

日本輸血・細胞治療学会

クリオプレシピテート 作製プロトコール

Ver. 1.4

クリオプレシピテートの院内調製基準作成タスクフォース
2016年10月17日

クリオプレシピテート作製プロトコール

はじめに

大量出血症例における凝固障害では、しばしば急性低フィブリノゲン血症を来し、出血傾向を増長する。フィブリノゲンはフィブリン血栓形成における最終基質として、トロンビンの標的となる重要な凝固因子である¹⁻²⁾。このため、大量出血、大量輸血に伴う希釈性凝固障害や、病態に伴う消費性凝固障害による急性低フィブリノゲン血症の補正に、フィブリノゲン製剤を用いる試みがなされ、米国や英国では、主にクリオプレシピテートが投与され、英国を除く欧州では、主にフィブリノゲン濃縮製剤が用いられている²⁻⁷⁾。我が国の「血液製剤の使用指針」⁸⁾では、IV. 新鮮凍結血漿の適正使用 2. 使用指針 1) 凝固因子の補充 (2) 低フィブリノゲン血症 (100mg/dL 未満) の項において、「わが国では濃縮フィブリノゲン製剤の供給が十分でなく、また、クリオプレシピテート製剤が供給されていないことから、(以下の病態*への) フィブリノゲンの補充には、新鮮凍結血漿を用いる」と記載されている。しかしながら、新鮮凍結血漿には正常濃度のフィブリノゲンしか含まれず、急速なフィブリノゲンの補充には大量投与が必要となり容量負荷 (volume overload) や肺障害などの合併症の懸念があること、また、新鮮凍結血漿は解凍後 3 時間以内に使用する必要があることもあり、融解し使用できるまでに時間がかかることで急性低フィブリノゲン血症の補正に遅れが生じる可能性がある。また、我が国では、大量出血による後天性低フィブリノゲン血症に対するフィブリノゲン濃縮製剤の薬事承認は得られていないため、新鮮凍結血漿使用に対する上記懸念などから、現在、クリオプレシピテート製剤を院内調製し使用している施設が増加している⁹⁾。しかし、これまで作製方法が統一されていなかったため、とりわけ新鮮凍結血漿の融解方法、融解回数、遠心条件などの作製条件が各施設で異なっていた。

そこでこの度、日本輸血・細胞治療学会では、クリオプレシピテート製剤の安全性や品質を向上させることを目的として、「クリオプレシピテートの院内調製基準作成タスクフォース委員会」を設置し、様々な調整条件等を検討した結果、最適と考えられる標準作製手順書を作成した。しかしながら、大量・緊急出血症例に対する高濃度フィブリノゲン製剤によるフィブリノゲン補充の有効性や必要投与量に関しては、未だ質の高いエビデンスとして確立されておらず、今後も検討が続くものと思われる¹⁰⁻¹⁶⁾。また、クリオプレシピテートの作製に必要な新鮮凍結血漿の受給バランスなど、検討すべき課題もある。

よって、本標準作製手順書は、あくまでもクリオプレシピテートの作製上の安全性、品質向上を目的として作成したものであり、実際のクリオプレシピテートの調製

あるいは使用にあたっては、最新のエビデンスを考慮しながら、その適応対象症例と必要投与量などについて、各施設の輸血療法委員会、倫理委員会などで十分に検討したうえで決定していただくことを望むものである。また、施設の状況に応じて、工夫あるいは改良を行うことを妨げるものではない。なお、現在、日本輸血・細胞治療学会においても大量出血症例に対するフィブリノゲン製剤を含んだ輸血療法のガイドライン策定に向けて作業を進めているところである。

注) *：低フィブリノゲン血症の病態として、播種性血管内凝固（DIC）、L-アスパラギナーゼ投与後が記載されている。

1. FFP - LR 480 (以下 FFP - LR と略す) 製剤の準備と記録：

- 1-1) FFP-LR480 を調製用製剤とし、ABO 血液型^{*1)}、採血年月日、有効期限、Lot 番号を確認し記録する。箱から添付文書を取り除いておく。
- 1-2) 製剤番号シールを作業記録に貼り付ける。
- 1-3) FFP-LR のセグメントを保管する(すぐに使用しないなら凍結する)。
- 1-4) 製剤バッグを外箱から取り出して容量(重量)を秤量し、記録した後に箱にもどす。

