

二種類の洗浄・置換血小板の調製法に関する検討

秋野 光明 田村 暁 平山 順一 内藤 友紀 勝又 雅子
 本間 稚広 山本 定光 藤原 満博 東 寛 加藤 俊明
 池田 久實

血小板輸血による副作用を予防する目的で血漿を除去した洗浄・置換血小板 (Washed and/or replaced platelet concentrates, W/R-PC) が調製されている。調製法としては2つの方法が主に使われているが両者を比較した報告はない。そこで、成分採血由来の血小板 (Plasma-PC) を洗浄置換・保存液 M-sol で洗浄し、M-sol に再浮遊する方法 (洗浄置換法 WR-method) と plasma-PC 中の血漿を遠心後 M-sol に置換する方法 (置換法 R-method) について、各 W/R-PC の血小板機能や輸血効果を比較検討した。

各方法で調製された W/R-PC の血小板回収率や残存血漿蛋白, *in vitro* における性状 (pH, 凝集能, %HSR, P-セレクトリン陽性率, 血小板形態) を調べ、アナフィラキシーショックなどの重篤な副作用がみられた患者を対象に、WR-method による PC (WR-PC) を 75 バッグ (患者: 6 名), R-method による PC (R-PC) を 31 バッグ (患者: 4 名) に投与して、補正血小板増加数 (CCI) 及び副作用の予防効果を比較した。

WR-PC と R-PC の血小板回収率はそれぞれ $90.5 \pm 1.4\%$ と $89.5 \pm 1.8\%$ で有意差はなく、血漿蛋白除去率 (残存蛋白量) は、WR-PC では $96.9 \pm 0.7\%$ ($428 \pm 95\text{mg}$) で、R-PC の $95.4 \pm 0.9\%$ ($627 \pm 130\text{mg}$) より有意に高かった (各 $n=7$)。48 時間の保存期間中 (PC 採血後 5 日目), *in vitro* の性状は pH 以外の項目に差はみられなかった。Plasma-PC は保存と共に pH が低下し、24 時間後には 7.05 ± 0.04 であったのに対し、W/R-PC は何れも調製直後に一時的な pH の低下が認められたが、WR-PC では 7.37 ± 0.03 , R-PC は 7.40 ± 0.02 に上昇した。輸血 24 時間後の CCI ($\times 10^4/\text{ul}$) は、WR-PC が 1.53 ± 0.82 ($n=51$), R-PC が 1.59 ± 0.78 ($n=18$) と良好であり、何れの W/R-PC についても、輸血後の副作用の発生はなく、副作用予防効果が示された。また、何れも有害事象は認められなかった。

WR-PC と R-PC は、血小板機能や輸血効果について、同等である事が確認されたが、R-method は調製工程が少なく、より簡便であるため、PC の血漿除去法として推奨される。

キーワード：洗浄・置換血小板, 保存液 M-sol, 血漿除去法, 輸血副作用

はじめに

血小板 (apheresis-derived platelet concentrates, plasma-PC) の輸血においては、血漿蛋白に起因すると思われる非溶血性輸血副作用が副作用報告の大部分を占めている¹⁾²⁾。今般、日本輸血・細胞治療学会の血液製剤小委員会によって行われた「洗浄・置換血小板製剤使用に関するアンケート調査」によると、洗浄・置換血小板 (W/R-PC: Washed and/or replaced platelet concentrates) が輸血副作用の防止に有効であることが示されている³⁾。当施設では、2004 年から PC 輸血による蕁麻疹、発熱、アナフィラキシーショックなどの副作用を防止する目的で、医療機関への技術協力として、W/R-PC の調製を行ってきた。

