

「クリオプレシピテート院内作製プロトコール」に準じて調製した 同種クリオプレシピテートの品質検討結果

細川 真梨¹⁾ 岩木 啓太¹⁾ 伊藤 智啓¹⁾ 郷野 辰幸¹⁾ 石岡 夏子¹⁾
 阿部真知子¹⁾ 佐藤 裕子¹⁾ 関 修¹⁾ 成田香魚子¹⁾ 大久保礼由²⁾
 菅原 新吾²⁾ 藤原実名美¹⁾ 張替 秀郎¹⁾

2016年に日本輸血・細胞治療学会より「クリオプレシピテート院内作製プロトコール」が発表され、同種クリオプレシピテート（以下クリオ）の標準的調製方法が提示された。品質検討に関して3～6カ月に1回フィブリノゲン（fibrinogen；以下Fib）回収率のチェックが望ましいとの指針も示された。今回、上記プロトコールを参考に、日赤FFP-LR 480（以下FFP）より調製したクリオ51製剤について検討を行った。クリオ容量は、FFPの容量差の影響を受け最大で29.5mlの差が生じた。クリオのFib量はFFPのFib量を反映し（ $r=0.965$ ）、クリオ製剤間では最大で、平均的なクリオ1製剤分に近い655.2mgの差が生じた。Fib回収率は中央値48.2%（33.1～60.5%）であった。上記プロトコールには、FFPのFib量に関係なく回収率は40～50%と記載されているが、今回の検討ではFFPのFib量が回収率に影響する傾向がみられた（ $r=0.788$ ）。回収率40%未満の場合は、調製手順逸脱の可能性だけでなく、FFPのFib量の影響も考慮してクリオの品質評価を行うことが望ましいと考えられた。

キーワード：クリオプレシピテート、フィブリノゲン含有量、フィブリノゲン回収率、容量、品質検討

はじめに

大量出血時の低フィブリノゲン血症に対しては、出血のコントロールを得るために効率的なフィブリノゲン（fibrinogen；以下Fib）補充が不可欠である¹⁾²⁾。後天的な低Fib血症に対し日本で唯一保険適応のある新鮮凍結血漿は濃縮されていない製剤であり、投与してもFib値を速やかに止血レベルまで上昇させることが難しく、患者救命のためには欧米同様に、Fib製剤ないし同種クリオプレシピテート（以下クリオ）製剤が保険診療で使用できる必要がある。2017年10月には日本輸血・細胞治療学会、日本産科婦人科学会、日本心臓血管外科学会の3学会合同で、Fib製剤の適応拡大に向けた提言が出されたが、まだ実現の目処が立っていない現状である。

現場で大量出血治療を担う診療科の要望から、クリオを院内調製する施設は徐々に増えているが、その調製方法は各施設で異なっており、日赤FFP-LR 480（以下FFP）の融解時間、遠心条件、クリオ容量などは統一されていなかった。その現状をうけ、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院内作製プロトコール³⁾」が発表され、標準的な調製方

法が提示された。また、品質検討に関しても、3～6カ月に1回はFib回収率をチェックすることが望ましいという指針が示された。そこで今回、上記プロトコールを参考として、FFPおよびクリオの容量、Fib量、Fib回収率について検討したので報告する。

対象および方法

2017年1月～8月にFFPより調製したクリオ276製剤のうち、1月～2月に調製した20製剤と7月～8月に調製した31製剤、計51製剤について検討を行った（必要サンプル数⁴⁾ 37、 $\alpha=0.025$ 、 $(1-\beta)=0.9$ 、 $H_0:r=0$ vs. $H_1:r>0.5$ ）。

調製は日常業務でクリオ調製に携わる、臨床検査技師8人で行った。

調製方法は、上記プロトコールを参考に、FFPを低温（2～6℃）で約24時間静置し融解後、冷却遠心機で遠心を行い、上清を一律430g除いて調製した。

容量（ml）の算出は、 $(\text{FFP} \cdot \text{除去上清} \cdot \text{クリオの各重量}(\text{g}) - \text{風袋の重量}(\text{g})) / 1.02$ 、Fib回収率（%）の算出は、 $(\text{FFPの含有Fib量} - \text{除去上清の含有Fib量}) / \text{FFPの含有Fib量}$ に、100を乗じたものとした。Fib

