜浸透圧抵抗(溶血開始点, 最大溶血点, 溶血幅), モルフォロジスコアにおいても保存期間全体を通してほぼ同等の結果が得られた。WBF2群, n-WBF2群では7週目に於いてもマクロアグリゲートの形成は認めなかったが, Control群, n-Control群では, 保存1週目から3週目以降に確認された。無菌試験とエンドトキシン試験は全て陰性であった(Table 3)。またC3a, 総酸性フォスファターゼ, ヒスタミン, 顆粒球エラスターゼ, LDH, IL-1 β , IL-6, IL-8は、いずれもWBF2群, n-WBF2群においてControl群, n-Control群と比較して有意に産生が抑制された。電解質は有意差のある項目が認められたものの、臨床上問題ないレベルと考えられる。また、その多くはこれまでに発表されたRC-MAP保存中の変化⁹⁾の範囲内であった(Table 4, Fig. 2, Fig. 3)。

FFPについては、WBF2群とn-WBF2群は、Control群, n-Control群と比べて総蛋白質, アルブミン, グルコース, カルシウムがフィルター処理

Table 2 Performance of the prestorage leukocyte reduction system

Parameter			Group	Room temperature (23 ~ 25)		Overnight storage (4 ~ 6)	
				WBF2 (n = 8)	Control (n = 8)	n-WBF2 (n = 8)	n-Control (n = 8)
Whole Blood	Pre-filtration	Volume (mL)		468.6 ± 5.3	464.5 ± 2.0	472.9 ± 1.4	467.6 ± 3.8
		Hematocrit (%)		38.2 ± 2.3	36.0 ± 1.5	37.8 ± 2.3	38.2 ± 2.1
		WBC Concentration (/uL)		3,942 ± 850	3,805 ± 833	3,738 ± 707	5,041 ± 1,987
		Total WBC Number (× 10 ⁹ /bag)		1.85 ± 0.39	1.77 ± 0.39	1.77 ± 0.34	2.36 ± 0.93
	Post-filtration	Volume (mL)		431.8 ± 5.2		436.8 ± 1.5	
		Hematocrit (%)		38.6 ± 2.6		38.0 ± 2.4	
		Filtration time (min)		5.97 ± 0.57		7.86 ± 0.80	
		WBC Concentration (/uL)		0.3 ± 0.16		0.37 ± 0.10	
		Total WBC count (× 10 ⁴ /bag)		12.8 ± 6.73		16.1 ± 4.31	
		WBC reduction rate (- log)		4.20 ± 0.18		4.05 ± 0.17	
		RBC recovery (%)		92.8 ± 1.8		92.4 ± 1.3	
		PLT reduction rate (%)		96.7 ± 1.23		96.7 ± 1.51	
		Blood temperature just before filtration ()		24.7 ± 0.4		14.2 ± 0.7	
	RC-MAP	Blood volume (mL)		298.5 ± 10.2	272.2 ± 10.0	302.5 ± 11.3	301.0 ± 12.3
Hematocrit (%)			55.1 ± 1.0	54.0 ± 1.2	54.2 ± 1.4	53.9 ± 1.9	
Total WBC count (× 10 ⁴ /bag)			9.88 ± 4.89	70,831 ± 30,168	9.42 ± 4.92	77,180 ± 21,498	
WBC reduction rate (- log)			4.31 ± 0.18	0.42 ± 0.17	4.32 ± 0.24	0.48 ± 0.09	
Total RBC count (× 10 ¹² /bag)			1.86 ± 0.11	1.67 ± 0.11	1.84 ± 0.13	1.78 ± 0.14	
Red Cell Recovery (%)			92.1 ± 1.9	88.6 ± 2.1	91.4 ± 2.1	91.3 ± 1.9	
Total PLT counts (× 10 ⁹ /bag)			3.69 ± 1.19	19.4 ± 18.7	3.46 ± 0.91	7.45 ± 1.23	
	PLT reduction rate (%)		96.3 ± 1.0	77.4 ± 24.2	96.4 ± 0.9	91.3 ± 2.1	
FFP	FFP volume (mL)		228.8 ± 13.2	244.2 ± 9.8	229.1 ± 12.0	216.4 ± 12.5	
	Total WBC count (× 10 ⁴ /bag)		< 1.14 ± 0.07	740 ± 369	< 1.15 ± 0.06	271 ± 95	

Data are shown as mean ± SD (n = 8, in each group)

以前から有意差を示していたために、保存中もそのまま有意差を示した。一方 WBF2 群では、ヒスタミン、総酸性フォスファターゼが白除直後より有意にその産生が抑制され、n-WBF2 群ではヒスタミン、セロトニン、総酸性フォスファターゼで有意な産生低下が認められた。またサイトカインについては、n-WBF2 群の一部で有意差を示したのみであった (Table 5)。

4. 同等性 (Table 6)

BPF4 のろ過時間は平均 7.19 ± 0.7 分であった。赤血球回収率はフィルター処理前の 83.8 ± 1.0% であった。残存白血球数は WBF2 群よりさらに有意に低値を示した (p < 0.01)。

BPF4 群では保存後一週間目の WBF2 群、n-WBF2 群と比べて、上清ヘモグロビン濃度や電解質濃度に差は認められなかったが、LDH は 1.5 倍、酸性フォスファターゼは 2 ~ 3 倍、顆粒球エラ

スターゼは 4 ~ 6 倍の高い値を示し、一部で有意差を認めた。

考 察

1. 白血球除去について

WBF2 は高い白血球除去性能を示し、ろ過後の RC-MAP 中の平均残存白血球数は 0.94 ~ 0.99 × 10⁵/bag であった。これにより WBF2 の白血球除去性能は、NHFR や同種抗体産生などの輸血副作用を防止する上で安全とされる残存白血球数 1 ~ 5 × 10⁶/bag 以下^{10,11)}を十分満足することが確認された。

また現行の FFP 中に残存する 10⁶/bag 以上の白血球は、同種免疫原となりうることが示唆されている¹²⁾が、今回の検討で WBF2 ろ過後に分離調製された FFP 中の残存白血球濃度は、全て検出限界未満 (< 0.05/μL : フローサイトメトリーを使用)、総白血球数は平均 1.15 × 10⁴/bag 未満であ

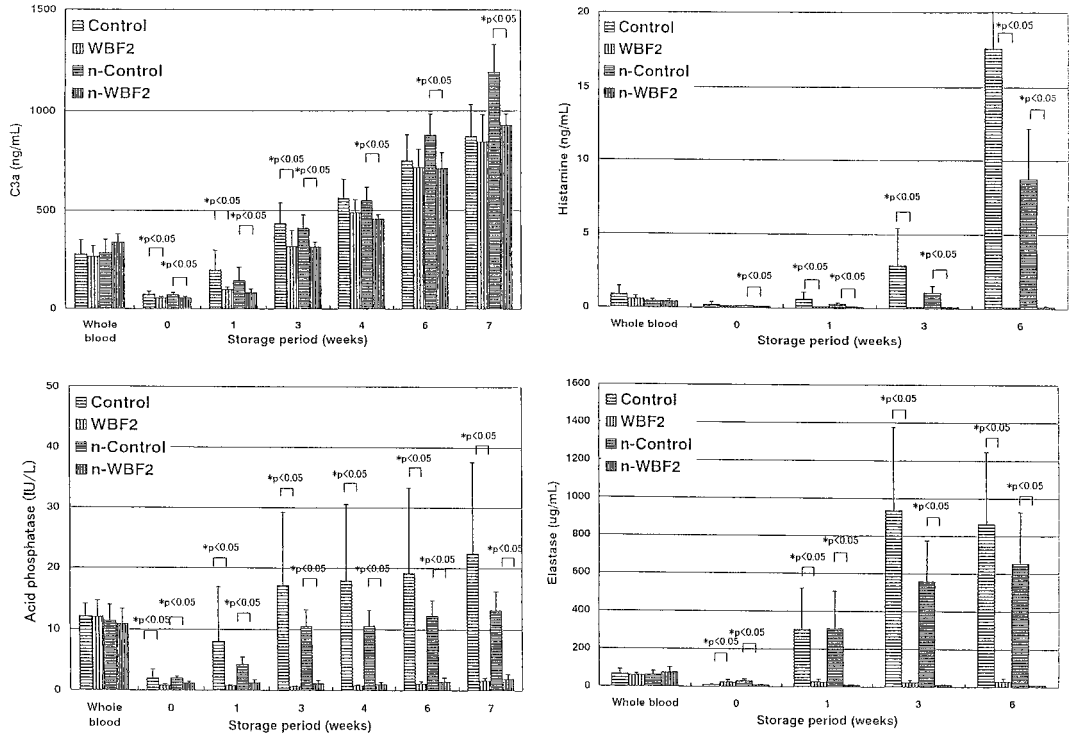


Fig. 2 Chemical mediator levels during storage ; concentrations of C3a, histamine, acid phosphatase and elastase in the prepared red cell concentrates are shown.