わが国では W/R-PC の洗浄置換液として、ブドウ糖

加酢酸リンゲル液を主液とした混合液の使用頻度が最も高く、他に生理食塩液や冷凍血液洗浄用液 3 号を主とする溶液が用いられている。当初、当施設での W/R-PC の調製には、ブドウ糖加酢酸リンゲル系の洗浄置換液を使用していたが、平山らが血小板機能をより長時間維持することが可能な洗浄置換液 (M-sol) の開発に成功したことに伴い⁴⁾、2005 年から M-sol を用いている。M-sol は他の洗浄置換液に比べ、血小板の長期保存に優れている⁴⁾⁵⁾と考えられている。M-sol は炭酸水素ナトリウムを含むため、保存に伴う pH の変化が懸念されたが、気体遮断性が高いアルミ蒸着袋を用いて真空包装の形態とすることで長期保存が可能となった⁴⁾⁶⁾。

一方、PC の洗浄方法については、国内では洗浄置換液に関わらず 2 つの方法が主に用いられている。最も

多くの施設で使用されている方法が、洗浄置換液などを加えたPCを遠心し、血漿を除去した後、もう一度洗浄置換液を加えて血小板を再浮遊させる方法（洗浄置換法、WR-method）である。もう1つの方法は、洗浄置換液を添加せずにPCをそのままの状態に遠心し、上清の血漿を除去後に洗浄置換液を加える方法（置換法、R-method）である。このような洗浄方法が異なるW/R-PCの血小板保存能などを詳細に検討した報告はない。そこで、今回われわれは、PCの洗浄方法を洗浄置換法または置換法で行い、調製方法の違いによるW/R-PCの性状および血小板機能への影響を検討した。また、当施設の血液安全委員会と主治医の判断によりW/R-PCが適応としたアナフィラキシーショックなどの重篤な副作用が認められた患者に対し、W/R-PCを輸血して血小板輸血効果や臨床的転帰（副作用の防止効果を一次、止血効果を二次のエンドポイント）を目的とした調査を実施したので併せて報告する。

方 法

1. 洗浄置換液の調製

W/R-PCの調製に使用する洗浄置換液（M-sol）は、内藤ら⁷⁾の方法に従い、無菌チューブ接合装置（TSCD、テルモ株式会社）と除菌フィルター付き分離バッグ（KBP-1000F、川澄化学工業株式会社）を用いて調製した。分離バッグ（KBP-1000CP、川澄化学工業株式会社）に分注したM-solをアルミ蒸着したビニール袋（AL-J、日本生産社）に入れ、バキューム機を用いて真空状態とし、室温で保管して使用した。

2. WR-PCの調製

WR-PCの調製は、洗浄置換法または置換法で行った。PCへのM-solや分離バッグの接続にはTSCDを用いた。

2-1. 洗浄置換法（WR-method）（Fig. 1-a）

Plasma-PCに1/10容量の抗凝固剤ACD-A液（カーミパックACD-A液、川澄化学工業株式会社）を加え、さらにM-solを250ml添加した。それを遠心（2,560×g, 10min, 22°C）し、分離スタンドを用いて上清をできるだけ除去した後、再びM-solを220ml添加した。30分間静置した後、血小板を再浮遊させ洗浄置換-PC（WR-PC）とした。

2-2. 置換法（R-method）（Fig. 1-b）

Plasma-PCを遠心（2,560×g, 10min, 22°C）し、上清をできるだけ除去した後、M-solを220ml添加した。30分間静置した後、血小板を再浮遊させ置換-PC（R-PC）とした。

3. 血小板機能の測定

採血後3日目の成分採血由来PC（plasma-PC）を用い、ABO型が同型な3バッグをプールした。プールPCを分割して、15単位に相当する血小板を含んだPC

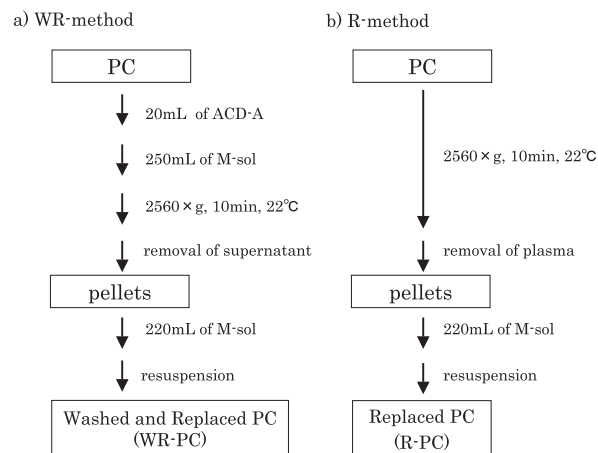


Fig. 1 Two methods of preparing W/R-PC
WR-method: Washing and replacement method.
R-method: Replacement method.

