

自動血球洗浄装置 (ACP215) で調製した洗浄血小板の品質

平山 順一 岩間 輝 茶谷 真 小野寺秀一 金子 祐次
柴 雅之 永井 正 佐竹 正博 田所 憲治

自動血球洗浄装置 ACP215 を用い、採血翌日および採血翌々日の濃厚血小板製剤 (PC) から血小板保存液 BRS-A によって調製した洗浄血小板の品質について、洗浄後 72 時間まで検討した。

洗浄による血漿タンパク除去率は 98% 以上、血小板回収率は平均 87% 以上であった。

採血翌日 PC から調製した場合、pH は保存期間中 6.8 を下回ることにはなかった。MPV は洗浄直後に上昇したがそれ以降は洗浄前と有意差が無いレベルまで戻った。%HSR は洗浄直後に 10% 低下し、その後は洗浄前よりも高い値を示した。血小板の形態を表す指標である E800/E0 の値は洗浄直後に上昇し、その後は低下し洗浄前の値に近づいた。CD62P の値は洗浄直後に 36.8% まで上昇したが、洗浄直後から 72 時間後までは有意な変化がなかった。スワーリングは洗浄直後には一時的に弱くなったが、数時間で回復し、洗浄 72 時間後まではっきりと観察できた。採血翌々日 PC から調製した場合についても同様な結果が得られた。

以上のことから、自動血球洗浄装置 ACP215 を用い BRS-A で調製した洗浄血小板の品質は、洗浄直後に一時的な低下が見られたものの大きなダメージではなく、洗浄 72 時間後でも良好に維持されていると考えられる。

キーワード：洗浄血小板、自動血球洗浄装置、血小板保存液

緒 言

濃厚血小板製剤 (PC) を輸血した際、一部の患者では蕁麻疹などの非溶血性副作用を発症する場合がある。このような副作用は、PC の血漿中に含まれている各種抗体や生理活性物質が原因の一つと考えられている^{1)~3)}。血漿に起因する副作用を抑えるためには、PC の代わりに洗浄血小板を使用することが有効である^{4)~13)}。

洗浄血小板の調製は、医療機関での自家調製か血液センターでの技術協力で対応してきたが、自家調製できる医療機関は限られており、また一つの血液センターが技術協力で提供できる数には限りがある。医療機関からの強い要望もあり、日本赤十字社では洗浄血小板を新たな輸血用血液製剤として製剤化すべく検討を行ってきた。

洗浄血小板の調製には血小板の品質を一定時間良好に維持できる血小板保存液が必要である。1993 年に報告されたセト液は血小板の品質を 7 日間ほど良好に維持できる優れた血小板保存液であったが¹⁴⁾、十分な需要が見込まれないなどの理由で製品化されることはなかった。2004 年にはセト液と同等以上の保存性能を有する血小板保存液として「M-sol」が報告された¹⁵⁾。セト液とは異なり、M-sol は既に市販されている 5 種類の輸

や医療用電解質溶液を一定の割合で混合することにより調製できるため、医療機関や血液センターで自ら調製可能である^{15)~18)}。M-sol で調製した洗浄血小板は 2005 年から「技術協力」として輸血に使用され始めた。さらに 2013 年には 2 種類の輸液の混合液である BRS-A (Bicarbonated Ringer's solution supplemented with ACD-A) が報告された¹⁹⁾。BRS-A も血小板の品質を良好に維持できたため、血小板保存液として洗浄血小板の調製に使用されてきた。

洗浄血小板の調製は用手法 (遠心上清を除去した後、血小板保存液を添加し血小板ペレットを再浮遊する方法。)で行われてきた。用手法による調製はある程度の熟練を要し、調製者による血漿タンパク除去率などがバラつくという問題点がある⁸⁾。製剤化するには調製工程を機械化しバラつきを抑えることが望ましい。機械化は生産性の向上にも繋がる可能性がある。

