Saline-Adenine-Glucose-Mannitol 保存液・OPTISOL®による 42日, 49日間赤血球保存における赤血球の機能, 形態学的変化および 赤血球寿命と保存液の有用性について

中島 尚登 星 順隆 浅井 治 山本 純子
竹内 直子 神谷 昌弓 加藤 敦子 長谷川智子
山崎 恵美 中山 一¹⁾

東京慈恵会医科大学輸血部, ¹⁾同 第1内科

(平成3年6月8日受付)

EFFECTS OF OPTISOL® PRESERVATION SOLUTION ON 42 AND 49 DAYS OF STORAGE OF RED CELLS

Hisato Nakajima, Yasutaka Hoshi, Osamu Asai, Naoko Takeuchi, Mayumi Kamiya,
Atsuko Kato, Tomoko Hasegawa, Emi Yamazaki and Hajime Nakayama*
Division of Transfusion Medicine, *The First Department of Internal Medicine,
The Jikei University school of Medicine

A new red cell preservation solution is described in which the red cells may be stored for 42 and 49 days. An in vivo and vitro study of 42 and 49 days stored red cells with saline, adenine, glucose, mannitol (SAGM) preservation solution (OPTISOL, Terumo Corporation) was conducted using 20 healthy volunteers to document in vivo efficacy and analyze the validity of the ⁵¹Cr technique. Standard in vitro parameters of OPTISOL red cell concentrates were well preserved with low levels of hemolysis and high levels of red cell ATP which is compatible with their survival after 42 and 49 days storage. Osmotic pressure at hemolysis ending point of 42 and 49 days stored red cells did not change, while osmotic pressure at hemolysis starting point increased on 49 days. The red cell viscosity increased and scanning electron-microscopic studies showed that the majority of them became echinocyte and spherocyte on 49 days. In vivo autologous post-transfusion recovery was measured by using a ⁵¹Cr-labeled red cells. After 42 days of storage, post-transfusion 24-hour recovery averaged $82.3 \pm 8.4\%$ and 48-hour recovery was $79.1 \pm 9.1\%$, and after 49 days, 24-hour recovery was $75.9 \pm 3.6\%$, but 48-hour recovery, which averaged $69.9 \pm 5.2\%$, was significantly lower.

The present study reports in vivo and in vitro evaluation of a new red cell storage medium which allows high levels of post-transfusion recovery and permits without significant hemolysis. The results suggested that 42 days if a more suitable shelf life than 49 days.

緒 言

近年, 血液製剤の需要の増加により, 現在我が国で行われている, acid-citrate-dextrose 液 (ACD) や citrate-phosphate-dextrose 液 (CPD) を使用した, 最高21日保存システムでは期限切れとなって有効利用ができない例も少なくなく, 新しい長期保存液の開発が望まれていた。ところが

欧米諸国では, 濃厚赤血球専用の保存液を用いて最高42日間の保存を現在行っている。赤血球の長期保存は, 1978年に Högman ら¹⁾²⁾, 1980年に Herve ら³⁾により, saline-adenine-glucose 液 (SAG) で35日間の長期保存が可能である事が報告され, その後1981年に, Högman ら⁴⁾により SAG に赤血球膜安定の作用のある mannitol を

加えた保存液 (SAGM) により溶血をさらに減少させる事が可能であると報告された。さらに1984年には、長期保存液として、CPD に adenine を加えた35日保存可能な CPDA-1と CPDA-2が Moroff ら⁵⁾により報告された。その後米国において、42日の長期保存が可能な2種類の赤血球保存液、AS-1 (ADSOL[®], Fenwal Lab.) と、AS-3 (Nutricel[®], Cutter Biological)⁶⁾⁷⁾が認可された。欧州においては、Högman 処方の、European-SAGM⁸⁾が35日保存用として使用されているが、1988年には、European-SAGM の成分は変えず、adenine の量のみを変更し、保存期間を42日に延長した、American-SAGM (OPTISOL[®], Terumo Corporation)⁹⁾が開発され、米国で使用が認可された。

今回我々は、この OPTISOL[®] (OP) を用いて健常男子成人の濃厚赤血球液を35日、42日、49日保存し、保存中の赤血球の種々の変化について検討を加え、この長期保存液の有用性と、臨床上の応用について考察を加えたので報告する。

