

## 重炭酸リンゲル液を用いた血小板製剤の洗浄と保存

及川 伸治<sup>1)</sup> 佐々木 大<sup>2)</sup> 菊地 正輝<sup>1)</sup> 澤村 佳宏<sup>2)</sup> 伊藤 孝<sup>1)2)</sup>

血小板製剤 (PC) 輸血時の非溶血性副作用発生頻度を低下させるためには、血漿の大部分を洗浄保存液に置換した洗浄血小板 (WPC) が有効である。現在、日本では承認された洗浄保存液が無いので、市販の酢酸リンゲル液、重炭酸ナトリウム、硫酸マグネシウムなどの混液が使用されている。近年、アルカリ化剤として重炭酸塩が用いられた重炭酸リンゲル液 (BRS) が開発された。本研究では、BRS が洗浄保存液として使用できるかどうか検討した。

BRS 500ml に ACD-A 液 25ml を添加し、その混液を除菌フィルターで処理して洗浄保存液 (BRS-A) を調製した。BRS-A で調製した WPC (血漿残存率 5% 未満) を 7 日間保存し、その機能を非洗浄 PC (血漿浮遊) と比較した。

7 日間保存中、洗浄血小板の pH、低浸透圧性ショック回復率、グルコース消費割合、乳酸産生割合、スワーリング、CD62P・CD42b 発現率は非洗浄 PC と同等かそれ以上に優れていた。

国内で認可されている 2 つの輸液を混合することにより、血小板機能を良好に維持する洗浄保存液を調製できた。今回の結果から、BRS-A は PC の洗浄保存液として有用であることが示された。

**キーワード：**血小板輸血、洗浄血小板、洗浄保存液、重炭酸リンゲル液、非溶血性副作用

第 60 回日本輸血・細胞治療学会総会座長推薦論文

本論文内容は、Blackwell Publishing 社の許可のもと、Transfusion 誌 (第 53 巻 第 3 号 655-660 2013 年) に掲載された論文に基づき作成したものである。(Shinji Oikawa, Dai Sasaki, Masaki Kikuchi, Yoshihiro Sawamura, and Takashi Itoh : Comparative in vitro evaluation of apheresis platelets stored with 100% plasma versus bicarbonated Ringer's solution with less than 5% plasma. Transfusion 53(3) : 655-660, 2013)

### 緒 言

血小板製剤 (PC) 輸血に伴う非溶血性副作用の発生頻度を減らすために、PC 中の血漿除去や白血球由来サイトカイン等の蓄積を防ぐための保存前白血球除去が行われている。いくつかの研究グループでは、特に血漿除去の有効性について報告している<sup>1)~4)</sup>。PC 中の血漿を減量し、輸注される血漿量を減らす手法もあるが、十分に副作用発生率を減らすことはできない<sup>5)</sup>。そのため、現在は PC 中の血漿をほとんど除去した洗浄血小板 (WPC) が、推奨されている。

PC 用の洗浄保存液 (Platelet additive solution : PAS) は、一部の国で血漿の代替として使用されている。洗浄保存液には、PC 中の血漿量を減らすことによる分画製剤原料血漿確保量の増加、血漿に起因する輸血副作用の防止、また血小板保存状態の改善など様々な役割がある<sup>6)7)</sup>。現在、海外で使われている PlasmaLyte A, T-Sol, Composol, InterSol, および SSP+ の組成には重

炭酸塩とグルコースが含まれていない。これは二酸化炭素の脱気とグルコースのカラメル化反応を避けるためである。従って、重炭酸塩とグルコースを血小板に与えるために、一定量の血漿を製剤中に残すことが必要となる<sup>6)</sup>。これらの洗浄保存液は血漿タンパク濃度 20% 以下では、血小板機能を 5 日間維持できないことが示されている<sup>8)</sup>。最近、InterSol の組成を変更した PAS-5 が開発された。血小板機能を低タンパク濃度 (約 5%) 下で維持するために、グルコースや重炭酸塩などが追加されており、7 日間の保存でも品質が維持できることが報告されている<sup>9)</sup>。これらの報告は、洗浄後の PC 中に含まれる血漿タンパク濃度が 5% 以下である場合、洗浄保存液中にグルコースと重炭酸塩が含まれていることが、血小板機能維持のために重要であることを示している。