全国の血液センター製造部門には赤血球洗浄のために自動血球洗浄装置 (ACP215, ヘモネティクス社製) が既に配備されている。この装置で洗浄血小板の調製ができれば新たに装置を購入する必要がない。そこで ACP215 を用いた洗浄血小板調製の試みが行われ、調製可能であることが明らかになった^{20)~22)}。これらの報告

では、あらかじめ調製した M-sol を使ったが、血小板保存液自体も ACP215 で調製できればさらに利便性が高まる。しかし ACP215 には輸液の取り込み口が3か所しかないため、5液の混合液である M-sol を ACP215 で調製することは不可能である。M-sol 自体を製品化すると大きな需要が望めないため1本当たりの価格は高額になる。また ACP215 のハードウェアを改良すると既存の装置の買い替えが必要になる。それ故、本システムで使用する血小板保存液は BRS-A を使用することとした。ソフトウェアと洗浄用ディスポーザブルキットのみ改良を行った結果、血小板洗浄だけでなくその際に使用する BRS-A の調製も ACP215 で可能になった。そこで日本赤十字社は上記の方法で調製した洗浄血小板(有効期間 48 時間(ただし原料 PC の有効期間内))を新たな輸血用血液製剤として製造承認申請することとした。洗浄のタイミングとしては、原料 PC の NAT 検査などに要する時間や調製した洗浄血小板を医療機関に届けるのに要する時間、PC の有効期間などを考慮すると、採血翌日または翌々日になる。本検討では実際に洗浄血小板の製造で使用する機器およびディスポーザブルキットを用い、採血翌日または翌々日に調製した洗浄血小板について 72 時間保存した際の品質変化について検討した。

方 法

洗浄血小板の調製

洗浄血小板の原料には、インフォームドコンセントが得られたドナーから採血した 10 単位 PC を 20 本使用した。そのうち 10 本(平均: 201ml, $2.6 \times 10^{11}/\mu\text{l}$)は採血翌日に、残り 10 本(平均: 203ml, $2.5 \times 10^{11}/\mu\text{l}$)は採血翌々日に洗浄を行った。洗浄血小板の調製には自動血球洗浄装置 ACP215(215J-C, ヘモネティクス社製)を用いた。ACP215 に血小板洗浄ディスポーザブルセット(0238J-00, ヘモネティクス社製)、PC, 1,000ml 重炭酸リンゲル液(ピカネイト[®]輸液, 大塚製薬工場社製)2本, 300ml ACD-A(川澄化学工業社製)1本を所定の位置にセットし、操作手順書(「ACP215 血小板洗浄プロトコル(操作手順書)」, ヘモネティクス社製)に従って装置を作動させ、調製を行った。調製した洗浄血小板は洗浄後 72 時間まで血小板振とう機(マルチシェーカー MMS-310 及び低温恒温チャンバー FMC-100, 共に EYELA 社製)で振とう保存した(20~24°C, 60 回/分)。

各種パラメータの測定

pH は pH メーター(F-52, 堀場製作所社製)に接続したガラス電極(9618-10D, 堀場製作所社製)で測定した。血小板数および平均血小板容積(MPV)の測定には多項目自動血球分析装置(XS-800i, シスメックス

