

置換液 M-sol を用いた置換血小板 (R-PC) 調製の プロセスバリデーションに関する検討

小嶋 俊介¹⁾ 柳沢 龍¹⁾ 石川 伸介¹⁾ 中曽根允彦¹⁾ 中澤希世子¹⁾
長谷川康久¹⁾ 小林 孝至¹⁾ 平山 順一³⁾ 秋野 光明³⁾ 東 寛³⁾
下平 滋隆^{1,2)}

非溶血性輸血副作用の防止のために、各医療機関ではさまざまな方法で洗浄・置換血小板 (W/R-PC) が院内調製されてきた。そのなかで、M-sol を置換液とする W/R-PC が、最も血小板機能を維持できると報告されている。そこで、我々は、当院における M-sol を置換液とした置換血小板 (R-PC) の標準作業手順書 (SOP) を作成し、院内調製の標準化のために前臨床評価した。SOP に従った M-sol および R-PC を調製 (n=8) し、M-sol の組成検査 (pH, Na⁺, K⁺, Cl⁻, Mg²⁺ 濃度) と R-PC の機能検査 (血小板数, Glucose 濃度, P-selectin 陽性率, Swirling) により品質を検討し、細菌培養, エンドトキシン濃度測定も実施した。R-PC 調製 1 日後の平均値は、pH, Na⁺, K⁺, Cl⁻, Mg²⁺ 濃度, Glucose 濃度, P-selectin 陽性率, それぞれ 7.51, 150.9mmol/l, 2.71mmol/l, 77.9mmol/l, 1.39mmol/l, 17.6mmol/10¹³PLTs, 5.50% であった。調製 7 日後までの経時分析では pH, K⁺, Glucose 濃度が有意に変化した。血小板回収率と蛋白除去率はそれぞれ 90.8±3.2%, 93.3±1.6% であり、Swirling も良好であった。また、細菌培養は陰性、エンドトキシン濃度は検出感度未満であった。本研究より、院内二次製剤の SOP を作成し、評価に基づいた製品標準を定めた。R-PC の院内調製は、SOP を遵守し製品標準を設けることで、一定の品質を保証した調製が可能である。

キーワード：前臨床研究, M-sol, R-PC, SOP, 製品標準

はじめに

濃厚血小板製剤 (PC : Platelet concentrates) による輸血は非溶血性輸血副作用が他の血液製剤と比べて高頻度で出現する^{1)~3)}。このような輸血副作用は PC 中に含まれる血漿蛋白が原因と考えられており、防止策として、洗浄・置換血小板 (W/R-PC : Washed/Replaced-Platelet concentrates) が有効である^{4)~9)}。W/R-PC は安全かつ有効な調製であることを前提としているが、その調製法は施設毎に異なる。ゆえに、調製 24 時間後の血小板機能には差があると報告されている^{10)~12)}。

近年、北海道赤十字血液センター (北海道 BC) の平山ら^{11)~13)}により、W/R-PC の品質および機能を良好な状態に長時間維持することが可能な置換液 M-sol が開発された。2010 年 6 月に日本輸血・細胞治療学会から洗浄・置換血小板の適応および調製に関するガイドラインが公開され、置換液の選択は M-sol が推奨されている¹⁴⁾。また、調製法が洗浄・置換ではなく血漿置換のみの置

換血小板 (R-PC) でも十分な非溶血性輸血副作用の防止効果が期待できることが報告された¹⁵⁾。北海道 BC では、医療機関への技術協力の一環として、M-sol を用いた W/R-PC の調製を行っているが¹³⁾、各医療機関における院内調製に関する報告はなく、標準化もされていない。

そこで、北海道 BC の協力により M-sol および M-sol を用いた R-PC の調製に関する技術研修を経て、本施設の標準作業手順書 (SOP : Standard Operation Procedure) を作成した。本研究では、M-sol による R-PC 調製の SOP の工程の検討を行い、R-PC の製品標準を定めたので報告する。

