技 術

COBE Spectra による濃厚血小板採取の検討

大國 典子 小林 芳夫 倉橋 正夫
玄 景明 飯田 俊二

大阪府赤十字血液センター

(平成 3 年 7 月 20 日受付)

DONOR THROMBOCYTAPHERESIS USING COBE SPECTRA

Noriko Okuni, Yoshio Kobayashi, Masao Kurahashi, Eiaki Gen and Shunji Iida
Osaka Red Cross Blood Center

With the increase in demand for platelet concentrate (PC), how to meet it and side effects due to WBC mixed in platelet preparations have become great problems. We studied a total of eighty four platelet donations done by the donors (male 80, female 4), who met all the criteria for platelet donation, during the period of April 1990 to August 1991.

1) According to the initial count of platelets, 28 donors were divided into Group A (less than 25×10^4 cells/ μ l), 22 into Group B ($25 \times 10^4/\mu$ l to $30 \times 10^4/\mu$ l), 22 into Group C ($30 \times 10^4/\mu$ l to $35 \times 10^4/\mu$ l) and 12 into Group D (more than $35 \times 10^4/\mu$ l). The collection rate of PC of more than 15 units (3.0×10^{11}) was 25.0%, 50.0%, 81.8% and 91.7% in respective group.

2) As for the time-course change in concentration of platelets collected, it was $122.3 \pm 19.0 \times 10^4$ cells/ μ l in Group A 30 min after the start of collection and $177.8 \pm 32.6 \times 10^4$ cells/ μ l in Group B and C 50 min after the start; these were the highest values in each group.

3) The average count of WBC mixed in was as few as 3 cells/ μ l and 6.9×10^5 cells/bag.

4) As for the time-course change in count of WBC mixed in, it was highest at the start of collection, 14.3 ± 14.5 cells/ μ l, and thereafter decreased in the course of time.

5) We tried to take photos of the interface forming process in centrifuge channel. Whole blood flow rate was maintained at 40 ml/min up to 500 ml blood volume processed to obtain proper interface, since the establishment of interface directly affects platelet collecting efficiency and white blood cell contamination.

6) The volume of citric acid injected was 21.9 mg/TBV-1/min on an average and 29.4 mg/TBV-1/min at the maximum, causing no side effects, and the Ca^{*} reduction was only 20.8%.

はじめに

成分献血による血小板製剤の需要は年々高まって来ており、その確保は血液センターに課せられた重要な任務の一つである。そこで効率のよい濃厚血小板（以下 PC と略す）採取を行うため、COBE 社製 Spectra 血液成分分離装置を用いて、その採取状況、採取血小板濃度の経時変化、混入白血球数及びクエン酸による献血者への影響等を調べ検討した。

対象および方法

平成 2 年 4 月から平成 3 年 8 月までの 17 カ月間に、血小板採取基準に適合した献血者 84 名（男性 80 名、女性 4 名）を対象として COBE 社製 Spectra 血液成分分離装置を使用し、採血速度 40~55 ml/min、遠心速度 2,400rpm、抗凝固剤 ACD-A 液比 9~11:1、採血時間は 40~60 分として PC 採取を行った。また、血小板濃度の経時変化はディスポーザブルキットの血小板採取ラインに DuPont

社製無菌回路連結装置 (SCD™312) を用いて、サンプル採取用の50ml 塩化ビニール製バックを4個接続し、採血開始20分後から10分毎に5ml ずつ計4回サンプルを採取し、血小板数は自動血球計数器で、混入白血球数は視算法にて測定した。また、血清中の Ca^{++} 濃度をイオン電極法で測定し、クエン酸による Ca^{++} の低下率を PC 採取前後の測定値から求めた。

成績および結果

(1) 4群に分けた血小板採取の状況

血小板の前値により献血者を4群に分けた(表1)。血小板前値が $25 \times 10^4/\mu\text{l}$ 未満の A 群28例, $25 \times 10^4/\mu\text{l}$ 以上 $30 \times 10^4/\mu\text{l}$ 未満の B 群22例, $30 \times 10^4/\mu\text{l}$ 以上 $35 \times 10^4/\mu\text{l}$ 未満の C 群22例, $35 \times 10^4/\mu\text{l}$ 以上の D 群12例であった。各群の血小板前値, Hct 値, 循環血液量, 採血時間, ACD-A 液の使用量は表 2a) のとおりであり, 大差はなかった。ま

