

[原著]

## 間接抗グロブリン試験における daratumumab の影響を回避する 新たな方法のための基礎研究

登 尾 一 平      木 村 契 太      中 尾 沙 希  
松 形 僚 也      川 口 辰 哉      上 妻 行 則\*

A basic study to establish a new method to avoid the effects of daratumumab  
in indirect antiglobulin test

Ippei NOBORUO, Keita KIMURA, Saki NAKAO  
Ryoya MATSUKATA, Tatsuya KAWAGUCHI, Yukinori KOZUMA

### 和文抄録

多発性骨髄腫 (multiple myeloma : MM) に対する抗ヒト CD38 抗体である daratumumab (DARA) 投与中の患者検体では、間接抗グロブリン試験 (indirect antiglobulin test : IAT) が偽陽性となる可能性がある。今回、dithiothreitol (DTT) を使用しない、DARA の干渉を回避する新たな検出法を開発することを目的として検討を行った。

DARA と赤血球の結合を評価するために、各濃度の DARA 存在下で CD38 の発現を flow cytometry で測定したところ、CD38 の mean fluorescence intensity (MFI) は DARA 添加により低下した。さらに、DARA と His-tag 結合 recombinant human CD38 protein (H-rhCD38) を反応させ、磁気ビーズを用いて上清から DARA の除去を検討した結果、DARA により阻害されていた APC-抗 CD38 抗体の赤血球への結合が、DARA の除去により回復された。

これらの結果から、DARA 投与中の MM 患者の血清に H-rhCD38 を添加し、磁気ビーズで除去することで、DARA の IAT への干渉を回避できる可能性が示唆された。

キーワード : daratumumab (DARA), 間接抗グロブリン試験, flow cytometry,  
recombinant human CD38 protein

### I はじめに

多発性骨髄腫 (multiple myeloma : MM) は、骨髄中形質細胞の単クローン性 (腫瘍性) 増殖と共に、血清・尿中のモノクローナル蛋白 (M 蛋白) の増加、骨融解性病変等を特徴とし、比較的高齢者に頻度が高い緩徐進行性の形質細胞腫瘍である<sup>1)</sup>。わが国では人口 10 万人あたり約 5 人の発症率で、本邦での死亡者数は年間 4,000 人前後で、全悪性腫瘍の約 1%、全造血器腫瘍の約 10% を占め、発症率、死亡

率ともに年々増加傾向にある<sup>2)</sup>。多発性骨髄腫の治療には、造血幹細胞移植や化学療法、多剤併用療法など多くの治療法があるが、なかでも、分子標的治療薬剤による治療が注目されており、効果的な治療成績を収めている<sup>3, 4, 5, 6)</sup>。とくに daratumumab (DARA) は腫瘍細胞表面の T10 (CD38) を標的とするヒト型 IgG $\kappa$  モノクローナル抗体で、DARA が CD38 に結合すると、抗体依存性細胞傷害、補体依存性細胞傷害、抗体依存性細胞貪食および Fc $\gamma$  受容体結合を介するアポトーシス誘導など複数の免

疫介在性の作用機序によって腫瘍細胞死がもたらされる<sup>7)</sup>。また、CD38 陽性の免疫抑制性細胞の除去による免疫調節作用も明らかにされており、これらの相乗効果により抗腫瘍効果を示す<sup>7)</sup>。しかし、CD38 は赤血球にも一定量発現していることから、DARA 投与患者では輸血検査の間接抗グロブリン試験 (indirect antiglobulin test : IAT) で汎凝集を呈することが問題となっている<sup>8, 9)</sup>。

日本輸血細胞治療学会は DARA の IAT への干渉を回避する方法として、0.2 mol/L dithiothreitol (DTT) を用いた方法を推奨している<sup>10)</sup>。この方法は、赤血球試薬を DTT 処理することで、赤血球膜上の CD38 を破壊し、IAT に用いることで DARA の CD38 への結合を防止し、非特異的な凝集を予防する方法である。しかし、DTT は赤血球膜上の Kell 抗原を変性させるため、Kell 血液型抗原に対する不規則抗体の評価が不能となることや DTT 処理操作の煩雑さが問題となっている<sup>8)</sup>。

そこで本研究では、DARA の IAT への干渉を回避する新たな検出法を開発するため、His-tag 結合 recombinant CD38 を使用し、検体中から DARA を除去する検討を行った。

## Ⅱ 方法

### 1. 機器および試薬

測定機器は、FACSVerse™ (Becton Dickinson : BD, NJ, USA) を用いて測定した。使用した試薬は allophycocyanin (APC) 結合抗ヒト CD38 抗体 (BD), APC 結合マウス IgG<sub>1</sub> 抗体 (BioLegend, San Diego, CA, USA), ヒト型抗 CD38 モノクローナル抗体ダラザレックス点滴静注 100 mg (Janssen Pharmaceutical K.K, Tokyo, Japan), 抗 K 血清 (Ortho-clinical diagnostics, Tokyo, Japan), fluorescein isothiocyanate (FITC) 結合抗ヒト IgG 抗体 (Vector Laboratories, CA, USA), His-tag 結合 recombinant human CD38 protein (H-rhCD38) (abcam, Cambridge, England) を使用した。また、His タグ融合タンパク質を分離するため His60 Ni Magnetic Beads (HNMBs) (Takara Bio, Shiga, Japan) を、赤血球試薬としてサージスクリーン (Ortho-clinical diagnostics) を使用した。

