報 告

血液成分分離装置フレゼニウス AS-104 (Ver. 4.71)

による血小板採取

小本 美奈¹⁾ 栗野 文剛¹⁾ 富永 誠一²⁾

¹⁾北里大学病院輸血センター部

²⁾北里大学医学部胸部外科

(平成 9 年 6 月 18 日受付)

(平成 9 年 10 月 27 日受理)

PLATELETPHERESIS WITH THE FRESENIUS CELL SEPARATOR AS-104 (Ver. 4.71)

Mina Komoto¹⁾, Fumitake Awano¹⁾ and Seiichi Tominaga²⁾

¹⁾Department of Blood Transfusion Center, Kitasato University Hospital

²⁾Department of Thoracic Surgery, Kitasato University School of Medicine

We performed platelet collection by a dual needle procedure with a Fresenius Blood Cell Separator AS-104 in 21 healthy donors (19 male, 2 female). Collection time was set at 60 minutes using PAIP (Periodically Alternating Interface Position) software, namely the PLT-5d program (Ver. 4.71). Collected platelet concentrate contained $2.42 \pm 0.74 \times 10^{11}$ platelets/bag in total. Platelet collection efficiency was very good, at $38.4 \pm 5.4\%$ (Table 3). Leukocyte content was as low as $1.21 \pm 0.89 \times 10^5$ /bag and below 1×10^6 leukocytes/bag in all platelet concentrates (Fig. 2). AS-104 provided highly effective PLT collection.

Key words: platelet concentrate, plateletpheresis, leukocyte contamination

はじめに

血小板製剤中に混在する白血球により様々な血副作用が引き起こされる事が一般に知られている¹⁾。これらの副作用には、非溶血性発熱反応、抗 HLA 抗体などの同種抗体産生、白血球に局在するウイルス感染 (CMV, HTLV-I など)、輸血後 GVHD (移植片対宿主病) などがある。この内、非溶血性発熱反応は製剤保存中に白血球が産生するサイトカインにより引き起こされると言われている^{2)~4)}。現在では白血球除去フィルターの使用により血小板製剤中の白血球を $10^4 \sim 10^5$ 個/bag 以下に除去することが可能であるが⁵⁾⁶⁾、製剤保存中に白血球より産生されたサイトカインはフィルターでは除去することができない。サイトカインの影響を少なくするためには、保存前に白血球をフィルターで除去するか、あるいは血小板採取時

に混入白血球を少なくすることが必要である。最近では白血球混入のより少ない血小板採取が可能で血液成分分離装置の開発がされている^{7)~10)}。

今回我々は、血液成分分離装置フレゼニウス AS-104 を使用し、白血球混入のより少ない血小板採取を試みたので報告する。

方 法

1. 血小板採取

1) AS-104 で血小板採取用 C4L ディス ポーザブル回路を用いて、日赤の採血基準 (血小板数 $15 \sim 60 \times 10^4 / \mu\text{l}$) に適合した健康な供血者 21 例 (男 19 例, 女 2 例) より、抗凝固剤 ACD-A 液を使用し、デュアルニードル (両針法) で血小板採取を行った。

2) 血小板採取は、PLT-5d プログラム (Ver. 4.71) の PAIP (Periodically Alternating Interface

Table 1 Collection conditions of plateletpheresis

PAIP condition	
Collection phase	4 : 4
Collection volume	800 ml
Transfer phase	6 : 2
Transfer volume	200 ml
Blood flow rate	50 ml/min
Number of cycles	8
Centrifuge speed	2,000 rpm

Position)ソフトウェアを使用し行った。ドナーメニューに供血者の身体条件（性別，身長，体重）と採取前のヘマトクリット値，血小板数を入力すると，血小板収量(3.3×10^{11})，血小板濃度($110\times10^4/\mu l$)を目標として，血液処理量，採取時間，血小板採取容量が自動設定されるので，採取時間を60分に変更し採血を行った。PAIPの各パラメーターの設定，及び操作条件はTable 1に示した。

2. サンプル採取と検査方法

1) サンプル採取

血小板採取前後の供血者の血液を採取針より抗凝固剤(EDTA-2k)入り試験管に採取した。また血小板採取終了後，採取バッグより採取血小板サンプルを抗凝固剤(EDTA-2k)入り試験管に採取した。

2) 検査方法

(1) 採取前，採取後，及び採取血小板サンプル

は自動血球計数装置(Coulter STKR)で血小板数，白血球数，赤血球数，ヘマトクリット値の測定を行った。

(2) 採取血小板サンプルの白血球数の測定は，Türk's液でサンプルを5倍希釈した後，Nageotte Chamberを使用し，光学顕微鏡下で白血球数を目視カウントした(検出限界； $0.1個/\mu l$)。

