

原 著

新しく開発された新鮮凍結血漿解凍装置の性能評価

江月 将史¹⁾³⁾ 川畑 絹代¹⁾ 猪狩 次雄¹⁾²⁾
金澤 和彌⁴⁾ 大戸 齊¹⁾

¹⁾福島県立医科大学附属病院 輸血・移植免疫部

²⁾同 手術部

³⁾川澄化学工業

⁴⁾北陽電機

(平成 18 年 3 月 29 日受付)

(平成 18 年 7 月 18 日受理)

新鮮凍結血漿 (Fresh Frozen Plasma : FFP) は採血後、 -20°C 以下で凍結保存される。使用時には $30\sim 37^{\circ}\text{C}$ の恒温槽で解凍されているが、その作業操作は病院施設により異なる。そこで今回、新たに開発された FFP 解凍装置 (FP-40, 北陽電機/川澄化学) を評価した。

FFP は 1 単位 (FFP-1)、2 単位 (FFP-2) 及び 5 単位 (FFP-5) 製剤を用い FP-40 の解凍時間、解凍時の水温の変動を評価した。また、解凍後の凝固因子 (PT : プロトロンビン時間, APTT : 活性化部分トロンボプラスチン時間, フィブリノーゲン, 第 V 因子及び第 VIII 因子) を測定した。

標準的な恒温槽で解凍した場合、FFP-1 を解凍するのに約 17 分かかったが、FP-40 では約 5 分で解凍が可能であった。FP-40 の解凍能力は、FFP-2 で約 9 分、FFP-5 で約 15 分であり、4 バッグまで同時に解凍しても解凍時間に影響を及ぼさなかった。また、解凍時の水温は常に安定していた。PT は FP-40 で 88.2%、恒温槽で 81.7% であり、有意な差が認められた ($p < 0.05$)。その他の項目 (APTT, フィブリノーゲン, 第 V 因子, 第 VIII 因子) では両解凍方法間に有意な差を認めなかった。

新たに開発された解凍装置は FFP を安定条件下で解凍でき、より短時間での解凍を可能にした。病院内での操作性の統一や品質管理、作業効率の向上の観点から、FFP を適正温度で安全・短時間で解凍できる専用装置の使用は有用であると考えられる。

キーワード : 新鮮凍結血漿, 解凍装置, 凝固因子

はじめに

新鮮凍結血漿 (Fresh Frozen Plasma : FFP) は、献血された血液から得られた血漿を採血後 6 時間以内に凍結したもので、 -20°C 以下に保存される。FFP の解凍は、米国では $30\sim 37^{\circ}\text{C}$ の温度で解凍するか、米国食品医薬品局 (FDA) 承認の電子レンジで解凍するとされている¹⁾。日本では $30\sim 37^{\circ}\text{C}$ の恒温槽または、やむを得ず温水で解凍する場合には、温度計を使用し、適宜温水を加えて $30\sim 37^{\circ}\text{C}$ を保つこととされているが²⁾³⁾、方法は病院施設毎に異なり統一されていない。温度管理以外にも、恒温槽で解凍する場合には細菌汚染

も考慮し、輸血セットの差込口が水で汚染されるのを防ぐためにビニール袋に入れて解凍を実施している。

FFP の投与は凝固因子の欠乏による出血傾向の是正を目的に行う。特に複数の凝固因子を補充することによる止血効果をもたらすことにある。しかし、解凍時の温度が適正でない場合、製剤に悪影響を及ぼすことが知られている。 37°C を超える高温で解凍すると蛋白の変性を引き起こすことがある。また、 30°C 以下の低い温度で解凍すると不溶性のクリオプレシピテートを生じることがある。このように解凍時の温度管理は非常に重要で