### 2. 検体

検体は研究に同意を得ることのできた健康人ボラ

ンティアより EDTA-2K を用いて採血し、3,400 rpm, 5 分間遠心分離し、血漿と血球を分離して用いた。血球は生理食塩液で 3 回洗浄し、0.2% 赤血球に調整して使用した。本研究で使用した赤血球は、健常者の赤血球膜 CD38 発現の検討以外はサージスクリーン (赤血球試薬) を用いた。

本研究は、ヒト血液を用いるため熊本保健科学大学人を対象とする医学系研究に関する倫理審査に申請し、承認済み (承認番号 : 19038) である。

### 3. 赤血球膜の CD38 に結合する APC 結合抗ヒト CD38 抗体 (APC-抗 CD38 抗体) の至適濃度の検討

APC-抗 CD38 抗体または APC 結合マウス IgG<sub>1</sub> (isotype control) を 6.25 ng/ $\mu$ L, および生理食塩液で 10, 100 倍希釈したものを用いた。0.2% 赤血球試薬 50  $\mu$ L に各 APC-抗 CD38 抗体または isotype control を 10  $\mu$ L 添加し、室温で 30 分間反応させた後、1% fetal bovine serum (FBS) / phosphate-buffered saline (PBS) を 450  $\mu$ L 添加し、flow cytometry (FCM) にて測定した。

### 4. 健常者の赤血球膜の CD38 発現の検討

健常者 4 名 (検体 a~d) より採血し、0.2% 赤血球を作製した。各 0.2% 赤血球 50  $\mu$ L に対し APC-抗 CD38 抗体 (6.25 ng/ $\mu$ L) 10  $\mu$ L を添加し、室温で 30 分間反応させた。反応後、1 % FBS/PBS を 450  $\mu$ L 添加し、FCM にて測定した。

### 5. 赤血球膜の CD38 に結合する DARA の至適濃度の検討

生理食塩液を用いて DARA を 0~2,000 ng/ $\mu$ L の濃度に希釈し、各 DARA 50  $\mu$ L と 0.2% 赤血球試薬 50  $\mu$ L を室温で 30 分間反応させ、生理食塩液で 3 回洗浄した。洗浄後は各試験管に 1% FBS/PBS 50  $\mu$ L を添加した後、APC-抗 CD38 抗体 10  $\mu$ L を添加し、室温で 30 分間反応させた。反応後、1 % FBS/PBS を 450  $\mu$ L 添加し、FCM にて測定した。

### 6. H-rhCD38 と HNMBs を用いた検体中の DARA の除去

DARA (2 ng/ $\mu$ L) 100  $\mu$ L と H-rhCD38 1~10  $\mu$ L, 対照として生理食塩液 10  $\mu$ L を添加し、室温で 30 分間反応させた後、HNMBs 50  $\mu$ L を添加した。室

温で 30 分間反応後, magnetic stand を用いて上清を回収することで, H-rhCD38 と反応した DARA を除去した。回収した上清と 0.2% 赤血球試薬 50  $\mu$ L を添加し, 室温で 30 分間反応させた後, APC-抗 CD38 抗体 10  $\mu$ L を添加し, 室温で 30 分間反応させた。反応後, 1% FBS/PBS を 450  $\mu$ L 添加し, FCM にて測定した。

## 7. DARA による Kell 抗原への影響

DARA 添加検体に H-rhCD38 を添加した後, HNMBs と反応させ, DARA を除去した上清と, DARA 添加検体に HNMBs を反応させた上清を, 0.2% 赤血球試薬 (K 抗原陰性赤血球, または K 抗原陽性赤血球) 50  $\mu$ L とそれぞれ反応させた。さらに, 抗 K 血清と室温で 30 分間反応させた後, FITC 結合抗ヒト IgG 抗体 10  $\mu$ L を添加し, 室温で 30 分間反応させた。反応後, 1% FBS/PBS を 450  $\mu$ L 添加し, FCM にて測定した。

## 8. 統計処理

今回の研究では, 各測定は各々 3 回以上繰り返し, 結果は平均  $\pm$  標準偏差 (SD) で示した。すべてのデータは Microsoft Excel (Microsoft 社, Seattle, WA, USA) を用いて分析し, 2 群の平均値の比較には, Student *t* 検定を行った。多群間の平均値の比較は, 対応のない一元配置分散分析により有意性を確認したのち, Dunnett 法により多重比較検定を行なった。いずれの統計処理も, 有意水準は 5% 未満とした。

## III 結果

### 1. 赤血球膜の CD38 に結合する APC- 抗 CD38 抗体の至適濃度

赤血球膜上の CD38 を FCM で評価するため, APC- 抗 CD38 抗体の至適濃度を検討した。CD38 の発現 (mean fluorescence intensity : MFI) は APC- 抗 CD38 抗体濃度 0.0625 ng/ $\mu$ L が  $29.3 \pm 0.5$ ,