を3バッグ用意し、試験用PCとした。試験用PCの1バッグはコントロール群として、残りの2バッグは洗浄置換法または置換法によりそれぞれW/R-PCを調製した。Plasma-PCおよびW/R-PCはポリオレフィン製の血液分離バッグ（KBP-1000FPN、川澄化学工業株式会社）で水平振盪保存した。また、W/R-PCの調製に使用したM-solは、調製後3週間保存したものをを用いた。

W/R-PCの調製直後に血小板数と血漿蛋白量を測定し、調製前の値から血小板回収率、血漿蛋白除去率を求めた。また、各々のW/R-PCを調製後48時間保存（PC採血後5日間）し、24時間毎にTable 1に示した方法により凝集能や%HSRなどの血小板機能検査を実施した（n=7）。

4. 対象

W/R-PCの適応の基準としては、少なくとも2回のアナフィラキシーショックなどの重篤な副作用があること、抗ヒスタミン剤やステロイドの予防投与が無効であること、とした。本研究は、当施設の血液安全委員会（倫理委員会として機能）でW/R-PCの適応がありと判断され、かつ主治医が安全な輸血のためにはW/R-PCが必要であると考慮した場合に、患者よりインフォームドコンセントを取得し実施した。

2005年3月から2006年11月までに、WR-PCを6人の患者に対し述べ75回、2006年12月から2007年4月までにR-PCを4人の患者に対し述べ31回投与した。W/R-PCは採血後2ないし3日目のPCを用いて調製し、調製後のW/R-PCは室温で振盪保存して24時間以内に使用した。W/R-PC輸血後、発熱や蕁麻疹などの非溶血性副作用の有無や臨床的転帰（止血効果、臨床的な出血症状がない）について調査した。また、輸血後約1時間および約24時間後の補正血小板増加数（corrected count increment : CCI）を次式より算出し

Table 1 In vitro variables for PCs

Measurement	Method/Machine
Platelet count	Automated blood cell counter (K-4500, Sysmex)
Supernatant protein	Bicinchoninic acid method (BCA Protein Assay Reagent Kit, PIERCE)
pH	Automatic blood gas analyzer (248 pH/blood gas analyzer, Chiron Diagnostics Ltd.)
Aggregation	Induction with ADP 5 μ M and collagen 1 μ g/ml (Aggrepack, Arkray Co., HEMA TRACER 313M aggregometer)
HSR	Holme's ⁸⁾ method
P-selectin	Hagberg's ⁹⁾ flow cytometric method
Morphology	Percentage of normal discoid PLTs, discriminated from non-discoid PLTs following Kunichi's ¹⁰⁾ method
Swirling	Visual inspection of swirling under the light

Table 2 Comparison of in vitro qualities of W/R-PCs prepared by the WR-method and R-method

Method	PCs	W/R-PCs	
Total platelets ($\times 10^{11}$ /bag)			Recovery of platelets (%)
WR-method	3.23 \pm 0.17	2.92 \pm 0.16	90.5 \pm 1.4
R-method	3.21 \pm 0.17	2.87 \pm 0.15	89.5 \pm 1.8
Plasma proteins (mg/bag)			Removal of plasma protein (%)
WR-method	13,568 \pm 506	428 \pm 95 \downarrow	96.9 \pm 0.7 \downarrow
R-method	13,499 \pm 535	627 \pm 130 \downarrow **	95.4 \pm 0.9 \downarrow **

** $p < 0.01$ (Wilcoxon t-test) mean \pm S.D. n=7

WR-method: Washing and replacement method.

R-method: Replacement method.