社製)を使用した。血小板凝集率、浸透圧ショック反応(%HSR)および血小板形態の測定に使用した多血小板血漿(PRP)は、PC または洗浄血小板を AB 型血漿で $30 \times 10^4/\mu\text{l}$ に希釈することにより調製した。血小板凝集率は、PRP180 μl に対して 200mM 塩化カルシウムを 4 μl , 100 μM の ADP を 10 μl , 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のコラーゲン(コラーゲンリエージェントホルム, NYCOMED PHARMA GMBH 社製)を 10 μl 添加し、血小板凝集能測定装置(ヘマトレーサー 313M, タイヨウ社製)で測定した。血小板形態は大軒らの報告²³⁾に従いストップ&フロー法により測定した。これは攪拌時(800rpm)と静止時の PRP に対する吸光度の比(E800/E0)から血小板の形態を判定する方法で、血小板が全て球状の場合は理論上 1.0 であり、円盤状血小板の割合が多くなるほど 1.0 よりも低い値になる。この測定には血小板凝集能測定装置(ヘマトレーサー 313M, タイヨウ社製)を使用した。%HSR は常法により測定した。CD62P 陽性細胞率は、PE 標識 CD62P 抗体(ベクトン・ディッキンソン社製)および PerCP 標識 CD61P 抗体(ベクトン・ディッキンソン社製)で染色した血小板をフローサイトメーター(Cytomics FC500, ベックマン・コールター社製)で測定することにより解析した。グルコース濃度、乳酸濃度、タンパク濃度、RANTES, CD40L はサンプルの遠心上清を専用のキットで測定することにより算出した。キットはそれぞれグルコース CII テストワコー(和光純薬社製)、デタミナー LA(協和メディックス社製)、BCA Protein Assay Kit(Thermo Scientific 社製)、Quantikine ELISA Human CCL5 / RANTES(R&D system 社製)、Quantikine ELISA Human CD40 Ligand / TNFSF5(R&D system 社製)を使用した。血漿タンパク除去率および血小板回収率は以下の式から算出した。

除去率 (%) = $100 \times (1 - \text{洗浄血小板の上清タンパク重量} \div \text{原料 PC の上清タンパク重量})$

回収率 (%) = $100 \times \text{洗浄血小板の総血小板数} \div \text{原料 PC の総血小板数}$

統計処理

統計処理は Excel 上で専用ソフト(ystat2002.xls)を用いて行った。Glucose, Lactate, RANTES, CD40L の統計処理は洗浄直後、洗浄 24 時間後、洗浄 48 時間後、洗浄 72 時間後の間で、それ以外のパラメータについては洗浄前、洗浄直後、洗浄 24 時間後、洗浄 48 時間後、洗浄 72 時間後の間で Repeated measures ANOVA によりパラメトリック検定を実施し、その後、Bonferroni correction で多重比較を行った。P 値が洗浄前との比較では 0.0125 (0.05/4) 未満、洗浄直後との比較では 0.0167 (0.05/3) 未満、洗浄 24 時間後との比較では 0.025 (0.05/2) 未満の場合を有意差ありとした。

表1 調製した洗浄血小板の性状

		平均	標準偏差	最大値	最小値
容量 (ml)	Exp. 1	216	1	217	214
	Exp. 2	215	1	216	212
総血小板数 ($\times 10^{11}$)	Exp. 1	2.26	0.13	2.5	2.1
	Exp. 2	2.20	0.08	2.3	2.1
血漿蛋白除去率 (%)	Exp. 1	99.0	0.2	99.3	98.6
	Exp. 2	99.3	0.2	99.5	98.9
血小板回収率 (%)	Exp. 1	87.6	3.4	92.6	80.8
	Exp. 2	87.3	1.5	88.5	84.0

容量および総血小板数は洗浄直後のサンプルの測定値である。

Exp.1: 採血翌日洗浄の場合 (n=10). Exp.2: 採血翌々日洗浄の場合 (n=10).

表2 採血翌日洗浄の場合 (Exp. 1)