3. 統計処理

供血者の身体条件と採取前後の血液データ及び血小板採取の採取結果は，供血者21名の平均値Mean±標準偏差SDで記載した。血小板採取前後の血液データはStudentのpaired t-testにより有意差を検定した。採取前血小板数と製剤の血小板総数，採取前白血球数と製剤の混入白血球数，及び製剤の血小板総数と混入白血球数との相関性は，回帰分析により相関係数を求め，Student t-testにより有意差を検定した。

結 果

供血者の身体条件と採取前後の血液データをTable 2に示した。血小板採取前に比べて採取後には白血球数，赤血球数，血小板数，ヘマトクリット値は減少しており，供血者21名の採取終了時の血小板減少率は $23.1\pm7.0\%$ であった。

Table 3に血小板採取の採取結果を示した。血液処理量は供血者のヘマトクリット値と血小板数により異なり，またACD比(血液とACDの割合)

Table 2 Physical condition of donors and change after plateletpheresis

	Before plateletpheresis	After plateletpheresis
Height(cm)	173.0±7.8	
Weight(kg)	68.8±12.3	
Total blood volume(ml) ¹	4,714.3±660.5	
Leukocyte count($\times10^2/\mu l$)	64.7±15.6	57.8±16.0 ³
Erythrocyte count($\times10^4/\mu l$)	505.4±51.5	474.5±58.4 ³
Hematocrit(%)	44.4±3.5	41.1±4.4 ³
Platelet count($\times10^4/\mu l$)	26.9±5.7	20.6±4.4 ³
Platelet depletion(%) ²	23.1±7.0	

n=21 mean±SD

¹ : from Ogawa give reference

² : Platelet depletion(%)= $\frac{A-B}{A}\times100$

A=platelet count before plateletpheresis

B=platelet count after plateletpheresis

³ : p<0.001

Table 3 Collection results of plateletpheresis

Collection time(min)	60.7±1.1	(59—63)
Processed blood volume(ml) ¹	2,908.6±264.6	(2,011—3,150)
Blood/ACD ratio(N : 1)	9.2±0.5	(8.2—10.0)
ACD volume(ml) ²	370.2±37.2	(253—419)
Including total volume(ml)	228.2±52.7	(108—372)
Platelet count(×10 ⁴ /μl)	104.3±16.8	(68.1—128.0)
Platelet yield(×10 ¹¹ /bag)	2.42±0.74	(0.74—3.55)
Leukocyte contamination(×10 ⁵ /bag)	1.21±0.89	(0.11—3.74)
Efficiency(%) ³	38.4±5.4	(27.9—47.2)

n=21 mean±SD ()range

¹ : includes ACD volume² : includes priming ACD volume³ : Efficiency(%) = $\frac{\text{platelet yield}}{\text{processed platelet count}} \times 100$ processed platelet count = $(A+B)/2 \times (\text{processed blood volume} - \text{ACD volume}) \times 10^3$

A = platelet count before plateletpheresis

B = platelet count after plateletpheresis

Fig. 1 Relationship between platelet count before plateletpheresis and platelet yield of platelet concentrate.

と ACD 使用量は、血小板製剤の pH 値を一定にするため、供血者のヘマトクリット値により異なった。製剤中の血小板総数は $2.42 \pm 0.74 \times 10^{11}$ 個/bag、混入白血球数は $1.21 \pm 0.89 \times 10^5$ 個/bag で、採取効率は $38.4 \pm 5.4\%$ であった。また Table 3 には示していないが製剤中の赤血球数は全例自動血球計数装置の測定限界以下であり、目視判定で製剤に溶血は見られなかった。採血中に供血者

の VVR (血管迷走神経反応)、クエン酸反応、アレルギー反応などの副作用は特に見られず、気分不良を訴えた供血者はなかった。

Fig. 1 に供血者21例の採取前血小板数と製剤中の血小板総数の関係を示した。製剤の血小板総数は、採取前血小板数に比例していた ($r=0.878$, $p<0.001$)。

Fig. 2 に21例の製剤中の混入白血球数を度数

Fig. 2 Leukocyte contamination in platelet concentrate.

