

## 複数回洗浄した洗浄赤血球製剤の品質

金子 祐次<sup>1)</sup> 平山 順一<sup>1)</sup> 小野寺秀一<sup>1)</sup> 小池 敏靖<sup>1)</sup> 岩間 輝<sup>1)</sup>  
 茶谷 真<sup>2)</sup> 柴 雅之<sup>1)</sup> 永井 正<sup>1)2)</sup> 佐竹 正博<sup>1)</sup> 田所 憲治<sup>3)</sup>

洗浄赤血球製剤 (WRC) は非溶血性輸血副作用防止に有効である。しかし、複数回洗浄した WRC についてはその品質や残存血漿タンパク量などを検討した報告はない。本研究では、1 回、2 回及び 3 回洗浄した WRC を洗浄後 72 時間まで保存し、製剤の質的検討を行った。WRC は、赤血球製剤の遠心上清を除去し、生理食塩液を添加し調製した。2 回または 3 回洗浄は洗浄工程を繰り返し行い調製した。WRC の赤血球回収率は 3 回洗浄群でも 98 % 以上であった。残存血漿タンパク量、IgA 量、ハプトグロビン (Hp) 量は洗浄回数が増えるにつれ低減した。pH は保存期間中 6.8 以上を維持し、MCV、2,3-DPG、赤血球浸透圧抵抗性は 1 回、2 回、3 回洗浄群間で有意差がなかった。ATP は洗浄後 72 時間で 3 回洗浄群のみ有意に低下した。上清 Hb 濃度及び溶血率は保存期間中 1 回洗浄群よりも複数回洗浄群の方が高値を示したが、溶血率が 0.3% を超えることはなかった。上清 K<sup>+</sup>濃度は洗浄直後から経時的に上昇したが 3 群間で差はなかった。複数回洗浄した WRC の残存血漿タンパク量、IgA 量、Hp 量は著しく低減した。複数回洗浄した WRC の品質は有効期間まで良好に維持されていると考える。

キーワード：洗浄赤血球、複数回洗浄、輸血副作用

### 緒 言

血漿成分は、ときに発熱、アレルギー反応や重篤なアナフィラキシー反応等の非溶血性輸血副作用の原因となることがある。そのため、血液製剤中の血漿成分の低減化が輸血副作用の防止に有効とされている<sup>1)2)</sup>。赤血球製剤は血漿の大部分が除去されているが、発熱、アレルギーあるいはアナフィラキシー反応を繰り返し起こす場合に洗浄赤血球製剤 (WRC) が適応となる。

日本赤十字社は WRC について平成 24 年に容量変更とともに有効期間を延長した。洗浄後、生理食塩液の添加量を減量したことで患者への輸血量が軽減され、有効期間を製造後 24 時間から 48 時間に延長したことで医療機関における利便性を高めることができた。しかしながら、容量変更後の WRC の品質については明らかにされているか<sup>3)</sup>、残存血漿成分 (タンパク、IgA、ハプトグロビン (Hp)) 量について明らかにされていない。また、1 回洗浄した WRC で副作用を防止できない場合、複数回洗浄した WRC が必要とされる場合もあるが、複数回洗浄した WRC の残存血漿成分量や品質についても明らかにされていない。そこで本検討では、複数回洗浄した WRC の残存血漿タンパク量、IgA 量及び

Hp 量を測定し、その品質について洗浄後 72 時間まで検討したので報告する。

### WRC の調製方法

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照射赤血球液-LR「日赤」(Ir-RBC-LR2) を原料血液とした。調製は日本赤十字社の製造管理基準で定めた使用期限直前の保存 10 日目に行い、手順は日本赤十字社の標準作業手順書に従い調製した。Ir-RBC-LR2 と生理食塩液および廃液バッグへの接続には無菌チューブ接合装置 (TSCD, テルモ社製) を用いた。まず始めに Ir-RBC-LR2 に生理食塩液 (カーミパック生理食塩液, 川澄化学工業社製) を加え全量を約 460ml にした。その後、よく混和させ大容量冷却遠心機 (9920, KUBOTA 社製) を用いて遠心 (2,690 × g, 約 7 分 (設定総遠心力 1.00 × 10<sup>6</sup> g · sec), 5°C) し、分離スタンドを用いて上清を可能な限り廃液バッグ (BB-T030DJ, 川澄化学工業社製) に除去した。2 回、3 回洗浄する場合には上記の洗浄工程を繰り返し行った。最後に約 90ml の生理食塩液を加え浮遊させた。洗浄操作を 1 回、2 回及び 3 回行った WRC を各 8 本調製し、それぞれ 1 回洗浄群 (1-WRC)、

