

2

輸血療法 Q&A

輸血検査に影響を及ぼす新規薬剤について (抗CD38抗体、抗CD47抗体)

〔演者〕 東邦大学医療センター大森病院 輸血部 日高陽子

【スライド1】

東邦大学医療センター大森病院 輸血部
日高です。今回は、「輸血検査に影響を及ぼす新規薬剤について」お話させていただきます。

輸血検査に影響を及ぼす 新規薬剤について (抗CD38抗体、抗CD47抗体)

第20回東京都輸血療法研究会
東邦大学医療センター大森病院
日高 陽子



【スライド2】

開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

第20回東京都輸血療法研究会
COI開示

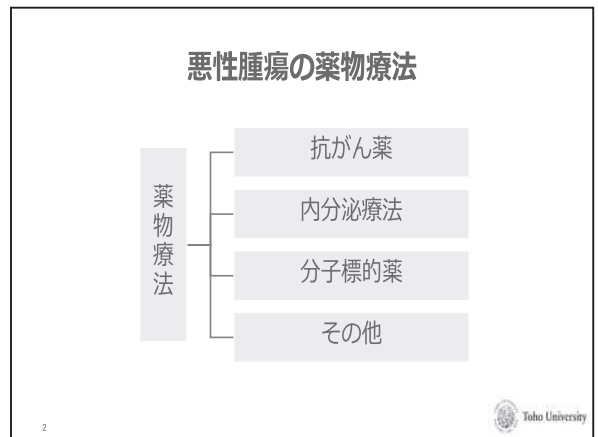
発表者名：日高 陽子

演題発表に関連し、
開示すべきCOI関係にある企業などはありません。



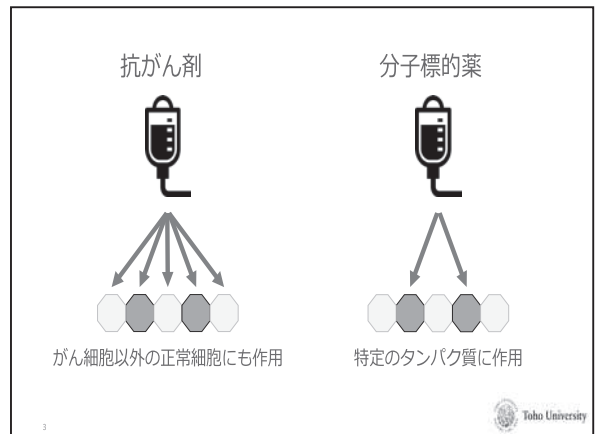
【スライド3】

今回、お話しする新規薬剤は、悪性腫瘍の薬物療法に用いられる薬剤です。薬物療法には、スライドに示す薬剤があります。その中でも、輸血検査に影響を及ぼす薬剤は、分子標的薬です。



【スライド4】

一般的な抗がん剤は、がん細胞以外の正常細胞にも作用するため、吐き気や嘔吐、脱毛、骨髄抑制など重い副反応を認めます。一方、分子標的薬は、特定のタンパク質に作用するため、正常細胞への影響が少なく抗がん剤と比較し、副反応が軽いと言われています。しかし、薬剤の性質により、異なった副反応が表れやすいとされ重篤な副反応を認めないわけではありません。



【スライド5】

現在、明らかになっている輸血検査に影響する分子標的薬には、抗CD38治療薬、抗CD47治療薬があります。抗CD38治療薬は、ダラツムマブとイサツキシマブの2種類で、多発性骨髄腫に用いられる薬剤です。抗CD47治療薬は、マグロリマブといいます。この薬剤は、スライドに示す血液疾患の他に固形がんにも使用される薬剤です。現在、日本では進行性または転移性固形がんを対象に臨床試験中です。

輸血検査に影響する分子標的薬	
抗CD38治療薬	
<ul style="list-style-type: none"> ■ ダラツムマブ ■ イサツキシマブ 	多発性骨髄腫
抗CD47治療薬	
<ul style="list-style-type: none"> ■ マグロリマブ 	骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病、 びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、固形がん * 日本：進行性または転移性固形がんを対象に 臨床試験中



