

シンポジウム3

新たな製造・製剤について

シンポジウム3

PAS血小板

佐藤英哉(日本赤十字社血液事業本部)

PAS血小板(PAS-PC)は、血漿30～40%、血小板添加液(Platelet Additive Solution: PAS)60～70%の混合液に血小板を浮遊させたものであり、濃厚血小板(濃厚PC)製剤に替わる新たな血小板製剤として導入を目指している。当初の名称は置換血小板であったが、日本輸血・細胞治療学会「洗浄・置換血小板の適応およびその調製の指針」¹⁾における置換血小板とは製法、組成等が異なっており、混同を避けるため本名称を用いることとした。ただし現時点では正式な製剤名ではなく、仮称である。

PASとしては、これまでに数種類の組成のものが考案され、一部は実際に使用されており、それらはPAS-A～Gとして整理されている。ただし同一の組成にPASの名称はいくつか存在しており、たとえばPAS-B, C, EはそれぞれPAS-II, III, III Mとも呼ばれ、それぞれの商品名でも呼ばれる^{2), 3)}こともあり、その方がより一般的のようである。PASには保存中の血小板品質の維持を目的として、クエン酸、リン酸、酢酸等が含まれているが、近年広く使用されているPAS-E, F等には、それらの成分に加え、保存中の血小板活性化を抑制する効果のあるMgとKが含まれ²⁾、血小板品質がより良く維持されるものと考えられている。さらにPAS-5等、開発中のPASにおいては、血漿の割合を下げた場合(10%未満)でも5～7日間の保存が可能となるよう、代謝維持のためのグルコースが含まれている^{2), 3)}。なお、洗浄血小板で使用されているM-solとBRS-AもPASであり、ともにMg, Kおよびグルコースが含まれている。

海外においては、同様のPAS-PCが欧米を中心とした国々で導入されており、製剤中の血漿割合は、米国では血漿35%(PAS65%)⁴⁾、欧州では血漿30～40%(PAS60～70%)⁵⁾とされている。有効期間は、採血日を0日として5日間または7日間(本邦では採血日を1日目として数えるため6日間または8日間)である。

保存後の有効性についてSlichterらは、血漿35%、PAS65%に調製したバフィーコート(BC)由来血小板を6日間保存後に輸血したとき、生体中でのRecoveryおよびSurvivalの95%信頼区間下限値(95LCL)はFreshな血小板に対しそれぞれ72%、59%であり、FDAの基準である $\geq 67\%$ 、 $\geq 58\%$ を満たしたことを報告している⁶⁾。また、アフェレーシス(Ap)由来のPAS-PCについても、5日間は十分に保存可能であることが報告されている^{7), 8)}。輸血後の補正血小板増加数(CCI)については、PASの種類に依らず、濃厚PCに対して僅かな低下がみられる場合はあるものの、著しい違いはみられないことが報告されている^{9)～11)}。

輸血後副作用については、PAS-PCに含まれる血漿が少ないことから、血漿成分に由来すると思われる非溶血性輸血副作用の低減が期待されている。海外において輸血後に報告された非溶血性副作用の発生は、アレルギー性副作用が従来PCの半数程度と報告されており^{12)～15)}、明らかな低減効果がみられる。しかし発熱性副作用については、報告により異なるが、明らかな低減効果はみられていないようである。重篤なアレルギー性副作用に対しては、血漿が少なくとも30%は残存しているため低減効果を期待できず、洗浄血小板の使用が推奨されている¹⁶⁾。

次に、現在導入を検討中のPAS-PCについて述べる。従来の血小板製剤と同様、海外ではBC由来とAp由来のPAS-PCが存在しているが、本邦で導入を目指すPAS-PCは、濃厚PCと同じくAp由来である。PAS-PCの採血は、現在稼働中の成分採血装置を用いて濃厚PCの採血とほぼ同様に行うが、分離された血小板は濃厚PCの約3倍まで自動的に濃縮され、続いてPASが添加されるプロセスとなっている。PASの添加量は、PASが総容量の60～70%となるようにあらかじめ設定されており、採取された濃縮血小板の容量から自動的に計算される。同時採取血漿量は、血小板が濃縮

された分だけ増量することになり、たとえば10単位のPAS-PCでは、容量200mLの65% (130mL)が増量分となる。成分採血装置によりPAS添加までを行うことで、その後の製造工程において洗浄、置換等を行うことが不要となり、現行の濃厚PCと同様に扱うことが可能である。しかしながら、成分採血装置には機能上の制限が存在しており、主に製剤容量と採血時間が影響を受ける場合がある。製剤容量については、採血時に血小板を従来よりも高濃縮するが、その濃度には上限がある。したがって製剤容量を小さくすることは難しく、高単位になるほど容量が大きくなってしまいうこととなり、とくに現行の20単位濃厚PC (容量約250mL)と同容量の同単位PAS-PCを得ることは困難である。また採血時間については、採血する血小板の目標単位、献血者の血小板数、体重等によっては、採血機種に依り異なるが、濃厚PCに比べて多少長くなる場合がある。