1) 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所  
 2) 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター  
 3) 日本赤十字社血液事業本部  
 [受付日：2017 年 6 月 7 日, 受理日：2017 年 8 月 4 日]

表1 洗浄前と洗浄後の性状

	pre-wash (N=24)	1-WRC (N=8)	2-WRC (N=8)	3-WRC (N=8)
容量 (ml)	258.0±7.9 (242.5～270.8)	263.3±8.5 (248.3～275.1)	248.6±6.8 (240.2～259.1)	259.6±9.1 (248.8～271.8)
赤血球数 (×10 <sup>4</sup> /μl)	653±25 (614～716)	644±30 (611～694)	636±22 (612～672)	660±7 (648～667)
Hct (%)	54.5±1.0 (53.0～57.1)	54.0±1.1 (53.1～56.0)	54.1±1.1 (52.6～56.1)	54.8±1.4 (52.5～56.6)
Hb 濃度 (g/dl)	19.5±0.5 (18.7～20.8)	19.0±0.4 (18.3～19.6)	19.2±0.3 (18.7～19.6)	19.7±0.4 (19.2～20.4)
総 Hb 量 (g/Bag)	50.2±2.4 (45.8～55.8)	50.0±1.1 (48.6～51.5)	47.6±1.9 (44.9～50.8)	51.1±2.7 (47.8～55.0)
赤血球回収率 (%)	—	99.1±0.7 (98.1～100.0)	98.7±0.6 (97.8～99.8)	98.3±0.7 (97.4～99.0)
Hb 回収率 (%)	—	99.0±0.8 (97.3～99.9)	98.8±0.5 (98.0～99.5)	98.5±0.5 (97.7～99.3)

Mean ± SD (Min-Max)

1-WRC : 1 回洗浄群, 2-WRC : 2 回洗浄群, 3-WRC : 3 回洗浄群

2 回洗浄群 (2-WRC), 3 回洗浄群 (3-WRC) とした。洗浄後は 2～6℃ で 72 時間静置保存した。

### 評価項目および測定方法

各 WRC の性状及び品質試験においては洗浄前, 洗浄直後, 24 時間後, 48 時間後, 72 時間後に検体を採取した。容量は, 電子上皿天秤 (MS4002S/02, メトラー・トレド社製) で重量を測定し, 比重 (g/ml) を=1.06 として求めた。赤血球数, ヘモグロビン (Hb) 濃度, ヘマトクリット (Hct), 平均赤血球容積 (MCV) 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。pH は, pH メーター (F-52, 堀場製作所社製) を使用しガラス電極法で測定した。ATP 濃度は ATP 測定用試薬キット (ルシフェール 250, キッコーマンバイオケミファ社製) を使用し, ルミノメーター (AB-2200, ATTO 社製) により測定した。2,3-DPG 濃度は 2,3-DPG 測定キット (ロシュダイアグノスティクス社製) を使用して測定した。上清 Hb 濃度は, 分光光度計 (UV-2550, 島津製作所社製) を使用し Leuco crystal violet (LCV) 法にて測定し, 溶血率を算出した<sup>4)5)</sup>。赤血球浸透圧抵抗性は, パーパート法で評価した<sup>6)</sup>。上清 K<sup>+</sup> 濃度は, 高周波誘導結合プラズマ発光分光分析装置 (ICPE-9820, 島津製作所社製) で測定し発光強度値から算出した。上清中の血漿タンパク濃度, IgA 濃度, Hp 濃度はキットを使用しマイクロプレートリーダー (xMarK, Bio-Rad 社製) で測定し, 算出した。キットは, それぞれ BCA Protein Assay Kit (Thermo Scientific 社製), Human IgA ELISA Kit (Bethyl Laboratories, Inc.), Human Haptoglobin Quantikine ELISA Kit (R&D system) を使用した。