り、同種免疫の予防が可能レベルであった。

今回の検討では、ろ過後のRC-MAPにおいてBPF4群がWBF2群より高い白血球除去性能を示した (Table 2)。しかしWBF2の残存白血球数は、AABBとCOEスタンダードにおける規定から考えても十分に実用に耐え得る性能であることが確認された。

2. 保存中の生理活性物質の蓄積及び保存障害

WBF2群において、C3a、ヒスタミン、酸性フォスファターゼ、顆粒球エラスターゼの産生が抑制されることがわかった。特に補体フラグメントC3aはアナフィラトキシンとして肥満細胞や好塩基球からヒスタミンを放出させ、血管透過性の亢進や平滑筋の収縮を引き起こしてアナフィラキシー様反応を惹起する⁶⁾ため、保存前白血球除去により、保存中のC3aの産生を抑制できたことは、これらの輸血副作用の防止に寄与できるものと考えられる。

サイトカインについては、特に非溶血性発熱反応 (NHFT)との関連性が指摘されている^{5, 8)}。今回の検討でRC-MAP中のIL-1 β 、IL-8はControl群で保存中に濃度が上昇する傾向にあり、特に保存3週目で降有意に高値を示した。しかしながら、この絶対量の差がどの程度臨床効果に結びつくかについては、今後の臨床での調査、研究が必要である。

RC-MAP保存中に発生するマクロアグリゲートは、フィルターや回路の目詰まりの原因ともなっているが、今回の検討では保存前白血球除去群にはマクロアグリゲートの発生は認められず、保存前白血球除去が製剤の品質を向上させることが確認された。

3. 赤血球と血漿の回収率について

現在血液センターが供給している白血球除去赤血球製剤は、RC-MAPを生理食塩液で希釈後に白血球除去フィルターでろ過することで、ろ過時間

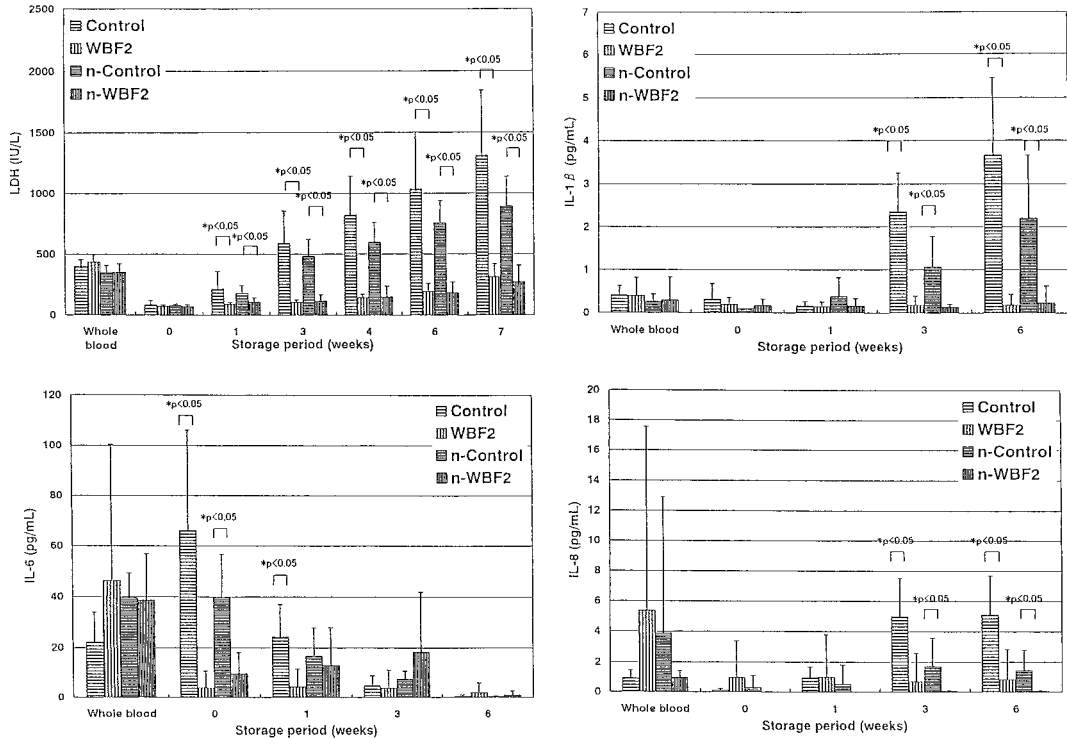


Fig. 3 Cytokine and LDH levels during storage ; concentrations of LDH, IL-1 β , IL-6 and IL-8 in the prepared red cell concentrates are shown.

を短縮し、原料 RC-MAP に比べて約 92% の赤血球回収率を得ている。しかしながらこの場合、RC-MAP 調製の時点で既に原料全血からの赤血球回収率が約 93%⁹⁾であるため、その後白血球除去処理を行うと最終的な回収率は約 86% となる。

今回検討した保存前白血球除去システムでは、閉鎖回路でろ過および製剤の調製が行え、さらに 90% を越える高い赤血球の回収が実現できたことは、このシステムの大きな利点である。

WBF2 群では Control 群に比べて血漿の回収率が低かった。これはろ過によって、フィルターと回路に残存する全血の分だけ血漿が失われるためである。この損失を少なくするためには、ろ過後全血の遠心条件を厳しくするなどの対応が必要と思われる。また WBF2 群の血漿回収率が、Control 群より平均 15.4mL 少なく、逆に n-WBF2 群は n-Control 群より平均 12.7mL 多かった (Table 2) この血漿回収率の逆転した結果については、今

回の検討からは解明されなかった。

結 語

保存前白血球除去は、保存期間中に白血球から放出されるサイトカイン等の生理活性物質の量を減少させ、NHFTR の発生頻度や製剤中の細胞障害、マクロアグリゲートの発生を減少させるなどの可能性があることが示された。さらに赤血球回収率においても従来法よりも良好な成績が得られた。

全血用白血球除去フィルター (WBF2) を組み込んだ保存前白血球除去システムは、血液センターにおける白血球除去製剤を調製する手段として有用であり、多くの利点をもたらすものと考えられた。

文 献

- 1) Sirchia, G., Wenz, B., Rebullia, P., Parravichini, A., Carnelli, V., Bertolini, F. : Removal of white cells

- from red cells by transfusion through a new filter. *Transfusion*, 30 : 30-33, 1990.
- 2) Sniecinski, I., O'Donnell, M.R., Nowicki, B., Hill, L.R. : Prevention of refractoriness and HLA-alloimmunization using filtered blood products. *Blood*, 71 : 1402-1407, 1988.
 - 3) Bowden, R.A., Slichter, S.J., Sayers, M., Weisdorf, D., Cays, M., Schoch, G., Banaji, M., Haake, R., Welk, K., Fisher, L., McCullough, J., Miller, W. : A comparison of filtered leukocyte-reduced and cytomegalovirus (CMV) seronegative blood products for the prevention of transfusion-associated CMV infection after marrow transplant. *Blood*, 86 : 3598-3603, 1995.
 - 4) Nielsen, H.J., Reimert, C., Pedersen, A.N., Dybkjoer, E., Brunner, N., Alsbjorn, B., Skov, P.S. : Leukocyte-derived bioactive substances in fresh frozen plasma. *Br. J. Anaesth.*, 78 : 548-552, 1997.
 - 5) 関口定美 : Prestorage filtration . *医学の歩み*, 181 (9) : 669-670, 1997.
 - 6) Brecher, M.E., Pineda, A.A., Torloni, A.S., Harbaugh, C.A., Emery, R.L., Moore, S.B., Carmen, R., Nelson, E. : Prestorage leukocyte depletion : effect on leukocyte and platelet metabolites, erythrocyte lysis, metabolism, and in vivo survival. *Semin. Hematol.*, 28 (Suppl 5) : 3-9, 1991.
 - 7) American association of blood banks : *Technical Manual* : 13th ed. 1999.
 - 8) Robertson, M., Boulton, F.E., Doughty, R., MacLennan, J.R., Collins, A., McClelland, D.B., Prowse, C.V. : Macroaggregate formation in optimal additive red cells. *Vox. Sang.*, 49 (4) : 259-266, 1985.
 - 9) 柴 雅之, 村 徹, 増山哲也, 長橋久方, 田山達也, 笹川 滋, 佐渡峯生, 大谷 卓, 安村 功, 川本昇司, 清水 勝 : MAP 加濃厚赤血球の製造と長期保存試験 . *日輸血会誌*, 37 (3) : 404-410, 1991.
 - 10) Council of Europe : *Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components* : 3rd ed. 1997.
 - 11) Hiruma, K., Okuyama, Y. : Effect of leukocyte reduction on the potential alloimmunogenicity of leukocytes in fresh-frozen plasma products. *Vox. Sang.*, 80 : 51-56, 2001.
 - 12) 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 : 21-24, 1993.
-