*1) クリオプレシピテートは、新鮮凍結血漿と同様に、ABO 同型を使用することが望ましい。しかし、作製に時間がかかること、緊急性などを考慮すると、特に、使用頻度の少ない施設では、AB 型クリオプレシピテートを使用せざるを得ない状況についても許容される。

2. 調製用製剤の融解：

- 2-1) 調製用製剤を外箱に入れたまま 4°C (2~6°C) の製剤管理用保冷庫で重ねないように 24 時間^{*2)} (最大 30 時間まで) 静置し融解^{*3)}する。

*2) 融解時間：融解時間は 24 時間を標準とするが、24 時間と 30 時間でクリオプレシピテート中のフィブリノゲンの回収率に大きな差はみられないため 30 時間まで延長してもよい。

*3) 融解回数：融解回数は 1 回を標準とするが、数施設での検討で、1 回法に比べて 2 回法の方が、フィブリノゲンの回収率が 10~20% 増加する傾向がみられた。しかし、フィブリノゲン量をトロンビン時間法ではなくタンパク量で比較すると、2 回法と 1 回法でフィブリノゲン量はそれほど差がないと指摘する意見もある。また、2 回法は 1 回法と比べて作製に 1 日長くかかるため、本プロトコールでは 1 回法を標準とするが、時間的余裕があれば 2 回法を選択してもよい。2 回法を行う場合には、融解した調整製剤を -20°C 以下で一晩再凍結し、翌日再度 2-1) を行う。

3. 調製用製剤の遠心：

- 3-1) 予め^{*4)} 4°C 以下に冷却しておいた冷却遠心機で融解した調製用製剤を遠心^{*5)}しクリオプレシピテートを沈降させる。

- *4) 冷却遠心機の温度：冷却遠心機は予め十分に冷却することが重要である。遠心中に温度が上がると析出したクリオプレシピテートが再融解するため、回収率の低下につながる。
- *5) 遠心条件：遠心の回転数や時間の違いにより、クリオプレシピテート中のフィブノゲンの回収率に大きな差は認められない。施設の冷却遠心機の性能を考慮し設定する。
下記に代表的な遠心条件を記載する。

(高速法) 4,500G 10分 (標準法) 3,000G 15分 (低速法) 1,500G 30分

4. 調製用製剤と 600ml 分離バッグを無菌接合：

注意) これ以降の工程まで (4-1) から 5-3) まで) は調製用製剤の温度ができる限り 6℃以上に上昇しないように注意し、一本ずつ手際よく行う。

4-1) 調製用製剤と 600ml 分離バッグを無菌接合する。

5. 調製用製剤からのクリオプレシピテートの分離：

- 5-1) 調製用製剤を分離スタンドにセットし、接合した上清除去用の分離バッグを天秤にのせる。
- 5-2) 風袋分の重量を除いた後、調製用製剤の上清から 430g (約 430mL) を分離バッグに移す。クリオプレシピテートの容量は約 50mL となる。
- 5-3) クランプし、シーラーを使って両者を切り離す。
- 5-4) 調製用製剤が FFP-LR とはつきり区別が出来るよう、本体と外箱にシールを貼るなど調製済みであることを明確にする。

6. クリオプレシピテートの保存：

- 6-1) クリオプレシピテートのペレットは、解凍時 (使用時) にペレットが残りやすいため、調製用製剤を水平振盪するなどして細かくしておく。調製用製剤をお湯につけるなどの方法で温めてもよいが、清潔を保つこと。
- 6-2) 調製用製剤を元の外箱に入れ、-20℃以下で凍結保存する*6)。