PC の血漿を洗浄保存液に置換することで多くの利点を得られるが、日本には臨床使用が認可された洗浄保

1) 日本赤十字社東北ブロック血液センター

2) 宮城県赤十字血液センター

[受付日：2012 年 10 月 25 日，受理日：2012 年 12 月 25 日]

Table 1 Composition of bicarbonated Ringer's solution supplemented with ACD-A (mmol/l)

	BRS-A
NaCl	95.2
KCl	3.8
MgCl <sub>2</sub>	0.9
NaHCO <sub>3</sub>	26.6
Glucose	5.8
Trisodium citrate	4.2
Citric acid	1.8
CaCl <sub>2</sub>	1.4

ACD-A, acid-citrate-dextrose formula A  
BRS-A, bicarbonated Ringer's solution with magnesium supplemented with ACD-A

存液は無い。そのため血液センターでは、しばしば技術協力としてPCの洗浄を行っている。

日本輸血・細胞治療学会では「洗浄・置換血小板の適応およびその調製の指針」を作成している。その指針には、市販輸液を混合することで調製できる洗浄保存液と標準的な洗浄・置換法が記載されている<sup>10)</sup>。その指針では重炭酸塩とグルコースをその組成に含むM-solが推奨されている。M-solは低タンパク濃度下(5%以下)で少なくとも7日間、血小板機能を維持できることが示されている<sup>11)12)</sup>。

M-solは市販輸液を混合することで調製できるため年々普及している。しかし調製手技がやや煩雑であるため、作業者の熟練度によってはその組成の正確性に影響を与える恐れがある。

我々は液性が中性付近で血小板保存に必要な成分を含む輸液が市販されているかどうか調査した結果、重炭酸リンゲル液(bicarbonate Ringer's solution : BRS)を見出した<sup>13)</sup>。

BRSはマグネシウム、グルコース、また種々の電解質を含み、プラスチックバッグに充填されている。そのバッグは二酸化炭素の漏出を抑制する特殊ガスバリアフィルムで包装されている。BRS中のアルカリ化剤である重炭酸ナトリウムは、酢酸リンゲル液中の酢酸ナトリウムと異なり、生体中での代謝を必要としない。それ自身が生理的な重炭酸塩として供給されるため、迅速にアシドーシスを補正することができるという特徴がある。

本研究では、BRSを血小板の洗浄保存液として臨床応用できるかどうか判断するために、in vitroでの血小板機能を評価した。

## 材料および方法

### 重炭酸リンゲル液

ピカネイト<sup>®</sup>輸液(2.92g NaCl, 0.15g KCl, 0.11g CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O, 0.10g MgCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O, 1.175g NaHCO<sub>3</sub>, and 0.10g Na<sub>3</sub>-citrate · 2H<sub>2</sub>O in 500ml ; 大塚製薬工場)を用いた。

### 重炭酸リンゲル液への抗凝固剤添加

洗浄保存液は、ピカネイト<sup>®</sup>輸液(大塚製薬工場)500mlにACD-A液(川澄化学工業)25mlを加えることにより調製した。緩やかに混合した後、0.22μm除菌フィルター付バッグ(KBP-1000F, 川澄化学工業)でフィルター滅菌した。以上の処理はPC洗浄の直前に行った。

### 血小板の洗浄

ALT検査値が基準外となった保存前白血球除去アフエレーシスPCを用いた。総血小板数は、PC容量(重量/比重, 1.03)に血小板濃度(μl)を乗じて算出した。PCは血小板振とう機(20~24°C, 60サイクル/分)で保管し、採血翌日に洗浄した。ABO型が同一の2本のPCを混合した後、約200mlずつ2本に分割し、それぞれテスト群(WPC群)、コントロール群(非洗浄、血漿浮遊群)とした。テスト群にはBRS-Aを250ml添加して混和後、大容量冷却遠心機で遠心した(2,560g, 22°C, 10分)。分離スタンドでバッグをプレスして上清を廃液回収用バッグに移し、可能な限り血漿を除去した。上清の入った廃液バッグを切り離し、BRS-Aを総容量が200mlに達するまで添加した。30分間静置後、血小板振とう機で30分以上振とうすることにより再懸濁した。

