

应对抗CD47抗体药物干扰输血相容性检测的中国专家共识

中国输血协会临床输血学专业委员会

DOI:

执笔作者：蔡晓红，主要从事血液成分输注的临床和基础研究，（E-mail）cxh8407@sjtu.edu.cn；胡兴斌，主要从事输血医学研究，（E-mail）hulab2023@163.com；姜臻，主要从事红细胞血型与输血免疫方面研究，（E-mail）loucan971217@163.com。

共同通信作者：王学锋，主要从事出血性疾病及血栓病诊治相关研究，（E-mail）wxf63@shsmu.edu.cn；谢珏，主要从事输血医学研究，（E-mail）zyyyxj2011@163.com；向东，主要从事免疫血液学研究，（E-mail）xiangdong@ sbc.org.cn；胡丽华，主要从事输血医学基础与临床研究，（E-mail）xhhulh@126.com。

【摘要】 随着免疫检查点的不断发现以及相应抗体药物的研发革新，抗体药物在肿瘤中的应用越来越广泛。但某些免疫检查点治疗的靶标分子不仅在肿瘤细胞中表达，也在正常的红细胞中表达，故这类药物的应用可能会对输血相容性检测造成干扰，导致配血困难和输血延迟。CD47即整合素相关蛋白（integrin associated protein, IAP），是一种表达在多种细胞表面的跨膜蛋白，是“别吃我”信号的关键分子；尽管近年来一些抗CD47抗体药物的临床试验遇到挑战，这一领域的研发活动依然活跃，显示出其在肿瘤治疗中的潜力。本共识旨在总结抗CD47抗体药物对输血相容性检测的干扰，并推荐使用乏IgG4抗人球蛋白试剂和抗独特型抗体等方法去除干扰，为临床安全输血提供保障。

【关键词】 CD47 抗CD47抗体药物 输血前相容性检测 干扰 抗独特型抗体 乏IgG4抗人球蛋白试剂

【中图分类号】 R457 R446.6 **【文献标识码】** A

Expert Consensus on Interference of anti-CD47 Antibody with Compatibility Test in Chinese *Clinical Transfusion Medicine Professional Committee of the Chinese Society of Blood Transfusion*

【Abstract】 With the continuous discovery of immune checkpoints and development of antibody drugs, the application of antibody drugs in tumors has become more and more widespread. However, some immune checkpoints are expressed not only in tumor cells but also in normal erythrocytes, so the application of such drugs may interfere with the transfusion compatibility test, leading to difficulties in blood matching and delays in transfusion. CD47, also known as Integrin Associated Protein (IAP), is a transmembrane protein expressed on the surface of a variety of cells and key signaling molecule of "Don't eat me". Although some clinical trials of anti-CD47 antibody have encountered challenges in recent years, research and development activity in this area remains active, showing its potential in cancer treatment. The purpose of this consensus is to summarize the interference of CD47 antibody on transfusion compatibility test and recommend methods such as using lack IgG4 anti-globulin and anti-idiotypic antibody to remove the interference and provide a guarantee for safe clinical blood transfusion.

【Key words】 CD47 CD47 antibody Compatibility test Interference Anti-idiotypic antibody IgG4-deficient anti-human globulin reagent

免疫检查点作为目前治疗肿瘤的一种革命性疗法，已经越来越广泛应用于肿瘤治疗中^[1]。作为其中的关键，抗体研发及工程技术也得以飞速发展。CD47作为新兴的免疫检查点，能与巨噬细胞信号调节蛋白 α （signal regulatory protein alpha, SIRP α ）结合并传递“别吃我”的信号，使肿瘤细胞能够逃避免疫清除^[2]。通过抗CD47抗体阻断CD47信号通路，使吞噬细胞能够识别并消除肿瘤细胞，是近年癌症治疗的热点方向^[3]。由于红细胞上CD47呈高表达，抗CD47抗体药物在结合肿瘤细胞的同时也结合血小板和红细胞，故可能会对输血相容性检测产生干扰，造成临床输血困难和延迟^[4]。

