Daratumumab 투여 환자에서 비예기 항체 검출 검사의 간섭현상

신성환* · 조은혜* · 서지영 · 김은영 · 최수인 · 천세종 · 조 덕

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 진단검사의학과

Interference of Unexpected Antibody Detection Test in Patients Administering Daratumumab

Sunghwan Shin*, Eun Hye Cho*, Ji Young Seo, Eun Young Kim, Sooln Choi, Sejong Chun, Duck Cho

Department of Laboratory Medicine & Genetics, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea

Daratumumab은 불응 다발골수종에 대한 표적 치료제로서 CD38을 발현하는 암세포에 결합하여 살상을 유도하는 항-CD38 단클론성 항체이다. CD38 항원은 다양한 종류의 세포 표면에 발현하는 type 2 막횡단 단백질로, 형질세포와 종자B 세포에서 가장 많이 발현된다. 그런데, 적혈구의 표면에 일정량의 CD38 항원이 발현되기 때문에 daratumumab을 투여 중인 환자에게 비예기항체 선별 및 동정 검사를 실시할 경우에는 검체 속에 존재하는 항체 치료제가 검사용 적혈구의 CD38 항원에 부착하여 위양성 결과를 나타낼 수 있다. 실제로 적혈구항원에 대한 비예기항체가 없음에도 불구하고 선별용 혈구들에 대한 범응집 현상이 국내 외에서 산발적으로 보고되었다[1-3]. 이러한 위양성 반응은 불필요한 추가 검사를 야기하고 혈액은행에서 적합 혈액 출고를 지연시켜 환자에게 영향을 미칠 수도 있다. 저자들은 dar-

atumumab을 투여 받은 후 비예기항체 선별 및 동정 검사에서 위양성을 보였던 사례들을 경험하였기에 검사실적 경험을 정리하여 이러한 사례들을 경험하게 되는 검사실에 도움을 주고자 한다.

2015년에서 2016년까지 삼성서울병원에서 daratumumab (Darzalex, Johnson & Johnson, NJ, USA) 치료 받은 환자 중 치료 전후 수혈전 검사가 의뢰된 환자 6명의 검사 소견을 후향적으로 검토하였다(Table 1). 4명은 다발성 골수종, 1명은 미만성 거대 B세포 림프종, 1명은 NK/T세포 림프종이었는데, 이들은 모두 daratumumab을 투여받기 전에는 자동화 장비인 Galileo system (Immucor Gamma, Norcross, USA)으로 실시한 비예기항체 선별 검사에서 모두 음성이었다. 그러나, daratumumab 투여 후에는 자동화 장비와 ID-Diacell (Bio-Rad, Cressier-sur-Morat, Switzerland)를 활용한 비예기항체선별검사에서도 I, II 혈구 모두에서 양성을 보

Received on July 24, 2017. Revised on August 7, 2017. Accepted on August 8, 2017

Correspondence to: Duck Cho

Department of Laboratory Medicine and Genetics, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, 81 Irwon-ro, Gangnam-gu, Seoul 06351, Korea

Tel: 82-2-3410-2403, Fax: 82-2-3410-2719, E-mail: duck.cho@skku.edu, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6861-3282>

*Sunghwan Shin and Eun Hye Cho contributed equally as co-first authors.

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.
Copyright ©2017 The Korean Society of Blood Transfusion

Table 1. Clinical information and antibody screening/identification test in six patients receiving daratumumab treatment

Case No.	Age/sex	Underlying disease	Before daratumumab administration		After daratumumab administration		After DTT treatment	
			Antibody screening test	Antibody identification test	DAT	Auto	Antibody screening test	Antibody identification test
1	66/M	Multiple Myeloma	Negative	Not done	+	+	Positive (2+)	Not done
2	56/F	Multiple Myeloma	Negative	Not done	-	-	Positive (1+~2+)	Not done
3	72/F	Multiple Myeloma	Negative	Not done	-	-	Positive (1+)	Not done
4	64/F	Multiple Myeloma	Negative	Not done	-	-	Positive (2+)	Not done
5	46/F	Diffuse Large B cell Lymphoma	Negative	Not done	+	+	Positive (1+)	Not done
6	59/M	NK-T cell Lymphoma	Negative	Not done	-	-	Positive (2+)	Not done

Abbreviations: DAT, direct antiglobulin test; Auto, Autocontrol.

