



항-CD47 단클론항체에 의한 수혈전검사 간섭을 다회 혈소판 동종흡착을 통해 해결한 1예

Elimination of Anti-CD47 Interference in Pretransfusion Testing by Multiple Platelet Alloadsorption: A Case Report

이희라 · 김예지 · 김진석 · 양정석 · 황상현 · 오흥범 · 고대현

Heerah Lee, M.D., Yee Jie Kim, M.T., Jin Seok Kim, M.T., John Jeongseok Yang, M.D., Sang-Hyun Hwang, M.D., Heun-Bum Oh, M.D., Dae-Hyun Ko, M.D.

울산대학교 의과대학 서울아산병원 진단검사의학과

Department of Laboratory Medicine, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, Korea

Hu5F9-G4, an immunoglobulin 4 (IgG4) monoclonal humanized antibody targeting CD47, is under active clinical trials as a novel immunotherapeutic for hematologic and solid malignancies and can cause pretransfusion testing interference. In this study, we demonstrate our first experience of Hu5F9-G4 interference with serologic testing and mitigate this interference through multiple platelet alloadsorption. A 69-year-old woman with a history of ureter cancer presented with anemia. On routine blood group typing, the patient showed strong agglutination (4+) with anti-A, A, and B cells. Unexpectedly, antibody screening and identification showed panreactivity to all panel cells, although the autocontrol result was negative. Medical records revealed that she was enrolled in an anti-CD47 clinical trial. To eliminate interference by the drug, we attempted alloadsorption using pooled platelets that were prepared from segments of random single donor platelets. After seven alloadsorption sessions using pooled allogeneic platelets, the ABO discrepancy and panreactivity was resolved. To our knowledge, this is the first demonstration of anti-CD47 interference elimination in Korea.

Key Words: Hu5F9-G4, Anti-CD47, Pretransfusion test, Interference, Alloadsorption

서론

모든 세포에 존재하는 막통과당단백 CD47은 암세포에서 signal-regulatory protein alpha (SIRPα)와 반응하여 대식세포 포식을 회피하는 것으로 알려져 있다[1, 2]. Hu5F9-G4는 CD47을 표적으

로 하는 단클론 IgG4 항체로 혈액암과 고형암에 대한 1상, 2상 임상시험이 활발히 진행 중이다[3, 4]. 항-CD47 항체가 CD47-SIRPα의 항포식 신호를 차단하여 암세포 포식을 촉진하고, CD47을 차단하여 면역반응을 촉진시켜 항암 효과를 얻을 수 있다[5].

한편 CD47은 적혈구 표면에도 다량 존재하여, 항-CD47 항체를 투여 받은 환자의 혈장에 존재하는 항체가 수혈전검사에서 간섭현상을 일으킨다[1]. 이러한 간섭현상은 효소 처리나 DTT 처리 등의 방법으로는 효율적으로 제거할 수 없으나, 2019년 Velliquette 등[6]이 혈소판을 이용한 흡착을 통하여 이러한 간섭현상을 제거할 수 있음을 보고한 바 있다. 저자들은 Hu5F9-G4를 투여 받은 69세 여자 환자의 수혈전검사에서 발견된 간섭현상과 이를 성공적으로 제거한 방법에 대해 문헌 고찰과 함께 보고하고자 한다.

증례

요관암을 진단받은 69세 여자 환자의 수혈전검사가 의뢰되었다. 3주 전 시행한 ABO 및 Rh 혈액형검사에서 A형, RhD+으로 확인되

Corresponding author: Dae-Hyun Ko, M.D., Ph.D

<https://orcid.org/0000-0002-9781-0928>

Department of Laboratory Medicine, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, 88 Olympic-ro 43-gil, Songpa-gu, Seoul 05505, Korea

Tel: +82-2-3010-4504, Fax: +82-2-478-0884, E-mail: daehyuni1118@amc.seoul.kr

Received: June 10, 2020

Revision received: July 7, 2020

Accepted: July 15, 2020

This article is available from <https://www.labmedonline.org>

© 2020, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://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.

Table 1. Blood group typing results before and after administration of Hu5F9-G4 (anti-CD47) immunotherapeutic agent

Test methods	Anti-A	Anti-B	Anti-D	A cell	B cell	O cell
Before Hu5F-G4 administration						
Automated instrument*	4+	-	4+	-	4+	NT
After Hu5F-G4 administration						
Automated instrument	4+	-	4+	4+	4+	NT
Tube method						
IS	4+	-	4+	3+	4+	4+
RT incubation	4+	-	NT	3+	4+	NT
IS after alloadsorption	NT	NT	NT	-	4+	NT

*Column agglutination method

Abbreviations: NT, not tested; RT, room temperature; IS, immediate spin.

