

## 市販輸液製剤の混合物である新たな洗浄置換液 (M-sol) による血小板の保存

平山 順一 東 寛 藤原 満博 秋野 光明 本間 稚広  
山本 定光 加藤 俊明 池田 久實

血小板製剤による輸血副作用を発症する患者に対し、洗浄置換血小板 (W/R-PC) を使用する場合があります。我が国では数種類の洗浄置換液が使用されているが、血小板の保存性能などを詳細に検討した報告はほとんどなく、W/R-PC の有効期限なども統一されていない。最近われわれは血小板保存性能の優れた洗浄置換液 (M-sol) が市販輸液製剤のみで調製できることを明らかにした。本研究では現在我が国で広く使用されている洗浄置換液 3 種と M-sol について血小板保存性能の比較検討を行った。さらに M-sol の液状での保存方法についても検討を行った。

M-sol, ブドウ糖加酢酸リンゲルを主とする液, 生理食塩水 + ACD-A, 冷凍血液洗浄用液 3 号 + ACD-A により W/R-PC を 96 時間まで保存した。測定項目である pH, P セレクチン陽性率, %HSR, %Disk, MPV, 凝集能, グルコース, 乳酸の数値から判断すると、洗浄置換後 6 時間以内ならばいずれの洗浄置換液中でも血小板機能は良好であったが、24 時間を超えて保存する場合は M-sol の場合のみ通常の PC と同等もしくはそれ以上の機能が維持されていた。また M-sol の液状保存に関しては、アルミ蒸着した袋を用いて 4°C で静置することにより、少なくとも 3 カ月間安定に保存できることが明らかになった。

キーワード：輸血副作用, 保存液, M-sol, 血小板保存, 血小板洗浄置換

## 目 的

アフエレーシス技術の進歩と保存前白血球除去の導入により、血小板製剤 (PC) による輸血副作用は減少したが<sup>1,2)</sup>、保存中に血小板から放出されるサイトカインやその他の血漿成分に起因する輸血副作用の発生は避けられない<sup>3,4)</sup>。輸血副作用を発症する患者に対しては洗浄置換血小板 (W/R-PC) を使用する場合があります。W/R-PC の副作用抑制効果については複数の施設から報告されている<sup>5-8)</sup>。たとえば麻田らの結果<sup>5)</sup>によると、頻回に副作用を繰り返す患者 71 名において W/R-PC 使用前後の副作用出現率を比較すると、使用前は 50.4% であったが、使用後は 2.2% まで顕著に減少した、とされている。

洗浄置換液に関しては我が国でも 10 年以上前から研究が行われてきたが<sup>9-11)</sup>、未だに製品化されていない。最近われわれは、血小板機能を長時間維持できる洗浄置換液 (M-sol) が市販の輸液製剤を混合することにより調製可能であると報告した<sup>12)</sup>。また実際に患者に輸血することにより、M-sol で洗浄置換した血小板は副作用抑制効果や輸血効果 (CCI) が良好であることも報告した<sup>13)</sup>。

我が国では数種類の洗浄置換液 (市販輸液製剤の混

合物) が使用されているが、それぞれの洗浄置換液の血小板保存性能などを詳細に検討した報告はほとんどなく、有効期限などは統一されていない<sup>14)</sup>。血小板がより良い状態で輸血されるためには、それぞれの洗浄置換液の血小板保存性能を明らかにし、適正な有効期限を設定することが重要である。

本研究では我が国での使用頻度が高い、ブドウ糖加酢酸リンゲルを主とする液 (Sol-1), 生理食塩水 + ACD-A (Sol-2), 冷凍血液洗浄用液 3 号 + ACD-A (Sol-3) および M-sol を用い、それぞれの洗浄置換液の血小板保存性能について 96 時間血小板製剤の最長有効期間まで比較検討した。さらに作り置きすることを目的に M-sol 自体をより長期間、液状で保存する方法についても検討を行った。

## 材料および方法

## 洗浄置換液の調製

洗浄置換液は用時調製とした。輸液製剤の混合比は Table 1 に示した。輸液製剤は血液バッグ中で混合した。混合操作はクリーンベンチ内で行った。

## PRP の調製

ABO 型同型の 16 袋のパフィーコートをプールし、

Table 1 Preparation of additive solutions (ml)

