長期保存 MAP 加濃厚赤血球の有効性について

—Survival study—

笹川 滋¹⁾ 柴 雅之¹⁾ 西岡久壽彌¹⁾ 清水 勝²⁾

¹⁾日赤中央血液センター, ²⁾東京女子医大輸血部

(平成3年1月28日受付)

A SURVIVAL STUDY OF PRESERVED RED BLOOD CELLS IN MAP SOLUTION

S. Sasakawa¹⁾, M. Shiba¹⁾, K. Nishioka¹⁾ and M. Shimizu²⁾

¹⁾Japanese Red Cross Central Blood Center

²⁾Department of Blood Transfusion Medicine, Tokyo Women's Medical College

Plasma and buffy coat poor red cells suspended in MAP solution which contains mannitol, adenine, glucose, phosphate and citrate, were stored for 6 weeks at 4~6°C and survival studies were carried out in vivo.

The 24- and 48-hours autologous post-transfusion survivals of ⁵¹Cr-labeled red cells were 81.8 ± 4.3% and 77.5 ± 3.8% after 6 weeks storage (n=12), respectively.

This additive solution, MAP enabled red cells to store for up to 6 weeks and to provide the excellent red cell products.

1. 目 的

赤血球用添加液として SAGM (Höglman), ADSOL (Baxter Healthcare), Optisol (Terumo) はすでに欧米で利用され, 5~6週間保存赤血球の有効性が認められている¹⁾²⁾. MAP は我々が SAGM を改良したもので, 溶血が低く抑えられることが特徴である^{3)~6)}.

また, 白血球が赤血球製剤中に混在すると輸血副作用^{7)~9)}の主因となる他, microaggregate 産生¹⁰⁾或いは白血球中の酵素に依る赤血球膜蛋白質の分解¹¹⁾等赤血球製剤の品質にも影響する. 我々は, 4連 bag システムを用い buffy coat 法で白血球混入の少ない赤血球から MAP 加濃厚赤血球 (MAP-CRC) を製造し, in vitro においては6週間の保存が可能なることを示した⁶⁾. しかし, 保存期間を延長し, 臨床応用するためには保存赤血球の輸注後24時間生存率が70%以上であることが必要となる¹²⁾. そこで, 長期保存 MAP-CRC の輸血効果を判定するため健常人により輸注後生存率を求めたので報告する.

2. 方 法

6週間保存した MAP-CRC の輸注後24時間, 48時間生存率を求めるため, 健常人ボランティア男性12名より MAP 入り ACD 加4連血液 bag (テルモ; No. 900620GB, 川澄化学; No. 0625Y, 日本メディカルサプライ; No. 900702.11, ニッショー; No. 90F264Q 各3bag) に採血後, 自動分離装置で MAP-CRC を調製し, 4~6°C に6週間静置保存した.

輸注後24時間, 48時間生存率は⁵¹Cr ラベル法により求めた³⁾¹³⁾. 6週間保存した血液20ml に⁵¹Cr 酸注射液 (第一ラジオアイソトープ研究所) 約100 μCi を無菌的に加え, 37°C で30分加温した. 残存する⁵¹Cr を除くため生理食塩水で3回遠心洗浄し, ⁵¹Cr 標識赤血球とした (10ml). 自己の⁵¹Cr 標識赤血球5~10ml を被験者に静注し, 15分, 24時間, 48時間後に血液5ml を Na₂EDTA 採血し, 4~6°C で保存した. サンプル0.5ml を γ-カウンティングチューブ (3ml) に分取 (triplicate) するとともに Ht (%) を測定した. γ線放射性は

表1 6週間保存 MAP 加濃厚赤血球の輸注後24時間及び48時間生存率

検体番号	年齢 (歳)	24時間生存率 (%)	48時間生存率 (%)
1	34	83.2	79.9
2	23	80.8	78.7
3	25	79.5	76.8
4	34	88.5	78.0
5	39	81.2	76.7
6	39	83.0	80.5
7	43	76.0	71.4
8	45	79.5	75.4
9	50	88.9	79.5
10	31	86.6	85.2
11	25	74.7	70.2
12	31	79.3	78.0
Mean	35	81.8	77.5
±1SD	8	4.3	3.8
Range	23~50	74.7~88.9	70.2~85.2

24, 48時間後のサンプルが得られた後, 同日に γ カウンター(アロカ; ARC-500)で測定した. γ 線放射活性(counts per minute; cpm)を求め, ^{51}Cr 標識赤血球静注前の cpm をバックグラウンド cpm として差し引き net cpm に変換した. net cpm を Ht(%) で補正し赤血球 1ml 当たりの cpm に換算し net cpm/ml 赤血球を求め, 15分値を 0 時間値として次式により, 輸注後24時間, 48時間生存率を算出した. なお, 血漿中のカウントは無視できるものであったので, 血漿量の補正は行わなかった.

赤血球輸注後24, 48時間生存率 (%) =

$$\frac{\text{静注24, 48時間後の net cpm/ml 赤血球}}{\text{静注15分後の net cpm/ml 赤血球}}$$

×100

3. 結 果

6週間 4~6℃で静置保存した MAP-CRC の自己輸注後の24時間及び48時間生存率を表1に示した. 12名の男性の平均年齢は35歳であった. 輸注後24時間, 48時間の生存率は各々 $81.8 \pm 4.3\%$, $77.5 \pm 3.8\%$ (n=12) で, 24時間以降に急速に低下することはない. また, 最も低いものでも24時間後の生存率は74.7%であり, 血液の有効期限の基準となる輸注後24時間生存率が70%以上であることも示された.