1) 東北大学病院輸血・細胞治療部

2) 東北大学病院検査部

〔受付日：2018年8月30日、受理日：2018年12月19日〕

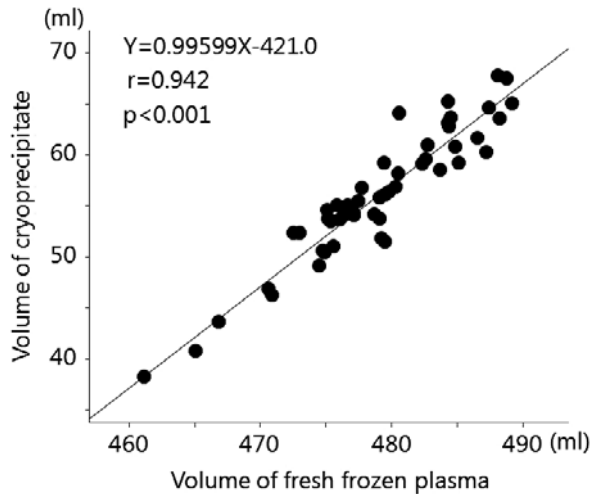


Fig. 1 Correlation between the volume of fresh frozen plasma and cryoprecipitate

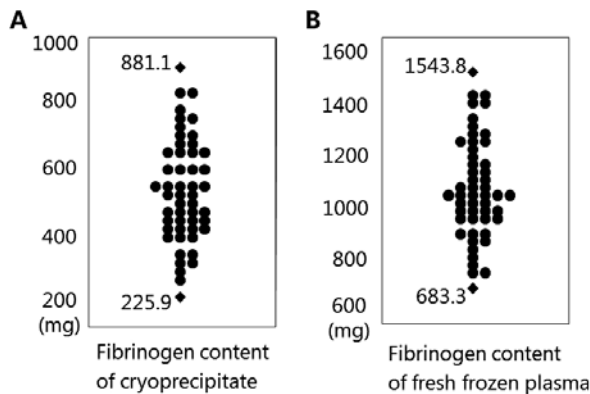


Fig. 2 Distribution of fibrinogen content of cryoprecipitate (A) and fresh frozen plasma (B)

値 (mg/dl) は FFP のセグメントと除去上清のセグメントを用いて、トロンビン時間法を測定原理とする全自動血液凝固測定装置 CS-5100 (Sysmex) にて測定を行った。

結 果

1. 容量

クリオ容量の平均値±標準偏差は 56.1 ± 6.4 ml で、中央値 55.5 ml, 最大 67.7 ml, 最小 38.2 ml であった。FFP 容量の平均値±標準偏差は 479.0 ± 6.0 ml, 中央値 479.1 ml, 最大 489.2 ml, 最小 461.2 ml であり、クリオと FFP それぞれの最大と最小の差は 29.5 ml, 28 ml と近似していた。クリオ容量と FFP 容量の相関係数は 0.942 であり、クリオの容量差は FFP の容量差の影響を大きく受けていることが明らかであった (Fig. 1)。

2. Fib 量

クリオの含有 Fib 量の平均値±標準偏差は 528.3 ± 152.1

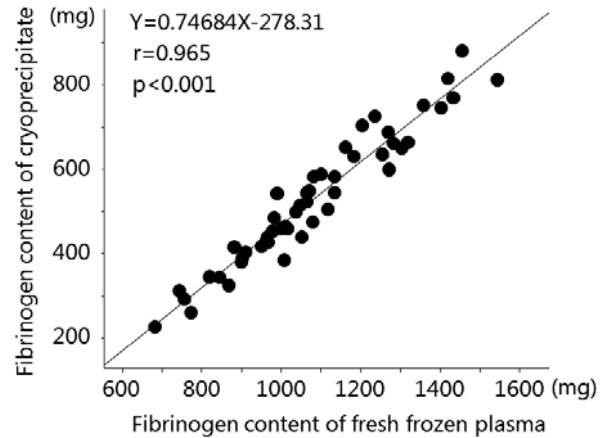


Fig. 3 Correlation between fibrinogen content of fresh frozen plasma and cryoprecipitate

