

T-PAS+®またはピカネイト輸液を血小板保存液 (PAS) として成分採血装置 Trima Accel で採取した PAS 置換血小板の品質の比較

小野寺秀一¹⁾ 金子 祐次¹⁾ 小池 敏靖¹⁾ 宮島 晴子¹⁾ 森山 理恵¹⁾
 茶谷 真²⁾ 西谷祐三子³⁾ 平山 順一¹⁾ 柴田 玲子²⁾³⁾ 柴 雅之¹⁾
 永井 正¹⁾²⁾ 佐竹 正博¹⁾ 田所 憲治⁴⁾

血漿の一部を血小板保存液 (Platelet Additive Solution : PAS) と置換した PAS 置換血小板 (PAS-PC) は、残存血漿濃度が概ね 20% から 35% で、輸血後のアレルギー性輸血副作用の発生率が低いなど有用性が報告されている。本研究では、成分採血装置 Trima Accel を用いて、10 単位相当の PAS-PC が採取できるか検討した。採血目標を最終容量 200ml、総血小板数 2.5×10^{11} /bag、残存血漿濃度 35% に設定して延べ 10 例の採取を行った結果は、平均(範囲)で、容量が 197ml (194~201)、総血小板数が 2.69×10^{11} /bag (2.49~3.00)、残存血漿濃度が 35.0% (33.0~36.2) と、設定に沿った PAS-PC 採取が可能であった。また、T-PAS+ またはピカネイト輸液を PAS として用いて、同一ドナーから採取した PAS-PC の品質を day7 まで比較したところ、T-PAS+ 添加群では day7 まで製剤の品質を良好に維持できた。一方で、ピカネイト輸液添加群では T-PAS 添加群と比べて製剤の pH が 7.7 以上と高値を示し、day7 においては、グルコースの枯渇がみられ、球状化血小板の割合もより高かった。

キーワード : PAS 置換血小板, PAS, T-PAS+, ピカネイト輸液

緒 言

血小板減少症を伴う疾患などへの輸血療法には、濃厚血小板 (Platelet Concentrate : PC) が用いられる。現在、我が国で使用されている PC 製剤は、血漿に浮遊した血小板をアフエーシス採取し製造されている。

他方で諸外国においては、血漿の一部を血小板保存液 (Platelet Additive Solution : PAS) と置換した PAS 置換血小板 (PAS-PC) が使用されている¹⁾。特に欧州では、プールしたバフィーコートから製造した全血由来 PC の浮遊液として PAS が使用されている。

これらの PAS-PC は、残存血漿濃度が概ね 20%²⁾ から 35%^{3)~5)} となっている。従って、アフエーシス採取した場合において、PAS と置換した分の血漿を同時採取の血漿原料 (付属血漿) として活用できる利点があると考えられる。また、PC と比べて血漿濃度が低減された PAS-PC の輸血では、アレルギー性輸血副作用の発生率が低いことが報告³⁾⁴⁾⁶⁾ されている。さらに、抗 A、抗 B 抗体の抗体価も低減できる。

PC から PAS-PC に変更することで得られるこれらの

利点は、原料血漿の確保及び、輸血副作用の発生率が高率とされる PC 製剤⁷⁾ の品質向上に寄与すると考えられる。

そこで本研究では、既に欧州他で PAS-PC 採取の実績を有する成分採血装置のなかで、検討を実施した 2016 年の時点で唯一、国内使用の認可が得られていたテルモ BCT 社製の成分採血装置 Trima Accel (Trima) を用いて、PC 製剤のうち国内使用頻度が最も高い 10 単位規格の製剤を PAS-PC として採取できるかを検討した。なお、製剤の保存バッグには、Trima の採取キットに付属の PVC バッグを用いた。

また、本研究で使用する PAS の候補として、我々は T-PAS+ と大塚ピカネイト輸液 (ピカネイト) を選択した。T-PAS+ は Trima のメーカーであるテルモ BCT 社の製品で、欧州で広く使用される SSP+ と同組成品である。SSP+ は PAS-PC の PAS として血小板の品質を良好に維持できることが明らかにされている⁸⁾⁹⁾。他方で、BRS-A (ピカネイトと ACD-A 液の混液) は我が国ですでに洗浄血小板の洗浄置換液として使用されて

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) 東京都赤十字血液センター
 4) 日本赤十字社血液事業本部
 [受付日 : 2017 年 8 月 3 日, 受理日 : 2017 年 10 月 3 日]