目前，抗CD47抗体药物大多仍处于临床试验阶段，尚未完全投入临床使用，但国内外均有相关的临床研究在进行。因此本共识旨在总结抗CD47抗体药物对输血相容性检测的干扰，并根据不同的情况推荐去除抗CD47抗体干扰的方法，为临床安全输血提供保障。

本共识已在国际实践指南注册与透明化平台（<http://www.guidelines-registry.cn/>）完成中英文注册（注册编号：2024CN655）。通过文献检索及经验总结，拟订了专家共识的框架，成立共识工作组进行问题调研，形成推荐意见决策表。39位专家进行在线投票表决，将赞成程度分为五个选项进行投

票表决：a.完全赞成，必不可少；b.部分赞成，但有一定保留；c.部分赞成，但有较大保留；d.不赞成，但有一定保留；e.完全不赞成。根据专家投票结果，将a得票数 $\geq 80\%$ 定为“强推荐”、a和b得票数相加 $\geq 80\%$ 定为“推荐”；a、b和c得票数相加 $\geq 80\%$ 定为“建议”，其他情况视为未达成共识，则删去该条推荐意见。最终形成“强推荐”级意见5条，“推荐”级意见0条，“建议”级意见0条，删除推荐意见0条。

1 CD47分子及抗CD47抗体药物在肿瘤中的作用

CD47是一种人体细胞上高度保守的蛋白^[5]，能与巨噬细胞抑制性受体SIRP α 结合并传递保护性信号。多种肿瘤包括急性髓系白血病（AML）、骨髓增生异常综合征（MDS）、急性淋巴细胞白血病（ALL）、非霍奇金淋巴瘤（NHL）、浆细胞骨髓瘤和一些实体器官癌症细胞中CD47表达上调^[6-8]。也有研究证明通过抗CD47抗体阻断恶性肿瘤中CD47信号通路可以促进免疫识别、激活和吞噬作用，从而发挥抗肿瘤作用^[9]。

抗CD47抗体药物主要分为抗CD47单克隆抗体和双特异性抗体两大类。Hu5F9-G4作为第一代抗CD47单克隆抗体^[10-11]，最初用于治疗血液恶性肿瘤如MDS和AML，然而最新的三期临床试验结果显示Hu5F9-G4会增加由感染和呼吸衰竭导致的死亡风险。因此美国食品药品监督管理局（FDA）全面暂停了Hu5F9-G4所有有关治疗血液系统恶性肿瘤的临床研究。另一些抗CD47单克隆抗体如Iemzoparlimab，与Hu5F9-G4相比，尽管前者降低了与红细胞以及吞噬细胞受体结合的能力，但仍会导致血红蛋白降低^[12]。目前一些联合抗CD47抗体与阿扎胞苷等药物治疗MDS的随机、双盲试验也正在国际多中心开展^[13-14]。此外，某些针对CD47的SIRP α -Fc融合蛋白具有双重机制，能够同时阻断来自肿瘤的“别吃我”信号，并通过IgG1激活患者免疫系统的“吃我”信号^[15]，此类药物与靶向药物（如抗PD-1单抗）或免疫治疗药物联用显示出针对血液肿瘤还有实体瘤的抑瘤活性^[16-17]，正在进行针对难治性经典霍奇金淋巴瘤的三期临床研究。此外在B淋巴瘤患者中进行临床试验结果显示，靶向CD47和CD20抗原的双特异性抗体与抗CD47单克隆抗体相比，几乎不与人红细胞结合^[18]；而靶向CD47和CD19抗原的双特异性抗体，结合人红细胞的能力也极其微弱^[19]。