方 法

【院内調製】

1. SOP

SOP は 1. 目的 2. 定義 3. 必要物品 (機材, 消耗

1) 信州大学医学部附属病院輸血部

2) 信州大学医学部附属病院先端細胞治療センター

3) 北海道赤十字血液センター

〔受付日：2010 年 11 月 1 日, 受理日：2011 年 7 月 7 日〕

品, 試薬) 4. 方法 (一般的方法, 操作) 5. 記録
6. 参照を共通記載とした. 記録は SOP Form として, SOP に対応した記録書を作成した. 調製は SOP を遵守して行った. 以下に SOP (4. 方法) の要旨を示す.

2. M-sol の調製 (n=16)

初めに血液分離ダブルバッグ KBP-66DC (川澄化学工業株式会社, 東京) の第 1 バッグに注射用水「大塚蒸留水[®]」(大塚製薬株式会社, 東京) 460ml, 硫酸マグネシウム注 20mEq (テルモ株式会社, 東京) 20ml を添加して攪拌し, 第 2 バッグへ 355ml 移して A 液とした. 次に高カロリー輸液セット H-1000 (川澄化学工業株式会社) に ACD-A 液 (株式会社 JMS, 広島) 300ml × 2 本, 7% 炭酸水素ナトリウム液「メイロン[®]静注 7%」(大塚製薬株式会社) 250ml を添加し, 静かに攪拌して B 液とし, A 液全量を添加して静かに攪拌し, A+B 混合液とした. 酢酸リンゲル液「ソルアセト F[®]」(テルモ株式会社) 500ml に A+B 混合液 170ml を添加し, 血液分離除菌フィルター付きバッグ KBP-1000F (川澄化学工業株式会社) でフィルトレーションを行い無菌的な M-sol を調製した. この操作を 6 本分のソルアセト F[®] で行った. 調製後, 各 M-sol に無菌接合措置「TSCD」SC-201A (テルモ株式会社) にて KBP-66DC を接続し, 計 12 バッグに小分けした.

M-sol は, アルミラミジップ[®] AL-J (生産日本社, 東京) を用い, 卓上密封包装機 SQ-303W (旭化成パックス株式会社, 東京) にて真空包装し, 使用するまで真空状態, 室温条件下で保存し, 有効期限は調製後 1 年とした. 使用までの期間が最も長かったものは, 調製後 3 カ月であった.

3. M-sol を用いた R-PC の調製 (n=8)

R-PC 調製は, 本施設の健常ドナーの同意に基づき成分採血装置テルシス S[®] (テルモ株式会社) にて採血した PC (10 単位相当) を 1 日水平振盪保存し, 実施した. 調製における接合操作は, 全て無菌接合装置 TSCD (テルモ株式会社) を用いた閉鎖系操作で実施した.

初めに血液分離 PO バッグ KBP-1000FPN (川澄化学工業株式会社) に PC をあけ替え, 遠心分離機 9910 (久保田商事株式会社, 東京) にて遠心 (2,930rpm (2,560 G), 22°C, 10 分間) した. 遠心後のバッグに血液分離バッグ BB-T030CJ (テルモ株式会社) を接続し, 血漿成分をできるだけ除去した. 血漿を除去した KBP-1000 FPN に M-sol を接続し, 220ml 添加し, 室温で 30 分間静置した. 静置後, ペレット状になった血小板を軽く指で擦りながら M-sol に再浮遊させ, 室温で 30 分間振盪した. 30 分後, 凝集がないことを確認し, 調製終了とした. なお, 凝集が認められた場合は, 全て再浮遊するまで振盪時間を延長した. 調製後の R-PC は, ポリオレフィン製の KBP-1000FPN にて室温で 7 日間, 水平

振盪保存した.

