

## 品質向上を目的とした、クリオプレシピテート製剤の調製条件の検討

宮崎 研一<sup>1)</sup> 村山 和子<sup>2)</sup> 富田 守<sup>3)</sup> 成高 和稔<sup>4)</sup> 田中 里波<sup>1)</sup>  
 田中由美子<sup>1)</sup> 松本 文乃<sup>1)</sup> 内藤 章<sup>1)</sup> 三原 利仁<sup>5)</sup>

日本輸血・細胞治療学会よりクリオプレシピテート院内調製ガイドラインが発表され標準化が期待されるが、調製方法の違いによるフィブリノゲン回収率について詳細な記録は過去の文献にもあまり見られない。

本研究の目的は、品質向上の為のクリオプレシピテート製剤の調製方法の最適条件を求めることである。

方法は、解凍回数（1回、2回）、解凍時間（18時間、24時間）、遠心条件（低回転、高回転）、2回法の場合の再解凍時の状態（完全凍結、未完全凍結）について比較検討を行った。また調製直後の凍結温度（-30℃、-80℃）の違いによるフィブリノゲン回収率の比較検討を行った。

結果は、解凍回数では2回の方が約16%高く、解凍時間は18時間の方が約6%高かった。遠心条件の違いに有意差は認めなかった。再解凍時に不完全凍結状態では約20%低下した。調製後の凍結を-30℃で行うと、フィブリノゲン濃度は調製時よりも36%低下した。

クリオプレシピテート製剤の回収率向上の為には、解凍回数2回、約18時間での解凍、再解凍時には完全凍結状態であり、調製直後は出来る限り低温にて急速凍結を行うことであった。

キーワード：クリオプレシピテート、プロトコール、2回法、フィブリノゲン回収率

## はじめに

クリオプレシピテート製剤は、第VIII因子、第XIII因子、VWFを豊富に含むフィブリノゲン濃縮製剤である。大量出血や、産科DICなどの後天性低フィブリノゲン血症において、クリオプレシピテート製剤やフィブリノゲン濃縮製剤を使用することにより、低フィブリノゲン状態を速やかに回復させ、輸血量の低減が期待できる<sup>1)6)7)</sup>。しかし、後天性低フィブリノゲン血症患者に対するフィブリノゲン濃縮製剤の使用は、現在保険適応になっておらず、多くの医療機関では新鮮凍結血漿（以下FFP-LR）や自施設で調製したクリオプレシピテート製剤の使用に頼るほかない。また、クリオプレシピテート製剤の調製方法は、各施設によって様々であったため、2016年11月に日本輸血細胞治療学会よりクリオプレシピテート作製プロトコールのガイドライン<sup>2)</sup>が発表されたところであり、今後標準化が進むものと思われる。

クリオプレシピテート製剤の調製方法についての文

献はいくつか<sup>3)4)</sup>あるが、調製方法の違いによるフィブリノゲン回収率についての詳細な記録は過去の文献にもあまり見られない。本研究の目的は、品質向上の為のクリオプレシピテート製剤の調製条件を求めることである。

## 倫 理

クリオプレシピテート製剤の院内調製は、院内血液製剤使用適正委員会で承認後、院内倫理委員会にて審議、承認を受けた。その後、2012年4月より運用が開始されている。

## 対 象

2014年2月から2016年9月までに、AB型FFP-LRから調製されたクリオプレシピテート製剤190本

## 【使用機器】

遠心装置：KUBOTA 9900（クボタ）

無菌接合装置：TSCD202（テルモ）

- 1) 焼津市立総合病院中央検査科
- 2) 焼津市立総合病院医事課
- 3) 焼津市立総合病院脳神経外科
- 4) 焼津市立総合病院産婦人科
- 5) 焼津市立総合病院診療技術部

〔受付日：2017年12月14日、受理日：2018年4月2日〕

分離バッグ：テルモ分離バッグ（無菌接合装置接合用）

分離器具：分離スタンド KL-130L（川澄化学工業）

血液製剤保管用冷蔵庫：MBR-506T (SANYO), 庫内温度：5℃ ± 1℃

−30℃ 冷凍庫：MDF-U536D (SANYO), 庫内温度：−30℃ ± 1℃

−80℃ 冷凍庫：MDF-U383 (SANYO), 庫内温度：−80℃ ± 3℃

フィブリノゲン測定装置：コアグレックス 800 (シスメックス), 測定法：トロンビン法, 試薬：トロンボチェック Fib

各凝固因子測定：外注 (BML), 測定装置：CS5100 (シスメックス)

第 II, 第 V, 第 VII, 第 X 因子：測定法：ヒト欠乏血漿による補正法, 試薬：トロンボレル S (PT)

第 VIII, 第 IX 因子：測定法：ヒト欠乏血漿による補正法, 試薬：パトロチン SL (APTT)

第 XIII 因子：測定法：合成基質法, 試薬：ベリクロム F XIII

VWF：測定法：固定血小板凝集法, 試薬：BC フォンビレブランド試薬

## 調製方法 (資料 1)

### 1. 解凍

血液製剤保管用冷蔵庫を使用し, FFP-LR を包装箱から出し, 冷蔵庫最下段に平らにした状態で重ならないように置き, 解凍. 遠心前 1 時間, 再凍結前 (※2 回法の場合) 1 時間には, 平らにして置いた FFP-LR を製剤保管用のラック, または遠心用カップに立てて, クリオプレシピテートを沈降させる.

