ポリオレフィン系バッグによる血小板保存

平野 武道 半田 誠 池田 康夫

慶応義塾大学医学部輸血センター

石川 善英 小川 篤子 笹川 滋

日赤中央血液センター

(平成2年9月4日受付)

IN VITRO AND IN VIVO FUNCTIONS OF PLATELETS STORED IN A POLYOLEFIN BLOOD BAG

Takemichi Hirano, Makoto Handa and Yasuo Ikeda

Blood Center, Keio University Hospital

Yoshihide Ishikawa, Atsuko Ogawa and Shigeru Sasakawa

Japanese Red Cross Central Blood Center

Platelet concentrate (PC) was prepared in triple-unit bags which has a 30 ml satellite bag made of polyolefin (PO), and stored in the PO bag for 120 hours at room temperature. Plasma pH of PC stored in the PO-bag was higher than that stored in a PVC bag, although the decreases of plasma pH in both bags were slight. Platelet count, platelet volume and β -TG leakage were about equal to the control, but %HSR was apparently higher in the PO-bag. Aggregability was also higher in the PO-bag. Furthermore, in vivo recovery and survival of platelets stored in a PO-bag exceeded the results of a PVC bag. These results suggest that platelet functions are maintained well in PO-bag when pH decrease does not occur.

緒 言

現在濃厚血小板 (PC) の保存バッグとして DEHP (di-2-ethylhexyl phthalate) を可塑剤とした軟質ポリ塩化ビニル (PVC) バッグが用いられている。しかし400ml 全血由来 PC, アフェレーシス PC のような容量の多い製剤の増加, 保存期間の延長にともない, ガス透過性が高く, 血漿 pH を維持できるバッグが要求されるようになった。欧米ではポリオレフィン (PO) 製^{1)~3)}あるいは可塑剤を代えることによりガス透過性を高めた PVC 製バッグ^{4)~6)}がすでに用いられているが, 最近国内でも PO-バッグが開発され使用が可能となった。

清水ら⁷⁾はすでに PO-バッグにて保存したアフェレーシス PC について in vitro の詳細な検討を行い, 良好な成績を報告している。しかし PO-バッグでの400ml 由来 PC の保存を考えた場合,

DEHP の溶出がないため血小板の機能向上⁸⁾⁹⁾が期待できるものの, 血漿 pH の上昇による機能低下¹⁰⁾も考えられる。

今回我々は PO-バッグが400ml 由来 PC 保存用バッグとして適しているか否かを検討する目的で, 清水らが用いたバッグと同じ材質の PO-バッグを子バッグとした400ml 用トリプルバッグにつき, in vitro, in vivo の両面から保存血小板機能を測定したので報告する。

方 法

バッグ

軟質ポリ塩化ビニル (PVC) 製の, 56ml の CPD を含む400ml 親バッグ, 血漿用300ml 子バッグ, およびポリオレフィン (PO) 製の血小板用300ml 子バッグからなるトリプルバッグ (NTC-400L: ニッショー製) を用いた。

血小板の調製と保存

健常人より採血した CPD 加400ml 全血より、二段階の遠心操作 (1,150g, 5.5分; 2,590g, 5.5分) により40~45ml の濃厚血小板 (PC) を調製した。同型の PC 2単位を混合後、PO-バッグおよび PVC-バッグに40ml ずつ分注し、室温にて120時間まで60rpm の振盪保存を行った (n=4)。72時間保存後、各測定のため5ml をサンプリングした。

血小板機能の測定

PC から分離した血漿で PC を希釈し血小板濃度 $3.5 \times 10^5 / \mu\text{l}$, pH 7.4 の多血小板血漿 (PRP) を作製し、以下の in vitro 血小板機能検査を行った。

①凝集能: 4mM CaCl_2 存在下, $20 \mu\text{M}$ の ADP (ペーリンガー) および $5 \mu\text{g/ml}$ コラーゲン (Hormon-chemi) による最大凝集率を測定した。

②変形能: 5mM EGTA (1/10vol. 55mM EGTA) 存在下, $10 \mu\text{M}$ ADP (1/100vol. 1mM ADP) 添加により起こる変形を透過度変化率から求めた。

凝集および変形の測定には NKK Hematracer 1を用いた。

③浸透圧ショック回復率: 0.6ml の PRP に 0.3ml の生理食塩水 (T_0) あるいは蒸留水を添加し、最大透過率 ($T_{\max}$) および最大透過率から 2

分後の透過率 ($T_{\min}$) を測定した。 ($T_{\max} - T_{\min}$) / ($T_{\max} - T_0$) $\times 100$ を %HSR とした。測定は波長 610nm, 室温で行った。

④ β -TG: PC 中および血小板を除いた血漿中の β -トロンボグロブリン量を β -TG リアバック (アマーシャム) を用いて測定した。

輸血後寿命の測定

PRP に15% (v/v) の ACD を加え、1,150g, 5.5分の遠心により得られた血小板ペレットを20~30ml の乏血小板血漿 (PPP) に再浮遊し、これに1mCi の $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ を加え室温で1時間 incubate した。15% (v/v) ACD を加えた PPP にて血小板を1回洗浄後得られた血小板ペレットを30~40ml の PPP で再浮遊して、標識血小板 PC とした。その1ml をとり血小板数、放射活性を測定し、残りの PC は全て、量を測定後、ボランティア自身に輸注された。輸注直後、1, 2, 4時間後、以後毎日採血し、血小板中の放射活性を測定した。

結果と考察

PVC-バッグは透明度、柔軟性など血液バッグに適した特性を有している。一方、PO-バッグは柔軟性は不十分ではあるが、可塑剤溶出の心配がなく、PVC の約2倍のガス透過性を有している⁷⁾。