抗CD47抗体药物的应用不仅仅局限于血液系统肿瘤，乳腺癌、肺癌和胃肠道癌等实体肿瘤目前也正

接受抗CD47抗体药物单独治疗或者联合其他药物治疗^[20-22]。

2 CD47分子和抗CD47抗体药物对患者红细胞的影响

CD47是红细胞上Rh复合物的组成部分^[23]，在小鼠模型中缺乏CD47的红细胞可被脾巨噬细胞快速清除^[24]。抗CD47抗体药物可能导致溶血性贫血以及血小板减少等副作用。英国一项囊括了19名患者的临床试验结果表明，在接受抗CD47抗体药物治疗后，所有患者的血红蛋白均下降（中位数1.0 g/dL，范围0.4~1.6 g/dL）^[25]。因此，输血支持是这类患者治疗的重要部分之一，输血科（血库）工作人员应熟悉和掌握抗CD47抗体对输血相容性检测的干扰以及应对方式。

3 抗CD47抗体药物对输血相容性检测的干扰

一旦接受了抗CD47抗体药物，抗CD47抗体会与红细胞上CD47结合，并可能干扰输血相容性检测中的任何环节^[4]。因此了解抗CD47抗体药物干扰输血相容性检测的原理和应对方案，对于临床和实验室显得至关重要。

抗CD47抗体药物可能对血型鉴定、抗体筛查、抗体鉴定和交叉配血过程中采用的盐水介质凝集试验、直接抗球蛋白试验（direct antiglobulin test, DAT）、间接抗球蛋白试验（indirect antiglobulin test, IAT）和聚凝胺试验等的结果均造成干扰。由于红细胞上CD47表达量丰富^[23]，抗CD47抗体结合红细胞后可能会导致患者出现血型正反定型不符或者定型困难的情况^[4, 26]。研究显示接受抗CD47抗体药物患者的DAT通常为阳性，以单特异性抗IgG阳性，抗C3d阴性为主^[25]。此外通过IAT法进行抗体筛查时可能会显示出3+~4+的全凝集反应。由于患者红细胞上致敏了抗CD47抗体以及血浆中游离的抗CD47抗体，因此主侧和次侧交叉配血均会出现强凝集的试验结果。与抗CD38抗体不同，抗CD47抗体药物对抗体筛查带来的干扰无法通过酶处理的试剂红细胞（包括二硫苏糖醇或2-巯基乙醇）去除^[27]。抗CD47抗体药物的半衰期为两周左右^[28]，然而抗CD47抗体药物干扰输血相容性检测的持续时间目前仍不确定。

抗CD47抗体药物对血型鉴定、抗体筛查、抗体鉴定以及交叉配血的潜在干扰，强调了患者在接触抗CD47抗体药物前建立基本血型信息和扩展红细胞表型的关键作用。患者一旦接受抗CD47抗体药物治疗并干扰输血相容性检测时，可以根据治疗前的血型信息给患者提供表型匹配的红细胞，降低发生溶血性输血反应和诱导同种抗体形成的风险。

4 抗CD47抗体药物干扰输血相容性检测的应对策略

4.1 患者接受抗CD47抗体药物治疗前

为了确定患者的基本血型信息包括ABO/Rh血型 and 抗体筛查等, 本共识建议在患者接受抗CD47抗体药物治疗前进行相关的输血相容性检测, 包括ABO及RhD血型检测和抗体筛查(鉴定)^[29], 有条件者加测其他常见血型抗原鉴定(E、c、C、e、Jk^a、Jk^b、M、Mur、Mi^a、Fy^b、S等)^[30-32]。一旦患者接受抗CD47抗体药物治疗并干扰输血相容性检测时, 尽量给患者提供多种血型抗原匹配的红细胞输注可以保障红细胞输注的准确性以及安全性(见5.使用抗CD47抗体药物患者的输血策略)。

由于近期存在输血史导致血型鉴定时出现抗原检测混合凝集的情况, 可采用毛细管离心或基因分型的方法明确血型。患者在任何时间点(包括治疗前、治疗中和治疗后)都可以进行血型基因型检测。红细胞基因型分型方法可以提供比血清学更准确的信息, 尤其是ABO和RhD血型系统意外的抗原, 如RhC、c、E、e、Jk^a和Jk^b等^[33]。但由于基因分型的检测时间较长, 如患者需进行血型基因型检测应尽早开展并记录结果。(附录四 图S1)

