



Toho University

# Daratumumab投与患者の検査について

日本輸血・細胞治療学会 輸血検査技術講習委員会  
奥田 誠、福吉 葉子

平成30年度全国大学輸血部会議  
技師研究会  
リンクステーションホール青森  
2018年10月18日

- ◉ [輸血のための検査マニュアル Ver.1.3.1](#)
- ◉ [輸血のための検査マニュアル 疑義解釈Q&A Ver.1.3.1](#)
- ◉ [疑義解釈Q&A Ver.1.3.1変更点](#)
- ◉ [Ver1.3からVer1.3.1への改善点一覧](#)

## ■ 特殊検査技術

- ◉ [多発性骨髄腫治療薬（抗CD38）による偽陽性反応への対処法（一部改訂）](#)

## 輸血管理システム内に保存する「学会推奨マスタ」

- ◉ [輸血管理システム内に保存する各種マスタ\(学会推奨マスタ\)](#)
- ◉ [ABO血液型及びRhD血液型マスタ](#)
- ◉ [不規則抗体マスタ\(適合血選択のみ\)](#)
- ◉ [製剤マスタ](#)

## 安全な輸血療法ガイド

- ◉ [安全な輸血療法ガイド](#)

## ■ 輸血関連情報カード

## 0.2M DTT作製、使用方法

1) pH7.3 PBSにて赤血球を4回洗浄する。

2) 赤血球沈渣1容に対し、0.2M DTT4容を加え、37℃ 30分反応させる。  
2~3回程度攪拌する。

3) 反応後、pH7.3 PBSで4回洗浄し、3~5%浮遊液として使用する。

**※精度管理としてKell抗原の失活がされていることを確認する**

METHOD 3-18. TREATING RED CELLS USING DTT OR AET  
AABB Technical Manual 18th



Toho University

## 問題点...

0.2M DTT処理を行う事で、Kell抗原の失活が起こる。

Kell抗原は、日本人に影響はないと考えられるが、国際化が進み、今後は抗Kellについても考慮する必要がある。

そこで、Kell抗原を失活させることなく、CD38のみを失活させる手法について考えたい。



# DTTの濃度とKell抗原系の変化について

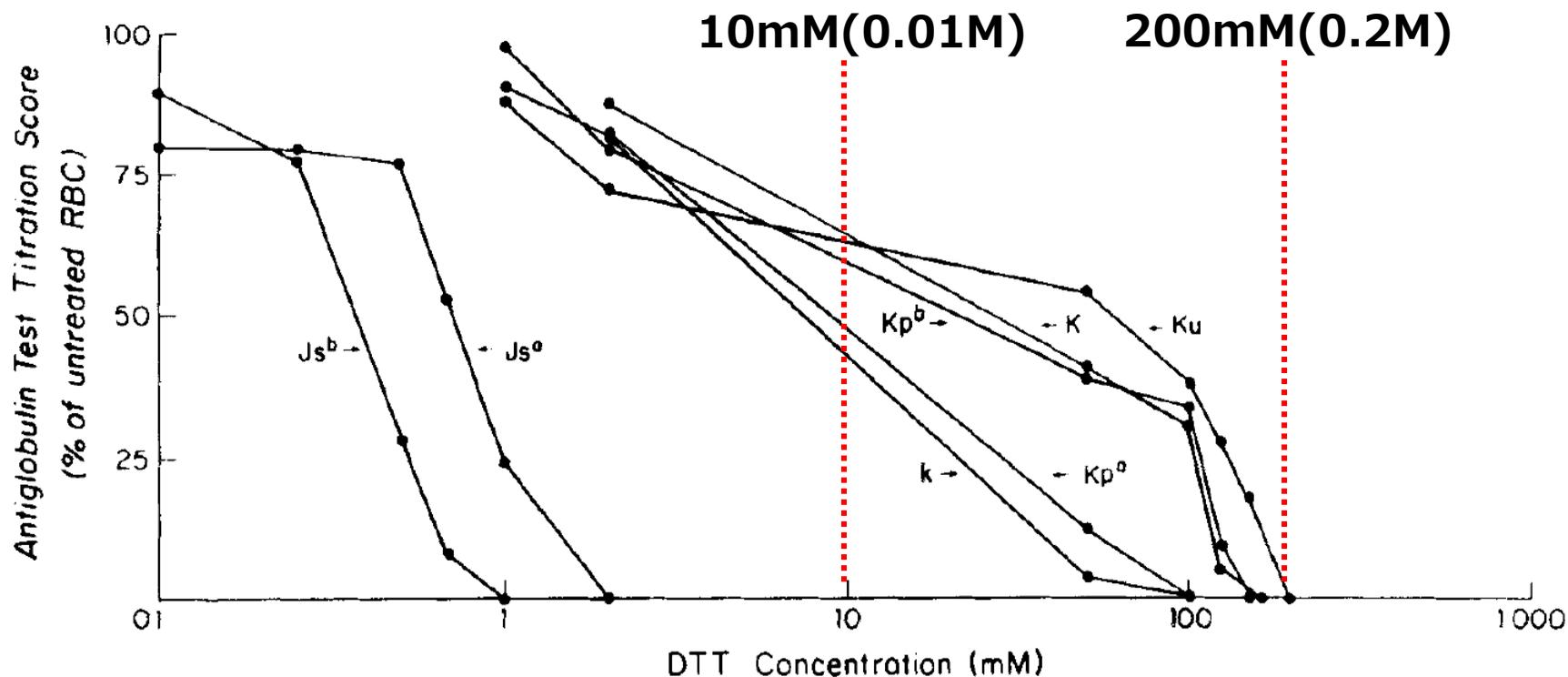


Fig 1. Denaturation of Kell system antigens over a wide concentration range of dithiothreitol (DTT) used at pH 8.0. The ordinate represents the per cent of the indirect antiglobulin test titration score obtained after DTT-treated compared to untreated red cells using specific antisera.