方 法

今回われわれが使用した OP の組成を Table 1 に示す。成分は dextrose hydrous (D-glucose) 0.900g/dl, sodium chloride 0.877g/dl, mannitol 0.525g/dl と adenine 0.030g/dl であり、European-SAGM に比べて adenine 濃度が約2倍⁸⁾である。また AS-1 に比べて、glucose は約半分、mannitol が約2/3の量⁶⁾である。MAP¹⁰⁾と比べると、mannitol は MAP の約1/3の量で、adenine は約2.3倍量¹⁴⁾である。

健常成人男性ボランティア20人から400ml の通常採血を行い、それを濃厚赤血球液とし、OP をもちいて49日までの長期保存を行った。

採血には、親 bag に3つの子 bag が付いた構造の bag⁸⁾の CPD/SAGM system (親 bag には CPD が63ml と、第3 bag には OP が90ml 入っている。)を用いた。親 bag に血液400ml を採取し、すぐに3,000回転で6分間(半径22cm)遠心し、乏血小板血漿を第1 bag に、buffy coat 層を第2 bag に移し、それぞれシールして切り離した。この時点では CPD は親 bag から第2, 3 bag に移り、親 bag は、hematocrit (Ht) が $81.4 \pm 2.5\%$ の赤血球液となった。OP を第3 bag から親 bag に移して緩やかによく混合すると、Ht は $56.7 \pm 1.2\%$ となった。シールして第3 bag を切り離し、親 bag を4℃で35日間、42日間および49日間保存した。

この OP 使用濃厚赤血球の機能検査として、赤血球中 adenosine triphosphate (ATP) 量、2, 3-diphospho-glyceric acid (2,3-DPG) 濃度及び lactate 値を測定し、また濃厚赤血球液の pH 値及び上清中の glucose 濃度を測定した。さらに上清中 hemoglobin 量と溶血率、電子顕微鏡による形態の観察、赤血球膜抵抗、血液流動性試験及び赤血球寿命を検討した。

採血分離直後、35日後、42日後及び49日後に bag より濃厚赤血球液を1ml ずつ採取し、ただちに除蛋白し、遠心分離した上清を用いて、ATP 量 (ATP 測定 kit, BMY), 2,3-DPG 濃度 (2,3-DPG test, BMY) および lactate 値を測定した。濃厚赤

Table 1 Comparison of additive solution composition, g/dl

	American* SAGM	European SAGM	AS-1**	AS-3***	MAP
Dextrose hydrous (D-glucose)	0.900	0.900	2.200	1.100	0.720
Sodium chloride	0.877	0.877	0.900	0.410	0.497
Mannitol	0.525	0.525	0.750	—	1.456
Adenine	0.030	0.0169	0.027	0.030	0.013
Sodium phosphate monobasic	—	—	—	0.276	0.0936
Sodium citrate	—	—	—	0.588	0.1764
Citric acid	—	—	—	0.042	—

*: OPTISOL **: ADSOL ***: Nutricel

血球液上清を用いて glucose を測定し、また pH は血液 gas 測定器で測定した。保存赤血球液上清の hemoglobin (Hb) 濃度は、採血分離直後、14 日後、28 日後、42 日後および 49 日後に LCV 法¹¹⁾で測定し、溶血率〔%Hemolysis = $((100 - \text{Hct}) \times (\text{plasma Hb})) \div \text{Hb}$ 〕を検討した。また、採血分離直後、24 時間後、48 時間後、7 日後、14 日後、35 日後、42 日後及び 49 日後の赤血球膜抵抗を、coil planet centrifuge (CPC) 法¹²⁾で測定した。血液流動性の測定は回転粘度計 (Wells-Brookfield) を用いた横瀬らの方法¹³⁾でおこなった。

赤血球形態の変化を評価するために、35 日後、42 日後、および 49 日後に赤血球を 1% の glutaraldehyde-cacodylic acid で固定し、走査型電子顕微鏡にて観察した。赤血球はその形態から、diskocyte を 4 点、echinocyte I を 2 点、echinocyte II を 1 点、spherocyte を 0 点と分類し、300 個観察し、赤血球 100 個あたりの得点として 400 点満点で表わした。

