

## 異なる2種類の重炭酸リンゲル液で調製した血小板保存液 BRS-A による 血小板の洗浄と保存

及川 伸治 田口 剛 遠藤希美加 星 尚宏 川島 航  
堀部 泰人 浦野 慎一 鈴木 光 峯岸 正好 伊藤 孝  
清水 博

日本赤十字社血液センターは血小板製剤の有害反応を減らすために血小板の洗浄をしばしば求められるが、国内には臨床使用が承認された血小板保存液は無い。最近、我々は新規血小板保存液である BRS-A (BRS supplemented with ACD-A) を開発した。BRS-A は臨床で入手可能なビカネイト<sup>®</sup>輸液 (重炭酸リンゲル液, BRS) と ACD-A 液を用いて調製することができ、5% 未満の血漿濃度で7日間血小板機能を維持することができる。本研究の目的は、ビカネイト<sup>®</sup>輸液とは電解質濃度が異なる別の BRS であるビカーボン<sup>®</sup>輸液を用いて調製した BRS-A の性能を評価することである。

2種の BRS-A は、ビカネイト<sup>®</sup>輸液またはビカーボン<sup>®</sup>輸液 500ml に ACD-A 液 25ml を添加することにより調製した。ビカネイト由来またはビカーボン由来 BRS-A は、塩化マグネシウムを 0.9mmol/l, 0.5mmol/l, 塩化ナトリウムを 95.2mmol/l, 100.1mmol/l, クエン酸三ナトリウムを 4.2mmol/l, 5.1mmol/l, 及び重炭酸ナトリウムを 26.6mmol/l, 23.8mmol/l をそれぞれ含んでいる。他の電解質濃度は同様であった。アフエレーシス採血由来血小板をこれらの BRS-A に、5% 未満の血漿濃度で7日間保存し、その血小板機能を比較した。

pH は、7日間保存中すべての血小板で7以上であった。平均血小板容積、低浸透圧ショック回復率、グルコース消費割合、乳酸産生割合、スワーリング、及び CD62P・CD42b 発現率は両群間で同等であった。ビカーボン由来 BRS-A の重炭酸濃度はビカネイト由来 BRS-A よりも低かった。

2種の BRS-A におけるマグネシウム、ナトリウム、クエン酸塩、及び重炭酸塩などの電解質濃度の違いは、7日間の保管中、血小板機能に影響を及ぼさないことが分かった。本研究の結果は、ビカーボン由来 BRS-A が実際に血小板保存液として使用できることを示している。従って、ビカネイト<sup>®</sup>輸液ではなくビカーボン<sup>®</sup>輸液を院内採用している医療機関においても、BRS-A を調製し使用することができる。

**キーワード：**血小板洗浄, 血小板保存液, 重炭酸リンゲル液, 電解質

本論文内容は、Elsevier 社の許可のもと Transfusion and Apheresis Science 誌 (第 53 巻 第 2 号 233-237 2015 年) に最初に掲載された論文に基づき作成したものである。(Shinji Oikawa, Takeshi Taguchi, Kimika Endo, Takahiro Hoshi, Wataru Kawashima, Yasuhito Horibe, Shinichi Urano, Ko Suzuki, Masayoshi Minegishi, Takashi Itoh, Hiroshi Shimizu : Storage of washed platelets in BRS-A platelet additive solutions based on two types of clinically available bicarbonated Ringer's solutions with different electrolyte concentrations)

### 緒言

アナフィラキシーや非溶血性副作用などの血小板輸血に伴う有害反応は、血小板保存液で血小板製剤を洗浄して受血者に輸注される血漿量を減らすことにより抑制することができる<sup>1)</sup>。血小板の洗浄が補正血小板増加数を減少させることが報告されているが<sup>2)</sup>、製剤中の血漿を血小板保存液に置換することには様々な利点がある。有害反応の抑制、分画製剤用原料血漿の確保、

