

冷蔵開始日の遅延が冷蔵血小板の機能に与える影響

布施 久恵¹⁾ 若本志乃舞¹⁾ 有澤 史倫¹⁾ 金敷 拓見²⁾ 藤原 満博²⁾
秋野 光明¹⁾ 鳥本 悦宏¹⁾

【背景および目的】近年、冷蔵保存した血小板 (PLTs) の機能が再評価されている。日本においては、冷蔵保存を行うタイミングとして採血直後 (Day 0, 対照群) もしくは細菌スクリーニングの感度向上のための待機保管期間終了後 (Day 2, DCS2), あるいは室温保存の有効期間終了後 (Day 5, DCS5) が考えられる。本研究は、冷蔵保存の開始時期の違いが、血小板機能に及ぼす影響を検討した。

【材料および方法】成分採血装置を用いて高濃度血小板を採取し、血小板保存液 (T-PAS+, Terumo BCT) に置換した PAS 置換血小板を冷蔵保存開始日が異なる 3 群 (Day 0, Day 2, Day 5) に分けた。各群を Day 21 まで保存し、血小板機能として、凝集能 (ADP+コラーゲン凝集およびリストセチン凝集), 血液粘弾性 [最大血餅硬度 (maximum clot firmness : MCF), 凝固時間, α 角度] ならびに血小板活性化マーカー (CD62P, PAC-1, CD63, Annexin V) を測定し、比較した。

【結果】Day 14 までの結果を比較したところ、検討した血小板機能のうち、DCS2 群および DCS5 群において低下が認められたのは、ADP+コラーゲン凝集能および MCF のみであった。しかしながら、Day 10 における DCS2 群および DCS5 群の凝集能および MCF の値は、Day 14 における対照群 (米国における有効期間) と比べて顕著な差を示さなかった。

【結論】採血後に 2 日または 5 日間室温保存した後に冷蔵した血小板 (遅延冷蔵 PC) は、Day 10 まで保存可能であると考えられた。

キーワード：冷蔵保存血小板, 遅延冷蔵血小板, 添加液, T-PAS+

本論文記事は、John Wiley & Sons 社の許可のもと、Vox Sanguinis 誌 (2026. doi:10.1111/vox.70249.) に最初に報告された研究に基づくものである。(Hisae Fuse, Shinobu Wakamoto, Fuminori Arisawa, Takumi Kanashiki, Mitsuhiro Fujihara, Mitsuaki Akino, Yoshihiro Torimoto: Effects of the start date of refrigeration on functions of delayed cold-stored platelets) URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/vox.70249>

緒 言

血小板減少症患者において血小板数を維持するための血小板輸血は室温保存された血小板製剤 (platelet concentrates : PCs) を用いて行われている。室温保存 PC の血小板の一部は輸血後に長期間の体内生存を示すことが知られている。Stolla らは、新鮮血小板の輸血後の回収率が、輸血 1 日後には 60% であったが、7 日後には 20% まで低下したと報告している¹⁾。冷蔵保存の影響についても、これまでに検討が行われてきた²⁾。冷蔵保存には、輸血後の生存期間が短いという欠点があるものの^{2)~4)}、細菌増殖を抑制することによる細菌感染

リスクの低減や、止血機能の改善といった利点を有しており⁵⁾、近年その効果が再評価されている^{6)~12)}。米国食品医薬品局 (FDA) は、室温保存血小板が利用または入手できない場合のみ出血治療を目的として、成分採血由来の冷蔵 PC の使用を承認している。これらの冷蔵 PC は、採血後 14 日間まで保存可能である¹³⁾。冷蔵 PC に関する臨床試験は、ノルウェーおよび米国において実施されており、その有効性が報告されている^{11)12)14)~16)}。これらの臨床試験の結果は、最長 14 日間保存した冷蔵 PC の臨床的有用性を支持している。近年終了した Chilled Platelet Study (CHIPS ; NCT

1) 日本赤十字社北海道ブロック血液センター

2) (前) 日本赤十字社北海道ブロック血液センター

連絡責任者：若本志乃舞, E-mail : wakamoto@hokkaido.bc.jrc.or.jp

[受付日：2026 年 5 月 12 日, 受理日：2026 年 6 月 9 日]

04834414)¹⁷⁾¹⁸⁾は、第III相の多施設・国際共同臨床試験であり、室温保存PCと、最大21日間保存された冷蔵PCとの有効性および安全性を比較した。本試験の結果は現時点では未公表であるものの、冷蔵PCの保存期間延長を支持する知見が得られることが期待されている。さらに、PCの有効利用を促進する目的で、室温保存期間終了後に冷蔵したPCの限定的な使用が検討されている^{19)~22)}。新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) パンデミックに伴うPC不足への対応として、FDAは2020年に、米国メイヨー・クリニックにおいて、病原体不活化処理を施したPAS-PC(血小板添加液に浮遊させた血小板製剤: Platelet Additive Solution-PC)を5日間室温保存した後、最大9日間冷蔵保存する運用を認可した²¹⁾。さらに、冷蔵PCを患者に投与した場合においても、有害事象を伴うことなく十分な止血効果が得られたことが報告されている²¹⁾。カナダでは現在、病原体不活化処理を施したPAS-PCを室温で保存した場合と、4日間室温保存した後に最大10日間冷蔵保存した場合とを比較する臨床研究が進行中である²³⁾²⁴⁾。

日本においては、PCは100%血漿由来の製剤であり、すべてに放射線照射が実施されている。2025年に細菌スクリーニングが導入されたことを受けて、PCの保存期間は採血後3日から5日(日本表記では4日から6日)へと延長された。この変更は、採血後に血液センターにおいて2日間の室温による待機保管期間を設けることで、スクリーニングの感度を向上させることを目的として行われたものである。

冷蔵PCを実用化する場合、細菌増殖抑制の観点からは、採血直後(Day 0)に冷蔵を開始することが望ましい。しかしその一方で、PCを有効に活用するためには、保持期間終了時(Day 2)あるいは有効期間経過後(Day 5)に冷蔵を開始するという選択肢も考えられる。これらの異なる冷蔵開始時期が、血小板機能にどの程度の影響を及ぼすのかについては、明らかにされていない。