【推荐意见1】患者接受抗CD47抗体药物治疗前推荐患者进行ABO/RhD血型鉴定和抗体筛查(鉴定), 有条件者通过血清学或者分子生物学方法进行其他常见血型抗原分型^[26, 29]。(强推荐)

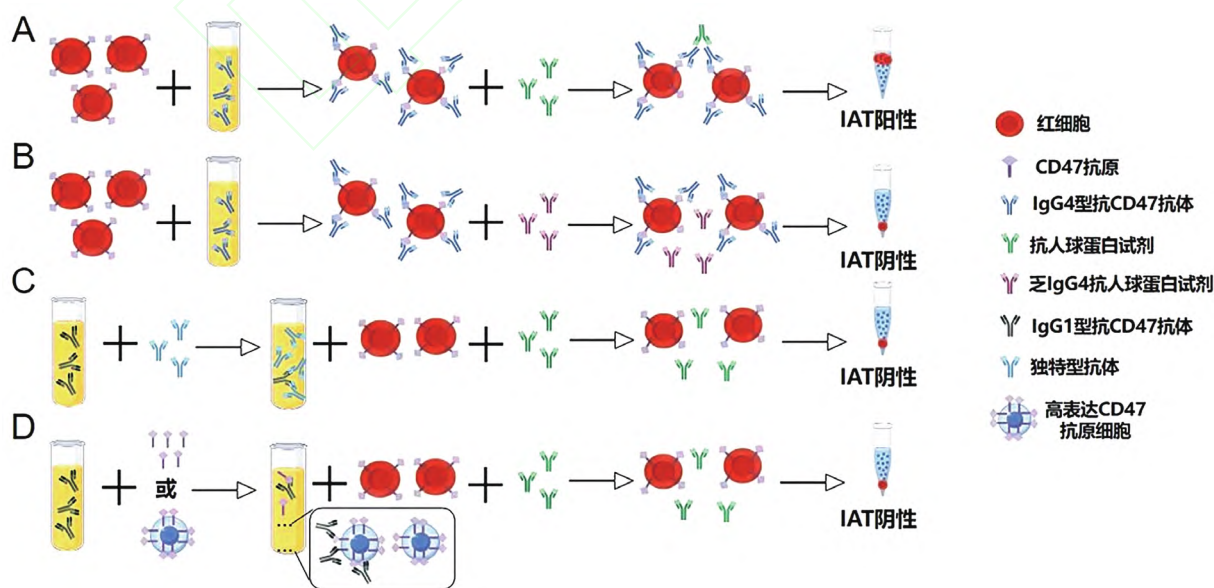
4.2 患者接受抗CD47抗体药物后

患者接受抗CD47抗体药物后, 由于抗CD47抗体药物结合红细胞并导致红细胞减少, 建议临床密切监测患者的血红蛋白水平并及时预测患者输血需求, 提前向输血科提出输血申请(>24 h)和送检配血标本, 以便输血科工作人员进行输血前相容性检测。

临床输血申请单上需详细注明患者使用抗CD47抗体药物名称、剂量和时间。一般应避免在接受抗CD47抗体药物当天进行红细胞输注, 因为可能混淆抗CD47抗体药物清除红细胞作用与潜在发生的输血反应。

输血科在收到临床输血申请以及患者标本后首先应按照常规输血相容性检测程序进行ABO/RhD血型复检、抗体筛查、抗体鉴定和交叉配血。如果患者在接受抗CD47抗体药物后, 通过不同检测手段包括盐水介质法以及血型鉴定卡时出现血型正反定型不符或者定型困难的情况, 可以利用基因检测的方法确认患者血型。当患者复检血型与接受抗CD47抗体药物前检测结果一致时, 选择ABO同型红细胞进行后续交叉配血。