血小板保存環境の改善などである<sup>3)</sup>。T-sol, InterSol, 及び Composol などの現在報告されている血小板保存液は、グルコースと重炭酸の供給源として 30~40% の血漿を必要とする<sup>4)</sup>。SSP+ の場合は、7日間保存において 20% の血漿で十分であることが報告されている<sup>5)</sup>。これらの血漿濃度の場合、輸血に伴うアレルギー反応は、100% 血漿の場合より約 50% 低くなることが示されている<sup>6)</sup>。

Table 1 Composition of platelet additive solutions (mmol/l)

	Bicarbonate-based BRS-A Control	Bicarbonate-based BRS-A Test
NaCl	95.2	100.1
KCl	3.8	3.8
MgCl <sub>2</sub>	0.9	0.5
Citric acid	2.4	1.8
Trisodium citrate	4.2	5.1
Sodium acetate	-	-
CaCl <sub>2</sub>	1.4	1.4
NaHCO <sub>3</sub>	26.6	23.8
Glucose	5.8	5.8

BRS-A, bicarbonate-buffered Ringer's solution supplemented with acid-citrate-dextrose formula A (ACD-A)

血液センターでは血小板製剤の輸血副作用を減らすために血小板の洗浄をしばしば求められるが、日本では臨床使用が承認された血小板保存液は無い。Hirayamaらはグルコースと重炭酸を含む保存液である M-sol を開発した。M-sol は臨床使用されているいくつかの輸液を混合することにより調製することができ、5% 未満の血漿濃度で7日間血小板機能を維持することができる<sup>8)9)</sup>。最近、RadwanskiらはPAS-IIIにいくつかの電解質、重炭酸、及びグルコースを添加することにより、新たにPAS-5を開発した。PAS-5は、5% 未満の血漿濃度で7日間血小板機能を維持することができる<sup>10)</sup>。さらに最近、我々は新規血小板保存液であるBRS-Aを開発した。BRS-Aは臨床で入手可能な重炭酸リンゲル液 (BRS) (ピカネイト<sup>®</sup>輸液；大塚製薬工場)とACD-A液を用いて調製することができ、5% 未満の血漿濃度で7日間血小板機能を維持することができる<sup>11)</sup>。M-solとBRS-Aは日本輸血・細胞治療学会のガイドラインに記載されている<sup>12)</sup>。

他の臨床で入手可能なBRSであるピカーボン<sup>®</sup>輸液 (エイワイファーマ)は、マグネシウム、カリウム、及びカルシウムを含んでいるという点で、ピカネイト<sup>®</sup>輸液と似通っており、日本では有用な細胞外液補充液として広く供給されている。ピカネイト<sup>®</sup>輸液とピカーボン<sup>®</sup>輸液は、いずれもガスバリアフィルムを有するプラスチックバッグに封入されているので、二酸化炭素の漏出を防ぎ、安定したpHを維持できる。これら2つのBRSは、マグネシウム、ナトリウム、クエン酸塩、及び重炭酸塩濃度が異なるが、このことが、BRSを血小板保存液として使用した場合にin vitroの血小板機能に影響を与えるかどうかは不明である。本研究の目的は、電解質濃度の異なる2種のBRSで調製したBRS-Aに保存した血小板の機能を比較することである。

## 材料及び方法

### BRS-Aの調製

ピカネイト<sup>®</sup>輸液 (292g 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)とピカーボン<sup>®</sup>輸液 (3.07g NaCl, 0.15g KCl, 0.11g CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O, 0.0510g MgCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O, 1.05g NaHCO<sub>3</sub>, and 0.245g Na<sub>3</sub>-citrate · 2H<sub>2</sub>O in 500ml；エイワイファーマ)をBRS-Aの調製に用いた。血小板を洗浄する直前に、ピカネイト<sup>®</sup>輸液またはピカーボン<sup>®</sup>輸液 500mlにACD-A液 (川澄化学工業) 25mlを添加した。ピカネイト由来BRS-Aとピカーボン由来BRS-Aをそれぞれ、コントロール群、テスト群とした (Table 1)。緩やかに混和した後、0.22µm フィルターが組み込まれた分離バッグ (KBP-1000F, 川澄化学工業)を使用してフィルター滅菌を行った。