었고, 비예기항체 선별검사는 음성이었다. 최근 3개월 이내 수혈력은 없었다. 입원 후 실시한 자동화 장비 IH-1000 (Bio-Rad Laboratory Inc., Hercules, CA, USA)을 이용한 ABO/RhD 혈액형검사에서 항-A 혈청, B 혈구, 항-D 혈청에 각각 4+의 반응을 보인 것 외에 A 혈구에도 4+의 반응을 보여 혈구형 검사와 혈청형 검사의 불일치가 발견되었다(Table 1). 시험관법을 이용한 수기 검사에서도 항-A 혈청(SIHDA Anti-A and Anti-B, Shinyang Diagnostics, Seoul, Korea)과 B 혈구(iMR.A1-B, MIRR, SciTech Corp., Seoul, Korea)에 각각 4+ 반응을 보였고 A혈구(SciTech Corp.)에 3+의 반응을 보여 혈구형과 혈청형 사이의 ABO 불일치가 관찰되었다. 비예기항체 선별검사(ID-Card LISS/Coombs & ID-DiaCell I-II, Bio-Rad Laboratory Inc.)에서 4+의 강한 반응강도를 보였다. ID-DiaPanel과 ID-Card LISS/Coombs 그리고 ID-DiaPanel-P와 ID-Card NaCl, Enzyme Test and Cold Agglutinins (Bio-Rad Laboratory Inc.)를 이용한 비예기항체 동정검사에서 저이온강도식염수법, 효소법 모두에서 3+-4+의 강한 범응집 소견을 보였다(Table 2). ID-Card LISS/Coombs (Bio-Rad Laboratory Inc.)를 이용한 직접항글로불린 검사는 ±를 보였고 자가대조검사는 음성을 보였으나, DiaCidel (Bio-Rad Laboratory Inc.)을 이용해 환자의 적혈구로부터 추출한 용출액은 ID-Card LISS/Coombs와 ID-DiaCell I-II (Bio-Rad Laboratory Inc.)에 반응시킨 결과 4+를 보여 이전 보고와 유사한 양상을 보였다[6].

약물에 의한 검사의 간섭이 의심되어 의무기록을 확인한 결과, 환자는 Hu5F-G4와 다른 항암면역치료제를 조합하여 투여하는 임상시험에 참가 중이었다. 내원 3주 전에 Hu5F-G4 프라이밍 용량인 1 mg/kg 투약 받은 후, 2주 전 첫 번째 유지 용량 30 mg/kg를 투약 받은 것으로 확인되었다. 이러한 간섭효과를 제거하기 위하여 Vel-liquette 등[6]이 제시한 방법에 따라 환자의 검체를 처리하였다. O형, RhD+ 성분배혈혈소판 분절들을 이용하여 혼주 혈소판 40 mL을 제조하였다. 환자의 혈청과 동량의 혼주 혈소판을 섞어 37°C에서 15분간 항온 시킨 후 혈액용 원심분리기로 900 g에서 3분 원심

Table 2. Unexpected antibody screening and identification results before and after alloadsorption with pooled platelets

Tests	Before alloadsorption	After alloadsorption
Antibody screening*		
Screening Cell I	4+	-
Screening Cell II	4+	-
Antibody identification [†]		
Panel cells (1-11)	3+-4+	-
Auto control	-	NT

*Plasma samples were tested by indirect antiglobulin testing using gel card and LISS/coombs.

[†]Plasma samples were tested by indirect antiglobulin testing using gel card, LISS/coombs, and enzyme assays.

Abbreviation: NT, not tested.

후 상층액을 분리하여 새로운 혼주 혈소판과 흡착시키기를 반복 시행하였다. 흡착을 3회 실시한 후부터 A형 혈구에 대한 반응 강도가 감소하기 시작하였고, 7회 흡착을 반복한 후에 음성으로 전환되었다. 혈소판 흡착을 7회 반복 시행한 혈청은 A 혈구와 비예기항체 동정검사에서 음성으로 변해 약물에 의한 간섭현상을 성공적으로 제거할 수 있었다.

약물 투약 직전 환자의 혈색소는 10.9 g/dL, 투약 시작 3주 후 수혈전검사가 재의뢰 되었을 때는 8.4 g/dL였다. 이후 20 mg/kg의 유지 용량을 1-2주 간격으로 반복 투약 받았고, 첫 투약 한 달이 지난 후부터는 수혈 없이 10 g/dL 대로 회복, 유지되고 있다.