抗CD47抗体药物一般会导致患者IAT显示出现3+~4+的全凝集反应。而且由于患者红细胞上致敏抗CD47抗体以及血浆中游离的抗CD47抗体, 常规主侧交叉配血和次侧交叉配血试验均会出现强凝集的结果。我们可以根据患者接受不同的抗CD47抗体药物类型, 使用对应方法去除干扰并进行抗体筛查、抗体鉴定和交叉配血(图1)。



注: A.未去除患者血浆中IgG4型CD47抗体干扰时, 患者IAT为阳性, 无法与血浆中存在同种抗体导致的IAT阳性区分开; B.使用乏IgG4的抗人球蛋白试剂, 不会与红细胞上结合的IgG4型抗CD47抗体反应, IAT为阴性; C.通过抗CD47抗体的抗独特型抗体中和抗CD47抗体(尤其是IgG1型), 去除抗CD47抗体干扰后, IAT为阴性; D.通过过量CD47抗原或高表达CD47抗原细胞结合血浆中的抗CD47抗体, 去除抗CD47抗体干扰后, IAT为阴性。

图1 不同方法去除抗CD47抗体药物干扰机制图

【推荐意见2】对于接受抗CD47抗体药物治疗的患者，临床科室与输血科应密切沟通并建立特有的信息档案，记录患者的基本信息、检验结果、血型结果、抗体筛查和抗体鉴定结果。临床科室应提供抗CD47抗体药物信息及使用情况，包括抗CD47的品牌、IgG类型，使用时间及剂量等，方便输血科选择检测方法以及出具报告^[29, 34]。（强推荐）

4.2.1 抗独特型抗体法

许多抗CD47抗体在研发过程中，同时会开发相应的抗独特型抗体。该抗独特型抗体能够高特异性结合血浆中游离的抗CD47抗体的可变区，从而阻止抗CD47抗体与红细胞上的CD47分子结合，避免其对输血相容性检测造成干扰（附录一）。研究显示，应用特异性抗独特型抗体处理患者血浆，可在血型鉴定、抗体筛查、抗体鉴定和交叉配血试验中成功去除抗CD47抗体对输血相容性检测的干扰^[35]。

4.2.2 乏IgG4抗球蛋白法

大多数抗CD47抗体药物是IgG4亚型的抗体，在使用盐水法、聚凝胺法和抗球蛋白卡法进行抗体筛查时均会出现3+~4+的全凝集反应。对于这些抗CD47抗体带来的干扰，可以采用乏IgG4的抗人球蛋白（与IgG1、IgG2、IgG3反应，而不与IgG4反应的抗人球蛋白）试剂进行抗体筛查、鉴定和交叉配血（附录二）。相关研究指出，应用乏IgG4抗球蛋白法可以完全去除IgG4亚型抗CD47抗体对抗体筛查和交叉配血的干扰，成功给患者输注悬浮红细胞且输注有效，但也应慎重考虑，若存在漏检IgG4抗体给患者带来的损害^[26]。

4.2.3 其他一些目前较少使用的方法

4.2.3.1 可溶性CD47抗原法

人CD47抗原目前可通过商业化购买以及293细胞系表达纯化获得。过量的可溶性CD47抗原可以吸附抗CD47抗体从而有效去除抗CD47抗体对输血前相容性检测带来的干扰（附录三）。KIM等人^[36]证明50~100倍摩尔量的CD47抗原可以完全缓解抗CD47抗体导致的阳性IAT结果。但是该方法成本高，费时长，所以不推荐作为首选去除CD47抗体干扰的方法。

4.2.3.2 高表达CD47细胞法

该方法包含Daudi细胞法、CD47high 293T细胞法等。Daudi细胞是一种人Burkitt淋巴瘤的B细胞系，有研究表明Daudi细胞上CD47抗原水平明显高于红细胞上CD47抗原水平^[37]，因此可以在患者血浆中加入Daudi细胞竞争吸附抗CD47抗体从而去除抗CD47抗体带来的干扰（附录三）。研究数据显示，