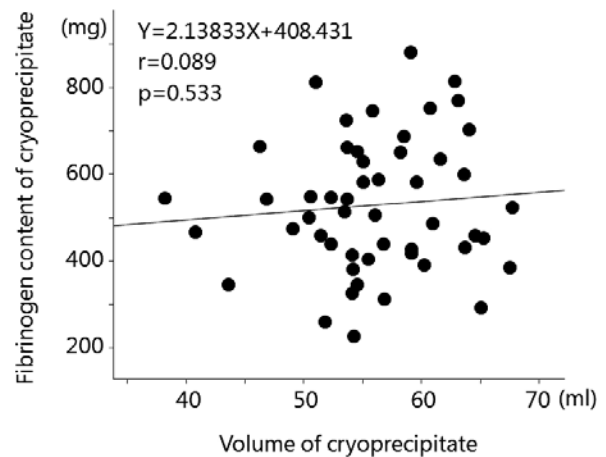


Fig. 4 Correlation between volume of cryoprecipitate and fibrinogen content

mg で、中央値 514.5 mg, 最大 881.1 mg, 最小 225.9 mg, FFP の含有 Fib 量は $1,080.0 \pm 196.6$ mg, 中央値 1,065.1 mg, 最大 1,543.8 mg, 最小 683.3 mg で、いずれも含有 Fib 量はばらつきがあった。クリオの含有 Fib 量は最大で 655.2 mg の差が生じ、これは平均的なクリオ 1 製剤分に近い値であった (Fig. 2)。クリオの含有 Fib 量と FFP の含有 Fib 量の相関を Fig. 3 に示す。相関係数は 0.965 と強い相関が見られた。一方、クリオの含有 Fib 量とクリオの容量については、相関係数 0.089 であり、相関がないことが確認された (Fig. 4)。

3. Fib 回収率

Fib 回収率の平均値±標準偏差は $48.0 \pm 6.2\%$, 中央値 48.2%, 最大 60.5%, 最小 33.1% であった。Fib 回収率と FFP の含有 Fib 量の相関係数は 0.788 であり、FFP の含有 Fib 量が少ない場合は回収率が低く、FFP の含有 Fib 量が多ければ、回収率も良好となる傾向が見られた (Fig. 5)。Fib 回収率が 35% 以下と極端に低値を示した 2 件では、いずれも FFP の含有 Fib 値が 800

mg/袋以下と低値であった。

また、Fib回収率とFFP含有Fib量の関係に関して調製者毎の差があるかを、線形回帰モデルによりF検定を用いて検定したところ、調製者間に有意差は認めなかった (F=0.861, p=0.604)。

4. 1 回出庫あたりのクリオに含まれる合計Fib量

当院では3製剤1組としてクリオを出庫している。出庫された中で、今回検討に使用した製剤で3製剤1組となったものが実際に合計としてどの程度のFib量であったかを確認したところ、平均値±標準偏差1,615.7±280.4mg、中央値1,604.9mg、最大2,034.7mg、最小1,241.2mgであった (Fig. 6)。

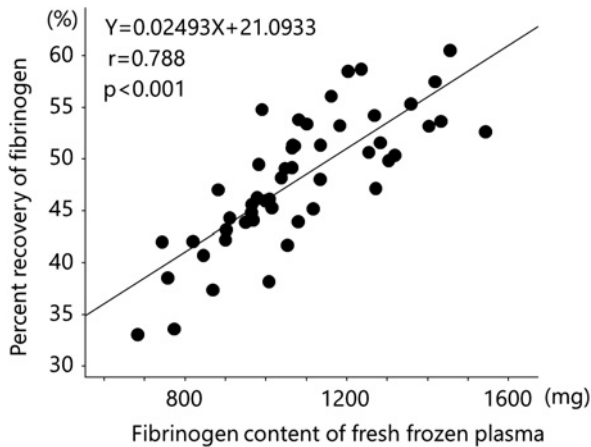


Fig. 5 Correlation between fibrinogen content of fresh frozen plasma and percent recovery of fibrinogen

考 察

本検討でのFFPの最大容量差は28ml (461.2~489.2 ml)、クリオの最大容量差は29.5ml (38.2~67.7ml)であったが、FFPの製品規格が460~500mlであることを考えると⁵⁾、一律430gの上清を除去する調製法では、クリオの容量は約30~70mlとなり、最大で約40mlの差が生じる可能性がある。除去する上清の量を調節し、クリオ容量を一律50mlとすることも可能だが、上清の量を増やしてもそこに含まれるFib量は少ないことから、作業を煩雑にして容量を揃える必要性は乏しいと考えられた。