おり、洗浄血小板の品質を良好に維持できることが明らかにされている¹⁰⁾¹¹⁾が、PAS-PCのPASとしてT-PAS+とピカネイトを比較した報告はない。

そこで前述の検討と同時に、このとき T-PAS+またはピカネイトのそれぞれを添加した PAS-PC について、経時的に品質検査を行い、製剤の品質を比較検討した。

方 法

本研究は、日本赤十字社血液事業本部が設置した倫理審査委員会の了承のもと実施した。

1. PAS-PC と付属血漿の採取

Trima Accel[®] (採取プログラム Ver.6.4, テルモ BCT 社製) の採血目標は、最終容量 200ml, 血小板単位 12.5 単位 (血小板数: 2.5×10^{11} /bag), 残存血漿濃度 35% に設定した。なお今回、目標とした最終容量と血小板単位の値は、現行の 10 単位 PC 製剤 (規格は血小板数が 2.0×10^{11} 個以上かつ 3.0×10^{11} 個未満, 容量が 160 以上かつ 240ml 以下) の規格中央値である。

ACD-A 液の添加比率は全血: ACD-A 液 = 10:1 とした。この採取プログラムは、全血漿浮遊の PC 採取と比べ 3 倍程度に高濃縮した濃厚血小板 (高濃縮 PC) を採取したのち、設定容量まで PAS を添加して完結する。日本赤十字社の採血基準と採血手順に従って、同意の得られた 5 名 (男性 4 名, 女性 1 名) の献血者を対象に十分な採血間隔を設けて、1 名につき 2 度の採血を行い、一方には T-PAS+ (テルモ BCT 社製) を他方には大塚ピカネイト輸液 (大塚製薬工場社製) を添加して、それぞれを T-PC と B-PC とし、これら 2 種の PAS-PC と付属血漿を PVC バッグ (トリマ アクセル用血液回路, テルモ BCT 社製) に採取した (PAS-PC と付属血漿を併せて、採取血液という)。

2. 採取血液の搬送と保存および検体採取

採取血液は採血施設で室温下約 1 時間静置したのち、測定施設に搬送した。PAS-PC は低温恒温チャンバー FMC-100 型内の振とう機マルチシェーカー MMS-100 型 (ともに東京理科器械社製) で温度: 22°C, 振とう速度: 60rpm/min に設定し、振とう保存した。品質検査のための検体採取は、day0 (採血後 3 時間), day1, day3, day7 の時期に PAS-PC バッグに血液分離バッグ KBP-50C-2 (川澄化学工業社製) をテルモ無菌接合装置 TSCD-II (テルモ BCT 社製) で接合して行った。遠心機 LX-131 (トミー精工社製) で遠心 ($3,000\text{rpm} \times 10\text{min}$, 24°C) した付属血漿の上清を、ポリプロピレン素材の 15ml コニカルチューブ (BD Falcon 社製) に分注し、メディカルフリーザー MDF-U539 (設定温度: -30°C, Panasonic 社製) で凍結保管した。

3. 容量と残存血漿濃度の算出

採取血液の容量は、電子天秤 MS4002S (メトラー・

トレド社製) で血液バッグの総重量を計測して風袋重量を引き、比重 (g/ml) をそれぞれ T-PC=1.02, B-PC=1.01, 付属血漿=1.03 として除して求めた。各 PAS-PC の比重は、密度比重計 DA-650 (京都電子工業社製) による測定結果から決定した。

採取血液上清の総蛋白濃度を、試薬 BCA Protein Assay Kit (Thermo Scientific 社製) と分光光度計 UV-2550 (島津製作所社製) により測定し、以下の式から PAS-PC の残存血漿濃度を算出した。

残存血漿濃度 (%) = PAS-PC 上清の総蛋白濃度 ÷ 付属血漿の総蛋白濃度 × 100

4. 各種パラメータの測定

血小板濃度と平均血小板容積 (MPV) は、多項目自動血球分析装置 XS-800i (シスメックス社製) により測定した。pH は pH メーター F-52 に接続したガラス電極 9618S-10D (ともに堀場製作所社製) で測定した。白血球数は日本赤十字社の標準法に従い、FACS Calibur (BD bioscience 社製) によるフローサイトメトリーで測定した。血液ガス分析は、血液ガス分析装置 Rapid Point 405 (シーメンスヘルスケア社製) で行った。低浸透圧ショック回復率 (%HSR), 血小板凝集能及び血小板形態の測定に使用した多血小板血漿 (PRP) は、PAS-PC を同時採取の付属血漿で血小板濃度を 30 万/μl 程度に希釈して調製した。%HSR は分光光度計 UV-2550 を用いた常法¹²⁾により、血小板凝集能は、血小板凝集能測定装置ヘマトレーサー 313M (タイヨウ社製) を用いて、PRP 180μl に CaCl₂ (200mM) を 4μl, ADP (100μM, アグリパック, アークレイ社製) を 10μl, Collagen (50μg/ml, コラーゲンリエージェントホルム, NY-COMED PHARMA GMBH 社製) を 10μl 添加して測定した。血小板形態は、大軒らが報告したストップ&フロー法¹³⁾に従って、PRP の攪拌時 (800rpm) と静止時の吸光度比 (E8/E0) をヘマトレーサー 313M により測定して評価した。