赤血球寿命は、⁵¹Cr 標識法で測定した。35 日後、42 日後および 49 日後に保存赤血球液 20 ml を、100 μ Ci の ⁵¹Cr で標識し、その 10 ml を輸注した。投与後 15 分後に採血しこの放射活性を前値とし、投与 24 時間後および 48 時間後に再び採血し、放射活性を測定し、赤血球の生存率¹⁴⁾を求めた。

結 果

400 ml 採血後濃厚赤血球液とし、OP と混和し、その直後、保存 35 日後、42 日後および 49 日後に Table 2 に示すような生化学的指標を測定した。

濃厚赤血球液の Ht は、Table 2 に示すように、直後で $56.7 \pm 1.2\%$ であったが、35 日では $60.4 \pm 2.5\%$ 、42 日では $59.5 \pm 2.1\%$ 、49 日では $60.8 \pm 1.2\%$ であり、直後に比し長期保存で軽度であるが上昇した。しかし 35 日以後は有意な変化は認めなかった。

赤血球中の ATP 量は直後が $30.6 \pm 7.9 \text{ mg/dl}$ であり、保存期間中、直後の値に比べて有意に ($p < 0.005$) 減少し、35 日で $56.2 \pm 7.9\%$ 、42 日で $46.1 \pm 10.2\%$ さらに 49 日で $34.3 \pm 11.1\%$ の $11.5 \pm 3.7 \text{ mg/dl}$ まで有意に ($p < 0.005$) 低下した。

赤血球中の 2,3-DPG 濃度は、直後は $2.58 \pm 0.40 \mu\text{mole/dl}$ であったが、35 日では $0.02 \pm 0.02 \mu\text{mole/dl}$ と著明に ($p < 0.005$) 減少し、以後 42 日と 49 日では 35 日とほぼ同じ値であった。

濃厚赤血球液の pH は、直後は 7.09 ± 0.03 であり、35 日で有意に ($p < 0.005$) 変化して 6.39 ± 0.04 と acidosis になったが、42 日と 49 日では acidosis の進行はなく 35 日の値とほぼ同じ pH 値であった。

濃厚赤血球液を 3,000 回転 10 分間遠心分離し、その上清で glucose を測定した。直後の glucose は $548 \pm 35 \text{ mg/dl}$ であったが、保存期間中は有意に ($p < 0.005$) 減少し、35 日では直後の約 40% に、42 日では約 32% に、さらに 49 日では約 33% の $167 \pm 32 \text{ mg/dl}$ までに低下した。

赤血球中の lactate は、直後は、 $12 \pm 3 \text{ mg/dl}$ であったが、35 日以降その値は約 20 倍以上に有意に ($p < 0.005$) 増加を続け、35 日では $287 \pm 23 \text{ mg/dl}$

Table 2 In vitro characteristics of RBCs stored for 35 days, 42 days and 49 days in OPTISOL, mean $\pm$ SD

	Initial n=20	35 days n=6	42 days n=13	49 days n=13
Hematocrit, %	56.7 ± 1.2^a	60.4 ± 2.5	59.5 ± 2.1	60.8 ± 1.2
ATP, mg/dl	30.6 ± 7.9^a	19.6 ± 5.4	15.0 ± 3.4^b	11.5 ± 3.7
2,3-DPG, $\mu\text{mole/ml}$	2.58 ± 0.40^a	0.02 ± 0.02	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01
pH, 37°C	7.09 ± 0.03^a	6.39 ± 0.04	6.36 ± 0.04	6.32 ± 0.05
Glucose, mg/dl	548 ± 35^a	229 ± 19^d	197 ± 32^c	167 ± 32
Lactate, mg/dl	12 ± 3^a	287 ± 23^a	324 ± 25^a	345 ± 22^a

a: $p < 0.005$ when compared to other days.

b: $p < 0.05$ when compared to 35 days,

$p < 0.025$ compared to 49 days.

c: $p < 0.025$ when compared to 49 days.

d: $p < 0.05$ when compared to 42 days,

$p < 0.005$ compared to 49 days.