Table 3 Changes in the characteristics of leukoreduced and non-leukoreduced components during storage

a) Room temperature storage group (comparison between WBF2 and control)

Storage and filtration		Whole blood				RC-MAP (prestorage filtration and unfiltration)					
		Before filtration		After filtration		0 week		1 week		3 weeks	
		Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value
Leukocytes (/ μ L)	WBF2	3,942 \pm 850		0.30 \pm 0.16		0.39 \pm 0.20	**	0.25 \pm 0.17	**	0.17 \pm 0.13	**
	Control	3,805 \pm 833	0.749			2,621 \pm 1,174	< 0.001	1,900 \pm 948	< 0.001	1,083 \pm 711	0.001
Platelets ($\times 10^4$ / μ L)	WBF2	21.5 \pm 4.9		0.69 \pm 0.25		1.2 \pm 0.4	*	1.39 \pm 0.33	*	1.6 \pm 0.3	*
	Control	20.6 \pm 3.7	0.696			7.3 \pm 7.3	0.032	10.0 \pm 10.2	0.032	6.5 \pm 5.8	0.033
Red cells ($\times 10^6$ / μ L)	WBF2	4.30 \pm 0.33		4.34 \pm 0.32		6.22 \pm 0.24		6.22 \pm 0.22		6.24 \pm 0.25	
	Control	4.05 \pm 0.27	0.119			6.11 \pm 0.24	0.371	6.13 \pm 0.25	0.462	6.10 \pm 0.30	0.336
Hemoglobin (g/dL)	WBF2	12.9 \pm 0.8		13.1 \pm 0.8		18.6 \pm 0.5		18.6 \pm 0.6		18.7 \pm 0.7	
	Control	12.1 \pm 0.6	0.061			18.3 \pm 0.6	0.265	18.3 \pm 0.7	0.359	18.0 \pm 0.6	0.055
Hematocrit (%)	WBF2	38.2 \pm 2.4		38.6 \pm 2.4		55.1 \pm 1.1		54.6 \pm 1.0		53.9 \pm 1.3	
	Control	36.0 \pm 1.7	0.058			54.0 \pm 2.3	0.094	54.1 \pm 1.3	0.404	52.5 \pm 1.6	0.084
Plasma hemoglobin (g/dL)	WBF2	6.8 \pm 2.4	**	5.1 \pm 2.9		11 \pm 1		21 \pm 5		32 \pm 6	
	Control	3.0 \pm 0.9	0.001			9 \pm 2	0.094	21 \pm 4	0.911	38 \pm 12	0.202
pH	WBF2	7.12 \pm 0.04	**	7.10 \pm 0.02		6.93 \pm 0.05	**	6.65 \pm 0.04		6.52 \pm 0.04	**
	Control	7.01 \pm 0.05	< 0.001			6.86 \pm 0.06	0.011	6.66 \pm 0.11	0.817	6.66 \pm 0.06	< 0.001
ATP (μ mol/gHg)	WBF2	4.1 \pm 0.3		4.0 \pm 0.5		4.0 \pm 0.5		4.4 \pm 0.5		3.4 \pm 0.8	
	Control	4.3 \pm 0.2	0.090			4.0 \pm 0.4	0.830	4.1 \pm 0.5	0.236	3.1 \pm 0.5	0.221
2, 3-DPG (μ mol/gHg)	WBF2	11.2 \pm 1.01		10.27 \pm 1.21		8.72 \pm 1.19		0.55 \pm 0.21	*	0.15 \pm 0.09	
	Control	11.3 \pm 0.96	0.936			9.33 \pm 1.01	0.290	0.36 \pm 0.11	0.032	0.15 \pm 0.07	0.994
Mean cell volume (fL)	WBF2	89.0 \pm 3.0		89.0 \pm 2.8		88.6 \pm 2.7		87.9 \pm 2.9		86.4 \pm 2.6	
	Control	89.1 \pm 2.4	0.949			88.4 \pm 2.2	0.905	88.4 \pm 2.6	0.743	86.2 \pm 2.5	0.876
Hemolysis start (mOsm/kg)	WBF2	100 \pm 2		100 \pm 4		107 \pm 4				104 \pm 3	
	Control	101 \pm 3	0.691			106 \pm 3	0.519			106 \pm 2	0.291
Hemolysis max. (mOsm/kg)	WBF2	86 \pm 4		87 \pm 4		93 \pm 5				89 \pm 3	
	Control	89 \pm 3	0.221			92 \pm 4	0.957			87 \pm 5	0.501
Hemolysis end (mOsm/kg)	WBF2	68 \pm 2		67 \pm 4		70 \pm 4				58 \pm 2	
	Control	70 \pm 3	0.378			69 \pm 4	0.457			60 \pm 2	0.134
Hemolysis range (mOsm/kg)	WBF2	32 \pm 3		33 \pm 3		37 \pm 3				46 \pm 5	
	Control	31 \pm 2	0.619			37 \pm 3	0.936			46 \pm 2	0.945
Morphology score	WBF2	296 \pm 4		295 \pm 4		296 \pm 3				283 \pm 8	
	Control	296 \pm 3	0.574			297 \pm 2	0.377			287 \pm 5	0.205
Sterility (Bacterial, Fungal)	WBF2					ND		ND		ND	
	Control					ND		ND		ND	
Endotoxin (pg/mL)	WBF2					ND		ND		ND	
	Control					ND		5.8 (n = 1)		ND	
Macroaggregates	WBF2					-(8)		-(8)		-(8)	
	Control									+(6)-(2)	

b) Overnight storage group (comparison between n-WBF2 and n-control)

Storage and filtration Parameter		Whole blood				RC-MAP (prestorage filtration and unfiltration)					
		Before filtration		After filtration		0 week		1 week		3 weeks	
		Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value
Leukocytes (/ μ L)	n-WBF2	3,738 ± 707		0.41 ± 0.19		0.30 ± 0.18	**	0.12 ± 0.06	**	0.06 ± 0.01	**
	n-Control	5,041 ± 1,987	0.103			2,574 ± 765	< 0.001	2,267 ± 1,087	< 0.001	1,106 ± 445	< 0.001
Platelets (× 10 ⁴ / μ L)	n-WBF2	20.2 ± 1.8		0.74 ± 0.36		1.15 ± 0.32	**	1.33 ± 0.43	**	1.38 ± 0.37	**
	n-Control	19.0 ± 4.90	0.526			2.48 ± 0.40	< 0.001	2.79 ± 0.38	< 0.001	2.54 ± 0.56	< 0.001
Red cells (× 10 ⁶ / μ L)	n-WBF2	4.26 ± 0.29		4.26 ± 0.32		6.08 ± 0.23		6.07 ± 0.21		6.12 ± 0.22	
	n-Control	4.18 ± 0.25	0.571			5.93 ± 0.33	0.307	5.88 ± 0.27	0.139	5.91 ± 0.26	0.105
Hemoglobin (g/dL)	n-WBF2	12.7 ± 0.57		12.8 ± 0.64		18.2 ± 0.47		18.4 ± 0.51		18.2 ± 0.50	
	n-Control	12.9 ± 0.72	0.573			18.1 ± 0.51	0.618	17.8 ± 0.56	0.054	18.0 ± 0.37	0.579
Hematocrit (%)	n-WBF2	37.8 ± 2.28		38.0 ± 2.41		54.2 ± 1.45		54.3 ± 1.39		53.1 ± 1.72	
	n-Control	38.2 ± 2.07	0.719			53.9 ± 1.92	0.751	53.2 ± 1.53	0.151	52.0 ± 1.36	0.178
Plasma hemoglobin (g/dL)	n-WBF2	3.8 ± 1.4		5.9 ± 1.4		6.6 ± 3.1		24 ± 13		34 ± 25	
	n-Control	4.0 ± 0.8	0.662			6.8 ± 1.9	0.924	15 ± 2	0.080	32 ± 5	0.841
pH	n-WBF2	6.91 ± 0.03	**	6.89 ± 0.03		6.71 ± 0.03	**	6.78 ± 0.04		6.62 ± 0.03	
	n-Control	7.07 ± 0.06	< 0.001			6.90 ± 0.05	< 0.001	6.74 ± 0.10	0.332	6.65 ± 0.10	0.793
ATP (μ mol/gHg)	n-WBF2	4.44 ± 1.20		4.19 ± 0.33		4.07 ± 0.57		4.97 ± 0.45	**	3.42 ± 0.25	
	n-Control	4.39 ± 0.37	0.746			4.20 ± 0.46	0.641	4.22 ± 0.45	0.005	3.16 ± 0.48	0.203
2, 3-DPG (μ mol/gHg)	n-WBF2	9.79 ± 1.20		9.51 ± 1.06		8.28 ± 1.05		0.59 ± 0.23		0.30 ± 0.16	
	n-Control	9.80 ± 1.06	0.979			9.08 ± 1.10	0.159	0.42 ± 0.12	0.074	0.34 ± 0.18	0.628
Mean cell volume (fL)	n-WBF2	88.8 ± 2.6		89.3 ± 2.8		89.3 ± 2.8		89.6 ± 2.6		86.9 ± 2.6	
	n-Control	91.5 ± 2.6	0.061			91.1 ± 2.6	0.168	90.6 ± 2.6	0.470	88.1 ± 2.5	0.348
Hemolysis start (mOsm/kg)	n-WBF2	101 ± 3	*	99 ± 4		107 ± 4				107 ± 4	
	n-Control	97 ± 3	0.038			104 ± 3	0.123			104 ± 3	0.056
Hemolysis max. (mOsm/kg)	n-WBF2	87 ± 4		85 ± 5		92 ± 3				92 ± 3	*
	n-Control	86 ± 3	0.640			91 ± 5	0.557			88 ± 2	0.032
Hemolysis end (mOsm/kg)	n-WBF2	71 ± 3	**	68 ± 5		68 ± 3				61 ± 3	
	n-Control	67 ± 3	0.004			67 ± 3	0.393			59 ± 4	0.128
Hemolysis range (mOsm/kg)	n-WBF2	29 ± 3		31 ± 7		38 ± 3				46 ± 4	
	n-Control	31 ± 2	0.250			37 ± 2	0.287			45 ± 4	0.754
Morphology score	n-WBF2	297 ± 2		298 ± 2		298 ± 1				286 ± 8	
	n-Control	298 ± 3	0.232			297 ± 2	0.305			282 ± 10	0.442
Sterility (Bacterial, Fungal)	n-WBF2					ND	ND	ND		ND	
	n-Control					ND		ND		ND	
Endotoxin (pg/mL)	n-WBF2					ND		ND		ND	
	n-Control					ND		ND		ND	
Macroaggregates	n-WBF2							-(8)		-(8)	
	n-Control							+(7)-(1)		+(8)-(0)	

