原著

自動血液分離装置 KL-120 の開発と評価

本間 稚 広* 中 條 聖 子* 千 葉 清 司*
 広 田 淳*² 樽 田 佳 章*² 丹 生 正 徳*²
 筏 宏 臣*² 高 橋 恒 夫* 関 口 定 美*

Development and Evaluation of Automatic Blood
 Components Separator KL-120

Chihiro Homma, Satoko Nakajo*, Seiji Chiba*,
 Jun Hirota*², Yoshiaki Taruta*², Masanori Nibu*²
 Hiroomi Ikada*² Tsuneo A. Takahashi* and
 Sadayoshi Sekiguchi**

** Hokkaido Red Cross Blood Center
 Yamanote 2-2, Nishi-ku, Sapporo*

**²Kawasumi Laboratories, Inc.
 Yokoyamadai 1-26-7, Sagami-hara, Kanagawa*

Abstract

A new type automatic blood separator for preparing blood products was developed and evaluated. The separator, KL-120, was framed to reduce complicated operations for preparing buffy coat poor red cell concentrate (BPRCC), and to make standardized blood products.

It has not only parallel pressure system to press centrifuged whole blood bag but vacuum suction system for absorbing fresh plasma (FP) and/or buffy coat (BC). As both system can work at the same time, the time to separate FP and BC from centrifuged whole blood was shortened. It has another automatic systems, breaking click tips and sealing tubings.

We prepared BPRCC (BPRCC-200), platelet concentrate (PC-200) and FP (FP-200) from whole blood which derived from 200 ml of collected blood by this separator (n=10). Red cell recovery, white cell and platelet reduction in BPRCC were $87.1 \pm 2.1\%$, $64.4 \pm 4.7\%$, $82.0 \pm 4.7\%$, respectively. Platelet recovery of PC was $40.0 \pm 4.9\%$ to whole blood, and 95.4 ± 6.2 ml of FP was obtained.

We prepared BPRCC (BPRCC-400), platelet concentrate (PC-400) and FP (FP-400) from

* 北海道赤十字血液センター

*² 川澄化学工業㈱

(原稿受付：1992年6月19日)

(2) 医器学 Vol. 62, No. 8 (1992)

whole blood which derived from 400 ml of collected blood by this separator ($n=20$). Red cell recovery, white cell and platelet reduction in BPRCC were $87.6 \pm 1.3\%$, $66.3 \pm 7.5\%$, $87.0 \pm 6.3\%$, respectively. Platelet recovery of PC was $41.4 \pm 4.5\%$ to whole blood, and 198.2 ± 10.6 ml of FP was obtained.

The separation time for primary separation, preparing BPRCC-200, FP-200 and BC-200 from whole blood, was 72.8 ± 2.8 seconds ($n=13$), and for secondary separation, PC from BC and sealing, was more than 23.1 ± 1.1 seconds ($n=13$).

The separation time for primary separation, preparing BPRCC-400, FP-400 and BC-400 from whole blood, was 90.0 ± 2.9 seconds ($n=13$), and for secondary separation, PC from BC and sealing, was more than 23.0 ± 1.2 seconds ($n=13$).

From our experiments, comparing with manual preparation, this separator has some advantages, stable separation capacity and smooth operations. Thus, we conclude thae this separator is possible to prepare blood components (BPRCC, plasma, PC) from the whole blood with high efficiency and should contribute to eliminate the tedious work and to save labor time in blood centers.

〔はじめに〕

近年成分輸血が普及し一般的になっているが、成分製剤の頻回輸血による副作用の発現が起ることがある。その原因と思われるものに成分製剤中に混在する白血球が考えられ¹⁻³⁾、それらは非溶血性発熱反応^{4,5)}、同種免疫感作、ウィルス感染、移植片対宿主反応 (GVHD)⁶⁾ などの副作用を引き起こす。200 ml および 400 ml 由来濃厚赤血球 (CRC) には各々 $12.1 \pm 2.2 \times 10^8$ 個, $23.7 \pm 8.2 \times 10^8$ 個の白血球が混在する⁷⁾。また CRC は全血から CRC と乏血小板血漿 (PPP) を分画した 2 分割由来のものと、濃厚血小板 (PC) をも分画した 3 分割由来のものがあり、それぞれの CRC のヘマトクリット値および成分含量が異なる⁸⁾。