	M-sol	Sol-1	Sol-2	Sol-3
SOLACET-F	500	0	0	0
Veen-D	0	500	0	0
MEYLON	35	40	0	0
ACD-A	85	150	5	15
Diluted MEDIJECT-Mg *	50	0	0	0
Saline	0	0	500	0
冷凍血液洗浄液 3号	0	0	0	500
Distilled Water	0	500	0	0
Total	670	1,190	505	515

\* 460 ml Distilled Water + 20 ml MEDIJECT-Mg

340ml の同型の血漿を添加した。その遠心(2,340g, 10 min) 上清を Sepacell PLX (Asahi Medical Co., Ltd.) により白血球除去したものを platelet rich plasma (PRP) とした。PRP を 4 等分し、ポリオレフィン製の血液バッグ (KBP-600CP, Kawasumi Laboratories, Inc.) 中で洗浄置換開始までの約 20 時間, 22°C で振とう (50~60 cycles/min) 保存した。

#### 血小板の洗浄

4 等分した PRP それぞれ 1 袋あたりに 100ml の洗浄置換液を添加し, 遠心 (1,960g, 10min) を行い, 分離スタンドを用いて上清を出来るだけ除去し, 再び 120 ml の洗浄置換液を添加した。その後 96 時間, 22°C で振とう保存した。

#### 各種パラメーターの測定

血小板数と平均血小板容積 (MPV) は自動血球分析装置 (Sysmex XE-2100) で測定した。MPV の測定には, PRP または W/R-PC 100 $\mu$ l に同型の血漿 900 $\mu$ l を添加したものを測定用サンプルとした。pH および血液ガス分圧は自動血液ガス分析装置 (248 pH/blood gas analyzer, Chiron diagnostics Ltd., Essex, U.K.) により測定した。凝集能は, 測定サンプルにコラーゲン (最終濃度 20 $\mu$ g/ml) と塩化カルシウム (最終濃度 3.3mM) を添加し, 血小板凝集計 (MCM HEMA TRACER 313M, MCMEDICAL Inc.) を用いて測定した。コラーゲン (Horse tendon collagen) はコラーゲンリエージェントホルム (Nycomed Pharma GmbH, Munich, Germany) を用いた。浸透圧ショック反応 (%HSR) および血小板形態 (%Disk) は常法により測定した。P セレクチン陽性率の測定は Hagberg らの方法<sup>15)</sup>に従った。血小板を PE 標識抗 CD62P 抗体および FITC 標識抗 CD61 抗体で染色し, フローサイトメーター (LSR, Becton-Dickinson, San Jose, CA) を用いて測定した。陰性コントロールとして PE 標識抗マウス IgG 抗体および FITC 標識抗マウス IgG 抗体を使用した。抗体は BD bioscience-Pharming (San Jose, CA) から購入した。タンパク濃度は BCA protein Assay Reagent Kit (PIERCE, IL,

Table 2 Composition of additive solutions (mM)

	M-sol	Sol-1	Sol-2	Sol-3
Sodium chloride	77	43.1	152	133
Potassium chloride	3.0	1.7	0	0
Magnesium sulfate	1.6	0	0	0
Sodium bicarbonate	44	28	0	0
Glucose	15	132	1.21	14.3
Sodium acetate	21	18.8	0	0
Sodium citrate	10.8	9.43	0.74	2.18
Citric Acid	4.8	4.80	0.38	1.11
Sodium phosphate	0	0	0	11.0
Calcium chloride	1.0	0.8	—	0

USA) または紫外吸収法により測定した。グルコースおよび乳酸の濃度はグルコース CII テストワコー (Wako Pure Chemical Industries, LTD.) およびデタミナー LA (Kyowa Medex Co., Ltd.) により算出した。

#### M-sol の保存

M-sol (約 600ml) をポリオレフィン (PO) 製の血液バッグ (KBP-1000CP, Kawasumi Laboratories, Inc.) または塩化ビニル (PVC) 製の血液バッグ (KBP-1000 C, Kawasumi Laboratories, Inc.) に注入し, 血液バッグ中のエアを出来るだけ抜き取った。その血液バッグをさらにアルミ蒸着した袋 (ラミジップ, AL-J, 生産日本社) に入れ, バキュームシールし, 4°C で 3 カ月間, 静置保存した。