고 찰

Rituximab (항-CD20), daratumumab (항-CD38, DARA) 등 암 세포의 항원을 표적으로 삼는 단클론항체는 항암치료제로 각광을 받으며 지속적으로 새로운 약물이 개발되고 있다[1, 7]. 이러한 단클론항체가 작용하는 표적이 암세포 외에 적혈구 혹은 혈소판에도 존재하는 경우 수혈전검사에서 간섭을 일으킬 수 있다[1]. 근래에 DARA가 다발성골수종 치료에 활발히 이용되며 수혈의

학 검사실에서는 이에 의한 간섭현상을 경험하며 0.2 M dithiothreitol (DTT)을 이용해 검사용 혈구를 처리하여 간섭현상을 제거하는 검사법을 정립하였고 많은 검사실에서 이를 이용하고 있다 [3, 8].

단클론항체에 의한 수혈전검사 간섭현상 제거는 1) 검사용 적혈구 시약을 DTT 혹은 효소로 처리하여 표적항원을 제거하거나, 2) 본 증례와 같이 혈청 내 단클론항체를 적혈구 혹은 혈소판으로 반복 흡착해 제거하거나, 3) 단클론항체와 반응도가 낮은 검사 시약을 사용할 수 있다[3]. Hu5F-G4는 IgG4 단클론항체이므로 항글로불린 시약 중 IgG4와 반응하지 않는 시약을 사용한다면 이러한 간섭을 줄일 수 있을 것으로 생각되나, 간섭을 완전히 피할 수는 없었다[3, 6]. 어떠한 방법이 효과적인지는 표적항원과 단클론항체의 특성에 따라 달라지며 현재 임상시험이 진행 중인 항-CD47 약제 중 Hu5F-G4 외에 다른 약제들에서는 Hu5F-G4와는 다른 양상의 수혈전검사 간섭현상이 보고되었다[3].

Hu5F-G4 투약에 의해 노화된 적혈구의 제거가 촉진되어 일시적인 빈혈이 일어나는 것이 잘 알려져 있으며 혈소판 감소증도 동반된다는 보고도 있다[6]. 본 증례의 환자는 투약 전 ABO 혈액형 검사가 선행되었고 수혈 없이 혈색소가 회복되었다. 그러나 Hu5F-G4가 혈액환자에게 사용될 경우 기저질환 특성 때문에 증가된 적혈구 제거에 대한 보상작용으로 망상적혈구증가증이 충분히 일어나지 못할 수 있고 이 경우 반복적 수혈이 필요할 가능성이 높다 [2]. 한편 혈소판항체 선별검사와 혈소판 교차시험에도 간섭현상을 일으키는 것으로 알려져 있다. 약물이 상용화 될 경우 적혈구와 혈소판 교차시험에서 간섭현상에 의한 위양성이 나타날 때, 이를 제거하기 위한 작업 때문에 혈액은행 검사실 업무 가중이 예상된다 [1]. 적혈구 항원에 대한 유전형 검사를 시행하여 맞춤수혈을 시도할 수 있으나 한국의 임상 상황에 당장 적용하기 어려울 것으로 생각된다. 다만 이러한 맞춤수혈을 위한 다중 유전형 검사가 신의료기술로 인정받은 바 있다[9]. 향후 이러한 단클론항체 약물의 사용이 점차 증대될 것으로 예상되며, 개별 검사실에서 이에 대한 준비가 필요할 것으로 생각된다.

본 증례에서 직접항글로불린검사는 약양성(±)을 보였으나 용출액은 선별용 혈구와 강한 응집반응을 나타내었다. 이는 항-CD38 항체에 의한 반응과 구분되는 점으로, 항-CD38 항체에 의한 직접항글로불린검사의 반응은 적혈구 CD38 항원 소실(loss)에 의하여 음성 또는 약양성을 나타내는 것에 반하여 항-CD47 항체 투여 후 직접항글로불린검사는 입체장애(steric hindrance)에 의하여 음성 또는 약양성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 용출액을 이용한 검사에서 항-CD47 항체 투여 환자군에서 강양성을 나타냄이 보고된 바 있고[6], 본 증례에서도 유사한 반응을 보였다.

본 증례에서는 ABO/RhD 이외에 C, c, E, e 항원에 대한 표현형

검사에서 3+4로 강한 양성을 보였으나 이 결과가 항-CD47 단클론항체에 의한 간섭 때문이었는지에 대해서는 유전형 검사를 실시하지 않아 평가할 수 없었다. 그리고 Velliquette 등[6]은 혈소판을 이용한 흡착보다 papain 처리 적혈구를 이용한 흡착이 더 효과적일 것으로 보인다고 하였으나 본 연구에서는 혈소판을 이용한 흡착만 실시하였으므로 두 방법을 비교할 수 없었다. 또한 항-CD47 단클론항체가 혈소판 항체나 HLA class I 항체 검사에도 간섭을 일으킬 수 있음이 보고되어 있으나[6], 본 증례에서 이에 대한 검사를 시행하지는 않았다. 추후 항-CD47 단클론항체에 의한 간섭 및 그 제거에 대한 체계적인 평가가 필요할 것으로 생각된다.