表1 血小板前値による献血者の分類

分類	血 小 板 数	n 数
A 群	$25 \times 10^4/\mu\text{l}$ 未満	28
B 群	$25 \times 10^4/\mu\text{l}$ 以上 $30 \times 10^4/\mu\text{l}$ 未満	22
C 群	$30 \times 10^4/\mu\text{l}$ 以上 $35 \times 10^4/\mu\text{l}$ 未満	22
D 群	$35 \times 10^4/\mu\text{l}$ 以上	12

表2 COBE Spectra による血小板採取

a)					
	血小板前値 ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	Hct 値 (%)	循環血液量 (ml)	採血時間 (min)	ACD 使用量 (ml)
A 群	22.0 ± 1.7	46.2 ± 2.1	$4,710 \pm 333$	56 ± 8	268 ± 44
B 群	27.4 ± 1.3	44.6 ± 2.2	$4,764 \pm 342$	52 ± 11	261 ± 64
C 群	32.7 ± 1.3	44.8 ± 3.4	$4,785 \pm 446$	54 ± 9	266 ± 46
D 群	36.9 ± 1.9	43.4 ± 3.4	$4,658 \pm 510$	54 ± 10	260 ± 48
b)					
	血液処理量 (ml)	回収率* (%)	採血漿量 (ml)	採取血小板数 ($\times 10^{11}$)	高単位 PC 採取率(%)
A 群	$2,244 \pm 363$	54 ± 7	228 ± 21	2.6 ± 0.5	25.0
B 群	$2,155 \pm 461$	56 ± 6	241 ± 35	3.4 ± 1.0	50.0
C 群	$2,208 \pm 378$	57 ± 4	248 ± 31	4.2 ± 0.8	81.8
D 群	$2,173 \pm 415$	55 ± 5	242 ± 30	4.4 ± 1.0	91.7

(平均値 $\pm$ 標準偏差)

*回収率(%) = $\frac{\text{採取血小板数}}{\text{血小板前値}(\mu\text{l}) \times \text{血液処理量}(\text{ml}) \times 1000} \times 100$

た, 血液処理量, 血小板回収率, 採血漿量も表 2b) に示すとおり, 各群間に有意差はなかったが, 採取血小板総数は, A~D の各群でそれぞれ 2.6×10^{11} , 3.4×10^{11} , 4.2×10^{11} , 4.4×10^{11} となった。当装置の特長とも言われている高単位 PC の採取状況は, A 群では28例中20単位 PC (以下 PC-20) はなかったものの, 15単位 PC (以下 PC-15) が7例, B 群では22例中 PC-15 が5例, PC-20 が6例, C 群では22例中 PC-15 が3例, PC-20 が15例, D 群では12例中 PC-15 が3例, PC-20 が8例であり, 15単位以上の高単位 PC の採取できた割合は A~D 群で25.0%, 50.0%, 81.8%, 91.7%を示した。特に A 群で採取できた高単位 PC 7例中5例の平均は血小板前値 $22.9 \times 10^4/\mu\text{l}$, Hct 値45.9%, 循環血液量は4,730ml で採取血小板数は 3.3×10^{11} であり, 採血時間は62分, 血液処理量は2,242ml, ACD-A 液の使用量は277ml, 採血漿量は246ml であった。更に, 血小板採取効率を高めるため, 採取血小板濃度を経時的に測定したところ, A 群 (n=6) では採血開始20分経過時には $73.7 \times 10^4/\mu\text{l}$, 30分経過時は $122.3 \times 10^4/\mu\text{l}$ となりピークを示した(図1)。それ以後はほとんど変化なく, 40分後は $119.4 \times 10^4/\mu\text{l}$, 50分後は $119.1 \times 10^4/\mu\text{l}$ となった。B, C 群 (n=13) では20分後は $142.4 \times 10^4/\mu\text{l}$, 30分後は $172.1 \times 10^4/\mu\text{l}$, 40分後は $174.4 \times 10^4/\mu\text{l}$

図1 採取血小板濃度の経時変化

○—○ : A 群 (n=6), ●—● : B, C 群 (n=13)

図2 混入白血球数の経時変化 (n=17)

(A)

(B)

図3 遠心分離チャンネル内のインターフェイス形成状況 (1)

μl となり、50分後は $177.8 \times 10^4 / \mu\text{l}$ と最高値を示した。

(2) 白血球混入の状況

当装置で採取した PC 中の白血球の平均混入量

(A)