#### 市販輸液製剤

SOLACET F (NaCl 3.0g, KCl 0.15g, CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0.1g, CH<sub>3</sub>COONa · 3H<sub>2</sub>O 1.9g in 500ml; TERUMO Corporation), Veen-D (Glucose 25.0g, NaCl 3.0g, KCl 0.15g, CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0.1g, CH<sub>3</sub>COONa · 3H<sub>2</sub>O 1.9g in 500ml; Nikken Chemicals Co., Ltd.), MEYLON (NaHCO<sub>3</sub> 7%, Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.), ACD-A (Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> · 2H<sub>2</sub>O 2.20%, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> · H<sub>2</sub>O 0.8%, Glucose 2.20% w/v; Kawasumi Laboratories, Inc.), MEDIJECT Mg (MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.5M; TERUMO Corporation), Saline (NaCl 9.0g in 1,000ml; Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.), 冷凍血液洗浄液 3号 (NaCl 0.8%, Glucose 0.2%, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 12H<sub>2</sub>O 0.294%, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2H<sub>2</sub>O 0.049% w/v; FUSO Pharmaceutical Industries, Ltd.) Distilled water (Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.) が本研究で用いられた市販輸液製剤である。

#### 統計処理

M-sol の液状保存に関しては t 検定, それ以外の場合には ANOVA により統計処理を行った。P < 0.05 を統計的有意とした。

Table 3 Changes of in vitro variables during storage

	0hr	6hr	24hr	96hr
<u>pH</u>				
Plasma	7.04 ± 0.02	7.03 ± 0.09 <sup>b, c, d, e</sup>	7.03 ± 0.08 <sup>c, d, e</sup>	6.88 ± 0.09 <sup>b, c, d, e, f</sup>
M-sol	NT	6.82 ± 0.03 <sup>a, c, d, e, f</sup>	7.03 ± 0.03 <sup>c, d, e</sup>	7.33 ± 0.05 <sup>a, c, d, e, f</sup>
Sol-1	NT	6.50 ± 0.05 <sup>a, b, d, e, f</sup>	6.68 ± 0.07 <sup>a, b, d, e, f</sup>	6.68 ± 0.06 <sup>a, b, d, e, f</sup>
Sol-2	NT	5.35 ± 0.08 <sup>a, b, c, e, f</sup>	4.95 ± 0.08 <sup>a, b, c, e, f</sup>	5.02 ± 0.05 <sup>a, b, c, f</sup>
Sol-3	NT	6.35 ± 0.03 <sup>a, b, c, d, f</sup>	5.90 ± 0.13 <sup>a, b, c, d, f</sup>	5.04 ± 0.09 <sup>a, b, c, f</sup>
<u>P-selection (%)</u>				
Plasma	0.93 ± 0.33	1.03 ± 0.42	1.53 ± 0.55 <sup>c, d, e</sup>	5.46 ± 2.16 <sup>c, e</sup>
M-sol	NT	0.94 ± 0.19	1.46 ± 0.27 <sup>c, d, e</sup>	3.17 ± 1.16 <sup>c, e</sup>
Sol-1	NT	1.99 ± 0.72	13.7 ± 1.3 <sup>a, b, d, f</sup>	25.1 ± 1.3 <sup>a, b, e, f</sup>
Sol-2	NT	4.23 ± 1.16	43.0 ± 12.3 <sup>a, b, c, e, f</sup>	NT