### サンプリングと血小板パラメーターの測定

洗浄処理前後に無菌接合装置(TSCD, テルモ BCT)で80ml容量分離バッグ(BB-T008FJ, テルモ BCT)を接続して、PCまたはWPC約2mlを採取し血小板数およびタンパク量測定用サンプルとした。テスト群は、洗浄1, 3, 5, および7日後に同様に採取し、血小板機能試験用サンプルとした。コントロール群でも同様に行った。

洗浄前後のタンパク量はビスコニン酸法(BCA protein assay kit, Thermo Fisher Scientific)で測定した。血漿タンパク除去率を算出するために洗浄前後のタンパク量を求めた。

血小板数と平均血小板容積(MPV : mean platelet volume)は、多項目自動血球計数装置KX-21(シスメックス)を用いて測定した。調製前後の血小板数から、血小板回収率(%)を求めた。pH, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, 重炭酸塩の値(37°C)は、自動血液ガス分析装置(ABL5, ラジオメーター)を用いて測定した。グルコースおよび乳酸レベルを測定するために、サンプルを遠心分離(5,000g, 5分間, 22°C)し、得られた上清を-40°Cで保存した。測定時に解凍し、グルコースCIIテストワコー

Table 2 Metabolic characteristics of platelets in 100% plasma (control) and BRS-A (test)\*

	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7
pH at 37°C				
Control	7.15±0.05	7.09±0.03	7.00±0.05	6.84±0.10
Test	7.24±0.04 †	7.18±0.09 †	7.31±0.12 †	7.50±0.04 †
pO <sub>2</sub> (mmHg)				
Control	135.3±12.3	129.3±10.6	129.3±8.7	138.8±9.5
Test	149.0±9.2	157.8±4.3 †	155.0±5.2 †	157.2±4.2 †
pCO <sub>2</sub> (mmHg)				
Control	33.5±2.4	31.8±2.4	29.5±1.3	28.5±1.0
Test	38.8±5.9	30.0±3.6	16.5±5.4 †	11.0±0.8 †
Glucose (mmol/l)				
Control	22.21±1.95	20.88±1.97	19.23±2.20	17.37±1.51
Test	5.00±0.72 †	1.95±0.86 †	0.12±0.14 †	0.03±0.01 †
Lactate (mmol/l)				
Control	4.46±0.86	8.76±3.64	8.93±0.65	13.64±1.29
Test	2.47±1.40 †	8.08±1.72	11.04±0.79	10.55±0.70 †
Bicarbonate (mmol/l)				
Control	11.0±0.8	9.0±0.0	6.8±1.0	4.8±1.0
Test	16.0±0.8 †	10.5±1.7	7.5±0.6	8.3±0.5 †

\*The data represent mean ± SD; n=5.

†P&lt;0.05, test compared with control on the same day.

BRS-A, bicarbonated Ringer's solution with magnesium supplemented with ACD-A

(和光純薬工業)およびL-乳酸キット(ロシュ・ダイアグノスティック)を用いて測定した。スワーリングは目視検査によって評価し,0(スワーリング無し),+,++,または+++とスコア化した。低浸透圧性ショック回復率(HSR:hypotonic shock response)を測定するために,AB型血漿を用いて血小板濃度を $30 \times 10^4/\mu\text{l}$ に調整した<sup>14)</sup>。HSRは常法に従い,測定用サンプル $400\mu\text{l}$ に $200\mu\text{l}$ のPBSを加えたときの610nmにおける吸光度と $200\mu\text{l}$ の精製水を加えたときの5分間の吸光度の変化を紫外・可視分光光度計(DU 640,ベックマン・コールター)を用いて測定し,その変化の割合から算出した<sup>15)</sup>。

血小板活性化マーカーCD62P(P-selectin,GMP-140)およびCD42b(glycoprotein Ib $\alpha$ )発現率(%)はフローサイトメーター(FACSCalibur™,BD Biosciences)で測定した。血小板サンプル $50\mu\text{l}$ に1%パラホルムアルデヒドPBS $1,000\mu\text{l}$ を添加し,4°Cで2時間以上固定した。PBSで2回洗浄した後,血小板数が約 $1 \times 10^4/\mu\text{l}$ になるようにPBSに再懸濁した。固定サンプル $40\mu\text{l}$ にPhycoerythrin(PE)標識抗CD62P抗体 $10\mu\text{l}$ ,Fluorescein isothiocyanate (FITC)標識抗CD42b抗体 $10\mu\text{l}$ およびPeridinin chlorophyll protein (PerCP)標識抗CD61抗体 $10\mu\text{l}$ を添加し,15分間,室温,暗所でインキュベートすることにより染色した。陰性コントロールサンプルは,PE標識抗マウスIgG1抗体およびFITC標識抗マウスIgG1抗体を使用し同様に処理した。染色反応はPBS(4°C)1mlを添加して停止させた。抗体は