### 統計処理

統計処理には Microsoft Excel<sup>®</sup>2010 上で統計アドイン

ソフト 4steps エクセル統計 statcel3 第 3 版を用いた。残存血漿タンパク量, IgA 量, Hp 量における 3 群間の比較には Kruskal-Wallis で検定後, 多重比較に Steel-Dwass 検定を行った。品質の経時変化において, 洗浄前と洗浄後の比較は paired-t-test, 各保存期間における 3 群間の比較には Tukey-Kramer test を行った。いずれも危険率 1% 未満を統計学的に有意であると判定した。

### 結 果

#### 1. 洗浄前と洗浄後の性状

洗浄後の容量は, 全て日本赤十字社の洗浄赤血球製剤の規格 (220～320ml) に適合し, 1-WRC, 2-WRC, 3-WRC の総 Hb 量は, それぞれ 50.0±1.1g/Bag, 47.6±1.9g/Bag, 51.1±2.7g/Bag であった。赤血球, Hb それぞれの回収率は 3 群ともに 98% 以上であり, Hct は 3 群とも洗浄前と同等で 53～57% であった (表 1)。

#### 2. 上清中の血漿タンパク量, IgA 量及び Hp 量と各濃度

上清中の血漿タンパク, IgA 及び Hp それぞれの残存量 (濃度) は洗浄前で 1,085.5mg (991.3mg/dl), 20.4 mg (17.6mg/dl), 5.1mg (4.4mg/dl) であった。1-WRC は 135.2mg (112.9mg/dl), 2.11mg (1.71mg/dl), 0.50mg (0.41mg/dl) であり洗浄前と比べて低値を示した。さらに, 2-WRC で 49.7mg (43.5mg/dl), 0.060mg (0.053mg/dl), <0.009mg (<0.008mg/dl), 3-WRC で 47.2mg (40.5mg/dl), 0.006mg (0.005mg/dl), <0.001 mg (<0.001mg/dl) であった。上清 Hp 濃度において定量限界以下 (0.313μg/dl) の検体が 2-WRC で 8 本中 1 本, 3-WRC で 8 本中 2 本あった。複数回洗浄すると各残存量は低下したが, 残存血漿タンパク量, Hp 量においては 2-WRC と 3-WRC 間に有意差を認めなかった (表 2)。

表2 血漿タンパク量, IgA量, Hp量 (mg/Bag)

	pre-wash (N=24)	1-WRC (N=8)	2-WRC (N=8)	3-WRC (N=8)
血漿タンパク	1,085.5 (924.0 ~ 1,471.5)	135.2 (126.9 ~ 167.9)	49.7* (41.9 ~ 56.0)	47.2* (37.9 ~ 57.2)
IgA	20.4 (8.7 ~ 53.9)	2.11 (0.83 ~ 2.89)	0.060* (0.03 ~ 0.11)	0.006*† (0.002 ~ 0.010)
§ Hp	5.1 (0.02 ~ 13.4)	0.50 (0.21 ~ 0.74)	<0.009* (0.000 ~ 0.052)	<0.001* (0.000 ~ 0.003)

Median (Min-Max) 1-WRC : 1 回洗浄群, 2-WRC : 2 回洗浄群, 3-WRC : 3 回洗浄群

§ : 検出限界以下の検体が 2-WRC で 1 本, 3-WRC で 2 本あったため, その検体の上清 Hp 量は 0 とした.

\* : P&lt;0.01 vs 1-WRC, † : P&lt;0.01 2-WRC vs 3-WRC (by Steel-Dwass test)