Sol-3	NT	4.44 ± 1.47	19.6 ± 5.9 <sup>a, b, d, f</sup>	57.8 ± 11.4 <sup>a, b, c, f</sup>
<u>HSR (%)</u>				
Plasma	81.2 ± 2.5	83.2 ± 2.5 <sup>c</sup>	79.5 ± 3.3 <sup>c, d, e</sup>	76.4 ± 4.1 <sup>c, e</sup>
M-sol	NT	77.4 ± 5.8	75.6 ± 1.3 <sup>c, d</sup>	75.5 ± 2.4 <sup>c, e</sup>
Sol-1	NT	60.4 ± 3.5 <sup>a, f</sup>	41.8 ± 4.7 <sup>a, b, d, e, f</sup>	16.4 ± 2.0 <sup>a, b, e, f</sup>
Sol-2	NT	61.5 ± 4.8	0.75 ± 0.50 <sup>a, b, c, e, f</sup>	NT
Sol-3	NT	76.7 ± 2.9	71.4 ± 2.8 <sup>a, c, d</sup>	3.1 ± 4.7 <sup>a, b, c, f</sup>
<u>Disk (%)</u>				
Plasma	67.0 ± 10.6	66.9 ± 8.2 <sup>b, c, d, e</sup>	60.2 ± 8.0 <sup>c, d, e</sup>	43.4 ± 9.1 <sup>b, c, e, f</sup>
M-sol	NT	42.5 ± 6.5 <sup>a, c, d, f</sup>	61.4 ± 6.4 <sup>c, d, e</sup>	71.0 ± 5.1 <sup>a, c, e</sup>
Sol-1	NT	21.0 ± 4.4 <sup>a, b, d, e, f</sup>	37.4 ± 8.4 <sup>a, b, d, e, f</sup>	27.6 ± 7.4 <sup>a, b, e, f</sup>
Sol-2	NT	6.63 ± 3.15 <sup>a, b, c, e, f</sup>	0.75 ± 0.60 <sup>a, b, c, e, f</sup>	NT
Sol-3	NT	48.2 ± 5.1 <sup>a, c, d, f</sup>	28.8 ± 5.1 <sup>a, b, c, d, f</sup>	0.60 ± 0.60 <sup>a, b, c, f</sup>
<u>MPV (fl)</u>				
Plasma	8.08 ± 0.23	8.04 ± 0.23 <sup>e</sup>	7.79 ± 0.23 <sup>d</sup>	7.97 ± 0.22 <sup>e</sup>
M-sol	NT	8.29 ± 0.44 <sup>e</sup>	8.06 ± 0.26 <sup>d</sup>	7.89 ± 0.16 <sup>e</sup>
Sol-1	NT	8.14 ± 0.19 <sup>e</sup>	7.86 ± 0.09 <sup>d</sup>	7.87 ± 0.06 <sup>e</sup>
Sol-2	NT	7.86 ± 0.23	9.10 ± 0.20 <sup>a, b, c, e, f</sup>	NT
Sol-3	NT	7.56 ± 0.14 <sup>a, b, c, f</sup>	7.77 ± 0.24 <sup>d</sup>	10.1 ± 0.2 <sup>a, b, c, f</sup>
<u>Aggregation (%) (20µg/mL collagen)</u>				
Plasma	85.5 ± 2.5 <sup>c, d</sup>	83.0 ± 3.9 <sup>d</sup>	86.4 ± 9.5 <sup>c, d, e</sup>	67.7 ± 5.9 <sup>b, c, e, f</sup>
M-sol	NT	86.5 ± 5.0 <sup>d</sup>	86.1 ± 4.2 <sup>c, d, e</sup>	85.4 ± 4.3 <sup>a, c, e</sup>
Sol-1	NT	74.2 ± 9.5	45.0 ± 9.7 <sup>a, b, d, e, f</sup>	29.1 ± 9.5 <sup>a, b, e, f</sup>
Sol-2	NT	63.4 ± 12.0 <sup>a, b, e, f</sup>	20.1 ± 1.0 <sup>a, b, c, e, f</sup>	NT
Sol-3	NT	80.6 ± 7.5 <sup>d</sup>	70.4 ± 10.8 <sup>a, b, c, d</sup>	13.1 ± 4.7 <sup>a, b, c, f</sup>

The results (mean ± standard deviation) of four or five experiments are shown.

<sup>a</sup>P < 0.05 vs plasma, <sup>b</sup>P < 0.05 vs M-sol, <sup>c</sup>P < 0.05 vs Sol-1, <sup>d</sup>P < 0.05 vs Sol-2, <sup>e</sup>P < 0.05 vs Sol-3, <sup>f</sup>P < 0.05 vs plasma at 0 hr. NT = not tested.