輸血効果を調べた。

$$CCI(/ul) = \frac{\text{輸血血小板増加数}(/ul) \times \text{体表面積}(m^2)}{\text{輸血血小板総数}(\times 10^{11})}$$

5. 統計処理

W/R-PCの性状についてはWilcoxon-t検定, W/R-PCの血小板機能についてはBonferroni補正wilcoxon-t検定を用い, いずれも危険率1%未満を有意差ありと判定した。

結 果

1. W/R-PCの性状

各方法で調製されたW/R-PCの性状を示した(Table 2)。血小板回収率については, 洗浄置換法で90.5 \pm 1.4%, 置換法では89.5 \pm 1.8%と調製方法による差はみられなかった ($p=0.209$)。

PCを洗浄・置換したことにより, 各調製法ともに平均95%以上の血漿蛋白が除去されていた。W/R-PCに残存する血漿蛋白量については, 洗浄置換法が428 \pm 95mg/bagに対し, 置換法では627 \pm 130mg/bagと高値であった ($p<0.01$)。

2. W/R-PCの血小板機能

採血後3日目のPCから調製されたW/R-PCを48時間保存し, 保存中の血小板機能の変化を調べた(Ta-

ble 3)。洗浄置換法または置換法で調製されたW/R-PCの調製直後のpHは, WR-PC群, R-PC群ともplasma-PC群に比べ有意に低値を示した ($p<0.01$)。両群のpHは保存とともに上昇し, 24時間後では平均7.4, 48時間後では平均7.5であった。

ADP (5 μ M) と Collagen (1 μ g/ml) を惹起物質とした血小板凝集能, %HSR, P-セレクチン陽性率, discoid型血小板の割合, スワーリング検査は, いずれのW/R-PCにおいても調製後48時間まで, plasma-PC群と比較して有意差はみられなかった。

3. W/R-PCの輸血効果と有害事象

WR-PCまたはR-PCを輸血した患者の輸血1時間後のCCI値は, それぞれ2.27 \pm 0.99 $\times 10^4$ /ul ($n=44$), 2.39 \pm 0.74 $\times 10^4$ /ul ($n=14$), 24時間後では1.53 \pm 0.81 $\times 10^4$ /ul ($n=51$), 1.59 \pm 0.78 $\times 10^4$ /ul ($n=18$)で有意差は認められなかった (Table 4)。

WR-PC群の75バッグおよびR-PC群の31バッグの全例において, W/R-PC輸血による副作用の発生は認められなかった (Table 5)。

考 察

PCの血漿成分に起因すると考えられる輸血副作用を予防・軽減する対策の一つとして, PC中の血漿成分を減少させたW/R-PCを患者に投与することがなされて

Table 3 Changes of in vitro qualities of W/R-PCs prepared by the WR method and R method

	PCs	W/R-PCs	after 24hrs	after 48hrs
pH				
WR-method	7.15 ± 0.10	6.95 ± 0.06	7.37 ± 0.03	7.53 ± 0.05
R-method	7.15 ± 0.10	6.98 ± 0.06	7.40 ± 0.02	7.52 ± 0.02
control	7.15 ± 0.09	—	7.05 ± 0.04	7.00 ± 0.03
Aggregation (%) (ADP+collagen)				
WR-method	60.4 ± 3.2	55.0 ± 14.0	59.2 ± 4.9	57.4 ± 4.0
R-method	60.4 ± 3.2	54.7 ± 14.5	58.9 ± 6.2	57.0 ± 5.5
control	60.4 ± 3.2	—	65.6 ± 2.4	61.8 ± 2.6
HSR (%)				
WR-method	80.8 ± 4.7	73.4 ± 7.1	75.5 ± 8.9	73.9 ± 4.4
R-method	80.8 ± 4.7	73.8 ± 9.0	75.5 ± 5.7	76.3 ± 5.4
control	80.8 ± 4.7	—	80.6 ± 3.7	80.6 ± 3.6
P-selectin (%)				
WR-method	1.9 ± 0.8	4.1 ± 3.4	3.1 ± 1.7	3.1 ± 1.4
R-method	1.9 ± 0.8	3.0 ± 2.4	3.5 ± 2.5	3.3 ± 1.5
control	1.9 ± 0.8	—	1.9 ± 0.9	2.7 ± 0.9
Morphology (%disk)				
WR-method	68.0 ± 6.4	63.6 ± 6.7	62.0 ± 4.7	60.6 ± 5.7
R-method	68.0 ± 6.4	63.1 ± 11.2	65.1 ± 6.9	62.3 ± 7.7
control	68.0 ± 6.4	—	67.4 ± 5.5	63.3 ± 5.3
Swirling (+ + : double positive, + : positive, - : negative)				
WR-method	++	++	++	++
R-method	++	++	++	++
control	++	-	++	++