(B)

図4 遠心分離チャンネル内のインターフェイス形成状況 (2)

表3 機種別による混入白血球数の比較

	例数 (N)	白血球数 ($/\mu\text{l}$)
COBE Spectra	40	3
CS-3000 プラス	29	61
CS-3000	48	290
V-50	101	740

白血球数は平均値で示した

は視算法で $3 / \mu\text{l}$ であり、1 バック中には 6.9×10^5 であった。Baxter 社製 CS-3,000 プラス、CS-3,000、および Haemonetics 社製 V-50 で採取した PC 中の白血球平均混入量を Colter Counter Model ZF で測定した結果、それぞれ $61 / \mu\text{l}$ 、 $290 / \mu\text{l}$ 、 $740 / \mu\text{l}$ であった(表3)。白血球混入の経時変化は採血開始20分後が最も多く、 $14.3 \pm 14.5 / \mu\text{l}$

(A)

(B)

図5 遠心分離チャンネル内のインターフェイス形成状況 (3)

で、採血時間の経過とともに減少し、30分後は $9.5 \pm 9.0/\mu\text{l}$, 40分後は $6.5 \times 1.0/\mu\text{l}$, 50分後は $6.0 \pm 6.7/\mu\text{l}$ となった (図2)。

(3) インターフェイスの形成状況

遠心分離チャンネル内のインターフェイスの形成状況が血小板採取効率および白血球の混入に影響することから、高感度カラーフィルム (ISO1600) を用いてその写真撮影を試みた。平均赤血球容積 (MCV) は90fl前後で、Hct値も46%前後の献血者でインターフェイスの状況を比較した。採血開始時の血液流量を献血者の条件から38ml/minとしたものを (A), 終始50ml/minで採血を行ったものを (B) とした。図3は血液処理量約140ml時点における (A) と (B) の比較である。(A) では赤血球層と血漿の層が明瞭に分離しているのに対して、(B) では分離不十分である。図4は血液処理

(A)

(B)

図6 遠心分離チャンネル内のインターフェイス形成状況 (4)

量約500mlの時点であり、(A)では赤血球の層の上に多血小板血漿 (PRP) の層ができている。そのPRPはさらに遠心分離され、血小板は血小板採取ポートへ順次移行し、血小板採取が良好に進行している。これと比べ (B) では赤血球の層が広く、PRPの層もできてはいるがその層が薄いため赤血球がダムを乗り越え血小板採取ポートへ移行している状況が明瞭に確認できる。図5は血液処理量約500mlになった時点で血液流量を45~55ml/minに増量して施行し、血液処理量が800mlになった状況である。(A)ではインターフェイスへの影響もなく順調に血小板採取が行われ、パフィーコートも認められる。一方、(B)ではわずかながらあるがスピルオーバーしている赤血球が見られる。図6は血液処理量1,000ml時点の状況であるが、(A), (B)ともに分離状況に相違はなかつ

た。しかし、PC 製品中の混入白血球数を比較したところ (A) では $2.0\mu\text{l}$ で 1 バック中には 4.5×10^5 となり、(B) では $45/\mu\text{l}$ で 1 バック中には 1.0×10^7 と大差があった。なお、(A) の血液処理量は $2,200\text{ml}$ 、採取血小板総数は 3.4×10^{11} であり、(B) ではそれぞれ $2,700\text{ml}$ 、 2.4×10^{11} であった。

(4) クエン酸による献血者への影響

当装置での ACD-A 液の使用量が $260 \sim 381\text{ml}$ と多いことから ACD-A 液に含まれるクエン酸による献血者への影響を調べた。採血前および採血後の Ca^{++} 値を測定したところ、その低下率の平均は 20.1% で、循環血液量 1l に対して 1 分間に体内に注入されたクエン酸の量は最高 29.4mg 、平均 21.9mg でありクエン酸反応も見られなかった。