血小板品質については、保存後のPAS-PCについて各項目 (血小板数, pH, 平均血小板容量 (MPV), 凝集能, p-セレクトリン等)を測定した結果、

保存7日間まで濃厚PCとPAS-PCとの間に大きな差異はみられず、保存中のスワリングも良好であったことから血小板品質が十分に保たれていることを確認したが、極めて微小な凝集塊が保存7日目まで消失しない場合があった。観察された凝集塊は、辛うじて肉眼で観察できる程度の極めて微小なものであり、数も少なく、海外においても問題として報告されていないことを考慮すると、臨床上の問題となる可能性はほとんどないものと思われる。しかしながら、血小板製剤では細菌増殖に由来する凝集物等の発生が知られており、その形状や大きさはさまざまであるが、見分けることが困難な場合も存在すると想定される。またPAS-PC中の細菌増殖動態については、血漿成分が少ないことから濃厚PCとは異なる可能性があり、一部の細菌は濃厚PCよりもPAS-PCで増殖しやすいことが報告されている¹⁷⁾。しかしこれとは逆に、血漿が少ないことで細菌が増殖しにくい場合もあると考えられ、細菌増殖に由来する外観変化 (凝集・凝固物の発生等)を含め、さらに検討を行うことが必要であると思われる。

参考文献

- 1) 日本輸血・細胞治療学会 洗浄・置換血小板の適応およびその調製の指針 (Version V)
- 2) Ashford P, *et al.* Standard terminology for platelet additive solutions. *Vox Sang.* 2010 May; 98 (4): 577-8
- 3) Gullikson H. Platelet storage media. *Vox Sang.* 2014 Oct; 107 (3): 205-12
- 4) AABB Standards for Blood Banks and Transfusion Service, 31th Edition
- 5) EDQM Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 19th Edition
- 6) Slichter SJ, *et al.* Extended storage of buffy-coat platelet concentrates in plasma or platelet additive solution. *Transfusion.* 2014 Sep; 54 (9): 2283-91
- 7) Vassallo RR, *et al.* In vitro and in vivo evaluation of apheresis platelets stored for 5 days in 65% platelet additive solution/35% plasma. *Transfusion.* 2010 Nov; 50 (11): 2376-85
- 8) Dumont LJ, *et al.* In vitro and in vivo quality of leukoreduced apheresis platelets stored in a new platelet additive solution. *Transfusion.* 2013 May; 53 (5): 972-80
- 9) van Rhenen DJ, *et al.* Therapeutic efficacy of pooled buffy-coat platelet components prepared and stored with a platelet additive solution. *Transfus Med.* 2004 Aug; 14 (4): 289-95
- 10) Kerkhoffs JL, *et al.* A multicenter randomized study of the efficacy of transfusions with platelets stored in platelet additive solution II versus plasma. *Blood.* 2006 Nov; 108 (9): 3210-5
- 11) Kerkhoffs JL, *et al.* Clinical effectiveness of leucoreduced, pooled donor platelet concentrates, stored in plasma or additive solution with and without pathogen reduction. *Br J Haematol.* 2010 Jul; 150 (2): 209-17
- 12) G.Andreu, *et al.* Use of random versus apheresis platelet concentrates. *Transfus Clin Biol.* 2007 Dec; 14 (6): 514-21
- 13) Tobian AA, *et al.* The impact of platelet additive solution apheresis platelets on allergic transfusion reactions and corrected count increment (CME).

- Transfusion. 2014 Jun; 54(6): 1523-9
- 14) Cohn CS, *et al.* A comparison of adverse reaction rates for PASC versus plasma platelet units. Transfusion. 2014 Aug; 54(8): 1927-34
- 15) Fabienne M.A. van Hout, *et al.* Transfusion reactions after transfusion of platelets stored in PAS-B, PAS-C, or plasma: a nationwide comparison. Transfusion. 2018 Apr; 58(4): 1021-102
- 16) Estcourt LJ, *et al.* Guidelines for the use of platelet transfusions. Br J Haematol. 2017Feb; 176(3): 365-394
- 17) Dumont LJ, *et al.* Bacterial growth kinetics in ACD-A apheresis platelets: comparison of plasma and PAS III storage. Transfusion. 2011 May; 51(5): 1079-85