【品質検査】

1. M-sol の組成検査 (n=16)

調製直後にサンプリングし, pH, Na⁺, K⁺, Cl⁻, Mg²⁺ 濃度の測定を実施した. pH, Na⁺, K⁺, Cl⁻ 濃度は血液ガス分析装置 (ABL725, RADIOMETER, 東京) にて測定し, Mg²⁺ 濃度は生化学自動分析装置 (Bio Majesty JCA-BM2250, 日本電子データム株式会社, 東京) にて酵素法 (イアトロ LQ Mg レート II, 三菱メディエンス株式会社, 東京) で測定した. 北海道 BC で調製された M-sol (調製日: 2009 年 2 月 6 日, 保存方法: 真空状態にて室温保存, 輸送方法: 陸路による室温輸送, 測定日: 2009 年 2 月 16 日) (n=4) についても同様に測定し, 本施設で調製した M-sol と比較した.

2. R-PC 調製における血小板回収率および蛋白除去率 (n=8)

R-PC 調製前後のサンプルを測定し, 1 バッグ毎の絶対数・量に換算して解析した. 血小板数は自動血球分析装置 (XE-2100, シスメックス株式会社, 兵庫) にて測定し, 総蛋白濃度は生化学自動分析装置にてビュレット法 (アクアオート カイノス TP-II 試薬, 株式会社カイノス, 東京) で測定し, 回収率および除去率を算出した.

3. R-PC の組成変化および機能検査 (n=8)

調製 1, 3, 5, 7 日後にサンプリングし, pH, Na⁺, K⁺, Cl⁻, Mg²⁺ 濃度, Glucose 濃度, P-selectin 陽性率の測定, サンプリングの際の Swirling のチェックを実施した. pH と電解質は M-sol の組成検査と同様に実施した. Glucose 濃度は生化学自動分析装置にてヘキソキナーゼ-UV 法 (リキッド グルコース II, 株式会社ミズホメディー, 佐賀) で測定し結果から算出した. 血小板の活性化を示す P-selectin 陽性率は, FACSCalibur (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) にて FITC 標識抗 CD61 抗体 (Becton Dickinson) および PE 標識マウス抗ヒト CD62P 抗体 (Becton Dickinson) を用いて測定した. CD61+細胞全体に占める CD61+CD62P+細胞の割合から P-selectin 陽性率を解析した. また, 調製 1, 3, 5, 7 日後での経時分析も行った.

4. 細菌培養およびエンドトキシン濃度測定 (n=8)

閉鎖系操作の品質評価の根拠の一つとして, 本来の血小板の有効期限を過ぎた調製 3 日後 (採血 5 日後) の R-PC からサンプリングし, 細菌培養およびエンドトキシン濃度測定を実施した. 細菌培養はチオグリコレート培地を用いて, 35°C で 14 日間培養した. 7 日後の判定は, 目視で培地の混濁を確認した. また, 14 日後の判定は, グラム染色を行い顕微鏡下での細菌の有無を確認し, 最終判定とした. エンドトキシン濃度は日本薬局方に準拠したウェルリダーを用いたカイネティッ

Table 1 Comparative analysis of the composition of M-sol

	M-sol #	M-sol manufactured at the Shinshu University Hospital (n = 16)	M-sol manufactured at the Hokkaido Red Cross Blood Center (n = 4)
pH		6.83 ± 0.06	6.85 ± 0.01
Na ⁺ (mmol/l)	151.4	152.1 ± 1.09	153.0 ± 0.82
K ⁺ (mmol/l)	3.00	2.79 ± 0.05	2.80 ± 0.00
Cl ⁻ (mmol/l)	82.6	78.3 ± 0.70*	82.8 ± 0.50
Mg ²⁺ (mmol/l)	1.60	1.41 ± 0.05*	1.53 ± 0.06
		mean ± SD	mean ± SD

#, according to reference 11

*, Mann-Whitney's *U* test was applied; *p* < 0.05 indicates statistical significance compared with M-sol manufactured at Hokkaido Red Cross Blood Center.