CD62P-selectin 陽性率 (CD62P 陽性率) の測定は、CD61-PerCP 抗体と CD62P-PE 抗体 (ともに BD 社製) で染色した細胞を 1% パラホルムアルデヒド・リン酸緩衝液 (和光純薬工業社製) で固定し、全自動細胞解析装置 Cytomics FC 500 (ベックマン・コールター社製) によるフローサイトメトリーで測定した。

グルコース濃度と乳酸濃度の測定は、遠心機 LX-131 で遠心上清を調製 ($3,000\text{rpm} \times 10\text{min}$, 24°C) し、それぞれ測定キット グルコース CII テストワコー (和光純薬工業社製) とデタミナー LA (協和メディックス社製) を使用して、分光光度計 UV-2550 により測定した。

RANTES 濃度, sCD62P-selectin 濃度 (sCD62P 濃度) と PDMP 濃度は、微量高速冷却遠心機 MX-201 (トミー精工社製) で遠心上清を調製 ($9,400\text{rpm} \times 5\text{min}$, 24°C)

表1 採取血液の容量や血小板数, 残存血漿濃度など (Mean ± SD, [Range])

測定項目	T-PC (n=5)	B-PC (n=5)	P-value*	合算 (n=10)
容量 (ml)	196.7 ± 2.3 [194.0 ~ 200.0]	197.4 ± 2.3 [195.3 ~ 201.2]	0.650	197.0 ± 0.2 [194.0 ~ 201.2]
血小板濃度 (×10 ⁴ /μl)	137.3 ± 8.3 [127.6 ~ 150.1]	134.9 ± 11.2 [126.6 ~ 153.8]	0.368	136.1 ± 9.4 [126.6 ~ 153.8]
血小板数 (×10 ¹¹ /bag)	2.70 ± 0.15 [2.50 ~ 2.91]	2.68 ± 0.22 [2.49 ~ 3.00]	0.748	2.69 ± 0.18 [2.49 ~ 3.00]
残存血漿濃度 (%)	34.6 ± 1.0 [33.0 ~ 35.5]	35.4 ± 0.7 [34.5 ~ 36.2]	0.079	35.0 ± 0.9 [33.0 ~ 36.2]
付属血漿容量 (ml)	412.7 ± 18.2 [383.0 ~ 429.5]	410.6 ± 18.7 [379.3 ~ 428.5]	0.532	411.7 ± 17.4 [379.3 ~ 429.5]

* : T-PC vs. B-PC の結果群間の P 値 (by paired t-test)

し,それぞれ ELISA 測定用キット Quantikine[®] ELISA Human CCL5/RANTES, Quantikine[®] ELISA Human P-Selectin/CD62P(ともに R&D System 社製)と PDMP ELISA キット(蛋白精製工業社製)を使用して, xMark マイクロプレートリーダー BIO-RAD168-1150J1(バイオ・ラッド・ラボラトリーズ社製)で測定した. スワリングと凝集塊の有無は, 血液バッグを白色蛍光灯にかざし肉眼観察して判定した.

5. 統計処理

統計処理には, 統計処理ソフト ystat2002.xls(医学図書出版社製)を用いた. 試験結果について, T-PC と B-PC の群間を paired t-test で解析し, PAS の違いが品質に影響を与えたかを評価した. また, 群内の値について, day0, 1, 3, 7 の間を Repeated measures ANOVA によりパラメトリック検定を実施し, その後, Bonferroni correction で多重検定を行った. Day1 から day7 の値を day0 の値と比較し, 採取から保存中における品質の変化を評価した. P 値が 0.05 未満の場合を有意差ありとした.

結 果

1. 採取血液の容量など

採取血液の容量や血小板数, 残存血漿濃度などを表1に示した. 採取事例全例の結果 (n=10) は, 平均 ± 標準偏差で容量が 197.0 ± 0.2ml, 血小板濃度が 136.1 ± 9.4 × 10⁴/μl, 血小板数が 2.69 ± 0.18 × 10¹¹/bag, 残存血漿濃度が 35.0 ± 0.9%, 付属血漿容量が 411.7 ± 17.4ml で,それぞれ T-PC と B-PC の群間に差を認めなかった. 製剤中の白血球数は, 全例で 1 × 10⁶/bag より低かった.

2. PAS-PC の品質試験

T-PC と B-PC について, 各種パラメータの検査結果を表2と表3に示した.

2-1. 血小板濃度, MPV, 血液ガス分析, グルコース濃度, 乳酸濃度 (表2)

血小板濃度は, 保存期間中, T-PC と B-PC の両群(以下単に両群という)ともに同等で, 保存による変化

もみられなかった.