分布で示した。混入白血球数は、全例が 1×10^6 個/bag 以下で、21例中11例では 1×10^5 個/bag 以下と非常に少なかった。また供血者の採取前白血球数と製剤中の混入白血球数の関係を Fig. 3 に、製剤の血小板総数と混入白血球数の関係を Fig. 4 に示した。製剤中の混入白血球数は供血者の採取前白血球数、及び製剤の血小板総数との間に相関は見られなかった。

考 察

血液成分分離装置 AS-104は、高い採取効率と操作の自動化を図るため以前より、オートマチックインターフェイスコントロール機能（赤血球の位

置をモニターし、至適位置で血小板を自動採取する機能)を搭載している¹¹⁾¹²⁾。PAIP プログラムにはコレクションフェイズ (CP) とトランスファーフェイズ (TP) の2つのフェイズがある。CPでは遠心分離チャンネルの第一ステージで分離貯留された血小板が、第二ステージに移行しないようにインターフェイスが低い位置に設定されている。コレクションボリューム (CV) で設定した血液量が処理されると、インターフェイスが高い位置へと変化し、TP へと移行する。トランスファボリューム (TV) で設定された血液量を処理する間、血小板が第二ステージに移行し、濃縮され濃厚血小板として採取バッグに集められる。この2つのフェイズで1サイクルを成し、繰り返して目標の血液処理量まで採取が行われる。従来のプログラム Ver. 4までは、インターフェイスの位置は常に一定に保たれていたが、この PAIP プログラムではインターフェイスの位置を定期的に変化させることにより、白血球が第一ステージから第二ステージへ移行しにくくなり、白血球混入が少ない血小板採取が可能となっている。

CP, TP の位置を種々に変化させて採取を行った文献データより¹³⁾、今回は最も白血球混入が少なく、採取効率が良好であったパラメータ (Table 1) を用いて、採取時間を60分と一定にし血小板採

Fig. 3 Relationship between leukocyte count before plateletpheresis and leukocyte contamination of platelet concentrate.

Fig. 4 Relationship between platelet yield and leukocyte contamination of platelet concentrate.

取を試みた。血小板採取後は供血者の白血球数、赤血球数、ヘマトクリット値、血小板数は減少していた (Table 2)。白血球数、赤血球数、ヘマトクリット値の減少は、採取回路内の血液残留、及び ACD 液やプライミング生食液により供血者血液が希釈されたためと考えられる。

製剤中の血小板総数は、採取時間を一定にしたため、供血者の採取前血小板数に比例していた (Fig. 1)。採取前血小板数が $15.2 \times 10^4/\mu\text{l}$ と低かった 1 例を除き、血小板総数は 1×10^{11} 個/bag 以上で、最低でも 5 単位の濃厚血小板製剤の採取が可能であった。また 21 例中 14 例では血小板総数が 2×10^{11} 個/bag 以上で、10 単位の濃厚血小板製剤の採取が可能であった。しかし採取前血小板数が約 $25 \times 10^4/\mu\text{l}$ の供血者で 10 単位製剤が採取できていない症例が 3 例に、 $30 \times 10^4/\mu\text{l}$ 以上の供血者で 15 単位製剤が採取できていない症例が 1 例に見られた。これら 4 例と血小板数が $15.2 \times 10^4/\mu\text{l}$ で 5 単位製剤の採取ができなかった 1 例は、脱血不良で血液処理量が少なかった症例であった。

白血球の混入は、混入数の多い製剤では 3.74×10^5 個/bag、少ない製剤では 0.11×10^5 個/bag、平均 $1.21 \pm 0.89 \times 10^5$ 個/bag であった (Table 3)。21 例中 11 例では 1×10^5 個/bag 以下と白血球の混入が非常に少なかった (Fig. 2)。また混入白血球

数は供血者の採取前白血球数や製剤の血小板総数とは相関が見られなかった (Fig. 3, 4)。白血球の混入は、機械の構造上、インターフェイスが構築される間に安定した血流量が保てない場合に起こる。インターフェイスが構築され安定した血流下では白血球層を保つことができ、白血球混入を防いでいる。つまり、白血球混入は、供血者からの血流量に影響され、その不安定な場合に多くなる。このため製剤中の混入白血球数は、採取前の白血球数や血小板総数に影響されることが少なく、それぞれ相関性を示さなかったと推測される。

AS-104 の従来の採取プログラムでは白血球混入が平均 10^6 個/bag であったのに比べ¹²⁾、PAIP プログラムでは白血球混入は平均 10^5 個/bag でより少なくなっている。現在混入白血球数が少ないとされる他の血小板採取装置における白血球混入数及び血小板採取効率、COBE Spectra LRS システムでは $1.6 \pm 1.6 \times 10^4$ 個/bag、 $51 \pm 2\%$ ⁸⁾、Baxter amicus では $0.63 \pm 0.7 \times 10^6$ 個/bag、 $55.3 \pm 12.6\%$ ⁹⁾、 $6.54 \pm 5.67 \times 10^4$ 個/bag、 66.4% ¹⁰⁾ と報告されている。それぞれ採取条件が一定でないため一概に比較できないが、現在使用されている白血球除去フィルターは白血球を $10^4 \sim 10^5$ 個/bag 以下に除去することが可能である⁵⁾。したがって採取血小板の白血球混入が 10^5 個/bag 以下であれ