シンポジウム3

感染性因子低減化血小板

井出武夫(日本赤十字社血液事業本部)

はじめに

室温で保存される血小板製剤は採血時に皮膚常在菌等が混入すると、冷所保存の製剤に比べ細菌が増殖しやすい。また、輸血細菌感染症の報告はまれではあるが、発生した場合は重篤となる可能性がある。こうした背景から、日本赤十字社は血小板製剤の安全対策の一つとして感染性因子低減化(以下「低減化」という。)技術の導入を検討している。

低減化システム

現在、血小板製剤への導入が可能な低減化技術としてはシーラス社のインターセプトとテルモBCT社のミラソルの2種類がある。インターセプトは2002年に欧州のCEマーク取得以来、25カ国、150施設で使用されている。ミラソルは2007年に欧州のCEマーク取得以来、20カ国、70施設で使用されている。

どちらの低減化システムも光増感剤の添加と紫外線の照射により核酸を障害し、病原因子の増殖が抑制される。光増感剤としてミラソルはビタミンB₂、インターセプトは新規に合成されたソラレン誘導体のアモトサレンが使用されている。上市当初はアモトサレンの安全性について懸念があったが、現在では500万例を超える使用実績の中でアモトサレン関連の有害事象の報告はなく懸念は払拭されつつある。

低減化能については、概してミラソルに比べインターセプトの方が高い傾向¹⁾が見られるが、ノンエンベロープウイルスはインターセプト処理に対し抵抗性を示し、ヒトパルボウイルスB19²⁾やHEV³⁾の感染事例が報告されている。また、黄色ブドウ球菌のスパイク試験では、菌接種翌日にミラソル処理した場合4日目以降に菌の再増殖が確認されている⁴⁾。

低減化処理工程については、インターセプトではバッグの移し替えが3回あり、またアモトサレ

ン除去用のパウチに血小板が残存するため、工程中10%程度の血小板がロスする。さらに、アモトサレンの除去工程(CAD工程)に少なくとも4時間を要する。導入に際しては、ロスを考慮した採血や紫外線照射、CAD工程を考慮した製造スケジュール、出荷時間の見直しが必要となる。一方、ミラソルはバッグの移し替えが1回のみで血小板のロスも少なく、光増感剤の除去工程もないため、血液事業への適合性は優れている。また、PAS血小板製剤に低減化を導入する場合、どちらのシステムも現行の10単位製剤の製剤容量等に対応していないため製剤規格の見直しが必要となる。

低減化処理による血小板品質への影響としては、代謝の亢進、活性化、凝集能の低下、アポトーシスの亢進等⁵⁾が報告されている。また、プロテオーム解析により、ミラソル処理は血小板の粘着と形態変化に、インターセプト処理は細胞内の活性化シグナル伝達に影響を及ぼす⁶⁾ことが示されている。

臨床研究

健常者ドナーに放射性同位体でラベルした血小板を自家投与して、血小板の生体内の回収率(recovery)と寿命(life span)を調べた試験では、どちらの技術においても、保存5日目の低減化処理群の回収率と寿命は未処理群に比べ2~3割低く、FDA推奨値の下限に近い値を示した⁷⁾との報告がある。

低減化処理血小板に関する臨床試験のメタアナリシス⁸⁾では、低減化処理血小板製剤を投与した群(低減化処理群)と未処理製剤を投与した群(未処理群)を比較した場合、WHO基準グレード2以上の出血症例の発生率に差はないが、低減化処理群で血小板の輸血量が多く、輸血間隔が短い傾向がみられ、また、輸血不応となるリスクが高いとされた。

また、近年、上述のメタアナリシスの報告以降

に実施された大規模なランダム化非劣性比較試験が2件報告された。インターセプト処理血小板製剤について調べたEFFIPAP study⁹⁾では、WHO基準グレード2以上の出血患者割合を主要評価項目として低減化処理PAS血小板(被験群)と未処理血小板(対照群)を比較したところ、対照群をPAS血小板とした場合は被験群の非劣性が示されたが、対照群を血漿浮遊血小板とした場合は非劣性が示されなかったとしている。また、ミラソル処理血小板製剤について調べたPREPAREs study¹⁰⁾では、上述と同様の主要評価項目に対し、低減化処理血漿浮遊血小板と未処理血漿浮遊血小板を比較したところ、ITT解析(intention-to treat)では非劣性が示されたが、per-protocol解析では非劣性が示されなかったとしている。