	洗浄前	洗浄直後	24時間後	48時間後	72時間後
PLTs ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	128.0 \pm 5.2 ^{b,c}	105.1 \pm 5.2 ^{a,c}	104.3 \pm 5.5 ^a	103.4 \pm 5.4 ^{a,b,c}	103.2 \pm 5.1 ^{a,b,c}
pH	7.28 \pm 0.10 ^{b,c}	6.87 \pm 0.04 ^{a,c}	7.34 \pm 0.04 ^{a,b}	7.31 \pm 0.05 ^{b,c}	7.23 \pm 0.08 ^{b,c}
MPV (fl)	9.0 \pm 0.7 ^b	9.5 \pm 0.7 ^{a,c}	9.1 \pm 0.7 ^b	9.1 \pm 0.7 ^b	9.1 \pm 0.8 ^b
CD62P (%)	15.0 \pm 4.9 ^b	36.8 \pm 11.2 ^a	35.4 \pm 8.0 ^a	37.9 \pm 7.6 ^a	40.4 \pm 11.2 ^a
E800/E0	0.89 \pm 0.02 ^{b,c}	0.96 \pm 0.01 ^{a,c}	0.94 \pm 0.03 ^{a,b}	0.93 \pm 0.02 ^{a,b}	0.93 \pm 0.02 ^{a,b}
HSR (%)	80 \pm 5 ^{b,c}	70 \pm 5 ^{a,c}	86 \pm 7 ^{a,b}	87 \pm 6 ^{a,b}	86 \pm 5 ^{a,b}
Aggregation (%)	95 \pm 8	93 \pm 3	90 \pm 7	91 \pm 7 ^c	90 \pm 8
Glucose (mg/dl)	318.0 \pm 22.6	93.4 \pm 5.3 ^c	65.8 \pm 6.2 ^b	36.5 \pm 7.2 ^{b,c}	9.8 \pm 8.1 ^{b,c}
Lactate (mg/dl)	31.4 \pm 14.4	8.8 \pm 5.6 ^c	37.8 \pm 5.7 ^b	65.2 \pm 5.4 ^{b,c}	91.8 \pm 7.3 ^{b,c}
RANTES (ng/ml)	63.9 \pm 30.0	54.1 \pm 12.7	55.8 \pm 12.6	69.3 \pm 17.0 ^{b,c}	81.5 \pm 16.4 ^{b,c}
CD40L (ng/ml)	2.69 \pm 0.97	1.84 \pm 0.49 ^c	2.25 \pm 0.47 ^b	2.74 \pm 0.65 ^b	3.16 \pm 0.73 ^{b,c}

^a P<0.0125 vs pre-wash ; ^b P<0.0167 vs post-wash ; ^c P<0.025 vs 24 hours, n=10

結 果

調製した洗浄血小板の性状を表1に示す。容量および総血小板数は全て10単位PCの規格(160~240ml, 2.0×10^{11} 以上)に相当した。血漿タンパクは最低でも98.6%除去できた。血小板回収率は平均で87%以上であった。

採血翌日洗浄の場合(Exp.1), pHは洗浄直後に6.87まで低下したがその後は上昇し, 7.0を下回ることにはなかった(表2)。MPVは洗浄直後に上昇したがそれ以降は洗浄前と有意差が無いレベルまで戻った(表2)。CD62Pは洗浄直後, 36.8%まで上昇したが, 洗浄直後から72時間後までは有意な変化がなかった(表2)。血小板形態の指標であるE800/E0の値は洗浄直後に上昇し(球状の血小板の割合が増加したことを示す), その後は低下し洗浄前の値に近づいた(表2)。%HSRは洗浄直後に10%低下し, その後は洗浄前よりも高い値を示した(表2)。凝集能に関しては保存期間中に有意な差はなく, 90%以上を維持した(表2)。

採血翌々日洗浄の場合(Exp.2), pH, MPV, CD62P, E800/E0, %HSRの測定値の変化は採血翌日洗浄の場合と同様であった(表3)。凝集能は経時的に低下したが, 洗浄72時間後でも72%を示した(表3)。

Lactate, RANTES, CD40Lの値は, 採血翌日洗浄および採血翌々日洗浄のいずれにおいても洗浄直後に一時的な低下が見られたが, その後は経時的に上昇した(表2及び表3)。Glucoseの値は洗浄直後から経時的に低下した(表2及び表3)。スワーリングはいずれの場合も洗浄直後には一時的に弱くなったが, その後は数時間以内に回復し, 洗浄72時間までははっきりと観測できた(データ示さず)。また, 洗浄直後に微量の凝集塊が観測されたが, 数時間以内に消失し, その後, 出現することはなかった(データ示さず)。