** p < 0.01 (Wilcoxon t-test with Bonferroni correction) mean ± S.D. n = 7 each
 · PCs were washed and replaced after 72hrs storage.

Table 4 Corrected count increment (CCI) after W/R-PCs transfusion

	WR-method (WR-PCs)		R-method (R-PCs)
CCI (×10 ⁴ /μl)	1 hr	2.27 ± 0.99 (n = 44)	2.39 ± 0.74 (n = 14)
	24 hr	1.53 ± 0.82 (n = 51)	1.59 ± 0.78 (n = 18)

mean ± S.D.

Table 5 Adverse reactions after W/R-PCs transfusion

	WR-method (WR-PCs)	R-method (R-PCs)
adverse reaction/transfusion	0/75	0/31

きた^{11)~15)}. W/R-PCの調製法としては、遠心機を用いて血小板を pellet 化し、上清の血漿を除去する用手法が広く知られている。しかし、用手法で洗浄を行うために必要な機器や設備が整備されていない医療機関も少なくはない。そのため、日本赤十字社にはそのような施設から W/R-PC の調製に関する技術協力が求められる。

W/R-PC の調製法としては、遠心機を用いる方法の他に、成分採血装置で採血時に PC 中の血漿成分を低減する手段が幾つか検討されている。成分採血装置として広く用いられていた CS3000plus (Baxter 社) では、遠心機を用い血小板を pellet 化する方法に比べて、短時間に PC の洗浄を行うことができ、血小板機能は用手法に比し、同等かより良い状態で保存できたとしている¹⁶⁾。別の報告¹⁷⁾によると、成分採血装置 Trima (Gambro BCT) を用いたところ、120ml の血漿に 6 × 10¹¹ 個の血小板を浮遊させた高濃度血小板の採取が可能であり、技術的

な改良を加えることで、さらなる濃縮と血小板の活性を抑制できる可能性があるとしている。このように一部の成分採血装置によっては血小板を濃縮すること、すなわち血漿成分を低減させた PC 採血が可能となっている。成分採血装置以外の W/R-PC 調製法としては、1988 年に Vesilind ら¹⁸⁾ が血球洗浄装置 (Cobe 2991 blood Cell Processor) と生理食塩液により PC を洗浄したところ、血小板回収率が約 90%、総蛋白除去率が約 96% であったとし、*in vitro* や *in vivo* の評価結果に問題がなかったと報告している。最近では、解凍赤血球製剤などの調製に用いられる新型の血球洗浄装置 (ACP215, Haemonetics) を使用し W/R-PC を調製した検討が報告されている。それによると、ACP215 を使用することで、80% を超える血小板回収率が得られるものの、洗浄後の PC の血小板は %HSR の著しい減少や P-セレクチン陽性率の増加がみられたため、実用化には血小板への刺激を軽減した洗浄プログラムの検討が必要であるとしている¹⁹⁾。

このように、成分採血装置や血球洗浄装置を使用した W/R-PC の調製が検討されてはいるものの、実際に供している施設がほとんどなく、国内では遠心機を用いて PC を洗浄する手法が多用されていると思われる。手法には、洗浄置換法と置換法の主に二通りの調製法があり、その使用比率は興味深い。平成 18 年に本学会の血液製剤小委員会が実施した「洗浄・置換血小板製剤使用に関するアンケート調査」によると、アンケートの回答が得られた血液センター 33 施設のうち、28 施設(約 85%)において、W/R-PC の調製法として WR 法が用いられており、残り 5 施設(約 15%)が R 法であった。他方、医療機関(25 施設)においては、WR 法で W/R-PC を調製している施設が全体の約 63% であったのに対し、R 法を用いている施設は約 37% であったとしている。血液センター、医療機関ともに W/R-PC の調製法としては、R 法よりも WR 法の方が多く採用されている。アンケートでは、2 回洗浄を行っている、或いは患者の副作用により洗浄回数を変えていると回答している施設も見受けられた。WR 法が多用されている理由については明らかにされていない。