血漿Fib値の基準範囲は200~400mg/dl程度と広く、性別や年齢等により差があることから、FFPの含有Fib量にばらつきがあるのは周知のことであるが、その影響によりクリオの含有Fib量は、最大で平均的なクリオ1製剤分に近い655.2mgの差が生じていた。当院ではクリオを3製剤1組として出庫しているが、今回の検討で3製剤の合計Fib量は平均値、中央値とも約1.6g、最大約2g、最小で約1.2gであった。あらかじめFFPのFib値を測定すれば、出庫前に3製剤の合計Fib量を把握することは可能であるが、当院ではクリオが使用される都度、補充で調製するクリオ用FFPを購入するため、Fib量の差による組み合わせの変更は難しい。3製剤を1組で投与することにより、1製剤ごとの差はある程度相殺されており、止血効果不十分な場合は3製剤ずつ追加投与を行うことも可能であり、診療科への聞き取りでも製剤のFib含有量のばらつきによる臨床的な問題は生じていない。

クリオのFib量については、クリオ製剤自体の測定

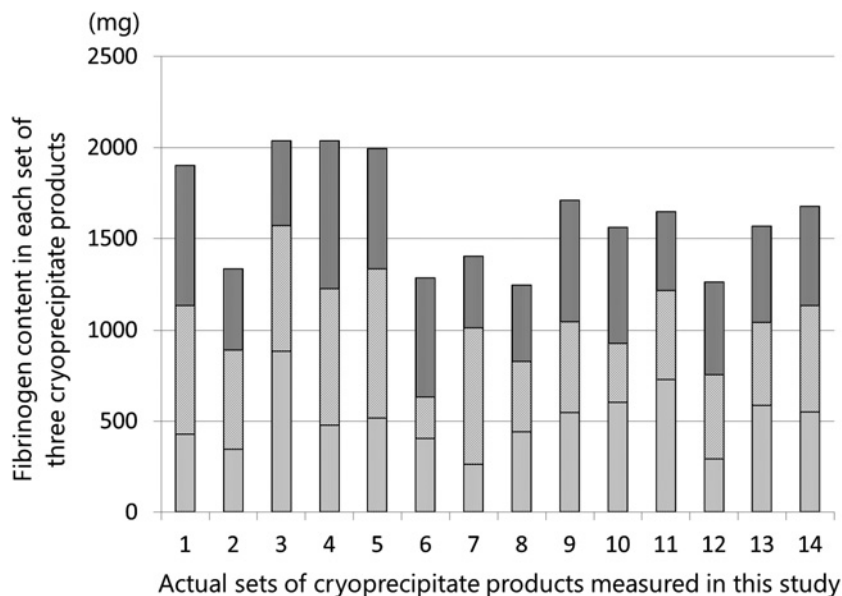


Fig. 6 Fibrinogen content in each set of three cryoprecipitate products measured in this study

か、FFPのFib量から脱クリオ血漿のFib量の引き算で算出するかによっても値は若干異なるため、これまでの報告を一概に比較するのは難しく、またFFP作製時に急速凍結か否かや、クリオ調製時の解凍回数・解凍時間等の条件の違いによっても、クリオのFib量やFib回収率は異なってくる可能性がある⁶⁾⁷⁾が、学会発行の「クリオプレシピテート院内作製プロトコール」に記載されているように、施設内では統一した作業手順を定め、一定の範囲内の品質を保っているかを確認する品質管理が重要である。

Fib製剤では1瓶にFib1gが含有されており、クリオに比べより確実な血漿Fib値上昇が見込め、感染のリスクも低いと考えられることから、大量出血等の後天性低Fib血症に対する早期の適応拡大が待たれる。しかし、現状では国内の多くの施設で患者の救命にクリオを使用せざるを得ない状況であり、クリオを適切に調製・使用していくことが望まれる。

クリオの適切な使用に関する問題としては、クリオ調製施設が増えるにつれ、クリオをAB型FFP-LR-480からのみ調製すると、少ないAB型FFPの供給が逼迫することにもなりかねないことが挙げられる。当院ではABO各型のクリオの在庫を置き、原則として患者と同型のクリオを使用しているが、使用頻度の多い施設では可能な限り患者と同型、あるいは頻度の多いA型とAB型のクリオの使用を検討する必要があると思われる。