MPV (fl) は, day0 においては T-PC で 8.8 と B-PC の 8.4 より大きかったが, day1 までの保存により T-PC では 8.5 に低下, B-PC では 8.7 に上昇し, day1 における MPV が T-PC でより小さくなった. Day3 以降の MPV は両群ともに同等であった.

pH は, 保存により両群ともに上昇した. B-PC の pH は T-PC と比べ総じて高く, day1 以降で 7.7 程度を示した. 一方, T-PC の pH は day7 まで 7.3 以下を維持した.

pCO₂分圧は, 保存により両群ともに低下した. Day0 から day3 における pCO₂分圧は B-PC でより高値を示したが, day7 においては両群ともに同程度の値となった.

pO₂分圧は, 保存により両群ともに上昇した. day1 以降の pO₂分圧は B-PC でより高値を示した.

グルコース濃度は, 保存により両群ともに低下した. グルコース濃度は day0 で両群ともに同等であったが, day1 以降においては B-PC でより低値となった. day7 における B-PC のグルコース濃度は 0.3mmol/l と殆ど枯渇していた.

乳酸濃度は, 保存により両群ともに上昇した. day0 で両群ともに同等であった乳酸濃度は, day1 と day3 において B-PC でより高値を示したが, day7 における乳酸濃度は, 再び両群ともに同等の値となった.

2-2. %HSR, 血小板凝集能と形態, CD62P 陽性率など (表3)

%HSR は, 両群ともに day3 まで保存による低下がみられなかったが, day7 においては, T-PC で 67.3%, B-PC で 66.2% まで低下した. 保存期間中, %HSR に群間の差を認めなかった.

血小板凝集能は, 両群ともに同等で day7 においても 70% 以上を示した. 血小板形態 (E8/E0) は, T-PC では day0 の 0.904 から day1 で 0.881 と, 形態の回復傾向がみられた. 一方, B-PC では day0 の 0.897 から day1 の 0.898 と形態の回復傾向はみられず, day7 における E8/E0 が B-PC でより高値となった. なお E8/E0 の値

表2 T-PC と B-PC の品質① (Mean ± SD, n = 5)

検査項目	種別	day0	day1	day3	day7
血小板濃度 ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	T-PC	137.3 ± 8.3	136.2 ± 7.3	137.0 ± 7.5	133.3 ± 9.5
	B-PC	134.9 ± 11.2	134.8 ± 11.6	136.6 ± 12.1	130.6 ± 10.0
	p	0.368	0.664	0.907	0.068
MPV (fl)	T-PC	8.8 ± 0.3	8.5 ± 0.3*	8.4 ± 0.3*	8.5 ± 0.2*
	B-PC	8.4 ± 0.3	8.7 ± 0.2*	8.4 ± 0.4	8.8 ± 0.3*
	p	0.003	0.031	1.000	0.075
pH (at 22°C)	T-PC	7.17 ± 0.02	7.27 ± 0.03*	7.34 ± 0.06*	7.25 ± 0.13
	B-PC	7.39 ± 0.05	7.70 ± 0.06*	7.70 ± 0.08*	7.73 ± 0.10*
	p	<0.001	<0.001	<0.001	0.006
pCO ₂ (mmHg, at 22°C)	T-PC	13.7 ± 1.2	9.7 ± 0.7*	7.3 ± 1.0*	6.6 ± 1.4*
	B-PC	27.3 ± 2.3	13.4 ± 0.6*	11.5 ± 1.0*	8.4 ± 2.6*
	p	<0.001	0.002	0.005	0.338
pO ₂ (mmHg, at 22°C)	T-PC	41.2 ± 6.2	48.5 ± 6.3*	57.5 ± 2.8*	69.3 ± 4.1*
	B-PC	48.6 ± 4.3	56.8 ± 3.8*	64.4 ± 5.7*	73.7 ± 1.9*
	p	0.058	0.031	0.042	0.046
グルコース濃度 (mmol/l)	T-PC	7.0 ± 0.3	6.6 ± 0.4*	5.4 ± 0.5*	2.4 ± 1.1*
	B-PC	7.0 ± 0.2	5.9 ± 0.2*	3.5 ± 0.6*	0.3 ± 0.2*
	p	0.918	0.016	<0.001	<0.001
乳酸濃度 (mmol/l)	T-PC	1.3 ± 0.2	2.5 ± 0.3*	5.1 ± 1.0*	11.4 ± 2.3*
	B-PC	1.6 ± 0.2	3.5 ± 0.6*	8.0 ± 1.0*	13.8 ± 0.5*
	p	0.128	0.004	<0.001	0.062

p : T-PC vs. B-PC の結果群間の P 値 (by paired t-test)

* : day0 の値に対して有意差あり (by Bonferroni correction, P<0.05)

は、血小板がすべて球状化した場合に理論上 1.0 となり、円盤状の血小板の割合が高いほど低値を示す。

CD62P 陽性率は、保存により両群ともに上昇した。CD62P 陽性率は、Day1 まで両群ともに同等であったが、day3 以降、T-PC でより高値を示した。その逆に、sCD62P 濃度は、day0 から day7 まで B-PC が T-PC よりも総じて高値を示した。RANTES 濃度と PDMP 濃度については、保存期間中、群間に差を認めなかった。

