

原 著

CPD 液で採血した血液の全血処理型白血球除去 WBF フィルタークローズドシステムの性能評価

安永 礼子¹⁾ 湯浅 武史¹⁾ 堀内 賢一²⁾ 鈴木 康之²⁾
野原 正信³⁾ 高嶋 聡子³⁾ 田中 真典³⁾ 田中 明美³⁾
比嘉 幸枝³⁾ 丸高ゆう子³⁾ 中田 浩一³⁾ 坂本 久浩³⁾

¹⁾川澄化学工業株式会社

²⁾日本ポール株式会社

³⁾産業医科大学輸血部

(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 SYSTEM USING THE WHOLE BLOOD LEUKOCYTE DEPLETION FILTER (WBF) FOR PRE-STORAGE

Reiko Yasunaga¹⁾, Takeshi Yuasa¹⁾, Ken-ichi Horiuchi²⁾, Yasuyuki Suzuki²⁾,
Masanobu Nohara³⁾, Satoko Takashima³⁾, Masanori Tanaka³⁾, Akemi Tanaka³⁾,
Yukie Higa³⁾, Yuko Marudaka³⁾, Koichi Nakata³⁾ and Hisahiro Sakamoto³⁾

¹⁾Kawasumi Laboratory Inc.

²⁾Nihon Pall Ltd.

³⁾Department of Blood Transfusion, Sangyo Medical University Hospital

To prevent the post-transfusion reactions in transfusion therapy such as HLA alloimmunization, non-hemolytic febrile transfusion reaction (NHFTR) and Cytomegalovirus transmission, bedside leukocyte reduction has been performed. However, it has become clear that prestorage leukocyte reduction has greater efficiency than poststorage, and prestorage leukocyte reduction is now being considered for implementation. We developed a prestorage leukocyte reduction system that contains CPD anticoagulant solution(PLD-C system). In this study, the performance of the PLD-C system was examined with regard to the leukocyte filtration efficacy and the characteristics of blood during storage by comparison with a pre-storage leukocyte reduction system which uses ACD-A solution (PLD-A system) and blood components collected using CPD solution and prepared by the buffy-coat depleted method (BCPD)

It was confirmed that the leukocyte reduction ratio of the PLD-C system(more than - 4log) was higher than that of the BCPD (less than - 0.4log) Platelet depletion rates of the PLD-C group (average more than 99%) was also higher than in the BCPD group, but the red cell recovery ratio was the same between groups (average 88%) Prestorage filtration showed no adverse effects such as hemolysis, whereas various good effects were observed, such as inhibition of macroaggregate formation and hemolysis during storage. Collecting blood into CPD solution improved red cell quality during storage and increased plasma volume compared to the ACD-A solution.

It was confirmed that the PLD-C system has advantages in the production of blood components

over the present system. Use of this system can be expected to prevent post transfusion reactions.

Key words : pre-storage leukocyte depletion system, post transfusion reaction, plasma volume, quality of red cell

I. はじめに

輸血による同種免疫感作(HLA抗体産生や血小板輸血不応),非溶血性発熱反応(NHFTR)やウィルスの伝播¹⁾⁻⁵⁾といった副作用の防止や,保存中の血液細胞障害⁶⁾やマクロアグリゲート生成等の軽減^{7,8)}による血液製剤の品質向上を目的とし,保存前白血球除去システムの国内導入が検討されてきた⁹⁾.国内では主にACD-A液で採血される為,これまでにACD-A液で採血する保存前白血球除去システム(以下,PLD-Aシステム)が開発された¹⁰⁾⁻¹²⁾が,PLD-Aシステムで採取される血漿量は,従来のパフィーコート法に比べ少ないとの報告があった¹⁰⁾.そこでACD-A液に比べ血漿採取量が多く,また赤血球の保存性も優れているCPD液^{13,14)}で採血する保存前白血球除去システム(以下,PLD-Cシステム)を開発し,下記の内容で比較検証した.

(評価1). PLD-Aシステムとの比較によって,抗凝固剤の違いによる①システムの性能,②製剤の保存性への影響を確認

(評価2). CPD液で採血する通常の製剤方法(パフィーコート法)との比較によって,①採取血液製剤容量,②保存前白血球除去による製剤保存性への影響を確認

II. 材料と方法

(1) バッグシステム (Fig. 1)

① PLD-C システム

採血,白血球除去,製剤調製の一連の作業を無菌的に行うことが可能で,全血用白血球除去フィルター(WBF1J,日本ポール社)を組み込み,抗凝固剤としてCPD液を,保存液としてMAP液を用いたバッグシステム.

② PLD-A システム

PLD-Cシステムと同じ形状で,抗凝固剤がACD-A液であるシステム(カーミアリユーコトラップ200MAP,川澄化学工業社).

③ CPD4 連採血バッグ

抗凝固剤としてCPD液を,保存液としてMAP液を用いた4連の採血バッグシステム.

(2) 供血者の選定

① 供血者は文書にて同意の得られた健常の成人男性16名であった.

② 供血者背景を把握する為,各自の身長,体重,年齢及び採血前の血圧測定の調査を行った.

(3) 血液成分分離調製方法 (Fig. 2)

① 採血

採血は,自動採血装置(KL-102,川澄化学工業社)を用いて行った.

保存前白血球除去群は,PLD-CシステムとPLD-Aシステムとを無菌的に接合し,同じ供血者から各システムに200mLずつ計400mL採血した.一方パフィーコート法は,供血者からCPD4連採血バッグに200mL採血した.

② 保存前白血球除去法による製剤調製

保存前に白血球を除去する群で,PLD-Cシステムで採血した群をPLD-C群,PLD-Aシステムで採血した群をPLD-A群とした.採血後,血液温度を22~25℃に保ち2~3時間静置した.室温,落差150cmで白血球除去を行い,4~6℃,4,600×g,6分間遠心後,自動血液分離装置(KL-120,川澄化学工業社)にて白血球除去RC-MAPと白血球除去FFPを調製した.採血から製剤調製までの作業は,日赤業務基準¹⁵⁾に準じて行った.調製されたRC-MAPは4℃,FFPは-40℃にて保存した.

③ パフィーコート法による製剤調製

パフィーコート法で白血球を除去する群で,4連の採血バッグシステムで採血する群をBCPD群とした.採血後,血液温度を22~25℃に保ち2~3時間静置した.その後の製剤調製は「②の保存前白血球除去法による製剤調製」と同様に,日赤業務標準¹⁵⁾に準じてRC-MAP及びFFPを調製した.調製されたRC-MAPは4℃,FFPは-40℃で保存した.