われわれは、WR 法または R 法で調製された W/R-PC の性状の違いを明らかにする目的で、各法で調製された W/R-PC の *in vitro* における血小板機能や各 W/R-PC に含まれる血漿蛋白量を測定し比較した。何れの調製法においても調製直後の W/R-PC の pH は、調製前に比べ約 0.2 低下するものの、24 時間保存後には約 7.4 まで上昇し、plasma-PC (pH=7.0) に比べて差がみられた。W/R-PC の pH が調製直後に一旦低下するのは、M-sol の pH (約 6.8) に由来すると思われる。それ以外の試験項目(凝集能、%HSR、P-セレクチン、形態スコア、スワーリングの有無)には差が認められず、WR 法、R 法のどちらの方法を用いても、W/R-PC の血小板機能に差がないことを明らかにした (Table 3)。PC に含まれる上清の血漿を遠心操作によって除去することにより、同時に一部の血小板も除去される。われわれは各法で調製された W/R-PC の血小板回収率を調べたが、調製方法の違いに有意な差はみられなかった。両群ともに W/R-PC を調製することによって、1 バッグあたり、約 0.3×10^{11} 個の血小板数が減少することを確認した。

W/R-PC 輸血は血漿蛋白に起因すると思われる輸血副作用の防止が目的である。そこで、WR 法または R 法で調製された W/R-PC に含まれる血漿蛋白量を測定した。W/R-PC1 バッグあたりに含まれる血漿蛋白量は、各法とも平均で 95% 以上(WR 群: 96.9%, R 群: 95.4%) の血漿蛋白が除去されていたものの、残存蛋白量は WR 法が 428 ± 36 mg であるのに対し、R 法では 627 ± 49 mg と WR 法に比べて R 法の方が有意に ($p=0.007$) 多い

結果であった (Table 2)。

抗 IgA 抗体による輸血副作用の防止には、洗浄操作を繰り返した赤血球製剤が有効であったとする報告がある²⁰⁾²¹⁾。選択的 IgA 欠損者や抗ハプトグロビン抗体が原因とされる輸血副作用に対し、今回われわれが調製した W/R-PC の輸血効果は明確ではない。そのため、IgA 欠損者に対して安全な輸血を行うには、IgA 欠損ドナー由来の製剤を用いるか、もしくは十分に洗浄操作を行う必要がある。

W/R-PC に含まれる血漿量は、より少ない方が望ましいとされるが、血漿蛋白量と副作用の防止効果や輸血効果との関係は必ずしも明らかにされていない。われわれは医療機関への技術協力として、2007 年までに WR 法由来で 75 バッグ、R 法由来で 31 バッグの W/R-PC を調製し、それらの W/R-PC については全て適応患者へ輸血された。輸血された W/R-PC については、全て調製時に血小板回収率および血漿蛋白量を求めている。血小板回収率は WR 法、R 法で、それぞれ $86.6 \pm 2.4\%$ ($n=75$)、 $87.4 \pm 3.1\%$ ($n=31$) であり、また W/R-PC に残存する血漿蛋白量については、WR 法で 476 ± 290 mg ($n=75$)、R 法では 697 ± 219 mg ($n=31$) であった。これらの値は何れも本報の実験結果と一致する。

輸血された W/R-PC については、輸血効果の指標として可能な限り補正血小板増加数 (CCI) を求めた (Table 4)。その結果、W/R-PC の調製法間 (WR 群または R 群) に有意差は認められず、輸血後約 1 時間および 24 時間の CCI はそれぞれ 7,500/uI 以上、4,500/uI 以上あり、輸血効果が良好と判断された。