目視可能な凝集塊は、day0 において採取事例 10 例全てで観察された(図 1)。この凝集塊は day7 においても T-PC と B-PC で各 3 例ずつ、計 6 例で観察された。スワリングは全検体で良好であった。

考 察

本研究では、Trima を用いて 10 例の PAS-PC 採取を行った。

今回設定した採血目標(容量 : 200ml, 血小板数 : $2.5 \times 10^{11}/\text{bag}$, 残存血漿濃度 : 35%)に対して、結果は、平均(範囲)で、容量が 197ml (194~201) とやや少量であったが、血小板数は $2.69 \times 10^{11}/\text{bag}$ (2.49~3.00) で十分な血小板採取が全例で出来ており、残存血漿濃度も 35.0% (33.0~36.2) と、設定に沿った PAS-PC 採取が可能であった。

また、残存白血球数が全例で $1 \times 10^6/\text{bag}$ 以下であったことから、Trima を用いて白血球除去製剤の基準に

適合した PAS-PC を採取することは可能と思われた。

なお、採取容量が設定値よりもやや少量であったのは、採血手順に従って採取直後に PAS-PC バッグ内のエア抜き処理した際、容量損失が生じたためと考えられる。

付属血漿の容量は 411.7ml と現行 PC 採取の約 280ml と比べて多かったが、この結果は PAS-PC 採取で製剤容量の 65% 分 (130ml) の血漿が PAS と置換されたことと矛盾しなかった。

仮に、アフエレーシス PC が PAS-PC に置き換わったとすると、転用が可能な血漿量は、約 9.8 万リットルと推察されている¹⁴⁾が、これは成分血漿採血 (480ml) に換算すると、ドナー延べ約 20.4 万人分の血漿量である。このことは PAS-PC 採取の導入が、「血液製剤並びに原料血漿の確保の国内自給」の維持に寄与する可能性を示唆した。

つづいて、PAS の種別が品質に与えた影響であるが、5 名の同一ドナー集団から採取した T-PC と B-PC の容量、血小板数、残存血漿濃度は同等であったことから(表 1)、採取した高濃縮 PC に T-PAS+またはピカネイトのいずれを添加しても、性状に与えた影響に違いはなかったと思われた。

さらに、これらを経時的に品質検査したところ(表 2, 表 3)、ともに day7 まで保存による血小板濃度の低下がみられず、%HSR と血小板凝集能も同等に維持さ

表3 T-PC と B-PC の品質② (Mean ± SD, n = 5)

検査項目	種別	day0	day1	day3	day7
%HSR (%)	T-PC	77.3 ± 7.6	79.5 ± 4.8	76.9 ± 8.1	67.3 ± 7.1*
	B-PC	79.3 ± 8.1	83.5 ± 7.3	79.0 ± 6.4	66.2 ± 9.2*
	p*	0.089	0.096	0.182	0.470
血小板凝集能 (%)	T-PC	85.7 ± 2.8	84.6 ± 3.5	86.6 ± 5.1	79.0 ± 7.8
	B-PC	84.2 ± 3.3	85.2 ± 3.8	85.7 ± 2.3	74.2 ± 7.6
	p	0.298	0.685	0.713	0.075
血小板形態 (E8/E0)	T-PC	0.904 ± 0.008	0.881 ± 0.010*	0.891 ± 0.003*	0.905 ± 0.013
	B-PC	0.897 ± 0.012	0.898 ± 0.016	0.897 ± 0.022	0.930 ± 0.024
	p	0.128	0.203	0.534	0.047
CD62P-陽性率 (%)	T-PC	26.1 ± 8.6	22.2 ± 7.0	34.3 ± 7.1*	60.2 ± 7.0*
	B-PC	25.8 ± 8.5	20.6 ± 8.9	29.2 ± 7.9	55.0 ± 7.0*
	p	0.686	0.411	0.002	0.034
sCD62P 濃度 (ng/ml)	T-PC	9.6 ± 2.8	11.9 ± 3.4*	18.4 ± 5.4*	29.3 ± 7.9*
	B-PC	12.9 ± 1.1	15.7 ± 2.1*	23 ± 3.3*	38.5 ± 3.7*
	p	0.036	0.004	0.064	0.021
RANTES 濃度 (ng/ml)	T-PC	25.2 ± 12.7	47.4 ± 26.6*	97.9 ± 58.1*	192.4 ± 82.5*
	B-PC	28.8 ± 9.9	49.1 ± 21.9*	93.7 ± 44.6*	174.7 ± 80.2*
	p	0.076	0.764	0.595	0.098
PDMP 濃度 (ng/ml)	T-PC	68.4 ± 21.7	72.3 ± 13.1	88.6 ± 16.2	106.6 ± 13.9
	B-PC	67.6 ± 5.4	87.5 ± 8.7*	102.3 ± 17.9*	139.4 ± 24.3*
	p	0.934	0.168	0.309	0.103
凝集塊あり (bag 数)	T-PC	5	3	3	3
	B-PC	5	4	2	3
スワリング† (-, +, ++)	T-PC	++	++	++	++
	B-PC	++	++	++	++

p: T-PC vs. B-PC の結果群間の P 値 (by paired t-test)