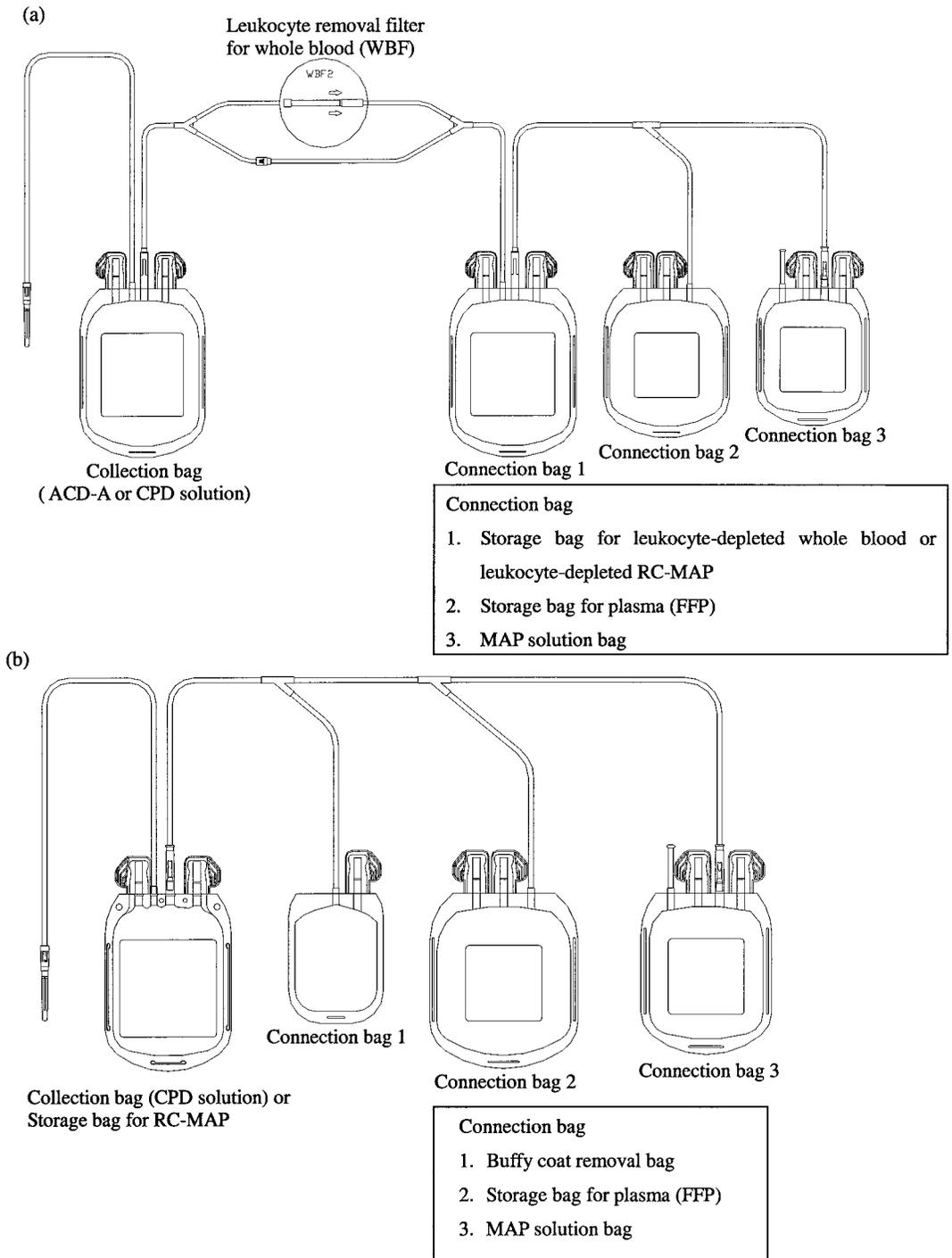


Fig. 1 Bag system

(a) CPD/ACD-A prestorage leukocyte depletion system
(PLD-C system/PLD-A system)

(b) CPD quadruple bag system

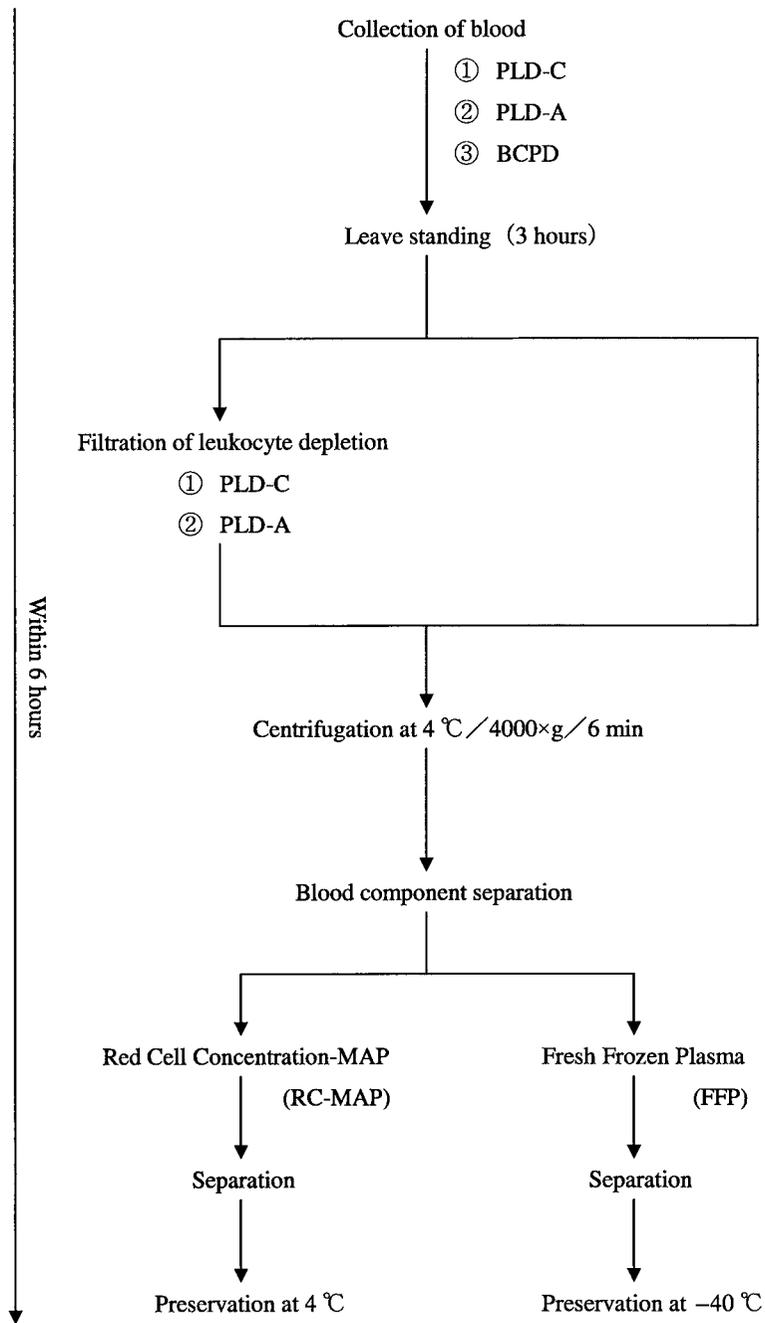


Fig. 2 Blood component preparation method

(4) 白血球除去製剤性能の評価

①血液製剤容量測定

採血後全血，ろ過前（白血球除去前）全血，ろ

過後（白血球除去後）全血，RC-MAP 及び FFP は重量を測定し，全血 1.055，RC-MAP 1.063，FFP 1.025 の比重を用いて容量に換算した。