平成 4 年 1 月に赤血球保存液 MAP (Mannitol-Adenine-Phosphate) が認可になり、MAP 加濃厚赤血球 (MAP-CRC) の供給が可能になった。4 連バッグシステムによる MAP-CRC は、重遠心した全血から血漿の大部分を回収した後、Buffy Coat を除き MAP 液を添加する。したがって白血球および血漿の混在が少なく、副作用の軽減が期待される。

また Buffy Coat からの PC 調製 (Buffy Coat 法) では、調製された PC は凝集塊をつくりづらいので血小板の損傷が軽減されている⁹⁾。

しかし 4 連バッグシステムによる赤血球保存液添加 CRC の調製は、操作の煩雑性および製剤の均一性に問題があり、そのルーチン化が難しかった。しかし、現在数種の自動血液分離装置が開発されルーチン化が可能になりつつある。

今回 4 連バッグシステム MAP-CRC 調製のルーチン化を目的とし、ほかの機種と比較して作業性、品質性が高い自動血液分離装置 KL-120 を開発し、評価を行ったので報告する。

〔材料と方法〕

I. 自動血液分離装置

本体の外観を図 1 に示した。本装置は、1)

図 1

図 2

(4) 医器学 Vol. 62, No. 8 (1992)

血液バッグ装置部 4 箇所, 2) シーラー部, 3) 操作パネルから構成されている. 装着場所を図 2 に示した.

親バッグセット部でのバッグ加圧方法は, Buffy Coat 量を正確に採取するために上部 (130 mm×50 mm), 下部 (130 mm×100 mm) 2 枚のプレートによる分離方式を採用し, フロントカバー面に平行移動しバッグを加圧する. 上部および下部プレートの圧力は, それぞれ 6 kg, 4 kg である. 上部プレートの最終移動範囲は, カバー面から 6 mm と 12 mm に選択可能である. 上部プレートが移動し, 下部プレートで設定量採取まで加圧し分画する. 上部プレート中央には, 連通ピース下より 10 mm のところから 5 mm 間隔で 5 個の赤外線センサーが設置され, 血漿と Buffy Coat 層の界面を感知し次の分画操作に移る. 血漿分画バッグ部および Buffy Coat 分画バッグ部は, 重量センサーを内蔵した減圧吸引によって分画秤量を行う.

MAP バッグセット部は, MAP 添加時に連通ピースを機械的に折り, MAP 添加回路を解放する自動連通ピース折り機能を備え, バッグを加圧して MAP 添加時間を速める工夫をしている.

分画終了後に連結チューブを自動的にシールする機能を備えており, バッグの取り外しを容易にした.

II. 原料血液の調製と分画調製

保存液 CPD 液 28 ml, 56 ml (Citrate-Phosphate-Dextrose) 入り採血バッグでそれぞれ採血した 200 ml, 400 ml 全血を MAP 入り 4 連バッグに (川澄化学, 東京) の親バッグに移した.

各々の全血を遠心分離機 (KUBOTA 9810, 久保田商事, 東京) で 3,280×g 6 分¹⁰⁾, 4,540×g 6 分¹¹⁾ 遠心後, KL-120 自動分離器で第一分離を行い, MAP-CRC, PPP, Buffy Coat に分画した.

KL-120 の設定条件は, 200 ml 全血では界面センサー 15 mm で血漿分離を行い, Buffy Coat を 22 g 採取し, PPP を 22 g 加えた. 次に MAP 液を 50 ml 濃厚赤血球に添加した.

400 ml 全血の設定は, 界面センサー 10 mm, Buffy Coat 採取 38 g, PPP 採取 45 g とし, MAP 液を 95 ml 濃厚赤血球に添加し, 調製した. 200 ml および 400 ml 全血由来 Buffy Coat からの血小板分離を目的とした第二分離では, Buffy Coat バッグを各々 230×g 6 分, 280×g 6 分遠心し, PC 21 g, 42 g を分画した.