Table 3 Changes of supernatant hemoglobin concentration and % hemolysis stored in OPTISOL, mean $\pm$ SD

	Initial n=20	14 days n=5	28 days n=5	42 days n=5	49 days n=5
Hemoglobin mg/dl	9.9 $\pm$ 7.7*	35.7 $\pm$ 9.1*	88.0 $\pm$ 24.1*	231.0 $\pm$ 33.3	267.8 $\pm$ 75.3
% Hemolysis	0.02 $\pm$ 0.01*	0.07 $\pm$ 0.02*	0.17 $\pm$ 0.04*	0.37 $\pm$ 0.06	0.47 $\pm$ 0.17

*: p<0.005 when compared to other days.

に、42日で324 $\pm$ 25mg/dlに、49日で345 $\pm$ 22mg/dlまで上昇した。

上清のHb濃度は、Table 3に示すように、直後は9.9 $\pm$ 7.7mg/dlであったが、その後有意に(p<0.005)上昇し、14日では35.7 $\pm$ 9.1mg/dl、28日では88.0 $\pm$ 24.1mg/dlであったが、42日では231.0 $\pm$ 33.3mg/dl、49日では267.8 $\pm$ 75.3mg/dlと直後の値よりも有意に(p<0.005)増加したが、42日と49日の間には有意差を認めなかった。溶血率も同様に上昇し、直後は0.02 $\pm$ 0.01%であったが、14日で0.07 $\pm$ 0.02%、28日で0.17 $\pm$ 0.04%、42日で0.37 $\pm$ 0.06%と有意に(p<0.005)上昇したが、49日では0.47 $\pm$ 0.17%となり、42日と49日では有意差を認めなかった。

CPC法で測定した赤血球膜抵抗をFig. 1に示す。CPCの測定は、直後(n=10)、24時間後(n=10)、48時間後(n=10)、7日後(n=10)、14日後(n=10)、35日後(n=6)、42日後(n=13)および49日後(n=13)に行った。溶血終了点を示す最大

抵抗(HEP)は、直径で74 $\pm$ 4mOsMであり、保存と共に48時間では55 $\pm$ 2mOsMと抵抗は直後に比べ、有意に(p<0.005)亢進して低い浸透圧側に移動したが、7日で58 $\pm$ 5mOsM、14日で58 $\pm$ 3mOsMとほぼ同じ値になったが、35日より抵抗は69 $\pm$ 3mOsMと14日に比べ有意に(p<0.01)減退し、42日で64 $\pm$ 9mOsM(p<0.005)、49日で65 $\pm$ 7mOsMとなり直後の値と比べ有意差は認められなくなった。溶血開始点を示す最小抵抗(HSP)は、HEPと同様に直後の116 $\pm$ 8mOsMに比べて抵抗は有意に(p<0.005)亢進し、48時間で102 $\pm$ 2mOsMまで変動したが、以降抵抗は有意に(p<0.005)減退し、35日で139 $\pm$ 3mOsM、42日で134 $\pm$ 7mOsM、49日で141 $\pm$ 7mOsMまで低下した。HEPの変動幅に比べHSPの変動が大きいので、その差である溶血幅(HW)は、直後の42 $\pm$ 6mOsMから有意に(p<0.05)大きくなり、14日には59 $\pm$ 5mOsMと有意に(p<0.005)上昇し、35日では71 $\pm$ 2mOsM、42日では70 $\pm$ 9mOsM、49日では75 $\pm$ 10mOsMと有意に(p<0.005)変化した。極大溶血点(HMP)もHEP、HSPと同様に変動し、直後の101 $\pm$ 6mOsMから48時間では86 $\pm$ 3mOsMと抵抗は有意に(p<0.005)亢進し、7日の91 $\pm$ 4mOsM(p<0.005)以降抵抗は減退し、35日で108 $\pm$ 2mOsMと有意(p<0.05)であったが、42日の106 $\pm$ 5mOsMと49日の109 $\pm$ 4mOsMは直後に比べて有意差は認められなくなり、一定の値となった。

回転粘度計を用いて保存直後(n=17)、35日後(n=13)、42日後(n=13)および49日後(n=6)での血液流動性を求めた。その結果はFig. 2に示すように、各ずり速度での粘度は、直後に比べて35日、42日および49日では有意に(p<0.005)粘

Fig. 1 Coli Planet Centrifuge of stored RBCs in vitro results, mOsM.

Fig. 2 Changes of blood viscosity stored for 35 days, 42 days and 49 days in SAGM, mean $\pm$ SD.