考 察

自動血球洗浄装置を用い, 採血翌日および翌々日のPCからBRS-Aで洗浄し調製した洗浄血小板の品質について検討した。

洗浄による血漿タンパクの除去率はExp.1で平均99.0%(最小98.6%), Exp.2で平均99.3%(最小98.9%)であった(表1)。一方, 用手法で行った場合は97.1%(n=53)という報告がある²⁴⁾。自動血球洗浄装置を用いて洗浄した方が輸血副作用発症リスクをさらに減らせると推測できる。血小板回収率については, 本検討での結果と用手法で行った報告²⁴⁾は同等であったが, 回収率も用手法

表3 採血翌々日洗浄の場合 (Exp. 2)

	洗浄前	洗浄直後	24時間後	48時間後	72時間後
PLTs ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	124.6 \pm 3.0 ^{b,c}	102.0 \pm 3.6 ^{a,c}	101.1 \pm 3.8 ^{a,b}	100.7 \pm 3.6 ^{a,b}	99.9 \pm 3.3 ^{a,b,c}
pH	7.34 \pm 0.07 ^b	6.89 \pm 0.04 ^{a,c}	7.36 \pm 0.06 ^b	7.35 \pm 0.10 ^b	7.31 \pm 0.09 ^{b,c}
MPV (fl)	8.8 \pm 0.7	9.0 \pm 0.6 ^c	8.7 \pm 0.6 ^b	8.9 \pm 0.6 ^c	8.9 \pm 0.7 ^c
CD62P (%)	18.8 \pm 3.9 ^b	45.2 \pm 6.0 ^a	38.7 \pm 6.8 ^a	41.6 \pm 7.2 ^a	45.6 \pm 6.8 ^a
E800/E0	0.90 \pm 0.01 ^{b,c}	0.94 \pm 0.01 ^{a,c}	0.92 \pm 0.02 ^{a,b}	0.92 \pm 0.02 ^{a,b}	0.91 \pm 0.02 ^{a,b}
HSR (%)	79 \pm 4 ^b	67 \pm 9 ^{a,c}	81 \pm 5 ^b	85 \pm 4 ^{a,b}	82 \pm 8 ^b
Aggregation (%)	89 \pm 11 ^c	81 \pm 24	76 \pm 26 ^a	76 \pm 28 ^a	72 \pm 28 ^{a,c}
Glucose (mg/dl)	330.8 \pm 27.5	95.3 \pm 7.2 ^c	69.7 \pm 9.3 ^b	40.9 \pm 11.0 ^{b,c}	15.9 \pm 9.8 ^{b,c}
Lactate (mg/dl)	34.7 \pm 8.4	8.6 \pm 4.9 ^c	35.6 \pm 7.8 ^b	63.3 \pm 10.3 ^{b,c}	87.8 \pm 9.4 ^{b,c}
RANTES (ng/ml)	67.3 \pm 22.0	50.9 \pm 14.2	55.3 \pm 21.7	69.8 \pm 20.9 ^{b,c}	78.9 \pm 23.7 ^{b,c}
CD40L (ng/ml)	2.41 \pm 0.49	1.62 \pm 0.10	2.20 \pm 0.70	2.74 \pm 0.62 ^{b,c}	2.92 \pm 0.77 ^b

^a P<0.0125 vs pre-wash ; ^b P<0.0167 vs post-wash ; ^c P<0.025 vs 24 hours, n = 10