## 結 果

### W/R-PC の血小板機能および保存状態の経時変化

4種の洗浄置換液による W/R-PC を 96 時間まで保存した際の各種パラメータの変化について検討した。M-sol, Sol-1, Sol-2, Sol-3 による W/R-PC の血漿濃度(調製直後)はそれぞれ, 2.57 ± 0.20%, 2.95 ± 0.81%, 2.44 ± 0.42%, 2.95 ± 0.40% (n = 5) であり, 血小板数 (×10<sup>4</sup>/µl) はそれぞれ, 124 ± 7, 123 ± 7, 125 ± 16, 108 ± 10 (n = 5) であった。PRP の血小板数 (×10<sup>4</sup>/µl) は 133 ± 11 (n = 5) であった。

pH については, Plasma(コントロール), M-sol, Sol-1 の場合は洗浄置換後 96 時間の時点でも 6.50 以上を保っていたが (Table 3), Sol-2, Sol-3 の場合は洗浄置換後 6 時間の時点で既に 6.40 を下回っていた。

p セレクチン陽性率については, コントロールおよび M-sol の場合は洗浄置換後 96 時間の時点でも 6.0% 以下を保っていたが (Table 3), Sol-1, Sol-3 の場合は洗浄置換後 96 時間の時点で 25.0% を上回っており, Sol-2 の場合は洗浄置換後 24 時間の時点で既に 43.0% であった。

%HSR は, コントロールおよび M-sol の場合は洗浄置換後 96 時間の時点でも 75.0% を上回っていたが (Table 3), Sol-1, Sol-3 の場合は 20.0% を下回っていた。Sol-2 の場合は洗浄置換後 24 時間の時点で既に 0.75% であった。

%Disk は, コントロールの場合は洗浄置換後 24 時間の時点までは 60% 以上を保っていたが (Table 3), 96 時間の時点で 43.4% まで低下した。M-sol の場合は洗浄置換後 6 時間の時点では 42.5% であったがその値は経

Table 4 Changes in lactate and glucose concentrations during storage

	0hr	6hr	96hr	Δ (6hr-96hr)
<u>Glucose (mmol/10<sup>12</sup> plts)</u>				
Plasma	14.7 ± 1.7	14.7 ± 1.6	12.1 ± 1.8	2.60 ± 0.40 <sup>b, c, d, e</sup>
M-sol	NT	11.7 ± 0.7	8.10 ± 0.60	3.58 ± 0.33 <sup>a, d</sup>
Sol-1	NT	99.4 ± 4.7 <sup>a, b, d, e</sup>	95.5 ± 4.6 <sup>a, b, d, e</sup>	3.94 ± 0.50 <sup>a, d</sup>
Sol-2	NT	1.53 ± 0.30 <sup>a, b, c, e</sup>	0.94 ± 0.29 <sup>a, b, c, e</sup>	0.59 ± 0.09 <sup>a, b, c, e</sup>
Sol-3	NT	12.8 ± 1.3	9.05 ± 0.93	3.74 ± 0.36 <sup>a, d</sup>
<u>Lactate (mmol/10<sup>12</sup> plts)</u>				
Plasma	3.45 ± 0.73	3.46 ± 0.94 <sup>b, c, d, e</sup>	8.01 ± 1.21 <sup>c, d</sup>	4.55 ± 0.57 <sup>b, c, d, e</sup>
M-sol	NT	1.73 ± 0.08 <sup>a</sup>	8.22 ± 0.64 <sup>c, d</sup>	6.50 ± 0.59 <sup>a, c, d</sup>
Sol-1	NT	1.55 ± 0.06 <sup>a</sup>	9.25 ± 0.57 <sup>a, b, d</sup>	7.71 ± 0.52 <sup>a, b, d</sup>
Sol-2	NT	1.14 ± 0.07 <sup>a</sup>	2.31 ± 0.25 <sup>a, b, c, e</sup>	1.18 ± 0.25 <sup>a, b, c, e</sup>
Sol-3	NT	1.38 ± 0.11 <sup>a</sup>	8.51 ± 0.84 <sup>d</sup>	7.13 ± 0.77 <sup>a, d</sup>

The results (mean ± standard deviation) of four or five experiments are shown.

<sup>a</sup>P < 0.05 vs plasma, <sup>b</sup>P < 0.05 vs M-sol, <sup>c</sup>P < 0.05 vs Sol-1, <sup>d</sup>P < 0.05 vs Sol-2, <sup>e</sup>P < 0.05 vs Sol-3, NT = not tested.