度は上昇したが、35日、42日、49日の間では有意差は認められなかった。赤血球の変形能を反映するすり速度 230sec^{-1} の粘度は、直後で 4.86 ± 0.60 cP, 35日で 5.72 ± 0.57 cP, 42日で 5.72 ± 0.50 cP, 49日で 6.16 ± 0.42 cPであり、凝集などを反映するすり速度 11.5sec^{-1} の粘度は、直後で 8.33 ± 1.18 cP, 35日で 11.6 ± 1.91 cP, 42日で 11.5 ± 1.36 cP, 49日で 12.6 ± 0.91 cPであり、それぞれ直後に比べ有意に粘度は増加し、保存後では49日で、35日と42日に比べ粘度が上昇する傾向 ($p < 0.1$) が認められた。Table 4 に示すように、濃厚赤血球液の上清の粘度は、直後と保存後を比べても有意差は認められなかった。

OP で保存した赤血球の形態の変化を走査型電

子顕微鏡で検討した。赤血球100個あたりの score は、Table 5 に示すように、35日では 207.8 ± 29.8 , 42日では 193.1 ± 27.7 , 49日では 170.5 ± 33.5 と35日と42日では有意差を認めなかったが、35日と49日では有意差 ($p < 0.025$) を認め、42日と49日では差がある傾向 ($p < 0.1$) を認めた。

無作為にボランティアを3群に分け、それぞれ35日後 ($n=6$), 42日後 ($n=7$), 49日後 ($n=7$) に測定した赤血球生存率を Table 6 に示す。生存率は24時間後と48時間後を比べると、35日では $87.2 \pm 3.3\%$ から $82.5 \pm 3.4\%$ まで、49日で $75.9 \pm 3.6\%$ から $69.9 \pm 5.2\%$ までと有意に ($p < 0.05$) 低下したが、42日では24時間後の $82.3 \pm 8.4\%$ と48時間後の $79.1 \pm 9.7\%$ の間には有意差は認められなかった。また、生存率を日数で比較すると、24時間後では、49日で他に比べ有意に ($p < 0.005$) 低下したが、48時間後では、42日で有意に ($p < 0.05$) 低下した。つまり、48時間までの赤血球の生存率は、42日までは約80%を保てたが、49日では、生存率は24時間で約75%、48時間で約70%であった。

考 案

今回我々が使用した OP は、1981年の Högman ら⁴⁾の処方の SAGM を用い、adenine 濃度を増やした組成である。SAGM の成分に用いられている sodium chloride は、赤血球の保護のために保存液を等張液にする目的で使用され、adenine は、赤

Table 4 Changes of supernatant viscosity stored for 35 days, 42 days and 49 days in OPTISOL

	Initial n=19	35 days n=6	42 days n=13	49 days n=13
viscosity, cP, mean $\pm$ SD	1.19 ± 0.05	1.17 ± 0.02	1.17 ± 0.02	1.18 ± 0.03

NS

Table 5 Scorenized morphological changes of RBCs stored for 35 days, 42 days and 49 days in OPTISOL, score/100 RBCs, mean $\pm$ SD

	35 days n=6	42 days n=12	49 days n=20
score	207.8 ± 29.8^a	193.1 ± 27.7^b	170.5 ± 33.5

a: $p < 0.025$ when compared to 49 days.
b: $p < 0.1$ when compared to 42 days.

Table 6 % Recovery of stored RBCs in vivo results, mean $\pm$ SD

	35 days n=6	42 days n=7	49 days n=7
24 h after transfusion	$87.2 \pm 3.3^{a,b}$	82.3 ± 8.4	75.9 ± 3.6^a
48 h after transfusion	82.5 ± 3.4	79.1 ± 9.7^c	69.9 ± 5.2

a: $p < 0.05$ when compared to 48 hours.

b: $p < 0.005$ when compared to 49 days.

c: $p < 0.05$ when compared to 49 days.