考 察

近年、種々の成分採血分離装置が開発され、また、医療機関からは白血球混入の少ない高単位の成分由来の PC に期待が寄せられる今日、その期待に応えるため COBE Spectra による血小板採取を行い、その採取状況を検討した。その結果、経時変化では血小板濃度が採血開始後 30 分までは急激に上昇し、それ以後はほぼプラトーとなった。白血球の混入量については採血時間の経過とともに減少している。血小板採取効率に影響を与えるインターフェイスの形成過程の 4 段階を写真撮影することに成功した。このような経時変化を写真撮影した報告はこれまでになく、この写真により、採血流量の差による各血液処理量時点での遠心分離チャンネルの状況を比較することができた。血液流量は少ない方がインターフェイスは早く完成し、また、そのインターフェイスを維持することとなり、赤血球、白血球のスピルオーバーもなく、効率のよい採取が可能であることが判明した。これらのことから血液処理量 $500 \sim 800\text{ml}$ まで、すなわちインターフェイスがほぼできるまでは血液流量を $40\text{ml}/\text{min}$ までとし、インターフェイスができた後、即ち血小板濃度が高くなった時点で流量を徐々に上げていくことで白血球の混入の少ない高単位の血小板採取が可能となった。この方法により血小板前値 $25 \times 10^4/\mu\text{l}$ 未満の献血者においてもその 25% が、約 1 時間で 15 単位以上の高単位

PC 採取が可能となり、血小板前値 $30 \times 10^4/\mu\text{l}$ 以上であれば、血液処理量 $2,200\text{ml}$ 、採血時間 57 分で 81% 以上の 15 単位血小板採取が可能となることが判明した。

クエン酸の体内移行によるアフエーシス時の副作用について、田村ら¹⁾は体内に入る ACD-A 液の量が 250ml 以上になると現れてくると報告している。また、Hester ら²⁾は諸家の報告を参考にしてアフエーシス時のクエン酸の移行速度について、循環血液量 1l に対して 1 分間に $20 \sim 30\text{mg}$ であれば血液中の Ca^{++} の減少は $25 \sim 30\%$ で、心電図における QT の延長も小さく、異常症状はほとんど起こらないとまとめている。われわれが実施したのもこの範囲内であり、問題はなかった。

結 語

当装置を使用して 84 名 (男性 80 名、女性 4 名) を対象に PC 採取を行った結果、以下の結論を得た。

1) 血小板前値により献血者を 4 群に分けた。A 群 $25 \times 10^4/\mu\text{l}$ 未満 28 名、B 群 $25 \times 10^4/\mu\text{l}$ 以上 $30 \times 10^4/\mu\text{l}$ 未満 22 名、C 群 $30 \times 10^4/\mu\text{l}$ 以上 $35 \times 10^4/\mu\text{l}$ 未満、D 群 35×10^4 以上 12 名であり、各群における PC 15 単位 (3.0×10^{11}) 以上の採取率は、それぞれ 25.0% 、 50.0% 、 81.8% 、 91.7% であった。

2) 採取血小板濃度の経時変化は A 群の採血開始 30 分後は $(122.3 \pm 19.0) \times 10^4/\mu\text{l}$ であり、B 及び C 群では 50 分後には $(177.8 \pm 32.6) \times 10^4/\mu\text{l}$ となり最高値を示した。

3) 白血球の混入量は $3/\mu\text{l}$ であり、1 バック中には 6.9×10^5 であった。白血球混入の経時変化は採血開始 20 分後が $14.3 \pm 14.5/\mu\text{l}$ と最も多く、それ以後は減少した。

4) 遠心分離チャンネルのインターフェイスの形成過程の写真撮影を試みた結果、血液処理量 500ml までは血液流量を $40\text{ml}/\text{min}$ までとし、インターフェイスが完成した後、血液流量を徐々に増す事により白血球混入の少ない高単位濃厚血小板の採取が可能であった。

5) クエン酸による献血者への影響は循環血液量 1l に対し、1 分間に注入されるクエン酸の平均量も 21.9mg であり、採血前及び採血後の Ca^{++} の

低下率も20.8%と低く,副作用の発生もなかった。

しかし,現在のところ,当装置は両針法であるため献血者の拘束感が強く,一日も早い単針法の開発が望まれる。

本論文の要旨は第39回日本輸血学会総会において発表した。

文 献

- 1) 田村 眞:アフエレーシス・マニュアル7.アフエ

レーシスの際の副作用とその対策. p. 14,東北大学
付属病院輸血部, 1986.

- 2) Hester, J.P., Cullough, J.M., Mishler, J.M. and Szymanski, L.O.: Centrifugal leukocytapheresis and thrombocytapheresis, Panel IV. Dosage regimens for citrate anticoagulants. J. Clin. Apheresis, 1: 149—157, 1983.