*6) 保管期間は材料とする FFP-LR の有効期限を超えない。

7. 解凍：

- 7-1) 冷凍保存しておいた調製用製剤を外箱から取り出し*7)、37℃の恒温槽内でバッグを振盪させずに一気に解凍する (10分程度) *8)。

7-2) 解凍後は可能な限り速やかに使用する。輸血ルートには輸血セットを用いる。

*7) 調製用製剤はバッグの厚みが薄くなり、凍結すると軽い衝撃でも破損しやすいので注意する。

*8) クリオプレシピテートが十分に融解していることを確認する。振盪させて解凍する場合には、バッグの破損に注意する。

付録：

◆ QC の方法について：

- FFP-LR からクリオプレシピテートへのフィブリノゲン(Fib)の回収率を定期的にチェックし、品質管理を行うことが重要である。本プロトコールでは、回収率の計算方法として、以下の方法⁹⁾を推奨する。

*9) 【クリオプレシピテートへの Fib 回収率】 =

$$\frac{\text{【FFP-LR 中の Fib 量】} - \text{【除去した上清中の Fib 量】}}{\text{【FFP-LR 中の Fib 量】}}$$

解説：回収率は、FFP-LR 中のフィブリノゲン量のうち、クリオプレシピテート中に回収されたフィブリノゲン量の割合であるが、クリオプレシピテート中のフィブリノゲン量は、直接測定するよりも、FFP-LR 中のフィブリノゲン量(保管したセグメントを用いて測定)と除去した上清中のフィブリノゲン量をそれぞれ測定し、差を求める方法が簡便である。

【クリオプレシピテート中の Fib 量】 ≡

$$\text{【FFP-LR 中の Fib 量】} - \text{【除去した上清中の Fib 量】}$$

上記の方法⁹⁾により数施設で回収率を検討したところ、作製方法によって回収率は若干異なるものの、1回法によるフィブリノゲンの回収率は、FFP-LR 中のフィブリノゲン量に関わらず 40%~50%であった。

- QC を行う頻度は、施設の作製頻度により異なるが、数ヶ月の間に1回(3~6ヶ月の間に少なくとも1回)は、作製時に数本をサンプリングしてフィブリノゲンの回収率をチェックすることが望ましい。

◆ 同意について：

投与される患者やその家族に、クリオプレシピテート使用に対する十分な説明と同意を得ることが望ましい。

◆ 工程表について：

二次製剤作製の際は工程記録等を用いるべきである。参考に下記（①～③：案）を示した。各施設の現状に応じてこれらの整備をすること。

- ① フローチャート
- ② 作業記録
- ③ 工程記録

参考文献

1. Levy JH, Welsby I, Goodnough LT. Fibrinogen as a therapeutic target for bleeding: a review of critical levels and replacement therapy. *Transfusion*. 54(5):1389-1405, 2014.
2. Levy JH, Goodnough LT. How I use fibrinogen replacement therapy in acquired bleeding. *Blood*. 125(9):1387-1393, 2015.
3. Massive Transfusion Protocol (MTP) for Hemorrhagic Shock. ASA Committee on Blood Management. 2011.
4. Spahn DR, Bouillon B, Cerny V, et al. Management of bleeding following major trauma: An updated European guideline. *Critical Care* 17:R76, 2013.
5. Patient Blood Management Guidelines: Module 1- Critical Bleeding / Massive Transfusion. <https://www.blood.gov.au/pbm-module-1>.
6. Rossaint R, Bouillon B, Cerny V, et al. The European guideline on management of major bleeding and coagulopathy following trauma: fourth edition. *Crit Care*. 20(1):100, 2016.
7. Wikkelsø A, Lunde J, Johansen M et al. Fibrinogen concentrate in bleeding patients. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014(8):CD008864.
8. 「血液製剤の使用指針」(改定版)平成17年9月(平成28年6月一部改正)厚生労働省医薬・食品局血液対策課.
9. 日本輸血細胞治療学会:平成26年度血液製剤使用実態調査データ集.
http://yuketsu.jstmct.or.jp/medical/medicine_and_medical_information/comprehensive_investigation/ (2014年度).
10. Kozek-Langenecker S, Sørensen B, Hess JR, et al. Clinical effectiveness of fresh frozen plasma compared with fibrinogen concentrate: a systematic review. *Critical Care* 15:R239, 2011.
11. Nascimento B, Goodnough LT, Levy JH. Cryoprecipitate therapy. *Br J Anaesth*. 113:922-934, 2014.
12. Fominskiy E, Nepomniashchikh VA, Lomivorotov VV, et al. Efficacy and Safety of Fibrinogen Concentrate in Surgical Patients: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 30(5):1196-1204, 2016.
13. Wikkelsø AJ, Edwards HM, Afshari A, et al. Pre-emptive treatment with fibrinogen concentrate for postpartum haemorrhage: randomized controlled trial. *Br J Anaesth*. 114(4):623-633, 2015.
14. Curry N, Rourke C, Davenport R, et al. Early cryoprecipitate for major