Table 1 Examination items for whole blood, RC-MAP and FFP

| Examination items | Method (reagent) | |
|-------------------|--|---|
| Total Protein | Biuret method | (Total Protein-HR II kit : Wako Chemical) |
| Glucose | Enzymatic method (Glu-DH) | (Melcridaid Glu kit : Kanto Chemical) |
| LDH | Wroblewsky-LaDue method | (Ltype : Wako Chemical) |
| Na ⁺ | Electrode method | |
| K ⁺ | Electrode method | |
| C3a | RIA 2 Immunoassay | (human complement C3a/C5a des Arg (1,251) : Amersham) |
| C5a | | |
| Lactate | Enzymatic method | (determiner LA kit : Kyowa medical) |
| 2, 3-DPG | Ultraviolet absorption spectrum method (2, 3-DPG test : Boehringer Mannheim) | |
| ATP | Enzymatic method | |
| Factor VIII | Coagulation method | |
| Free hemoglobin | Fluorene method | |

Analysis methods used for biochemical examination items of whole blood, RC-MAP and preserved FFP.

Table 2 Donor characteristics

| | Age (years) | Height (cm) | Weight (kg) | Blood poessure (mmHg) | |
|---|------------------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------------|
| | | | | Diastolic | Systolic |
| Prestorage leukocyte depletion (PLD-C group/PLD-A group) | 37 ± 10 (26 ~ 56) | 169 ± 8 (160 ~ 186) | 69 ± 8 (54 ~ 77) | 135 ± 7 (128 ~ 147) | 78 ± 9 (68 ~ 93) |
| Buffy coat method (BCPD group) | 35 ± 4 (27 ~ 39) | 172 ± 6 (165 ~ 178) | 66 ± 6 (55 ~ 72) | 136 ± 6 (127 ~ 142) | 78 ± 5 (71 ~ 86) |

Data are shown as mean ± SD, (): data range.

Prestorage leukocyte depletion group donors (PLD-C group and PLD-A group) were the same (n = 6) The second group was the buffy coat reduction group donors (n = 6)

②性能評価

白血球除去前後の容量と血球数によって、白血球除去率、赤血球回収率及び血小板除去率を算出し、また、ろ過時間（血液がフィルター一次側に入ってから完全に白血球除去が終了するまでの時間）を測定した。通常の血球測定は多項目自動血球分析装置（シスメックス社）を使用し、白血球除去後の微少白血球数の計測はフローサイトメーター（日本ベクトンデッキンソン社）を使用した。

(5) 製剤保存中の変化

RC-MAP は調製直後（0週）及び1, 3, 6, 7週間保存後にサンプリングを行い評価を行った。FFP は調製直後（0週）及び7週間, 6, 12カ月保存後にサンプリングを行い評価を行った。評価項目及び検査法は Table 1 に示した。

(6) 結果の検定

全ての結果でt検定を行った。PLD-C群とPLD-A群の間は対応のあるt検定、PLD-C群とBCPD群の間は対応のないt検定を行った。有意差は $p < 0.05$ とした。

III. 結 果

(1) 供血者背景

供血者の詳細を Table 2 に示した。各群の供血者間に差異は見られなかった。

(2) 血液分離調製 (Table 3, Fig. 3)

①PLD-C システムと PLD-A システムの比較

全血容量は PLD-C 群 $236 \pm 3.5\text{mL}$, PLD-A 群 $236 \pm 2.4\text{mL}$ で差はなかった。両群ともろ過時間は約6分であった。白血球除去後の全血中の総白血球数は、PLD-C 群 $(7.69 \pm 1.79) \times 10^4 \text{ cell/bag}$ /PLD-A 群 $(5.16 \pm 2.22) \times 10^4 \text{ cell/bag}$ で有意差は無く、また赤血球回収率や血小板除去率にも差は無かつ

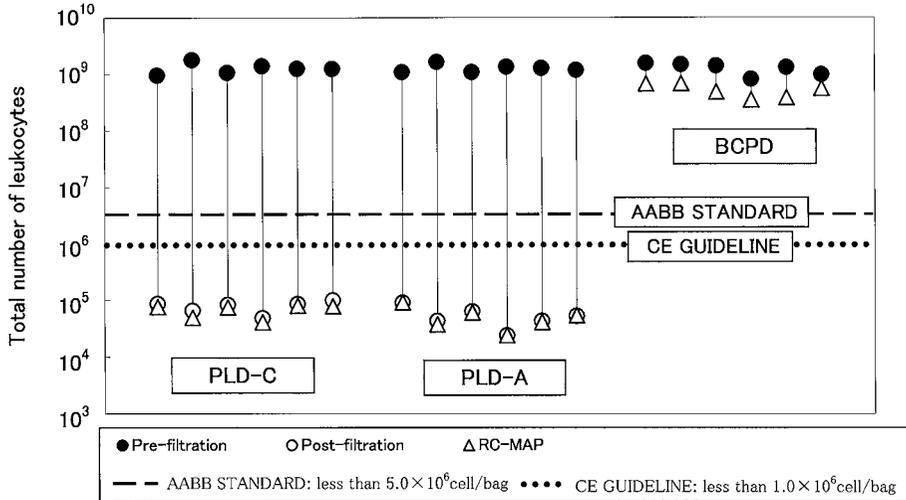


Fig. 3 Change in leukocyte number at pre-filtration (●) and post-filtration (○) RC-MAP (△) (n = 6)