였고, ID- DiaPanel (Bio-Rad, Cressier-sur-Morat, Switzerland)와 Resolve panel A (Ortho-Clinical Diagnostics, Raritan, NJ)를 이용한 비예기항체 동정검사서 1+ ~ 2+의 범응집 소견이 관찰되었다. 6명 중 4명의 환자 검체는 daratumumab의 간섭현상을 제거하기 위해 Chapuy 등[1]이 제시한 방법으로 phosphate-buffered saline (PBS)으로 4회 세척한 검사용 동정혈구와 0.2 M dithiothreitol (DTT)을 1:4의 비율로 혼합 후 37도에서 30분간 항온시킨 후 PBS로 다시 세척하여 만든 DTT처리 동정용 혈구를 이용하여 비예기항체 동정검사를 재실시하였으며 성공적으로 daratumumab에 의한 간섭현상을 제거할 수 있었다. 한편, daratumumab 투여 환자 6명중 실제로 적혈구 수혈을 받은 환자는 4명이었고, 이중 2명은 항체선별검사서 음성인 시점이었고, 2명은 항체선별검사서 범혈구응집 결과를 보였으나 교차시험상 음성이었다.

Daratumumab에 의한 간섭현상 제거에는 DTT법, trypsin법, O형 제대혈 적혈구법 등이 보고되었는데, trypsin법은 DTT법보다 효과가 떨어지며, O형 제대혈 적혈구법은 제대혈 적혈구를 구하기 어려울 뿐 아니라 이들 적혈구 표면에 P1, Lewis, Lu 항원의 발현부족으로 이들 항체는 검출할 수 없는 단점이 제시되고 있다[1,2]. DTT법은 K항원을 파괴시켜 항-K 항체 검출을 어렵게 할 수 있지만 K 항원 양성자는 0.5%밖에 되지 않아 항-K 항체 발생이 거의 없는 한국인 검체는 크게 문제되지 않는 것으로 생각된다[4]. 또한, DTT법은 소규모 병원의 혈액은행에서도 사용하기 쉽고, 재현성이 높다고 보고되었다.

일반적으로 비예기항체 동정검사서 범혈구응집 현상이 관찰되면 고빈도 적혈구 항원에 대한 항체, 2종류 이상의 비예기항체의 동시발현, 그리고 온난자가항체 등을 고려한다. 본 연구에

서 분석한 1명의 검체는 처음 검사시에는 daratumumab에 의한 동정혈구에 위양성이 발생한 것으로 파악하지 못하고, 고빈도항원에 대한 항체로 예비 보고하였다. 그러나, 이후 항체선별검사가 의뢰되었을 때에는 daratumumab 투여환자라는 정보가 확인되어 범혈구응집 현상이 daratumumab에 의한 간섭현상으로 인지할 수 있었다.

Daratumumab 투여 후 수혈전 검사시 간섭현상을 유발하는 기간은 비예기항체 선별검사는 2~6개월까지 양성 소견이 보고되었다[2]. 본 증례 분석에서도 daratumumab 투약 중단 이후 추적 관찰이 가능한 2명의 환자의 비예기항체 선별검사에서 2~4개월간 지속적으로 관찰되었다(Table 2). 따라서, Oostendorp 등의 보고[2]와 본 증례들에서 보여준 간섭현상을 보인 시기를 고려하면, daratumumab투약 중단 후 6개월 이전에 비예기항체 검출 검사에서 범혈구 응집 소견이 관찰되면 daratumumab에 의한 간섭현상을 우선적으로 고려하고, 그 이후에는 다른 원인을 고려할 수 있을 것이다.