クリオの適切な調製に関しては、学会のプロトコールを参考に調製・品質検討を行ったところ、今回新たな知見として、FFPの含有Fib量がFib回収率に影響する傾向がみられた。学会プロトコールではFib回収率はFFPのFib量に関係なく40~50%と記載されていたが、プロトコールの下敷きとなった、それまでの学会報告では、検討されたn数がまだ少なかったため、FFPの含有Fib値の非常に低いものが含まれていなかった可能性が考えられる。Fib回収率が40%を下回った

場合は、調製手順の逸脱の可能性だけでなく、FFPに含まれるFib量の影響も考慮して評価を行うことが望ましいと考えられた。

著者のCOI開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

謝辞：本論文作成に際して多くの有益なご助言を頂いた、東北大学大学院医学系研究科循環器 EBM 開発学寄付講座 宮田敏先生に深謝いたします。

本論文の内容は第66回日本輸血・細胞治療学会総会（2018年5月、宇都宮市）において報告した。

文 献

- 1) 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.
- 2) 山本晃士, 松永茂剛, 澤野 誠, 他: 大量出血に対するフィブリノゲン製剤のエビデンスと今後の展望. 日本輸血細胞治療学会誌, 63 (4): 625—629, 2017.
- 3) 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.
- 4) Jacob Cohen: Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences, 2nd ed, Routledge, United States of America, 1988.
- 5) 及川伸治: 特集 Q&A 形式で今日から使える 診療科から輸血部門への問い合わせ対応. Medical Technology, 44 (11): 1168—1171, 2016.
- 6) Rajeswari Subramaniyan, Neelam Marwaha, Ashish Jain, et al: Factors affecting the quality of cryoprecipitate. Asian Journal Transfusion Science, 11 (1): 33—39, 2017.
- 7) 宮崎研一, 村山和子, 富田 守, 他: 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. 日本輸血細胞治療学会誌, 64 (3): 516—524, 2018.

PERCENT RECOVERY OF FIBRINOGEN IN CRYOPRECIPITATE IS AFFECTED BY FIBRINOGEN CONTENT IN FRESH FROZEN PLASMA

*Mari Hosokawa*¹, *Keita Iwaki*¹, *Tomohiro Itoh*¹, *Tatsuyuki Gohno*¹, *Natsuko Ishioka*¹, *Machiko Abe*¹,
*Yuko Sato*¹, *Osamu Seki*¹, *Ayuko Narita*¹, *Noriyuki Ohkubo*², *Shingo Sugawara*²,
*Minami Yamada-Fujiwara*¹ and *Hideo Harigae*¹

¹Division of Blood Transfusion and Cell Therapy, Tohoku University Hospital

²Division of Clinical Laboratory, Tohoku University Hospital

Abstract:

The “Protocol for in-house production of cryoprecipitate” was published by the Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy in 2016. It outlines the standard operating procedures for the preparation of cryoprecipitate (CRYO), and recommends measuring the percent recovery of fibrinogen in CRYO at least once every six months for quality control. Based on the protocol, we evaluated 51 CRYO preparations produced in our hospital, derived from 51 fresh frozen plasma (FFP) preparations distributed by Japan Red Cross Blood Center.

The mean \pm standard deviation (SD) volume of the CRYO preparations was 56.1 ± 6.4 ml. There was a significant correlation between the fibrinogen content of CRYO and FFP preparations ($r = 0.965$; $p < 0.001$). The mean \pm SD fibrinogen content of CRYO preparations was 528.3 ± 152.1 mg, and the maximum difference among CRYO preparations was 655.2 mg. The mean \pm SD, median, maximum and minimum percent recovery of fibrinogen in CRYO preparations was $48.0 \pm 6.2\%$, 48.2%, 60.5% and 33.1%, respectively. There was a significant correlation between the percent recovery of fibrinogen in CRYO and the fibrinogen content in FFP preparations ($r = 0.788$; $p < 0.001$). This suggests that we should consider not only problems with preparation techniques but also low fibrinogen content of FFP preparations when percent recovery of fibrinogen in CRYO is below 40%.

Keywords:

Cryoprecipitate, Fibrinogen content, Percent recovery of fibrinogen, Volume, Quality control

©2019 The Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy

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