

洗浄置換液 M-sol を用いた血漿濃度 30% の洗浄置換血小板の保存

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

キーワード：M-sol, 保存液, 血小板保存, 副作用, 洗浄血小板

本論文内容は、Blackwell Publishing 社の許可のもと Transfusion 誌（第 48 巻 第 3 号 567—568 2008 年）に掲載された論文に基づき作成したものである。（Hirayama J., Azuma H., Fujihara M., Akino M., Homma C., Yamamoto S., Kato T., Ikeda H.: Storage of platelets in 30 percent plasma and 70 percent M-sol additive solution. Transfusion. 48(3); 567—568, 2008）

第 55 回日本輸血・細胞治療学会総会推薦論文

目 的

わが国の血小板製剤（PC）はアフエレーシスにより調製されており、その有効期間は細菌感染の危険性を下げ血小板機能がより良い状態で輸血されるために 4 日間（英文論文では“3 days”となっているが、これは当該論文の投稿時、PC の有効期限が延長される前であったためである。）とされている。わが国の血液製剤で発生する非溶血性副作用の 3 分の 1 以上が PC によるものである¹⁾。近年、PC 中の血漿量を減少させる目的で洗浄置換液の開発がすすめられてきた。PC を洗浄置換液で置換することは、輸血副作用の抑制²⁾、有効期間の延長³⁾、光不活化処理の効率の上昇⁴⁾に役立つ。Ringwald らは PASIIM を用いて、血漿濃度 30% の洗浄置換血小板をアフエレーシス機器により調製した⁵⁾。この報告は、洗浄置換血小板の調製のためにアフエレーシス機器を利用した、という点を評価できるが、わが国では PASIIM が商品として承認されていない。既にわれわれは血漿濃度 3% でも血小板機能を長期間維持できる洗浄置換液 M-sol を開発した⁶⁾。以下では M-sol を用いた血漿濃度 30% の洗浄置換血小板を 14 日間保存した際の血小板機能の変化について報告する。

方 法

M-sol と Platelet Rich Plasma (PRP) の調製は既報のとおりである⁶⁾。調製した PRP を 3 等分し、コントロール PC（血漿濃度 100%；PS-100）、置換血小板（血漿濃度 30%；PS-30）、洗浄血小板（血漿濃度 3%；PS-3）に用いた。PS-30 の調製は、PRP を遠心（1,960×g）し、

その上清の 70% を除去し、最終容量が 120ml になるよう M-sol を添加することにより行った。PS-3 の調製は、PRP を遠心（1,960×g）し、その上清をできるだけ除去し、120ml の M-sol を添加することにより行った。遠心を行わなかった PRP をコントロール PC（PS-100）とした。このようにして調製した血小板懸濁液を 22℃ で震盪（50～60 回/分）しながら 14 日間保存した。測定は既報に従い、pH、P-selectin 陽性率、浸透圧ストレス反応（%HSR）、形態（%disc）、平均血小板体積（MPV）、凝集能、タンパク濃度について行った⁶⁾。血小板懸濁液中の残存血漿の割合（%）は PRP の遠心上清のタンパク濃度を 100% として計算した。統計処理に関しては、ノンパラメトリックなデータ間の比較として U test with Bonferroni correction を用いた。P 値が 0.0167 (= 0.05/3) 未満を有意とした。

結 果

PS-30 および PS-3 の血漿濃度（%）はそれぞれ 30.6（range, 28.3～32.6）および 3.30（range, 1.82～4.84）であった（n=7）。Day 1 での PS-100、PS-30、PS-3 の血小板数（ $\times 10^4/\mu\text{l}$ ）はそれぞれ 157（range, 134～165）、152（range, 128～179）、143（range, 117～152）であった（n=7）。

PS-100、PS-30、PS-3 を 14 日間保存した際の in vitro の機能変化を比較した（Table 1）。PS-3 については既報⁶⁾のとおり 14 日間、in vitro の機能を良好に維持できた。PS-30 については保存 7 日後まで、%disc 以外の数値が PS-3 の場合と同等であった。14 日後、MPV と %HSR