Table 5 Changes in pH and partial gas pressure of M-sol during 3 months storage

	pH	pO <sub>2</sub> (mmHg)	pCO <sub>2</sub> (mmHg)
<u>PO</u>			
Before	6.58 ± 0.01	146 ± 3	> 250
After	6.60 ± 0.01	177 ± 12 <sup>a</sup>	> 250
<u>PVC</u>			
Before	6.57 ± 0.01	153 ± 14	> 250
After	6.63 ± 0.02 <sup>a</sup>	172 ± 12 <sup>a</sup>	> 250

The results (mean ± standard deviation) of four experiments are shown.

<sup>a</sup>P < 0.05 vs Before.

時的に増大し、96時間の時点で71.0%まで回復した。Sol-1の場合は洗浄置換後96時間まで40%を上回ることはなかった。Sol-2、Sol-3の場合は経時的に減少し、Sol-2の場合は洗浄置換後6時間の時点で既に6.63%、Sol-3の場合も洗浄置換後24時間の時点で28.8%であった。

MPVは、コントロール、M-sol、Sol-1の場合は洗浄置換後96時間の時点でも洗浄置換前のPRPの値と有意差はなかったが(Table 3)、Sol-2の場合は洗浄置換後24時間、Sol-3の場合は96時間の時点で有意に大きな値を示した。

凝集能は、M-solの場合、洗浄置換後96時間まで経時的な低下はなかった(Table 3)。コントロールの場合は洗浄置換後24時間の時点までは86%以上を保っていたが、96時間の時点で67.7%まで有意に低下した。Sol-1、Sol-2、Sol-3の場合は経時的に低下し、Sol-3の場合は洗浄置換後96時間、Sol-1の場合は洗浄置換後24時間、Sol-2の場合は洗浄置換後6時間の時点で洗浄前のPRPの値よりも有意に低下していた。

いずれのW/R-PCにおいても、遠心上清のグルコース濃度は経時的に減少し、乳酸濃度は上昇した(Table

4)。洗浄置換後6時間から96時間までの間の変化量が最も大きかったのはSol-1の場合であり、最も小さかったのはSol-2の場合であった。

#### M-solの保存

M-solの液状での保存を試みた。外袋としてガス透過性が極めて低いアルミ蒸着した袋を、内袋としてポリオレフィン(PO)製または塩化ビニル(PVC)製の血液バッグを使用し、4℃で静置保存した。3カ月間のpH変化は、PO、PVCいずれの場合でも軽微であった(Table 5)。pO<sub>2</sub>は約10~20%上昇したが、pCO<sub>2</sub>は250mmHg以上を維持していた。外袋を用いない場合は7日以内に明らかなpHの上昇とpCO<sub>2</sub>の低下が見られた(データ示さず)。

#### 考 察

M-solの血小板保存性能を、我が国での使用頻度が高い3種類の洗浄置換液とin vitroで比較検討した。Sol-2の場合、洗浄置換後24時間で%HSRや%Diskが著しく低い値を示しており、凝集能も低下した(Table 3)。Sol-3の場合、洗浄置換後96時間で同様に%HSR、%Disk、凝集能などで著しく低い値を示した。Sol-1の場合、洗

浄置換後 96 時間で MPV は良好な値を示しているものの、その他のパラメータは洗浄前よりも有意に変化した。一方 M-sol の場合、洗浄置換後 96 時間でも血小板機能は良好に維持されていた。本検討の結果から判断すると、いずれの洗浄置換液を用いても洗浄置換後 6 時間以内に輸血するのであれば良好な輸血効果が期待できるが、洗浄置換の翌日もしくはそれ以降に輸血するのであれば、洗浄置換液として M-sol を使用する方がより良い輸血効果を期待できると考えられる。