Table 3 Characteristics of blood components prepared by the prestorage leukocyte depletion method (PLD-C group and PLD-A group) and buffy coat reduction (BCPD group)

| | | | | Prestorage leukocyte depletion | | Buffy coat reduction BCPD |
|-------------|---|--|--|--------------------------------|---------------|------------------------------|
| | | | | PLD-C (n = 6) | PLD-A (n = 6) | |
| Whole blood | Pre-filtration (After collection of whole blood) | Blood volume (mL) | | 236 ± 3.5 | 236 ± 2.4 | 234 ± 0.7 |
| | | Hematocrit (%) | | 38.0 ± 1.4 | 37.9 ± 1.5 | 39.5 ± 2.0 |
| | | WBC concentration (/ μ L) | | 5,400 ± 1,273 | 5,300 ± 906 | 5,283 ± 1,261 |
| | | Total WBC count (× 10 ⁹ cell/bag) | | 1.27 ± 0.29 | 1.25 ± 0.21 | 1.24 ± 0.30 |
| | Post-filtration | Blood volume (mL) | | 212 ± 4.1 | 213 ± 2.7 | |
| | | Hematocrit (%) | | 37.7 ± 1.4 | 38.1 ± 1.7 | |
| | | Filtration time (min) | | 6.34 ± 0.62 | 5.97 ± 0.38 | |
| | | WBC concentration (/ μ L) | | 0.36 ± 0.08 | 0.24 ± 0.10 | |
| | | Total WBC count (× 10 ⁴ cell/bag) | | 7.69 ± 1.79 | 5.16 ± 2.22 | |
| | | WBC depletion rate (- log) | | 4.22 ± 0.18 | 4.41 ± 0.24 | |
| | | RBC recovery rate (%) | | 89.4 ± 0.9 | 90.5 ± 2.3 | |
| | | PLT depletion rate (%) | | 99.9 ± 0.2 | 99.9 ± 0.2 | |
| RC-MAP | | Blood volume (mL) | | 140 ± 5.0 | 145 ± 3.8 | 141 ± 5.8 |
| | | Hematocrit (%) | | 56.1 ± 1.4 | 54.6 ± 1.2 | 57.7 ± 1.0 |
| | | Total WBC count (× 10 ⁴ cell/bag) | | 6.57 ± 1.66 | 5.06 ± 2.30 | 51,400 ± 14,100 |
| | | WBC depletion rate (- log) | | 4.29 ± 0.20 | 4.42 ± 0.25 | 0.38 ± 0.10 |
| | | RBC recovery rate (%) | | 88.6 ± 1.7 | 87.7 ± 2.5 | 87.9 ± 5.6 |
| | | PLT depletion rate (%) | | 99.2 ± 0.50 | 99.3 ± 0.54 | 85.8 ± 8.7 |
| FFP | | Blood volume (mL) | | 119 ± 3.4 | 115 ± 3.8 | 118 ± 5.0 |
| | | Total WBC count (× 10 ⁴ cell/bag) | | < 0.59 ± 0.02 | < 0.57 ± 0.02 | 280 ± 109 |

Data are shown as mean ± SD (n = 6)

た . PLD-C 群で調製される RC-MAP は , PLD-A 群に比べ容量が少なく , PLD-C 群 140 ± 5.0mL/

PLD-A 群 145 ± 3.8mL (p = 0.01) であった . しかし Hct 値は逆に PLD-C 群の方が高く (PLD-C 群

56.1 ± 1.4%/PLD-A 群 54.6 ± 1.2% (p < 0.01)), 両群間の赤血球回収率に差は見られなかった。FFPの容量はPLD-C 群 119 ± 3.4mL/PLD-A 群 115 ± 3.8mL (p = 0.04) で有意差があり, PLD-C 群の方が多く採取された。RC-MAP 及び FFP の白血球除去率や血小板除去率は, 両群とも差は無かった。

②PLD-C システムと4 連採血バッグシステムの比較

全血容量は, PLD-C 群 236 ± 3.5mL/BCPD 群 234 ± 0.7mL で差は無かった。分離調製した RC-MAP 及び FFP 容量は, 両群とも同程度であった。しかし調製された製剤中の総白血球数は, RC-MAP 中; PLD-C 群 (6.57 ± 1.66) × 10⁴ cell/bag/BCPD 群 (5.14 ± 1.41) × 10⁸ cell/bag (p < 0.05), FFP 中; PLD-C 群 < (0.59 ± 0.02) × 10⁴ cell/bag/BCPD 群 (2.80 ± 1.09) × 10⁶ cell/bag (p < 0.01) で, PLD-C 群の方が BCPD 群よりも明らかに少なかった。RC-MAP の赤血球回収率に差は無かったが, 血小板除去率は PLD-C 群 99.2 ± 0.5%/BCPD 群 85.8 ± 8.7% (p < 0.01) で, PLD-C 群の方が BCPD 群よりも明らかに高かった。

(3) RC-MAP 保存中の変化 (Table 4 1, 4 2)

①PLD-C 群と PLD-A 群の比較

抗凝固剤の pH は CPD 液 (約 5.6) の方が ACD-A 液 (約 4.9) よりも高いので, 全血と RC-MAP の保存初期 pH は PLD-C 群の方が高くなった。しかし保存中の pH 低下は, PLD-C 群の方が顕著で, 3 週目になると両群間の pH 差は小さくなった。マクロアグリゲートの生成は, 両群とも 7 週間確認されなかった。両群の TP, LDH 及び上清ヘモグロビンの変動に差は無かった。しかし 2, 3 DPG 及び ATP は, PLD-C 群の方が高く推移する傾向にあった。Na⁺, K⁺, グルコース及び乳酸の変動は, PLD-C 群の方が大きかった。モルフォロジー・スコアは, 両群間に有意差は認められなかったが, 保存 6, 7 週目になると PLD-C 群の方が高い値を示した。

②PLD-C 群と BCPD 群の比較

マクロアグリゲートの生成は, PLD-C 群で全く確認されなかったが, BCPD 群で 0 週目から確認された。グルコース, 乳酸, 2, 3 DPG, ATP 及び

モルフォロジー・スコアの変動は, 両群間で差は無かった。上清ヘモグロビンは BCPD 群の方が高く推移する傾向にあった。TP の変動は 0 から 1 週目の間で PLD-C 群の方が BCPD 群よりも高く推移し有意差が見られたが, 3 週目以降差は見られなくなった。LDH, Na⁺, K⁺ の変動は, PLD-C 群の方が BCPD 群よりも有意に小さかった。

(4) FFP 保存中の変化 (Table 5)

①PLD-C 群と PLD-A 群の比較

両群の C3a 及び C5a の変動に有意差は無かった。一方第 VIII 因子の変動は, 6 カ月目でのみ有意差が見られ, 0, 7 週目及び 12 カ月では, 両群間に有意差は認められなかった。

②PLD-C 群と BCPD 群の比較

両群の C5a 及び第 VIII 因子の保存変動に有意差は無かった。C3a の保存変動は PLD-C 群の方が BCPD 群よりも 7 週目まで有意に小さかったが, 6 カ月以降その差は無くなった。