一方で、低減化導入に対する慎重論もある。J.Hessら¹¹⁾は、低減化に関する臨床試験の大部分が予防的投与を目的とした疾患を対象にしたものであり、これらの疾患では血中の血小板数と出血の関連性は低く、低減化処理による血小板のロスや凝固因子濃度の希釈、品質の低下は大きな問題とならないが、外傷症例では血液製剤の止血効果が臨床アウトカムに大きく影響し、こうした希釈や品質の低下も大きく関与するとし、輸血感染症による死亡例が極めて少ない先進国で低減化処理した輸血用血液製剤を使用すると、助ける患者よりも多くの患者を害するかもしれないと述べている。また、A.Arbaeenら¹²⁾は、大量出血症例に対

し血漿、血小板、赤血球を1対1対1の比率(MTP輸血パッケージ)で輸血することを想定し、ミラソル処理した血漿、血小板を使用した場合の止血効果への影響を模擬的な血液を用いて評価した。血液の30%をミラソル処理MTP輸血パッケージで置換した場合、ROTEM[®]で測定される止血パラメーター(血餅形成時間、フィブリンと血小板の相互作用、最大血餅強度)は未処理MTP輸血パッケージで置換した場合と比較し有意な差はなかったが、50%以上を置換した場合は低下が見られたとしている。

まとめ

低減化技術導入により予想される影響を表1に示す。海外における臨床試験の結果から、低減化処理をすると輸血後の補正血小板増加数(CCI)は低下することが示され、血小板の予防的投与が多数を占め、輸血効果の評価にCCIが用いられる本邦においては臨床現場への影響が懸念される。また、輸血間隔短縮、輸血回数の増加等も報告されており、製造工程の追加、採血単位数の増加、これに伴う業務量の増加等、血液事業への影響も危惧される。

以上を踏まえ、低減化技術の導入に際しては、導入することのメリット／デメリットや費用対効果、日本の血液事業への適合性等を総合的に判断する必要があると考える。

表1 低減化技術導入により予想される影響

	患者・医療機関	血液事業
メリット	・細菌および新興・再興感染症伝播リスクの減少	・X線照射、CMV抗体検査の省略
デメリット	・血小板品質の低下(活性化、代謝の亢進、凝集能の低下等) ・補正血小板増加数(CCI)の低下 ・輸血回数の増加 ・医療費増加	・採血単位数の増加 ・供給本数の増加 ・業務量増加 ・コスト増加

参考文献

1) Kaiser-Guignard J, *et al.* The clinical and biological impact of new pathogen inactivation technologies on platelet concentrates. Blood

Reviews 2014; 28: 235-241

2) Gowland P, *et al.* Parvovirus B19 Passive Transmission by Transfusion of Intercept Blood System-Treated Platelet Concentrate. Transfus

- Med Hemother 2016; 43: 198-202
- 3) Hauser L, *et al.* Hepatitis E transmission by transfusion of Intercept blood system-treated plasma. *Blood* 2014; 123: 796-797
 - 4) 平成26年3月19日開催 薬事・食品衛生審議会 血液事業部会運営委員会
 - 5) Schubert P, *et al.* Ultraviolet-Based Pathogen Inactivation Systems: Untangling the Molecular Targets Activated in Platelets. *Front Med* 2018; 5: 129
 - 6) Prudent M, *et al.* Proteome Changes in Platelets After Pathogen Inactivation-An Interlaboratory Consensus. *Transfusion Medicine Reviews* 2014; 28: 72-83
 - 7) Prowse CV, *et al.* Component pathogen inactivation: a critical review. *Vox Sanguinis* 2013; 104: 183-199
 - 8) Estcourt LJ, *et al.* Pathogen-reduced platelets for the prevention of bleeding. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017; 7: CD009072
 - 9) Garban F, *et al.* Comparison of the hemostatic efficacy of pathogen-reduced platelets vs untreated platelets in patients with thrombocytopenia and malignant hematologic diseases a randomized clinical trial. *JAMA Oncology* 2018; 4 (4): 468-475
 - 10) van der Meer P, *et al.* Hemostatic efficacy of pathogen-inactivated versus untreated platelets: a randomized controlled trial. *Blood* 2018; 132 (2): 223-231
 - 11) Hess JR, *et al.* Will pathogen reduction of blood components harm more people than it helps in developed countries. *Transfusion* 2016; 56: 1236-1241
 - 12) Arbaeen AF, Pathogen inactivation treatment of plasma and platelet concentrates and their predicted functionality in massive transfusion protocols. *Transfusion* 2017; 57: 1208-1217

シンポジウム3

血小板の低温保存

小池敏靖(日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所)

はじめに

現在、本邦では、血小板製剤は室温での保存しか認められていない。しかし、冷蔵(4℃)保存が可能になると細菌増殖の抑制、振とう保存が不要、有効期限の延長および止血能の向上といったメリットがあると考えられている。さらに、冷凍(−65℃以下)保存では、数年間の保存が可能となる。本稿では、これらの低温保存血小板に関する我々の検討結果や海外での報告等について述べる。