【スライド6】

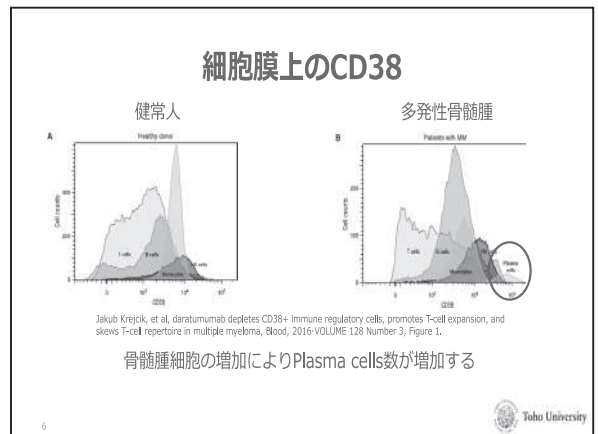
では、抗CD38治療薬についてお話しします。

抗CD38治療薬について



【スライド7】

まず、CD38は、形質細胞やリンパ球、単球、赤血球などに発現しています。その中でも、形質細胞は強陽性で発現しており、赤血球膜上は、わずかに発現しています。左側は健康人のCD38の発現の状態です。赤血球は、CD38の発現量が少ないため、グラフ上で認めることは出来ません。形質細胞は強陽性ですが、カウント値が少ないため、認められません。しかし、多発性骨髄腫では、悪性となった形質細胞が増加するためスライドで認めることができます。



【スライド8】

ダラツムマブとイサツキシマブの違いです。この2種類は、まず抗体の構造が異なります。ダラツムマブは、完全ヒト型免疫グロブリンモノクローナル抗体、イサツキシマブはキメラIgG1カッパーモノクローナル抗体です。対象患者も異なり、ダラツムマブは未治療患者にも使用できます。

抗CD38治療薬

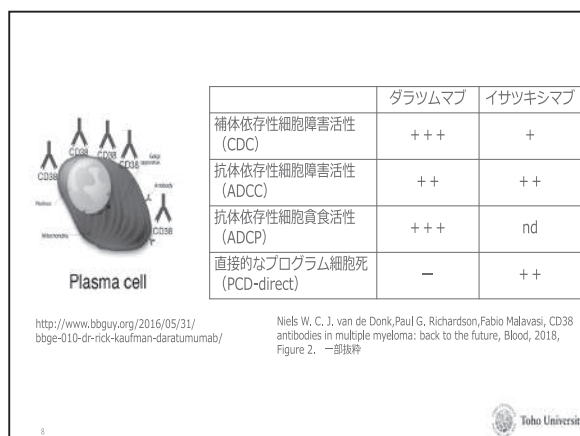
一般名	ダラツムマブ	イサツキシマブ
抗体の構造	完全ヒト型免疫グロブリンG1kモノクローナル抗体	キメラIgG1kモノクローナル抗体 (マウス抗ヒトCD38抗体の変異部 及びヒトIgG定常部)
対象患者	再発または難治性患者 未治療患者	再発または難治性患者

可変部
定常部

自作スライド
Toho University

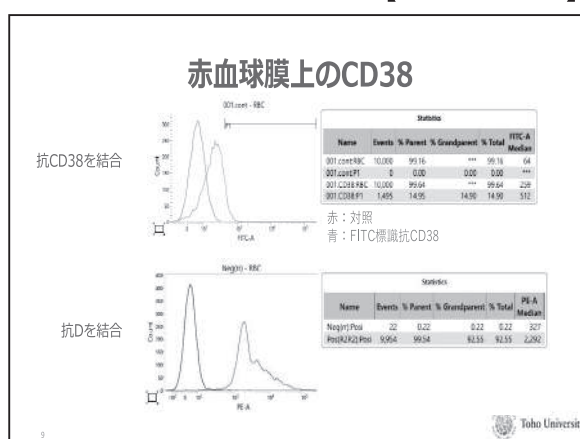
また、CD38の抗原の認識場所や、スライドに示すように骨髄腫細胞に対する作用が異なります。

【スライド9】



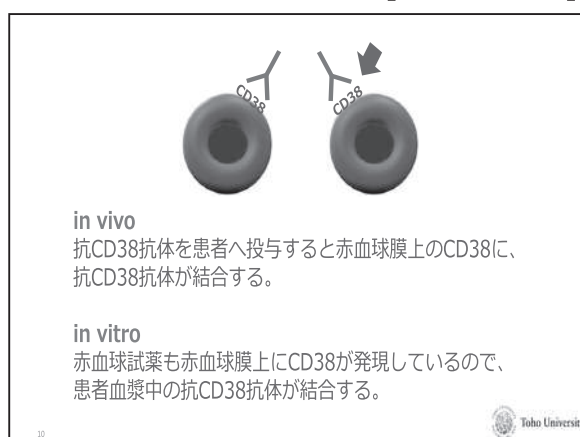
次に、赤血球上のCD38抗原をフローサイトメーターを用いて検査しました。上段は、FITC標識抗CD38を結合させて測定したグラフで下段は対照として、抗Dを結合させて測定したグラフです。抗Dを結合した赤血球は、陰性赤血球と比較し、明らかに強く発光しています。しかし、抗CD38は、発光が弱く、赤血球膜上の抗原の発現量は少ないことが分かります。