Table 2 Platelet recovery and reduction of plasma protein in R-PC

Platelet recovery ¹⁾ (%)	90.8 ± 3.2 (87.1)
Plasma protein reduction ²⁾ (%)	93.3 ± 1.6 (90.4)
	mean ± SD (minimum)

¹⁾ Platelet recovery was calculated using the formula

$$= \frac{\text{Post-platelet count} - \text{Pre-platelet count} (\mu\text{l})}{\text{Pre-platelet count} (\mu\text{l})} \times 100$$

²⁾ Plasma protein reduction was calculated using the formula

$$= \frac{\text{Pre-protein} - \text{Post protein in R-PC} (\text{g/dl})}{\text{Pre replaced plasma protein} (\text{g/dl})} \times 100$$

Table 3 Composition and functional tests on day one after the manufacture of R-PC

	Day 1 (n = 8)	CV%
pH	7.51 ± 0.10	1.3
Na ⁺ (mmol/l)	150.9 ± 0.83	0.6
K ⁺ (mmol/l)	2.71 ± 0.06	2.2
Cl ⁻ (mmol/l)	77.9 ± 0.35	0.4
Mg ²⁺ (mmol/l)	1.39 ± 0.08	5.8
Glucose (mmol/10 ¹² PLTs)	17.6 ± 1.56	8.9
P-selectin (%)	5.50 ± 5.47	99.5
Swirling	Good	

mean ± SD

ク比色法(エンドスピー[®]ES-24S セット, 生化学バイオビジネス株式会社, 東京)で測定した。なお, 標準物質(エンドトキシン標準品 CSE-L セット, 生化学バイオビジネス株式会社)の添加濃度は 0.06EU/ml であり, これを検出限界とした。

5. 統計処理

統計ソフトは, PSAW Statistics 18 (IBM SPSS Statistics 18.0) を使用し, 本施設で調製した M-sol と北海道 BC で調製された M-sol との組成の比較は Mann-Whitney *U* 検定, R-PC の組成および機能における測定項目毎の経時分析は反復測定による 1 元配置の分散分析を行った。なお, 有意確率 *p* < 0.05 を有意とした。

6. 付記

本研究は, 本施設における臨床研究課題「小児における洗浄血小板による副作用予防に関する研究」の倫理委員会申請に関わる前臨床研究として実施した。

結 果

1. M-sol の組成検査 (n=16)

本施設で調製された M-sol の pH, Na⁺, K⁺, Cl⁻, Mg²⁺ 濃度の平均値は, それぞれ 6.83, 152.1mmol/l, 2.79 mmol/l, 78.3mmol/l, 1.41mmol/l であった (Table 1)。北海道 BC の M-sol との比較では, Cl⁻, Mg²⁺ 濃度がそれぞれ 4.5mmol/l, 0.12mmol/l 低値で, 有意差が認められた (Table 1)。

2. R-PC 調製における血小板回収率および蛋白除去率 (n=8)

R-PC 調製における血小板回収率および蛋白除去率の平均値は, 90.8%, 93.3% であり, それぞれの最低値が 87.1%, 90.4% であった (Table 2)。

3. R-PC の組成変化および機能検査 (n=8)

調製 1 日後において, pH, Na⁺, K⁺, Cl⁻, Mg²⁺ 濃度, Glucose 濃度, P-selectin 陽性率の平均値と変動係数 (CV%) は, それぞれ 7.51 (1.3), 150.9mmol/l (0.6), 2.71mmol/l (2.2), 77.9mmol/l (0.4), 1.39mmol/l (5.8), 17.6mmol/10¹²PLTs (8.9), 5.50% (99.5) であった (Table 3)。また, 調製 1 日後および 7 日後における Swirling は良好であった。

測定項目毎の R-PC 調製後 7 日間における経時分析で, pH, K⁺ 濃度は上昇傾向を示し, Glucose 濃度は下降傾向を示した (Fig. 1)。その他の測定項目について, 反復測定による 1 元配置の分散分析で有意な日差変動は認められなかった (Fig. 1)。

4. 細菌培養およびエンドトキシン濃度測定 (n=8)