1. 冷蔵血小板のメリット

血小板製剤の冷蔵保存時のメリットの第一は、細菌増殖抑制による細菌対策となることである。我々は、血漿100%の血小板製剤(血漿PC)および血漿の65%を血小板保存液(T-PAS+)に置換した血小板製剤(PAS-PC)において、血液製剤由来菌株である*E.coli*等が、冷蔵保存時に少なくとも2週間は増殖しないことを確認している。冷蔵保存では、特別な薬剤や資材は必要とせず、冷蔵庫に入れるだけという非常に簡便な方法で細菌対策を行うことができる。

次に、冷蔵保存時には、室温保存で必須とされる振とう保存が不要になる。Reddochらは、血漿PCを冷蔵振とうおよび冷蔵静置保存した際の*in vitro*での血小板品質を解析し、冷蔵時の振とうの有無が品質に影響を与えないことを報告している¹⁾。そのため、血小板製剤の冷蔵保存時は静置保存でよく、振とう機等の設備が不要となる。

冷蔵保存することで、有効期限の延長が見込まれる。我々はこれまでに血漿PCとPAS-PCを3週間冷蔵保存した際の*in vitro*での品質を解析している²⁾。有効期限内の同室温保存分と比較し、血小板の凝集能等の機能面に関して冷蔵血漿PCは10日間、冷蔵PAS-PCは14日間程度維持されることを明らかにしている。しかし、冷蔵血漿PCでは保存5～7日目には顕著な凝集塊が発生するものがあり血小板数も減少する。そのため、現行

の血小板製剤の基準では、冷蔵血漿PCでは4日間程度しか保存できない。一方、冷蔵PAS-PCでは凝集塊は発生せず、血小板数の低下も生じにくいことから2週間程度の保存が可能である。

しかし、*in vivo*での評価では結果が少し異なる。Stollaらは、健常者において、10日間冷蔵保存した血漿PCおよびPAS-PC(PASはintersolとisoplate)をラジオアイソトープでラベルしたのちに自己輸血し、輸血後の血小板回収率(Recovery)と生存率(Survival)を調べている³⁾。その結果、*in vitro*での血小板数は、冷蔵血漿PCの方が冷蔵PAS-PCよりも低下していた。一方、*in vivo*解析では、Recoveryに関しては冷蔵血漿PCの方が冷蔵PAS-PCよりも平均値が上回っており、冷蔵血漿PCの方が優れた結果であった。この解析において、冷蔵血漿PCには凝集塊は発生していない。我々の解析においても、血小板の機能としては10日程度保存できる結果が得られていることから、顕著な凝集塊が発生しなければ、冷蔵血漿PCにおいても長期間保存できる可能性がある。また、冷蔵血漿PCと冷蔵PAS-PCのどちらが優れているかの判断には、SSP+で調製された冷蔵PAS-PCの*in vivo*での評価が必要である。

さらに、冷蔵保存することで止血能が向上するという利点も指摘されている。Apelsethらは、1週間室温あるいは冷蔵保存したPAS-PCを、心臓外科手術時に輸血し、冷蔵の方が室温保存よりも術後の出血量が約40%少なく、また血栓塞栓症の発生リスクは同等であることを報告している⁴⁾。このように、冷蔵血小板は室温保存よりも止血能が高まることが期待されている。

2. 冷蔵血小板の適応

冷蔵血小板は室温保存と比べRecoveryとSurvivalが著しく低下する³⁾。そのため、現状では、血小板数の維持を目的とした予防的投与には用いることができず、出血を止めるために用いる治療

的投与にしか使えないと考えられる。日本における疾患領域別の血小板製剤使用割合では、予防的投与が主である血液内科が半分以上を占める。また、その他の予防的投与が大半と想定される分野を除くと、全体の約20～25%程度が治療的投与に用いられていると推定され、冷蔵血小板の適応範囲も同程度になると考えられる。

治療的投与に関しては、近年、大量出血症例に対する血液製剤の適正な使用のガイドラインが策定されている。その中でも、出血時の血小板製剤使用割合が高い心臓血管外科領域においては、術時に大量出血をきたした際は大量輸血プロトコル(MTP)を用いることが推奨されている⁵⁾。このMTPでは赤血球や新鮮凍結血漿だけではなく、血小板製剤も同量投与することが目標とされている。現状の血小板製剤では有効期限が短いため、医療機関で備蓄しておくことは非常に困難である。そのため、MTPを実施する際に、日本赤十字社が緊急搬送する必要がある。しかし、血小板の冷蔵保存が可能になり有効期限が延長されれば、医療機関で備蓄することが可能になり、MTPを行いやすくなることが想定される。また、それに伴い緊急搬送が減り、日赤の負担も軽減できると考えられる。冷蔵血小板は、その適応に限られるものの、患者、医療機関および供給側のすべてに利点のある製剤となる可能性がある。