### 2. 再凍結 (※2 回法の場合)

解凍後の FFP-LR は, 再び包装箱に入れ, 製剤を立てた状態のまま −80℃ の冷凍庫で急速凍結を行う.

### 3. 遠心

使用する冷却遠心機は, 予め 6℃ 以下に冷却した状態で遠心を行う. 遠心条件については, 以下の 2 つの条件で行った.

低速法：1,200G, 20 分, 5℃

高速法：4,670G, 20 分, 5℃

### 4. 分離バッグとの無菌接合とクリオプレシピテートの分離

遠心後の FFP-LR と分離バッグを無菌接合装置で接合し, 製剤が触れる部分を凍結した保冷剤で十分に冷却した分離器具を使用して上清を分離する. クリオプレシピテート製剤として全量 60~70ml (製剤バッグ込み 100~110g) となるように調製する. その後, チューブシーラーを使用して FFP-LR のバッグと分離バッグ

を切り離す. 固形化しているクリオプレシピテートを慎重にはぐし, 製剤を均一化させる.

### 5. 調製後のサンプル用チューブの作成

調製されたクリオプレシピテート製剤, クリオ上清を結合していたチューブを利用し, ローラーペンチでバッグ内部と混和し, 混和が不十分になりやすい遠位部ではなく, 製剤の近位部を用いてサンプルチューブを作成する. クリオプレシピテート製剤では 2 本, クリオ上清では 1 本のサンプル用チューブを作成する.

### 6. サンプルチューブの測定

5. で作成したクリオプレシピテート製剤のサンプルチューブ 1 本とクリオ上清のサンプルチューブは, 調製直後にフィブリノゲンを速やかに測定し, 1 本残ったクリオプレシピテート製剤のサンプルチューブは, 製剤と一緒に凍結し, 製剤使用時に一緒に解凍し, フィブリノゲンを速やかに測定する.

## 検討方法

### 1. FFP-LR に付属するセグメントチューブと FFP-LR 内のフィブリノゲン濃度 (mg/dl) の相関について

FFP-LR とセグメントチューブを切り離さずに 37℃ 25 分で解凍し, セグメントチューブ内のフィブリノゲン濃度を速やかに測定, FFP-LR は, 使用直後のバッグから速やかにフィブリノゲン濃度を測定し, 相関関係を検証した.

### 2. 調製方法の違いによるフィブリノゲン回収率について

解凍回数, 解凍時間, 遠心条件, 2 回法の場合の再解凍時の状態のそれぞれの項目について, 以下の 7 つの条件で調製を行い, フィブリノゲン回収率を比較検証した.

a) 1 回法, 約 18 時間解凍, 高速法 (n=39)

※院内調製開始当初 (2012 年) の調製方法

b) 1 回法, 約 24 時間解凍, 高速法 (n=31)

c) 2 回法, 約 18 時間解凍, −80℃ で再凍結, \*シャーベット状態から約 18 時間再解凍, 高速法 (n=6)

d) 2 回法, 約 18 時間解凍, −80℃ で再凍結, \*完全凍結状態から約 18 時間再解凍, 高速法 (n=35)

e) 2 回法, 約 18 時間解凍, −80℃ で再凍結, \*完全凍結状態から約 18 時間再解凍, 低速法 (n=18)

f) 2 回法, 約 24 時間解凍, −80℃ で再凍結, \*完全凍結状態から約 24 時間再解凍, 高速法 (n=33)

g) 2 回法, 約 24 時間解凍, −80℃ で再凍結, \*完全凍結状態から約 24 時間再解凍, 低速法 (n=28)

\*シャーベット状態の凍結時間は約 6 時間, 完全凍結状態の凍結時間は約 10 時間

### 3. 調製方法の違いによる各凝固因子の比較について

1 回法 (調製方法：a) と 2 回法 (調製方法：d) にお

いて、クリオプレシピテート製剤内の第 II, 第 V, 第 VII, 第 VIII, 第 IX, 第 X, 第 XIII 因子, VWF を測定し, 比較検証を行った。

#### 4. 調製直後の凍結温度の違いによるフィブリノゲン量 (mg) の変化について

2 回法で調製されたクリオプレシピテート製剤のうち,  $-30^{\circ}\text{C}$  で急速凍結した製剤 ( $n=10$ ) と,  $-80^{\circ}\text{C}$  で急速凍結した製剤 ( $n=12$ ) のセグメントチューブよりフィブリノゲン濃度を測定した後, フィブリノゲン量を算出し, 比較検証を行った。

