

M-sol で調製した高濃縮洗浄血小板のシリンジ中静置保存

平山 順一¹⁾ 藤原 満博²⁾ 柴 雅之¹⁾ 石川 善英¹⁾ 佐竹 正博¹⁾田所 憲治¹⁾ 高本 滋²⁾

容量を減らした（濃縮した）洗浄血小板（Volume-reduced washed platelets；VR-wPLTs）は容量負荷の抑制や輸血副作用の低減だけでなく、外来患者や急速輸注を要する患者などにとって輸血時間短縮というメリットがある。少容量の血液製剤を輸血する場合、シリンジで行われる可能性がある。シリンジ中ではガス交換ができず、また輸血中は振とうされない。よって VR-wPLTs をシリンジで輸血する場合、血小板機能の著しい低下が危惧される。本研究では、シリンジ内で VR-wPLTs を静置保存した際の品質変化について検討した。

血小板製剤（PC）の遠心上清を出来るだけ除去した後、40ml の M-sol を添加して調製した VR-wPLTs（484/μl、44.1ml、 2.13×10^{11} ）を振とう保存し、翌日 50ml 用シリンジに移しかえ、2 時間静置保存した。

この保存で pO₂ 値は 20.4mmHg から 1.88mmHg まで大きく低下し、pCO₂ 値は上昇した。嫌氣的代謝の生成物である乳酸の値も上昇したが pH は 7.32 から 6.83 までしか低下しなかった。MPV、%Disc、CD62P、annexin V、%HSR、凝集能は有意な差がみられなかった。グルコース値は有意に低下したが枯渇しなかった。スワーリングも確認された。

以上の結果から血小板濃度を PC の約 4 倍まで濃縮した VR-wPLTs をシリンジで輸血しても 2 時間以内なら血小板機能の低下はほとんど無いと考えられる。

キーワード：洗浄血小板、静置保存、輸血、シリンジ

緒 言

容量負荷を起こす可能性のある小児などの患者に血小板製剤（PC）を輸血する場合、血漿容量を減らした PC（Volume-reduced PC；VR-PC）を使用する場合がある¹⁾。VR-PC は血漿に起因する輸血副作用の低減にも一定の効果があり、臨床応用の報告もある²⁾。しかし輸血副作用低減には洗浄血小板の方がより確実である^{3)~5)}。既にわれわれは VR-PC と洗浄血小板の利点をあわせ持つ新たな製剤として、容量を減らした洗浄血小板（Volume-reduced washed platelets；VR-wPLTs）を提案した⁶⁾。VR-wPLTs を振とう保存すると洗浄後 48 時間までは大きな機能低下がみられなかった⁶⁾。

血小板機能をより良く維持するためにはガス交換が重要であり、そのために通気性の良いバッグを用いて振とうしながら保存する。しかし M-sol で調製した洗浄血小板は短時間であれば振とうせずに保存しても大きな機能低下がないことを既に報告した⁷⁾⁸⁾。

小容量の血液製剤を輸血する場合、輸血バッグから直接行うのではなく、シリンジポンプを用いて輸血す

る⁹⁾。その際、輸血中は振とうが中断される。またポリ塩化ビニル製のシリンジはガス交換が出来ない。

本研究では、血小板総数が 10 単位 PC（わが国でも供給数が多い）のそれに相当する VR-wPLTs（約 40 ml）を検討の対象とした。25kg の小児に 10 単位 PC を輸血するには 3~4 時間を要するとされているので、通常 PC の 1/4 に濃縮した VR-wPLTs の輸血には少なくとも 1 時間を要すると思われる。VR-wPLTs をシリンジ内で 2 時間静置保存し、品質変化について検討した。

方 法

洗浄血小板の調製と保存

M-sol は既報のとおり調製した^{6)~8)}。10 単位の PC（採血後 1~2 日経過）を遠心（2,560g、10 分）後、上清を出来るだけ除去し、40ml の M-sol を添加した（Day 0）。調製した VR-wPLTs は既報のとおり振とう保存した⁸⁾。調製翌日（Day 1）、洗浄血小板をプラスチック製シリンジ（50ml 用、DS50ML、NIPRO Co. Ltd.）に移

1) 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

2) 日本赤十字社北海道ブロック血液センター

〔受付日：2015 年 4 月 24 日、受理日：2015 年 6 月 22 日〕

Table 1 In vitro quality changes in VR-wPLTs during 2-hour storage in syringe

	0 hours	2 hours
pH	7.32±0.09	6.83±0.10*
pCO ₂ (mmHg)	43.8±7.9	119±25*
pO ₂ (mmHg)	20.4±25.3	1.88±2.50
MPV (fl)	8.23±0.57	8.19±0.53
%disc	71.1±16.1	71.2±16.1
CD62P (%)	15.4±8.7	14.4±8.9
Annexin V (%)	2.65±0.53	2.59±1.15
%HSR	76.9±4.2	80.8±4.8
Aggregation (%)	69.1±4.8	73.8±9.7
Glucose (mg/dl)	214±19	189±24*
Lactate (mg/dl)	85.5±17.2	116±21*

Abbreviation: HSR, hypotonic shock response; MPV, mean platelet volume.