すべてBD BiosciencePharmingenから入手した。測定は抗CD61抗体陽性細胞をゲーティングし,その10,000個中における抗CP62Pまたは抗CD42b抗体陽性血小板数をカウントした。解析時に,陰性コントロールを用いた時のPEまたはFITC logスケール上で0.5%が陽性となる位置を境界とし,陽性細胞を決定した<sup>16)</sup>。結果は,CD61/CD62PまたはCD61/CD42bダブルポジティブとなった血小板数をCD61ポジティブとなった血小板数に対する百分率として表した。

#### 統計分析

結果は平均値±標準偏差(SD)として表した。統計分析は,MS Excel 2003(Microsoft Corporation)のアドインソフトであるStatcel 2(2nd edition,OMS;Saitama,Japan)を用いて行った。テスト群とコントロール群間の統計学的差異は各時点(Day)における値を,two-tailed paired Student's t-testで判定した。P<0.05で統計学的に有意であると判断した。

#### 結 果

テスト群での血漿タンパク残存率は $2.1 \pm 0.7\%$ ,血小板回収率は $90 \pm 1\%$ (n=5)であった。テスト群とコントロール群の容量は,それぞれ $206.7 \pm 2.8\text{ml}$ および $208.2 \pm 3.5\text{ml}$ であった(n=5)。各種パラメーターの測定結果はTable 2, Table 3に示した。

7日間の保管中,テスト群のグルコースレベルはコントロール群よりも低かったが,グルコース消費割合は同等であった( $0.95 \pm 0.04\text{mmol}/10^{12}\text{platelets}/\text{day}$  vs.

Table 3 Functional characteristics and surface glycoprotein expression of platelets in 100% plasma (control) and BRS-A (test)\*

	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7
Platelet concentration ( $\times 10^4/\mu\text{l}$ )				
Control	116.1 $\pm$ 6.0	114.5 $\pm$ 6.0	111.5 $\pm$ 4.6	107.7 $\pm$ 4.5
Test	103.4 $\pm$ 7.0 $\dagger$	103.4 $\pm$ 6.5 $\dagger$	100.8 $\pm$ 6.2 $\dagger$	91.0 $\pm$ 4.5 $\dagger$
Swirling				
Control	+++	+++	+++	++
Test	+++	+++	+++	+++
HSR (%)				
Control	69.7 $\pm$ 6.4	63.2 $\pm$ 3.7	58.6 $\pm$ 5.7	49.2 $\pm$ 4.4
Test	70.4 $\pm$ 3.5	75.5 $\pm$ 6.7 $\dagger$	64.5 $\pm$ 6.8	66.9 $\pm$ 4.1 $\dagger$
MPV (fl)				
Control	8.0 $\pm$ 0.2	8.0 $\pm$ 0.1	8.0 $\pm$ 0.1	8.0 $\pm$ 0.4
Test	7.7 $\pm$ 0.3 $\dagger$	7.8 $\pm$ 0.2 $\dagger$	8.1 $\pm$ 0.2	8.6 $\pm$ 0.2 $\dagger$
CD62P (%)				
Control	12.3 $\pm$ 3.6	23.0 $\pm$ 3.7	41.0 $\pm$ 6.9	63.9 $\pm$ 8.1
Test	13.0 $\pm$ 3.8	14.7 $\pm$ 3.3 $\dagger$	24.3 $\pm$ 6.9 $\dagger$	33.8 $\pm$ 3.3 $\dagger$
CD42b (%)				
Control	99.1 $\pm$ 0.4	98.5 $\pm$ 0.5	98.1 $\pm$ 0.5	94.7 $\pm$ 2.7
Test	99.4 $\pm$ 0.3	99.4 $\pm$ 0.3 $\dagger$	98.5 $\pm$ 0.9	93.9 $\pm$ 6.3

\*The data represent mean  $\pm$  SD; n=5. $\dagger P < 0.05$ , test compared with control on the same day.