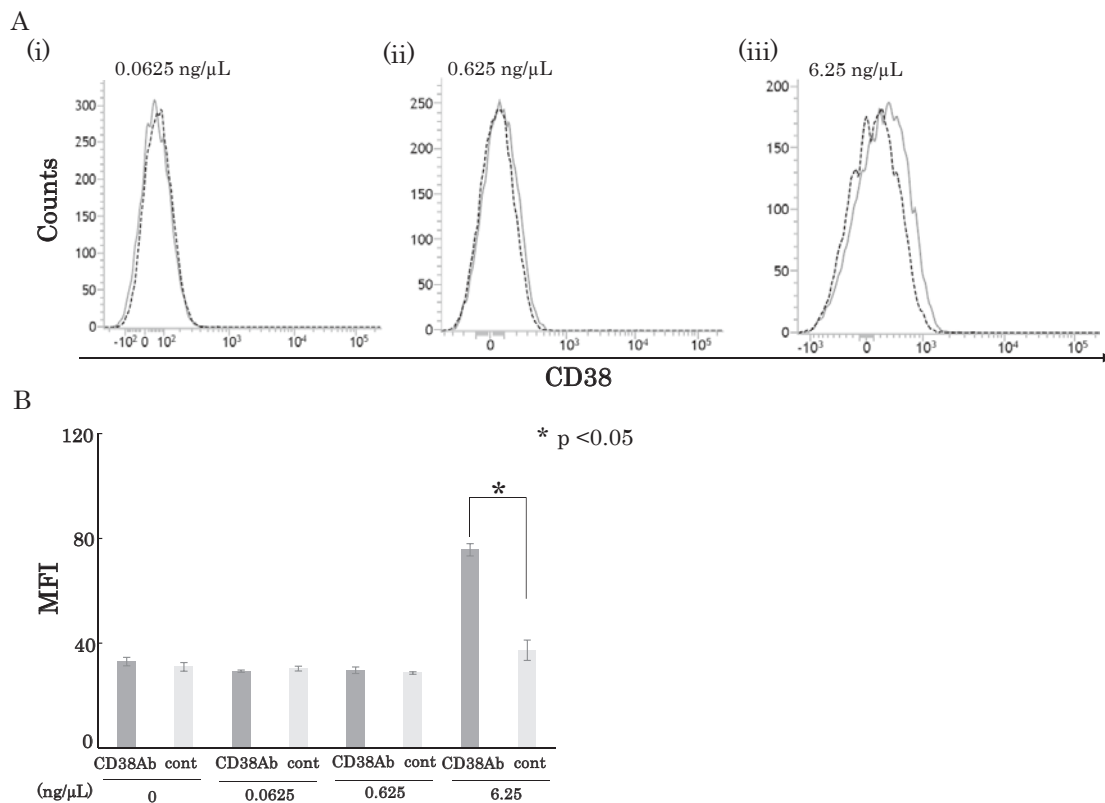


図 1. 赤血球試薬の CD38 に結合する APC- 抗 CD38 抗体の至適濃度

A : 0.2% 赤血球試薬に APC- 抗 CD38 抗体 (i) 0.0625, (ii) 0.625, (iii) 6.25 ng/ $\mu$ L を添加し, FCM を用いて測定した。実線は 抗 CD38 抗体, 点線は isotype control を示す。

B : 0.2% 赤血球試薬に APC- 抗 CD38 抗体 (0, 0.0625, 0.625, 6.25 ng/ $\mu$ L) を添加した後, FCM を用いて測定し, MFI を算出した。図に mean  $\pm$  SD (n=3) を示す。

0.625 ng/ $\mu$ L が  $29.7 \pm 1.2$  であったのに対して, 6.25 ng/ $\mu$ L では  $75.7 \pm 2.4$  となった。さらに, 62.5 ng/ $\mu$ L で検討したが, isotype control で非特異結合が増強した (data not shown)。したがって, 本研究において APC-抗 CD38 抗体の至適濃度は, isotype control と有意差が認められた 6.25 ng/ $\mu$ L とした (図 1)。

## 2. 健常者の赤血球膜の CD38 発現

健常者 4 名 (検体 a~d) の赤血球膜の CD38 発現 (MFI) は, 検体 a が  $77.3 \pm 0.5$ , 検体 b が  $72.0 \pm 0$ , 検体 c が  $62.7 \pm 0.9$ , 検体 d が  $79.7 \pm 0.5$  であった。健常者の CD38 発現 (MFI) の平均は  $72.9 \pm 7.0$  で, いずれも isotype control と比較して有意に高かった (図 2)。

## 3. 赤血球膜の CD38 に結合する DARA の至適濃度

本研究では赤血球膜に結合する DARA を,

APC-抗 CD38 抗体結合量の抑制で評価するため, まず, 生理食塩液で希釈した DARA と赤血球試薬の CD38 との結合を検討した。その結果, CD38 の MFI は DARA 濃度 0 ng/ $\mu$ L が  $71.7 \pm 0.9$  であったのに対して, 0.2 ng/ $\mu$ L が  $72.3 \pm 1.7$ , 2 ng/ $\mu$ L が  $62.7 \pm 0.9$ , 20 ng/ $\mu$ L が  $53.3 \pm 0.9$ , 200 ng/ $\mu$ L が  $53.7 \pm 2.5$ , 2,000 ng/ $\mu$ L が  $46.0 \pm 0.8$  で, CD38 との結合は DARA の濃度依存的に低下した (図 3)。そこで, 本検討で用いる DARA の至適濃度を, DARA 濃度 0 ng/ $\mu$ L の MFI と有意差が見られた最小濃度である 2 ng/ $\mu$ L とした。

## 4. H-rhCD38 と HNMBs を用いた検体中の DARA の除去

検体中に細胞と未結合の DARA が存在すると, 不規則抗体の有無にかかわらず赤血球試薬の CD38 と反応し, IAT が汎凝集反応を示す可能性がある。そこで, 検体中の未結合 DARA を除去するために