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

* $P<0.01$

し変えた。シリンジの中には出来るだけ空気が入らないようにした。この VR-wPLTs が入ったシリンジを温度管理された部屋 (20~24°C) の実験台上に静置保存した。保存開始時およびその 2 時間後にサンプリングを行った。

各種パラメータの測定

各種パラメータ (pH, pCO₂, pO₂, 血小板数, 平均血小板容積 (MPV), 血小板凝集率, 浸透圧ショック反応 (%HSR), 血小板形態 (%disk), CD62P (%), annexin V (%), グルコース, 乳酸) の測定は既報のとおり行った⁶⁾。洗浄血小板中の血漿残存量も既報のとおり算出した⁶⁾。

統計処理

統計処理 (ystat2002.xls) は保存開始時 (0 時間) およびその 2 時間後の間で Two-tailed paired t-test により行った。P 値 0.01 未満を有意差ありとした。

結果と考察

調製した VR-wPLTs (n=6) の容量 (ml) は 44.1±0.7, 血小板数 (/μl) は 484±57, 血小板総数 (×10¹¹) は 2.13±0.23, 血漿残存量 (ml) は 3.03±0.72 であった。ガス交換ができない環境で保存した結果, 2 時間の保存で pO₂ 値は 20.4mmHg から 1.88mmHg まで大きく低下し, 逆に pCO₂ 値は上昇した (Table 1)。嫌氣的代謝の生成物である乳酸の値も上昇したが, pH は 7.32 から 6.83 までしか低下せず, 品質の適否の判定基準である 6.2 を大きく上回っていた (Table 1)。MPV, %Disc, CD62P, annexin V, %HSR, 凝集能は 2 時間保存で有意な差がみられなかった (Table 1)。グルコース値は有意に低下したが, 2 時間保存では枯渇しなかった (Table 1)。スワーリングも確認できた。以上の結果は, VR-

wPLTs をシリンジ内で 2 時間静置保存しても品質の低下は軽微であることを示している。M-sol で調製した洗浄血小板の品質は PC のそれと同等であり^{3)~5)}, VR-wPLTs は調製 48 時間以内なら通常濃度の洗浄血小板と大きく変わらない品質を有する⁶⁾。したがって VR-wPLTs のシリンジ輸血が 2 時間以内で終了するならば, 通常の PC と大きく変わらない品質で輸血が可能と推測される。

VR-wPLTs は容量負荷抑制や輸血副作用低減に役立つだけでなく, 容量が少ないため外来患者, 安静が保てない患者, 小児, 急速輸血を要する患者に対し輸血時間短縮というメリットもある。今後は VR-wPLTs の輸血効果について検討が待たれる。

著者の COI 開示: 本論文発表内容に関連して特に申告なし

文 献

- 1) van der Meer PF, Bontekoe IJ, Kruit G, et al: Volume-reduced platelet concentrates: optimization of production and storage conditions. *Transfusion*, 52: 819—827, 2012.
- 2) Honohan A, Tomson B, van der Bom J, et al: A comparison of volume-reduced versus standard HLA/HPA-matched apheresis platelets in alloimmunized adult patients. *Transfusion*, 52: 742—751, 2012.
- 3) 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.
- 4) Yanagisawa R, Shimodaira S, Kojima S, et al: Replaced platelet concentrates containing a new additive solution, M-sol: safety and efficacy for pediatric patients. *Transfusion*, 53: 2053—2060, 2013.
- 5) 林 宜亨, 内藤有紀, 秋野光明, 他: 北海道赤十字血液センターにおける洗浄血小板の技術協力(過去 4 年間の実績). *日本輸血細胞治療学会誌*, 58: 552—554, 2012.
- 6) Hirayama J, Fujihara M, Akino M, et al: Storage of volume-reduced washed platelets in M-sol additive solution for 7 days. *Transfusion*, 54: 3173—3177, 2014.
- 7) 平山順一, 藤原満博, 秋野光明, 他: M-sol で調製した洗浄血小板の 72 時間静置保存. *日本輸血細胞治療学会誌*, 58: 529—532, 2012.
- 8) Hirayama J, Fujihara M, Akino M, et al: Influence of a 24-hour interruption of agitation on in vitro properties of platelets washed with M-sol during 7-day storage. *Transfusion*, 52: 1158—1160, 2012.
- 9) 片岡美香, 岡本貴史, 山口直子, 他: 新生児シリンジ輸血と血小板の機能に関する検討. *日本輸血細胞治療学会誌*, 58: 523—528, 2012.

INFLUENCE OF 2-HOUR INTERRUPTION OF AGITATION ON IN VITRO PROPERTIES OF VOLUME-REDUCED PLATELETS WASHED WITH M-SOL IN SYRINGE

*Junichi Hirayama*¹⁾, *Mitsuhiro Fujihara*²⁾, *Masayuki Shiba*¹⁾, *Yoshihide Ishikawa*¹⁾, *Masahiro Satake*¹⁾, *Kenji Tadokoro*¹⁾ and *Shigeru Takamoto*²⁾

¹⁾Japanese Red Cross Central Blood Institute

²⁾Japanese Red Cross Hokkaido Blood Center

Abstract:

Volume-reduced washed platelets (VR-wPLTs) are useful not only for avoiding circulatory overload, but also for reducing adverse reactions. On investigating VR-wPLTs infusion by syringe, the influence of a 2-hour interruption of agitation on the in vitro properties of VR-wPLTs (44.1 ml, 2.13×10^{11} PLTs) in M-sol in the syringe was investigated.

After 2-hour storage on a bench at room temperature, the pH was maintained above 6.8, and MPV, %disc, CD62P, annexin V, %HSR, and aggregation values were not significantly changed.

These results indicate that a 2-hour interruption of agitation negligibly affected the in vitro properties of VR-wPLTs in the syringe.

Keywords:

M-sol, washed platelet, quiet preservation, blood transfusion, syringe