##### 【急速凍結の定義について】

急速凍結とは, 血漿を凍結させる過程において, 各

凝固因子活性が低下するとされる最大氷結晶生成帯 ( $-0.5^{\circ}\text{C} \sim -5.0^{\circ}\text{C}$ ) を短時間で通過させ, 凝固因子活性の低下を抑制できることとした<sup>12)13)</sup>。

##### 【回収率の求め方<sup>2)</sup>】(資料 2)

※フィブリノゲン量を求める際は, FFP-LR の重さ, クリオ上清の重さにバッグ重量を減算した上で算出した

##### 【F 検定, t 検定】

各比較項目について F 検定を行い, すべての項目について分散に有意差が無かった為, t 検定は等分散を仮定した 2 項目による検定を行った。

## 結 果

### 1. FFP-LR に付属するセグメントチューブと FFP-LR 内のフィブリノゲン濃度 (mg/dl) の相関について

結果を Table 1 と Fig. 1 に示す。近似曲線の傾きは 0.958, Pearson 相関係数は 0.969,  $p < 0.05$  であり, 相関を認めた。

### 2. 調製方法の違いによるフィブリノゲン回収率について

結果を Table 2 と Fig. 2 に示す。1 回法において解凍時間が異なる a と b を比較すると, 解凍時間の短い調製方法 a のフィブリノゲン回収率の方が 5.7% 高い結果となった ( $p < 0.05$ )。2 回法においても, 解凍時間が異なり, 遠心条件が高速法の d と f で比較すると, 解凍時間の短い調製方法 d のフィブリノゲン回収率の方が 3.5%

Table 1 FFP-LR に付属するセグメントチューブと FFP-LR 内のフィブリノゲン濃度の測定結果

	セグメントチューブ内の フィブリノゲン濃度 (mg/dl)	FFP-LR 内の フィブリノゲン濃度 (mg/dl)
1	208	210
2	216	223
3	219	219
4	237	227
5	210	211
6	268	273
7	284	281
8	247	260
9	259	259
10	259	252