Fig. 1 血小板性状の保存による変化

○: PVC-バッグ, ●: PO-バッグ

バッグのガス透過性を反映し、血漿 pH は PO-バッグの方が高値であった (Fig. 1c). *in vitro* での検討の結果、血小板数、血小板体積、 β -TG 放出量 (Fig. 1a, b, d) の保存による変化にはバッグによる差はなく、バッグ材質そのものの血小板への影響はないように思われた。%HSR は PVC-バッグ中では保存時間と共にほぼ直線的に低下したのに対し、PO-バッグ中では高値を維持した。また凝集能、変形能もわずかな差ではあるが PO-バッグの方が低下が小さかった。

血漿 pH が保存中上昇し過ぎると血小板機能の低下がおきするため、保存中の適正 pH は 6.6~7.4 であることはすでに報告した¹⁰⁾。PVC-バッグではこの適正 pH の範囲に 120 時間まで維持されていたが、PO-バッグでは平均値で 7.4 を超えていた。PO-バッグあるいはガス透過性を向上させた PVC-バッグで保存した血小板が *in vitro*, *in vivo* 評価において優れているのは血漿 pH の低下が小さいためであることはよく知られている。しかし今回の我々の検討では DEHP を可塑剤とした PVC-バッグ中でも pH はよく維持されていた。これは保存した血小板量に対し PVC-バッグが十分なガス透過性を有していたためである。したがって PO-バッグでの高い血小板機能は血漿 pH、ガス透過性の影響では説明できない。%HSR は DEHP により大きく低下する⁹⁾¹¹⁾ため、バッグによる %HSR の顕著な差 (Fig. 1g) は DEHP の有無によるものと考えられる。その他の機能についても PO-バッグでは可塑剤が溶出しにくいことおよびバッグが比較的硬く、しかもバッグ内面が滑らなため振盪効率が高かったことが機能維持に有効に働いたものと考えられる。

PO-バッグ保存血小板の寿命測定の結果は Fig. 2 の通りである。72 時間保存においても $T_{1/2}$ は新鮮血小板のそれと変わりなく、120 時間保存においても 3 日と良好であった。我々が以前に行った PVC-バッグ保存血小板の成績¹²⁾より優っており、臨床でも十分に止血効果が期待し得るものと考えられた。

PO-バッグはその高いガス透過性を利用し PC 保存中の血漿 pH の低下を抑える目的で使用され

Fig. 2 ポリオレフィンバッグ保存血小板の輸注後回収率および体内寿命

ている。しかし血漿 pH の顕著な低下が起きない場合でも、PO-バッグで保存した血小板は *in vitro*, *in vivo* いずれの評価でも PVC-バッグを上回っており、PO-バッグを用いることにより PC 製剤の品質向上、有効期限の延長が可能であると考えられた。

文 献

- 1) Murphy, S., Kahn, R.A., Holme, S., Phillips, G. L., Sherwood, W., Davison, W. and Buchholz, D.H.: Improved storage of platelets for transfusion in a new container. *Blood*, 60: 194-200, 1982.
- 2) Wallvik, J. and Akerblom, O.: Platelet concentrates stored at 22°C need oxygen. The significance of plastics in platelet preservation. *Vox Sang.*, 45: 303-311, 1983.
- 3) Rock, G., Sherring, V.A. and Tittley, P.: Five-day storage of platelet concentrates. *Transfusion*, 24: 147-152, 1984.
- 4) Snyder, E.L., Ezkowitz, M., Aster, R., Murphy, S., Ferri, P., Smith, E., Rzad, L., Davison, W., Pope, C., Kakaiya, R. and Buchholz, D.H.: Extended storage of platelets in new plastic

- container. II. In vivo response to infusion of platelets stored for 5 days. *Transfusion*, 25: 209—214, 1985.
- 5) Champion, A.B., Chong, C. and Carmen, R.A.: Storage of platelets on flatbed agitators in polyvinyl chloride blood bags plasticized with tri (2-ethylhexyl) trimellitate. *Transfusion*, 27: 399—401, 1987.
- 6) Kenney, D.M., Peterson, J.J. and Smith, J.W.: Extended storage of single-donor apheresis platelets in CLX® blood bags: Effect of storage on platelet morphology, viability and in vitro function. *Vox Sang.*, 54: 24—33, 1988.
- 7) Shimizu, T., Kouketsu, K., Kamiya, T., Futagawa, H. and Hirose, S.: A novel second-generation polyolefin container for storage of single-donor apheresis platelets. *Vox Sang.*, 56: 174—180, 1989.
- 8) Ishikawa, Y., Honda, K., Sasakawa, S. Hatada, K. and Kobayashi, H.: Prevention of leakage of di-(2-ethylhexyl) phthalate from blood bags by glow discharge treatment and its effect on aggregability of stored platelets. *Vox Sang.*, 45: 68—76, 1983.
- 9) Ishikawa, Y. and Sasakawa, S.: Platelet storage in glow discharge-treated polyvinylchloride bags: Effects of a plasticizer on platelet hypotonic shock response. *Vox Sang.*, 47: 330—334, 1984.
- 10) 石川善英, 笹川 滋: 濃厚血小板保存における血漿 pH およびガス分圧の影響. *日輸血会誌*, 35: 415—418, 1989.
- 11) 石川善英, 笹川 滋, 畑田研司: 水素ガスグロー放電処理バッグの実用性の検討. *日輸血会誌*, 34: 611—614, 1988.
- 12) 池田康夫, 半田 誠, 小川哲平, 野村武夫, 檀 和夫, 外山圭助, 長沢 沢, 溝口秀昭, 増田道彦, 清水 勝, 緒方完治: 72時間保存濃厚血小板の臨床評価に関する多施設共同研究. *臨床血液*, 29: 818—824, 1988.
-