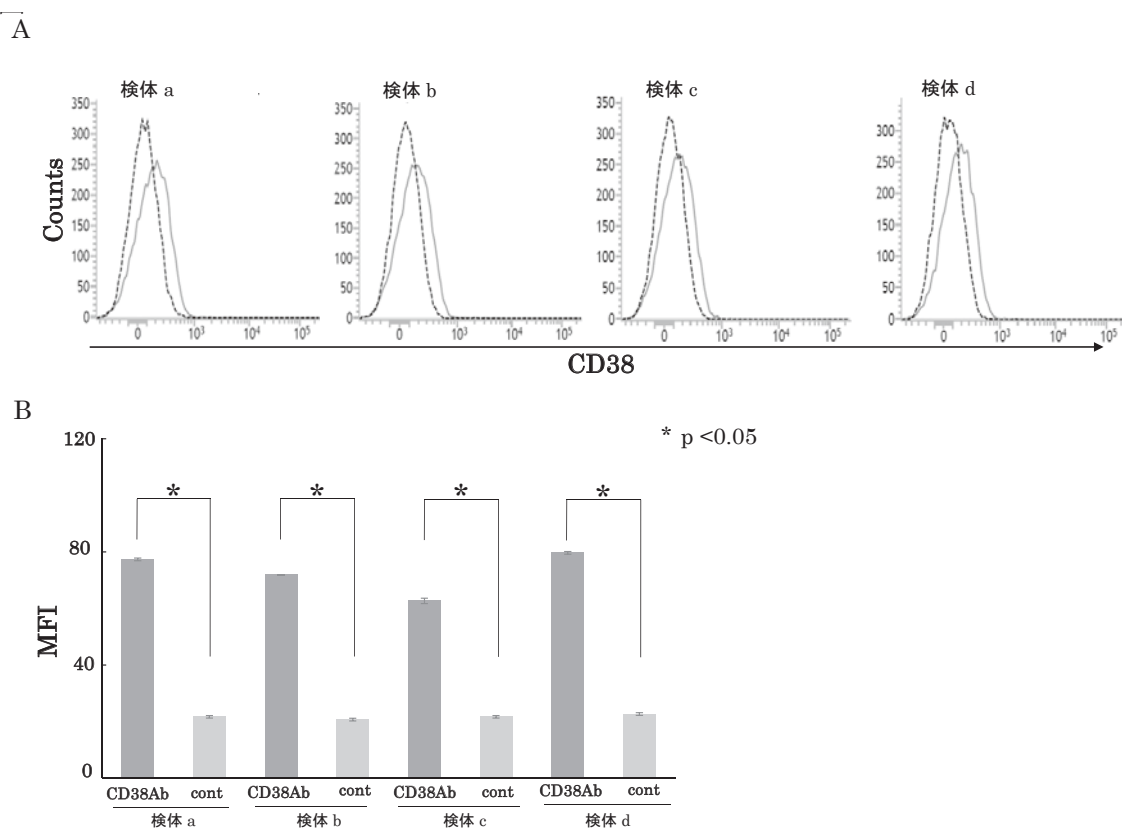


図 2. 健常者の赤血球膜の CD38 発現

A: 検体 a~d より 0.2% 赤血球を作製し, APC-抗 CD38 抗体 (6.25 ng/ $\mu$ L) で染色した後に FCM で測定した。実線は抗 CD38 抗体, 点線は isotype control を示す。

B: 検体 a~d について, APC-抗 CD38 抗体を添加した後, FCM を用いて測定し, MFI を算出した。図に mean  $\pm$  SD (n=3) を示す。