血小板製剤は保存日数の経過に伴い pH が低下し、6.0 を下回ると輸血後の血小板の回収率や生体内寿命や止血能が極端に低下し、形態も非可逆的に球状になると Murphy らは報告している<sup>16)</sup>。Sol-2 の場合は洗浄置換後 24 時間の時点で 18 時間以上、Sol-3 の場合は洗浄置換後 96 時間の時点で 72 時間以上、pH が 6.0 以下の状態が続いており、Sol-2 や Sol-3 がそれぞれ 24 時間、96 時間の時点で %HSR、%Disk、凝集能などで著しく低い値を示したという事実は Murphy らの報告と矛盾しない。つまり Sol-2 や Sol-3 の場合は pH の低下が機能低下の原因の一つと考えられる。さらに Sol-2 の場合は元々グルコースの含量が低かったため (Table 2, Table 4)、解糖系により生成される ATP が不足していた可能性もある。一方、M-sol や Sol-1 はグルコースのみならず TCA 回路の基質に成りうる酢酸ナトリウムを含んでいる。また M-sol や Sol-1 に含まれている重炭酸イオンは (Table 2)、保存中に生成され pH 低下の原因になる乳酸を H<sub>2</sub>O と CO<sub>2</sub> に分解し pH の低下を抑制する作用がある<sup>17)</sup>。マグネシウムイオンは保存中の血小板の活性化を抑制するため<sup>18)</sup>、マグネシウムイオンを含む M-sol はそれを含まない Sol-1 よりも保存性能が優れていると考えられる。

W/R-PC を自ら調製できない医療機関に対しては血液センターから供給することになるが、血液センターでは集約化が進みつつあり、医療機関との地理的な距離は広がるばかりである。PC のみならず W/R-PC も有効期限の延長が望まれる。有効期限を考える場合、血小板の保存性能だけでなく細菌汚染のリスクを考慮する必要がある。PC の液相に細菌が混入している場合、洗浄置換によりその 90% 以上を除去できるが、100% の除去は不可能である。W/R-PC および通常の PC 中での細菌の増殖速度について比較検討中である。

現在、洗浄置換液の調製や洗浄置換操作は手作業で行われるため、一つの血液センターから供給できる W/R-PC の数には限りがある。洗浄置換液の調製に関しては、除菌フィルター付き血液バッグを使用することにより、無菌室で作業する必要がなくなり、その分だけ手間や費用を軽減できる<sup>19)</sup>。現在 M-sol は用時調製としているが、洗浄置換液を一度に大量に作り、小分けし

て一定期間保存できるのであれば、手間や経費をさらに節約することができる。しかし大量の重炭酸イオンを含む M-sol は pH が上昇しやすいという特徴がある (重炭酸イオンが CO<sub>2</sub> として M-sol から抜けると pH が上昇する (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> + H<sup>+</sup> ⇌ CO<sub>2</sub> ↑ + H<sub>2</sub>O))。この問題に対し既にわれわれは M-sol を凍結することにより少なくとも 70 日間、pH をほとんど変化させずに保存できることを示した<sup>20)</sup>、凍結されているよりは液状で保存されている方が調製現場での使い勝手が良い。今回われわれは、ガス透過性が極めて低いアルミ蒸着の袋を使用することにより、M-sol のように pH が変化しやすいものも液状での保存が可能であることを明らかにした。ただし M-sol や W/R-PC は製造承認を得ているわけではなく、W/R-PC 輸血はあくまで「技術協力」として行われている。M-sol の保存期間などについても、インフォームドコンセントや医師の判断が重要であることは言うまでもない。

W/R-PC を必要とするより多くの患者にそれが行き渡るようなシステムを構築するため、今後も引き続き工夫を重ねる必要がある。

## 文 献

- 1) Andreu G, Dewailly J, Leberre C, et al: Prevention of HLA immunization with leukocyte-poor packed red cells and platelet concentrates obtained by filtration. *Blood*, 72: 964—969, 1988.
- 2) Wadhwa M, Seghatchian MJ, Dilger P, et al: Cytokines in WBC-reduced apheresis PCs during storage: a comparison of two WBC-reduction methods. *Transfusion*, 40: 1118—1126, 2000.
- 3) Snyder EL: The role of cytokines and adhesive molecules in febrile non-hemolytic transfusion reactions. *Immunol Invest.*, 24: 333—339, 1995.
- 4) Pineda AA, Taswell HF: Transfusion reactions associated with anti-IgA antibodies: report of four cases and review of the literature. *Transfusion*, 15: 10—15, 1975.
- 5) 麻田真由美, 菅野知恵美, 川本佳代, 他: 洗浄血小板による輸血副作用の防止. *日本輸血学会雑誌*, 48: 32—36, 2002.
- 6) Vo TD, Cowles J, Heal JM, et al: Platelet washing to prevent recurrent febrile reactions to leucocyte-reduced transfusions. *Transfus. Med.*, 11: 45—47, 2001.
- 7) 吉田久博, 万木紀美子, 伊藤和彦: 血小板保存液「セト液」の臨床応用. *日本輸血学会雑誌*, 40: 589—592, 1994.
- 8) 田中マサヨ, 百木圭子, 江川佐登子, 他: 洗浄血小板の機能と輸血効果. *血液事業*, 23: 41—51, 2000.
- 9) Shimizu T, Shibata K, Kora S: Plasma-depleted platelet concentrates prepared with a new washing solution.