血浆与 $2.0 \times 10^5/\mu\text{L}$ Daudi细胞37℃共同孵育5 min或者 $1.67 \times 10^5/\mu\text{L}$ Daudi细胞共同孵育15 min处理后，可以完全消除抗CD47抗体带来的干扰^[37]。此外，慢病毒包装系统改造的CD47高表达（CD47high）293T细胞也被证明能够吸收抗CD47抗体并完全去除其干扰^[38]。但是这两种方法尚存在费时长和成本高的缺点，因此目前不作为输血科首选的应对方法。

4.2.3.3 ccdee表型细胞法

CD47抗原在不同表型红细胞中的表达水平有差异，在ccdee表型红细胞中表达水平最高，其次是ccDEE表型红细胞，Rhnull红细胞上CD47抗原表达很低^[5, 23]。由于ccdee表型红细胞的CD47抗原表达量最高，因此可以通过ccdee表型红细胞吸附处理抗CD47抗体去除干扰（附录三）。莫春研等人^[34]的研究表明，经过多轮的ccdee表型红细胞吸收后可以得到阴性的抗体筛查结果。但是该方法费时费力，同时会吸附患者血浆中可能存在的同种血型抗体导致漏检，因此该方法也不能作为输血科首选的应对方法。

4.2.3.4 红细胞表型分型和基因型分型法

对患者的红细胞表型和基因型进行分型，根据分型结果给予同型红细胞输注，可以有效避免抗CD47抗体对血清学对输血前相容性检测带来的干扰。两者略有不同，红细胞表型分型需在患者进行抗CD47抗体治疗前或在接受输血后 ≥ 3 个月进行检测。也可在输血早期通过毛细管离心进行表型检测。红细胞基因型分型可以在任何时间点对患者进行检测。红细胞基因型分型可以比表型检测提供更多更准确的信息，尤其是ABO和RhD血型系统意外的抗原，如RhC、c、E、e、Jk^a和Jk^b等^[33]。一旦明确了患者红细胞基因型分型结果，给患者提供基因型分型一致的红细胞可以免受抗CD47抗体的干扰。但由于基因型分型的检测时间较长，如患者需进行基因检测应尽早开展。

【推荐意见3】为去除抗CD47抗体药物带来的输血相容性检测干扰，根据不同类型的抗CD47抗体药物我们推荐不同的应对方式：①如果患者接受的抗CD47抗体药物存在抗独特型抗体时，使用抗独特型抗体去除干扰^[35]；②如果抗CD47抗体药物是IgG4型，使用乏IgG4抗人球试剂去除干扰^[26]；③如果抗CD47抗体药物不存在抗独特型抗体且抗体类型不是IgG4型时，使用过量的可溶性CD47抗原、Daudi细胞、CD47high 293T细胞和ccdee表型红细胞去除干扰或者使用红细胞基因型分型法进行红细胞匹配输注^[34, 36-38]。（强推荐）

表1 不同去除抗CD47抗体干扰方法比较

方法	原理	优点	缺点
抗独特型抗体法	其可中和抗CD47抗体可变区，使之无法与红细胞上的CD47分子结合	操作简单；不会漏检已存在于血清中的同种抗体	制备抗体价格昂贵，每种抗CD47抗体需要的抗独特型抗体不一样
乏IgG4抗球蛋白法	其不与IgG4型抗CD47抗体反应，因此在检测红细胞同种抗体时不受IgG4型抗CD47抗体干扰	操作简单；试剂获取简单；费用成本较低	不能去除IgG1型抗CD47抗体干扰；存在漏检罕见的IgG4型同种抗体可能
红细胞表型分型法	通过单克隆或多克隆抗体检测患者红细胞抗原谱	结果可储存，长期使用	表型分型需在接受抗CD47抗体治疗前且≥3个月未输血和DAT阴性进行；获得表型分型完全匹配的红细胞困难
红细胞基因型分型法	患者红细胞抗原基因型检测（测序法、PCR-SSP法等）	可以在治疗的任何时间进行；基因型分型结果更丰富全面；结果可储存，长期使用	国内暂未开展常规检测；费用昂贵；获得基因型分型完全匹配的红细胞困难
可溶性CD47抗原法	同“抗独特型抗体法”	操作简单；不会干扰已存在于血清中的同种抗体	费用昂贵；可溶性CD47抗原去除干扰能力较其他方法弱
高表达CD47细胞法	通过高表达CD47抗原的肿瘤细胞或293T细胞结合抗CD47抗体	操作简单；不会干扰已存在于血清中的同种抗体	试剂获取较困难；操作耗时长；费用昂贵
ccdee表型细胞法	通过高表达CD47抗原的人红细胞吸收抗CD47抗体	操作简单；试剂相对易获取	费时费力；存在漏检同种抗体可能