表3 1~3 回洗浄した WRC の品質変化

	pre-wash	洗浄直後	24 時間後	48 時間後	72 時間後
pH					
1-WRC	6.85±0.02	6.93±0.02#	6.88±0.03	6.85±0.03	6.81±0.03
2-WRC	6.84±0.04	6.90±0.03#	6.87±0.02	6.84±0.03	6.80±0.03
3-WRC	6.83±0.02	6.89±0.02#*	6.85±0.03	6.82±0.03	6.80±0.03
MCV (fl)					
1-WRC	83.6±4.4	84.0±4.3	84.3±4.3	84.5±4.2	85.5±4.1
2-WRC	85.4±2.9	85.2±3.2	86.5±3.4	86.8±3.8	87.4±3.7
3-WRC	82.9±1.6	83.1±2.0	83.5±1.6	84.1±2.0	84.9±1.8
ATP (mmol/gHb)					
1-WRC	5.6±0.4	5.5±0.4	5.5±0.4	5.3±0.4	5.2±0.4
2-WRC	5.5±0.6	5.5±0.5	5.3±0.3	5.3±0.5	5.2±0.3
3-WRC	5.3±0.5	5.4±0.5	5.4±0.5	4.8±0.7	3.8±0.7*
2,3-DPG (μmol/gHb)					
1-WRC	3.5±1.2	2.9±1.1	2.1±0.9	1.4±0.8	0.8±0.9
2-WRC	3.3±1.0	2.1±0.7#	1.6±0.6	1.4±0.5	0.7±0.7
3-WRC	3.7±1.2	2.3±1.2#	1.6±0.9	0.7±0.9	0.1±0.4
上清 Hb 濃度 (mg/dl)					
1-WRC	22.7±4.1	20.9±4.5	34.1±4.1	46.2±5.9	60.1±9.8
2-WRC	22.8±5.6	34.4±2.8#*	56.9±4.8*	79.2±9.9*	106.0±14.2*
3-WRC	25.6±9.5	38.9±4.1#*	60.1±10.5*	80.7±15.4*	112.8±27.8*
溶血率 (%)					
1-WRC	0.05±0.01	0.05±0.01	0.08±0.01	0.11±0.01	0.14±0.02
2-WRC	0.05±0.01	0.08±0.01#*	0.13±0.01*	0.18±0.02*	0.25±0.03*
3-WRC	0.06±0.02	0.09±0.01#*	0.14±0.02*	0.18±0.03*	0.25±0.06*
50% 溶血時の NaCl 濃度					
1-WRC	0.419±0.019	0.399±0.017	0.402±0.016	0.405±0.016	0.409±0.016
2-WRC	0.424±0.015	0.407±0.014	0.410±0.013	0.414±0.013	0.416±0.014
3-WRC	0.420±0.010	0.409±0.010	0.410±0.011	0.412±0.011	0.415±0.011
上清 K <sup>+</sup> 濃度 (mEq/l)					
1-WRC	42.1±3.8	5.0±0.7#	10.0±1.2	11.1±0.8	14.0±1.0
2-WRC	40.6±3.4	1.2±0.1#*	6.9±0.4*	9.6±0.6*	13.3±1.1
3-WRC	41.3±2.0	1.0±0.3#*	6.3±0.4*	9.2±0.8*	12.5±0.8

Mean±SD, N=8

1-WRC : 1 回洗浄群, 2-WRC : 2 回洗浄群, 3-WRC : 3 回洗浄群

# : P&lt;0.01, pre-wash vs 洗浄直後 (by paired t-test)

\* : P&lt;0.01, vs 1-WRC (by Tukey-Kramer test)

### 3. WRC の品質変化

1~3 回洗浄した各 WRC の品質試験結果を表 3 に示す。pH は洗浄直後に軽微に上昇したが, 洗浄後 72 時間まで 3 群間に大きな差はなく 6.8 以上を維持していた。MCV は 3 群間に有意な差はなく洗浄前と同等な値

を維持した。赤血球機能の指標となる ATP 濃度は, 洗浄後 48 時間まで 3 群間に有意な差はなく維持していたが, 洗浄後 72 時間に 3-WRC のみが有意に低下した。2,3-DPG 濃度は洗浄直後に 2-WRC, 3-WRC で低下したが, 保存期間中は 3 群間に有意な差はなく経時的に低

下した。上清 Hb 濃度は、保存期間中に上昇し、洗浄後 72 時間まで 1-WRC よりも 2-WRC, 3-WRC の方が高値を示したが、溶血率は 0.3% 以下であった。上清 Hb 濃度と溶血率は保存期間中、2-WRC と 3-WRC 間に有意な差は認められなかった。赤血球膜浸透圧抵抗性を示す 50% 溶血時における NaCl 濃度は、洗浄後に低下せず 3 群ともに保存期間中大きな変化はなく維持した。上清 K<sup>+</sup>濃度は洗浄直後に一旦低値になり、その後保存期間中に上昇した。洗浄後 48 時間まで 1-WRC よりも 2-WRC, 3-WRC の方が低値を示した。