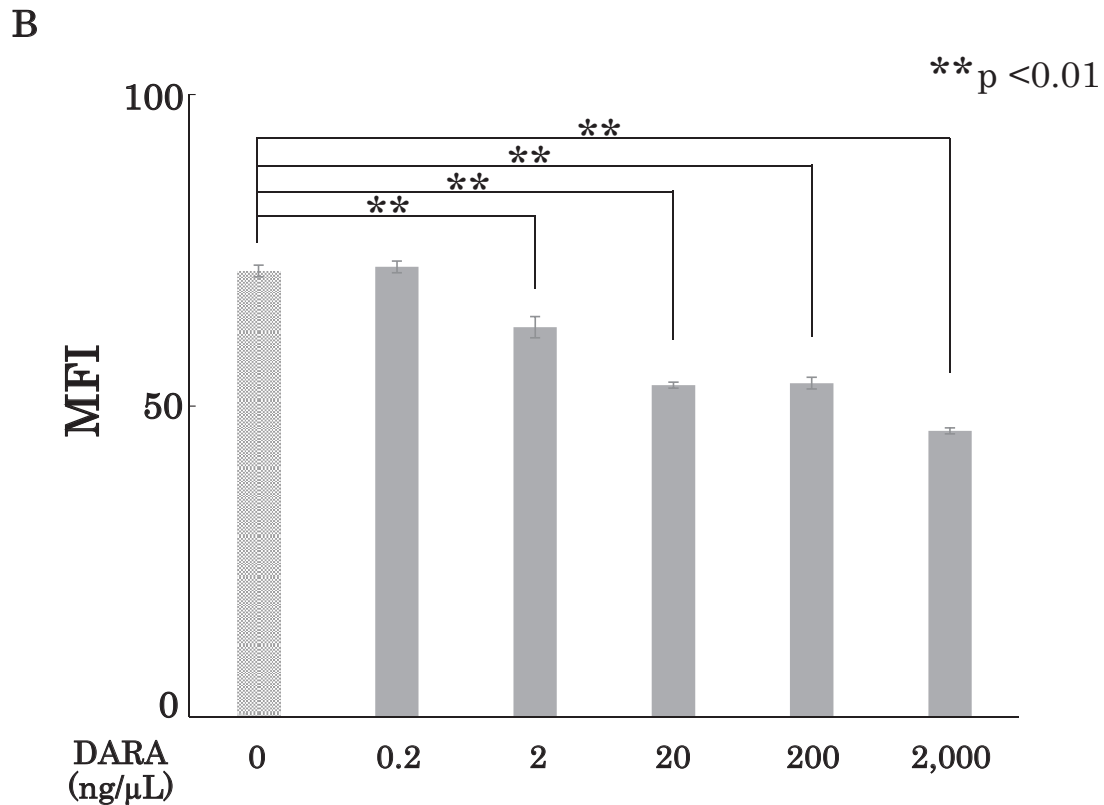
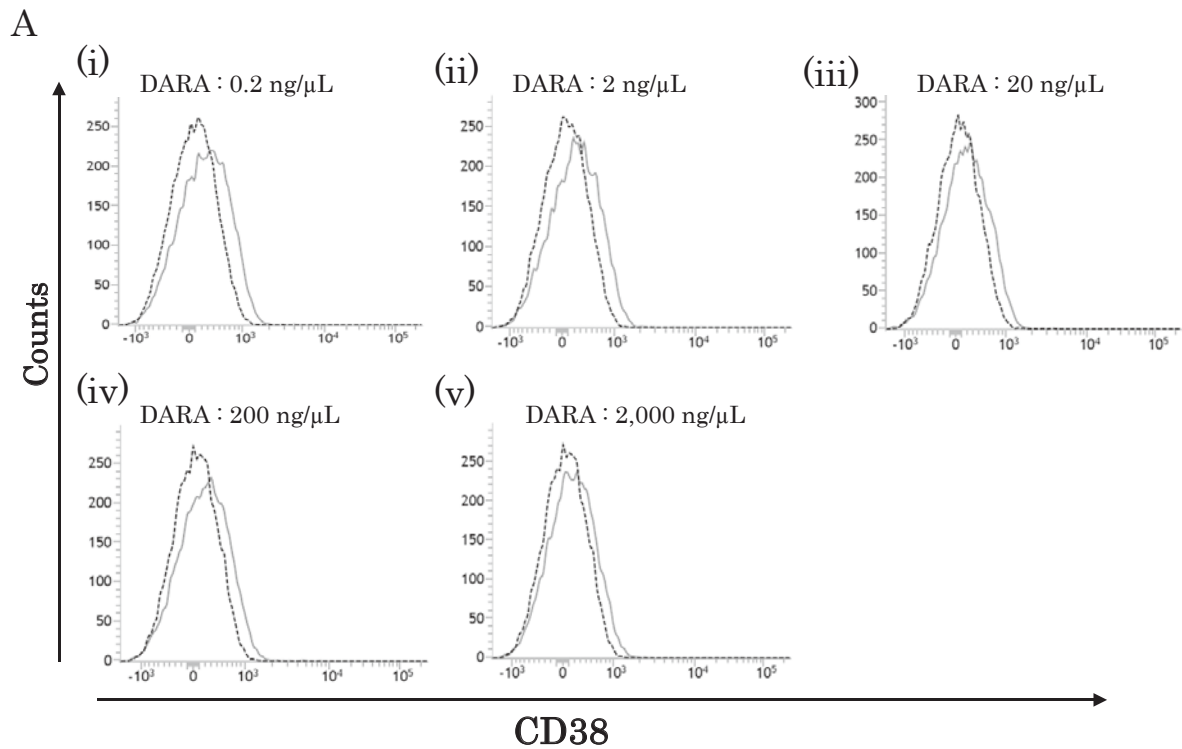


図3. 赤血球試薬の CD38 に結合する DARA の至適濃度

A : DARA (i) 0.2, (ii) 2, (iii) 20, (iv) 200, (v) 2,000 ng/μL と 0.2% 赤血球試薬を反応させ, APC-抗 CD38 抗体で染色した後に, FCM を用いて測定した。実線は 抗 CD38 抗体, 点線は isotype control を示す。

B : DARA (0.2, 2, 20, 200, 2,000 ng/μL) と 0.2% 赤血球試薬を反応させ, APC-抗 CD38 抗体を添加した後, FCM を用いて測定し, MFI を算出した。図に mean ± SD (n=3) を示す。

H-rhCD38 を添加した後, HNMBs を用いて DARA の除去を試みた。DARA の除去が行われた場合, 赤血球試薬に抗ヒト CD38 抗体が結合できるが, DARA が存在する場合, APC-抗 CD38 抗体の赤血球試薬への結合は DARA により抑制される。APC-抗 CD38 抗体の MFI は, NS (DARA-/H-rhCD38-) では  $71.0 \pm 2.3$  であったのに対して, DARA+/H-rhCD38- では  $58.5 \pm 4.1$  で, 有意に低下していた。一方, DARA+/H-rhCD38+ では, H-rhCD38 添加量  $1 \mu\text{L}$  で  $58.5 \pm 4.0$ ,  $5 \mu\text{L}$  では  $65.5 \pm 3.8$ ,  $10 \mu\text{L}$  では  $73.8 \pm 1.5$  となり, H-rhCD38 の添加量に依存して CD38 の MFI は増加していた (図 4)。