ある。

FFPの解凍には、1)適正な温度での解凍、2)細菌汚染リスクの低減・安全性管理、3)作業効率の向上などが求められる。そこでFFPの解凍時間の短縮、簡易な操作による解凍を目指し、新たなFFP解凍の専用装置が開発された⁴⁾。今回は解凍装置の解凍能力と解凍時に凝固因子に与える影響を観察するために解凍した製剤のプロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノーゲン及び不安定凝固因子の測定・評価を行った。

材料および方法

1. 製剤調整

FFPは期限切れ、誤融解など種々の理由で使用できなくなった、1単位製剤 (FFP-1)、2単位製剤 (FFP-2) 及び5単位製剤 (FFP-5) と一部院内で採取した製剤を用いた。凝固因子の測定には一度解凍したFFP-2を2つのバッグに分け、同ロットのFFP-1を2本作製して再凍結し比較評価に用いた。また、サンプルは試験に使用するまで -30°C 冷凍保存した。

2. 解凍装置

FFPの専用解凍装置 (FP-40、北陽電機/川澄化学) を通常の恒温槽 (TINCUBATOR PERSONAL, TAITEC) と比較し、共に内容量を水18lで統一して評価した。FP-40は水槽、温度コントロール部、ホルダーガイド及びプロテクタバッグ付ホルダーから構成されている (Fig. 1)。水槽の大きさは幅20cm×奥行40cm×高さ30cmで、ポリプロピレン系の素材を用いているため、全面が透明で解凍中のFFP製剤を外部から確認することができる。温度コントロール部は水温を 37°C に自動制御し、ホルダーガイド部分との連携による振盪攪拌機能でFFPの解凍を促進している。ホルダーは4バッグまで設置でき、最大20単位 (FFP-5×4バッグ) の同時解凍が可能である。

3. 評価項目

1) 解凍時間と水温の変動

FP-40の解凍性能を評価するため、恒温槽を対照機種としてFFP-1単位1バッグの評価を実施した (n=10)。各単位数とバッグ数における評価

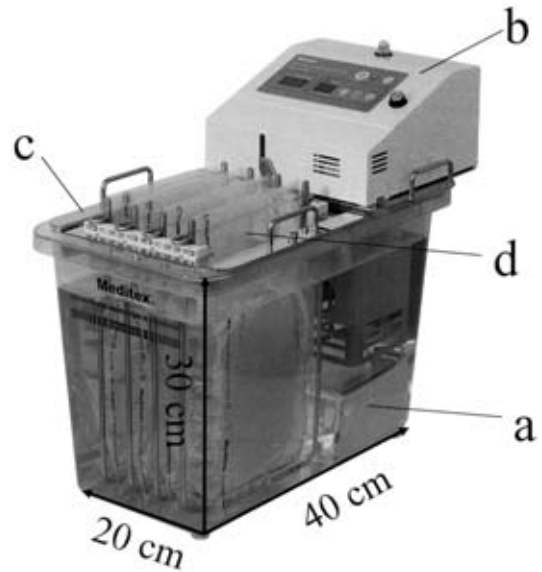


Fig. 1 A new thawing thermostatic chamber for fresh-frozen plasma

This thermostatic chamber consists of (a), a water bath; (b), a temperature controller; (c), a holder; and (d), a protector bag.

はFP-40のみで実施した (n=5)。解凍評価は -20°C 冷凍庫から取り出したFFP製剤を各装置に入れ、完全に製剤が融解するまでの時間を測定した。評価に用いたバッグ数はFFP-1、FFP-2及びFFP-5すべてで1バッグ、2~4バッグ同時の4パターンを実施した (n=5)。また、解凍中の水温変化をDATA LOGGER (ADVANTEST) で持続的にモニタリングした。