PAS-PCは、PCに含まれる血漿の60~70%を添加液で置換することにより調製される。PAS-PCは、100%血漿から調製されたPCと比較して、輸血関連有害事象の発生が少ないという利点を有しており^{25)~27)}、また、置換された血漿は血漿分画製剤の原料として利用可能である。このような背景から、PAS-PCは近い将来、日本においても導入される可能性がある。さらに、冷蔵保存されたPAS-PCは、100%血漿由来PCを冷蔵保存した場合と比較して、血小板凝集塊の形成を抑制することが報告されている⁹⁾。一方で、成分採血由来で放射線照射を施したPAS-PCを、2日または5日間室温保存した後に冷蔵保存した場合の品質については、これまで評価されていない。

本研究では、冷蔵開始時期をDay 0, Day 2, または

Day 5とした3群のPAS-PCをDay 21まで冷蔵保存し、冷蔵保存開始時期の違いが血小板保存中の血小板機能に与える影響を検討した。

材料および方法

1 PAS-PCの調製および保存

健常ボランティア10名から、成分採血装置(Trima Accel, Terumo BCT, 東京, 日本)を用いて高濃度血小板(hyperconcentrated PLTs)を採取した。PAS-PCは、高濃度血小板採取後に血小板バッグへ、テルモ血小板添加液T-PAS+(Terumo BCT, 東京, 日本)を加え、高濃度血小板を最終的にT-PAS+65%/血漿35%の比率となるよう希釈することにより調製した(Fig. 1)。PAS-PCは1時間以上静置した後、振盪機(EBAC, 荏原製作所, 東京, 日本)で1時間以上、振盪(60回/分)保存した。

ABO同型のPAS-PC2バッグをプールし、採血キットに付随の保存バッグに3分割した(Fig. 1)。1時間の静置と1時間の振盪を行ったPAS-PCに複数の血小板凝集が確認された場合には、3分割する前に凝集を除去した。

分割後、残存白血球数は自動血球分析装置(Sysmex XN-1000, シスメックス株式会社, 神戸, 日本)のBlood Bankモードを用いて測定した。

分割したPAS-PCの1つは、2日間、室温で振盪保存した後、冷蔵(4℃)静置保存した(DCS2群)(Fig. 1)。別の1つは、5日間、室温で振盪保存した後、同様に冷蔵保存へ移行した(DCS5群)(Fig. 1)。残る1つは、採血当日(Day 0)から振盪せずに冷蔵保存とした(対照群)(Fig. 1)。対照群(n=5)における、PAS-PC調製から冷蔵開始までの時間は、それぞれ6時間19分、4時間47分、4時間49分、4時間17分および6時間28分であった。

採血後2日目に、すべてのPAS-PCに対しX線照射装置(MBR-1530A-TW, 日立ヘルスケアシステムズ株式会社, 東京, 日本)を用いて15Gyの照射を行った(Fig. 1)。本研究は日本赤十字社の施設内倫理審査委員会の承認を受けて実施された(承認番号: 2021-025)。

サンプリングバッグ(KBP-50C-2, SBカワスミ株式会社, 神奈川, 日本)を、無菌条件下で保存バッグに接続し、Day 0では4ml, Day 2, 5, 10, 14, および21では11 mlを*in vitro*試験用として採取した。Day 2における各群の試験用検体採取と各種血小板機能及び性状評価は照射後に実施した。試験用検体採取前に冷蔵保存されていたPCは、採取の前に室温下で10分間振盪した。Day 2におけるDCS2群およびDCS5群の血小板凝集能、回転式血栓弾性測定(ROTEM)、フローサイトメトリー(FCM)、およびグルコース測定用の検

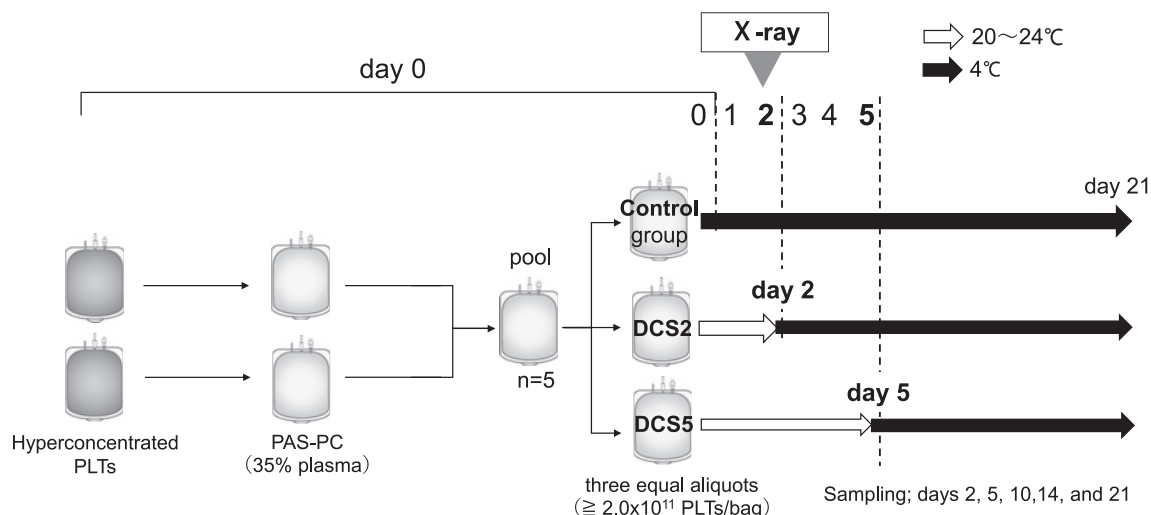


Fig. 1 Preparation and storage of blood components

体は、DCS2群とDCS5群を等量ずつ混合して調製した。Day 2において、DCS2およびDCS5はいずれも同一の室温保存条件下で維持され、保存条件が異なる群に分けられる前まで同一の方法で調製された。従って、Day 2における両群のin vitro特性は同等であると考え、in vitro評価にはDCS2およびDCS5を等量混合した検体を用いた。

血小板凝集能およびROTEMならびにFCMの測定のため、前述の高濃度血小板採取時に同時に採取した自己血漿を用いて、血小板濃度300,000/μlの多血小板血漿（Platelet rich plasma：PRP）を調製した。

2 血小板数測定およびpH測定

血小板数および平均血小板容積は、自動血球分析装置（XS-1000i、シスメックス株式会社、神戸）を用いて測定した。pHは、22℃にて血液ガス分析装置（GAS-TAT 700シリーズ、テクノメディカ株式会社、横浜、日本）を用いて測定した。