【スライド10】



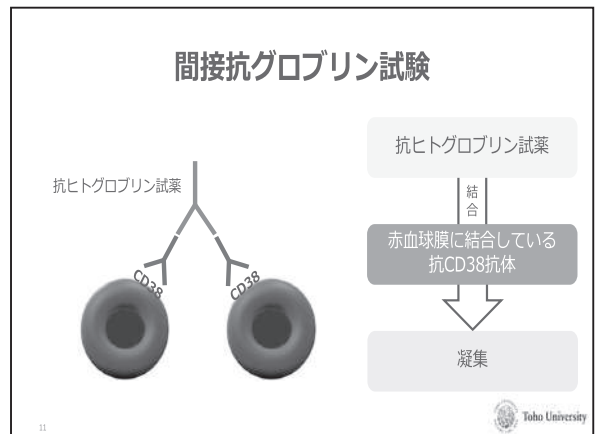
抗CD38抗体を投与された患者の血液は生体内では、患者の赤血球膜上のCD38と結合します。輸血検査においても、赤血球試薬のCD38に、患者血漿中の抗CD38抗体が結合します。

【スライド11】



【スライド 12】

その結果、抗ヒトグロブリン試薬を使用する間接抗グロブリン試験や直接抗グロブリン試験では赤血球膜に結合している抗CD38抗体に結合し、凝集が認められます。



【スライド 13】

不規則抗体検査を実施すると、すべての赤血球試薬に凝集を認めます。

Cell No	Rh-hr					Kell		Duffy		Kidd		IAT
	D	C	E	c	e	K	k	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	
I	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	1+
II	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	0	1+
III	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	+	1+

Cell No	Rh-hr					Kell		Duffy		Kidd		IAT
	D	C	E	c	e	K	k	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	
1	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	1+
2	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	+	1+
3	+	0	0	+	+	0	+	0	0	+	0	1+
4	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	1+
5	0	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	1+
6	0	0	0	+	+	+	+	+	0	+	0	1+
Auto												0/+

Toho University

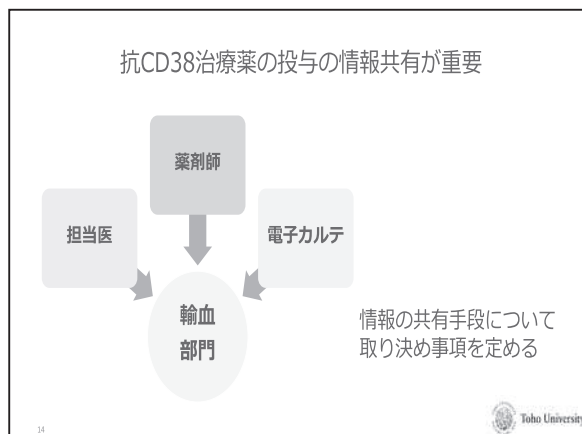
【スライド 14】

このような汎反応性の凝集を認めた場合、どのような原因を考えるでしょうか。高頻度抗原に対する抗体、複数抗体、自己抗体、抗CD38治療薬投与後など様々原因が考えられます。また、原因により精査手順が異なります。



【スライド15】

適切な精査を実施するためには、抗CD38治療薬の投与情報が必要です。そのためには、どのような手段を用いて輸血部へ投与情報を伝達してもらうか院内で取り決め事項を定めることが重要です。



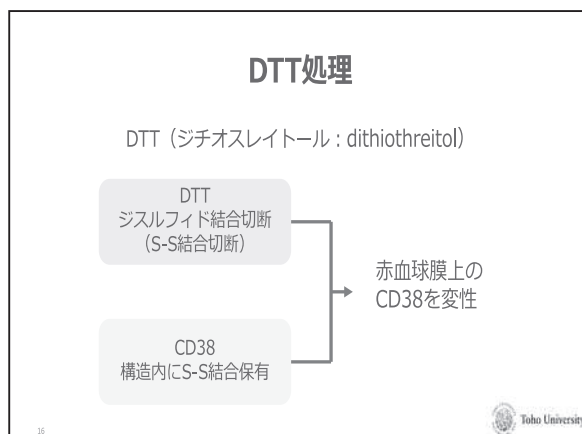
【スライド16】

抗CD38治療薬の投与情報が得られたら、どのような精査を実施する必要があるでしょうか。スライドに影響を受けない検査方法を示します。この中で、もっとも現実的な検査方法は赤血球のDTT処理です。他の方法でも可能ですが、試薬の毒性や費用、供給などの点から検査するのは難しいと考えます。