2) 凝固因子活性の測定

FP-40の対照機種として恒温槽を用い、FFP-1単位1バッグのみを評価に用いた (n=10)。評価はPT、APTT、フィブリノーゲンおよび不安定凝固因子である第V因子と第VIII因子の5項目を実施した。検査試薬はPTにはトロンボレルS (Sysmex)、APTTにはパトロンチンSLと塩化カルシウム溶液 (ともにヤトロン)、フィブリノーゲンにはトロンビン試薬・LQ (Sysmex)、凝固因子活性測定には第V因子欠乏血漿と第VIII因子欠乏血漿 (ともにSysmex) を用いた。また、コントロール血漿は血漿凝固試験用コントロール血漿と

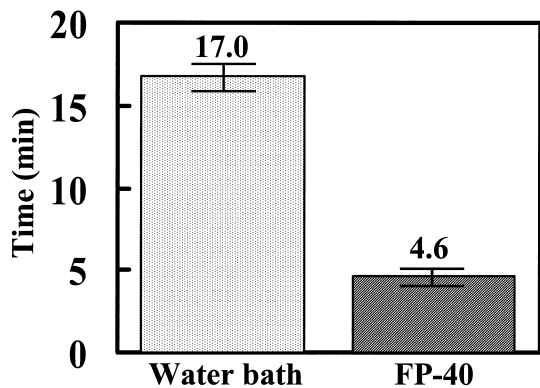


Fig. 2 Thawing time comparison of a water bath and the FP-40

Water temperature was estimated at 37°C. One bag of FFP-1 was thawed (mean \pm SD, n = 10).

コアグトロールを用いた. 不安定因子である第 V 因子, 第 VIII 因子を測定するため, サンプルは解凍後, 迅速に Coagrex-800 (Sysmex) で測定した (n = 10).

4. 統計解析

測定データは平均 \pm 標準偏差で表し, 値を比較するために Paired-t 検定を用いた. p 値は < 0.05 で有意差があると判断した.

結 果

1. 解凍時間

解凍性能として FP-40 と対照恒温槽群を比較すると, 対照群が FFP-1 を完全に解凍するまでに平均 17.0 分かかったのに対し, FP-40 群は平均 4.6 分で解凍することができた (Fig. 2).

FP-40 による単位数とバッグ数別における解凍時間は FFP-1 で平均 5.1 分, FFP-2 で平均 8.8 分, FFP-5 で平均 14.5 分であった. 3 種の FFP 製剤ともバッグ数が 4 バッグまで増えても解凍時間が長くなることはなかった (Fig. 3).

2. 水温の変動

解凍時における水温の変動は, FFP-1 と FFP-2 では 1~4 バッグと各バッグ数において水温の変化は見られず, 温度条件は 37°C で安定していた. FFP-5 は 1~2 バッグの解凍までは温度変化がみられなかったが, 3 バッグの解凍で, 開始 1 分経過

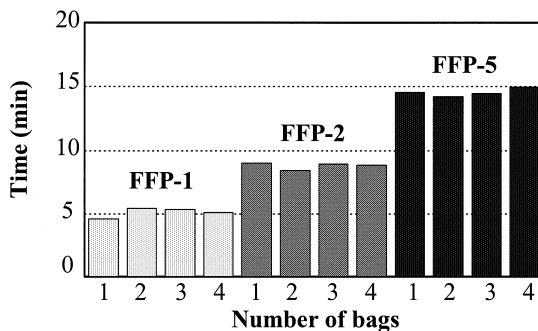


Fig. 3 Thawing capability of FP-40

Thawing time evaluation by the number of units and bags of FFP (mean, n = 5).

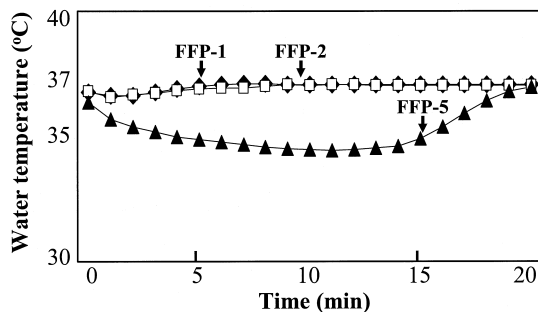


Fig. 4 Change in water temperature of FP-40

Change of the water temperature at the time of the dissolution in four bags (mean, n=5).