R-PC の細菌培養は, 全てのロットで 7 日後の目視による培地の混濁は認められず, 14 日後のグラム染色の鏡顕においても細菌の発育は認められなかった (Table 4)。また, エンドトキシン濃度は, 全てのロットで試薬の検出感度の限界である 0.06EU/ml 未満であった

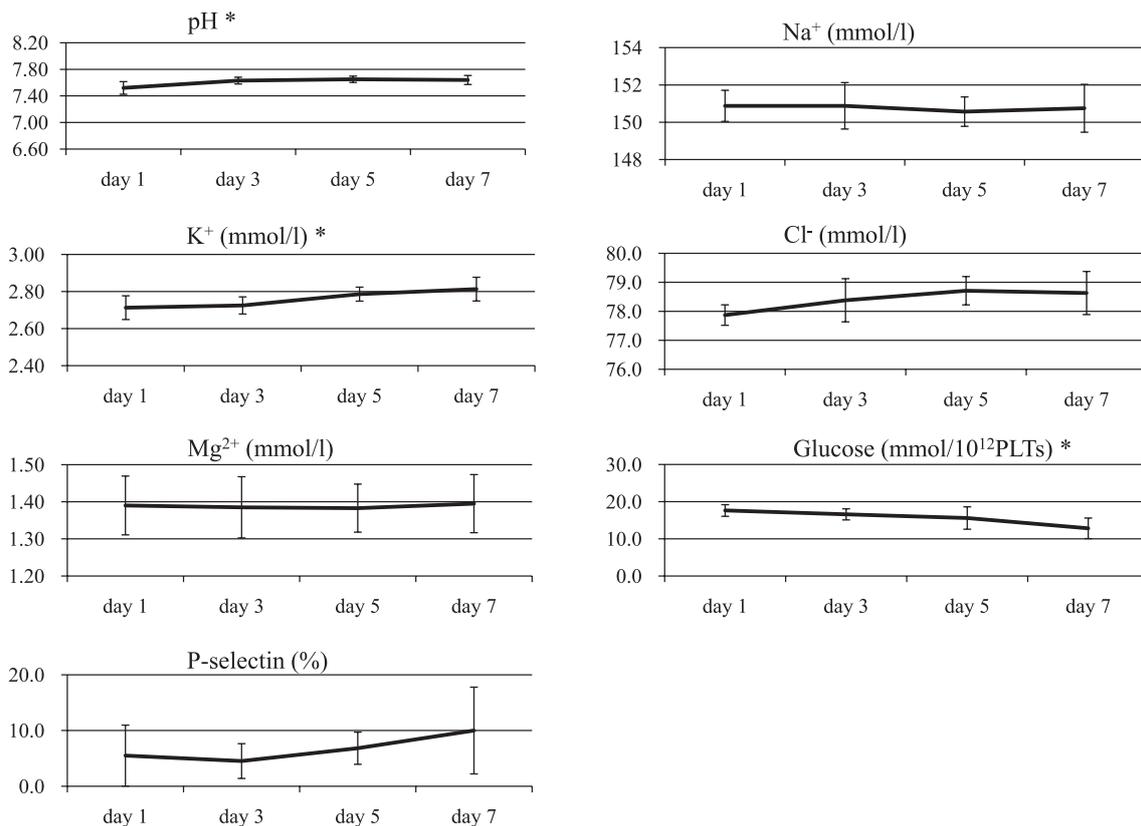


Fig. 1 Analysis of the composition of R-PC (n=8).

The following R-PC parameters were analyzed until the seventh day: pH, Na⁺, K⁺, Cl⁻, and Mg²⁺ concentrations; glucose level; and P-selectin positivity. Error bars on the line graphs are the mean ± SD. *indicates statistically significant parameters.

Table 4 Bacterial and endotoxin tests of R-PC 3 days after manufacture

R-PC Lot number	Bacterial test		Endotoxin level (EU/ml)
	7 days	14 days	
1	—	—	<0.06*
2	—	—	<0.06*
3	—	—	<0.06*
4	—	—	<0.06*
5	—	—	<0.06*
6	—	—	<0.06*
7	—	—	<0.06*
8	—	—	<0.06*

* , less than the detectable level.