3. 冷凍血小板

前述のMTPへの対応では有効期限の延長が重要になるが、冷蔵血小板よりもさらに延ばす方法として冷凍血小板がある。Readeらは、心臓外科手術時に室温保存血小板あるいは冷凍血小板を解凍後投与し、冷凍血小板の安全性と有効性を報告している⁶⁾。Readeらの冷凍血小板の調製方法は、血漿PCに最終濃度5～6%になるようにDMSOを添加後にバッグごと遠心した後、上清を除去し容量を10%程度まで落とした状態で-80℃で保存している。約1年間保存後に解凍し、除去した上清分の新鮮凍結血漿を加え使用している。その結果、室温保存血小板と比べ、安全性や術後の出血量は

変わらないことが述べられている。しかし、冷凍血小板の方が、その使用量は平均で数倍多く、同時に使用した新鮮凍結血漿の量も多い。そのため、冷凍血小板は安全であり止血も可能であるが、止血機能は室温血小板よりは劣るものであると考えられる。我々も冷凍血小板の*in vitro*での解析を進めている。解凍後の回収率は平均91%と非常に高い値が得られているが、解凍後の室温保存時に凝集塊が発生し血小板濃度が顕著に低下していくことを確認している。その他の項目に関しては、冷凍血小板は室温あるいは冷蔵血小板と比較して血小板機能は低下し、アポトーシスが進行するという結果であった。冷凍血小板は、数年間と長期間の保存が可能となるが、その品質としては室温や冷蔵血小板より劣ると考えられる。

4. 最後に

冷蔵血小板は、有効期限や止血能の観点から、室温血小板よりも出血時に適した製剤となり得る。しかし、現状ではその適応に限られることから、血小板製剤のすべてを冷蔵保存に置き換えることはできない。室温と冷蔵保存が共存し、かつその割合は冷蔵保存の方が少ないため、各々に対応した製造・供給体制をどうするかといった運用面での課題がある。また、臨床データが少ないことも懸念事項である。現在、ノルウェーやアメリカにおいて臨床試験が実施、計画されているため、その動向を注視するとともに、日本においても冷蔵血小板の臨床データを取得する必要がある。

冷凍血小板に関しては、冷蔵よりもさらに長期間保存できるのが最大のメリットである。また、血小板が入手できない状況においては、十分使用に足るものである。しかし、その品質は、室温や冷蔵血小板よりも大きく劣ると考えられる。また、DMSOの添加や濃縮工程をどのように無菌的にするかなど調製面での課題もある。

このように課題は多いものの、低温血小板でしか患者の命を救えない場面は多々想定される。さらなる低温血小板の検討、開発を進めていくことが重要である。

参考文献

1) Reddoch KM, *et al.* (2014): Hemostatic function of apheresis platelets stored at 4 °C and 22 °C. *Shock*,

41: 54-61.

2) 小池, ほか (2018): 血漿を血小板保存液に置換した血小板製剤の冷蔵保存時の品質. 日本輸血細胞

治療学会誌, 64 : 726-732.

- 3) Stolla M, *et al.* (2018) : In vivo viability of extended 4 °C -stored autologous apheresis platelets. *Transfusion*, 58: 2407-2413.
- 4) Apelseth, TO, *et al.* (2017) : Transfusion with Cold Stored Platelets in Patients Undergoing Complex Cardiothoracic Surgery with Cardiopulmonary Bypass Circulation: Effect on Bleeding and Thromboembolic Risk. *Transfusion*, 57: 3a-4a.
- 5) 宮田茂樹, ほか (2019) : 大量出血症例に対する血液製剤の適正な使用のガイドライン. 日本輸血細胞治療学会誌, 65 : 21-92.
- 6) Reade MC, *et al.* (2019) : A randomized, controlled pilot clinical trial of cryopreserved platelets for perioperative surgical bleeding: the CLIP-I trial. *Transfusion*, 59: 2794-2804.