3 PAS-PCの容量および残存血漿濃度

PAS-PCの容量は、PAS-PCの重量から風袋重量を差し引いた値を比重で除することにより算出した。残存血漿濃度は、以下の式により算出した。

血漿濃度（%）＝100×（1－添加したT-PAS+の容量/PAS-PCの容量）

4 グルコース測定

PAS-PCの上清は、2回の遠心分離（1,900×g、室温、10分）後に回収し、グルコース濃度を測定するまで－80℃で凍結保存した。グルコース濃度は測定下限値が3.8 mg/dlの市販のグルコース測定キット（Glucose CII Test Wako、富士フイルム和光純薬株式会社、大阪、日本）を用いて測定した。

5 フローサイトメトリー（FCM）

血小板におけるCD62PおよびCD63の発現ならびに

PAC-1の結合を測定するため、PRPをHepes Tyrode緩衝液（KCl 2.7mM、NaCl 127mM、NaH₂PO₄ 0.5mM、グルコース 5.6mM、NaHCO₃ 12mM、HEPES 5mM、BSA 0.35%、MgSO₄ 0.5mM、pH 7.3）で希釈し、最終血小板濃度を25,000/μlに調製した。この希釈PRP 20μlに、Peridinin chlorophyll protein（PerCP）標識抗CD61モノクローナル抗体、phycoerythrin（PE）標識抗CD62Pモノクローナル抗体、fluorescein isothiocyanate（FITC）標識PAC-1（以上すべてBD Biosciences社、米国）、およびPacific Blue標識抗CD63モノクローナル抗体（BioLegend社、米国）を加えた。陰性対照として、PerCP標識抗マウスIgG、PE標識抗マウスIgG、FITC標識抗マウスIgM（BD Biosciences社）およびPacific Blue標識抗マウスIgG（BioLegend社）を用いた。反応混合液は、遮光下、室温で20分間インキュベートした。

インキュベーション後、血小板は冷却した1%パラホルムアルデヒドで固定し、4℃で少なくとも1時間保存した後、リン酸緩衝生理食塩液（PBS）で洗浄した。続いて、血小板をPBS 500μlに再懸濁した。

ホスファチジルセリン（Phosphatidylserine：PS）の表出を測定するため、血小板濃度を300,000/μlに調製したPRPをPBSで希釈し、最終濃度25,000/μlとした。この希釈PRP 4μlとFITC標識Annexin V（BioLegend社、米国）およびPE標識抗CD42a抗体（BD Biosciences社、米国）をAnnexin V結合緩衝液（BioLegend社）中で、遮光下、室温で15分間インキュベートした。陰性対照として、希釈PRPをPBS中で染色した。同様に、混合液を遮光下、室温で15分間インキュベートした後、血小板をそれぞれAnnexin V結合緩衝液またはPBS 500μlに再懸濁した。

染色した検体はフローサイトメーター（CytoFLEX、

Table 1 Volume, PLT concentration, and PLT count of each prepared product

Parameter	Control group	DCS2	DCS5
Volume (ml)	203.4±3.1	202.9±2.3	203.0±2.8
PLT conc. ($\times 10^9/l$)	1,217±56	1,224±61	1,220±54
PLT count. ($\times 10^{11}/\text{bag}$)	2.475±0.100	2.484±0.117	2.477±0.100

n = 5, mean ± SD

Beckman Coulter 社, 米国) を用いて測定した. 前方散乱光および側方散乱光による細胞の分布, ならびに CD61 または CD42a 陽性細胞により, 血小板分画を設定した. 10,000 イベント分の血小板蛍光データを取得し, CD62P, CD63, PS, または PAC-1 陽性血小板の割合を評価した.

6 血小板凝集能測定

In vitro における血小板凝集能は, 光透過式血小板凝集計 (PRP313M, タイヨウ株式会社, 大阪, 日本) を用いて評価した. PRP 検体 180 μ l に CaCl_2 (4mmol/l) を加え, 凝集計で 37°C, 1 分間予備インキュベーションを行った.

その後, 以下の惹起物質を PRP 検体に添加し, 37°C で 7 分間インキュベートして血小板凝集を測定した. 1.5mg/ml リストセチン (American Biochemical and Pharmaceutical Ltd., 米国), または 2.5mg/l コラーゲン (Collagen reagent “Horm”, Nycomed Pharma GmbH, ミュンヘン, ドイツ) と 5 μ mol/l ADP (“MCM” ADP, 栄研化学株式会社, 東京, 日本) の同時刺激とした.

7 血液粘弾性検査

血栓の性状および強度は, 血液粘弾性検査装置 (ROTEM) (ROTEM delta, Tem International GmbH, ミュンヘン, ドイツ) を用いて評価した. PRP 検体は, メーカーの指示に従って EXTEM 試薬と混合した. 評価項目として, 凝固時間 (秒), α 角度, および最大血餅硬度 (maximum clot firmness: MCF, mm) を測定した.

8 統計解析

データ解析には, 統計解析ソフトウェア (Kaleida Graph, ヒューリンクス株式会社, 東京, 日本) を使用した. Day 10 以降の各時点における対照群, DCS2 群, および DCS5 群間の比較は, one-way repeated measures ANOVA で検定後, Dunnett の多重比較検定で検定した. また, 同様の統計手法を用い凝集能および MCF について, 対照群の Day 14 と DCS2, DCS5 の Day 10 の結果を比較した. すべての統計解析において, $P < 0.05$ を統計学的有意水準とした.

結 果

1 PAS-PC の調製

Table 1 に Day 0 における 3 群の PAS-PC の容量, 血小板濃度, および総血小板数を示す. 検討したいずれの項目においても, 3 群間で有意な差は認められなかった.

プール前の全ての PAS-PC において (Fig. 1), 残存血漿濃度は 34.9~35.1% の範囲であり, 混入白血球数は $0 \sim 0.12 \times 10^6/\text{バッグ}$ であった.

2 血小板濃度, グルコース, pH

血小板濃度は, いずれの群においても Day 10 まで有意な変化を示さず, その後徐々に低下した (Table 2). 保存中の血小板製剤における凝集塊形成については, 対照群では Day 21 に 5 検体中 1 検体において, 直径約 2~3mm の凝集塊が 1 個認められた. また, DCS5 では 5 検体中 1 検体において, Day 7 から Day 21 にかけては直径 1mm 以下の凝集塊が約十数個認められた. Day 10 から Day 21 にかけては, DCS2 群および DCS5 群の血小板濃度が対照群より有意に高値であった.

pH は, 3 群すべてにおいて Day 5 以降, 時間依存的に低下したが, 保存期間を通じて日本の規格値 (6.2 以上) を維持していた (Table 2).