## 考 察

WRC に残存する血漿タンパク量に関して、我が国における生物学的製剤基準には明確な基準はない。一方、欧州では 500mg/unit 未満<sup>7)</sup>と決められている。我々は、1 回、2 回および 3 回洗浄した WRC を調製し上清中に残存する血漿タンパク量、IgA 量、Hp 量を調べた。上清タンパク量において 1 回洗浄したすべての試験血液が欧州基準に適合していた (表 2)。これは、全血から血漿を分離する工程で赤血球製剤に残存する血漿量が既に低減しているからだと思われる。洗浄回数を増やすとさらに低減したが、2-WRC と 3-WRC に統計的な有意差はなかった。

特異的抗 IgA 抗体を保有する IgA 欠損患者は、まれに赤血球製剤中に残存する IgA を介してアナフィラキシー反応を引き起こす可能性がある。日本赤十字社では、医療機関からのオーダーに応じて各製造所で、複数回洗浄 (3 回洗浄まで) した WRC を供給しており、複数回洗浄した WRC を使用し、副作用を回避した報告がある<sup>8)~10)</sup>。一方、カナダでは、IgA 欠損患者に赤血球輸血する場合、2l 以上の生理食塩液で洗浄した WRC を使用している<sup>11)</sup>。近年、自動血球洗浄装置 ACP215 を用いて洗浄する方法が検討されており、上清中の IgA 濃度を <0.05mg/dl (IgA 欠損ドナーの血清中 IgA 濃度) まで低減することが可能であると報告している<sup>12)~14)</sup>。国内では自動血球洗浄装置を用いて WRC を調製した検討報告はなく、用手法により調製されている。そのため調製者間の手技により血漿成分の除去等にバラつきが生じる可能性がある。今後、自動血球洗浄装置等で調製が可能となれば、より均一に血漿成分が除去された WRC を製造することができるとと思われる。今回、我々は用手法で調製して IgA 濃度が <0.05mg/dl 以下であった本数は、1-WRC で 8 本中 0 本、2-WRC で 8 本中 3 本、3-WRC で 8 本中 8 本であった。しかし、我が国の WRC は欧米と比べて容量、Hct が異なるため、Grabmer, Hansen らが報告している IgA 濃度からバッグ当たりの総量に換算して比較すると我々の 2 回洗浄と同程度であった<sup>13)14)</sup>。また、洗浄血小板について検討した内藤ら

の報告においても、3 回洗浄した洗浄血小板に残存する IgA 量は、0.1mg/bag 以下であり、我々の 2 回洗浄と同程度の結果であった<sup>15)</sup>。さらに、国内において 2 回洗浄した WRC を 16 単位輸血しても副作用は認めなかった報告<sup>9)</sup>もあることから、2 回洗浄すれば副作用の発現リスクを減らせる可能性があると思われる。

一方、我が国においては、IgA 欠損よりも Hp 欠損の発現頻度が高く<sup>16)17)</sup>、赤血球輸血でアナフィラキシー反応を起こした Hp 欠損患者に対して WRC を投与して副作用を回避した症例報告がある<sup>18)</sup>。また、Tanaka らは 1 回洗浄した WRC を輸血した患者がアレルギー反応を起こしたため、その後の輸血には 2 回洗浄したと報告しているが<sup>19)</sup>、輸血された製剤中に残存する Hp 量について明らかにされていない。本検討では複数回洗浄することで Hp 量は著しく低減し、3-WRC の中で最大濃度値は 0.025μg/ml であった。これは、嶋田らが報告している欠損者の血漿中 Hp 濃度 (検出限界以下: 0.03 μg/ml 以下) と同程度まで低減していた<sup>20)</sup>。また、2-WRC と 3-WRC に統計的な有意差がなかった。