シンポジウム3

フィブリノゲン製剤(クリオプレシピテート・フィブリノゲン濃縮製剤)

宮作麻子(日本赤十字社血液事業本部)

はじめに

フィブリノゲンは正常人血漿中に200～400mg/dL存在し、組織が損傷した場合に血小板の傷口への粘着に引き続いて血液のゲル化を起こし生体の防御・止血機能を果たす血漿成分である。大量出血時には、凝固因子の中でフィブリノゲンが最初に限界値まで減少する可能性が高く、また、凝固系が活性化されトロンビン産生が起こっても、フィブリノゲンが著しく低下している場合には凝固の最終段階となるフィブリン形成が十分に起こらず止血が図れない可能性がある。よって、フィブリノゲンを高濃度に含むフィブリノゲン濃縮製剤(FC)またはクリオプレシピテート(Cryo)の投与による急速なフィブリノゲン値の改善が、大量出血症例の早期止血に有効である可能性がある。

本邦の現状

(1) フィブリノゲン濃縮製剤(FC)

本邦ではCryo上清を低温エタノール分別沈殿したフラクションI沈殿から調製されたFCが日本血液製剤機構(JB)から製造販売されている。FCはタンパク質としてフィブリノゲンのみを高濃度に含有する。血液型を考慮した使用は不要で、ガラスバイアル入り凍結乾燥製剤である。

JBの前身である旧ミドリ十字社が「低フィブリノゲン血症」を効能・効果とするFCの製造承認を1964年に取得し、1987年に乾燥加熱処理(60℃, 96時間)を導入した。しかしながらこの処理法は肝炎ウイルス(HBV, HCV)に対して不十分であったことから、1994年にはSD処理を導入、加熱処理を72時間に変更している。2004年には孔径35nmウイルス除去膜によるろ過処理工程を導入し、さらに2012年にろ過膜孔径を19nmに、加熱処理温度を80℃に変更している。一方で、適応に関しては1990年に国の臨時的再評価指定の対象となり、1998年に効能・効果が「先天性低フィブリノゲン血症の出血傾向」に限定された¹⁾。

そのため、現在、後天性のフィブリノゲン低下への補充には一部の医療機関で適応外使用されており、日本麻酔科学会、日本外傷学会、日本血栓止血学会および日本産科婦人科学会から国の「医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議」に対し、FCの適応拡大の要望が提出されている。

(2) クリオプレシピテート(Cryo)

Cryoは凍結血漿を低温融解させ上清を廃棄した沈殿物を再凍結して作製する。

日本赤十字社では1973年に「血液凝固第Ⅷ因子欠乏症」の効能・効果で製造承認を受け、血友病患者用製剤として製造・供給を開始した。1985年に国の再評価指定の対象となり、1988年に有用性がない旨の再評価結果通知を受け入れ製造・供給を終了し、現在は製造販売承認を有していない。再開には大量出血への適用等を目的とした新たな品目として改めて製造販売承認を取得する必要がある。

Cryoはフィブリノゲンを高濃度に含むだけでなく、vWF, FⅧ, FXⅢ, Fibronectin等も含有するという点で厳密にはFCとは異なる製剤である。ABO血液型別に製造され、凍結品のため融解して使用する。

現在、一部の医療機関で日本輸血・細胞治療学会の「クリオプレシピテート作製プロトコル」²⁾に従い院内調製されている。標準的な調製法としてFFP480から作製する方法が示されたが、AB型FFP480を使用する施設が多くみられるようになった³⁾ことから、新たにFFP240を2本プールして作成するプロトコル⁴⁾が公表された。

なお、Cryoの院内調製は大型の冷却遠心機等を備えた施設に限定されるが、小野寺らは遠心機によらず血液浄化療法で使用される膜型血漿分離器を用いてFFPを濃縮し、生成物を回収して凝固因子濃度等の性状を明らかにしている。同一のFFPから調製したCryoと比べフィブリノゲンの含有量

は0.85倍濃度であったが、FXⅢ活性は約2.6倍を示したことが報告されている⁵⁾。

諸外国の状況と臨床評価

諸外国ではFCとCryoの使用は二分化されている。米国、英国、カナダ、オーストラリア等では日本と同様にFCの適応が先天性欠乏患者に限定されている⁶⁾ため、Cryoが後天性のフィブリノゲン低下への止血に使用されている。一方、ドイツ、フランス、オランダ、スイス等では後天性のフィブリノゲン低下にFCが使用可能なためCryoは使用されていない^{6), 7)}。

心臓血管外科、産科、外傷等の各領域分野で後天性のフィブリノゲン低下を伴う大量出血症例に対するFCおよびCryoの有効性にかかる研究報告例はあるが、ランダム化比較試験(RCT)では期待する結果が得られず、確立されたエビデンスは少ない。

FCについては、日本を含む国際規模で実施された心臓血管外科領域における第Ⅲ相RCT(REPLACE study)では、対照群(生理食塩液)と比較して24時間輸血量削減効果は限定的であった⁸⁾。産科領域でも産後出血に対して生理食塩液を対照群としたRCTでFCの有効性を証明できなかった^{9), 10)}。一方、FCの有効性やフィブリノゲンのトリガー値を直接証明したものではないが、Cryoをアクティブコントロールとした単一盲検の第Ⅲ相RCT試験(FIBRES trial)では、24時間輸血量の削減に関し、Cryoに対してFCは非劣性であったことが示された¹¹⁾。