血球内の ATP level を維持するために用いられている。Glucose は、赤血球の代謝の energy を供給し、mannitol は、赤血球膜の安定化の作用がある。現在、SAGM 組成の保存液は、American-SAGM (OPTISOL), European-SAGM, AS-1 (ADSOL) および AS-2 (Nutricel) があり、他に CPD 組成の CPDA-1 と CPDA-2 や、日本赤十字社の MAP¹⁰⁾¹⁵⁾ などがある。これらの保存液の報告とも対比して文献的考察を加える。

今回の採血 bag は、Högman らの CPD/SAGM system⁸⁾ を用い、Ht が 57% から 60% の濃厚赤血球液となった。同様な採血 bag を用いた方法は、AS-1⁶⁾ でも行われており、Ht は 73% から 83% の濃厚赤血球液となる。

OP で保存後の上清の Hb 濃度は、42 日までは除々に増加したが、42 日と 49 日では有意差を認めなくなり、その溶血率も同様に 42 日と 49 日では有意差を認めなかった。国際的な溶血率の基準は、1% までであり、溶血率では、我々の検討では、OP は、49 日までが基準を満たした。OP で 42 日で検討した Heaton ら⁹⁾ の報告では、溶血率は $0.59 \pm 0.46\%$ であり、今回の検討と比べると、我々の結果のほうが、42 日、49 日共に溶血率の平均値は成績が良かった。従来の他の保存液の報告と比較すると、42 日での溶血率は、MAP が $0.22 \pm 0.09\%$ ¹⁵⁾ と最も良く、次いで AS-1 が 0.32% ⁶⁾、我々の成績がほぼ同じ値の $0.37 \pm 0.06\%$ であり、次いで Heaton らの OP が $0.59 \pm 0.46\%$ ⁹⁾、AS-3 が $0.72 \pm 0.40\%$ ⁷⁾ であった。この溶血率の程度は、CPDA-1 と CPDA-2 の保存 35 日⁵⁾ に相当し、SAG と CPD では保存 21 日¹⁾ に相当する値である。49 日の溶血率は、AS-1 が $0.38 \pm 0.19\%$ ⁷⁾ であり、我々は $0.47 \pm 0.17\%$ と有意差は無く、また AS-3 が $0.70 \pm 0.56\%$ ⁷⁾ であった。MAP の 49 日保存の溶血率の成績は報告されてなかった。

OP 保存後の、ATP 量、2,3-DPG 濃度、pH、glucose および lactate の変化は、従来の報告⁹⁾ と同様の傾向であり、また他の保存液と比べ¹⁵⁾、その成績に大きな差を認めなかった。輸血後の赤血球の生存率に関与する ATP level は、49 日の生存率が $75.9 \pm 3.6\%$ と高い値を保つのに充分であった。

hemoglobin の酸素親和性の調節因子である 2,3-DPG 濃度は日数と共に低下し、35 日以降かなり低値となった。Glucose は、赤血球内の解糖系で energy 源として消費されて lactate へと代謝され、lactate 濃度はかなり上昇し、その結果 pH は acidosis に向く。2,3-DPG は、SAG で 1 週毎に測定した報告²³⁾ では、2 ~ 3 週目で急に低い値となる。SAGM では 2,3-DPG の関与する酸素親和性について考慮されてない¹⁷⁾ との指摘がある。しかし Herve ら³⁾ の 2,3-DPG の回復試験では、すぐに 2,3-DPG 値は上昇し、約 1 時間で正常値に復帰しており、臨床上問題は無いと考えられた。また、OP、AS-1、MAP を比較した報告¹⁵⁾ でも、ATP 値、2,3-DPG 値、形態学的変化および glucose 消費量には有意差が認められておらず、AS-1 や MAP でも 2,3-DPG 値は OP と同様に低値であった。

CPC 法による赤血球膜抵抗では、溶血開始を示す最小抵抗は、2 週間までは直後の値とほぼ同じであるが、35 日より有意に低下した。35 日と 42 日は有意差はないが、49 日で再び低下し、膜抵抗の減退が特に 49 日で強く認められた。溶血終了を示す最大抵抗は、有意差は認められたが大きな変動ではなかった。最小抵抗の低下が大きいため結果として溶血幅は大きくなったが極大溶血点は 35 日以降は直後とほぼ同じ値であり、膜の抵抗の減退が 35 日以降認められた。また同様に赤血球の粘度も 35 日以降上昇し、特に赤血球の変形能を反映するすり速度は、49 日でさらに上昇する傾向を認め、それらを電子顕微鏡で観察した形態は、35 日と 42 日は、ほぼ同じ形態を保持できたが、49 日では変形が強くなった。凝集を反映するすり速度も同様に 49 日でさらに上昇する傾向 ($p < 0.1$) を認めた。この凝集を反映するすり速度の増加は、赤血球の aggregation の増加¹⁸⁾ を意味するが、35 日、42 日と比べ 49 日では有意な上昇ではないため、生じる微細凝集塊の大きさと数の増加には有意差は無いと考えられた。