今回の検討において W/R-PC 輸血の対象とした患者は、ステロイド、抗ヒスタミンなどの前投与で予防できない非溶血性副作用が 2 回以上観察された患者である。これまでのところ、全ての患者および輸注において、W/R-PC 輸血による副作用の報告は受けていない。このことから、実験レベルでは、R-PC が WR-PC に比べて、残存する血漿蛋白が多いとする統計学的な結果が得られたものの、その量は臨床的に意義のある差ではないことが示唆される。

PC 輸血による非溶血性輸血副作用を防止する上で W/R-PC の使用は有効な手段であると考えられるが、現在のところその製造は認可されていない。われわれは、W/R-PC の洗浄置換液として M-sol を用いたが、その溶液は市販輸液を混合することで自家調製している。血液センターでは、輸血副作用(蕁麻疹、呼吸困難、血圧低下など)を繰り返し発症する患者に対し、医療機関への技術協力として W/R-PC の製造を行っているが、調製時間や人的・経済的コストの問題から重篤な副作用に対してのみ使用している施設が多い。R 法は PC を遠心する前に洗浄置換液を加える必要がないことか

ら、WR法に比べて、洗浄置換液の使用が半量で済み、調製工程も少ないため調製に要する時間が短いなどの利点がある。そのため、R法はW/R-PCの需要が高まった場合に、さらに有用なW/R-PCの調製法になると考えられる。今後、W/R-PCの調製方法や洗浄置換液が標準化され、より円滑なW/R-PCの製造・供給体制が整備されることが望まれる。

まとめ

M-solを用いたW/R-PCの調製方法について検討したところ、WR法またはR法で調製されたW/R-PCの血小板機能は、plasma-PCと同等であり、調製法による違いは認められなかった。置換PCは洗浄置換PCに比べ、残存する血漿蛋白が多いものの、輸血による副作用は認められず、輸血効果も良好であった。置換法は、洗浄置換法に比べて洗浄置換液の使用が半量で済み、調製工程も少なく、より簡便なため、今後W/R-PCの需要が高まった場合に有用な方法と考えられる。

謝辞：本検討にご協力頂きました「市立札幌病院」「札幌北楡病院」「市立旭川病院」「道都病院」の方々に深謝申し上げます。

文献

- 1) Snyder EL: The role of cytokines and adhesive molecules in febrile non-hemolytic transfusion reactions. *Immunol Invest*, 24: 333—339, 1995.
- 2) 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.
- 3) 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, 30 : 101—103, 2007.
- 4) 平山順一, 東 寛, 藤原満博, 他：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。日本輸血細胞治療学会誌, 54 : 17—22, 2008.
- 5) 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.
- 6) 内藤友紀, 田村 暁, 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.
- 7) 内藤友紀, 田村 暁, 佐藤雅子, 他：洗浄血小板用洗浄置換液 M-sol の簡便な調製方法。血液事業, 30 : 389, 2007.
- 8) Holme S, Moroff G, Murphy S, et al: A multi-laboratory evaluation of in vitro platelet assays: the tests for extent of shape change and response to hypotonic shock. *Transfusion*, 38: 31—40, 1998.
- 9) Hagberg IA, Lyberg T: Blood platelet activation evaluated by flow cytometry: optimized methods for clinical studies. *Platelets*, 11: 137—150, 2000.
- 10) Kunicki TJ, Tuccell M, Becker GA, et al: A Study Variables Affecting the Quality of Platelets Stored at "Room Temperature". *Transfusion*, 5: 414—421, 1975.
- 11) 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。日本輸血学会誌, 48 : 32—36, 2002.
- 12) 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.
- 13) 吉田久博, 万木紀美子, 伊藤和彦：血小板保存液“セト液”の臨床使用。日本輸血学会誌, 40 : 589—592, 1994.
- 14) 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.
- 15) Azuma H, Hirayama J, Akino M, et al: Reduction in adverse reactions to platelets by the removal of plasma supernatant and resuspension in a new additive solution (M-sol). *Transfusion*, 49: 214—218, 2009.
- 16) 佐々木大, 小砂子智, 小宮山祥光, 他：新しい洗浄血小板の調製方法—成分採血装置 (CS-3000plus) を用いた洗浄血小板の調製。日本輸血学会誌, 45 : 449—455, 1999.
- 17) Ringwald J, Walz S, Zimmermann J, et al: Hyperconcentrated platelets stored in additive solution: aspects on productivity and in vitro quality. *Vox Sang*, 89: 11—18, 2005.
- 18) Vesilind G, Simpson M, Shifman M, et al: Evaluation of a centrifugal blood cell processor for washing platelet concentrates. *Transfusion*, 28: 46—51, 1988.
- 19) 及川伸治, 佐々木大, 高橋美代子, 他：自動血球洗浄装置 ACP215 による洗浄血小板の調製。日本輸血細胞治療学会誌, 54 : 176, 2008.
- 20) Toth CB, Kramer J, Pinter J, et al: IgA content of washed red blood cell concentrates. *Vox Sang*, 74: 13—14, 1998.
- 21) 嶋田英子, 黒澤みち子, 島野佳恵, 他：赤血球 M・A・P「日赤」を選択的 IgA 欠損者に投与して発生した非溶血性輸血副作用と洗浄操作の効果。日本輸血学会誌, 46 : 317—323, 2000.