大量出血症例に対する血液製剤の適正な使用のガイドライン

我が国では、2019年に「大量出血症例に対する血液製剤の適正な使用のガイドライン」¹²⁾が公開された。以下に推奨の概要を示す。

(1) 心臓血管外科

複雑な心臓血管外科手術に関連する大量出血患者に対してFC、Cryoによる止血管理を行うこと

が弱く推奨された(推奨度：2C)。初期用量としてFCでは50mg/kg程度、Cryoでは3～4mL/kg程度とされ(推奨度：2C)、出血量軽減や同種血製剤削減、投与量決定には血漿または全血フィブリノゲン値の測定、血液粘弾性検査などのPoint-of-care (POC) テストを用いた血漿または全血フィブリノゲン値のモニタリングが強く推奨されている(推奨度：1B)。

(2) 産 科

妊産褥婦の大量出血症例にするFC、Cryoの投与は有用であり、投与のタイミングとして、血漿フィブリノゲン濃度150～200mg/dLが提案されている(推奨度：2C)。

(3) 外 傷

血漿フィブリノゲン<150mg/dLを伴う外傷による大量出血患者に対する投与が弱く推奨されている(推奨度：2C)。ただし、FCは外傷による後天性低フィブリノゲン血症患者に対する保険適応はなく、Cryoは各施設の院内調剤によってのみ使用可能であるため、施設体制整備をしておくことが必要である旨が申し添えられている。

(4) その他

その他の臨床領域においてもフィブリノゲン製剤の使用は推奨されているが(推奨度：2C)、最適投与量やCryoの有効性についてはエビデンスが不足していることから結論は保留とされている。

まとめ

FC、Cryoとも大量出血患者に対する止血や出血傾向の改善にかかる臨床的エビデンスに基づく有効性の証明が大きなボトルネックであるが、2019年に公開された「大量出血症例に対する血液製剤の適正な使用のガイドライン」では、システムティック・レビューによるエビデンス総体の構築に基づきフィブリノゲンを高濃度に含む製剤の推奨や使用指標が示された。今後もFCおよびCryoにかかる動向を注視していく。

参考文献

1) フィブリノゲンHT静注用1g「JB」 医薬品インタビューフォーム 2017年12月改訂(第14版)、日

本血液製剤機構

2) 大石晃嗣 他：クリオプレシベート院内作製プロトコール、日本輸血細胞治療学会誌2016；62：

664-672

- 3) 大石晃嗣 他：FFP-LR240を用いたクリオプレシピテート作製プロトコル. 日本輸血細胞治療学会誌 2019 ; 65 : 10-20
- 4) 河村朋子 他：本邦でのクリオプレシピテート作製状況と課題. 血液事業 2018 ; 41 : 9-16
- 5) 小野寺秀一 他：膜型血漿分離器を用い短時間かつ簡便に新鮮凍結血漿中のフィブリノゲンおよびFXIIIなどを濃縮する方法. 日本輸血細胞治療学会誌 2019 ; 65 : 568-576
- 6) Drugs.com: Fibrinogen, human,
<https://www.drugs.com/international/fibrinogen-human.html> (2019年10月現在)
- 7) EDQM: The collection, testing and use of blood and blood components in Europe 2014 report. Council of Europe
- 8) Rahe-Meyer N, *et al.* Randomized evaluation of fibrinogen vs placebo in complex cardiovascular surgery (REPLACE): a doubleblind phase III study of haemostatic therapy. Br J Anaesth 2016; 117: 41-51
- 9) Wikkelsso AJ, *et al.* Pre-emptive treatment with fibrinogen concentrate for postpartum haemorrhage: randomized controlled trial. Br J Anaesth 2015; 114: 623-33
- 10) Collins PW, *et al.* Viscoelastometric -guided early fibrinogen concentrate replacement during postpartum haemorrhage: OBS2, a double-blind randomized controlled trial. Br J Anaesth 2017; 119: 411-421
- 11) Callum J, *et al.* Effect of Fibrinogen Concentrate vs Cryoprecipitate on Blood Component Transfusion After Cardiac Surgery. The FIBRES Randomized Clinical Trial. JAMA Published online 2019 October 21; E1-E11
- 12) 宮田茂樹 他：大量出血症例に対する血液製剤の適正な使用のガイドライン. 日本輸血細胞治療学会誌 2019 ; 65 : 21-92