赤血球の膜抵抗、粘度および形態の変化は並行しており、これらは赤血球中の ATP 値の低下も一因である。Herve ら³⁾ によると、赤血球の形態の変化も新鮮血漿を加える事により 2 時間で正常に

近くなるとしており、輸血されると、これらの変化は速やかに改善されると思われた。

従来の保存液による2週間の保存では、輸血された赤血球が破壊されずに循環血中に存在すれば、約1～3日でその機能は回復¹⁶⁾する。よって保存赤血球の有効期限は、輸血後の24時間後の生体内生存率が70%以上を保つ日数¹⁷⁾になっており、CPDA-1とCPDA-2では、24時間生存率⁵⁾は、35日でそれぞれ $78.1 \pm 8.1\%$ と $74.8 \pm 8.6\%$ で、35日保存液として使用されている。AS-1とAS-3の24時間生存率は、42日でそれぞれ $83\%^{6)}$ と $85.1 \pm 8.3\%^{7)}$ であり、またMAPの42日での24時間生存率は $81.8 \pm 4.3\%$ 、48時間生存率は $77.5 \pm 3.8\%^{14)}$ であった。今回のOPでは、42日までは、24時間および48時間の赤血球生存率はボランティア20人共70%以上であり、24時間生存率は42日で $82.3 \pm 8.4\%$ 、49日では $75.9 \pm 3.6\%$ であるが、49日の48時間生存率で $69.9 \pm 5.2\%$ と低下する。HeatonらのOPの報告⁹⁾では、24時間の生存率のみで、42日で $81.3 \pm 5.3\%$ と我々の値と同じである。49日の生存率は24時間でAS-1では $71.8 \pm 6.5\%^{7)}$ であり、AS-3では $71.9 \pm 8.8\%^{7)}$ であった。つまり42日保存では、OP、AS-1、AS-3、MAP共にほぼ同じ生存率であった。しかし49日保存では、OPが平均 75.9% と最も良く、次いでAS-1が平均 71.8% であり、70%以上の生存率を保っている。MAPの49日保存の生存率の報告は無く、またAS-3では、24時間生存率が $69.4 \pm 7.4\%^{7)}$ という結果もあり、この値では49日保存には適さないともいえる。

OPは、採血時にCPD/SAGM systemを使用する事により、血漿や白血球をできるだけ除いた濃厚赤血球液にする事ができ、さらにCPD加濃厚赤血球液での保存に必要とされていた一部の血漿成分を必要としないため、その結果輸血副作用の減少も期待できる。

今回の結果から、OPによる濃厚赤血球液での保存は、溶血率および赤血球の24時間生存率から判定すると、42日のみならず49日まで十分に赤血球を保存する事が可能であり、他の保存液よりも少なからず保存性が良いと考えられた。現在のCPD加濃厚赤血球液の保存期限が21日であるた

め、CPD/SAGM systemでOPを用いると、血漿使用量は減少でき、保存期間は2倍となり、特に術前に自己の血液を貯血する自己血輸血への応用が現在以上に期待できる。その結果、将来は待機手術はOP使用による自己血輸血が中心となる事が予想される。

結 語

健常人20人よりCPD/SAGM systemで400ml採血し、OPで最高49日間保存した結果次の様な結論を得た。

① 長期保存49日目では、35日と42日に比べin vitro検査では、ATP量、溶血率、赤血球膜抵抗および赤血球粘度が低下した。

② 赤血球生存率は、49日では、48時間生存率が特に低下したが、基準の24時間生存率は70%以上を保てた。

③ 以上の結果より、OPでは42日保存が適しているが、49日保存も可能であると考えられた。

稿を終るに当たり、赤血球寿命を測定して下さった東京慈恵会医科大学放射線科川上憲司助教授はじめアイソトープ科の方々、赤血球粘度を測定して下さった東京慈恵会医科大学第3内科横瀬琢男講師はじめ第1研究室の方々および保存赤血球液上清のヘモグロビン濃度と電子顕微鏡による形態学的観察をして下さったテルモ株成会の方々に深謝致します。