IV. 考 察

(1) PLD-C 群と PLD-A 群との比較

両群の白血球除去率 (約 - 4log), 経過時間, 経過全血容量, 赤血球回収率 (両群とも約 90%) や血小板除去率 (両群とも約 99.9%) に差は見られず, 抗凝固剤によるシステム性能への影響は無いと判断した。しかし製剤調製において差が見られ, 血漿採取量は PLD-C 群の方が多かった。これは CPD 液の特徴として周知であり^{16)~18)}, 秋野ら¹¹⁾も同様の報告をしている。CPD 液と ACD-A 液で見られる血漿採取量の差は, 赤血球浮遊溶液の pH の違い¹⁶⁾¹⁷⁾やイオン強度¹³⁾¹⁸⁾等によると報告されている。

RC-MAP の保存性比較において, CPD 液を抗凝固剤とした PLD-C 群は, 指標となる 2, 3 DPG や ATP を高く保持する傾向にあり, 赤血球保存性が優れていた。PLD-A 群の 2, 3 DPG は保存開始から 3 週目にかけて急速に低下し, 9 割以上が消費されたが, これは ACD-A 液で採血した血液では, 保存初期に有機リン酸の分解が顕著に進む¹⁹⁾為であると推察する。一方 ATP の低下は 2, 3 DPG に比べ緩やかであるが, これはリン酸二

Table 4 1 Characteristics of RC-MAP during storage

| Storage period | | Whole blood | | RC-MAP | | | | | |
|---------------------------|---------------------------------|----------------|-------------------|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|
| | | Pre-filtration | Post-filtration | 0 day | 1 week | 3 weeks | 6 weeks | 7 weeks | |
| WBC | (cell/ μ L) | PLD-C | 5,400 \pm 1,273 | 0.36 \pm 0.08 | 0.47 \pm 0.11 | | | | |
| | | PLD-A | 5,300 \pm 906 | 0.24 \pm 0.10 | 0.35 \pm 0.15 | | | | |
| | | BCPD | 5,283 \pm 1,261 | | 3,667 \pm 1,029 * | | | | |
| PLT | ($\times 10^4$ cell/ μ L) | PLD-C | 23.1 \pm 4.2 | 0.02 \pm 0.04 | 0.32 \pm 0.18 | 0.65 \pm 0.20 | 0.68 \pm 0.33 | 0.33 \pm 0.15 | 0.40 \pm 0.32 |
| | | PLD-A | 23.7 \pm 4.1 | 0.02 \pm 0.04 | 0.72 \pm 1.14 | 0.94 \pm 1.0 | 0.65 \pm 0.31 | 0.47 \pm 0.31 | 0.57 \pm 0.38 |
| | | BCPD | 18.0 \pm 2.0 | | 4.3 \pm 3.0 * | 5.9 \pm 5.2 * | 6.5 \pm 5.7 * | 5.7 \pm 4.3 * | 4.1 \pm 2.5 * |
| RBC | ($\times 10^6$ cell/ μ L) | PLD-C | 4.28 \pm 0.23 | 4.25 \pm 0.25 | 6.33 \pm 0.35 | 6.35 \pm 0.34 | 6.34 \pm 0.34 | 6.29 \pm 0.35 | 6.27 \pm 0.34 |
| | | PLD-A | 4.24 \pm 0.25 | 4.25 \pm 0.30 | 6.09 \pm 0.30 | 6.11 \pm 0.30 | 6.09 \pm 0.31 | 6.07 \pm 0.33 | 6.02 \pm 0.30 |
| | | BCPD | 4.40 \pm 0.28 | | 6.42 \pm 2.99 | 6.47 \pm 0.29 | 6.50 \pm 0.32 | 6.44 \pm 0.33 | 6.43 \pm 0.32 |
| Hemoglobin | (g/dL) | PLD-C | 13.5 \pm 0.7 | 13.5 \pm 0.7 | 20.0 \pm 0.6 | 19.9 \pm 0.6 | 20.1 \pm 0.6 | 20.2 \pm 0.6 | 20.1 \pm 0.6 |
| | | PLD-A | 13.7 \pm 0.6 | 13.4 \pm 0.8 | 19.2 \pm 0.5 * | 19.3 \pm 0.5 | 19.4 \pm 0.5 * | 19.4 \pm 0.6 * | 19.3 \pm 0.6 * |
| | | BCPD | 14.2 \pm 0.8 | | 20.8 \pm 0.4 * | 20.8 \pm 0.5 * | 20.8 \pm 0.6 | 20.9 \pm 0.5 | 20.9 \pm 0.5 * |
| Hematocrit | (%) | PLD-C | 37.9 \pm 1.5 | 37.7 \pm 1.4 | 56.1 \pm 1.4 | 55.2 \pm 1.5 | 55.0 \pm 1.7 | 54.5 \pm 2.0 | 54.7 \pm 2.0 |
| | | PLD-A | 38.0 \pm 1.4 | 38.1 \pm 1.7 | 54.6 \pm 1.2 | 54.5 \pm 1.6 | 53.0 \pm 1.5 | 52.5 \pm 1.8 | 52.5 \pm 1.6 |
| | | BCPD | 39.5 \pm 2.0 | | 57.7 \pm 1.0 * | 56.8 \pm 1.1 | 57.1 \pm 1.3 * | 56.9 \pm 1.0 * | 57.1 \pm 1.1 * |
| Red cell Mean cell volume | (fL) | PLD-C | 88.8 \pm 3.5 | 88.9 \pm 3.5 | 89.8 \pm 3.1 | 87.1 \pm 3.3 | 86.8 \pm 2.7 | 86.7 \pm 2.3 | 87.3 \pm 2.2 |
| | | PLD-A | 89.6 \pm 3.5 | 89.8 \pm 3.9 | 88.7 \pm 3.1 | 89.3 \pm 3.0 | 87.1 \pm 2.7 | 86.7 \pm 2.2 | 87.2 \pm 2.3 |
| | | BCPD | 89.9 \pm 3.8 | | 90.0 \pm 3.7 | 88.1 \pm 3.3 | 87.9 \pm 3.5 | 88.4 \pm 3.6 | 89.1 \pm 3.4 |
| Free hemoglobin | (mg/dL) | PLD-C | 1.8 \pm 0.4 | 2.5 \pm 0.6 | 11 \pm 3 | 37 \pm 7 | 36 \pm 6 | 69 \pm 13 | 94 \pm 18 |
| | | PLD-A | 2.0 \pm 0.0 | 3.2 \pm 1.9 | 9.7 \pm 4.4 | 31 \pm 9 | 36 \pm 6 | 72 \pm 14 | 103 \pm 22 |
| | | BCPD | 2.2 \pm 0.4 | | 16 \pm 9 | 52 \pm 43 | 61 \pm 44 | 90 \pm 44 | 116 \pm 40 |
| pH | | PLD-C | 7.30 \pm 0.08 | 7.27 \pm 0.06 | 7.10 \pm 0.05 | 6.93 \pm 0.04 | 6.78 \pm 0.05 | 6.46 \pm 0.07 | 6.43 \pm 0.06 |
| | | PLD-A | 7.08 \pm 0.08 * | 7.09 \pm 0.04 * | 6.89 \pm 0.06 * | 6.77 \pm 0.03 * | 6.71 \pm 0.06 | 6.46 \pm 0.07 | 6.44 \pm 0.07 |
| | | BCPD | 7.30 \pm 0.06 | | 7.09 \pm 0.04 | 6.96 \pm 0.04 | 6.71 \pm 0.01 * | 6.44 \pm 0.04 | 6.42 \pm 0.03 |
| Macroaggregates | | PLD-C | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | PLD-A | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | BCPD | | | 2 | 3 | 5 | 6 | 6 |
| Morphology score | | PLD-C | 295 \pm 2 | | 295 \pm 2 | 284 \pm 6 | 270 \pm 3 | 261 \pm 9 | 247 \pm 9 |
| | | PLD-A | 296 \pm 1 | | 296 \pm 3 | 288 \pm 4 | 273 \pm 6 | 256 \pm 6 | 238 \pm 9 |
| | | BCPD | 289 \pm 6 | | 290 \pm 3 * | 279 \pm 9 | 273 \pm 9 | 257 \pm 16 | 248 \pm 19 |