### 血小板の洗浄

ALT 検査値が基準外となり輸血用に適さない保存前白血球除去アフエレーシス PC を使用した。PC は血小板振とう機 (20~24°C, 60 サイクル/分) で保管し、採血してから2日以内に洗浄した。ABO型が一致したPCを混合した後、等量に分割し、コントロール群及びテスト群とした。原料PCにBRS-A 250mlとACD-A液 25mlを添加し、大容量冷却遠心機で遠心分離した (1,500g, 22°C, 20分)。上清を分離スタンド (川澄化学工業) を用いて除去し、得られた血小板ペレットに総容量が200mlになるまでBRS-Aを添加した。30分静置後、血小板振とう機で少なくとも30分以上振とうし、血小板ペレットを再浮遊した。得られた洗浄血小板は、ポリオレフィンバッグ (KBP-1000FPN, 川澄化学工業) に保管した。

### In vitro 試験

サンプリングは、洗浄処理前後、洗浄1, 3, 5, 及び7日後に、80ml容量分離バッグ (BB-T008FJ, テルモ) を無菌的に接続して行った。洗浄前後のPC中の血漿タ

Table 2 *In vitro* properties of platelets stored in the control and test BRS-A\*

	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7
pH at 37°C				
Control	7.28±0.02	7.21±0.08	7.23±0.09	7.47±0.04
Test	7.25±0.07	7.17±0.03	7.13±0.07 †	7.40±0.04 †
pO <sub>2</sub> (mmHg)				
Control	145.0±8.7	153.3±13.1	155.8±11.0	153.0±9.3
Test	148.0±6.5	154.0±6.3	144.8±7.0 †	154.2±7.8
pCO <sub>2</sub> (mmHg)				
Control	33.8±1.5	27.7±5.0	19.7±5.2	11.8±1.3
Test	33.7±4.5	27.5±1.2	21.5±4.0	12.3±1.2
Glucose (mmol/l)				
Control	4.74±0.35	1.69±0.25	0	0
Test	4.92±0.28	1.77±0.26	0	0
Lactate (mmol/l)				
Control	2.60±0.67	7.76±0.52	10.83±0.63	10.44±0.42
Test	2.32±0.98	7.80±0.46	10.78±0.59	10.46±0.65
Bicarbonate (mmol/l)				
Control	15.3±0.5	10.5±0.5	7.8±0.8	8.5±0.6
Test	14.0±0.6 †	9.7±0.8 †	6.7±0.8 †	7.2±0.4 †

\*The data represent mean ± SD (n=6).

† P<0.05 compared with control on the same day

BRS-A, bicarbonated Ringer's solution supplemented with acid-citrate-dextrose formula A (ACD-A); Control, Bicanate-based BRS-A; Test, Bicarbone-based BRS-A

ンパク量をビシンコニン酸法 (BCA protein assay kit, Thermo Fisher Scientific) で測定し、血漿タンパク除去率を求めた。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。調製前後の総血小板数から、血小板回収率 (%) を求めた。pH, pO<sub>2</sub>, 及び pCO<sub>2</sub> 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。重炭酸塩の値は、これらの値から自動的に算出された。

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 (10,000g, 5分間, 22°C) し、その上清を -40°C で保存した。測定時に解凍し、グルコースはグルコース CII テストワコー (和光純薬工業)、乳酸は L-乳酸キット (ロシユ・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 +++ (スワーリング最大) とした。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>13)</sup>。HSR は既報に従い測定した<sup>14)</sup>。

血小板表面マーカー CD62P (P-selectin, GMP-140) および CD42b (glycoprotein Ib $\alpha$ ) 発現率 (%) は、既報に従いフローサイトメトリーにより測定した<sup>11)</sup>。抗体はすべて BD Biosciences Pharmingen から入手した。

#### 統計分析

得られたデータは平均値 ± 標準偏差 (SD: standard deviation) として表した。統計分析は、MS Excel 2013

(Microsoft Corporation) 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を確認するために、各時点 (Day) における値に対して、two-tailed paired Student's t-test を行った。P<0.05 の場合に統計学的に有意であると判断した。