法より自動血球洗浄装置を使った場合の方が優れているという報告もある²⁵⁾。

抗HLA抗体など血漿中に含まれている輸血副作用の原因物質は、洗浄により約99%除去されるが、洗浄後に血小板中から放出されるものもある。RANTESは血小板の α 顆粒に蓄えられているケモカインであり、放出されると好塩基球の脱顆粒を引き起こし、アレルギー反応に関与するヒスタミンの遊離を惹起することが知られている²⁾。またCD40Lは各種細胞に発現しているCD40と相互作用し、炎症や発熱に関与すると考えられている²⁾。Exp.1の場合、RANTES及びCD40の濃度は洗浄直後から経時的に上昇したが、洗浄血小板の有効期間である洗浄後48時間の時点で、洗浄前と同等であった。Exp.2(採血翌々日洗浄)の場合も同様の結果であったが、洗浄後48時間以内に有効期間を迎えるため、輸血時のRANTES及びCD40の濃度は洗浄前より低いことが予想される。用手法によりM-solで調製した洗浄血小板の場合も、洗浄後にRANTESなどの濃度は経時的に増大する²⁶⁾。北海道赤十字血液センターからの報告によると⁸⁾、PC輸血により輸血副作用を複数回(重篤な場合は1回でも)発症した患者13名に対し合計300回、(用手法によりM-solで調製した)洗浄血小板を輸血した結果、副作用の発症は十分に抑制できたとされている。北海道赤十字血液センターから提供された洗浄血小板は遅くとも洗浄の翌々日には輸血される。従って洗浄後48時間以内に輸血するのであれば、血小板中から放出されるケモカインなどに起因する副作用発症の可能性は低いと推定できる。

pHはExp.1およびExp.2共に保存期間中、6.8以上を維持した。凝集能についてはExp.1の場合、保存期間中に有意な変化はなかった。Exp.2では保存72時間で有意に低下したが、劇的な低下ではなかった。グルコースは両群で洗浄直後から調製後72時間までの間に大きく減少したが、枯渇することはなかった。Exp.1

およびExp.2の両群で洗浄直後、一時的ではあるがCD62P、MPVおよびE800/E0の値は上昇し、%HSRの値は低下した。一方、洗浄後に一旦上昇したCD62P値はその後低下することはなかったため、血小板はある程度活性化したと考えられる。用手法によりM-solで調製した洗浄血小板でも、洗浄後のCD62PおよびMPVの上昇や%HSRの低下は見られたが²¹⁾、その輸血効果はPCと同等であることが既に報告されている^{6)~8)}。以上のことから、本検討で示した方法により調製した洗浄血小板は、洗浄により品質に若干の低下がみられたものの、輸血効果に影響を及ぼすほどのものではなく、洗浄72時間後まで品質は概ね良好に維持されていると考えられる。

当該製剤は2016年3月に製造承認が得られ、間もなく日本赤十字社から供給が開始される予定である。

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) 柴 雅之, 田所憲治: 血小板輸血の副作用. 日本輸血学会雑誌, 47: 560—562, 2001.
- 2) 藤原満博, 若本志乃舞, 池淵研二, 他: 保存による血液製剤中のサイトカインレベルの変化. 日本輸血学会雑誌, 47: 829—836, 2002.
- 3) 平山文也: 非感染性非溶血性輸血副作用の病態, 原因を理解するための各種検査法の現状. 日本輸血・細胞治療学会雑誌, 60: 46—58, 2014.
- 4) 田中マサヨ, 百木圭子, 江川佐登子, 他: 洗浄血小板の機能と輸血効果. 血液事業, 23: 41—51, 2000.
- 5) 麻田真由美, 菅野知恵美, 川本佳代, 他: 洗浄血小板における輸血副作用の防止. 日本輸血学会雑誌, 48: 32—36, 2002.

- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) 吉田久博, 万木紀美子, 伊藤和彦, 他: 血小板保存液“セト液”の臨床応用. *日本輸血学会雑誌*, 40: 589—592, 1994.
- 10) 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.
- 11) Vo TD, Cowles J, Heal JM, et al: Platelet washing to prevent recurrent febrile reactions to leucocyte-reduced transfusions. *Transfus. Med*, 11: 45—47, 2001.
- 12) Tobian AA, Savage WS, Tisch DJ, et al: Prevention of allergic transfusion reactions to platelets and red blood cells through plasma reduction. *Transfusion*, 51: 1676—1683, 2011.
- 13) Tanaka Y, Ohishi K, Yonekawa T, et al: Effect of washing solution on platelet counts following transfusion with twice-washed platelets: a single-patient experience. *Transfus. Med*, 20: 358—360, 2010.
- 14) Shimizu T, Shibata K, Kora S: Plasma-depleted platelet concentrates prepared with a new washing solution. *Vox Sang*, 64: 19—23, 1993.
- 15) 平山順一, 上西里美, 藤原満博, 他: 市販されている輸液のみで調製した新たな血小板置換液の高い血小板保存性能について. *血液事業*, 27: 352, 2004.
- 16) 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 http://yuketsu.jstmct.or.jp/wp-content/themes/jstmct/images/medical/file/guidelines/Ref9-1-150127_150604.pdf (2016年5月現在).
- 17) 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.
- 18) 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.
- 19) 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.
- 20) 田村 暁, 内藤有紀, 秋野光明, 他: 自動血球洗浄装置 ACP215 と洗浄置換液 M-sol を用いた洗浄置換血小板の調製. *日本輸血・細胞治療学会誌*, 57: 278, 2011.
- 21) 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.
- 22) 岩間 輝, 野川誠之, 柴 雅之, 他: 自動血球洗浄装置を用いて調製した洗浄血小板の性状評価. *日本輸血・細胞治療学会誌*, 60: 353, 2014.
- 23) 大軒子郎, 柴田弘俊: 凝集計を用いたストップ・アンド・フロー法による血小板形態の定量法. *日本輸血学会雑誌*, 43: 350—355, 1997.
- 24) 及川伸治, 田口 剛, 三浦正光, 他: 保存液 BRS-A により調製した洗浄血小板の臨床効果. *日本輸血・細胞治療学会誌*, 62: 329, 2016.
- 25) 河野真由, 平岡朝子, 栗田絵美, 他: 自動血球洗浄装置を用いて院内作成した洗浄血小板の有用性. *日本輸血・細胞治療学会誌*, 62: 328, 2016.
- 26) 藤原満博, 平山順一, 若本志乃舞, 他: M-sol を用いた洗浄血小板中の保存による生理活性物質濃度の経時変化. *日本輸血・細胞治療学会誌*, 59: 286, 2013.

IN VITRO PROPERTIES OF WASHED PLATELETS PREPARED WITH AN AUTOMATED CELL PROCESSOR (ACP215)

Junichi Hirayama, Akira Iwama, Makoto Chatani, Hidekazu Onodera, Yuji Kaneko, Masayuki Shiba, Tadashi Nagai, Masahiro Satake and Kenji Tadokoro

Japanese Red Cross Central Blood Institute

Abstract:

The in vitro properties of washed platelets (wPLTs) suspended in BRS-A additive solution which were prepared from one- or two-day-old platelet concentrate (PC) with an automated cell processor (ACP215) were studied during 72-hour storage.

Rate of plasma protein removal and platelet recovery by washing of PC were more than 98% and 87%, respectively.

When preparation was from one-day-old PC, pH was maintained above 6.8 during 72-hour storage. E800/E0, which is a parameter reflecting platelet shape, and MPV values increased and %HSR values were decreased by 10% immediately after washing, and then returned to pre-wash levels in a time-dependent manner. CD62P values were increased up to 36.8% by washing, but after that these values did not significantly change during 72-hour storage. Although swirling of wPLTs resulted in cloudiness immediately after washing, the solution became clear a couple of hours later. Similar results were obtained with wPLTs prepared from two-day-old PC.

These results indicate that the process of washing PC with ACP215 did not markedly degrade the in vitro properties of wPLTs.

Keywords:

platelet additive solution, automated cell processor, washed platelets