III. 血球計数法

各血液製剤中の血球成分, 赤血球数, 総白血球数, 血小板数, ヘマトクリット値の測定は, Coulter Counter Model S-plus IV (Coulter Electronics, Hialeah, USA) を使用した.

1) 血液分離動作時間の測定

第一分離及び第二分離の分離時間を測定し平均所要時間とその標準偏差を求めた. 第一分離は KL-120 に採血バッグを装着し, 次の操作時間を連続的に測定した.

①「開始」スイッチを押してから界面センサー感知, ②界面センサー感知から Buffy Coat 採取, ③Buffy Coat バッグに PPP の移行, ④MAP 液を濃厚赤血球に移行, ⑤連結チューブのシールとし, それらを第一分離時間とした. 第二分離は Buffy Coat バッグを装着し, 開始から分離完了およびシールまでを分離時間とした.

〔結 果〕

I. 分画血液製剤の性状

1) 200 ml 全血由来製剤

MAP-CRC の容量は 135.7 ± 8.8 ml ($n=10$), ヘマトクリット値 $61.6 \pm 2.4\%$, 総白血球数 $5.3 \pm 1.7 \times 10^8$, 赤血球数 $86 \pm 7 \times 10^{10}$, 血小板数 $11 \pm 4 \times 10^9$, であった (表 1). 全血からの白血球除去率は $64.4 \pm 4.7\%$, 赤血球回収率 $87.1 \pm 2.1\%$, 血小板除去率は $82.0 \pm 4.7\%$, であった.

PC の容量は 23.1 ± 1.2 ml, 総白血球数 $2.6 \pm 1.8 \times 10^6$, 赤血球数 $3 \pm 2 \times 10^8$, 血小板数 $23 \pm 4 \times 10^9$ であった. また全血からの血小板回収率は $40.0 \pm 4.9\%$ であった.

PPP の容量は 95.4 ± 6.2 ml, 総白血球数 $7 \pm 4 \times 10^6$, 赤血球数 $1.7 \pm 1.1 \times 10^8$, 血小板数

表 1 製 剤 中 の 成 分 含 量

		200 ml由来 (n=10)	400 ml由来 (n=20)
MAP-CRC	容量	135.7±8.8 (ml)	270.2±10.8 (ml)
	Ht	61.6±2.4 (%)	59.9±1.6 (%)
	総白血球数 除去率	5.3±1.7 (×10 ⁸) 64.4±4.7 (%)	9.9±3.5 (×10 ⁸) 66.3±7.5 (%)
	赤血球数 回収率	86±7 (×10 ¹⁰) 87.1±2.1 (%)	17.0±1.4 (×10 ¹¹) 87.6±1.3 (%)
	血小板数 除去率	11±4 (×10 ⁹) 82.0±4.7 (%)	14±5 (×10 ⁹) 87.0±6.3 (%)
PC	容量	23.1±1.2 (ml)	41.4±1.2 (ml)
	総白血球数	2.6±1.8 (×10 ⁶)	4.5±3.2 (×10 ⁶)
	赤血球数	3±2 (×10 ⁸)	10±6 (×10 ⁸)
	血小板数 回収率	23±4 (×10 ⁹) 40.0±4.9 (%)	48±7 (×10 ⁹) 41.4±4.5 (%)
PPP	容量	95.4±6.2 (ml)	198.2±10.6 (ml)
	総白血球数	7±4 (×10 ⁶)	1.8±1.1 (×10 ⁷)
	赤血球数	17±11 (×10 ⁷)	31±21 (×10 ⁷)
	血小板数	24±16 (×10 ⁸)	51±15 (×10 ⁸)

表 2 血液自動分離装置 (カワスミ KL-120) の分離に要する時間動作時間

第一分離

	分離開始～界面センサー感知	B C 採 取	P P P 移 行	M A P 移 行	シ ー ル 完 了	分離開始～シール完了
400	20.9±0.9	13.6±0.7	10.5±0.8	39.0±2.5	5.6±0.7	90.0±2.9

(秒)

第二分離

	分離開始～分離完了	分離開始～シール完了
400	36.6±5.0	40.0±4.8

(秒)