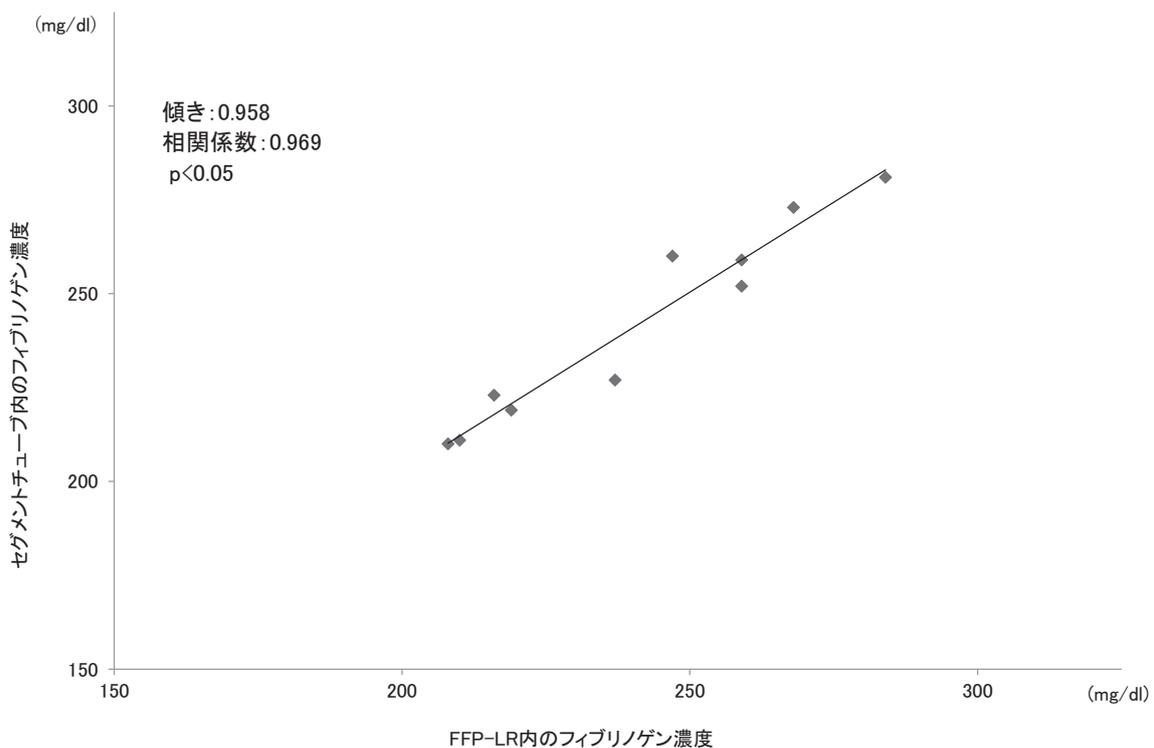


Fig. 1 FFP-LR に付属するセグメントチューブと FFP-LR 内のフィブリノゲン濃度の相関について

Table 2 調製方法の違いによるフィブリノゲン回収率の結果, および測定結果

	a	b	c	d	e	f	g
n 数	39	31	6	35	18	33	28
回収率 (%)	50.4	44.7	44.2	64.4	66.4	60.9	61.5
FFPの重さ (g) ※	529.9 ± 686	530.4 ± 755	524.0 ± 37.9	530.6 ± 653	528.3 ± 673	528.1 ± 488	528.1 ± 547
FFP内のフィブリノゲン濃度 (mg/dl)	251.7 ± 43.2	225.5 ± 43.7	235.0 ± 45.9	251.5 ± 45.6	239.4 ± 57.2	217.7 ± 35.9	237.3 ± 39.8
FFP内のフィブリノゲン予測量 (mg)	1,202.6 ± 603.0	1,214.6	1,109.3 ± 269.1	1,204.0 ± 591.4	1,141.2 ± 455.2	1,036.5 ± 499.4	1,129.3 ± 518.8
クリオの重さ (g) ※	105.1 ± 259	104.1 ± 305	105.3 ± 242	105.3 ± 227	104.6 ± 281	104.0 ± 212	103.9 ± 218
クリオ内のフィブリノゲン濃度 (mg/dl)	1,151.0 ± 300.8	1,015.1 ± 273.2	925.7 ± 199.4	1,439.1 ± 303.7	1,346.7 ± 267.6	1,322.8 ± 280.9	1,462.1 ± 249.3
クリオ内のフィブリノゲン量 (mg)	728.6 ± 374.5	634.1 ± 309.6	589.8 ± 143.6	914.9 ± 451.6	851.0 ± 337.6	824.5 ± 401.4	911.3 ± 419.4
クリオ上清のフィブリノゲン濃度 (mg/dl)	142.6 ± 20.9	142.0 ± 23.3	151.7 ± 32.5	102.7 ± 16.8	91.3 ± 19.1	97.6 ± 17.6	104.3 ± 15.1
クリオ上清内のフィブリノゲン量 (mg)	590.6 ± 294.3	590.4 ± 279.5	619.1 ± 150.6	426.1 ± 208.4	377.6 ± 149.4	403.7 ± 195.1	431.4 ± 197.3

※製剤バッグの重さを含む

高かった ( $p < 0.05$ ). 同様に遠心条件が低速法の e と g を比較しても, 解凍時間の短い調製方法 e のフィブリノゲン回収率の方が 4.9% 高い結果となった ( $p < 0.05$ ).

次に, 解凍回数が異なり, 解凍時間が 18 時間の a と d を比較すると, 2 回法である調製方法 d のフィブリノゲン回収率の方が 14.0% 高い結果となった ( $p < 0.05$ ). 同様に解凍時間が 24 時間の b と f を比較しても 2 回法である調製方法 f のフィブリノゲン回収率の方が 16.2% 高かった ( $p < 0.05$ ).

2 回法の再解凍時の状態が異なる c と d を比較すると, 完全に凍結していないシャーベット状態の調製方法 c では, フィブリノゲン回収率に 20.2% の低下を認めた ( $p < 0.05$ ).

遠心条件が異なり, 解凍時間が約 18 時間の d と e を比較すると,  $p = 0.08 > 0.05$  と明らかな有意差は認めなかった. 同様に解凍時間が約 24 時間の f と g においても,  $p = 0.63 > 0.05$  と明らかな有意差は認めなかった.

### 3. 調製方法の違いによる各凝固因子の比較について

結果を Table 3 に示す. 第 VIII, 第 XIII 因子, VWF はどちらの方法においても高値となった. 2 回法では第 XIII 因子を除き, 各凝固因子は 1 回法よりも低値を示した.

### 4. 調製直後の凍結温度の違いによるフィブリノゲン量の変化について

結果を Table 4 と Fig. 3 に示す. 調製直後のフィブリノゲン量を 100% とした場合,  $-30^{\circ}\text{C}$  で凍結した製剤のフィブリノゲン量は, 36.0% の低下を認めた ( $p < 0.05$ ). これに対し,  $-80^{\circ}\text{C}$  で急速凍結した製剤のフィブリノゲンは,  $p = 0.71 > 0.05$  となり, 明らかな有意差は認めなかった.

## 考 察

### 1. FFP-LR に付属するセグメントチューブと FFP-LR 内のフィブリノゲン濃度 (mg/dl) の相関について

相関係数, t 検定の結果の通り, FFP-LR に付属するセグメントチューブと, FFP-LR 内のフィブリノゲン濃度に有意差は認められない為, 測定が困難な FFP-LR 内のフィブリノゲン濃度をセグメントチューブ内のフィブリノゲン濃度で置き換えることができると考えられた. この結果より, FFP-LR 内のフィブリノゲン量 (mg) を FFP-LR の重量 (g), セグメントチューブ内のフィブリノゲン濃度 (mg/dl), 血漿の比重 (1.025) から求めることとした.