BRS-A, bicarbonated Ringer's solution with magnesium supplemented with ACD-A

0.67 $\pm$ 0.21mmol/10<sup>12</sup> platelets/day ; P=0.059). テスト群の乳酸産生割合はコントロールと同等であった(1.85 $\pm$ 0.13mmol/10<sup>12</sup> platelets/day vs. 1.64 $\pm$ 0.22mmol/10<sup>12</sup> platelets/day ; P=0.271). テスト群の bicarbonate neutralization rate もコントロール群と差はなかった(1.60 $\pm$ 0.19mmol/10<sup>12</sup> platelets/day vs. 1.33 $\pm$ 0.12mmol/10<sup>12</sup> platelets/day ; P=0.0993).

## 考 察

我々は、市販の BRS が血小板の洗浄・保存に応用可能かどうかを評価するために、BRS に ACD-A 液を添加した液 (BRS-A) で洗浄・保存した血小板の in vitro パラメーター (pH, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>, bicarbonate, MPV, グルコース, 乳酸, HSR, CD62P・CD42b 発現率, スワーリング) をコントロール群と比較した。テスト群の機能はコントロール群と同等以上であった。この結果は血漿タンパク 5% 以下の WPC を調製する場合、BRS-A を洗浄保存液として利用できることを示している。

BRS-A は、日本で臨床使用が認可された市販の輸液のみで構成されている。今までに報告されている洗浄保存液 (M-sol<sup>11)</sup>, PlasmaLyte A, T-sol, Composol, InterSol, SSP+<sup>7)</sup>, PAS-5<sup>9)</sup>) と異なる点は、酢酸塩を含んでいないことである。一般的に酢酸塩は洗浄保存液の保存性能を向上させるために利用されている<sup>17)</sup>。BRS-A はカリウムとマグネシウムを含んでいるが、これらは血小板の解糖系や活性化を抑制し、HSR と形態を維持する役割がある<sup>18)</sup>。さらに BRS-A はカルシウムを含

んでいる。M-sol による in vitro の結果からも示されたように、カルシウムは血小板の低タンパク濃度下での品質を維持する重要な役割を担っている<sup>19)</sup>。Heaton らは重炭酸塩を用いることにより血小板の 7 日間保存が可能であることを示しているが、それは重炭酸塩が乳酸を水と二酸化炭素に分解することにより、pH の低下を抑制するためである<sup>20)</sup>。

BRS-A で洗浄した直後の血小板回収率は 90 $\pm$ 1% であった。この値は、高い血小板回収率を達成した過去の報告と同等以上である<sup>21)~24)</sup>。Veeraputhiran らは PlasmaLyte A よりも生理食塩液で洗浄した方が高い回収率が得られるとしているが、それは生理食塩液で洗浄した方が凝集塊の残存が少ないためであるとしている<sup>5)</sup>。本研究では洗浄操作後にほとんど凝集塊は認められなかった。このことは用いた遠心条件や BRS-A の組成が血小板洗浄に適していることを示唆している。対照的に、最適化されていない遠心条件のために、高い血小板喪失率 (41~42.7%) を示した報告がある<sup>25)</sup>。

Composol, PlasmaLyte A, SSP+などで洗浄血小板を調製する場合は、血小板に重炭酸やグルコースを供給するために、一定量の血漿タンパクを残す必要がある。しかし、清水らは Seto 液で血小板製剤の血漿を置換した場合、HSR, 凝集能などの血小板機能はタンパク残存率約 0.9% で 3 日間維持されることを報告している<sup>22)</sup>。最近、東らはタンパク残存率 3~4% で M-sol に浮遊させた血小板は副作用の発生を有意に減少させ、良好な CCI をもたらすことを示している<sup>26)</sup>。BRS-A

は5%以下の血漿タンパク残存率で、血小板機能を7日間維持することができた。この血漿タンパク残存量は、血小板輸血による副作用を抑制できるレベルであると考えられる。

血小板の膜表面上に存在するCD42bは、von Willebrand factor (vWF)と結合する接着受容体であり、活性化するとその発現量は減少する<sup>27)28)</sup>。CD62Pは血小板が活性化すると、細胞内 $\alpha$ -顆粒から膜表面上に移動してくる<sup>29)</sup>。LeytinらはCD62PとCD42bはウサギ動物モデルにおいて血小板クリアランスに関係していることを示している<sup>30)</sup>。本研究におけるCD42b発現率は、コントロールとBRS-Aの両群で7日間の保存期間中安定していた。この結果は、BRS-Aを用いた洗浄操作が血小板のvWFへの結合能に影響を与えていないことを示唆している。Day3において、BRS-A群のCD62P発現率はコントロール群よりも有意に低い値を示したが、これはマグネシウム、カリウム、カルシウムが保存液中に存在しているため、活性化が抑制されたと考えられる。