Table 5 Proposed standard of R-PC with M-sol

	Standard criteria
pH	>7.20
Na ⁺ (mmol/l)	149.0 ~ 154.0
K ⁺ (mmol/l)	2.60 ~ 3.00
Cl ⁻ (mmol/l)	76.0 ~ 83.0
Mg ²⁺ (mmol/l)	1.25 ~ 1.60
Glucose (mmol/10 ¹² PLTs)	>14.5
Platelet recovery (%)	>80.0
Protein reduction (%)	>90.0
Swirling	Good
P-selectin # (%)	<14.00

, should be measured if FACS is available.

(Table 4).

考 察

PC 輸血は、非溶血性輸血副作用を伴う頻度が高く、その予防策として W/R-PC の調製が有効である。本施設でも長野県赤十字血液センターの技術協力を得て、SOP に従ったブドウ糖加酢酸リンゲルを用いた置換液 G-sol による W/R-PC の院内調製を行っていた。しかし

ながら、G-sol は、血小板の機能を長期に維持することが難しく、調製後は速やかに使用することが必要であった。一方、M-sol を用いた W/R-PC は、血小板の機能が良好に保たれるため、十分な副作用防止効果および輸血効果が得られると報告されている^{11)~13)}。そこで、M-sol を置換液とした R-PC を院内製剤として使用するための前臨床研究を実施した。

院内調製した M-sol の Mg²⁺、Cl⁻濃度は、医薬品や血液バッグ等の医療機材は全て北海道 BC と同様のものを

用いたにも関わらず、北海道 BC で調製した M-sol の Mg^{2+} 、 Cl^{-} 濃度と比較して、わずかではあるが有意に低かった (Table 1)。しかし、今回の検討では、残念ながらその原因の特定はできなかった。そこで、院内調製した M-sol による R-PC の品質検査結果によると、血小板回収率および蛋白除去率はともに 90% を超えており、調製 24 時間後における pH は 7.51、Swirling は 8 ロットに関して全て良好であった (Table 2, 3)。さらに、本施設での G-sol による W/R-PC 調製直後の P-selectin 陽性率 ($n=9$) が 27.9% (未発表データ) に対し、M-sol による R-PC では 5.50% であった。マグネシウムは血小板の活性化を抑制する働きがあると報告されている¹⁶⁾。本施設で調製した M-sol 中の Mg^{2+} 濃度は北海道 BC に比べ低値を示していたが、Swirling と P-selectin の結果から R-PC の活性化を示す所見はなかった。ゆえに、本研究での M-sol 中のマグネシウム含有量の差による影響は軽微であったと推測された。なお、北海道 BC の内部データによると、 Mg^{2+} 濃度は 1.20~2.00mmol/l の範囲において血小板機能には差がないとされている。したがって、本施設における SOP を遵守して院内調製した M-sol および M-sol による R-PC の品質は良好に保たれていたと判断された。

R-PC 調製後の経時分析 (7 日間) において観察された pH の変化は、M-sol の pH が影響していると考えられた。北海道 BC の報告によると、調製直後の R-PC の pH が、調製前 (7.1) に比べ約 0.2 低下する原因は、M-sol の pH が約 6.8 であるためとされている¹⁵⁾。Glucose 濃度の下降傾向は、血小板の代謝作用により生じた現象と考えられ、時間経過に伴う血小板の活性化とも関連している¹⁷⁾。さらに、 K^{+} 濃度の上昇傾向についても同様に、時間経過による血小板の崩壊に伴う K^{+} の細胞外流出により生じた現象と考えられ、いずれも R-PC の 7 日間もの長期保存における影響であり、調製後の有効期限を定める際の一つの指標になる可能性が示唆された (Fig. 1)。