Table 1 Changes of in vitro variables during storage

	Day 0	Day 1	Day 7	Day 14
<u>pH</u>				
Control	7.09 (6.98-7.27)	7.02 (6.83-7.07) ^b	6.69 (6.37-6.83) ^{b,c,d}	5.83 (5.74-6.01) ^{b,c,d}
PS-30	NT	7.16 (7.02-7.19) ^a	7.14 (6.99-7.22) ^a	6.97 (6.93-7.06) ^{a,c}
PS-3	NT	7.14 (6.98-7.28)	7.32 (7.03-7.43) ^{a,d}	7.29 (7.23-7.32) ^{a,b,d}
<u>P-selectin (%)</u>				
Control	1.07 (0.51-4.62)	1.22 (0.54-1.93)	15.4 (8.26-18.7) ^{b,c,d}	69.3 (60.8-82.2) ^{b,c,d}
PS-30	NT	1.23 (0.65-2.33)	6.14 (2.39-12.3) ^{a,d}	12.9 (8.19-17.3) ^{a,c,d}
PS-3	NT	1.06 (0.82-1.73)	4.95 (1.69-8.66) ^{a,d}	5.50 (3.46-6.94) ^{a,b}
<u>HSR (%)</u>				
Control	86.0 (81.1-88.6)	82.8 (77.0-84.4)	71.2 (80.7-68.5) ^d	1.02 (11.5-0) ^{b,c,d}
PS-30	NT	83.2 (78.2-87.1) ^c	78.4 (69.7-79.7) ^d	69.6 (54.0-74.7) ^{a,d}
PS-3	NT	78.1 (71.4-83.6) ^{b,d}	74.8 (70.5-76.1) ^d	67.4 (64.2-72.8) ^{a,d}
<u>Disk (%)</u>				
Control	62.8 (60.5-68.0)	59.5 (43.5-69)	31.5 (18.5-38.0) ^{b,c,d}	1.0 (0-4.0) ^{b,c,d}
PS-30	NT	50.5 (39.0-63.5) ^d	55.3 (45.7-63.5) ^{a,c,d}	49.0 (40.0-59.5) ^{a,c,d}
PS-3	NT	60.5 (47.5-69.5)	71.0 (67.0-80.5) ^{a,b,d}	72.5 (60.0-79.0) ^{a,b}
<u>MPV (fl)</u>				
Control	7.80 (7.60-7.98)	7.70 (7.35-8.20)	8.00 (7.55-8.40)	8.80 (8.55-9.05) ^{b,c,d}
PS-30	NT	7.80 (7.60-8.15)	7.95 (7.45-8.70)	8.15 (7.90-8.90) ^{a,d}
PS-3	NT	7.95 (7.55-8.30)	8.10 (7.45-8.25)	7.97 (7.55-8.10) ^a
<u>Aggregation (%) (20µg/ml collagen)</u>				
Control	85.0 (80.0-106)	83.0 (77.0-93.0)	42.5 (38.0-54.0) ^{b,c,d}	18.3 (11.5-37.5) ^{b,c,d}
PS-30	NT	86.0 (76.0-96.0)	75.0 (53.5-84.0) ^{a,d}	38.5 (30.0-61.0) ^{a,c,d}
PS-3	NT	83.0 (74.0-93.5)	81.0 (74.5-95.5) ^a	65.0 (53.5-87.0) ^{a,b,d}

The results of 7 experiments are shown. Data represent median (range). NT=not tested.

^aP < 0.0167 vs Control, ^bP < 0.0167 vs PS-30, ^cP < 0.0167 vs PS-3, ^dP < 0.0167 vs Control on Day 0.

以外の数値は、PS-30の血小板機能がPS-3よりも低下していることを示しているが、PS-100よりは良い値であった (Table 1)。

PS-3, PS-30, PS-100を比較すると、総じて血漿濃度が低いほど血小板機能がより良く保存されていた。Day 7でのPS-30のP-selectin陽性率、%HSR、%disc、凝集能の数値は、Day 0でのPS-100のそれらの数値とくらべると有意な機能低下を示しているが、低下の程度は小さい。このことはPS-30の場合、少なくとも7日間は血小板機能が良好に維持されることを示している。したがってM-solは血漿濃度30~40%の血小板懸濁液を調製するために利用可能であり、有効期間の延長に役立つと考えられる。

考 察

調製後12~24時間保存した血漿濃度3~5%の洗浄血小板を、現在まで10人の患者に合計103回輸注した。24時間後のCCIは通常の未洗浄PCの場合と同等であった (データ示さず)。それゆえ血漿濃度30%の洗浄置換血小板の場合でも同様の結果が得られると予想できるが、24時間以上保存した血漿濃度30%の洗浄置換血小板がどの程度の輸血効果を有するかについては今後検討する必要がある。

PC中の血漿をより多く取り除くことは、輸血副作用

の発生率低下と分画製剤の原料用血漿増大につながる。M-solを用いると血漿濃度が3~30%という範囲で血小板機能を良好に維持できることが本検討で示された。含有血漿量がより少ない濃縮血小板を自動的に調製できるアフエレーシス機器が開発されれば、さらなる有効期間の延長と輸血副作用の抑制に貢献するであろう。

文 献

- 1) http://www.jrc.or.jp/mr/info_pdf/0707-109.pdf (Japanese Red Cross Homepage, November 2007).
- 2) de Wildt-Eggen J, Nauta S, Schrijver JG, et al: Reactions and platelet increments after transfusion of platelet concentrates in plasma or an additive solution: a prospective, randomized study. *Transfusion*, 40: 398-403, 2000.
- 3) Gulliksson H: Defining the optimal storage conditions for the long-term storage of platelets. *Transfus Med Rev*, 17: 209-215, 2003.
- 4) Lin L, Cook DN, Wieseahn GP, et al: Photochemical inactivation of viruses and bacteria in platelet concentrates by use of a novel psoralen and long-wavelength ultraviolet light. *Transfusion*, 37: 423-435, 1997.

- 5) Ringwald J, Walz S, Zimmermann R, et al: Hyperconcentrated platelets stored in additive solution: aspects on productivity and in vitro quality. *Vox Sang*, 89: 11—18, 2005.
- 6) 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.

STORAGE OF PLATELETS IN 30 PERCENT PLASMA AND 70 PERCENT M-SOL ADDITIVE SOLUTION

*Junichi Hirayama, Hiroshi Azuma, Mitsuhiro Fujihara, Mitsuaki Akino, Chihiro Homma,
Sadamitsu Yamamoto, Toshiaki Kato and Hisami Ikeda*

Hokkaido Red Cross Blood Center

Keywords:

M-sol, additive solution, platelet storage, adverse reaction, washed platelet

©2009 The Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy
Journal Web Site: <http://www.yuketsu.gr.jp>