Data are shown as mean ± SD (n = 8, in each group) 1) n = 7, 2) n = 3. * p < 0.05, ** p < 0.01 as determined by the t-test (two-tailed, unpaired observations) Where values were undetectable, the t-test was performed using the detection limit. () ; number

						FFP (prestorage filtration and unfiltration)							
4 weeks		6 weeks		7 weeks		0 week		7 weeks		6 months		12 months	
Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value
0.06 ± 0.01	**	0.05 ± 0.00	**	0.05 ± 0.00	**	0.01 ± 0.01	**						
874 ± 337	< 0.001	831 ± 312	< 0.001	632 ± 249	< 0.001	13 ± 4.8	< 0.001						
1.38 ± 0.41	**	1.39 ± 0.36	**	1.34 ± 0.33	**	0.1 ± 0.18	**						
2.44 ± 0.32	< 0.001	2.24 ± 0.36	< 0.001	2.16 ± 0.31	< 0.001	11.2 ± 4.90	< 0.001						
6.11 ± 0.23		6.12 ± 0.21		6.08 ± 0.25		0 ± 0							
5.89 ± 0.31	0.136	5.94 ± 0.30	0.171	5.92 ± 0.29	0.271	0 ± 0							
18.3 ± 0.58		18.4 ± 0.64		18.4 ± 0.50		0 ± 0							
18.4 ± 0.46	0.742	18.2 ± 0.46	0.600	18.3 ± 0.69	0.686	0 ± 0							
52.7 ± 1.53		52.6 ± 1.60		52.6 ± 1.68		0 ± 0							
51.6 ± 1.50	0.164	52.1 ± 1.49	0.580	52.2 ± 1.28	0.535	0 ± 0							
47 ± 35		69 ± 39	*	117 ± 67		2.9 ± 1.0							
59 ± 11	0.404	113 ± 23	0.015	153 ± 38	0.214	0.3 ± 0.2 (n = 7)	0.238						
6.55 ± 0.04		6.49 ± 0.03		6.44 ± 0.03	*	6.95 ± 0.04		7.27 ± 0.05		7.24 ± 0.05		7.27 ± 0.04	**
6.65 ± 0.10	0.772	6.44 ± 0.06	0.065	6.40 ± 0.04	0.040	7.19 ± 0.09	0.971	7.25 ± 0.04	0.436	7.28 ± 0.05	0.127	7.12 ± 0.07	< 0.001
2.61 ± 0.47		1.64 ± 0.62		1.59 ± 0.43									
2.83 ± 0.35	0.293	2.14 ± 0.34	0.062	1.40 ± 0.23	0.298								
0.13 ± 0.06													
0.14 ± 0.04	0.621												
86.4 ± 2.5		85.8 ± 2.3		86.7 ± 2.2									
87.7 ± 2.5	0.307	87.9 ± 2.5	0.103	88.2 ± 2.5	0.217								
		106 ± 3		108 ± 3									
		108 ± 5	0.470	109 ± 5	0.722								
		89 ± 4		86 ± 6									
		83 ± 9	0.088	84 ± 2	0.306								
		58 ± 2		58 ± 2									
		56 ± 3	0.143	56 ± 3	0.278								
		48 ± 3		50 ± 5									
		52 ± 7	0.212	52 ± 6	0.408								
276 ± 11		266 ± 11		251 ± 15									
272 ± 7	0.312	259 ± 7	0.265	250 ± 11	0.861								
ND		ND		ND		ND		ND		ND		ND	
ND		ND		ND		ND		ND		ND		ND	
ND		ND		5.1(n = 1)		ND		ND		ND		ND	
ND		ND		5.7 ± 0.4 (n = 2)		ND		5.4(n = 1)		ND		5.4(n = 1)	
-(8)		-(8)		-(8)									
+(8)-(0)		+(8)-(0)		+(8)-(0)									

of components in which macroaggregates were detected(+)or not detected(-) Detection limit of plasma hemoglobin was 1 mg/dL.
 ND : not detected.

Table 4 Levels of ions, coagulation factors and biological response modifiers (BRMs) in leukoreduced or non-leukoreduced components during storage

a) Room temperature storage group (comparison between WBF2 and control)