### 2. 調製方法の違いによるフィブリノゲン回収率について

解凍時間の違い (約 18 時間と約 24 時間) では, 1 回法 (a と b), 2 回法 (d と f) のどちらも解凍時間が短い方法でフィブリノゲン回収率が高くなった理由と

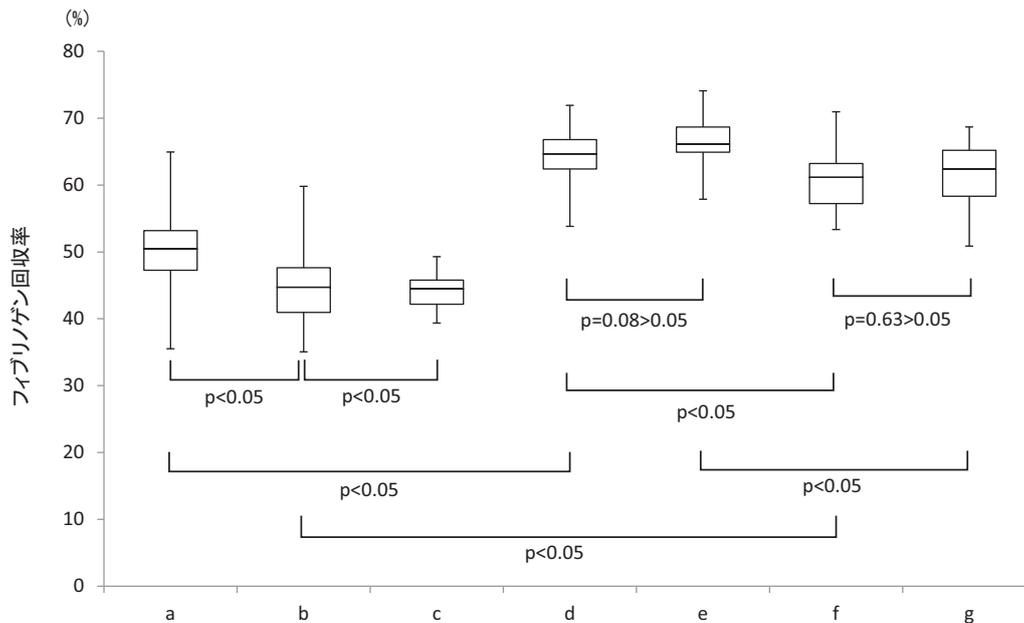


Fig. 2 調製方法の違いによるフィブリノゲン回収率の結果

a) 1 回法, 約 18 時間解凍, 高速法 (n=39) b) 1 回法, 約 24 時間解凍, 高速法 (n=31) c) 2 回法, 約 18 時間解凍,  $-80^{\circ}\text{C}$  で再凍結, シャーベット状態から約 18 時間再解凍, 高速法 (n=6) d) 2 回法, 約 18 時間解凍,  $-80^{\circ}\text{C}$  で再凍結, 完全凍結状態から約 18 時間再解凍, 高速法 (n=35) e) 2 回法, 約 18 時間解凍,  $-80^{\circ}\text{C}$  で再凍結, 完全凍結状態から約 18 時間再解凍, 低速法 (n=18) f) 2 回法, 約 24 時間解凍,  $-80^{\circ}\text{C}$  で再凍結, 完全凍結状態から約 24 時間再解凍, 高速法 (n=33) g) 2 回法, 約 24 時間解凍,  $-80^{\circ}\text{C}$  で再凍結, 完全凍結状態から約 24 時間再解凍, (n=28)

Table 3 調製方法の違いによる各凝固因子の測定結果

	a (n=3)		d (n=3)	
第 II 因子 (%)	100.6±12.8	100.9	99.4±20.2	91.5
第 V 因子 (%)	104.6±10.9	107.5	77.0±6.7	79.8
第 VII 因子 (%)	121.3±29.1	119.5	90.5±14.3	94.4
第 VIII 因子 (% IU/dl)	363.8±34.8	378.5	263.1±122.4	291.2
第 IX 因子 (%)	105.5±15.7	106.7	87.9±10.7	91.2
第 X 因子 (%)	103.0±6.5	106.8	96.6±19.3	88.5
第 XIII 因子 (%)	197.0±77.9	211.0	251.3±63.3	263.0
VWF (%)	509.0±32.0	509.0	441.0±53.0	443.0

して, 解凍に使用する冷蔵庫の温度管理が考えられる。解凍に使用する冷蔵庫は, 日常業務で使用している血液製剤保管用の冷蔵庫のため, 扉の開閉作業があり, 解凍時間が長い方がわずかな温度変化であるとはいえ影響を受けていると考えるが, 温度変化によって, 析出したクリオプレシピテートが再融解してしまうのか, 今後の検討課題である。ガイドライン<sup>2)</sup>では 24 時間と 30 時間までは大きな差はみられないとあるが, 外箱に入れたまま解凍している為, 温度変化の影響が少なかったのではないかと考えられた。しかし, 外箱に入れたままの解凍では, 解凍に時間がかかるため, 調製日数の延長がデメリットであると考えられる。