- haemorrhage in trauma: a randomised controlled feasibility trial. *Br J Anaesth.* 115(1):76-83, 2015.
15. Ranucci M, Baryshnikova E, Crapelli GB, et al. Randomized, double-blinded, placebo-controlled trial of fibrinogen concentrate supplementation after complex cardiac surgery. *J Am Heart Assoc.* 4(6):e002066, 2015.
 16. Rahe-Meyer N, Levy JH, Mazer CD, et al. Randomized evaluation of fibrinogen vs placebo in complex cardiovascular surgery (REPLACE): a double-blind phase III study of haemostatic therapy. *Br J Anaesth.* 117(1):41-51, 2016.

日本輸血・細胞治療学会

クリオプレシピテートの院内調製基準作成タスクフォース委員

(平成 25 年 4 月～平成 27 年 3 月)

[COI]

- | | |
|----------------------------|--|
| 岩尾憲明(国立大学法人 山梨大学医学部附属病院) | なし |
| ○ 大石晃嗣(国立大学法人 三重大学医学部附属病院) | なし |
| 加藤英史(愛知医科大学病院) | なし |
| 紀野修一(国立大学法人 旭川医科大学病院) | なし |
| 竹下明裕(国立大学法人 浜松医科大学) | 奨励寄付金 (ファイザー製薬(株)) |
| 玉木茂久(日本赤十字社 伊勢赤十字病院) | なし |
| 牧野茂義(国家公務員共済組合連合会 虎の門病院) | 講演料(一般社団法人日本血液製剤機構) |
| ◎ 前田平生(埼玉医科大学総合医療センター) | 顧問料(株)ビー・エム・エル) |
| 松本剛史(国立大学法人 三重大学医学部附属病院) | なし |
| 宮田茂樹(独立行政法人 国立循環器病研究センター) | 講演料(第一三共(株)、研究費 (第一三共(株)、田辺三菱製薬 (株)) |
| 山本晃士(国立大学法人 名古屋大学医学部附属病院) | なし |
| ○ 委員長、◎ 担当理事 | |

クリオプレシピテートの院内調製基準作成タスクフォース 委員

(平成 27 年 4 月～)

[COI]

- | | |
|-----------------------------|--|
| 岩尾憲明(順天堂大学医学部附属 静岡病院) | なし |
| ○ 大石晃嗣(国立大学法人 三重大学医学部附属病院) | なし |
| 加藤英史(愛知医科大学病院) | なし |
| 竹下明裕(国立大学法人 浜松医科大学) | 奨励寄付金(ファイザー製薬(株)) |
| 玉木茂久(日本赤十字社 伊勢赤十字病院) | なし |
| 藤井聡(国立大学法人 旭川医科大学病院) | なし |
| 藤盛好啓(兵庫医科大学) | なし |
| 牧野茂義(国家公務員共済組合連合会 虎の門病院) | 講演料(一般社団法人日本血液製剤機構) |
| 松本剛史(国立大学法人 三重大学医学部附属病院) | なし |
| ◎ 宮田茂樹(独立行政法人 国立循環器病研究センター) | 講演料(第一三共(株)、研究費 (第一三共(株)、田辺三菱製薬 (株)) |

山本晃士(埼玉医科大学総合医療センター) なし
○ 委員長、◎ 担当理事

研究協力者 [COI]
田中由美(三重大学医学部附属病院) なし
池本純子(兵庫医科大学病院) なし
大塚浩平(国立大学法人 旭川医科大学病院) なし
星野鉦二(岡崎市民病院) なし
宮崎研一(焼津市立総合病院) なし
森 恵子(伊勢赤十字病院) なし
山田千亜希(国立大学法人 浜松医科大学医学部附属病院) なし
渡辺直樹(国立大学法人 旭川医科大学病院) なし