【スライド17】

DTT処理は、ジスルフィド結合を切断し抗原を変性します。CD38は構造内にSS結合を保有しているため、DTTで処理すると、赤血球膜上のCD38を変性することができます。赤血球膜上のCD38が変性すると、患者血漿中の抗CD38抗体の影響を受けずに間接抗グロブリン試験を行うことができます。



【スライド 18】

DTT処理の手順は、日本輸血・細胞治療学会のホームページから確認することができますのでご参照ください。

DTT処理の手順
日本輸血・細胞治療学会HPより

医療関係者の方へ

↓

医学・診療情報

↓

輸血・細胞治療参考資料


■輸血のための検査マニュアル Ver.1.3.2

※このマニュアルは監修者・監修者の責任の下で発行されています。ご利用の際は学会事務局までお問い合わせをお願いいたします。連絡先アドレスはinfo@jstcc.or.jpです。

- 輸血のための検査マニュアル Ver.1.3.2 第1巻
- 輸血のための検査マニュアル Ver.1.3.2 (第2巻) 第1巻
- 輸血のための検査マニュアル 採血技術 Q&A Ver.1.3.2 第1巻
- 輸血のための検査マニュアル 採血技術 Q&A Ver.1.3.2 (第2巻) 第1巻

■特殊検査技術


- 多発性骨髄腫治療薬 (抗CD38) による免疫反応への対応法(一) 抗CD11c 第1巻



【スライド 19】

続いて、抗CD47治療薬についてです。

抗CD47治療薬について



【スライド 20】

マグロリマブは、マクロファージチェックポイント阻害剤の作用があります。どのようなことかと言いますと、赤血球や血小板、リンパ球など多くの細胞膜上にCD47は発現しています。貪食作用があるマクロファージが来るとマクロファージが持つSIRPαがCD47と結合します。そうすると、マクロファージの攻撃が抑制されて、この細胞は貪食してはいけない、と判断されます。

マグロリマブ

- ◆抗CD47モノクローナル抗体
- ◆マクロファージチェックポイント阻害剤

CD 47

赤血球・血小板・リンパ球

→


CD 47

SIRPα

マクロファージ

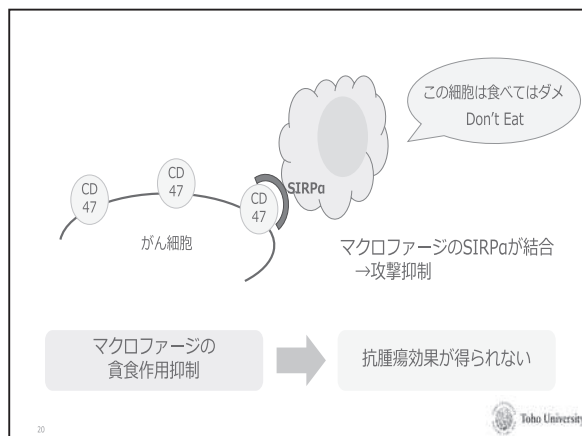
マクロファージのSIRPαが結合
→攻撃抑制

この細胞は食べてはダメ
Don't Eat



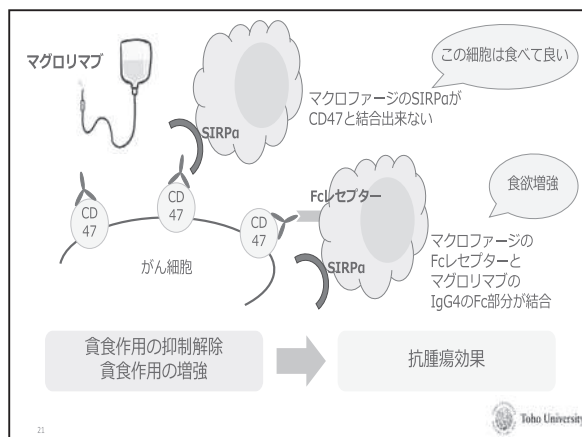
【スライド 21】

がん細胞も同様に、SIRP α とCD47が結合してがん細胞の貪食作用が抑制されます。その結果、抗腫瘍効果が得られなくなります。



【スライド 22】

そこで、マクロリマブの投与です。まず抗CD47抗体が、がん細胞上のCD47と結合します。そこにマクロファージが来ても、すでにCD47には抗CD47抗体が結合しているので結合できません。そのため、がん細胞を貪食しても良いと判断します。また、マクロファージのFcレセプターとマクロリマブのFc部分が結合することで貪食作用が増強します。そのため、抗腫瘍効果を認めることができます。