解凍回数の違い (1 回法と 2 回法) において, 2 回法でフィブリノゲン回収率が高くなった理由として, 解

凍と凍結を繰り返すことによって, 1 回法では析出できなかったクリオプレシピテートがさらに析出し, 遠心を行うことでより多く分離できたと考えられる。

2 回法の再解凍時の状態で, 完全凍結状態よりも凍結が不十分な状態の方がフィブリノゲン回収率に低下が認められ, クリオ上清内のフィブリノゲン濃度も増加していることから, 凍結が不十分な状態から解凍すると, フィブリノゲンの抽出が悪くなるのではないかと考えられる。

遠心回転数の違いによるフィブリノゲン回収率に明らかな有意差は認めなかったが, クリオプレシピテートが再融解しないよう, 温度が上がりやすい高回転よりも低回転で遠心を行い, 温度上昇によるフィブリノゲン回収率低下を防ぐ事が肝要であると考えられる。

調製方法の違いによる凝固因子の比較については, 解凍を繰り返す 2 回法の方が, 解凍後不安定な第 V 因子活性, 第 VIII 因子活性は低下した。経時的に不安定な凝固因子活性が失活し, 活性値の低下が起きることが報告<sup>8)</sup>されており, 解凍後の液体状態の時間がより長い 2 回法において, 凝固因子活性値が低下したと推察した。しかし, 第 VIII 因子については, 低下を認めた 2 回法においても, EU ガイドラインに示されている 0.70IU/ml (70.0IU/dl) 以上を保持しており, フィブリノゲン濃度, VWF 活性に変化がなければクリオプレシ

Table 4 調製直後の凍結温度の違いによるフィブリノゲン量の測定結果

n 数	-30℃ 凍結		-80℃ 凍結	
	調製時	払出時	調製時	払出時
	10		12	
クリオプレシピテートのフィブリノゲン濃度 (mg/dl)	1,480.2±263.0, 1,469.0	1,000.6±294.6, 947.0	1,450.4±279.1, 1,466.5	1,500.4±339.9, 1,485.0
クリオプレシピレート内のフィブリノゲン量 (mg)	937.1±168.6, 923.0	632.8±183.8, 600.7	892.6±166.7, 906.9	923.8±208.8, 929.8
FFP-LR の重さ (g) ※	527.8±2.90, 528.0		528.2±7.43, 525.5	
FFP-LR のフィブリノゲン濃度 (mg/dl)	235.2±33.8, 229.5		244.9±49.7, 244.0	
FFP-LR 内のフィブリノゲン予測量 (mg)	1,119.0±158.9, 1,092.6		1,165.7±252.6, 1,162.8	
クリオプレシピテートの重さ (g) ※	104.9±2.13, 105.5		103.2±1.80, 103.0	
クリオ上清のフィブリノゲン濃度 (mg/dl)	101.3±16.6, 101.0		105.4±16.5, 102.5	
クリオ上清内のフィブリノゲン量 (mg)	417.8±66.9, 416.9		436.8±66.3, 424.0	
フィブリノゲン回収率差(調製時を100%とする)(%)	100.0	64.0	100.0	103.5