한편, 비예기항체 선별검사와는 달리 직접항글로불린 검사(direct antiglobulin test, DAT)와 자가혈구를 이용한 자가대조에서는 음성반응이 나오는 것은 흥미로운 현상이다. 즉, 시약으로 사용되는 적혈구에는 daratumumab이 결합하여 간섭현

상을 유발하지만, 환자 본인의 적혈구에는 강한 간섭현상을 유발하지 않는다는 것이다. 본 연구에서 분석한 6명 환자 중 4명은 DAT에 음성이었고, 자가혈구와의 반응 역시 음성이었다. 이러한 현상은 daratumumab 투여 환자에서 적혈구의 CD38 항원의 발현이 감소되었고, 적혈구 용혈이 임상적으로 의미있게 나타나지 않는다는 점으로 일부 설명되고 있다[5].

Daratumumab은 수혈전검사 항목 중 비예기항체 선별검사 및 동정검사에 영향을 주지만, ABO/D 혈액형검사에는 영향을 주지 않는다고 알려져 있다. 이는 ABO/D 혈액형 검사시 IgM 항체를 포함하는 시약을 사용함으로 인해 직접적인 적혈구응집이 가능하지만, IgG 항체인 daratumumab은 적혈구 응집을 위해 Coombs' 시약이 필요하기 때문으로 생각된다. 수혈 전 교차시험 역시 상기 원인에 의해 Coombs' 시약을 사용하지 않는 1단계, 2단계 주 교차시험과 달리 Coombs' 시약을 사용하는 3단계에서는 응집이 관찰될 수 있다. 따라서, DTT 처리한 적혈구를 활용한 교차시험이 권장된다. 그런데 본 연구에서는 항체선별검사에서 범혈구응집 결과를 보인 2명의 검체에서 시험관법으로 시행한 교차시험상 응집이 관찰되지 않았다. 이는 daratumumab의 역가가 낮았고, 원주응집법으로 시행하는 비예기항체동정 검사법이 시험관법 교차시험법보다 민감한 것이 하나의 원인으

Table 2. Sequential results of antibody screening test in Case 2, 5 from Table 1

	Before administration	During administration	Weeks after last administration										
			0.5	1	2	3	4	5	9	10	12	13	17
Case 2	(-)	NA	NA	NA	(+)		(+)		(+)*		(+)	(-)	(-)
Case 5	(-)	(+)*	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(-)	(-)			

Abbreviation: NA, not applicable.

*Pan-agglutination on antibody identification test. No identification tests were performed during the rest of the period.

로 추정되었다.

Daratumumab을 투여하는 환자가 점차 늘어날 추세인데, 임상시험단계의 또 다른 CD38 표적 치료제인 isatuximab은 daratumumab과는 다른 항원 결정기에 부착하고 종양세포 사멸 유도의 기전이 다르지만, daratumumab과 유사하게 비예기항체 선별 및 동정 검사에 간섭현상은 존재한다[2]. 혈액은행 검사자들은 비예기항체 검사에서 범혈구 응집을 경험하게 되는 경우에는 임상에 daratumumab 투여 여부를 반드시 확인할 필요가 있겠다. 이러한 확인은 daratumumab 간섭현상에 의한 불필요한 추가 검사, 적합 혈액 출고 지연을 미리 방지하는데 도움을 줄 것이다.

References

1. Chapuy CI, Nicholson RT, Aguad MD, Chapuy B, Laubach JP, Richardson PG, et al. Resolving the daratumumab interference with blood compatibility testing. *Transfusion* 2015;55:1545-54
2. Oostendorp M, Lammerts van Bueren JJ, Doshi P, Khan I, Ahmadi T, Parren PW, et al. When blood transfusion medicine becomes complicated due to interference by monoclonal antibody therapy. *Transfusion* 2015;55:1555-62
3. Cho J, Nah H, Kim D, Lee E, Kim JS, Kim HO. A case of panagglutination on antibody identification in a multiple myeloma patient receiving daratumumab. *Korean J Blood Transfus* 2016; 27:164-8
4. Han KS, Park KU, Song EY. *Transfusion medicine*. 4th ed. Seoul: Korea Medical Book Publisher, 2014
5. Sullivan HC, Gerner-Smidt C, Nooka AK, Arthur CM, Thompson L, Mener A, et al. Daratumumab (anti-CD38) induces loss of CD38 on red blood cells. *Blood* 2017;129:3033-7