【スライド 23】

しかし、抗CD47抗体は、輸血検査に多大な影響を及ぼします。先程のスライドで示しましたが、CD47は赤血球上にも発現しています。そのため、患者血漿中の抗CD47抗体が、赤血球試薬に結合します。抗CD47抗体は、ヒトモノクローナル免疫グロブリンIgG4抗体です。間接抗グロブリン試験を実施すると、抗ヒトグロブリン試薬が結合し凝集を起こします。そのため、間接抗グロブリン試験では(4+)の反応を示します。また、酸素や還元剤を用いて、CD47を変性させようとしてもすべてに耐性を示します。

輸血検査の影響

マグリマブ：ヒトモノクローナル免疫グロブリンIgG4抗体

◆PEG、LISS、Albmin すべての検査方法の反応
・直遠心 (3+)、IAT (4+)

◆パピイン、フィシン、トリプシン、α-キモトリプシン、
0.2M DTTで赤血球を処理した反応
・酵素、還元剤に耐性



【スライド 24】

血液型検査でも、抗体が過剰なためオモテ検査・ウラ検査で凝集を認めます。直接抗グロブリン試験や自己対照では、患者赤血球膜上に抗体が結合しすぎて、弱い凝集や陰性になります。そのため、患者赤血球を用いて抗体解離試験を行うと、解離液は、(4+)の強い凝集を認めます。対策としては、間接抗グロブリン試験では、IgG4陰性の抗グロブリン試薬を用いて検査することや血小板を用いて4回以上吸着操作を実施するなどがあります。

◆ABO血液型検査への干渉
・オモテ検査・ウラ検査で凝集

◆DATと自己対照の反応
・抗CD47により、患者赤血球がコーティングされた状態になるため、弱い凝集や陰性になる(抗体過剰)
・解離液は、汎反応性の(4+)

◆対策
・間接抗グロブリン試験では、IgG4陰性の抗グロブリン試薬を使用する。
・血小板で4回以上吸着操作を実施する。

New York Blood Center より一部抜粋・改編



【スライド25】

赤血球膜上のCD47発現場所です。CD47はRh抗原など主要な抗原の近くに発現しています。また、膜を貫通して発現しています。そのため、CD47を変性させることが出来ても、周りの重要な抗原も変性させる可能性や赤血球膜が破壊されて、溶血反応を起こす可能性もあります。

赤血球膜上のCD47発現場所



- ◆主要な抗原の近くに発現
- ◆膜を貫通して発現

↓

周りの抗原を変性する可能性
膜の貫通による溶血反応の可能性

Randall W. Velliquette, et al.
Monoclonal anti-CD47 interference in red and platelet testing,
TRANSFUSION, Volume 59, February 2019


 Toho University

抗CD38抗体と抗CD47抗体の比較です。この表を見ても、抗CD47抗体はABO血液型検査への干渉、RhD・その他の血液型への干渉の可能性、不規則抗体検査・交差適合試験で強い凝集反応など、輸血検査への干渉は甚大です。そのため、マグロリマブの投与前に必ず輸血検査を実施することが重要です。まだマグロリマブの反応性は日本では検証されていません。そのため、どのような反応態度を示すかなど、実際の情報はこれからになります。今後新たな検査手法についても、期待したいと思います。

【スライド26】

Interference	Anti-CD38	Anti-CD47
ABO typing	No	Yes
RhD typing	No	Possible
Other antigen	No	Possible
Antibody screen	IAT only (1-2+)	All phases (3-4+)
Crossmatch	IAT only (1-2+)	All phases (3-4+)
DAT/Auto control	Neg (wk+)	False negative
Eluate	Neg (wk+)	Strong pan-aggglutination (3-4+)
Alloabsorption	No	4×-6× RBCs or Platelets

New York Blood Center より一部抜粋・改編

 Toho University

【スライド27】

まとめです。今後様々な分子標的薬が開発されることが予想されます。その中には、今回のような輸血検査に関与する治療薬も出現する可能性があります。情報を収集できるようにアンテナを広げることが大切です。また、そのような薬剤については、臨床と情報共有することも重要です。

ご清聴ありがとうございました

まとめ

- ◆輸血検査に関与する治療薬の情報を取得すること
- ◆臨床と情報共有をするための手段を構築すること

ご清聴ありがとうございました



25