

Title	DARAによる偽陽性反応への新たな対処法(大阪法)の検証とカラム凝集法への応用の検討
Sub Title	Verification of the Osaka coping method with false positive reaction by DARA and its application to column agglutination system
Author	桑原, 靖子(Kuwahara, Yasuko)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2021
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書(2019.)
JaLC DOI	
Abstract	<p><目的> Daratumumab(DARA)はヒト化IgG1κ型CD38抗体であり、多発性骨髄腫の治療薬剤である。CD38はヒト赤血球表面上にも発現するため、DARA投与患者の不規則抗体検査や交差適合試験は偽陽性反応を呈することが知られている。安全な輸血のためには、DARAによる偽陽性反応と本来の凝集反応との鑑別が必要である。Dithiothreitol (DTT) を用いて赤血球のCD38 を処理し試験管法で検査する方法が一般的であるが、試験管法は洗浄操作、結果の目視判定などに手間と時間を要し、輸血供給の遅れに繋がっている。検査所要時間の短縮による迅速な輸血剤の供給を目的として効率的な検査方法を検討した。<方法> AB型不規則抗体スクリーニングが陰性の血漿とDARAを用いてサンプルを作製した。0.2mol/L DTTを用いて用手法で行う従来法と0.01mol/L DTTを用いて自動血球洗浄機を使用する大阪法で、赤血球膜上のCD38とKell抗原に対する効果を比較した。DTT処理赤血球での間接クームス法(IAT)は従来法、大阪法ともに試験管法のPEG-IATで行う必要があるが、カラム凝集法ではより簡便で判定が標準化できる。<結果> 0.01mol/L DTTを使用した大阪法で完全にCD38は反応しなくなった。Kell血液型抗原について、従来法ではK抗原の反応性がかなり低下するが、大阪法では若干抗原性が低下するものの検出できた。また0.01mol/L DTTで処理した赤血球を0.8%LISS赤血球浮遊液とすることで、カラム凝集法で不規則抗体スクリーニング、交差適合試験を判定できることを確認した。<考察> 0.01 mol/L DTTと自動血球洗浄機を用いた大阪法で赤血球処理を行うことでKell抗原の反応性を保持したまま、DARAによる偽陽性反応を解消できることを確認した。広範囲クームスカセットでのカラム凝集法での判定が可能となり、検査所要時間の短縮ができ迅速な輸血供給に寄与できると思われる。今後はIATの試薬としてIgGクームスカセットを用いたカラム凝集法の検討と、さらなる所要時間の短縮を目指してDTT処理した検査用赤血球の保存について検討を加えたい。</p> <p>【Background】 Daratumumab (DARA) is a humanized IgG1κ-type CD38 antibody and a therapeutic drug for multiple myeloma. Because CD38 is also expressed on the surface of human erythrocytes, it is known that erythrocytes taken from DARA-treated patients tend to give a false positive reaction in irregular antibody test and cross-matching test. For safe blood transfusion, it is necessary to distinguish false positive reaction by DARA from original agglutination reaction in blood compatibility test. Although the method of inactivating CD38 by treating red blood cells with Dithiothreitol (DTT) prior to the standard test tube method is common, it requires time and labor for washing operation, visual judgment of results and the others, causing a delay in blood transfusion supply. The Osaka method is an easier and quicker assay in which DTT is reduced from original 0.2mol/L to 0.01mol/L to preserve Kell antigen activity, and an automatic blood cell washing system used for convenience. Hence, we investigated a more efficient method by incorporating column agglutination technology.</p> <p>【Methods】 Samples were prepared by dispensing DARA to type-AB plasma, which was proved to be negative for irregular antibodies. The effects on CD38 and Kell antigen on the erythrocyte membrane were compared between the conventional method and the Osaka method using the column agglutination system.</p> <p>【Result】 It was confirmed the Osaka method diminished CD38 reactivity completely. Regarding the Kell antigen, its reactivity was considerably decreased by the conventional method, but it was only slightly decreased by the Osaka method. It was also confirmed that the irregular antibody screening and cross-matching test worked properly by the column agglutination method using red blood cells treated with 0.01 mol / L DTT.</p> <p>【Discussion】 It was confirmed that the false positive reaction due to DARA in blood compatibility test could be coped with properly using the Osaka method combined with column agglutination system. In the future, we would like to examine the column agglutination method using a AHG Anti-IgG cassette as the IAT reagent instead of using a AHG Polyspecific cassette, and to develop the method for</p>

	preservation of DTT-treated test erythrocytes for the purpose of further shortening the required time.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2019000007-20190306