◆ : FFP-1, □ : FFP-2, ▲ : FFP-5, ↓ : finish thawing

までに 36°C まで水温が低下し, 解凍終了と同時に 37°C に水温が上昇・安定した. また, 4 バッグの場合, 解凍開始から徐々に水温が低下し, 10 分後に最低温度の 34.4°C を示した. 解凍終了してから水温が上昇し, 5 分で 37°C に安定した (Fig. 4).

3. 凝固因子活性の測定

PT は FP-40 群で 88.2%, 対照群で 81.7% であり, 有意な差が認められた (p < 0.05). その他の項目 (APTT, フィブリノーゲン, 第 V 因子, 第 VIII 因子) では両解凍方法間に有意な差を認めなかった (Table 1).

考 察

世界的に使用されている解凍方法は, 1) 加温水槽方式, 2) 空気加温方式, 3) マイクロウェーブ

Table 1 Coagulation factor activities in fresh frozen plasma

	PT (%)	APTT (sec)	Fibrinogen (mg/dl)	Factor V (%)	Factor VIII (%)
FP-40	88.2±5.6	35.9±2.6	311.5±40.4	102.0±11.8	89.8±15.3
Water bath	81.7±5.2	37.4±3.9	276.8±71.4	103.6±15.0	95.6±33.9
P-value	0.05	N.S	N.S	N.S	N.S

Mean ± SD, n = 10.

PT : prothrombin time, APTT : activated partial thromboplastin time

方式があげられ、各解凍方式の専用装置も販売されている。米国ではFDAの承認を得ている専用装置での解凍が推進されているが、日本では30～37℃の恒温槽又は容器などに温水を張って使用するのが一般的である²⁾³⁾。恒温槽での解凍は、頻繁に温度調整をして37℃前後に水温を維持した場合でもFFP-2で20～25分、温度管理していない病棟では30～40分かかると報告されている⁵⁾。また、37℃の温水を張った容器で解凍した場合、FFP-2で約1時間、FFP-5で約2時間かかるとされ、解凍時間だけを考えても効率的ではない。一方、専用装置の場合はFFP-2を1バッグ解凍するのに水温加温方式は約10～12分⁶⁾、空気加温方式は約10分、マイクロウェーブ方式は2～3分で解凍ができるとされ大変効率的である⁷⁾。既にいくつかのFFP解凍装置が市販されているが、日本では広く普及するに至っていない。この理由として現在市販されている解凍装置が外国製造のため、高価であることがあげられる。今回、新たに開発されたFP-40は完全国産製造であり、低価格化を目指して開発を進めたため、他の専用解凍装置に比べ低価格である。また、FP-40はFFP解凍時の温度分布を均一にし易く、温度制御が容易である加温水槽方式を採用している。37℃恒温槽を対照群としてFP-40の解凍性能を確認した結果、恒温槽ではFFP-1を1バッグ解凍するのに約17分かかったが、FP-40では約5分と短時間での解凍が可能であった。FP-40と恒温槽ともにFFP-1解凍時に水温変動は認められず、常に37℃で安定していたことから、この解凍時間の差は水温の変動によるものではないと考えられた。FP-40は1)製剤を立てた姿勢でプロテクタバッグに収納できるた

め全体浸漬でき、製剤全体へ温度が均一に伝わる、2)温度コントローラの攪拌ポンプにより、常に加温ヒーターで温めた温水を吐出し、循環させることで水槽内の水温を効率的に37℃に維持でき、3)振盪機能により短時間での解凍を可能にしていると考えられた。また、FFP-2を解凍するのに1～4バッグの範囲で約9分あれば解凍ができ、FFP-5を4バッグ解凍でも所要時間は約15分と短く、有用な方法であると考えられた。