#### 結 果

NaCl, MgCl<sub>2</sub>, クエン酸三ナトリウム, 及び重炭酸ナトリウム濃度は、コントロール群とテスト群で異なっていた (Table 1)。洗浄血小板の血漿タンパク除去率は、コントロール群とテスト群でそれぞれ、98.5±0.2%, 98.4±0.2%, 血小板回収率は、それぞれ、91.7±1.6%, 92.6±1.0% であった (n=6)。洗浄直後の血小板濃度 ( $\times 10^9/l$ ) は、コントロール群とテスト群でそれぞれ、1,035±39, 1,059±45, 容量 (ml) は 202.9±1.4, 203.0±1.6 であった (n=6)。

pH は、7日間保存中すべての血小板で 7.0 (7.13~7.47) を超えていた。Day 5, Day 7 におけるテスト群の pH はコントロール群よりも低かった (Table 2)。Day 5 におけるテスト群の pO<sub>2</sub> はコントロールよりも有意に低かった (Table 2)。重炭酸レベルは、7日間の保存中、両群で有意な差が認められた (Table 2)。グルコース消費と乳酸産生割合は、Day 5 でグルコースが枯渇し、乳酸産生が停止したため (Table 2)、Day 1 から Day 3 までの期間で求めた。コントロール群とテスト群で、グルコース消費割合は 1.45±0.16 及び 1.45±0.17 mmol/10<sup>12</sup> PLTs/day, 乳酸産生割合は 2.47±0.36 及び 2.59

Table 3 *In vitro* properties of platelets stored in the control and test BRS-A\*

	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7
PLT concentration ( $\times 10^{10}/l$ )				
Control	103.5 $\pm$ 3.9	104.3 $\pm$ 4.5	101.6 $\pm$ 2.7	95.5 $\pm$ 3.7
Test	105.9 $\pm$ 4.5 <sup>†</sup>	106.0 $\pm$ 5.9	104.0 $\pm$ 3.9 <sup>†</sup>	97.8 $\pm$ 3.7
Swirling				
Control	+++	+++	+++	+++
Test	+++	+++	+++	+++
HSR (%)				
Control	70.8 $\pm$ 6.1	73.6 $\pm$ 3.9	67.6 $\pm$ 7.0	65.8 $\pm$ 10.1
Test	70.4 $\pm$ 5.4	77.1 $\pm$ 6.6	68.0 $\pm$ 6.8	62.3 $\pm$ 4.8
MPV (fl)				
Control	7.4 $\pm$ 0.2	7.5 $\pm$ 0.3	7.5 $\pm$ 0.3	8.2 $\pm$ 0.3
Test	7.5 $\pm$ 0.3	7.5 $\pm$ 0.4	7.6 $\pm$ 0.5	8.2 $\pm$ 0.4
CD62P (%)				
Control	20.6 $\pm$ 7.4	19.7 $\pm$ 7.9	25.3 $\pm$ 9.4	31.9 $\pm$ 9.0
Test	19.6 $\pm$ 7.0	18.0 $\pm$ 6.7	23.8 $\pm$ 9.1	31.6 $\pm$ 8.9
CD42b (%)				
Control	98.3 $\pm$ 1.5	98.5 $\pm$ 1.4	98.1 $\pm$ 1.3	94.1 $\pm$ 2.3
Test	98.3 $\pm$ 1.4	98.5 $\pm$ 1.4	98.1 $\pm$ 1.1	93.8 $\pm$ 2.6

\*The data represent the mean $\pm$ SD (n=6).

<sup>†</sup>P<0.05 compared with the control on the same day

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

Control, Bicanate-based BRS-A; Test, Bicarbon-based BRS-A

$\pm 0.44\text{mmol}/10^{12}$  PLTs/day であった。重炭酸 neutralization 割合 (Day 1~Day 7) は、コントロール群とテスト群で  $1.14\pm 0.07\text{mmol}/10^{12}$  PLTs/day 及び  $1.14\pm 0.07\text{mmol}/10^{12}$  PLTs/day であった。グルコース消費、乳酸産生、及び重炭酸 neutralization 割合は両群間で同等であった。

スワーリングはすべての洗浄血小板で、保存中良好に保たれていた (Table 3)。HSR、MPV、CD62P 発現率、及び CD42b 発現率に差は無かった (Table 3)。