現状、国内においては、IgA や Hp 欠損症と認められた患者には、欠損ドナー由来の製剤、もしくは 2~3 回洗浄した WRC を使用し副作用を防止しているが、洗浄回数については十分なエビデンスが得られていない。そのため、今回我々が示した IgA, Hp の残存量の違いが患者の副作用防止効果にどのような影響を及ぼすのか今後の検討が期待される。

赤血球の *in vivo* viability を推定する指標として ATP や溶血率がある。輸血後 24 時間生存率を 75% 以上維持するには ATP を 2.7μmol/gHb 以上に保持している必要がある<sup>21)</sup>。本検討における洗浄後 72 時間の 3-WRC の ATP 濃度は平均 3.8±0.7μmol/gHb (最小 2.8μmol/gHb) であった。そのため有効期間内であれば十分保持していると考えられる。上清 Hb 濃度においては保存期間中 1-WRC と比べて 2-WRC, 3-WRC の方が高値を示した。しかしながら、洗浄後 72 時間における 3-WRC は平均 112.8mg/dl (最大 135.0mg/dl) であり、溶血率は平均 0.25% (最大 0.33%) と欧州基準の上限 0.8%<sup>7)</sup>よりも低値であった。これらのことから洗浄回数を増やすことによる遠心負荷は、わずかながら赤血球機能に影響する可能性が示唆された。一方、赤血球や Hb 回収率には遠心負荷の影響がほとんどなく、また保存期間中の pH, MCV, 2,3-DPG, 赤血球浸透圧抵抗性にも有意な変化がなかったことから、このわずかな品質の違いが輸血効果に大きな影響はないと考えられる。上清 K<sup>+</sup>濃度は、保存期間中 3 群間で最も高値を示したのは 1-WRC であったが、その総 K<sup>+</sup>量の平均は 1.5mEq であった。これは通常の赤血球製剤の保存 21 日<sup>22)</sup>と比較しても著しく低値である。



以上のことから、複数回洗浄することで WRC に残存する血漿タンパク量, IgA 量, Hp 量は著しく低減し, 特異抗体を保有する IgA または Hp 欠損患者に輸血する場合には少なくとも 2 回洗浄することで副作用を回避できると考えられる。一方, WRC の品質においては, 1 回洗浄よりも複数回洗浄の方がわずかに低下した部分が見られたものの有効期間まで良好に維持されていた。