グルコース濃度は, 対照群および DCS2 群では Day 14 まで測定可能であったが, DCS5 群では 5 例中 3 例において Day 14 に測定不能であった (Table 2). Day 21 では, 対照群において 5 例中 3 例でグルコースが検出された一方, DCS2 群および DCS5 群ではいずれも検出されなかった.

3 血小板活性化マーカー

血小板活性化マーカーの結果を Fig. 2 に示す. CD62P は, Day 10 および Day 14 では 3 群間に有意な差を認めなかった (Fig. 2a). PAC-1 は Day 10 以降, CD63 は Day 14 以降において, DCS2 群および DCS5 群で対照群より低値を示した (Fig. 2b, 2c). Annexin V については, 保存期間中を通じて 3 群間に有意な差は認められなかった (Fig. 2d).

4 血小板凝集能

血小板凝集能の結果を Fig. 3 に示す. ADP およびコラーゲンによる同時刺激後の凝集能は, Day 10 以降,

Table 2 Hematological and metabolic analyses of three groups in storage

Parameter	day	Control group	DCS2	DCS5
PLT conc. ($\times 10^9/l$)	day 0	1,217 $\pm$ 57	1,225 $\pm$ 61	1,221 $\pm$ 55
	day 2	1,261 $\pm$ 54	1,214 $\pm$ 58	1,214 $\pm$ 59
	day 5	1,251 $\pm$ 61	1,259 $\pm$ 53	1,212 $\pm$ 60
	day 10	1,204 $\pm$ 62	1,239 $\pm$ 63*	1,234 $\pm$ 62*
	day 14	1,139 $\pm$ 58	1,205 $\pm$ 54*	1,219 $\pm$ 63*
	day 21	999 $\pm$ 71	1,068 $\pm$ 45*	1,129 $\pm$ 68*
pH (22°C)	day 0	7.30 $\pm$ 0.02	7.31 $\pm$ 0.01	7.30 $\pm$ 0.03
	day 2	7.30 $\pm$ 0.02	7.42 $\pm$ 0.03	7.42 $\pm$ 0.04
	day 5	7.27 $\pm$ 0.04	7.31 $\pm$ 0.05	7.41 $\pm$ 0.06
	day 10	7.15 $\pm$ 0.05	7.13 $\pm$ 0.08	7.18 $\pm$ 0.09
	day 14	7.02 $\pm$ 0.07	6.97 $\pm$ 0.10	7.04 $\pm$ 0.08
	day 21	6.76 $\pm$ 0.09	6.84 $\pm$ 0.07	7.05 $\pm$ 0.08*
Glucose (mM)	day 0	7.2 $\pm$ 0.4	7.2 $\pm$ 0.4	7.2 $\pm$ 0.4
	day 2	6.4 $\pm$ 0.3	6.4 $\pm$ 0.3	6.4 $\pm$ 0.3
	day 5	5.5 $\pm$ 0.3	5.0 $\pm$ 0.4	4.4 $\pm$ 0.6
	day 10	3.8 $\pm$ 0.2	2.8 $\pm$ 0.6*	1.8 $\pm$ 0.8*
	day 14	2.5 $\pm$ 0.3	1.1 $\pm$ 0.6*	0.2 †
	day 21	0.3 $\pm$ 0.3 ‡	ND	ND

n = 5, mean $\pm$ SD, *: P < 0.05 (vs Control group) (a one-way repeated measures ANOVA with Dunnett's post-test)

ND: not detected, † : n = 2, mean, ‡ : n = 3, mean $\pm$ SD

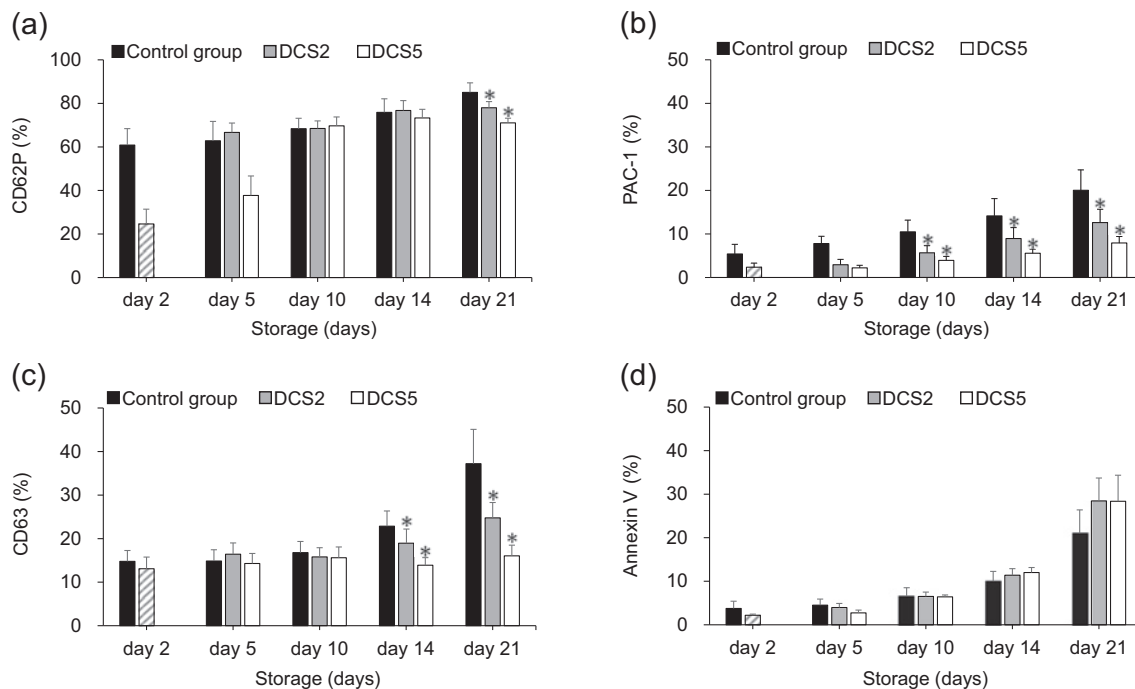


Fig. 2 Platelet (PLT) activation marker expression in PAS-PCs during 21 days of storage.