## 考 察

本研究では、マグネシウム、ナトリウム、クエン酸塩、重炭酸塩などの電解質濃度が異なる 2 種の重炭酸リンゲル液で調製した血小板保存液 BRS-A を使用した。7 日間保存における血小板の *in vitro* での性質 (pH,  $\text{pCO}_2$ ,  $\text{pO}_2$ , 重炭酸塩, MPV, グルコース濃度, 乳酸濃度, HSR, CD62P 発現率, CD42b 発現率, 及びスワーリング) はコントロール群とテスト群間で同等であった。我々の過去の研究が、ピカネイト由来 BRS-A に浮遊させた血小板の *in vitro* での機能が血漿に浮遊させた場合よりも優れていたことを考慮すると<sup>11)</sup>、本研究の結果は、電解質濃度が異なる別なタイプの重炭酸リンゲル液由来の BRS-A は血小板保存液として使用できることを示している。

洗浄後の血小板回収率の低下は、洗浄工程中に発生したクラumpingが残存したままになっていることに起因していることが示されている<sup>15)16)</sup>。対照的に本研究

では回収率はコントロールとテスト群両方で 90% をこえた。遠心前に、原料 PC に BRS-A と共に ACD-A を追加添加していることが血小板ペレットの再懸濁を促進していたと考えられる。本研究の洗浄手順では、保存液の組成の違いは血小板ペレットの再懸濁時間や血漿タンパク除去率に影響は無いと考えられる。

重炭酸には保存中の血小板機能を保持する効果は無いことが報告されているが<sup>17)</sup>、グルコース代謝により産生された乳酸を分解することにより pH の低下を抑制する働きがある。コントロールとテストのわずかな重炭酸レベルの違いが pH に反映されていたが、pH は全ての洗浄血小板で 7 以上を維持していた。BRS-A は酢酸塩を含まない血小板保存液である (Table 1)。血小板において、酢酸塩は TCA 回路に入り呼吸鎖で酸化され ATP を産生する<sup>18)</sup>。従って、血小板保存液中の酢酸塩は解糖の割合を減らすことにより乳酸の産生を抑制する<sup>19)</sup>。更に酢酸塩は重炭酸に変化し pH を安定化させるという重要な役割がある<sup>19)20)</sup>。本研究の結果は、コントロール及びテスト BRS-A には酢酸塩が含まれていなくても、pH を安定化できる十分な重炭酸が含まれていることを示している。

グルコース消費割合と乳酸産生割合に有意差は無かった (Table 2)。この結果は、グルコース消費割合と乳酸産生割合には BRS-A 中の電解質濃度の違い (Table 1) は影響しないことを示している。

我々はさらに、血小板膜表面糖タンパクである CD42b と CD62P の発現率を評価した。CD42b は、血小板膜上

にある vWF との結合部位であり、血管損傷後の血管内皮下層への血小板粘着を促進する。CD62P は血小板活性化に伴い細胞内アルファ顆粒から膜表面に移動するので<sup>21)</sup>、血小板活性化の指標として用いられている。また、CD62P 及び CD42b 発現率は生体内での血小板クリアランスに関係していることが報告されている<sup>22)</sup>。コントロール及びテスト群で CD62P と CD42b の発現率に差は無かった。このことは、BRS に含まれているマグネシウム、ナトリウム、クエン酸塩、及び重炭酸塩濃度の違いは、血小板活性化にほとんど影響を与えないことを示している。de Wildt-Eggen らは、PAS-2 中のマグネシウムとカリウムは濃度依存的に CD62P 発現率に影響を与えていることを報告している。1.5~4.5mmol/l の塩化マグネシウムと 3.0~9.0mmol/l の塩化カリウム、もしくは 1.5mmol/l 塩化マグネシウムと 4.5mmol/l 塩化カリウムの組み合わせは、保存中の CD62P 発現率を低下させるということである<sup>23)</sup>。さらに、Diedrich らは、マグネシウムやカリウムを含む血小板保存液 (SSP+) は有意に解糖系の進行を抑制し、HSR や ESC (extent of shape change) を増加させ、CD62P や CD63 の発現率を抑制することを報告している<sup>24)</sup>。本研究の BRS-A 中のマグネシウム濃度は、コントロール群とテスト群でそれぞれ 0.9mmol/l、0.5mmol/l であり、それらは過去の報告よりも低かった。しかし、CD62P 発現率、HSR、グルコース消費割合、及び乳酸産生割合には有意な影響は無かった。コントロール群とテスト群の BRS-A 中のカリウム濃度は過去の報告と同等かそれ以下であった<sup>23)24)</sup>。従ってこれらの結果は、保存液として BRS-A を使用する場合、過去の報告よりもマグネシウム及びカリウム濃度が低くても、保存中の血小板活性化は促進されず、血小板機能は維持されることを示唆している。