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) 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.
- 2) Tobian AA, Fuller AK, Uglik K, et al: The impact of platelet additive solution apheresis platelets on allergic transfusion reactions and corrected count increment (CME). *Transfusion*, 54: 1523—1529, 2014.
- 3) 内藤 祐, 森 純平, 茶谷 真, 他: 新規赤血球二次製剤 (洗浄赤血球, 解凍赤血球, 合成血) の製剤設計変更および有効期間延長について. *日本輸血細胞治療学会誌*, 59: 384, 2013.
- 4) Takayanagi M, Yashiro T: Development of a new colorimetric determination of hemoglobin in plasma. *Jap. J. Clin. Chem.*, 14: 247—252, 1985.
- 5) Sowemimo-Coker SO: Red blood cell hemolysis during processing. *Transfusion Medicine Reviews*, 16: 46—60, 2002.
- 6) PARPART AK, LORENZ PB, et al: The osmotic resistance (fragility) of human red cells. *J Clin Invest*, 26: 636—640, 1947.
- 7) Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components, Council of Europe 18th, 2015.
- 8) 嶋田英子, 黒澤みち子, 島野佳恵, 他: 赤血球 M・A・P「日赤」を選択的 IgA 欠損者に投与して発生した非溶血性輸血副作用と洗浄操作の効果. *日本輸血学会雑誌*, 46: 317—323, 2000.
- 9) 長瀬政子, 大場淳一: IgA 欠損症患者への輸血例. *日本輸血学会雑誌*, 50: 139, 2004.
- 10) 石井恵美, 松本浩二, 宮崎 卓, 他: 頻回輸血が必要な IgA 欠損患者への血液の供給について. *血液事業*, 33: 194, 2010.
- 11) CAN/CSA-Z902-10 blood and blood components, Canadian Standards Association, Mississauga, 2010.
- 12) Sandler SG: How I manage patients suspected of having had an IgA anaphylactic transfusion reaction. *Transfusion*, 46: 10—13, 2006.
- 13) Grabmer C, Holmberg J, Popovsky M, et al: Up to 21-day banked red blood cells collected by apheresis and stored for 14 days after automated wash at different times of storage. *Vox Sang*, 90: 40—44, 2006.
- 14) Hansen AL, Turner TR, Kurach JD, et al: Quality of red blood cells washed using a second wash sequence on an automated cell processor. *Transfusion*, 55: 2415—2421, 2015.
- 15) 内藤友紀, 秋野光明, 田村 暁, 他: 複数回洗浄した洗浄血小板の性状に関する検討. *日本輸血細胞治療学会誌*, 57: 458—464, 2011.
- 16) Kanoh T, Mizuno N, Yasuda N, et al: Selective IgA deficiency in Japanese blood donors: Frequency and statistical analysis. *Vox Sang*, 50: 81—86, 1986.
- 17) Koda Y, Watanabe Y, Soejima M, et al: Simple PCR detection of haptoglobin gene deletion in anhapto-globinemic patients with antihaptoglobin antibody that causes anaphylactic transfusion reactions. *Blood*, 95: 1138—1143, 2000.
- 18) Nishiki S, Hino M, Kumura T, et al: Effectiveness of washed platelet concentrate and red cell transfusions for a patient with anhapto-globinemia with antihaptoglobin. *Transfus Med*, 12: 71—73, 2002.
- 19) Tanaka Y, Ohishi K, Yonekawa Y, 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.
- 20) Shimada E, Tadokoro K, Watanabe Y, et al: Anaphylactic transfusion reactions in haptoglobin-deficient patients with IgE and IgG haptoglobin antibodies. *Transfusion*, 42: 766—773, 2002.
- 21) de Korte D, Verhoeven AJ: Quality determinants of erythrocyte destined for transfusion. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 50: 187—195, 2004.
- 22) 輸血用血液製剤 試験成績集, 日本赤十字社, 2013.

## QUALITY OF MULTIPLE-TIME WASHED RED BLOOD CELLS

*Yuji Kaneko*<sup>1)</sup>, *Junichi Hirayama*<sup>1)</sup>, *Hidekazu Onodera*<sup>1)</sup>, *Toshiyasu Koike*<sup>1)</sup>, *Akira Iwama*<sup>1)</sup>,  
*Makoto Chatani*<sup>2)</sup>, *Masayuki Shiba*<sup>1)</sup>, *Tadashi Nagai*<sup>1)2)</sup>, *Masahiro Satake*<sup>1)</sup> and *Kenji Tadokoro*<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Japanese Red Cross Blood Service Headquarters Central Blood Institute

<sup>2)</sup>Japanese Red Cross Kanto-Koshinetsu Block Blood Center

<sup>3)</sup>Japanese Red Cross Blood Service Headquarters

### **Abstract:**

Washed red blood cells (WRC) are effective for preventing nonhemolytic transfusion reactions. However, no report has evaluated the quality and residual plasma proteins in multiple-time washed RBC. We evaluated the quality of once, twice, or three-times washed RBC during the 72 hours after washing. Washed RBC were prepared by removing the supernatant of centrifuged RBC and adding saline. Twice or three-times washed RBC were prepared by repeatedly washing. The RBC recovery rate was more than 98% even for three-times washed RBC. Residual plasma protein, IgA, and haptoglobin (Hp) values were decreased by repeatedly washing RBC. pH was maintained at above 6.8 during the storage period. The MCV, 2,3-DPG and RBC osmotic fragility test did not significantly differ between the 3 groups. ATP was significantly decreased only in the three-times washed RBC group in the 72 hours after washing. Supernatant Hb values and hemolysis rates were higher in the multiple-times washed RBC groups than in the once-washed RBC group during the storage period, but the hemolysis rate did not increase above 0.3%. Although supernatant potassium values after washing increased in a time-dependent manner, there was no difference between the 3 groups. Residual plasma protein, IgA, and Hp levels were markedly decreased by multiple washings. The quality of RBC was well-maintained until the end of their shelf life after multiple washings.

### **Keywords:**

washed red blood cells, multiple times, adverse transfusion reactions