Data except for macroaggregates are shown as mean \pm SD (n = 6) * p < 0.05

PLD-C group vs PLD-A group (two-tailed, paired t-test) PLD-C group vs BCPD group (two-tailed, unpaired t-test)

Macroaggregate data are expressed as the number of samples in which macroaggregates were observed.

Table 4 2 Characteristics of RC-MAP during storage

| Storage period | | Measurement items | Whole blood | | RC-MAP | | | |
|-----------------|------------|-------------------|---------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | | | Pre-filtration | 0 day | 1 week | 3 weeks | 6 weeks | 7 weeks |
| Total Protein | (g/dL) | PLD-C | 6.42 ± 0.22 | 1.07 ± 0.10 | 1.05 ± 0.10 | 1.00 ± 0.06 | 1.07 ± 0.08 | 1.18 ± 0.08 |
| | | PLD-A | 6.58 ± 0.22 | 1.13 ± 0.08 | 1.10 ± 0.09 | 1.07 ± 0.10 | 1.10 ± 0.06 | 1.18 ± 0.08 |
| | | BCPD | 6.32 ± 0.39 | 0.87 ± 0.16 * | 0.90 ± 0.13 * | 0.88 ± 0.15 | 0.98 ± 0.15 | 1.05 ± 0.18 |
| Glucose | (mg/dL) | PLD-C | 356 ± 30 | 499 ± 17 | 410 ± 12 | 263 ± 18 | 118 ± 27 | 86 ± 28 |
| | | PLD-A | 379 ± 36 | 510 ± 22 | 439 ± 19 * | 327 ± 19 * | 209 ± 24 * | 183 ± 27 * |
| | | BCPD | 360 ± 17 | 498 ± 10 | 399 ± 9 | 245 ± 8 | 98 ± 16 | 68 ± 16 |
| LDH | (IU/L) | PLD-C | 660 ± 128 | 60 ± 8.3 | 117 ± 18 | 108 ± 16 | 151 ± 24 | 183 ± 32 |
| | | PLD-A | 752 ± 43 | 59 ± 9.6 | 106 ± 20 | 107 ± 12 | 157 ± 23 | 200 ± 29 |
| | | BCPD | 521 ± 108 | 91 ± 29 * | 390 ± 289 * | 964 ± 443 * | 1,600 ± 574 * | 1,675 ± 637 * |
| Na ⁺ | (mEq/L) | PLD-C | 166 ± 2 | 121 ± 1 | 108 ± 1 | 97 ± 1 | 86 ± 1 | 84 ± 1 |
| | | PLD-A | 162 ± 1 * | 119 ± 1 * | 107 ± 2 | 95 ± 3 * | 84 ± 2 * | 82 ± 2 |
| | | BCPD | 166 ± 1 | 119 ± 1 * | 104 ± 3 * | 93 ± 3 * | 83 ± 2 * | 80 ± 2 * |
| K ⁺ | (mEq/L) | PLD-C | 3.2 ± 0.1 | 1.0 ± 0.1 | 20.2 ± 0.8 | 40.8 ± 2.5 | 60.0 ± 2.2 | 62.0 ± 2.1 |
| | | PLD-A | 3.4 ± 0.1 * | 1.0 ± 0.1 | 18.1 ± 1.1 * | 37.9 ± 2.9 * | 56.0 ± 2.1 * | 58.2 ± 1.7 * |
| | | BCPD | 3.2 ± 0.2 | 1.1 ± 0.1 * | 24.8 ± 3.4 * | 44.1 ± 2.7 | 66.0 ± 3.7 * | 65.1 ± 2.1 * |
| C3a | (ng/mL) | PLD-C | 221 ± 78 | | | | | |
| | | PLD-A | 180 ± 62 | | | | | |
| | | BCPD | 168 ± 19 | | | | | |
| C5a | (ng/mL) | PLD-C | 10 ± 0 ^a | | | | | |
| | | PLD-A | 10 ± 0 ^a | | | | | |
| | | BCPD | 10 ± 0 ^a | | | | | |
| Lactate | (μmol/L) | PLD-C | 0.02 ± 0.00 | 0.02 ± 0.00 | 0.09 ± 0.01 | 0.22 ± 0.02 | 0.32 ± 0.03 | 0.36 ± 0.04 |
| | | PLD-A | 0.02 ± 0.00 * | 0.01 ± 0.00 | 0.07 ± 0.01 * | 0.17 ± 0.02 * | 0.26 ± 0.02 * | 0.27 ± 0.03 * |
| | | BCPD | 0.02 ± 0.00 | 0.02 ± 0.00 | 0.10 ± 0.01 | 0.24 ± 0.01 | 0.35 ± 0.02 | 0.38 ± 0.02 |
| 2,3-DPG | (μmol/gHb) | PLD-C | 12.4 ± 0.88 | 11.3 ± 1.72 | 7.85 ± 1.53 | 1.85 ± 1.25 | 0.55 ± 0.40 | 0.52 ± 0.21 |
| | | PLD-A | 12.2 ± 0.72 | 11.3 ± 0.66 | 2.29 ± 0.95 * | 0.35 ± 0.14 * | 0.29 ± 0.12 | 0.47 ± 0.22 |
| | | BCPD | 12.7 ± 1.76 | 11.6 ± 1.76 | 7.20 ± 1.55 | 1.23 ± 0.62 | 0.59 ± 0.15 | 0.55 ± 0.10 |
| ATP | (μmol/gHb) | PLD-C | 4.28 ± 0.61 | 4.13 ± 0.80 | 4.39 ± 0.37 | 4.13 ± 0.34 | 2.54 ± 0.30 | 1.78 ± 0.24 |
| | | PLD-A | 3.94 ± 0.49 | 3.83 ± 0.54 | 4.30 ± 0.36 | 3.58 ± 0.33 * | 2.15 ± 0.29 * | 1.55 ± 0.25 |
| | | BCPD | 4.51 ± 0.42 | 4.37 ± 0.31 | 4.46 ± 0.31 | 4.08 ± 0.42 | 2.42 ± 0.43 | 1.68 ± 0.31 |
| Factor VIII | (%) | PLD-C | 101 ± 21 | | | | | |
| | | PLD-A | 102 ± 32 | | | | | |
| | | BCPD | 93 ± 5 | | | | | |