- Vox Sang., 64: 19—23, 1993.
- 10) Yuasa T, Ohto H, Suzuki A, et al: New plasma-reduced synthetic media, Fukushima cocktails, for the storage of platelets for transfusion. *Transfusion Science*, 23: 37—46, 2000.
  - 11) 佐々木大, 小砂子智, 小宮山祥光, 他: 血小板の洗浄・保存液の比較検討. *日本輸血学会雑誌*, 47: 777—782, 2001.
  - 12) Hirayama J, Azuma H, Fujihara M, et al: Storage of platelets in a novel additive solution (M-sol), which is prepared by mixing solutions approved for clinical use that are not especially for platelet storage. *Transfusion*, 47: 960—965, 2007.
  - 13) 平山順一, 高橋智哉, 渡部照代, 他: 市販輸液のみで調製した血小板保存性能の優れた置換液 (M-sol) を用いた洗浄血小板の臨床応用について. *日本輸血学会雑誌*, 52: 63, 2006.
  - 14) 山本定光: 洗浄血小板使用に関するアンケート調査の結果報告. *血液事業*, 29: 252, 2006.
  - 15) Hagberg IA, Lyberg T: Blood platelet activation evaluated by flow cytometry: optimised methods for clinical studies. *Platelets*, 11: 137—150, 2000.
  - 16) Murphy S: Platelet storage for transfusion. *Semin Hematol.*, 22: 165—177, 1985.
  - 17) Kilkson H, Holme S, Murphy S: Platelet metabolism during storage of platelet concentrates at 22 degrees C. *Blood*, 64: 406—414, 1984.
  - 18) de Wildt-Eggen J, Schrijver JG, Bins M, et al: Storage of platelets in additive solutions: effects of magnesium and/or potassium. *Transfusion*, 42: 76—80, 2002.
  - 19) 内藤友紀, 田村 晁, 佐藤雅子, 他: 洗浄血小板の調製に用いる洗浄保存液 (M-sol) の調製と保存に関する検討. *血液事業*, 29: 325, 2006.
  - 20) 平山順一, 東 寛, 藤原満博, 他: 市販輸液のみで調製した血小板置換液の血小板保存性能と置換液の凍結保存について. *日本輸血学会雑誌*, 51: 246, 2005.

## PLATELET STORAGE IN M-SOL, A NOVEL ADDITIVE SOLUTION COMPRISED OF A MIXTURE OF SOLUTIONS APPROVED FOR CLINICAL USE

*Junichi Hirayama, Hiroshi Azuma, Mitsuhiro Fujihara, Mitsuaki Akino, Chihiro Homma, Sadamitsu Yamamoto, Toshiaki Kato and Hisami Ikeda*  
Hokkaido Red Cross Blood Center

### **Abstract:**

Washed/replaced platelet concentrate (W/R-PC) has been used successfully in patients suffering from adverse transfusion reactions caused by plasma-containing platelets. Recently, we reported that a novel additive solution (M-sol) with a high ability to preserve platelets can be prepared by a combination of solutions that are approved for clinical use. In this study, we compared the ability of M-sol to preserve platelets with that of three additive solutions widely used in Japan. Further, we also investigated methods for preserving M-sol in the fluid condition.

The W/R-PC in additive solutions were stored for up to 96 hours and tested for various parameters including pH, CD62P, %HSR, %Disk, MPV, collagen-induced agglutination, glucose and lactate. While all solutions were shown to be able to preserve platelet functions for up to 6 hours after preparation, only M-sol was able to preserve platelets beyond 24 hours. M-sol could be preserved in the liquid condition for at least 3 months by the use of a plastic bag coated with aluminium.

### **Keywords:**

additive solution, adverse transfusion reaction, M-sol, platelet storage, platelet washing