Day7におけるコントロール群のpH低下は、重炭酸が枯渇したためと考えられる。平山らは、保存液中のバッファーとしてリン酸ナトリウムではなく重炭酸塩を含むM-solは、より安定的なpHをもたらしことを報告している<sup>11)</sup>。同様に、BRS-A中の重炭酸塩は、保存中pHを安定させる役割を担っている可能性が高い。BRS-A中のグルコースはDay5でほとんど枯渇した。従って、Day5以降は、嫌氣的解糖が抑制されたため乳酸の生成が減少したと考えられる。BRS-A群でのDay5およびDay7におけるpHの上昇は、乳酸生成の減少を反映した結果であろう。Day7で、BRS-A群のCD62P発現率は低いレベルを、HSRは高いレベルを維持している。この時期ではグルコースはすでに枯渇しているものの、血小板のバイアピリティーを保つためにTCA回路が代償的に働いている可能性がある。

本研究ではin vitroのデータは得られたもののin vivoのデータは取得していない。しかし実際の血小板洗浄を想定し、期限切れ血小板ではなく、ALT検査値が基準外となった採血翌日の血小板を実験に用いて機能測定を行っている。最近、M-solにより調製した洗浄血小板(残存血漿量20ml以下)は安全に輸血できることが報告されていることから<sup>26)</sup>、BRS-Aを用いて調製した洗浄血小板は、副作用発現頻度を低下させることができると考えられる。本研究では実験数がやや少ないものの(n=5)、two-tailed paired Student's t-testによる検定により、BRS-Aは優れた保存性能を有していることを明らかにしている。

## おわりに

2つの市販輸液を混合するだけで、血小板機能を7日間維持できる洗浄保存液BRS-Aを調製することができた。血小板の洗浄保存液が市販されていない日本では、BRS-Aは特に有用である。

謝辞：東北ブロック血液センターの平野健司、小砂子智、築館和良、田口剛の技術的な助言に対して感謝します。

## 文 献

- 1) Heddle NM, Klama L, Singer J, et al: The role of the plasma from platelet concentrates in transfusion reactions. *N Engl J Med*, 331: 625—628, 1994.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) Tobian AA, Savage WJ, Tisch DJ, et al: Prevention of allergic transfusion reactions to platelets and red blood cells through plasma reduction. *Transfusion*, 51: 1676—1683, 2011.
- 5) Veeraputhiran M, Ware J, Dent J, et al: A comparison of washed and volume-reduced platelets with respect to platelet activation, aggregation, and plasma protein removal. *Transfusion*, 51: 1030—1036, 2011.
- 6) Gulliksson H: Additive solutions for the storage of platelets for transfusion. *Transfus Med*, 10: 257—264, 2000.
- 7) Gulliksson H: Platelet additive solutions: current status. *Immunohematology*, 23: 14—19, 2007.
- 8) Skripchenko A, Myrup A, Thompson-Montgomery D, et al: Effect of plasma levels on the in vitro properties of platelets suspended in additive solution [abstract SP311]. *Transfusion*, 48S: 142A, 2008.
- 9) Radwanski K, Wagner SJ, Skripchenko A, et al: In vitro variables of apheresis platelets are stably maintained for 7 days with 5% residual plasma in a glucose and bicarbonate salt solution, PAS-5. *Transfusion*, 52: 188—194, 2011.
- 10) 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/Document/Guideline/Ref9-1-120402.pdf> (2012年10月11日現在).