PAS-PCs were stored cold for 21 days (control group, black column) or at room temperature for 2 days (DCS2, gray column) or 5 days (DCS5, white column) before cold storage. The striped column on Day 2 shows the measured value of a sample that was a mixture of equal amounts of DCS2 and DCS5. Positive expression (%) was reported for (a) CD62P, (b) PAC-1, (c) CD63 and (d) Annexin V. The results are expressed as mean $\pm$ standard deviation (SD). Differences among the control group, DCS2 and DCS5 at each time point from Day 10 were analysed using a one-way repeated measures analysis of variance (ANOVA) with Dunnett's post hoc test. p-values < 0.05 were considered to be significant (n = 5). *p < 0.05 versus the control group at the same time point.

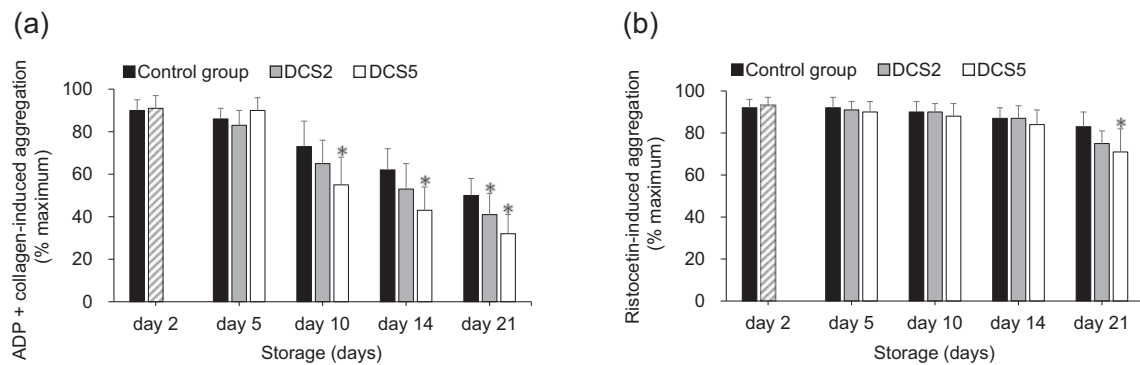


Fig. 3 Platelet aggregation during 21 days of storage.

PAS-PCs were stored cold for 21 days (control group, black column) or at room temperature for 2 days (DCS2, gray column) or 5 days (DCS5, white column) before cold storage. The striped column on Day 2 shows the measured value of a sample that was a mixture of equal amounts of DCS2 and DCS5. Platelet aggregation was induced by ADP and collagen (a) or ristocetin (b). The results are expressed as mean $\pm$ standard deviation (SD). Differences among the control, DCS2 and DCS5 groups at each time point from Day 10 onwards, and comparisons between the control group on Day 14 and the DCS2 and DCS5 groups on Day 10, were analysed using a one-way repeated measures analysis of variance (ANOVA) with Dunnett's post hoc test. p -values < 0.05 were considered to be significant ($n = 5$). * $p < 0.05$ versus the control group at the same time point.

3群すべてにおいて時間依存的に低下した (Fig. 3a). 対照群との比較では, DCS2群はDay 21において, DCS5群はDay 10以降において有意に低値を示した. Day 10におけるDCS2群およびDCS5群の値は, Day 14における対照群の値と有意差を認めなかった (Fig. 3a). リストセチン凝集の低下はDay 14まで極めて小さく, Day 14までの期間において3群間に有意な差は認められなかった (Fig. 3b).

5 ROTEM

ROTEMを用いた解析結果をFig. 4に示す. 凝固時間および α 角度はDay 21まで有意な変化を示さず, 少なくともDay 14までは3群間に有意な差は認められなかった (Fig. 4a, 4b). 一方, MCFは時間依存的に低下した (Fig. 4c). Day 10以降では, DCS2群およびDCS5群のMCFは対照群より低値を示した. DCS2のDay 10における値は, 対照群のDay 14の値と同程度であった. 一方, DCS5のDay 10の値は対照群のDay 14と比較して有意に低値を示したが, その差は小さかった (Fig. 4c).

考 察

本研究では, 冷蔵を遅延させることによるPCの血小板機能に及ぼす影響について, 放射線照射を施した成分採血由来PAS-PCを用いて検討した. DCS2およびDCS5群は冷蔵前にX線照射を行ったのに対し, 対照群は冷蔵後に放射線照射を行った. これまでの研究では, PAS-Eで室温または冷蔵保存されたPAS-PCに対する放射線照射は, *in vitro*における血小板品質に有意な影響を及ぼさないことが報告されている²⁸⁾²⁹⁾. 従って,

放射線照射時の温度の違いが血小板品質に顕著な影響を及ぼした可能性は低いと考えられる.

血小板濃度は, いずれの3群においてもDay 10までは顕著な変化を示さなかったが, Day 10以降では冷蔵開始が遅い群において高値を示した (Table 2). 遅延冷蔵群において対照群より血小板濃度が高値を示した理由は, 現時点では不明である. しかし, 冷蔵PCではおよそDay 10以降に血小板濃度が低下すること³⁰⁾, ならびに遅延冷蔵PCがDay 14およびDay 21において, 冷蔵PCと比較して高値, あるいは高値を示す傾向にあることを報告した先行研究の結果は, 本研究結果と一致している²⁰⁾²²⁾. これに対して, Woodらは, 冷蔵PCと遅延冷蔵PCとの間で, 血小板数に有意な差は認められなかったと報告している¹⁹⁾. Woodらの結果と本研究を含む前述の先行研究の結果との不一致の理由は明らかではないが, 抗凝固剤の種類の違いや, 施設間における血球分析装置の測定原理の相違など, 血小板数測定法の違いがその一因となっている可能性がある. グルコース濃度は, 対照群およびDCS2群ではDay 14まで, DCS5群ではDay 10まで, 検討した全例 ($n = 5$) において検出可能であった. グルコースの枯渇はDCS5群において最も速やかに認められたが, 一方でDCS5群のpHはDay 21までの期間を通じて最も高い値を示す傾向がみられた. 一般に, グルコース消費の増加およびそれに続く乳酸の蓄積は, PCの保存におけるpH低下に寄与する要因であると考えられている. しかし, 冷蔵保存PAS-PCと遅延冷蔵保存PAS-PCの*in vitro*品質を比較した先行研究においては, 遅延冷蔵保存PAS-PCでは保存期間中のグルコース濃度の低下がより速や