## 5. DARA による Kell 抗原への影響

最後に, DARA が赤血球試薬の Kell 抗原に及ぼす影響を調べるために, DARA を除去した上清と, DARA を含んだ上清を K 抗原陰性赤血球, または K 抗原陽性赤血球とそれぞれ反応させ, 抗 K 血清との結合を FITC 結合抗ヒト IgG 抗体を用いて染色した。その結果, FITC 結合抗ヒト IgG 抗体の MFI は, DARA を除去した上清では  $665.3 \pm 26.4$ , DARA を含んだ上清では  $682 \pm 32.6$  であり, MFI に差はみられなかった (図 5)。

## IV 考察

DARA は, MM の新たな治療薬として開発され,

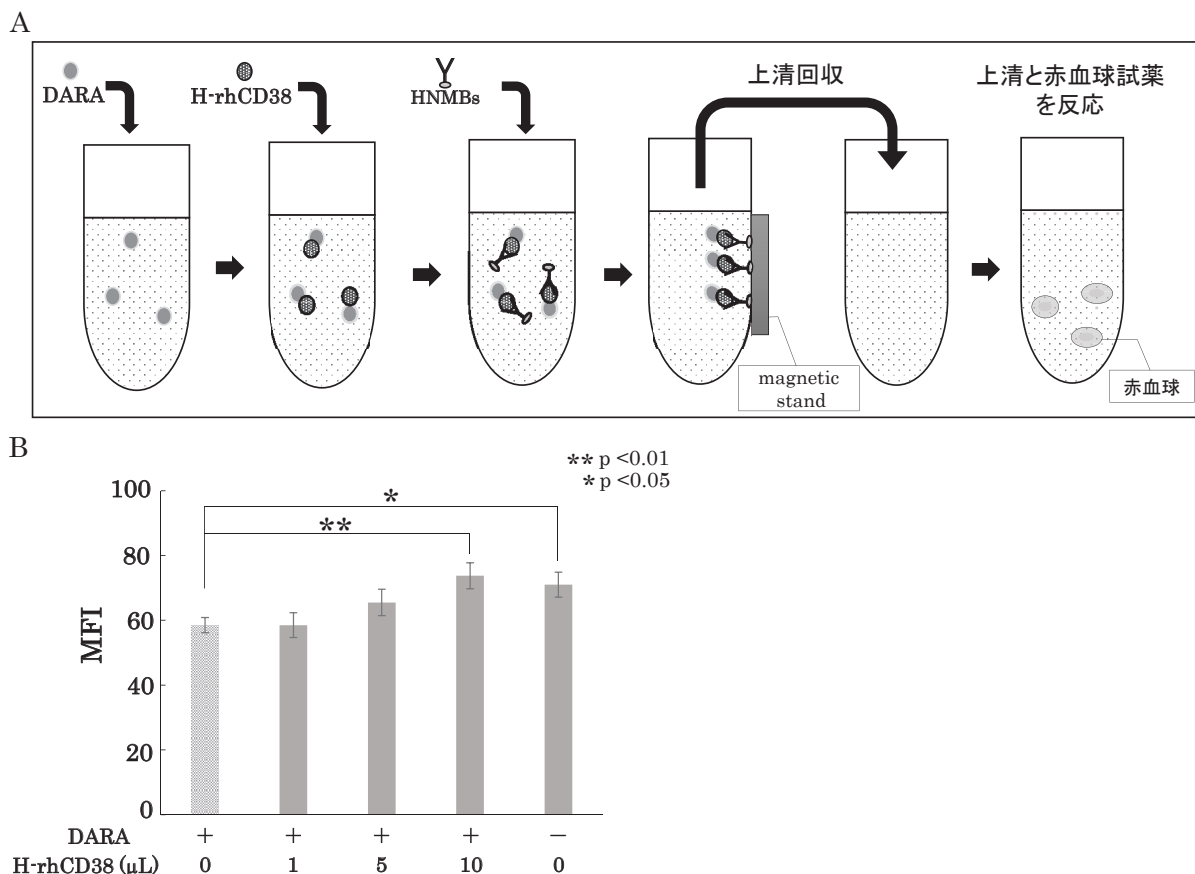


図 4. H-rhCD38 と HNMBs を用いた検体中 DARA の除去

A: 希釈した DARA ( $2 \text{ ng}/\mu\text{L}$ ) と H-rhCD38 を反応させ, HNMBs を添加した後, DARA と H-rhCD38 の複合体を, magnetic stand を用いて除去し, 上清を別容器に移して検体とし, 0.2% 赤血球試薬と反応させた。

B: DARA ( $2 \text{ ng}/\mu\text{L}$ ), または生理食塩液に H-rhCD38 を  $0 \sim 10 \mu\text{L}$  添加した後に HNMBs と反応させ, magnetic stand で除去した。得られた上清と 0.2% 赤血球試薬を反応させ, APC-抗 CD38 抗体を添加した後, FCM を用いて測定し, MFI を算出した。図に mean  $\pm$  SD ( $n=3$ ) を示す。