BRS-A は酢酸塩を含まないが、対照的に、近年報告されている血小板保存液 (SSP+, Composol, M-sol, 及び PAS-5) には、非生理的濃度の酢酸塩が含まれている。Saunders らは、血小板保存液中の酢酸塩は血小板の活性化と、逆説的な ATP レベル低下の原因になることを示している<sup>25)</sup>。酢酸塩がアセチル CoA に変換されるときに ATP を必要とすることが1つの要因である<sup>26)</sup>。血小板保存液の構成要素として非生理的濃度で含まれている酢酸塩は、アセチル CoA の過度な生成と、血小板ミトコンドリア内へのピロリンの蓄積を促進する恐れがある<sup>27)</sup>。さらに検討が必要であるが、酢酸塩を含まない BRS-A に血小板を保存することにより血小板へのストレスが減り、血小板機能を維持している可能性がある。

本研究で検討が不足している点は、BRS-A 中のグルコースは保存5日目までにはほぼ枯渇することである。

考えられる理由は、BRS-A が酢酸塩を含んでいないために解糖系の進行が速いことと、元々のグルコース濃度が低いことである。事実、BRS-A 中のグルコース消費速度は、これまでに報告されている酢酸塩を含む血小板保存液における速度よりも大きい<sup>4)6)</sup>。保存液中にグルコースが存在していないことは、エネルギー産生の低下や細胞死マーカー発現率の上昇の原因となるが<sup>25)</sup>、本研究ではこれらの項目を測定していない。しかし、7日間の保存中、pH、HSR、スワーリング、CD62P 発現率、及び CD42b 発現率に、大きな変化は無かった。日本の血小板製剤の有効期間は、採血日を含めて4日間である。採血翌日に検査合格品に対して血小板洗浄を実施すると仮定すると、洗浄後の保存日数は1~3日間である。従って、BRS-A に含まれているグルコース量は、少なくとも血小板有効期間をカバーできると考えられる。

日本輸血・細胞治療学会の洗浄・置換血小板の適応およびその調製の指針 (2016年4月27日改定, Version V) (原文では Version IV であるが改定された) には、ピカネイトで調製した BRS-A の文献に関する記載がある<sup>12)</sup>。今後、BRS-A を用いて調製した洗浄/置換血小板の輸血効果や副作用抑制効果は、BRS-A を使用する医療機関の施設内倫理委員会等で、補正血小板増加数などを指標として加えて評価されるべきである。また、保存液中のグルコースが枯渇した際の血小板機能に対する影響の有無を明らかにしなければならない。

## 結 論

本研究の結果は、日本で市販されている2種類の重炭酸リンゲル液 (ピカネイト<sup>®</sup>輸液及びピカーボン<sup>®</sup>輸液) で調製した BRS-A は、両方とも、in vitro での血小板品質を7日間維持することを示している。従って、ピカネイト<sup>®</sup>輸液ではなくピカーボン<sup>®</sup>輸液を院内採用薬として在庫している医療機関でも、ピカーボン<sup>®</sup>輸液を用いて BRS-A を調製し使用することが可能である。

著者の COI (Conflict of Interest) 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

謝辞：日本赤十字社東北ブロック血液センターの三浦正光、菊地正輝、宮城県赤十字血液センターの佐々木大の技術的な助言に感謝します。

## 文 献

- 1) 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.