Storage and filtration		Whole blood		RC-MAP (prestorage filtration and unfiltration)			
		Before filtration		0 week		1 week	
		Mean ± SD	p-value	Mean ± SD	p-value	Mean ± SD	p-value
Total protein (g/dL)	WBF2	6.5 ± 0.3	*	1.2 ± 0.1	**		
	Control	6.2 ± 0.3	0.039	0.8 ± 0.1	< 0.001		
Albumin (g/dL)	WBF2	4.2 ± 0.2	*	0.7 ± 0.1	**		
	Control	4.0 ± 0.2	0.044	0.5 ± 0.1	< 0.001		
Globulin (g/dL)	WBF2	2.26 ± 0.19		0.50 ± 0.08	**		
	Control	2.16 ± 0.20	0.314	0.38 ± 0.06	0.005		
Ammonia (μg/dL)	WBF2	82.8 ± 9.7		70.0 ± 8.9		235 ± 24	*
	Control	78.4 ± 5.2	0.273	67.4 ± 27.4	0.798	205 ± 29	0.031
Phosphide (mg/dL)	WBF2	2.7 ± 0.5		12.3 ± 0.5	*	14.5 ± 1.0	
	Control	3.0 ± 0.4	0.233	12.9 ± 0.3	0.018	14.9 ± 0.8	0.354
Glucose (mg/dL)	WBF2	373 ± 12	**	497 ± 7	**	410 ± 18	**
	Control	391 ± 12	0.009	514 ± 7	0.001	435 ± 3	0.002
Sodium (mEq/L)	WBF2	162 ± 2		118 ± 1	**	107 ± 2	**
	Control	161 ± 2	0.387	114 ± 1	< 0.001	104 ± 1	< 0.001
Potassium (mEq/L)	WBF2	3.5 ± 0.2		1.4 ± 0.2		18.3 ± 2.5	
	Control	3.6 ± 0.1	0.202	1.3 ± 0.1	0.232	17.1 ± 1.4	0.254
Chloride (mEq/L)	WBF2	75 ± 2		70 ± 1		69 ± 1	
	Control	75 ± 2	0.598	70 ± 1	1.000	68 ± 1	0.074
Magnesium (mg/dL)	WBF2	1.9 ± 0.2		0.4 ± 0.0	**	0.4 ± 0.1	
	Control	1.9 ± 0.1	0.705	0.3 ± 0.1	0.002	0.4 ± 1.0	0.483
Calcium (mg/dL)	WBF2	8.0 ± 0.3	*	1.3 ± 0.2	**	1.4 ± 0.1	**
	Control	7.7 ± 0.2	0.031	0.9 ± 0.1	< 0.001	0.9 ± 0.1	< 0.001
Lactic acid (mmol/L)	WBF2	1.9 ± 0.1		2.2 ± 0.2	**	9.6 ± 1.0	*
	Control	1.8 ± 0.3	0.344	1.6 ± 0.1	< 0.001	8.4 ± 0.6	0.010
LDH (IU/L)	WBF2	432 ± 65		74 ± 10		92 ± 12	*
	Control	399 ± 56	0.285	86 ± 34	0.366	21 ± 146	0.038
C3a (ng/mL)	WBF2	267 ± 55		55 ± 8	*	99 ± 13	*
	Control	279 ± 72	0.707	73 ± 16	0.013	199 ± 100	0.014
IL-1β (pg/mL)	WBF2	0.9 ± 0.1 (n = 3)		0.4 ± 0.2 (n = 3)		0.3 ± 0.1 (n = 2)	
	Control	0.5 ± 0.2 (n = 7)	0.941	0.6 ± 0.4 (n = 4)	0.373	0.2 ± 0.1 (n = 5)	0.619
IL-6 (pg/mL)	WBF2	46 ± 54		4 ± 7	**	4 ± 7	**
	Control	22 ± 11	0.236	66 ± 40	0.001	24 ± 13	0.002
IL-8 (pg/mL)	WBF2	5 ± 12		1 ± 2		1 ± 3	
	Control	1 ± 1	0.325	0.1 ± 0.1	0.312	1 ± 1	0.971
Fibrinogen (mg/dL)	WBF2	229 ± 39					
	Control	250 ± 46	0.335				
Factor VIII (%)	WBF2	98 ± 12					
	Control	107 ± 26	0.416				
Factor V (%)	WBF2	112 ± 9					
	Control	111 ± 15	0.984				

b) Overnight storage group (comparison between n-WBF2 and n-control)

Storage and filtration		Whole blood		0 week		1 week	
		Before filtration		Mean ± SD	p-value	Mean ± SD	p-value
		Mean ± SD	p-value	Mean ± SD	p-value	Mean ± SD	p-value
Total protein (g/dL)	n-WBF2	6.4 ± 0.2		1.4 ± 0.1			
	n-Control	6.2 ± 0.3	0.165	1.4 ± 0.2	0.616		
Albumin (g/dL)	n-WBF2	4.2 ± 0.2	*	0.9 ± 0.1			
	n-Control	4.0 ± 0.1	0.040	0.9 ± 0.2	0.693		
Globulin (g/dL)	n-WBF2	2.12 ± 0.20		0.55 ± 0.08			
	n-Control	2.12 ± 0.25	0.975	0.56 ± 0.05	0.785		
Ammonia (μg/dL)	n-WBF2	113.5 ± 0.09		80.7 ± 13.6		201.7 ± 17.0	**
	n-Control	113.8 ± 7.7	0.971	86.9 ± 8.4	0.290	233.8 ± 20.7	0.004
Phosphide (mg/dL)	n-WBF2	3.3 ± 0.3		13.4 ± 0.3		14.2 ± 0.5	
	n-Control	3.1 ± 0.3	0.346	13.2 ± 0.4	0.298	14.6 ± 0.9	0.252
Glucose (mg/dL)	n-WBF2	359 ± 21	**	483 ± 9	**	415 ± 10	
	n-Control	386 ± 12	0.007	497 ± 12	< 0.001	424 ± 19	0.285
Sodium (mEq/L)	n-WBF2	160 ± 2		120 ± 2		111 ± 1	
	n-Control	161 ± 2	0.471	120 ± 2	0.786	111 ± 2	0.758
Potassium (mEq/L)	n-WBF2	5.0 ± 0.2		1.6 ± 0.1		15.3 ± 0.9	
	n-Control	5.0 ± 0.3	1.000	1.7 ± 0.3	0.333	16.0 ± 1.1	0.204
Chloride (mEq/L)	n-WBF2	72 ± 2		67 ± 1		69 ± 2	
	n-Control	72 ± 2	0.642	67 ± 2	1.000	68 ± 1	0.278
Magnesium (mg/dL)	n-WBF2	2.0 ± 0.2		0.5 ± 0.1		0.5 ± 0.1	
	n-Control	1.9 ± 0.1	0.114	0.4 ± 0.1	0.277	0.5 ± 0.1	0.513
Calcium (mg/dL)	n-WBF2	8.0 ± 0.2	**	1.7 ± 0.2		1.6 ± 0.2	
	n-Control	7.7 ± 0.2	0.005	1.7 ± 0.2	0.479	1.7 ± 0.2	0.795
Lactic acid (mmol/L)	n-WBF2	3.0 ± 0.5		2.4 ± 0.3		9.9 ± 1.6	
	n-Control	3.0 ± 0.3	0.974	2.3 ± 0.3	0.773	9.2 ± 0.8	0.268
LDH (IU/L)	n-WBF2	351 ± 68		70 ± 14		107 ± 35	*
	n-Control	347 ± 60	0.885	77 ± 12	0.283	180 ± 61	0.010
C3a (ng/mL)	n-WBF2	339 ± 41	*	57 ± 7	**	82 ± 19	*
	n-Control	277 ± 68	0.048	72 ± 11	0.007	144 ± 69	0.029
IL-1β (pg/mL)	n-WBF2	0.6 ± 0.8 (n=3)		0.4 ± 0.1 (n=2)		0.6 (n=1)	
	n-Control	0.4 ± 0.1 (n=5)	0.851	ND	0.176	0.7 ± 0.5 (n=4)	0.192
IL-6 (pg/mL)	n-WBF2	39 ± 18		9.7 ± 8.4	**	13 ± 15	
	n-Control	40 ± 10	0.910	39.7 ± 17.1	0.001	17 ± 11	0.585
IL-8 (pg/mL)	n-WBF2	1.0 ± 0.5		0.0 ± 0.0		0.0 ± 0.0	
	n-Control	3.9 ± 9.0	0.380	0.3 ± 0.8	0.312	0.5 ± 1.3	0.256
Fibrinogen (mg/dL)	n-WBF2	266 ± 49					
	n-Control	245 ± 50	0.419				
Factor VIII (%)	n-WBF2	82 ± 18					
	n-Control	67 ± 10	0.064				
Factor V (%)	n-WBF2	112 ± 22					
	n-Control	98 ± 9	0.128				

Data are shown as mean ± SD (n = 8, in each group)

* p < 0.05, ** p < 0.01 as determined by the t-test (two-tailed, unpaired observations) Where values were undetectable, the t-test was

Table 5 Levels of proteins, coagulation factors and BRMs in leukoreduced or non-leukoreduced FFP during storage
a) Room temperature storage group (comparison between WBF2 and control)