2.4±1.6×10⁹ であった。

2) 400 ml 全血由来製剤

MAP-CRC の容量は 270.2±10.8 ml (n=20), ヘマトクリット値 59.9±1.6%, 総白血球数 9.9±3.5×10⁸, 赤血球数 17.0±1.4×10¹⁰, 血小板数 14±5×10⁹ であった。また全血からの白血球除去率は 66.3±7.5%, 赤血球回収率 87.6±1.3%, 血小板除去率 87.0±6.3% であった。

PC の容量は 41.4±1.2 ml, 総白血球数 4.5±3.2×10⁶, 赤血球数 10±6×10⁸, 血小板数 48±7×10⁹ であった。全血からの血小板回収率は 41.4±4.5% であった。

PPP の容量は 198.2±10.6 ml, 総白血球数 1.8±1.1×10⁷, 赤血球数 3.1±2.1×10⁸, 血小板数 5.1±1.5×10⁹ であった。

II. 血液分画の調製に要する時間

200 ml および 400 ml 全血を分画調製に要

(6) 医器学 Vol. 62, No. 8 (1992)

する時間は、分離開始からシール終了までとした。第一分離では各々 72.8 ± 2.8 秒, 90.0 ± 2.9 秒, 第二分離では, 23.1 ± 1.1 秒 23.0 ± 1.2 秒, であった (表 2)。

〔考 察〕

成分製剤の調製は、通常遠心操作を行い分離スタンドと台ばかりなどの計量器を使用し、人間の目と経験によって行われている。血液の分離操作もマニュアル操作可能な 2 分画を基本としている。重遠心後の濃厚赤血球と PPP 分画, 軽遠心後の濃厚赤血球と PRP, および PC と PPP がそれである。

しかし 4 連バッグシステムによる分画では、全血から濃厚赤血球, PPP, Buffy Coat の 3 分画を行い、さらに濃厚赤血球に MAP 液を添加する操作が加わる。また高い白血球除去率を得るために Buffy Coat 分画量と PC 量 (20 ml, 40 ml) を分画するために PPP の移行量を正確に秤量される必要があり、血液分離の自動化が望まれる。本分離器には、 $\pm 0.5\%$ 精度を持つ重量センサーを採用して、ばらつきの少ない血液分画を得ることを可能にさせた。

第二分離の遠心条件を設定するために Buffy Coat バッグ内のヘマトクリット値を一定にする必要がある¹⁰⁾。上部プレートが親バッグを 12 mm の厚さまで加圧し固定する。バッグの厚さを常時一定にして Buffy Coat 層を分画することによって、全血の採血量およびヘマトクリット値に影響されずに一定の Buffy Coat 層の分画が可能となった。すなわちバッグの厚さを一定にすることで、界面センサーが感知した時の上清血漿量が一定となり、同じヘマトクリットの Buffy Coat が得られる。

血漿層と血球層の界面は赤外線センサーによって感知される。また界面センサーは、白濁血漿および血球の舞い上がりなどによる誤操作が発生ないように工夫されている。それは赤外線センサーが発する赤外線が血液成分に反射し、それを電圧量として記憶する。他の成分との電圧量の差により界面と認知しセンサーが作動するように設定されている。

Buffy Coat 分画では、赤血球のロスを少な

くし、白血球、血小板を高率に回収しなければならない。そのためには加圧による Buffy Coat 分画速度を調整する必要がある。なぜなら Buffy Coat 層を分画するときに強くバッグを加圧すると、バッグ内圧が高まり血液が連通ピース口に集中する。連通ピース下の Buffy Coat 層を赤血球が押し上げ、Buffy Coat を両側へ分散させるような対流が起こる。その結果赤血球のロスが多く、白血球、血小板の回収率が下がる。したがって分画速度を低くするか、Buffy Coat の回収を妨げる対流を起こさないなどの方法が必要である。しかし分離速度を低くすることは、作業性を著しく低下させる。分離器では、PPP バッグおよび Buffy Coat バッグ装着部に減圧吸引システムを採用している。PPP 分画は 125 mmHg の減圧吸引によって分離時間を短縮し、Buffy Coat 分画するときは 40 mmHg に減圧して、白血球、血小板の回収率を高めるように設定されている。Buffy Coat から PC を分画する場合、軽遠心で界面が緩やかなために血球成分の混入が予想される。そこで上部プレートの加圧のみで間欠的に行うことによって、Buffy Coat バッグの内圧を高めず血球の舞い上がりをなくすように工夫した。血液分画プログラムの設定および選択は、すべて全面操作パネルでおこない分画動作中の重量をデジタル表示している。血液分画中に異常を生じた場合は、アラームで知らせ動作を停止して全てのクランプが閉じる。さらに分離続行する場合は、マニュアル操作により継続することが可能である。