血漿除去した PC では、細菌の増殖が高まるリスクが報告されている^{18)~20)}。しかしながら、例数は少ないが、院内調製して 3 日後の R-PC の細菌培養およびエンドトキシン濃度は、いずれも陰性あるいは検出限界以下であった。この事は我々の調製した R-PC の無菌性が担保されているという根拠の一つとなる (Table 4)。

M-sol の組成 (理論値) は既に報告されているため比較が可能であるが、院内二次製剤としての R-PC の製品基準は定められていなかった。そこで、本研究を通して臨床適用するために、独自の製品基準を定めた (Table 5)。製品基準は、1 項目でも逸脱した製剤の臨床適用を不可と判断する根拠となるもので、その値の設定は R-PC の結果 (Table 3) の 95% 信頼範囲 ($mean \pm$

2SD) を基本とした。なお、R-PC 調製直後の pH は、前述したように M-sol の pH の影響を受け易いと考えられた。さらに、前臨床研究が 8 ロットであったことやバラツキの認められる項目があったこと、検査機器の精度管理上の誤差等を考慮して定めた。また、P-selectin 陽性率は、フローサイトメーターを用いた測定より一般的な日常検査法とは言えないため、製品標準では参考値とした。

我々の施設では、この製品標準を基に SOP を遵守した R-PC の院内調製が開始されている。SOP に基づいて調製した日赤血由来の R-PC での本製品標準の適合率は 98.5% となっており、SOP の工程および Table 5 に示した製品標準の範囲は、良好なものであったと考えられる。すなわち、医療機関におけるプロセスバリデーションを施行し、製品標準を設けることにより、品質の保証された R-PC の院内調製が可能であると言える。

結 語

置換液 M-sol および M-sol を用いた R-PC は、各医療機関において、SOP を作成し適切な製品基準を設定すれば、品質の保証された院内二次製剤としての調製が可能である。

本研究の一部は、厚生労働科学研究費補助金 医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業「院内血液製剤の適正な製造体制・順守基準に関する研究 (H20—医薬—一般—006)」(平成 20-21 年度 大戸班) および「輸血副作用把握体制の確立—特に免疫学的副作用の実態把握とその対応— (H20—医薬—一般—009)」(平成 20-22 年度 高本班) からの補助金により実施した。

謝辞：M-sol および R-PC 調製に関する御指導、御助言を賜りました「北海道赤十字血液センター」の諸先生方に深謝致します。

文 献

- 1) 村岡正人, 相坂直子, 百瀬俊也, 他: 日本赤十字社に報告された非溶血性副作用の現状—2006 年—. 日本輸血細胞治療学会誌, 55: 500—507, 2009.
- 2) 柴 雅之, 田所憲治: 血小板輸血の副作用. 日本輸血学会誌, 47: 560—562, 2001.
- 3) Heddle NM, Klama LN, Griffith L, et al: A prospective study to identify the risk factors associated with acute reactions to platelet and red cell transfusion. Transfusion, 33: 794—797, 1993.
- 4) 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.
- 5) 麻田真由美, 芦田隆司, 金光 靖, 他: 近畿大学附属病院における輸血に伴う非溶血性副作用. 日本輸血細胞治療学会誌, 53: 24—27, 2007.