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	大学病院臨床検査技術部門	職名	技術員	補助額	300 (A) 千円
	氏名	桑原 靖子	氏名 (英語)	KUWAHARA, YASUKO		
研究課題 (日本語)						
DARA による偽陽性反応への新たな対処法(大阪法)の検証とカラム凝集法への応用の検討						
研究課題 (英訳)						
Verification of the Osaka coping method with false positive reaction by DARA and its application to column agglutination system						
1. 研究成果実績の概要						
<p><目的> Daratumumab(DARA)はヒト化 IgG1κ 型 CD38 抗体であり、多発性骨髄腫の治療薬剤である。CD38 はヒト赤血球表面上にも発現するため、DARA 投与患者の不規則抗体検査や交差適合試験は偽陽性反応を呈することが知られている。安全な輸血のためには、DARA による偽陽性反応と本来の凝集反応との鑑別が必要である。Dithiothreitol (DTT) を用いて赤血球の CD38 を処理し試験管法で検査する方法が一般的であるが、試験管法は洗浄操作、結果の目視判定などに手間と時間を要し、輸血供給の遅れに繋がっている。検査所要時間の短縮による迅速な輸血製剤の供給を目的として効率的な検査方法を検討した。<方法> AB 型不規則抗体スクリーニングが陰性の血漿と DARA を用いてサンプルを作製した。0.2mol/L DTT を用いて用手法で行う従来法と 0.01mol/L DTT を用いて自動血球洗浄機を使用する大阪法で、赤血球膜上の CD38 と Kell 抗原に対する効果を比較した。DTT 処理赤血球での間接クームス法(IAT)は従来法、大阪法ともに試験管法の PEG-IAT で行う必要があるが、カラム凝集法ではより簡便で判定が標準化できる。<結果> 0.01mol/L DTT を使用した大阪法で完全に CD38 は反応しなくなった。Kell 血液型抗原について、従来法では K 抗原の反応性がかなり低下するが、大阪法では若干抗原性が低下するものの検出できた。また 0.01mol/L DTT で処理した赤血球を 0.8%LISS 赤血球浮遊液とすることで、カラム凝集法で不規則抗体スクリーニング、交差適合試験を判定できることを確認した。<考察> 0.01 mol/L DTT と自動血球洗浄機を用いた大阪法で赤血球処理を行うことで Kell 抗原の反応性を保持したまま、DARA による偽陽性反応を解消できることを確認した。広範囲クームスカセットでのカラム凝集法での判定が可能となり、検査所要時間の短縮ができ迅速な輸血供給に寄与できると思われる。今後は IAT の試薬として IgG クームスカセットを用いたカラム凝集法の検討と、さらなる所要時間の短縮を目指して DTT 処理した検査用赤血球の保存について検討を加えたい。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>【Background】 Daratumumab (DARA) is a humanized IgG1κ-type CD38 antibody and a therapeutic drug for multiple myeloma. Because CD38 is also expressed on the surface of human erythrocytes, it is known that erythrocytes taken from DARA-treated patients tend to give a false positive reaction in irregular antibody test and cross-matching test. For safe blood transfusion, it is necessary to distinguish false positive reaction by DARA from original agglutination reaction in blood compatibility test. Although the method of inactivating CD38 by treating red blood cells with Dithiothreitol (DTT) prior to the standard test tube method is common, it requires time and labor for washing operation, visual judgment of results and the others, causing a delay in blood transfusion supply. The Osaka method is an easier and quicker assay in which DTT is reduced from original 0.2mol/L to 0.01mol/L to preserve Kell antigen activity, and an automatic blood cell washing system used for convenience. Hence, we investigated a more efficient method by incorporating column agglutination technology.</p> <p>【Methods】 Samples were prepared by dispensing DARA to type-AB plasma, which was proved to be negative for irregular antibodies. The effects on CD38 and Kell antigen on the erythrocyte membrane were compared between the conventional method and the Osaka method using the column agglutination system.</p> <p>【Result】 It was confirmed the Osaka method diminished CD38 reactivity completely. Regarding the Kell antigen, its reactivity was considerably decreased by the conventional method, but it was only slightly decreased by the Osaka method. It was also confirmed that the irregular antibody screening and cross-matching test worked properly by the column agglutination method using red blood cells treated with 0.01 mol / L DTT.</p> <p>【Discussion】 It was confirmed that the false positive reaction due to DARA in blood compatibility test could be coped with properly using the Osaka method combined with column agglutination system. In the future, we would like to examine the column agglutination method using a AHG Anti-IgG cassette as the IAT reagent instead of using a AHG Polyspecific cassette, and to develop the method for preservation of DTT-treated test erythrocytes for the purpose of further shortening the required time.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			