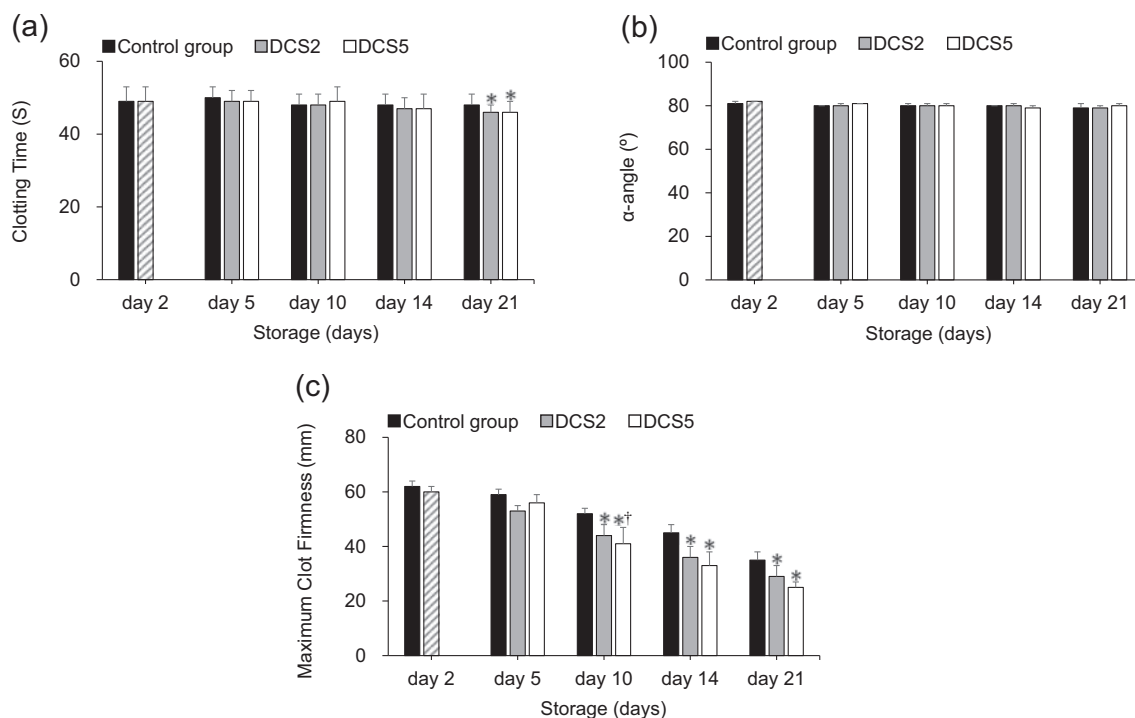


Fig. 4 The hemostatic capacity of PAS-PCs during 21 days of storage.

PAS-PCs were either stored cold for 21 days (control group, black column) or at room temperature for 2 days (DCS2, gray column) or 5 days (DCS5, white column) before cold storage. The striped column on Day 2 shows the measured value of a sample that was a mixture of equal amounts of DCS2 and DCS5. ROTEM was used to assess (a) the clotting time, (b) α -angle and (c) maximum clot firmness. The results are expressed as mean $\pm$ standard deviation (SD). Differences among the control, DCS2 and DCS5 groups at each time point from Day 10 onwards, and comparisons between the control group on Day 14 and the DCS2 and DCS5 groups on Day 10, were analysed using a one-way repeated measures analysis of variance (ANOVA) with Dunnett's post hoc test. p -values < 0.05 were considered to be significant ($n = 5$). * $p < 0.05$ versus the control group at the same time point. † $p < 0.05$ versus the control group on Day 14.

かに進行したものの、pHは冷蔵保存PAS-PCよりも遅延冷蔵保存PAS-PCにおいてDay 21まで概して高値を維持しており、その値は7.0以上に保たれていたことが報告されている²⁰⁾²²⁾。注目すべきことに室温で7日間保存した後に遅延冷蔵保存されたPCでは、Day 21までにグルコースが検出されなくなっていた²⁰⁾。本研究の結果は、これらの先行研究の所見と一致しており、それらを支持するものである。Day 21では、対照群において5例中2例で、またDCS2群およびDCS5群では全例において、グルコースが枯渇していた。しかしながら、そのような条件下においても、血小板凝集および血栓形成は一定程度観察された。これまでに、グルコース枯渇後であっても血小板凝集および低浸透圧ショック回復を示すことが報告されている³¹⁾。当該研究および本研究のいずれにおいても、*in vitro*品質評価に用いたPRPは、採血当日に採取し凍結保存した自己血漿を用いて血小板を再懸濁することにより調製した。従って、PRP中に存在するグルコースが、血小板凝集能および血栓形成能の部分的な回復に寄与した可能性が考えら

れる。このことから、Day 21のPCにおける臨床的有効性は現時点では不明であるものの、受血者体内の血漿中に存在するグルコースの影響を受けることにより、輸血された血小板が*in vivo*において一定程度の凝集能および血栓形成能を回復する可能性があると推察される。

血小板活性化マーカーは、Day 10からDay 21にかけて、対照群と遅延冷蔵保存群との間で有意な差を示さなかった、あるいは遅延冷蔵保存群において低値に維持されていた。すなわち、遅延冷蔵保存群におけるCD62P発現およびPSの表出は対照群と有意な差を示さず、PAC-1の結合は対照群と比較して遅延冷蔵保存群で低値であったという結果は、先行研究の報告と一致している¹⁹⁾。われわれの知る限り、遅延冷蔵保存群と対照群との間でCD63発現を比較した報告はこれまでにない。CD62PおよびCD63の発現増加は、それぞれ血小板における α 顆粒および濃染顆粒の分泌を反映することが知られている。血小板は活性化に伴い、輸血副反応に関与する因子を放出することが示されている^{32)~34)}。従っ

て、遅延冷蔵 PC における血小板由来因子に関連した輸血副反応のリスクは、冷蔵 PC と同程度、あるいはそれ以下である可能性が考えられる。

米国では、何らかの理由により室温保存血小板が使用できない場合、有効期間が 14 日の冷蔵 PC が出血治療に使用されることがある¹³⁾。本研究においては、DCS 2 群および DCS5 群において、少なくとも Day 14 まで、血小板数、pH、血小板活性化マーカー、ならびにリストセチン刺激による凝集能が、いずれも良好なレベルに維持されていた。DCS2 群では Day 14 まで、DCS5 群では Day 10 まで、検討したいずれの PAS-PC においてもグルコースの枯渇は認められなかった。また、Day 10 における DCS2 群および DCS5 群の ADP+コラーゲン同時刺激による凝集能および MCF は、Day 14 における対照群の値と顕著な差を示さなかった。従って、本研究結果から、採血後に 2 日または 5 日間室温で保存した後に冷蔵した血小板は、Day 10 まで保存可能であることが示唆された。