Branch DR, Muensch HA, Sy Siok Hian AL, Petz LD.

Disulfide bonds are a requirement for Kell and Cartwright (Yta) blood group antigen integrity. Br J Haematol. 1983 Aug;54(4):573-8.



Toho University

# Kell抗原 (K, k) を保存し, CD38を失活させる方法の検討 (改良法)

0.2M DTT処理赤血球による抗体スクリーニングや交差適合試験では, 稀に存在する抗Kの抗体を検出することは不可能.

**CD38のみを失活させKell抗原を保存する**検討を行った.

使用するDTTの濃度は, **0.2M, 0.1M, 0.05M, 0.01M**とした.  
PBSのpHについては, **pH8.0, pH7.2**とした. 尚, 操作上の利便性を考慮し,  
赤血球洗浄にhimacMC-450 (日立工機) と生理食塩液を使用した.

## 【方法】

- 1) 3~5%赤血球浮遊液 (赤血球試薬) **2~3滴 (150 $\mu$ L)** を生理食塩液で4回洗浄する  
(自動血球洗浄装置)
- 2) 赤血球沈渣 (**約5 $\mu$ L**) にDTT溶液を**20 $\mu$ L**添加し, 良く混和する
- 3) 37 $^{\circ}$ C30分間反応させる (適宜攪拌)
- 4) 生理食塩液で4回洗浄する (自動血球洗浄装置)
- 5) 生理食塩液にて3~5%赤血球浮遊液とする

## Kell抗原 (K, k) を保存し, CD38を失活させる方法の検討 (改良法)

DTT濃度	0.2M	0.1M	0.05M	0.01M
pH7.2PBS 抗K	0	W+	2+	3+
pH7.2PBS DARA	0	0	0	0
pH8.0PBS 抗K	0	W+	2+	3+
pH8.0PBS DARA	0	0	0	0

**DTT処理の利便性を考慮し, 赤血球の洗浄操作を生理食塩液を使用し、自動血球洗浄遠心機を用い実施した。**

**pH7.2および8.0PBSで調整した0.05M~0.01M DTTにおいて, K抗原の保存とCD38の失活が確認された。**

# Kell抗原 (K, k) を保存し, CD38を失活させる方法の検討 (改良法)

抗原	C	c	D	E	e	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Di <sup>a</sup>	K
未処理赤血球	1+	1+	1+	1+	W+	1+	1+	1+	1+	1+	1+
DTT処理赤血球	1+	1+	1+	1+	W+	1+	1+	1+	1+	1+	1+

Panocell16  
Lot 27372  
Dia Lot 29398

既知の弱い反応性の抗体と各種抗原の反応を観察した

未処理赤血球とpH7.2 0.01M DTT処理赤血球との反応態度の変化は認められなかった



# Kell抗原 (K, k) を保存し, CD38を失活させる方法の検討 (改良法)

## 【方法】

- 1) 3~5%赤血球浮遊液 (赤血球試薬) 2~3滴 (150 $\mu$ L) を生理食塩液で4回洗浄する  
(自動血球洗浄装置)
- 2) 赤血球沈渣 (約5 $\mu$ L) にpH7.2 0.01MDTT溶液を20~50 $\mu$ L添加し, 良く混和する
- 3) 37°C30分間反応させる (適宜攪拌)
- 4) 生理食塩液で4回洗浄する (自動血球洗浄装置)
- 5) 生理食塩液にて3~5%赤血球浮遊液とする



Daratumumabをご使用されている全国大学輸血部の皆様に同様に検討を頂き同様なデータが得られるかを確認する。

日本輸血・細胞治療学会 特殊検査としてHP上に方法を掲載したい。

参考文献 : Mika Hosokawa, Hirokazu Kashiwagi, et al. Distinct effects of daratumumab on indirect and direct antiglobulin tests: a new method employing 0.01 mol/L dithiothreitol for negating the daratumumab interference with preserving K antigenicity (Osaka method). Month 2018 TRANSFUSION



## pH7.2 0.01M DTT処理赤血球についてのアンケート報告

- Q1. 本処理法の処理件数について伺います。 ( ) 件経験
- Q2. 1回処理に要した処理時間について伺います。 約 ( ) 分
- Q3. 本処理方法でDARAの影響が残った経験がある。 ( はい いいえ )
- Q4. 本処理方法で赤血球が溶血を呈した経験がある。 ( はい いいえ )
- その際に使用した赤血球の滴数は? ( ) 滴  
DTTの量は? ( )  $\mu$ L

※報告は熊本大学医学部附属病院 福吉 葉子までお願いします。  
[youko-fukuyoshi@kuh.kumamoto-u.ac.jp](mailto:youko-fukuyoshi@kuh.kumamoto-u.ac.jp)

2019年1月11日 (金) まで実施