- 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) Hirayama J, Azuma H, Fujihara M, et al: Comparison between in vitro qualities of platelets washed with commercially available additive solutions and those washed with M-sol. *Vox Sang*, 99: 131—135, 2010.
- 13) Satoh K, Ohtawa M, Okamura E, et al: Pharmacological study of BRS, a new bicarbonated Ringer's solution, in partially hepatectomized rabbits. *Eur J Anaesthesiol*, 22: 624—629, 2005.
- 14) VandenBroeke T, Dumont LJ, Hunter S, et al: Platelet storage solution effects on the accuracy of laboratory tests for platelet function: a multi-laboratory study. *Vox Sang*, 86: 183—188, 2004.
- 15) Holme S, Moroff G, Murphy S: A multi-laboratory evaluation of in vitro platelet assays: the tests for extent of shape change and response to hypotonic shock. *Biomedical Excellence for Safer Transfusion Working Party of the International Society of Blood Transfusion. Transfusion*, 38: 31—40, 1998.
- 16) Curvers J, de Wildt-Eggen J, Heeremans J, et al: Flow cytometric measurement of CD62P (P-selectin) expression on platelets: a multicenter optimization and standardization effort. *Transfusion*, 48: 1439—1446, 2008.
- 17) Shimizu T, Murphy S: Roles of acetate and phosphate in the successful storage of platelet concentrates prepared with an acetate-containing additive solution. *Transfusion*, 33: 304—310, 1993.
- 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) Wagner SJ, Skripchenko A, Myrup A, et al: Calcium is a key constituent for maintaining the in vitro properties of platelets suspended in the bicarbonate-containing additive solution M-sol with low plasma levels. *Transfusion*, 50: 1028—1035, 2010.
- 20) Heaton WA, Holme S, Keegan T: Development of a combined storage medium for 7-day storage of platelet concentrates and 42-day storage of red cell concentrates. *Br J Haematol*, 75: 400—407, 1990.
- 21) Buck SA, Kickler TS, McGuire M, et al: The utility of platelet washing using an automated procedure for severe platelet allergic reactions. *Transfusion*, 27: 391—393, 1987.
- 22) Shimizu T, Shibata K, Kora S: Plasma-depleted platelet concentrates prepared with a new washing solution. *Vox Sang*, 64: 19—23, 1993.
- 23) Kelley WE, Edelman BB, Drachenberg CB, et al: Washing platelets in neutral, calcium-free, Ringer's acetate. *Transfusion*, 49: 1917—1923, 2009.
- 24) Oikawa S, Sasaki D, Kikuchi M, et al: Feasibility of a closed-system cell processor (ACP215) for automated preparation of washed platelet concentrates. *Vox Sang*, 102: 110—115, 2012.
- 25) Ringwald J, Althoff F, Zimmermann R, et al: Washing platelets with new additive solutions: aspects on the in vitro quality after 48 hours of storage. *Transfusion*, 46: 236—243, 2006.
- 26) 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.
- 27) Hourdillé P, Heilmann E, Combré R, et al: Thrombin induces a rapid redistribution of glycoprotein Ib-IX complexes within the membrane systems of activated human platelets. *Blood*, 76: 1503—1513, 1990.
- 28) Tynngård N, Trinks M, Berlin G: In vitro quality of platelets during prolonged storage after washing with three platelet additive solutions. *Vox Sang*, 102: 32—39, 2012.
- 29) Stenberg PE, McEver RP, Shuman M, et al: A platelet alpha-granule membrane protein (GMP-140) is expressed on the plasma membrane after activation. *J Cell Biol*, 101: 880—886, 1985.
- 30) Leytin V, Allen DJ, Gwozdz A, et al: Role of platelet surface glycoprotein Ib $\alpha$  and P-selectin in the clearance of transfused platelet concentrates. *Transfusion*, 44: 1487—1495, 2004.

**COMPARATIVE *in vitro* EVALUATION OF APHERESIS PLATELETS STORED WITH 100% PLASMA VERSUS BICARBONATED RINGER'S SOLUTION WITH LESS THAN 5% PLASMA**

*Shinji Oikawa*<sup>1)</sup>, *Dai Sasaki*<sup>2)</sup>, *Masaki Kikuchi*<sup>1)</sup>, *Yoshihiro Sawamura*<sup>2)</sup> and *Takashi Itoh*<sup>1)2)</sup>

<sup>1)</sup>Japanese Red Cross Tohoku Block Blood Center

<sup>2)</sup>Japanese Red Cross Miyagi Blood Center

**Keywords:**

platelet transfusion, washed platelet concentrate, platelet additive solutions, bicarbonated Ringer's solution, febrile non-hemolytic transfusion reactions

---

©2013 The Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy

Journal Web Site: <http://www.jstmct.or.jp/jstmct/>