遅延冷蔵 PC の *in vitro* 特性を検討した研究において、Wood ら¹⁹⁾は、採血翌日から冷蔵保存した PC と、採血後 4 日間室温で保存した後に冷蔵保存した PC の活性化マーカー発現および凝集能 (ADP またはコラーゲン刺激) が採血後 21 日まで、同程度に維持されていたことを示した。Braathen ら²⁰⁾は、採血当日から冷蔵保存した PC と、採血後 7 日間室温保存した後、Day 21 まで冷蔵保存した PC とを比較した。彼らは、Day 7 に遅延冷蔵を開始した場合には、採血当日から冷蔵保存された PC と比較して品質が劣ることを報告している。さらに Braathen ら²²⁾は、採血翌日から冷蔵保存した PC と、採血後 5 日間室温保存した後に冷蔵保存し、採血後 21 日まで保存した PC とを比較した。その結果、遅延冷蔵 PC では、アラキドン酸刺激および TRAP 刺激による凝集能の低下が認められたものの、採血後 14 日までグルコースの枯渇は認められず、さらに刺激に対する CD62P 発現の増加は維持されていた。これらの所見は、遅延冷蔵 PC が採血後 14 日まで保存可能である可能性を示唆するものである。本研究に加え、上述の先行研究との間には、実験方法にいくつか違いがある。PAS-PC の採血については、本研究および Braathen ら²⁰⁾の研究では成分採血由来 PC を使用したのに対し、他の研究では全血由来 PC を使用していた¹⁹⁾²²⁾。また、対照群における冷蔵開始時期については、本研究および Braathen ら²⁰⁾では採血当日から冷蔵を開始したのに対し、他の研究では採血翌日から冷蔵を開始した¹⁹⁾²²⁾。さらに、PAS-PC における血漿と PAS の比率は、本研究では 35 : 65 であったのに対し、先行研究では 30 : 70¹⁹⁾、37 : 63²⁰⁾、および 42 : 58²²⁾であった。本研究における血小板濃度は約 $1,220 \times 10^9/l$ であったのに対し、先行研

究では約 $900 \times 10^9/l$ ¹⁹⁾、 $1,330 \times 10^9/l$ ²⁰⁾、および $980 \times 10^9/l$ ²²⁾であった。これら 3 報の研究のうち、Braathen ら²⁰⁾は内因系因子の活性化を用いて粘弾性を評価していた一方、本研究では外因系刺激を用いて凝固能を評価した。これらの相違点により、本研究の結果を先行研究の所見と直接比較することは困難である。本研究の結果が保存可能期間を 10 日までと示唆したのに対し、Wood らは冷蔵 PC と遅延冷蔵 PC との間に、21 日まで品質に有意な差は認められなかったと報告しており¹⁹⁾、また Braathen らは遅延冷蔵 PC の保存期限を 14 日とする可能性を示唆している²²⁾。これらの結果の相違を説明し得る要因の一つとして、血小板濃度の違いが考えられる。一般に、血小板濃度が高いほど代謝が亢進し、血小板機能の低下を招くことが知られている。そのため、本研究において DCS2 群および DCS5 群の血小板濃度を先行研究と同程度の値に低下させることにより、保存期間は 14 日あるいは 21 日まで延長される可能性があると考えられる。

Klompas ら³⁵⁾は、採血後 5 日間室温で保存した後、Day 14 まで冷蔵保存した PC 300 バッグを輸血に使用した。彼らは、血小板数の増加は十分ではなかったものの、緊急使用は可能であったと結論づけている³⁵⁾。従って、本研究において示された、採血後に 2 日または 5 日間室温保存した後に冷蔵した血小板は Day 10 まで保存可能であるという結論は、否定されるものではないと考えられる。冷蔵 PC の有用性に関するエビデンスはこれまでに数多く蓄積されており、それに伴う課題も次第に明らかになってきているが、遅延冷蔵 PC の臨床的有用性に関する情報は依然として限られている³⁶⁾。冷蔵を遅延させた PC に最適な採血方法 (成分採血由来または全血採血由来)、添加液の種類、血漿含量、および血小板濃度を確立するためには、進行中の臨床試験の結果を含め、さらなるデータの蓄積が必要である。

著者の COI 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

謝辞：本研究の実施にあたり、ご協力いただいた当施設の職員、研究協力ドナーならびに関係者の皆様に深く感謝申し上げます。また、原稿作成に際しご助言いただいた、北海道ブロック血液センター 平山順一氏および Haukeland University Hospital Hanne Braathen 氏に深謝いたします。さらに、添加液 (T-PAS⁺) をご提供いただいた Terumo BCT にも御礼申し上げます。

研究資金：本研究は日本赤十字社からの支援を除き、特定の研究資金提供を受けていない。

文 献

- 1) Stolla M, Bailey SL, Fang L, et al: Effects of storage time prolongation on in vivo and in vitro characteristics of 4°C-stored platelets. *Transfusion*, 60: 613—621, 2020.