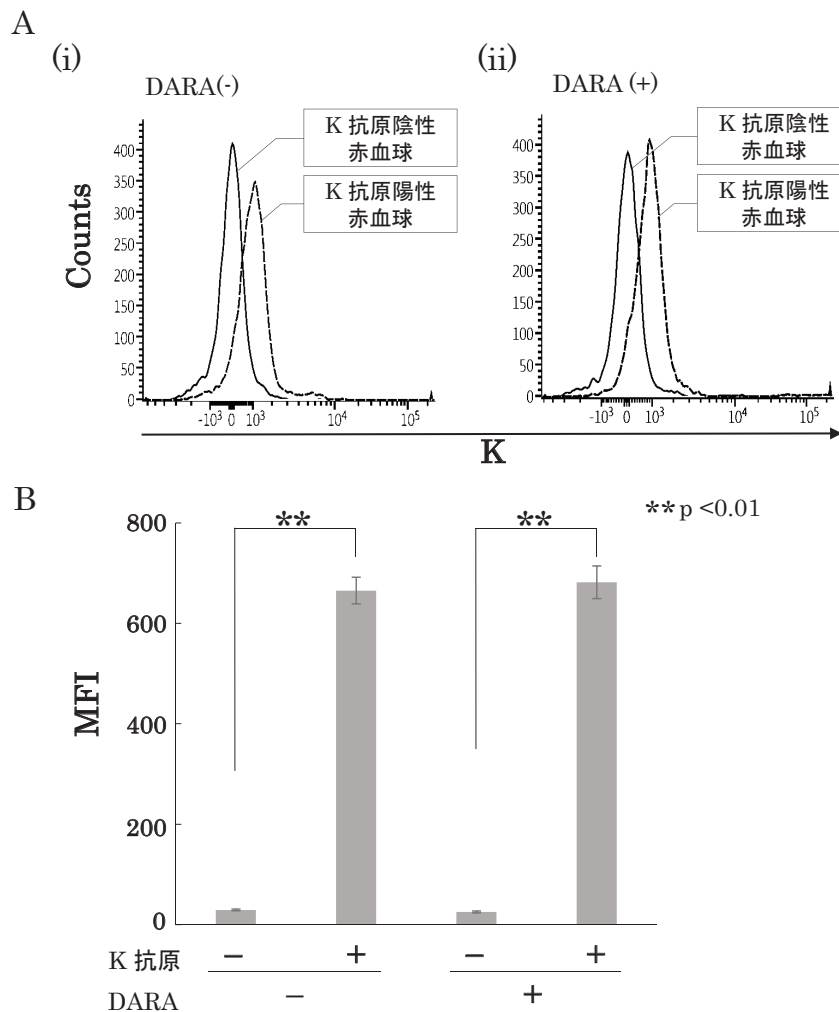


図5. DARA による Kell 抗原への影響

A : (i) DARA 添加検体と H-rhCD38 を反応させ、HNMBs を添加した後、磁気ビーズ法により除去した上清と (ii) DARA 添加検体に HNMBs を添加した後、磁気ビーズ法により除去した上清を作成した。各上清を 0.2% 赤血球試薬 (K 抗原陰性赤血球または K 抗原陽性赤血球) と反応させ、抗 K 血清と反応させた後、FITC 結合抗ヒト IgG 抗体を添加し、FCM を用いて測定した。実線は K 抗原陰性赤血球、点線は K 抗原陽性赤血球との反応を示す。

B : DARA を除去した上清と DARA を含んだ上清をそれぞれ 0.2% 赤血球試薬 (K 抗原陰性赤血球または K 抗原陽性赤血球) と反応させ、抗 K 血清を反応させ、FITC 結合抗ヒト IgG 抗体を添加した後、FCM を用いて測定し、MFI を算出した。図に mean  $\pm$  SD (n=3) を示す。

骨髓腫細胞上に発現する SLAMF7 を標的とする elotuzumab とともに、効果的な治療成績を収めている<sup>3, 4, 5, 6)</sup>。一方、DARA 投与時の問題点は、不規則抗体検査や交差適合試験などの輸血検査において汎凝集反応がみられ、判定に支障をきたすことにより血液製剤を安全に投与することができない点である。この汎凝集反応は、CD38 が、骨髓腫細胞のほか、赤血球膜表面にも低発現していることより DARA 投与中の患者で、赤血球試薬の CD38 と検

体中の未結合の DARA が結合してしまうことで起こる<sup>7)</sup>。そのため、Chapuy らは検査に使用する赤血球試薬を DTT 処理することで赤血球膜表面に発現している CD38 を変性させる方法を報告した<sup>11)</sup>。しかし、Chapuy らの方法や American Association of Blood Banks (AABB) の推奨する DTT 処理赤血球に用いる DTT 濃度は 0.2 mol/L であり、赤血球膜上の Kell 抗原が変性されるため Kell 抗原に対する抗体が存在した場合においても検出が出来ない<sup>11)</sup>。

<sup>12)</sup>。そこで、DTT 濃度を低下させることにより、赤血球膜上の Kell 抗原を維持し、Kell 抗体の検出が可能となる DTT 処理の改良法が報告されているが<sup>13)</sup>、多くの施設は未だ DTT 濃度 0.2 mol/L で DTT 処理を行っている。

そこで本研究では、MM 患者に使用された DARA を血漿中から除去することで、IAT への干渉を回避する新たな方法の確立を最終目的として、検体中の DARA の除去に、磁気ビーズを用いた方法の基礎的検討を行った。

まず、FCM を用いて健常者赤血球における CD38 検出を試みたところ、赤血球膜上には CD38 は一定量発現しているものの、その量は少ないことが明らかとなった（図 2）。一方、DARA 添加により CD38 の MFI が低下したことから（図 3）、DARA が赤血球膜上の CD38 に結合し、APC-抗 CD38 抗体の結合部位をマスクしたことで、CD38 の MFI が低下したと考えられた。そこで、検体中の未結合の DARA を磁気ビーズ法により除去したところ、CD38 の MFI は増加したことから、H-rhCD38 添加により DARA の除去が可能であることが明らかとなった。