- 2) Karafin M, Fuller AK, Savage WJ, et al: The impact of apheresis platelet manipulation on corrected count increment. *Transfusion*, 52: 1221—1227, 2012.
- 3) Gulliksson H: Platelet storage media. *Vox Sang*, 107: 205—212, 2014.
- 4) van der Meer PF, Pietersz RN, Reesink HW: Storage of platelets in additive solution for up to 12 days with maintenance of good in-vitro quality. *Transfusion*, 44: 1204—1211, 2004.
- 5) Gulliksson H, AuBuchon JP, Cardigan R, et al: Storage of platelets in additive solutions: a multicentre study of the in vitro effects of potassium and magnesium. *Vox Sang*, 85: 199—205, 2003.
- 6) Kerkfoffs JL, Eikenboom JC, Schipperus MS, et al: A multicenter randomized study of the efficacy of transfusions with platelets stored in platelet additive solution II versus plasma. *Blood*, 108: 3210—3215, 2006.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) 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, 2012.
- 11) Oikawa S, Sasaki D, Kikuchi M, et al: Comparative in vitro evaluation of apheresis platelets stored with 100% plasma versus bicarbonated Ringer's solution with less than 5% plasma. *Transfusion*, 53: 655—660, 2013.
- 12) Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy. Indication guidance for washed and replaced platelets and their preparation (Version V presented, April 27, 2016), <http://yuketsu.jstmctor.jp/wp-content/uploads/2016/05/IndicationVersion-V-003.pdf> [accessed May 18, 2016].
- 13) Van den Broeke 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.
- 14) 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.
- 15) Kelley WE, Edelman BB, Drachenberg CB, et al: Washing platelets in neutral, calcium-free, Ringer's acetate. *Transfusion*, 49: 1917—1923, 2009.
- 16) 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.
- 17) Radwanski K, Min K: The role of bicarbonate in platelet additive solution for apheresis platelet concentrates stored with low residual plasma. *Transfusion*, 53: 591—599, 2013.
- 18) Murphy S: The oxidation of exogenously added organic anions by platelets facilitates maintenance of pH during their storage for transfusion at 22 degrees C. *Blood*, 85: 1929—1935, 1995.
- 19) 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.
- 20) Bertolini F, Murphy S, Rebulli P, et al: Role of acetate during platelet storage in a synthetic medium. *Transfusion*, 32: 152—156, 1992.
- 21) Stenberg PE, McEver RP, Shuman MA, 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.
- 22) 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.
- 23) 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.
- 24) Diedrich B, Sandgren P, Jansson B, et al: In vitro and in vivo effects of potassium and magnesium on storage up to 7 days of apheresis platelet concentrates in platelet additive solution. *Vox Sang*, 94: 96—102, 2008.

- 25) Saunders C, Rowe G, Wilkins K, et al: Impact of glucose and acetate on the characteristics of the platelet storage lesion in platelets suspended in additive solutions with minimal plasma. *Vox Sang*, 105: 1—10, 2013.
- 26) Knowles SE, Jarrett IG, Filsell OH, et al: Production and utilization of acetate in mammals. *Biochem J*, 142: 401—411, 1974.
- 27) Veech RL: The toxic impact of parenteral solutions on the metabolism of cells: a hypothesis for physiological parenteral therapy. *Am J Clin Nutr*, 44: 519—551, 1986.

## **STORAGE OF WASHED PLATELETS IN BRS-A PLATELET ADDITIVE SOLUTIONS BASED ON TWO TYPES OF CLINICALLY AVAILABLE BICARBONATED RINGER'S SOLUTIONS WITH DIFFERENT ELECTROLYTE CONCENTRATIONS**

*Shinji Oikawa, Takeshi Taguchi, Kimika Endo, Takahiro Hoshi, Wataru Kawashima, Yasuhito Horibe, Shinichi Urano, Ko Suzuki, Masayoshi Minegishi, Takashi Itoh and Hiroshi Shimizu*

Japanese Red Cross Tohoku Block Blood Center

### **Keywords:**

Platelet washing, Platelet additive solutions, Bicarbonated Ringer's solution, Electrolyte concentrations