- 6) 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. 日本輸血学会誌, 40: 589, 1994.
- 7) Heddle NM, Klama L, Meyer R, et al: A randomized controlled trial comparing plasma removal with white cell reduction to prevent reactions to platelets. *Transfusion*, 39: 231—238, 1999.
- 8) Heddle NM, Blajchman MA, Meyer RM, et al: A randomized controlled trial comparing the frequency of acute reactions to plasma-removed platelets and prestorage WBC-reduced platelets. *Transfusion*, 42: 556—566, 2002.
- 9) 百名伸之, 知名耕一郎, 具志堅俊樹, 他: 洗浄血小板による非溶血性副作用の回避. 日本輸血学会誌, 44: 396—398, 1998.
- 10) 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. 日本輸血学会誌, 47: 777—782, 2001.
- 11) 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.
- 12) 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.
- 13) 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.
- 14) 日本輸血・細胞治療学会ホームページ: 洗浄・置換血小板の適応およびその調製の指針 (Version II) <http://www.jstmct.or.jp/jstmct/Guideline/Reference.aspx?ID=9> (2010年10月現在).
- 15) 秋野光明, 田村 暁, 平山順一, 他: 二種類の洗浄・置換血小板の調製法に関する検討. 日本輸血細胞治療学会誌, 55: 698—704, 2009.
- 16) 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.
- 17) 中條聖子, 小田 淳, 秋野光明, 他: 血小板製剤中ブドウ糖消費量と血小板活性化の関連性. 日本輸血学会誌, 46: 474—479, 2000.
- 18) 平山順一, 高橋 勲, 杉浦さよ子, 他: M-solによる洗浄血小板中での細菌の増殖動態. 日本輸血細胞治療学会誌, 55: 230, 2009.
- 19) 杉浦さよ子, 高橋 勲, 平山順一, 他: 3種類の保存液 Seto sol, M sol, PAS III M に置換した血小板製剤中の細菌増殖. 血液事業, 32: 9—16, 2009.
- 20) 平山順一, 高橋 勲, 杉浦さよ子, 他: M-solによる洗浄血小板中での細菌増殖に関する検討. 日本輸血細胞治療学会誌, 54: 177, 2008.

VALIDATION OF REPLACED PLATELET CONCENTRATES WITH M-SOL AT AN INSTITUTION

Shunsuke Kojima¹⁾, Ryu Yanagisawa¹⁾, Shinsuke Ishikawa¹⁾, Nobuhiko Nakasone¹⁾, Kiyoko Nakazawa¹⁾, Yasuhisa Hasegawa¹⁾, Takashi Kobayashi¹⁾, Junichi Hirayama³⁾, Mitsuaki Akino³⁾, Hiroshi Azuma³⁾ and Shigetaka Shimodaira¹⁾²⁾

¹⁾Division of Transfusion Medicine, Shinshu University Hospital

²⁾Center for Advanced Cellular Therapy, Shinshu University Hospital

³⁾Hokkaido Red Cross Blood Center

Abstract:

Washed/replaced-platelet concentrates (W/R-PC) have been used to prevent non-hemolytic transfusion reactions. The manufacturing process of W/R-PC varies across institutions. Additive solution M-sol has been reported to retain the stability of platelet function. In this preclinical study, we developed a standard operating procedure (SOP) for manufacturing replaced-platelet concentrates (R-PC) with M-sol and analyzed the quality of these R-PC at a single institution.

The following parameters of R-PC with M-sol (n=8) manufactured according to the SOP were analyzed: pH and Na⁺, K⁺, Cl⁻, and Mg²⁺ concentrations. Functional testing of R-PC one day after manufacture consisted of the number of platelets, glucose level, P-selectin positivity, and swirling. In addition, we also performed both bacterial and endotoxin tests of the products.

The values (mean) of R-PC parameters were as follows: pH (7.51), Na⁺ (150.9 mmol/l), K⁺ (2.71 mmol/l), Cl⁻ (77.9 mmol/l), Mg²⁺ (1.39 mmol/l), glucose (17.6 mmol/10¹²PLTs), and P-selectin (5.50%). A trend was observed for changes in the values of pH, K⁺, and glucose of the R-PC until the seventh day. The process of R-PC manufacturing was validated by setting the recovery of platelets as 90.8 ± 3.2%, reduction of plasma protein as 93.3 ± 1.6%, and presence of distinct swirling of all R-PC. Quality was confirmed by the negative results of bacterial tests in 14-day cultures and undetectable endotoxin levels.

We propose that the R-PC standard met the criteria validated by the preclinical study. These findings indicate that this SOP can be used to manufacture M-sol and R-PC for clinical use at individual institutions.

Keywords:

Preclinical Study, M-sol, R-PC, SOP, Standard