Storage and filtration		Whole blood		Leukoreduced FFP/FFP							
		Before filtration		0 week		7 weeks		6 months		12 months	
		Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value
Total protein (g/dL)	WBF2	6.5 ± 0.3	*	6.5 ± 0.3	*	6.5 ± 0.3	*	6.6 ± 0.3	*	6.6 ± 0.3	*
	Control	6.2 ± 0.3	0.039	6.1 ± 0.3	0.016	6.1 ± 0.4	0.049	6.4 ± 0.3	0.093	6.3 ± 0.3	0.059
Albumin (g/dL)	WBF2	4.2 ± 0.2	*	4.3 ± 0.2	*	4.2 ± 0.2		4.2 ± 0.2		4.2 ± 0.2	
	Control	4.0 ± 0.2	0.044	4.0 ± 0.2	0.039	3.9 ± 0.4	0.052	4.0 ± 0.3	0.184	4.0 ± 0.2	0.058
Globulin (g/dL)	WBF2	2.26 ± 0.19		2.3 ± 0.2		2.2 ± 0.2		2.4 ± 0.2		2.4 ± 0.2	
	Control	2.16 ± 0.20	0.314	2.1 ± 0.2	0.157	2.2 ± 0.1	0.465	2.3 ± 0.2	0.233	2.3 ± 0.2	0.373
Ammonia (μg/dL)	WBF2	83 ± 10		118 ± 15	**	126 ± 10		164 ± 15		108 ± 11	
	Control	78 ± 5	0.273	91 ± 6	< 0.001	115 ± 18	0.137	165 ± 14	0.937	101 ± 9	0.16
Phosphide (mg/dL)	WBF2	2.7 ± 0.5		3.1 ± 0.5		3.2 ± 0.5		3.2 ± 0.5		3.2 ± 0.5	
	Control	3.0 ± 0.4	0.233	3.0 ± 0.4	0.742	2.9 ± 0.4	0.256	3.0 ± 0.4	0.438	3.0 ± 0.4	0.396
Glucose (mg/dL)	WBF2	373 ± 12	**	372 ± 11	*	380 ± 21		367 ± 13	**	369 ± 13	*
	Control	391 ± 12	0.009	390 ± 14	0.014	409 ± 34	0.059	390 ± 15	0.006	390 ± 16	0.013
Sodium (mEq/L)	WBF2	162 ± 2		162 ± 1		161 ± 2		164 ± 2		164 ± 1.7	
	Control	161 ± 2	0.387	160 ± 2	0.159	158 ± 6	0.251	162 ± 2	0.12	163 ± 1.5	0.231
Potassium (mEq/L)	WBF2	3.5 ± 0.2		3.6 ± 0.3		3.6 ± 0.3		3.6 ± 0.3		3.5 ± 0.2	
	Control	3.6 ± 0.1	0.202	3.6 ± 0.1	0.628	3.6 ± 0.2	0.911	3.6 ± 0.1	0.714	3.6 ± 0.1	0.694
Chloride (mEq/L)	WBF2	75 ± 2		74 ± 2		72 ± 2		74 ± 1.7		72 ± 1.8	
	Control	75 ± 2	0.598	74 ± 3	0.518	71 ± 3	0.715	75 ± 1.6	0.37	73 ± 1.7	0.398
Magnesium (mg/dL)	WBF2	1.9 ± 0.2		1.9 ± 0.2		2.0 ± 0.2		1.9 ± 0.2		1.9 ± 0.2	
	Control	1.9 ± 0.1	0.705	1.9 ± 0.1	0.835	1.9 ± 0.1	0.060	1.9 ± 0.1	0.717	1.9 ± 0.1	0.619
Calcium (mg/dL)	WBF2	8.0 ± 0.3	*	7.9 ± 0.3		7.8 ± 0.2		8.0 ± 0.2	*	7.8 ± 0.3	
	Control	7.7 ± 0.2	0.031	7.7 ± 0.2	0.070	7.5 ± 0.5	0.131	7.8 ± 0.2	0.025	7.8 ± 0.3	0.642
Lactic acid (mmol/L)	WBF2	1.9 ± 0.1		1.9 ± 0.2	**	1.9 ± 0.2	**	17.5 ± 2.1	**	17.1 ± 2.0	**
	Control	1.8 ± 0.3	0.344	1.6 ± 0.2	0.005	1.5 ± 0.2	0.001	14.1 ± 2.0	0.005	13.4 ± 1.8	0.001
LDH (IU/L)	WBF2	432 ± 65		262 ± 35	**	260 ± 35	**	255 ± 35	**	255 ± 32	**
	Control	399 ± 56	0.285	436 ± 92	< 0.001	436 ± 100	< 0.001	435 ± 94	< 0.001	429 ± 93	< 0.001
C3a (ng/mL)	WBF2	267 ± 55		372 ± 28	**	511 ± 196		373 ± 62	**	222 ± 53	**
	Control	279 ± 72	0.707	480 ± 53	< 0.001	606 ± 319	0.485	569 ± 163	0.007	558 ± 294	0.007

C5a (ng/mL)	WBF2	ND		ND		ND		ND		ND	
	Control	ND		ND		ND		ND		ND	
Histamine (ng/mL)	WBF2	0.57 ± 0.23		0.3 ± 0.1	**	0.3 ± 0.2	**	0.4 ± 0.1	*	0.3 ± 0.1	**
	Control	0.91 ± 0.56	0.132	0.8 ± 0.5	0.005	0.9 ± 0.5	0.003	0.9 ± 0.5	0.017	1.0 ± 0.5	0.004
Serotonin (ng/mL)	WBF2	92 ± 22		26 ± 9		29 ± 9		27 ± 8		25 ± 8	
	Control	86 ± 31	0.668	20 ± 7	0.138	21 ± 7	0.196	21 ± 7	0.144	19 ± 7	0.158
Acid phosphatase (IU/L)	WBF2	12 ± 3		5 ± 1	**	5 ± 1	**	5 ± 0.7	**	5 ± 1	**
	Control	12 ± 2	0.925	15 ± 4	< 0.001	11 ± 3	< 0.001	13 ± 3.2	< 0.001	12 ± 3	< 0.001
Elastase (μg/L)	WBF2	61 ± 11		148 ± 70	**	164 ± 82	**	148 ± 76	**	160 ± 82	**
	Control	68 ± 24	0.421	48 ± 14	0.001	55 ± 13	0.002	48 ± 11	0.002	50 ± 22	0.003
Plasma hemoglobin (mg/dL)	WBF2	7 ± 2	**	2.8 ± 1.7							
	Control	3 ± 1	0.001	2.0 ± 0.6 (n=6)	0.141						
IL-1β (pg/mL)	WBF2	0.4 ± 0.4		0.7 ± 0.5 (n=5)		0.4 ± 0.5 (n=5)		0.3 ± 0.1		1.1 ± 2.4	
	Control	0.4 ± 0.2	0.941	1.1 ± 0.2 (n=6)	0.179	0.4 ± 0.6 (n=3)	0.656	0.2 ± 0.1	0.053	0.6 ± 0.8	0.674
IL-6 (pg/mL)	WBF2	46 ± 54		26 ± 54		10 ± 20		28 ± 29		21 ± 38	
	Control	22 ± 12	0.236	20 ± 14	0.765	17 ± 9	0.337	13 ± 3.2	0.176	13 ± 7	0.576
IL-8 (pg/mL)	WBF2	5 ± 12		6 ± 13		5 ± 10		5 ± 13		8 ± 18	
	Control	1 ± 1	0.325	1 ± 1	0.266	1 ± 1	0.286	1 ± 0.2	0.297	1.3 ± 0.4	0.299
TNF-α (pg/mL)	WBF2	14 ± 11		15 ± 11		11 ± 13		12 ± 11		17 ± 15	
	Control	11 ± 13	0.453	12 ± 4	0.480	5 ± 3	0.237	8 ± 3	0.359	15 ± 13	0.753
RANTES (pg/mL)	WBF2			6.8 ± 2.4	**	7.7 ± 3.0		7.6 ± 2.4		6.2 ± 2.1	
	Control			3.2 ± 0.8	0.001	9.3 ± 5.0	0.437	10.2 ± 4.3	0.168	7.6 ± 2.2	0.243
Fibrinogen (mg/dL)	WBF2	229 ± 39		224 ± 39		232 ± 38		228 ± 43		210 ± 33	
	Control	250 ± 46	0.335	249 ± 49	0.283	254 ± 45	0.302	252 ± 42	0.278	239 ± 43	0.145
Factor VIII (%)	WBF2	98 ± 12		95 ± 19		80 ± 12		87 ± 10		81 ± 10	
	Control	107 ± 26	0.416	100 ± 28	0.699	91 ± 36	0.426	91 ± 33	0.77	84 ± 32	0.796
Factor V (%)	WBF2	112 ± 9		98 ± 8	*	91 ± 6	**	102 ± 8	*	90 ± 12	**
	Control	111 ± 15	0.984	115 ± 15	0.019	111 ± 10	0.001	113 ± 10	0.023	107 ± 13	0.016
Coagulation test PT (Second)	WBF2			11 ± 0.4		11 ± 0.4		11 ± 0.4		11 ± 0.4	
	Control			11 ± 0.5	0.477	11 ± 0.5	0.151	11 ± 0.4	0.12	11 ± 0.4	0.307
Coagulation test APTT (Second)	WBF2			36 ± 2	**	38 ± 2	**	39 ± 2.5	**	38 ± 2	**
	Control			32 ± 2	0.003	34 ± 2	0.001	34 ± 2.4	0.002	34 ± 2	0.002

b) Overnight storage group (comparison between n-WBF2 and n-control)