このほかの機能である自動連通ピース折り、平行加圧による MAP 液添加によって分離時間の短縮をし、自動チューブシーラーを装備し極力マニュアル操作を少なくした。

4 連バッグシステム対応の自動分離器は、諸外国を含め幾種か紹介されており良好な成績を上げている¹¹⁾。しかし諸外国の自動分離器では日本の献血制度である 200 ml, 400 ml の容量の異なる血液の対応は困難なところがある。

KL-120 で調製した MAP-CRC の白血球除去率は、200 ml, 400 ml $64.4 \pm 4.7\%$, $66.3 \pm 7.5\%$, 赤血球回収率それぞれ $87.1 \pm 2.1\%$,

87.6±1.3% と安定しており容量による分離性能は変わらないことを示唆している。また1バッグ中に混在する総白血球数はそれぞれ $5.3 \pm 1.7 \times 10^8$, $9.9 \pm 3.5 \times 10^8$ であり輸血による副作用の予防と microaggrigate の減少に有効であると思われる。

Buffy Coat 法による PC の調製が容易で、分離時間が短く、操作が簡単であり作業性においても有用であると考ええる。

〔結 語〕

煩雑な4連バッグシステムによる血液の分離操作は、KL-120によって輸血副作用の予防を目的とする Buffy Coat 除去赤血球の高い品質性と簡便な操作性が可能になった。マニュアル分離のように、分離者に熟練度を必要とせず安定した分離が可能であり、血液製剤の調製業務に有用であると思われる。

文 献

- 1) 池田康夫, 半田 誠: 血液製剤からの白血球除去. *Immunohaematology*, 11: 145-152, 1989.
- 2) Synder, E. L.: Clinical use of white cell-poor blood components. *Transfusion*, 29: 568-571, 1989.
- 3) Sekiguchi, S. and Takahashi, T. A.: Leukocyte-depleted blood products and their clinical usefulness. In Brozovic, B. (Ed.): *The role of leukocyte depletion in blood transfusion practice*, p. 26-34, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1989.
- 4) Shervin, V., Kevy, M. D., Paul, J., et al.: Febrile nonhemolytic transfusion reactions in their etiology. *Transfusion*, 2: 7-16, 1962.
- 5) Perkins, H. A., Payne, R., Ferguson, J., et al.: Nonhemolytic febrile transfusion reactions. *Vox Sang.*, 11: 578-600, 1966.
- 6) 山下正徳: 輸血による Graft-versus-Host Disease (GVHD). *日本輸血学会雑誌*, 33: 568-575, 1987.
- 7) 北海道赤十字血液センター 血液製剤品質管理情報, No. 1: 6, 1989.
- 8) 関口定美: 全血輸血と成分輸血, *外科*, 49 (11): 1306-1314, 1987.
- 9) 宇多正行, 岡田英俊, 石井昭夫, 西崎太計志: Non-button PC 法: 穏やかな条件を用いた血小板濃縮液の製造方法. *日本輸血学会雑誌*, 31: 385-390, 1985.
- 10) 本間稚広, 中條聖子, 千葉清司, 広田 淳, 樽田佳章, 丹生正徳, 筏 宏臣, 高橋恒夫, 関口定美: 減圧吸引方式を用いた自動血液分離装置による血液成分調製の検討. *日本血液事業学会誌*, 15: 171-174, 1992.
- 11) 中條聖子, 千葉清司, 高橋恒夫, 関口定美: トップ&ボトムバッグシステムによる血液製剤の調製. *日本輸血学会雑誌*, 38: 392-400, 1992.