※製剤バッグの重さを含む

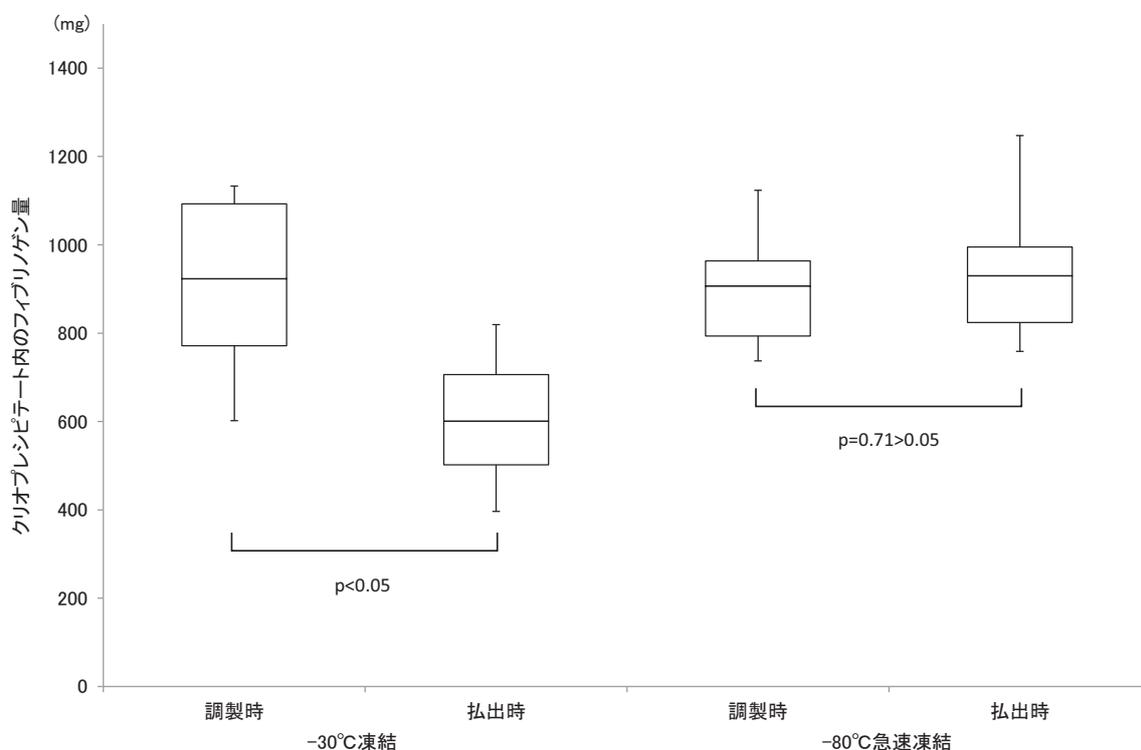


Fig. 3 調製直後の凍結温度の違いによるフィブリノゲン量の測定結果

ピテートの製造に適していると報告<sup>11)</sup>もあることから、止血に必要な各凝固因子は必要十分と考えられ、2回法による調製でも問題ないと考えられた。

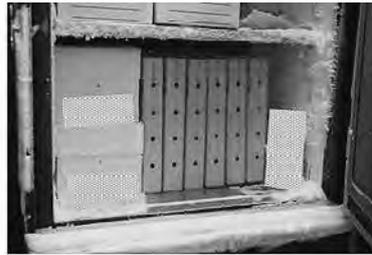
調製直後の凍結温度に関する比較において、調製時に測定したサンプル用チューブと、解凍時に測定したサンプル用チューブは、どちらも調製時に同条件で作成されたものである。-30℃で凍結したサンプル用チューブ内のフィブリノゲン量が低下した理由として、凍結の過程で凝固因子活性が低下するとされる<sup>12)13)</sup>最大氷結晶生成帯の通過時間に時間がかかりフィブリノゲンが失活したのではないかと考える。-80℃では、最大氷結晶生成帯の通過時間が短く、凝固因子活性の低

下が抑制できたと考えた。その為、調製後は可能な限り迅速に、低温の冷凍庫で急速凍結することが重要であると考えられた。

フィブリノゲン回収率の算出には、ガイドライン<sup>2)</sup>と同様にクリオ上清より算出した。我々は、第63回輸血治療細胞学会総会にて、「クリオプレシピレート除去血漿の測定によるクリオプレシピレートの品質管理についての検討」でクリオ上清から算出するフィブリノゲン回収率が品質管理をする上で有用であることを発表した。当院のクリオプレシピレート製剤は全量約60mlとごく少量であるため、クリオプレシピレートを低温のまま均一に混和することは困難である。その為、



4°C解凍  
(輸血製剤用冷蔵庫)



再凍結作業  
(-80°C冷凍庫)



遠心前  
(遠心カップに立てる)



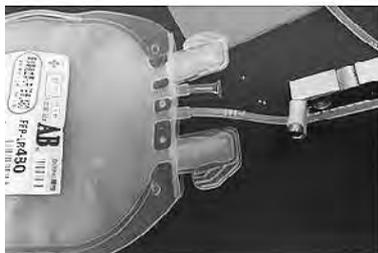
遠心分離



無菌接合



製剤分離



チューブ内混和



クリオ・クリオ上清のチューブ分離



完成(チューブ内を測定)

資料1

$$\text{回収率 (\%)} = \frac{(\text{FFP-LR内のフィブリノゲン量}) - (\text{クリオ上清内のフィブリノゲン量})}{(\text{FFP-LR内のフィブリノゲン量})} \times 100$$

$$\text{クリオ上清内のフィブリノゲン量} = \frac{\text{クリオ上清の重さ}}{\text{血漿の比重}} \times \text{クリオ上清内のフィブリノゲン濃度}$$

$$\text{FFP-LR内のフィブリノゲン量} = \frac{\text{FFP-LRの重さ}}{\text{血漿の比重}} \times \text{FFP-LR内のフィブリノゲン濃度}$$

資料2

サンプルチューブ内も不均一な状態であり、測定データを得る上では適正ではないと考える。その点、クリオ上清は遠心後の上清であり、均一な濃度であることから、品質管理を行う上ではクリオ上清からフィブリノゲン回収率を算出することが適当であると考えられた。

## 結 語

クリオプレシピテート製剤の調製条件を検討した。今回検討した調製方法での最適条件は、解凍回数2回、約18時間での解凍、再解凍時には完全凍結状態であり、調製直後は出来る限り低温にて急速凍結を行うことであった。

クリオプレシピテート製剤の調製には、非常に時間

がかかる為、国内供給がない現状では、在庫が無くなってしまった場合は必要に応じて1回法による短時間調製も考慮しなければならない。1回法の場合は、約18時間での解凍、調製直後は出来る限り低温にて急速凍結を行う方法が最適である。