Storage and filtration Parameter		Whole blood		Leukoreduced FFP/FFP							
		Before filtration		0 week		7 weeks		6 months		12 months	
		Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value
Total protein (g/dL)	n-WBF2	6.4 ± 0.2		6.3 ± 0.2		6.3 ± 0.2		6.5 ± 0.2		6.6 ± 0.3	
	n-Control	6.2 ± 0.3	0.165	6.1 ± 0.3	0.190	6.3 ± 0.3	0.853	6.4 ± 0.3	0.183	6.3 ± 0.3	0.25
Albumin (g/dL)	n-WBF2	4.2 ± 0.2	*	4.2 ± 0.2		4.2 ± 0.2		4.2 ± 0.2	*	4.2 ± 0.2	*
	n-Control	4.0 ± 0.1	0.040	4.0 ± 0.2	0.055	4.0 ± 0.1	0.159	4.0 ± 0.1	0.027	4.0 ± 0.1	0.019
Globulin (g/dL)	n-WBF2	2.12 ± 0.20		2.08 ± 0.18		2.2 ± 0.3		2.3 ± 0.2		2.3 ± 0.2	0.590
	n-Control	2.12 ± 0.25	0.975	2.11 ± 0.21	0.785	2.3 ± 0.4	0.602	2.4 ± 0.3	0.782	2.3 ± 0.3	
Ammonia (μg/dL)	n-WBF2	114 ± 21		138 ± 22		146 ± 31	**	156 ± 33		119 ± 26	
	n-Control	114 ± 8	0.971	141 ± 13	0.776	198 ± 29	0.004	165 ± 8	0.476	141 ± 16	0.055
Phosphide (mg/dL)	n-WBF2	3.3 ± 0.3		3.2 ± 0.3		3.3 ± 0.3		3.1 ± 0.3		2.8 ± 1.1	
	n-Control	3.1 ± 0.3	0.346	3.0 ± 0.3	0.282	3.0 ± 0.2	0.067	3.0 ± 0.3	0.213	3.0 ± 0.3	0.64
Glucose (mg/dL)	n-WBF2	359 ± 21	**	357 ± 20	**	360 ± 21	**	361 ± 18	**	357 ± 20	**
	n-Control	386 ± 12	0.007	385 ± 13	0.006	392 ± 16	0.004	387 ± 15	0.008	389 ± 13	0.004
Sodium (mEq/L)	n-WBF2	160 ± 2		160 ± 2		161 ± 2		163 ± 2		162 ± 2.5	
	n-Control	161 ± 2	0.471	161 ± 2	0.244	162 ± 2	0.245	163 ± 2	0.885	163 ± 1.7	0.733
Potassium (mEq/L)	n-WBF2	5.0 ± 0.2		5.0 ± 0.2		7.8 ± 0.2		5.1 ± 0.2		5.0 ± 0.2	
	n-Control	5.0 ± 0.3	1.000	5.0 ± 0.3	0.697	5.0 ± 0.3	0.919	5.1 ± 0.3	0.687	5.0 ± 0.3	0.846
Chloride (mEq/L)	n-WBF2	72 ± 2		71 ± 2		71 ± 2		73 ± 2.4	*	72 ± 2.3	
	n-Control	72 ± 2	0.642	71 ± 2	0.732	72 ± 3	0.768	71 ± 1.5	0.043	71 ± 1.8	0.198
Magnesium (mg/dL)	n-WBF2	2.0 ± 0.2		2.0 ± 0.1		2.0 ± 0.1		2.0 ± 0.1		2.0 ± 0.1	
	n-Control	1.9 ± 0.1	0.114	1.9 ± 0.2	0.266	1.9 ± 0.1	0.087	1.9 ± 0.1	0.058	2.0 ± 0.7	0.138
Calcium (mg/dL)	n-WBF2	8.0 ± 0.2	**	8.0 ± 0.2	**	7.8 ± 0.2		7.7 ± 0.2		7.8 ± 0.2	
	n-Control	7.7 ± 0.2	0.005	7.6 ± 0.2	0.003	7.7 ± 0.2	0.057	7.6 ± 0.2	0.278	7.6 ± 0.2	0.099
Lactic acid (mmol/L)	n-WBF2	3.1 ± 0.5		2.8 ± 0.5		2.9 ± 0.6		26.1 ± 4.6		25.6 ± 4.5	
	n-Control	3.0 ± 0.3	0.974	2.7 ± 0.3	0.576	2.8 ± 0.3	0.659	24.3 ± 2.4	0.325	24.2 ± 2.5	0.462
LDH (IU/L)	n-WBF2	351 ± 68		240 ± 53	**	243 ± 52	**	238 ± 51	**	240 ± 52	**
	n-Control	347 ± 60	0.885	567 ± 121	< 0.001	594 ± 127	< 0.001	576 ± 119	< 0.001	582 ± 122	< 0.001
C3a (ng/mL)	n-WBF2	339 ± 41	*	373 ± 29	**	373 ± 122		340 ± 65		167 ± 49	**
	n-Control	277 ± 68	0.048	484 ± 40	< 0.001	370 ± 141	0.964	398 ± 90	0.163	282 ± 49	< 0.001

C5a (ng/mL)	n-WBF2	ND		ND		ND		ND		ND	
	n-Control	ND		ND		ND		ND		ND	
Histamine (ng/mL)	n-WBF2	0.6 ± 0.2		0.2 ± 0.1	**	0.3 ± 0.1	**	0.3 ± 0.1	**	0.3 ± 0.1	**
	n-Control	1.0 ± 0.6	0.132	0.5 ± 0.2	0.001	0.5 ± 0.1	0.002	0.5 ± 0.2	0.007	0.5 ± 0.2	0.002
Serotonin (ng/mL)	n-WBF2	92 ± 22		15 ± 11	**	16 ± 12	**	15 ± 10	**	13 ± 10	**
	n-Control	86 ± 31	0.668	51 ± 20	0.001	52 ± 20	0.001	50 ± 20	0.001	44 ± 17	0.001
Acid phosphatase (IU/L)	n-WBF2	12 ± 3		5.7 ± 1.1	**	5.5 ± 1.0	**	5.3 ± 1.0	**	5.5 ± 1.1	**
	n-Control	12 ± 2	0.925	23 ± 6.1	< 0.001	18 ± 3.8	< 0.001	19.5 ± 5	< 0.001	22 ± 6.0	< 0.001
Elastase (μg/L)	n-WBF2	61 ± 11		47 ± 26		47 ± 25		47 ± 23		50 ± 11	
	n-Control	68 ± 24	0.421	63 ± 25	0.223	65 ± 32	0.244	60 ± 22	0.25	61 ± 21	0.238
Plasma hemoglobin (mg/dL)	n-WBF2	7 ± 2		2.9 ± 1.0							
	n-Control	3 ± 1	0.001	2.4 ± 1.0 (n=7)	0.238						
IL-1β (pg/mL)	n-WBF2	0.6 ± 0.0 (n=3)		0.7 ± 0.0 (n=6)		1.3 ± 1.3 (n=2)		0.2 ± 0.1	*	2.9 ± 5.8	
	n-Control	0.4 ± 0.1 (n=5)	0.851	0.3 ± 0.2 (n=5)	0.179	ND	0.268	0.1 ± 0.03	0.018	0.5 ± 1.0	0.289
IL-6 (pg/mL)	n-WBF2	39 ± 18		4.5 ± 2.1	**	2.1 ± 1.1	**	12 ± 6		2.5 ± 1.1	**
	n-Control	40 ± 10	0.479	33 ± 11	< 0.001	17 ± 10	0.001	16 ± 5	0.118	10 ± 5.4	0.002
IL-8 (pg/mL)	n-WBF2	1.0 ± 0.5		0.3 ± 0.4		0.3 ± 0.4		0.1 ± 0.2		1.0 ± 0.7	
	n-Control	4 ± 9	0.380	4.1 ± 10.1	0.304	4.1 ± 9.3	0.271	4 ± 10	0.305	5.9 ± 13	0.309
TNF-α (pg/mL)	n-WBF2	6.6 ± 2.5		5.0 ± 1.6	*	3.5 ± 2.0		6.6 ± 1.7		8.3 ± 4.1	
	n-Control	8 ± 5	0.566	8.7 ± 4.4	0.041	5.5 ± 4.1	0.237	8.7 ± 3.9	0.199	10.6 ± 4.1	0.298
RANTES (pg/mL)	n-WBF2			3.1 ± 1.2		4.0 ± 1.5	**	4.0 ± 1.4	**	3.0 ± 1.2	**
	n-Control			3.8 ± 1.1	0.277	17 ± 6.1	0.001	13 ± 2.8	< 0.001	25 ± 5.9	< 0.001
Fibrinogen (mg/dL)	n-WBF2	266 ± 49		259 ± 48		262 ± 54		249 ± 54		244 ± 48	
	n-Control	245 ± 50	0.419	252 ± 49	0.804	245 ± 53	0.536	239 ± 54	0.699	234 ± 53	0.708
Factor VIII (%)	n-WBF2	82 ± 18		85 ± 20		77 ± 19		70 ± 18		68 ± 18	
	n-Control	67 ± 10	0.064	68 ± 11	0.059	62 ± 14	0.081	56 ± 12	0.082	58 ± 12	0.225
Factor V (%)	n-WBF2	112 ± 22		109 ± 26		109 ± 19		97 ± 17		103 ± 21	
	n-Control	98 ± 9	0.128	109 ± 8	1.000	92 ± 15	0.074	92 ± 6	0.451	101 ± 8	0.803
Coagulation test PT (Second)	n-WBF2			11.2 ± 0.9		11.2 ± 0.8	*	11 ± 0.8	**	11.2 ± 0.8	*
	n-Control			11.6 ± 0.4	0.281	12.2 ± 0.6	0.017	12 ± 0.5	0.006	12.2 ± 0.6	0.011
Coagulation test APTT (Second)	n-WBF2			37.0 ± 6.1		37.1 ± 5.3		37.8 ± 5.9		37.9 ± 6.0	
	n-Control			37.1 ± 2.8	0.955	38.3 ± 3.1	0.583	38.1 ± 3.3	0.886	34.3 ± 12.8	0.48

Data are shown as mean ± SD (n=8, in each) * p < 0.05, ** p < 0.01 as determined by the t-test (two-tailed, unpaired observations) Where values were undetectable, the t-test was performed using the detection limit. Detection limits were as follows: C5a (20ng/mL) IL-1β (0.1pg/mL) ND: not detected.