今回、H-rhCD38 と HNMBs を用いることで検体中から DARA の除去に成功した。本研究の結果は DTT 処理のように赤血球試薬を事前に処理する操作がなく、Kell 抗原への影響がないことから（図 5）、不規則抗体検出において有用である。しかし、実際の DARA 投与患者では、DARA 16 mg/kg 群の平均血清中濃度は、初回投与終了時に 321  $\mu\text{g/mL}$ 、1 週間隔での最終（7回目）投与前に 601  $\mu\text{g/mL}$ 、投与終了時に 1,094  $\mu\text{g/mL}$  であり<sup>14)</sup>、今回の検討の DARA 濃度と比較して高い。そのため、実際の DARA 投与患者検体では、血中濃度が高いことが予想され、大量の DARA 治療を受けた患者の臨床検体を処理するには、大量の H-rhCD38 が必要であり、コスト面において課題が残る。しかしこれらの方法は、今後新たな分子標的治療薬が開発され、赤血球試薬と結合し、IAT に干渉する可能性がある場合に、対応する recombinant protein と HNMBs を用いることで検体中から薬剤の除去が可能となることから、IAT への干渉を回避する汎用性のある方法であると考えられる。

## V 結語

今回、我々は H-rhCD38 を DARA 含有検体に添加した後、磁気ビーズ法により DARA を上清から除去することに成功した。この方法により、DTT 処理によって破壊されていた赤血球抗原が維持されるだけでなく、DARA による IAT への干渉を解消することが可能になると考えられた。

## 謝辞

本研究は、熊本保健科学大学学内研究費（2020-C-07）の助成を受けたものである。

## 利益相反

本研究における利益相反は存在しない。

## 文献

- 1) McKenna RW, Kyle RD, Kuehl WM, et al. Plasma cell neoplasms. WHO Classification of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues. by Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. eds, IARC, pp241-253, 2017.
- 2) International Myeloma Working Group : Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders : a report of the International Myeloma Working Group. Br J Haematol, 121: 749-757, 2003.
- 3) Malavasi F, Funaro A, Roggero S, et al. Human CD38: a glycoprotein in search of a function. Immunol Today, 15: 95-97, 1994.
- 4) Lin P, Owens R, Tricot G, et al. Flow cytometric immunophenotypic analysis of 306 cases of multiple myeloma. Am J Clin Pathol, 121: 482-488, 2004.
- 5) Lokhorst HM, Plesner T, Laubach JP, et al. Targeting CD 38 with Daratumumab Monotherapy in Multiple Myeloma. N Engl J Med, 373: 1207-1219, 2015.
- 6) Lonial S, Weiss BM, Usmani SZ, et al. Daratumumab monotherapy in patients with treatment-refractory multiple myeloma (SIRIUS) : an open-label, randomised, phase 2 trial. Lancet, 387: 1551-1560, 2016.

- 7) de Weers M, Tai YT, van der Veer MS, et al. Daratumumab, a novel therapeutic human CD38 monoclonal antibody, induces killing of multiple myeloma and other hematological tumors. *J Immunol*, 186: 1840-1848, 2011.
- 8) Chapuy CI, Nicholson RT, Aguad MD, et al. Resolving the daratumumab interference with blood compatibility testing. *Transfusion*, 55: 1545-1554, 2015.
- 9) Oostendorp M, Lammerts van Bueren JJ, Doshi P, et al. When blood transfusion medicine becomes complicated due to interference by monoclonal antibody therapy. *Transfusion*, 55: 1555-1562, 2015.
- 10) 日本輸血・細胞治療学会輸血検査技術講習委員会：多発性骨髄腫治療薬（抗 CD38）による偽陽性反応への対処法（一部改定版），2017.
- 11) Chapuy CI, Aguad MD, Nicholson RT, et al. International validation of a dithiothreitol (DTT)-based method to resolve the daratumumab interference with blood compatibility testing. *Transfusion*, 56: 2964-2972, 2016.
- 12) Fung MK, Grossman BJ, Hillyer CD, et al. eds, Technical manual, 18th ed, AABB, Bethesda (MD), 2014.
- 13) Hosokawa M, Kashiwagi H, Nakayama K, 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). *Transfusion*, 58: 3003-3013, 2018.
- 14) 社内資料：ダラツムマブの多発性骨髄腫患者に対する臨床成績（54767414MMY1002試験），ヤンセンファーマ株式会社，2017.

（令和4年1月7日受理）

## A basic study to establish a new method to avoid the effects of daratumumab in indirect antiglobulin test

Ippei NOBORUO, Keita KIMURA, Saki NAKAO

Ryoya MATSUKATA, Tatsuya KAWAGUCHI, Yukinori KOZUMA

### Abstract

In the case of indirect antiglobulin tests, binding of daratumumab (DARA) to red blood cells, an anti-CD38 antibody for the treatment of multiple myeloma (MM), can return false-positive results. We attempt to develop a new detection method that avoids the interference of DARA without using dithiothreitol (DTT) in this study.

To evaluate the combination of DARA and red blood cells (RBCs), we examined CD38 expression in the presence of various concentrations of DARA using flow cytometry. Mean fluorescence intensity (MFI) of CD38 was decreased by the addition of DARA. Furthermore, the binding of anti-CD38 antibodies to RBCs inhibited in the presence of DARA was recovered by the removal of DARA.

These results suggest that the interference of DARA can be avoided by the addition of His-tag conjugated recombinant human CD38 protein (H-rhCD38) to the serum of patients with MM during DARA treatment without using DTT.