*: day0 の値に対して有意差あり (by Bonferroni correction, P < 0.05)

†: スワリングの強度を肉眼観察した結果を示した. (-: スワリング無し, +: 弱い, ++: 強い)

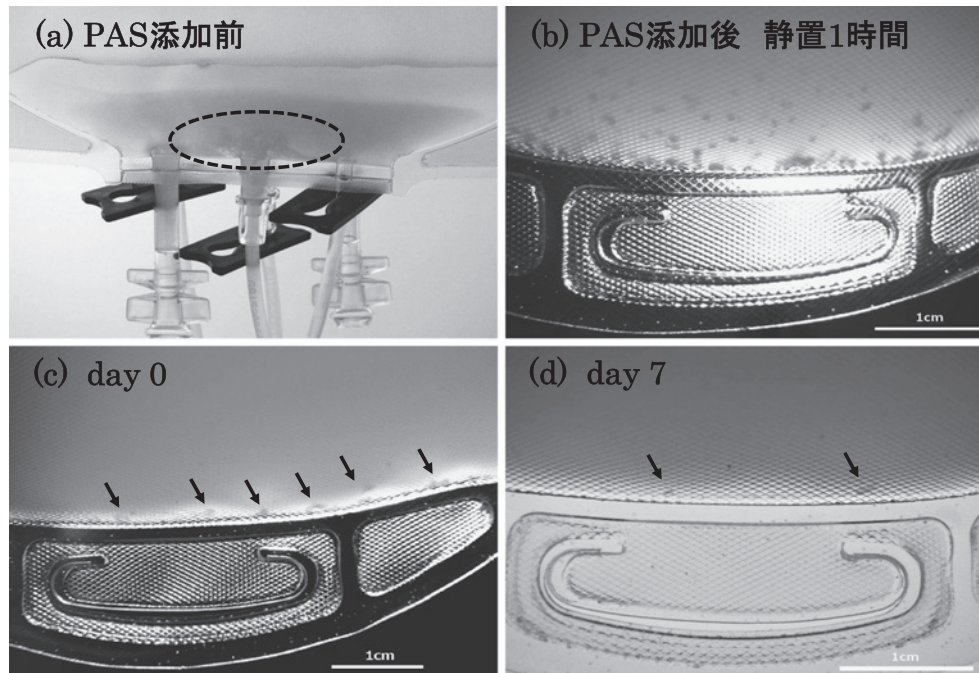


図1 PAS-PC でみられた目視可能な凝集塊: 凝集塊は1~5mmの大きさで, PAS添加前(高濃縮PCの採取過程)からみられた(a). これらの凝集塊は保存によって分散し, 縮小減少傾向を示したが, day7においても残存した(d).

表4 T-PAS+, ビカネイト輸液, ACD-A 液の組成 (mM)

成分	T-PAS+	ビカネイト輸液	ACD-A 液
NaCl	69	95.2	-
KCl	5	3.8	-
MgCl ₂	1.5	0.9	-
Na ₂ Citrate	10	0.7	74.8
Citric acid	-	-	41.7
NaPhosphate	26	-	-
NaAcetate	30	-	-
Glucose	-	-	122
NaHCO ₃	-	26.6	-
CaCl ₂	-	1.4	-

れていた。血小板の活性化に伴って放出される RANTES や PDMP の濃度も両者で同様であった。また、血小板の活性化マーカーとされる CD62P¹⁵⁾について、血小板表面の CD62P 陽性率は B-PC の一部で低かったものの、逆に上清の sCD62P 濃度は T-PC で低かったことから、保存に伴う血小板活性化の度合いは T-PC と B-PC で同程度であったと考えられた。これらのことから、T-PAS+ とビカネイトのいずれを PAS に用いても、10 単位 PAS-PC の血小板濃度や%HSR、血小板凝集能の維持、血小板の活性化に関して、品質の違いは生じないことが示唆された。

一方で、B-PC は T-PC と比べ pH が高く、day1 以降の pH が 7.7 以上を示したが、これは T-PAS+ とビカネイトの組成の違い(表 4) が影響したと考えられた。T-PAS+ は Na-phosphate を含むことから、pH が 7.2 付近で緩衝されたが、ビカネイトは NaHCO₃ を含むため、製剤の CO₂ 分圧低下に伴って pH が高値を示したと考えられた。