フィブリノゲン回収率の高いクリオプレシピテート製剤が安定して供給される体制の早期実現が待たれる。

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) 西村滋子, 高田裕子, 大竹千晶, 他: 産科大量出血に対するクリオプレシピテートの臨床効果. 日本輸血細胞治療学会誌, 63 (1): 23—29, 2017.
- 2) 大石晃嗣, 松本剛史, 田中由美, 他: クリオプレシピテート院内作製プロトコール. 日本輸血細胞治療学会誌, 62 (6): 664—672, 2016.
- 3) 秋野光明, 瀬川紀美子, 千葉清司, 他: ダブル・クリオプレシピテート法を用いたヒト・フィブリンクルーの調製. 低温医学, 19 (1): 13—17, 1993.
- 4) 畦崎俊敬, 中川 脩: クリオプレシピテートの作成条件に関する検討. 日本輸血学会誌, 19 (2): 41—49, 1972.
- 5) 日本赤十字社: BLOOD INFORMATION, 1988-1, No. 1, 1988.
- 6) 山本晃士, 西脇公俊, 加藤千秋, 他: 術中大量出血を防ぐための新たな輸血治療—クリオプレシピテートおよび、フィブリノゲン濃縮製剤投与効果の検討—. 日本輸血細胞治療学会誌, 56 (1): 36—42, 2010.
- 7) 岩尾憲明, 須波 玲, 大森真紀子, 他: 産科大量出血に対するクリオプレシピテートの有用性. 日本輸血細胞治療学会誌, 58 (3): 486—491, 2012.
- 8) 瀧崎晶弘, 松本真実, 柴 雅之, 他: 凍結融解を繰り返した400ml全血採血由来新鮮凍結血漿の品質について. 日本輸血細胞治療学会誌, 61 (3): 403—408, 2015.
- 9) Fresh-frozen plasma, cryoprecipitate, and platelets administration practice guidelines development task force of the college of American pathologists, Cooper ES, Bracey AW, Horvath AE, et al: Practice Parameter for the use of fresh-frozen plasma, cryoprecipitate, and platelets. JAMA, 271: 777—781, 1994.
- 10) British committee for standards in haematology, blood transfusion task force, Duguid J, O'Shaughnessy DF, Atterbury C, et al: Guidelines for the use of fresh-frozen plasma, cryoprecipitate and cryosupernatant. Br J Haematol, 126: 11—28, 2004.
- 11) Scott EA, Puca KE, Pietz BC, et al: Comparison and stability of ADAMTS13 activity in therapeutic plasma products. Transfusion, 47: 120—125, 2007.
- 12) 滝口 淳, 森 純平, 瀧崎晶弘, 他: 血漿製剤を凍結するための急速凍結装置に必要な性能. 血液事業, 38(4): 765—769, 2016.
- 13) 石原徹也, 秋野光明, 内藤 祐, 他: 新たな急速凍結装置の性能評価—凍結時間と凝固因子活性の比較—. 血液事業, 37 (3): 2014.

## PREPARATION CONDITIONS FOR IMPROVED CRYOPRECIPITATE QUALITY

*Kenichi Miyazaki*<sup>1)</sup>, *Kazuko Murayama*<sup>2)</sup>, *Mamoru Tomita*<sup>3)</sup>, *Kazutoshi Naritaka*<sup>4)</sup>, *Rinami Tanaka*<sup>1)</sup>,  
*Yumiko Tanaka*<sup>1)</sup>, *Ayano Matsumoto*<sup>1)</sup>, *Akira Naito*<sup>1)</sup> and *Toshihito Mihara*<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Central Clinical Laboratory, Yaizu City Hospital

<sup>2)</sup>Department of Medical Professions Division, Yaizu City Hospital

<sup>3)</sup>Department of Neurosurgery, Yaizu City Hospital

<sup>4)</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Yaizu City Hospital

<sup>5)</sup>Department of Medical Treatment, Yaizu City Hospital

### **Abstract:**

The Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy has published "Protocol for the in-house production of cryoprecipitates". However, the most effective way of recovering fibrinogen (Fbg) from Fresh Frozen Plasma-Leukocytes Reduced (FFP-LR) samples remains controversial.

We conducted experiments to determine the optimum conditions for increasing Fbg recovery. Recovery rates of Fbg were compared for each of the following conditions: the number of thawing cycles (one or two), thawing time (18 hrs or 24 hrs), centrifugal rotation speed (low or high), refrozen state of FFP-LR samples after thawing (complete or incomplete), and storage temperature ( $-30^{\circ}\text{C}$  or  $-80^{\circ}\text{C}$ ).

Recovery rates of Fbg were 16%, 6% and 20% higher when samples were thawed twice, thawed for 18 hrs, and completely refrozen compared to being thawed once, thawed for 24 hrs and incompletely refrozen, respectively. Freezing after preparation at  $-30^{\circ}\text{C}$  decreased Fbg recovery by 36% compared to that at  $-80^{\circ}\text{C}$ .

We concluded that the optimum conditions for high Fbg recovery were thawing FFP-LR samples for 18 hrs, re-freezing completely, thawing again for 18 hrs, then centrifuging at low or high speed to precipitate the cryoprecipitate before storing at  $-80^{\circ}\text{C}$ .

### **Keywords:**

Cryoprecipitate, Protocol, Twice method, Fibrinogen recovery

---

©2018 The Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy

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