ば、現時点では満足のいく製剤と考えられる。

一方、混入白血球数の少ない血小板製剤では、白血球による細菌貪食の程度が低下することが懸念されており、実際に混入白血球の少ない成分献血由来の濃厚血小板製剤で、保存中に細菌が増殖したという報告もみられる¹⁴⁾。このため細菌汚染を防ぐ対策も重要と思われる。AS-104ではクローズドシステムのディスプレイ回路を使用しており、またACD液やプライミング用生食液との接続部にはバクテリアフィルターが装着されており、細菌混入を防いでいる。そのため細菌汚染は、返血針と回路の接続、及び供血者への採血針の針刺時での危険性が大きい。混入白血球の少ない血小板採取装置の場合は、細菌混入を防ぐために、供血者の穿針部の皮膚消毒をより厳密に行い対処する必要があると考えられる。

今回の検討では、血小板収量(3.3×10^{11})、血小板濃度($110 \times 10^4/\mu l$)の初期目標を採取時間60分と一定に設定変更したため、目標血小板収量は($1.8 \times 10^{11} \sim 4.0 \times 10^{11}$)で、20単位製剤は採取されなかった。脱血不良例では血小板濃度が目標濃度 $110 \times 10^4/\mu l$ に達しない例もあり、採取効率が $38.4 \pm 5.4\%$ と他機種に比較し低かったと思われる(Table 3)。AS-104では今回のPAIPパラメーターを標準としCVを80~120%変更することにより、白血球混入量は変わらずに効率の良い採取も可能であり¹⁵⁾、また目標の血小板収量(3.3×10^{11})、血小板濃度($110 \times 10^4/\mu l$)を変更することにより20単位製剤の採取も可能である。AS-104は採取時の操作性には特に問題はなく、血小板採取に有用な機器であると考えられた。

結 語

血液成分分離装置AS-104を用い、PAIPプログラムで血小板採取を21例行った。血小板採取効率は $38.4 \pm 5.4\%$ 、混入白血球数は $1.21 \pm 0.89 \times 10^5$ 個/bagと少なく、安全な血小板採取を行うことができた。

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) 柴 雅之, 他: 血小板濃厚液保存中のサイトカイ

ン産生, ヒスタミン遊離および補体の活性化. *日輸血会誌*, 40(5): 716—720, 1994.

- 3) Muylle, L., Wouters, E., et al.: Reactions to platelet transfusion, the effect of storage time of the concentrate. *Transfusion Medicine*, 2: 289—293, 1992.
- 4) Muylle, L., Joos, M., et al.: Increased tumor necrosis factor α (TNF α), interleukin 1, and interleukin 6 (IL-6) levels in the plasma of stored platelet concentrates: Relationship between TNF α and IL-6 levels and febrile transfusion reactions. *Transfusion*, 33: 195—199, 1993.
- 5) 小本美奈, 栗野文剛, 富永誠一: ベットサイド白血球除去フィルターの性能評価, 及び製剤のpH値に及ぼす影響. *日輸血会誌*, 41(6): 596—604, 1995.
- 6) 関口定美, 高橋恒夫: 新しい白血球除去用輸血フィルター. *外科診療*, 33(3): 387—395, 1991.
- 7) 関口定美: 血液事業とアフエレス. *日本アフエレス会誌*, 15(2): 143—149, 1996.
- 8) 長田広司, 清水 勝: 新しい白血球除去システムによる血小板採取. 第17回日本アフエレス学会学術大会抄録集, p. 53, 1997.
- 9) 清水和枝, 他: アミカスによる血小板採取の検討. *日輸血会誌*, 42(3): 139, 1996.
- 10) 藤島照美, 他: 連続式血液成分分離装置 Amicus (米国 Fenwal 社製) による血小板採取の検討. *血液事業*, 20(2): 87, 1997.
- 11) 藤井教夫: 遠心型血液成分分離装置 Fresenius AS-104. *日本アフエレス会誌*, 15(2): 208—212, 1996.
- 12) Coffe, C., et al.: First results obtained in France with the latest model of the Fresenius Cell Separator: AS 104. *Transfus. Sci.*, 14(1): 51—55, 1993.
- 13) Ulrich, E.R. and Kalb, R.: Plateletpheresis with the Periodically Alternating Interface Position (PAIP) software for the fresenius AS 104: the influence of different interface profiles. *Infusionstherapie und transfusionsmedizin*. HP13, 1996.
- 14) 三谷孝子, 他: 濃厚血小板製剤の細菌汚染—血小板献血由来血小板製剤で経験した一事例—. *日輸血会誌*, 42(6): 294—298, 1996.
- 15) Ulrich, E.R. and Kalb, R.: Plateletpheresis with the Periodically Alternating Interface Position (PAIP) software for the fresenius AS 104: The influence of variations of the collection phase. *Infusionstherapie und Transfusionsmedizin*, HP14, 1996.