T-PC と B-PC で、保存中の乳酸産生とグルコース消費が異なったことにも、PAS の組成の違いが影響したと考えられる。保存に伴うグルコース消費速度は、T-PC で B-PC より穏やかであったが、これは、T-PAS+ に含まれる Na-acetate が補酵素 A と結合シアセチル CoA となり、解糖系が抑制されたためと考えられた。乳酸の産生速度が day3 まで T-PC でより遅かったことも同様の理由に因ったと思われた。day7 において T-PC と B-PC の乳酸濃度が再び同等となったのは、day3 から day7 までの保存中に B-PC でグルコースが枯渇し、この期間における乳酸産生速度が低下したためと考えられた。

MPV と血小板形態について、T-PC では day0 から day1 にかけて MPV と E8/E0 が低下したが、これは採取時に受けたシェアストレス¹⁶⁾¹⁷⁾ で非円盤状に変形した血小板の形態が、一昼夜の保存によって回復したことを示唆した。一方、B-PC ではこの傾向がみられず、day7 における血小板形態は T-PC と比べて増悪したが、これ

には、製剤の pH が 7.7 以上と高いことで、血小板の microtubules の安定性が低下¹⁸⁾ したことの関与が疑われた。

血小板形態は血小板の輸血後生存率と相関する¹⁹⁾ ことが知られている。また、感染性因子低減化技術を施した血小板では、保存中のグルコース消費が増大する²⁰⁾²¹⁾ ことが報告されている。

本研究では、ビカネイト輸液を添加した B-PC で day7 におけるグルコースの枯渇がみられたが、もしも将来、PAS-PC 製剤に感染性因子低減化を行う際には、この枯渇がより早期に起こることが予見される。

これらのことから、本検討に用いた 2 種の PAS のうち、より有用性が高いのは、T-PAS+ であると考えられた。

全例で 1~5mm 程度の目視可能な凝集塊の発生がみられたが、この凝集塊は PAS の添加前に既にみられたことから(図 1)、高濃縮 PC の採取過程で発生したと思われた。

凝集塊は保存によって分散し、縮小減少傾向にあった(表 3, 図 1) が、その際、血小板濃度に変化がみられなかったことから、凝集塊の形成に関与した血小板は、採取したうちのごく僅かであったと考えられた。

PAS-PC で凝集塊の発生がみられることは諸外国でも報告¹⁾²²⁾ されているが、これが輸血効果に負の影響を与えるかは未だ不明²²⁾ である。

我が国において、輸血前の外観検査による凝集塊の確認は、細菌汚染による敗血症防止対策の一つとされていることから、PAS-PC 採取で生じる凝集塊については、採取後に除去することが望ましい。低減あるいは除去の方法について、今後検討が必要と思われた。

結 論

Trima Accel を用いて 10 単位相当の PAS-PC を採取できた。この際、T-PAS+ またはビカネイトを PAS としたところ、T-PAS+ 添加群では day7 まで製剤の品質を良好に維持できた。一方で、ビカネイト添加群では T-PAS 添加群と比べて製剤の pH が 7.7 以上と高値を示し、day7 においては、グルコースの枯渇がみられ、球状化血小板の割合もより高かった。

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) van der Meer P. F, Dumont L. J, Lozano M, et al: Aggregates in platelet concentrates. Vox Sanguinis, 108: 96-125, 2015.
- 2) Slichter SJ, Corson J, Jones MK, et al: Exploratory studies of extended storage of apheresis platelets in a platelet additive solution (PAS). Blood, 123: 271-280, 2014.