- 2) Murphy S, Gardner FH: Effect of storage temperature on maintenance of platelet viability. *N Engl J Med*, 280: 1094–1098, 1969.
- 3) Becker GA, Tuccelli M, Kunicki T, et al: Studies of platelet concentrates stored at 22°C and 4°C. *Transfusion*, 13: 61–68, 1973.
- 4) Vostal JG, Gelderman MP, Skripchenko A, et al: Temperature cycling during platelet cold storage improves in vivo recovery and survival in healthy volunteers. *Transfusion*, 58: 25–33, 2018.
- 5) Currie LM, Harper JR, Allan H, et al: Inhibition of cytokine accumulation and bacterial growth during storage of platelet concentrates at 4°C with retention of in vitro functional activity. *Transfusion*, 37: 18–24, 1997.
- 6) Johnson L, Tan S, Wood B, et al: Refrigeration and cryopreservation of platelets differentially affect platelet metabolism and function: a comparison with conventional platelet storage conditions. *Transfusion*, 56: 1807–1818, 2016.
- 7) Skripchenko A, Gelderman MP, Awatefe H, et al: Automated cold temperature cycling improves in vitro platelet properties and in vivo recovery in a mouse model compared to continuous cold storage. *Transfusion*, 56: 24–32, 2016.
- 8) Nadir PM, Pandya SG, Dallo SF, et al: Platelets stored at 4°C contribute to superior clot properties compared to current standard-of-care through fibrin-crosslinking. *Br J Haematol*, 178: 119–129, 2017.
- 9) Getz TM, Montgomery RK, Bynum JA, et al: Storage of platelets at 4°C in platelet additive solution prevents aggregate formation and preserves platelet functional responses. *Transfusion*, 56: 1320–1328, 2016.
- 10) Nogawa M, Watanabe N, Koike T, et al: Hemostatic function of cold-stored platelets in a thrombocytopenic rabbit bleeding model. *Transfusion*, 62: 2304–2313, 2022.
- 11) Strandenes G, Sivertsen J, Bjerkvig CK, et al: A pilot trial of platelets stored cold versus at room temperature for complex cardiothoracic surgery. *Anesthesiology*, 133: 1173–1183, 2020.
- 12) Braathen H, Hagen KG, Kristoffersen EK, et al: Implementation of a dual platelet inventory in a tertiary hospital during the COVID-19 pandemic enabling cold-stored apheresis platelets for treatment of actively bleeding patients. *Transfusion*, 62: S193–S202, 2022.
- 13) Guidance document issued by the U.S. Food and Drug Administration in 2023: Alternative procedures for the manufacture of cold-stored platelets intended for the treatment of active bleeding when conventional platelets are not available or their use is not practical. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/alternative-procedures-manufacture-cold-stored-platelets-intended-treatment-active-bleeding-when> (2025/11 accessed).
- 14) Taylor AL, Corley JB, Cap AP, et al: The U.S. Armed Services Blood Program support to U.S. Central Command 2014-2021: transformation of combat trauma resuscitation through blood product innovation and expansion of blood availability far forward. *Transfusion*, 62: S167–S176, 2022.
- 15) Neal MD, Okonkwo DO, Guyette FX, et al: Early cold-stored platelet transfusion following traumatic brain injury: a randomized clinical trial. *Ann Surg*, 281: 796–805, 2025.
- 16) Sperry JL, Guyette FX, Rosario-Rivera BL, et al: Early cold stored platelet transfusion following severe injury: a randomized clinical trial. *Ann Surg*, 280: 212–221, 2024.
- 17) Zantek ND, Steiner ME, VanBuren JM, et al: Design and logistical considerations for the randomized adaptive non-inferiority storage-duration-ranging CHilled Platelet Study. *Clin Trials*, 20: 36–46, 2023.
- 18) CHilled Platelet Study “CHIPS” (CHIPS). <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04834414> (2026 / 2 accessed).
- 19) Wood B, Johnson L, Hyland RA, et al: Maximising platelet availability by delaying cold storage. *Vox Sang*, 113: 403–411, 2018.
- 20) Braathen H, Sivertsen J, Lunde THF, et al: In vitro quality and platelet function of cold and delayed cold storage of apheresis platelet concentrates in platelet additive solution for 21 days. *Transfusion*, 59: 2652–2661, 2019.
- 21) Warner MA, Kurian EB, Hammel SA, et al: Transition from room temperature to cold-stored platelets for the preservation of blood inventories during the COVID-19 pandemic. *Transfusion*, 61: 72–77, 2021.
- 22) Braathen H, Felli Lunde TH, Assmus J, et al: In vitro quality of cold and delayed cold-stored platelet concentrates from interim platelet units during storage for 21 days. *Vox Sang*, 118: 463–470, 2023.

- 23) Bartoszko J, Peer M, Grewal D, et al: Delayed cold-stored vs. room temperature stored platelet transfusions in bleeding adult cardiac surgery patients—a randomized multicentre pilot study (PLTS-1). Pilot Feasibility Stud, 10: 90, 2024.
- 24) Delayed cold-stored platelets-PLTS-1 (PLTS-1). <https://clinicaltrials.gov/study/NCT06147531> (2026/2 accessed).
- 25) Tobian AAR, Fuller AK, Uglik K, et al: The impact of platelet additive solution apheresis platelets on allergic transfusion reactions and corrected count increment. Transfusion, 54: 1523—1529, 2013.
- 26) Van der Meer PF, Korte D: Platelet additive solution: a review of the latest developments and their clinical implications. Transfus Med Hemother, 45: 98—102, 2018.
- 27) Spelmink SE, Jager ST, van de Watering L, et al: Efficacy and safety of platelet additive solution-E stored platelet concentrates. Transfusion, 63: 2273—2280, 2023.
- 28) Johnson L, Vekariya S, Wood B, et al: The in vitro quality of X-irradiated platelet components in PAS-E is equivalent to gamma-irradiated components. Transfusion, 61: 3075—3080, 2021.
- 29) Johnson L, Roan C, Costa M, et al: Gamma and X-ray irradiation do not affect the in vitro quality of refrigerated apheresis platelets in platelet additive solution (PAS-E). Transfusion, 62: S43—S52, 2022.
- 30) Johnson L, Vekariya S, Wood B, et al: Refrigerated of apheresis platelets in platelet additive solution (PAS-E) supports in vitro platelet quality to maximize the shelf-life. Transfusion, 61: S58—S67, 2021.
- 31) 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.
- 32) Wakamoto S, Fujihara M, Kuzuma K, et al: Biological activity of RANTES in apheresis PLT concentrates and involvement in nonhemolytic transfusion reactions. Transfusion, 43: 1038—1046, 2003.
- 33) Chen BZ, Xia R: Pro-inflammatory effects after platelet transfusion: a review. Vox Sang, 115: 349—357, 2020.
- 34) Liu C, Su Y, Guo W, et al: The platelet storage lesion, what are we working for? J Clin Lab Anal, 38: e24994, 2024.
- 35) Klompas AM, Zec S, Hanson AC, et al: Postoperative transfusions after administration of delayed cold-stored platelets versus room temperature platelets in cardiac surgery: a retrospective cohort study. Anesthesiology, 139: 153—163, 2023.
- 36) Mahajan J, Padula MP, Marks DC, et al: Cold-stored platelets: revisiting assumptions and addressing variability to support implementation. Front Med, 12: 1743750, 2025.

EFFECTS OF THE START DATE OF REFRIGERATION ON FUNCTIONS OF DELAYED COLD-STORED PLATELETS

Hisae Fuse¹⁾, Shinobu Wakamoto¹⁾, Fuminori Arisawa¹⁾, Takumi Kanashiki²⁾, Mitsuhiro Fujihara²⁾, Mitsuaki Akino¹⁾ and Yoshihiro Torimoto¹⁾

¹⁾Japanese Red Cross Hokkaido Block Blood Center

²⁾Japanese Red Cross Hokkaido Block Blood Center (former)

Keywords:

Cold-stored platelet, delayed cold-stored platelet, additive solution, T-PAS +