Data are shown as mean ± SD (n = 6) * p < 0.05

PLD-C group vs PLD-A group (two-tailed, paired t-test) PLD-C group vs BCPD group (two-tailed, unpaired t-test)

^a: Where values were undetectable, analysis was performed using the detection limit (10 ng/min)

水素ナトリウムが CPD 液に添加されていることによると推測する。

また ATP は赤血球形状に関与すると言われており²⁰⁾、保存後期(6, 7 週目)において、PLD-C 群のモルフォロジー・スコアが PLD-A 群よりも高く推移していたことと相関していた。

赤血球の代謝は pH が高く、リン酸が添加され

た CPD 液で採血した血液が ACD-A 液で採血した血液よりも進行することが知られている^{13,21)}。本評価でも PLD-C 群の方がグルコースの消費と乳酸の産生が顕著であった。

FFP の保存性比較では、凝固第 VIII 因子活性で 6 カ月目に有意差が見られた。しかし 0, 7 週目及び 12 カ月に有意差は認められず、両群間の第

Table 5 Characteristics of FFP during storage

| | | Whole blood | | FFP | | | |
|-------------|---------|----------------|---------------------|--------------------------|---------------------|--------------------------|---------------------|
| | | Pre-filtration | 0 day | 7 weeks | 6 months | 1 year | |
| C3a | (ng/mL) | PLD-C | 221 ± 78 | 201 ± 42 | 353 ± 121 | 550 ± 256 | 1,398 ± 667 |
| | | PLD-A | 180 ± 62 | 201 ± 57 | 367 ± 117 | 794 ± 476 | 1,034 ± 557 |
| | | BCPD | 168 ± 19 | 298 ± 28 * | 635 ± 118 * | 620 ± 202 | 942 ± 521 |
| C5a | (ng/mL) | PLD-C | 10 ± 0 ^a | 10 ± 1(n=1) ^b | 10 ± 0 ^a | 11 ± 1(n=1) ^b | 10 ± 0 ^a |
| | | PLD-A | 10 ± 0 ^a | 10 ± 0 ^a | 10 ± 0 ^a | 11 ± 1(n=3) ^b | 10 ± 0 ^a |
| | | BCPD | 10 ± 0 ^a | 10 ± 0 ^a | 10 ± 0 ^a | 11 ± 1(n=2) ^b | 10 ± 0 ^a |
| Factor VIII | (%) | PLD-C | 101 ± 21 | 96 ± 30 | 73 ± 16 | 80 ± 18 | 74 ± 15 |
| | | PLD-A | 102 ± 32 | 96 ± 24 | 75 ± 19 | 88 ± 18 * | 74 ± 19 |
| | | BCPD | 93 ± 5 | 93 ± 7 | 88 ± 7 | 93 ± 9 | 84 ± 10 |

Data are shown as mean ± SD (n = 6) * p < 0.05

PLD-C group vs PLD-A group (two-tailed, paired t-test) PLD-C group vs BCPD group (two-tailed, unpaired t-test)

^a: Where values were undetectable, analysis was performed using the detection limit (10 ng/min)

^b: Where values were undetectable, analysis was performed using the detection limit. () number of detectable measurements.

VIII 因子の推移に差は無いと判断した。秋野ら¹²⁾や Rapaille ら²²⁾も白血球除去の有無によって、第 VIII 因子の保存性に差が無いことを報告している。また両群の第 VIII 因子は、桑名ら²³⁾の報告よりも高い活性(70%以上)を示し、十分な止血効果が期待できるものとする。

PLD-C システムは、CPD 液の特徴である FFP 採取量の増加や良好な赤血球保存性等の利点を持ち、また PLD-A システムで生じる FFP 採取量の問題の改善が可能である為、PLD-A システムよりも有用であるとする。

2) PLD-C 群と BCPD 群との比較

両群とも赤血球回収率や調製される製剤容量に差は見られなかった。しかし製剤中の白血球及び血小板除去率は、白血球除去フィルターを使用した PLD-C 群の方が、BCPD 群よりもはるかに高かった。PLD-C 群の RC-MAP や FFP は、CE ガイドライン²⁴⁾及び AAB 基準²⁵⁾を十分満たし、白血球由来の輸血後副作用軽減が十分期待できるものであったのに対し、BCPD 群の RC-MAP や FFP には多くの白血球が残存し、輸血後副作用防止は期待できないものであった。RC-MAP の保存性比較において、輸血時の目詰まりや輸血後副作用の原因となるマクロアグリゲートの生成は、保存中に崩壊する白血球の DNA、血小板 debris やフィブリン等によるものである^{8,26)}。これは保存前に

白血球と血小板を高い割合で除去することによって軽減されるが^{10,11)}、本評価でも同様に BCPD 群で全週確認されたのに対し、PLD-C 群では全く確認されなかった。両群の TP や代謝関連物質の変動に差は認められないが、上清ヘモグロビン、K⁺ や LDH の値は BCPD 群の方が高くなる傾向にあった。溶血は白血球や血小板から放出される酵素に起因するもので²⁷⁾、白血球除去していない BCPD 群では、溶血の指標となる上清ヘモグロビンや K⁺ 等の経時的な増加が顕著であった。LDH の変動差については、PLD-C 群では LDH を放出する白血球や血小板が高率に除去されたことに起因するものである。

FFP の保存性比較においては、C5a や凝固第 VIII 因子の変動に差は見られなかった。一方マスト細胞に働きヒスタミン放出を促す C3a の変動は、保存 7 週目までは BCPD 群の方が PLD-C 群よりも有意に高く、白血球を高い割合で除去することによって C3a の活性化が抑制されたものとする。

V. 結 語

PLD-C システムは、保存前白血球除去により、白血球数を 10⁴ cell/bag オーダーにまで減らすことで、AAB 基準や CE ガイドラインを十分に満たす製剤の調製が可能であった。また血漿採取量の増加及び赤血球機能低下の抑制効果が期待で