새로운 단클론항체 약물이 개발될 때마다 새로운 양상의 수혈전검사 간섭현상 역시 발견될 것이다. 이러한 간섭현상을 제거하기 위한 추가적인 작업들은 혈액은행 검사실 업무에 부담이 될 것이다. 수혈전검사 의뢰 시 임상 의는 환자의 투약력을 검사실에 제공하고, 임상시험 설계 단계에서부터 혈액은행 검사실과 활발한 의사소통을 한다면 안전하고 신속하게 환자에게 수혈용 혈액을 제공할 수 있을 것이다. 본 증례는 한국 최초로 Hu5F-G4에 의한 수혈전검사 간섭현상과 그 제거 방법에 대해 보고하였다. 새로운 수혈전검사 양상을 접했을 때 새로운 단클론항체 약제의 가능성을 의심하고 각 검사실에 적합한 간섭현상 제거 방법에 대한 연구가 필요할 것으로 여겨진다.

요 약

CD47을 표적으로 하는 단클론 IgG4 항체(Hu5F9-G4)는 혈액암과 고형암에 대한 새로운 항암면역치료제로 임상시험이 활발히 진행 중이다. 항-CD47 항체는 수혈전검사에서 간섭현상을 일으킨다. 저자들은 처음 경험하는 Hu5F9-G4에 의한 혈청 검사 간섭효과와 이를 반복적 혈소판 흡착을 통해 제거한 방법에 대해 보고하고자 한다. 요관암으로 진단받은 69세 여자 환자가 빈혈로 내원하였다. ABO/RhD 혈액형 검사에서 항-A 혈청, A 혈구, B 혈구에 강한 응집을 보였다. 비예기항체 선별검사와 동정검사에서 모든 패널 혈구에 범응집 소견을 보인 반면, 자가대조 검사는 음성을 보였다. 의무기록을 확인한 결과, 환자는 Hu5F-G4를 투여하는 임상시험에 참가 중이었다. 약물에 의한 간섭 효과를 제거하기 위해 성분채혈혈소판 분절들로 제조한 훈조 혈소판으로 반복적 흡착을 시도하였다. 7회 흡착을 반복한 후 ABO/RhD 혈액형 검사 불일치와 비예기항체 동정검사의 범응집 현상이 해소되었다. 본 증례는 한국에서 첫 번째 항-CD47에 의한 간섭현상 제거 방법에 대한 보고이다.

이해관계

저자들은 본 연구와 관련하여 어떠한 이해관계도 없음을 밝힙니다.

REFERENCES

1. Branch DR. Immunotherapy: the good, the bad, the ugly, and the really ugly. *Transfusion* 2019;59:437-40.
2. Brierley CK, Staves J, Roberts C, Johnson H, Vyas P, Goodnough LT, et al. The effects of monoclonal anti-CD47 on RBCs, compatibility testing, and transfusion requirements in refractory acute myeloid leukemia. *Transfusion* 2019;59:2248-54.
3. Mei Z and Wool GD. Impact of novel monoclonal antibody therapeutics on blood bank pretransfusion testing. In: Snyder EL, Gehrie EA, eds. *Transfusion medicine*. Philadelphia, PA: Elsevier, 2019:797-812.
4. Sikic BI, Lakhani N, Patnaik A, Shah SA, Chandana SR, Rasco D, et al. First-in-Human, First-in-Class Phase I Trial of the Anti-CD47 Antibody Hu5F9-G4 in Patients With Advanced Cancers. *J Clin Oncol* 2019;37:946-53.
5. Advani R, Flinn I, Popplewell L, Forero A, Bartlett NL, Ghosh N, et al. CD47 blockade by Hu5F9-G4 and rituximab in non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2018;379:1711-21.
6. Velliquette RW, Aeschlimann J, Kirkegaard J, Shakarian G, Lomas-Francis C, Westhoff CM. Monoclonal anti-CD47 interference in red cell and platelet testing. *Transfusion* 2019;59:730-7.
7. Kimiz-Gebologlu I, Gulce-Iz S, Biray-Avci C. Monoclonal antibodies in cancer immunotherapy. *Mol Biol Rep* 2018;45:2935-40.
8. 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.
9. Ministry of Health and Welfare, Committee of New Health Technology Assessment, New Health Technology Assessment Report HTA-2017-26, RHCE · Other blood group gene [PCR-hybridization]: Ministry of Health and Welfare, Committee of New Health Technology Assessment, 2017.