4. 考 察

赤血球は保存により輸血後寿命は低下する. 変化の大きいものは大部分が輸血後早期に取り除かれ, 24時間後にはある程度生体内で生き延びうる赤血球が残る. そこで, 輸血24時間後の生体内生存率が70%以上であることが保存赤血球の最低必要条件とされている¹²⁾.

保存赤血球の生体内生存率は ATP レベル¹⁴⁾, 赤血球形態¹⁵⁾, 変形能或は浸透圧膜抵抗性¹⁶⁾に依存するといわれているが, 本液で6週間保存したこれら in vitro の指標は良好であった⁶⁾. 3週間保存した濃厚赤血球 (ACD-CRC) の輸注後24時間生存率は $83.1 \pm 8.4\%$ (n=6) である¹⁷⁾. これに対し, MAP 液で6週間保存した赤血球の24時間後の生存率は $81.8 \pm 4.8\%$ (n=12) であり 3週間保存 ACD-CRC と同等と考えられる. このことから MAP-CRC は6週間の保存が可能であろう.

輸注後寿命の測定法としてダブルラベル法, シングルラベル法が報告されている¹³⁾. 我々はダブルラベル法とシングルラベル法で有意差がないことからシングルラベル法を採用した. シングルラベル法では0時間値は外挿により求めることが推奨されているが, 今回は輸注後15分値を0時間値とした. これは, 生存率の高い検体では initial loss は少なく誤差が小さいと考えられたことによる. また, 輸注48時間後の生存率も77.5%という24時間値と大きな差がない値が得られた.

5. 結 語

6週間保存した MAP-CRC の輸注後24時間, 48時間生存率は各々 $81.8 \pm 4.3\%$, $77.5 \pm 3.8\%$ であった (n=12).

以上の結果より, MAP-CRC は6週間の保存が可能と考えられた.

謝辞 この研究のためにボランティアとして協力していただいた皆様に深謝いたします.

文 献

- 1) Högman, C.F., Akerblom, O., Hedlund, K., Rosén, I. and Wiklund, L.: Red cell suspensions in SAGM medium. Further experience of in vivo survival of red cells, clinical usefulness and plasma-saving effects. Vox Sang., 45: 217-223, 1983.

- 2) Heaton, A., Miripol, J., Aster, R., DeHart, D., Hartman, P., Rza, L., Davisson, W. and Buchholz, D.H.: 49 to 56 day storage of high hematocrit red cell concentrates using ADSOL™ preservation solution. *Transfusion*, 22: 432, 1982.
- 3) 柴 雅之, 笹川 滋, 小方英二, 清水 勝: アスコルビン酸2-リン酸 (AP) を含む赤血球保存液. *日輸血会誌*, 34: 551—557, 1988.
- 4) 柴 雅之, 村 徹, 笹川 滋: 赤血球保存のための新しい添加液. *日輸血会誌*, 35: 305, 1989.
- 5) 笹川 滋, 柴 雅之, 村 徹, 中島 隆, 鈴木洋司, 前田信治: 濃厚赤血球用添加液 MAP について. *日輸血会誌*, 37: 42—47, 1991.
- 6) 柴 雅之, 村 徹, 増山哲也, 長橋久方, 田山達也, 笹川 滋, 佐渡峯生, 大谷 卓, 安村 功, 川本昇司, 清水 勝: MAP 加濃厚赤血球の製造と長期保存試験. *日輸血会誌*, 37: 48—54, 1991.
- 7) Brittingham, T.E. and Chaplin, H. Jr.: Febrile transfusion reactions caused by sensitivity to donor leukocytes and platelets. *J. Am. Med. Ass.*, 165: 819—825, 1957.
- 8) Lang, D.J., Ebert, P.A., Rodgers, B.M., Bogges, H.P. and Rixse, R.S.: Reduction of postperfusion cytomegalovirus-infections following the use of leukocyte depleted blood. *Transfusion*, 17: 391—395, 1977.
- 9) 幸道秀樹, 浅野茂隆: 輸血による GVHR とその対策. *Immunohaematology*, 7: 143—148, 1985.
- 10) Högman, C.F. and Johansson, A.: A simple method for the preparation of micro-aggregate-poor whole blood. *Vox Sang.*, 40: 286—288, 1981.
- 11) Arend, P. and Malchow, H.: Antigenic alteration of red cells surfaces exposed to enzymatic actions of autologous polymorphonuclear leukocytes. *Vox Sang.*, 26: 344—360, 1974.
- 12) Simon, E.R.: Adenine in blood banking. *Transfusion*, 17: 317—325, 1977.
- 13) Moroff, G., Sohmer, P.R., Button, L.N. and Members of the Ad Hoc Committee: Proposed standardization of methods for determining the 24-hour survival of stored red cells. *Transfusion*, 24: 109—114, 1984.
- 14) Dern, R.J., Brewer, G.J. and Wiorkowski, J.J.: Studies on the preservation of human blood. II. The relationship of erythrocyte adenosine triphosphate levels and other in vitro measures to red cell storage ability. *J. Lab. Clin. Med.*, 69: 968—978, 1967.
- 15) Högman, C.F., Verdier, C.-H., de Ericson, Å., Hedlund, K. and Sandhagen, B.: Studies on the mechanism of human red cell loss of viability during storage at +4°C in vitro. I. Cell shape and total adenylate concentration as determinant factors for posttransfusion survival. *Vox Sang.*, 48: 257—268, 1985.
- 16) Card, R.T., Mohandas, N. and Mollison, P.L.: Relationship of post-transfusion viability to deformability of stored red cells. *Br. J. Haematol.*, 53: 237—240, 1983.
- 17) 笹川 滋, 野中登美子, 三富齊忠, 徳永栄一: ヒト赤血球濃厚液の保存中の変化について. *日輸血会誌*, 23: 164—167, 1978.