- 3) 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.
- 4) Cohn CS, Stubbs J, Schwartz J, et al: A comparison of adverse reaction rates for PAS C versus plasma platelet units. *Transfusion*, 54: 1927—1934, 2014.
- 5) Kerkhoffs JL, van Putten WL, Novotny VM, et al: Clinical effectiveness of leucoreduced, pooled donor platelet concentrates, stored in plasma or additive solution with and without pathogen reduction. *Br J Haematol*, 150: 209—217, 2010.
- 6) de Wildt-Eggen J, Nauta S, Schrijver JG, et al: Reactions and platelet increments after transfusion of platelet concentrates in plasma or an additive solution: a prospective, randomized study. *Transfusion*, 40: 398—403, 2000.
- 7) 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 (3): 560—562, 2001.
- 8) Nogawa M, Naito Y, Chatani M, et al: Parallel comparison of apheresis-collected platelet concentrates stored in four different additive solutions. *Vox Sanguinis*, 105: 305—312, 2013.
- 9) 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 Sanguinis*, 85: 199—205, 2003.
- 10) Oikawa S, Sasaki D, Kikuchi M, et al: Comparative in vitro evaluation of apheresis platelets stored with less 100% plasma versus bicarbonated Ringer's solution with less than 5% plasma. *Transfusion*, 53: 655—660, 2013.
- 11) 平山順一, 岩間 輝, 茶谷 真, 他: 自動血球洗浄装置 (ACP215) で調製した洗浄血小板の品質. *日本輸血細胞治療学会誌*, 62 (6): 705—710, 2016.
- 12) 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. *Transfusion*, 38: 31—40, 1998.
- 13) 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 濃厚血小板の保存における品質管理への応用. *日本輸血学会雑誌*, 43(3): 350—355, 1997.
- 14) 厚生労働省ホームページ: 薬事・食品衛生審議会(血液事業部会) 平成 29 年度第 1 回血液事業部会資料「献血の受入れに関する計画について」. <http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-11121000-Iyakushokuhinkyoku-Soumuka/0000167874.pdf> (2017 年 6 月 30 日現在).
- 15) Stenberg PE, McEver RP, Shuman M, 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.
- 16) Ikeda Y, Handa M, Kawano K, et al: The role of von Willebrand factor and fibrinogen in platelet aggregation under varying shear stress. *J Clin Invest*, 87: 1234—1240, 1991.
- 17) Bergmeier W, Chauhan AK, Wagner DD: Glycoprotein Ibalpha and von Willebrand factor in primary platelet adhesion and thrombus formation: lessons from mutant mice. *Thromb Haemost*, 99: 264—270, 2008.
- 18) Galella G, Smith DB: Stability of microtubule protein over the pH range: 6.9—9.5. *Can J Biochem*, 57 (12): 1368—1375, 1979.
- 19) Murphy S, Rebutta P, Bertolini F, et al: In vitro assessment of the quality of stored platelet concentrates. The BEST (Biomedical Excellence for Safer Transfusion) Task Force of the International Society of Blood Transfusion. *Transfus Med Rev.*, 8 (1): 29—36, 1994.
- 20) Johnson L, Loh YS, Kwok M, et al: In vitro assessment of buffy-coat derived platelet components suspended in SSP+ treated with the INTERCEPT Blood system. *Transfus Med.*, 23 (2): 121—129, 2013.
- 21) Philip C, Stephen T, Susanne M, et al: In vitro quality of single-donor platelets treated with riboflavin and ultraviolet light and stored in platelet storage medium for up to 8 days. *Transfusion*, 52: 983—994, 2012.
- 22) Ringwald J., Antoon M., Eckstein R., et al: Residual aggregates in platelet products: what do we know? *Vox Sanguinis*, 106: 209—218, 2014.

COMPARISON OF THE IN VITRO QUALITIES OF PLATELET CONCENTRATES SUSPENDED IN T-PAS+ AND BICANATE COLLECTED WITH TRIMA ACCEL

Hidekazu Onodera¹⁾, Yuji Kaneko¹⁾, Toshiyasu Koike¹⁾, Haruko Miyajima¹⁾, Rie Moriyama¹⁾, Makoto Chatani²⁾, Yumiko Nishitani³⁾, Jyunichi Hirayama¹⁾, Reiko Shibata²⁾³⁾, Masayuki Shiba¹⁾, Tadashi Nagai¹⁾²⁾, Masahiro Satake¹⁾ and Kenji Tadokoro⁴⁾

¹⁾Japanese Red Cross Blood Service Headquarters Central Blood Institute

²⁾Japanese Red Cross Kanto-Koshinetsu Block Blood Center

³⁾Tokyo Metropolitan Red Cross Blood Center

⁴⁾Japanese Red Cross Blood Service Headquarters

Abstract:

Platelet concentrate suspended in Platelet Additive Solution (PAS) is a collection in which part of the plasma is replaced with PAS, and the residual plasma concentration is approximately 20% to 35% of the total volume. Platelet concentrate suspended in PAS (PAS-PC) is reportedly useful for decreasing the incidence of allergic side effects caused by transfusion. In this study, we investigated whether it is feasible to prepare PAS-PC using the blood component collection device Trima Accel. We collected ten platelet components, targeting a 200 ml final volume, 2.5×10^{11} total number of platelets per bag, and 35% residual plasma concentration. We obtained an average (range), volume of 197 ml (194-201 ml), a total platelet count of 2.69×10^{11} /bag (2.49-3.00 $\times 10^{11}$ /bag), and a residual plasma concentration of 35.0% (33.0-36.2%). Collection of PAS-PC according to the set goals was thus achievable. We examined the quality of PAS-PC collected from the same donor with the addition of either T-PAS+ or Bicanate. The quality of the preparation was well maintained up until day 7 with T-PAS+. In contrast, the pH was more than 7.7 with Bicanate, which was higher than with T-PAS+, and glucose depletion was observed on day 7, and the number of platelets with spherical morphology was also higher.

Keywords:

PAS-PC, PAS, T-PAS+, Bicanate

©2017 The Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy

Journal Web Site: <http://yuketsu.jstmct.or.jp/>