き、白血球除去による血球成分への影響(溶血等)や血液の長期保存性も問題は無かった。

白血球や血小板はNHFT R等の重篤な輸血後副作用の要因とされるヒスタミンやサイトカイン等の生理活性物質を放出する。保存前に白血球を除去し、 $-4\log$ 以上の高い白血球除去性能を有する本システムは、秋野ら¹⁰⁾の報告と同様生理活性物質増加の抑制効果が期待できる。従ってPLD-Cシステムは、保存前白血球除去システムとして十分な性能を持ち、新規の製剤調製方法としても問題が無いことを確認した。

文 献

- 1) Högman, C.F., Gong, J., Hambræus, A., Johansson, C.S., Eriksson, L. : The role of white cells in the transmission of *Yersinia enterocolitica* in blood components. *Transfusion*, 32 : 654 657, 1992.
- 2) Kim, D.M., Brecher, M.E., Bland, L.A., Estes T.J., McAllister, S.K., Aguero, S.M., Carmen, R.A., Nelson, E.J. : Prestorage removal of *Yersinia enterocolitica* from red cells with white cell-reduction filters. *Transfusion*, 32 : 658 662, 1992.
- 3) Wenz, B., Burns, E.R., Freundlich, L.F. : Prevention of growth of *Yersinia enterocolitica* in blood by polyester fiber filtration. *Transfusion*, 32 : 663 666, 1992.
- 4) Buchholz, D.H., Aubuchon, J.P., Snyder, E.L., Kandler, R., Edberg, S., Piscitelli, V., Pickard, C., Napychank, P. : Removal of *Yersinia enterocolitica* from AS-1 red cells. *Transfusion*, 32 : 667 672, 1992.
- 5) 名雲英人, 松田裕一, 茶谷 真, 小川 徹, 竹中道子, 藤澤 洌, 清水 勝 : 赤血球 M・A・P 中の *Yersinia Enterocolitica* の白血球除去フィルターによる除去効果 汚染菌量と除去時期との関係 . *日輸血会誌*, 40 (1) : 32 38, 1994.
- 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 Leukocyto and Platelet Metabolites, Erythrocyte Lysis, Metabolism, and In Vivo Survival. *Semin. Hematol.*, 28 : 3 9, 1991.
- 7) 矢野真紀, 岡田基文, 豊田 庸, 田中光信, 瀬尾たい子, 柴田弘俊 : RC-M・A・P の微小凝集塊について 構成成分の検討 . *日輸血会誌*, 42(3) : 83 89, 1996.
- 8) 千葉清司, 漆原範子, 秋野光明, 中條聖子, 赤坂淳一, 高橋恒夫, 関口定美 : 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 (4) : 625 634, 1994.
- 9) 比留間潔 : 輸血用血液の Prestorage leukocyte depletion . *日輸血会誌*, 44 : 1 11, 1998.
- 10) 秋野光明, 瀬川紀美子, 新保雅之, 千葉真彰, 関口定美, 才川 聡, 黒木万貴子, 萩原武明 : 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ドシステムの開発とその性能評価 . *薬理と臨床*, 8 : 119 140, 1998.
- 11) 秋野光明, 山本定光, 才川 聡, 佐藤雅子, 瀬川紀美子, 小林健次, 池淵研二, 池田久寛 : 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(セバセルインテグラ MAP)を用いた血液製剤の調整と長期保存 . *日輸血会誌*, 46 (6) : 521 531, 2000.
- 12) 秋野光明, 粟倉裕美, 佐藤雅子, 山本定光, 才川聡, 小林健次, 池淵研二, 池田久寛 : 保存前に白血球除去した赤血球製剤の性状に対する抗凝固剤の影響 ACD-A 液と CPD 液の比較 . *日輸血会誌*, 47 (5) : 791 793, 2001.
- 13) 川村 薫, 堀江真理子, 岡田基文, 豊田 庸 : 赤血球 M・A・P の性状に対する抗凝固保存液の影響 ACD-A 液, CPD 液の比較検討 . *血液事業*, 15 (4) : 598 602, 1992.
- 14) 笹川 茂 : 輸血・血液製剤療法を行うための基本知識 採血と血液保存の実際 , 輸血・血液製剤療法ガイド 増補版 , 文光堂, 東京, 1999, 30 37.
- 15) 日本赤十字社血液事業部 . 技術部門 : 赤十字血液センター業務標準, 24 27, 1998.
- 16) 中條聖子, 高橋恒夫, 千葉清司, 藤川清三, 関口定美 : トップ & ボトムシステムによる血液製剤調整 : 抗凝固剤の及ぼす血液製剤の性状変化 . *日輸血会誌*, 40 (1) : 39 45, 1994.
- 17) 西川健一, 岡崎直人, 佐藤 鴨 : Ph の差による保存血球の容積の変化 . *日輸血会誌*, 38 (1) : 88, 1992.
- 18) 清水哲夫, 野田裕子, 日比里美, 鶴見広美, 高倉利美子, 後藤証二, 長谷川岩三, 福田常男 : CPD 血の PRP 量は ACD 血より多い . *血液事業*, 7 (1) : 39 41, 1984.
- 19) Gibson, J.G., Gregory, C.B., M.S., Button, L.N. : Citrate-phosphate-dextrose solution for preservation of human blood. A further report. *Transfusion*, 1 : 280 287, 1961.
- 20) Högman, C. F., Verdier, C.-H., Ericson , Hedlund, K., and Sandhagen, B. : Studies on the mechanism of human red cell loss of viability during storage at +4 in vitro. I. Cell shape and total adenylate concentration as determinant factors for post transfusion survival. *Vox Sang.*, 48 : 257 268, 1985.
- 21) 関口 彌, 遠山 博編集 : 血液の保存と管理 4

- 下液状保存), 輸血学(改訂第2版), 中外医学社, 東京, 1989, 81-115.
- 22) Rapaille, A., Moore, G., Siquet, J., Flament, J., Sondag-Thull, D. : Prestorage leukocyte reduction with in-line filtration of whole blood : Evaluation of red cells and plasma storage. *Vox Sang.*, 73 : 28-35, 1997.
- 23) 桑名敬彦, 久保純子, 増山哲也, 佐野秀明, 今関広一, 田山達也, 羽田憲司 : FFP および FP の品質試験 . *血液事業*, 7 : 416-417, 1984.
- 24) Council of Europe : Guide to the use, preparation and quality control of blood components, 3rd ed, Council of Europe Publishing, Germany, 1997.
- 25) Menitove, J.E. ed : Standards for Blood banks and transfusion services, 18th ed, American Association of Blood Banks, Bethesda, MD, 1997.
- 26) 関口定美, 千葉眞彰 : 新しい輸血血液製剤とその特徴 . *日本医事新報*, 3628 : 1, 1993.
- 27) Högman, C.F., Hedlund, K., Akerblom, O., Venge, P. : Red blood cells preservation in protein poor media. I leukocyte enzymes as a cause of hemolysis. *Transfusion*, 18 : 233-241, 1978.
-