誤った方法で解凍を行うとFFPに悪影響を与えるとされている。37℃を超える高い温度で解凍、または湯の注ぎ足しにより熱湯がFFPに接触した場合に、変性タンパクとして白色の凝固物が発生する。特に、熱湯がかかりすぎるとバッグ全体にかき玉状の凝固物が発生することがある。また、50℃で解凍し、そのまま恒温槽に放置した場合、凝固第V因子と凝固第VIII因子は急激に低下することが知られている³⁾。解凍温度が低すぎても、白色ゼラチン様の沈殿物を析出することがある。この沈殿物は多量の凝固因子を含んでいるクリオプレシピテートで、そのまま使用しても凝固因子の補充効果を期待できず、輸血セットの目詰まりの原因にもなり得る。この凝固物は白色または半透明で弾力性があり、殆どのものが37℃の加温で消失する。よって解凍時の温度管理は極めて重要である。今回評価したFP-40はFFP-5を4バッグ同時に解凍しても常に水温を30～37℃の間に維持でき、安定して解凍を実施できた。

FFPの主たる投与目的は低下した血漿凝固因子活性を上昇させてフィブリン形成による二次止血の効果を高めることにある。そのためFFPの投与前には、PT、APTT及びフィブリノーゲン値を

測定することが原則とされている。そこで今回は、PT, APTT とフィブリノーゲンに加え、不安定凝固因子である第 V 因子と第 VIII 因子を測定項目とした。不安定凝固因子は、37°C 恒温槽で解凍して直に測定した場合、第 V 因子が $103 \pm 19\%$ 、第 VIII 因子は $102 \pm 25\%$ であったと報告され⁸⁾、第 VIII 因子の方が解凍後の劣化が早いとされている⁹⁾。今回の結果では、第 VIII 因子が FP-40 で $89.8 \pm 15.3\%$ 、恒温槽で $95.6 \pm 33.9\%$ と低い値を示した。これは凝固因子の測定に一度解凍後、再凍結したサンプルを使用していることが影響していると考えられた。また、PT 値に有意な差 ($p < 0.05$) が認められたが、これは FP-40 (約 5 分) に比べて、恒温槽 (約 17 分) の解凍時間が長かったために PT が低下したと考えられた。凝固因子は一般に 30% あれば止血機構は充分機能するといわれており¹⁰⁾、FP-40 による凝固因子への影響は、臨床的に問題ない程度であると考えられる。

他に FFP の懸念材料としてあげられるのはバッグ破損と解凍時の温水付着による細菌汚染の 2 点があげられる。前者は FFP が凍った状態ではバッグが非常にもろく、粗雑に扱うと破損し易いことが知られており、恒温槽に浸して解凍する場合には製剤が固定されていないこともあるため、バッグが恒温槽から落下し、破損する可能性も否定できない。後者は製剤を温水に触れないようにビニール袋に入れて解凍することで予防をしているが、統一された方法がなく、こちらも細菌汚染対策として確立されているとは考え難い。その点、FP-40 は FFP がプロテクタバッグ内に納まるため、解凍中の破損は起こり難く、特殊フィルムで作製されたプロテクタバッグは温水との接触をブロックする。また、常に新品と交換することができるため衛生的でもある。

解凍するときの注意点として、1) 水温は 37°C に調整する、2) バッグを水中に沈め、全体に温度がかかるとする、3) バッグを時折攪拌する、4) 温水で解凍する場合には温水をこまめに交換する等があげられる。今回、評価した FP-40 は温度を自動的に 37°C まで上昇させ、その後持続的に水