文 献

- 1) Högman, C.F., Hedlund, K., Akerbom, O. and Verge, P.: Red blood cell preservation in protein-poor media. I. Leucocyte enzymes as a cause of hemolysis. *Transfusion*, 18: 233—241, 1978.
- 2) Högman, C.F., Hedlund, K. and Zetterstrom, H.: Clinical usefulness of red cells preserved in protein-poor mediums. *New Eng. J. Med.*, 299: 1377—1382, 1978.
- 3) Herve, P., Lamy, B., Peters, A. and Bidet, A.C.: Preservation of human erythrocytes in the liquid state: Biological results with a new medium. *Vox Sang.*, 39: 195—204, 1980.
- 4) Högman, C.F., Hedlund, K. and Sahlestrom, Y.: Red cell preservation in protein-poor media. III. Protection against in vitro haemolysis. *Vox Sang.*, 41: 274—281, 1981.
- 5) Moroff, G., Morse, E.E., Katz, A.J., Kahn, A.R., Dende, D., Swatman, L. and Staggs, S.D.: Survival and biochemical characteristic of

- stored red cells preserved with citrate-phosphate-dextroseadenine-one and two and prepared from whole blood maintained at 20 to 24°C for eight hours following phlebotomy. *Transfusion*, 24: 115—119, 1984.
- 6) Heaton, A., Miripol, J. and Aster, R.: Use of ADSOL preservation solution for prolonged storage of low viscosity AS-1 red blood cells. *Br. J. Haematol.*, 57: 467—478, 1984.
 - 7) Simon, T.L., Marcus, C.S. and Myhre, B.A.: Effect of AS-3 nutrientadditive solution on 42 and 49 days of storage of red cells. *Transfusion*, 27: 178—182, 1987.
 - 8) Högman, C.F. and Hedlund, K.: Storage of red cells in a CPD/SAGM system using Teruflex PVC, *Vox Sang.*, 49: 177—180, 1985.
 - 9) Heaton, W.A.L., Keegan, T., Holme, S. and Momoda, G.: Evaluation of ^{99m}TcTechnetium/⁵¹Chromium post transfusion recovery of red cells stored in saline, adenine, glucose, mannitol for 42 days. *Vox Sang.*, 57: 37—42, 1989.
 - 10) 笹川 滋, 柴 雅之, 西岡久壽彌, 清水 勝: 長期保存 MAP 加濃厚赤血球の有効性について. *日輸血会誌*, 37: 411—413, 1991.
 - 11) Takayanagi, Y. and Yashiro, T.: Development of a new colorimetric determination of hemoglobin in plasma. *Jap. J. Clin. Chem.*, 14: 247—252, 1985.
 - 12) 柴田 進, 山田 治: コイルブラネット遠心機による検査. *臨床検査*, 20: 373—382, 1976.
 - 13) 横瀬琢男, 磯貝行秀: 血液粘度の測定法とその臨床的意義. *循環器科*, 19: 251—258, 1986.
 - 14) Moroff, G., Sohmer, P.R. and Button, L.N.: Proposed standardization of methods for determining the 24-hour survival of stored red cells. *Transfusion*, 24: 109—114, 1984.
 - 15) 清水哲夫, 古田 求, 額額桂子, 堀江真理子, 高橋恒夫, 宮原正行, 大軒子郎, 田山達也, 笹川 滋, 白木 洋, 長谷川岩三, 横山繁樹, 神谷 忠: 4種類の赤血球保存液の比較試験. *日輸血会誌*, 35: 640—646, 1989.
 - 16) Valeri, C.R. and Hirsch, N.M.: Restoration in vivo of erythrocyte adenosine triphosphate, 2, 3-diphospho-glyceric acid (DPG) after transfusion of stored blood. *J. Lab. Clin. Med.*, 74: 300—304, 1969.
 - 17) 笹川 滋: 新しい保存剤による赤血球の長期保存. *臨床医*, 14: 214—216, 1988.
 - 18) 飯田 晃: 血液の流動性質に関する臨床的研究. *東京慈恵会医科大学雑誌*, 93: 112—131, 1978.