Table 6 Characteristics of RC-MAP prepared by prestorage filtration or post-storage filtration

a) Room temperature storage group (comparison between WBF2 and BPF4)

	RC-MAP (prestorage/poststorage)		
	WBF2 (prestorage)	BPF4 (poststorage)	p-value
Leukocytes (/ μ L)	0.25 \pm 0.17	0.05 \pm 0.00	0.004 **
Platelets ($\times 10^4$ / μ L)	1.4 \pm 0.3	1.0 \pm 0.2	0.009 **
Red cells ($\times 10^6$ / μ L)	6.22 \pm 0.22	6.23 \pm 0.17	0.911
Hemoglobin (g/dL)	18.6 \pm 0.6	19.4 \pm 1.0	0.306
Hematocrit (%)	54.6 \pm 1.0	56.6 \pm 0.9	0.001 **
Plasma Hemoglobin (mg/dL)	21 \pm 5	26 \pm 10	0.204
Ammonia (μ g/dL)	235 \pm 21.4	208.8 \pm 30.2	0.065
Phosphide (mg/dL)	14.5 \pm 1.0	14.5 \pm 0.9	0.939
Glucose (mg/dL)	410 \pm 18	432 \pm 13	0.016 *
Sodium (mEq/L)	107 \pm 2	106 \pm 2	0.041 *
Potassium (mEq/L)	18 \pm 3	18 \pm 1	0.439
Chloride (mEq/L)	69 \pm 1	66 \pm 1	< 0.001 **
Magnesium (mg/dL)	0.4 \pm 0.1	0.3 \pm 0.1	0.108
Calcium (mg/dL)	1.4 \pm 0.1	1.2 \pm 0.1	0.001 **
Lactic acid (mmol/L)	9.6 \pm 1.0	8.3 \pm 1.1	0.021 *
LDH (IU/L)	92 \pm 12	161 \pm 78	0.026 *
C3a (ng/mL)	99 \pm 13	56 \pm 7	< 0.001 **
C5a (ng/mL)	ND	ND	
Histamine (ng/mL)	ND	0.3 (n = 1)	0.193
Serotonin (ng/mL)	8.1 \pm 2.4	4.5 \pm 0.7 (n = 3)	< 0.001 **
Acid phosphatase (IU/L)	0.8 \pm 0.2	2.9 \pm 2.1	0.015 *
Elastase (μ g/L)	29 \pm 15 (n = 7)	120 \pm 141	0.084
IL-1 β (pg/mL)	0.3 \pm 0.1 (n = 2)	0.4 \pm 0.3 (n = 4)	0.564
IL-6 (pg/mL)	4.4 \pm 7.2	0.3 \pm 0.5	0.135
IL-8 (pg/mL)	1.0 \pm 2.8	0.5 \pm 0.6	0.610
TNF- α (pg/mL)	2.8 \pm 6.0	1.4 \pm 0.5	0.508
pH	6.65 \pm 0.04	6.78 \pm 0.06	< 0.001 **
ATP (μ mol/gHb)	4.36 \pm 0.44	4.16 \pm 0.73	0.508
2, 3-DPG (μ mol/gHb)	0.55 \pm 0.21	0.71 \pm 0.62	0.510
Hematocrit (fL)	87.9 \pm 2.9	91.0 \pm 2.2	0.031 *
Hemolysis start (mOsm/kg)	110 \pm 3	111 \pm 4	0.944
Hemolysis max. (mOsm/kg)	95 \pm 2	93 \pm 4	0.239
Hemolysis end (mOsm/kg)	68 \pm 3	67 \pm 5	0.771
Hemolysis range (mOsm/kg)	43 \pm 2	43 \pm 5	0.722

b) Overnight storage group (comparison between n-WBF2 and BPF4)

	RC-MAP (prestorage/poststorage)		
	n-WBF2 (prestorage)	BPF4 (poststorage)	p-value
Leukocytes (/ μ L)	0.12 \pm 0.07	0.05 \pm 0.00	0.010 **
Platelets ($\times 10^4$ / μ L)	1.3 \pm 0.4	1.0 \pm 0.2	0.060
Red cells ($\times 10^6$ / μ L)	6.07 \pm 0.21	6.23 \pm 0.17	0.122
Hemoglobin (g/dL)	18.4 \pm 0.5	18.9 \pm 1.0	0.235
Hematocrit (%)	54.3 \pm 1.4	56.6 \pm 1.0	0.002 **
Plasma Hemoglobin (mg/dL)	24 \pm 13	26 \pm 10	0.713
Ammonia (μ g/dL)	201.7 \pm 17.0	208.8 \pm 30.2	0.574
Phosphide (mg/dL)	14.2 \pm 0.5	14.5 \pm 0.9	0.393
Glucose (mg/dL)	415 \pm 10	432 \pm 13	0.011 *
Sodium (mEq/L)	111 \pm 1	105.6 \pm 2	< 0.001 **
Potassium (mEq/L)	15.3 \pm 0.9	17.6 \pm 1.2	0.001 **
Chloride (mEq/L)	69 \pm 2	66 \pm 1	0.003 **
Magnesium (mg/dL)	0.5 \pm 0.1	0.3 \pm 0.1	< 0.001 **
Calcium (mg/dL)	1.6 \pm 0.2	1.2 \pm 0.1	< 0.001 **
Lactic acid (mmol/L)	9.9 \pm 1.6	8.3 \pm 1.0	0.026 *
LDH (IU/L)	107 \pm 35	161 \pm 78	0.094
C3a (ng/mL)	82 \pm 19	56 \pm 7	0.002 **
C5a (ng/mL)	ND	ND	
Histamine (ng/mL)	0.1 (n = 1)	0.3 (n = 1)	0.334
Serotonin (ng/mL)	3.8 \pm 2.4	4.5 \pm 0.7 (n = 3)	0.112
Acid phosphatase (IU/L)	1.3 \pm 0.5	2.9 \pm 2.1	0.057
Elastase (μ g/L)	13 \pm 2 (n = 2)	120 \pm 141	0.046 *
IL-1 β (pg/mL)	0.6 (n = 1)	0.4 \pm 0.3 (n = 4)	0.708
IL-6 (pg/mL)	13 \pm 15	0.3 \pm 0.5	0.027 *
IL-8 (pg/mL)	0.0 \pm 0.0	0.5 \pm 0.6	0.033 *
TNF- α (pg/mL)	0.7 \pm 0.9	1.4 \pm 0.5	0.069
pH	6.78 \pm 0.04	6.78 \pm 0.06	0.802
ATP (μ mol/gHb)	5.0 \pm 0.45	4.2 \pm 0.7	0.018 *
2, 3-DPG (μ mol/gHb)	0.60 \pm 0.23	0.71 \pm 0.62	0.635
Hematocrit (fL)	89.6 \pm 2.6	91.0 \pm 2.2	0.262
Hemolysis start (mOsm/kg)	110 \pm 3	111 \pm 4	0.944
Hemolysis max. (mOsm/kg)	96 \pm 2	93 \pm 4	0.078
Hemolysis end (mOsm/kg)	69 \pm 3	67 \pm 5	0.435
Hemolysis range (mOsm/kg)	42 \pm 4	43 \pm 5	0.465

Data are shown as mean \pm SD(n = 8, in each) * p < 0.05, ** p < 0.01 as determined by the t-test(two-tailed, unpaired observations) Where values were undetectable, the t-test was performed using the detection limit. Detection limits are as follows ; C5a (20ng/mL) histamine (0.1ng/mL) ND ; not detected.