温を保持できた。解凍時には FFP がプロテクタバッグ内に納まることで温水に触れることなく、また、振盪攪拌機能により効率的な解凍を可能にしている。FP-40 は安定した解凍能力を有するため、解凍までの所要時間を推測でき、タイマー機能を活用することにより、製剤が完全に解凍するまでその場で監視している必要がない。さらに水温の過上昇の保護、ヒーターの空焚きを防ぐ減水検知機能、センサー異常検知などの解凍中の異常を警告するアラーム機能が備わっているため、解凍中の品質管理を行うこともできる。病院内での操作性の統一や品質管理、作業効率の向上の観点から、FFP を適正温度で安全・短時間で解凍できる専用装置の使用は有用であると考えられる。

文 献

- 1) AABB Technical manual 14th ed, 2004, 165—166.
- 2) 血液製剤の使用指針 (改正版): 厚生労働省医薬食品局血液対策課, 2005.
- 3) 輸血情報: 新鮮凍結血漿「日赤」(FFP) FFP の融解方法について, 9312—9316.
- 4) 福原之博, 早坂 梓, 出羽 仁, 他: 国産新鮮凍結血漿解凍器の開発. 日本手術医学会誌, 26 : 84, 2005.
- 5) 澤田貴子, 八代妙子, 遠藤直美, 他: 新鮮凍結血漿の解凍方法の検討. 手術医学, 18 : 138—140, 1997.
- 6) 山崎美穂, 寺内純一, 坂本 大, 他: 凍結バッグ自動解凍器の使用経験. 日本輸血学会誌, 43 : 230, 1997.
- 7) O'Shaughnessy DF, Atterbury C, Bolton MC, et al : Guidelines for the use of fresh-frozen plasma, cryoprecipitate and cryosupernatant. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Br J Haematol, 126 : 11—28, 2004.
- 8) Ram MK, Edward EM, Sophia P : Labile coagulation factors in thawed fresh frozen plasma prepared by two methods. Vox Sang, 46 : 44—46, 1986.
- 9) Nilsson L, Hedner U, Nilsson M, et al : Shelf-life of bank blood and stored plasma with special reference to coagulation factors. Transfusion, 23 : 377—381, 1983.
- 10) Martin D, Lucas C, Ledgerwood A, et al : Fresh-frozen plasma supplement to massive red blood cell transfusion. Ann Surg, 202 : 505—511, 1985.

A NEW THAWING THERMOSTATIC CHAMBER FOR FRESH FROZEN PLASMA

Shoji Ezuki¹⁾³⁾, Kinuyo Kawabata¹⁾, Tsuguo Igari¹⁾²⁾, Kazuya Kanazawa⁴⁾ and Hitoshi Ohto¹⁾¹⁾Division of Blood Transfusion and Transplantation Immunology,²⁾Division of Surgical Center and Operating Room, Fukushima Medical University³⁾Kawasumi Laboratories, Inc.⁴⁾Hokuyo Inc.

Fresh frozen plasma (FFP), prepared from whole blood or blood for apheresis, should be frozen at -20°C and thawed in a water bath at $30-37^{\circ}\text{C}$. In this study, we evaluated a newly developed thermostatic thawing chamber (FP-40, Hokuyo ; Kawasumi, Japan).

The FP-40 was evaluated in terms of the stability of its thawing performance and water temperature. The coagulation factors (prothrombin time, PT ; activated partial thromboplastin time, APTT ; fibrinogen, factors V and VIII) of thawed FFP were measured.

Thawing time using the FP-40 for FFP-1 was about 5 minutes, which was 17 minutes faster than that using a standard water bath FFP-2 and FFP-5 thawed in about 9 and 15 minutes, respectively. Thawing time was not influenced by the number of bags in the FP-40. Water temperature was stable during thawing. The PT of FFP thawed in the FP-40 was better than that of FFP thawed in the water bath (88.2% vs 81.7%, $p < 0.05$). There were no significant differences between the two methods in terms of APTT, or fibrinogen activities, and factors V and VIII.

This new thermostatic chamber is effective in shortening the time needed to thaw FFP and in maintaining the activity of coagulation factors in thawed FFP.

Key words : Fresh frozen plasma, Thermostatic chamber, Coagulation factors