TWO METHODS OF PREPARING WASHED AND/OR REPLACED PLATELET CONCENTRATES

Mitsuaki Akino, Satoru Tamura, Junichi Hirayama, Yuki Naito, Masako Katsumata, Chihiro Homma, Sadamitsu Yamamoto, Mitsuhiro Fujihara, Hiroshi Azuma, Toshiaki Kato and Hisami Ikeda
Hokkaido Red Cross Blood Center

Abstract:

Washed and/or replaced platelet concentrates (W/R-PCs) are used to prevent the adverse effects of platelet transfusion. W/R-PCs are prepared mostly by one of two methods, but no comparison of these methods has been reported. In this study, platelet function and transfusion effects were compared between a PC prepared by washing apheresis-derived platelets (plasma-PC) with the washing-replacement-preservation solution M-sol and resuspending them with the same solution (WR-method), and that prepared by centrifuging plasma-PC and replacing the plasma with M-sol (R-method).

The two methods were compared *in vitro* with respect to platelet recovery, concentration of residual plasma protein and functional parameters (pH, aggregation, %HSR, CD62P, % disk). They were also compared *in vivo* for transfusion effects, i.e. corrected count increment (CCI) and prophylactic effects on adverse reactions.

Percent recovery of WR-PC and R-PC were $90.5 \pm 1.4\%$ ($n = 7$) and $89.5 \pm 1.8\%$ ($n = 7$), respectively ($p = 0.209$), and percent removal of plasma protein was $96.9 \pm 0.7\%$ ($n = 7$) and $95.4 \pm 0.9\%$ ($n = 7$), resulting in a residual plasma protein per bag of 428 ± 95 mg ($n = 7$) and 627 ± 130 mg ($n = 7$), respectively ($p < 0.01$). Except for pH, no difference in parameter values *in vitro* was found between the two methods during 48 hours storage (5 days after donation). While the pH of plasma-PCs declined to 7.05 ± 0.04 after 24 hours storage, that of WR-PC and R-PC remained at 7.37 ± 0.03 and 7.40 ± 0.02 , respectively, after this time, although a transient pH reduction was observed immediately after preparation in both methods. For patients who suffered severe anaphylactic shock by plasma-PC transfusion, 75 bags of WR-PC (for 6 patients) and 31 bags of R-PC (for 4 patients) were transfused. Post-transfusion 24-hour CCI was 1.53 ± 0.82 ($n = 51$) in WR-PC and 1.59 ± 0.78 ($n = 18$) in R-PC. Prophylactic effects were observed in both PCs. No adverse reaction was observed with either WR-PC or R-PC.

R-PC was comparable to WR-PC in all regards. Thus, the R-method, which is more feasible in practice, is preferable as a plasma-reduction method.

Keywords:

washed and/or replaced platelets concentrates, preservative solution M-sol, plasma reduction method, adverse transfusion reactions