5 使用抗CD47抗体药物患者的输血策略

5.1 常规输血策略

在使用上述方法（表1，除红细胞表型和基因型分型法外）去除抗CD47抗体药物对输血相容性检测的干扰时均应同时进行阳性对照、阴性对照和空白对照试验。此外，有条件者可选择与患者常见血型抗原匹配的红细胞（除ABO和RhD血型系统外，抗原优先匹配顺序为：E>c>C>e>K>Jk^a>Jk^b>M>Mur（或Mi^a）>P1>Di^a>Le^a>Le^b>Fy^a>Fy^b>N>S>s>Di^b>k）进行交叉配血以及红细胞输注。对于患者在接受抗CD47抗体药物前已鉴定出的任何同种抗体，输注红细胞对应的抗原应呈阴性。

【推荐意见4】存在抗CD47抗体药物干扰输血相容性检测的患者，选择与其ABO/RhD同型红细胞进行输注，有条件者可以尽量选择与患者常见系统血型抗原匹配的红细胞（除ABO和RhD血型系统外，抗原优先匹配顺序为：E>c>C>e>K>Jk^a>Jk^b>M>Mur（或Mi^a）>P1>Di^a>Le^a>Le^b>Fy^a>Fy^b>N>S>s>Di^b>k）^[30-32]。（强推荐）

5.2 紧急输血

如果患者接受抗CD47抗体药物后ABO血型正反定型不符或者定型困难，且无既往血型结果时，抢救用血情况下，可以按紧急用血通用流程，输注O型红细胞悬液和或AB型非红制品（血小板、血浆和冷沉淀凝血因子）^[39]。在极其罕见的情况下，紧急输血可能导致已产生了红细胞同种抗体的患者发生ABO血型系统以外的溶血性输血反应，但往往是迟发性的。输

血过程中或输血后如果出现任何输血反应，应立即停止输血和（或）对症处理，并上报不良事件。

【推荐意见5】存在抗CD47抗体药物导致ABO血型正反定型不符或者定型困难且无既往血型结果的患者，经临床确认需输注血制品时，可以给患者紧急输注O型红细胞悬液和AB型非红制品^[39]。（强推荐）

6 结语

抗CD47抗体药物研发是当前治疗恶性肿瘤的热门新兴方向之一，其在血液恶性肿瘤和实体瘤的早期临床试验数据表明它们有望在未来得到更广泛的应用。新型抗CD47单克隆抗体和双特异性抗体药物可以更少地结合红细胞，因此可以最大限度地减少贫血以及干扰输血前相容性检测。

患者接受抗CD47抗体药物后通常会导致血红蛋白下降，因此输血仍然是该患者群体支持性治疗的重要组成部分。输血科需要与临床合作建立针对这些特定患者的用药前检测流程和方案，以便为这些患者提供及时、安全和有效的输血支持。

临床和输血科的紧密沟通、工作人员的专业知识、技术和操作是确保这些接受抗CD47抗体药物患者得到安全、及时、有效输血支持的关键。随着对抗CD47抗体药物经验的积累，对临床医生和输血科工作人员的持续教育和学习，以及临床与输血科间的紧密合作，都将进一步帮助我们理解和恰当地对这些患者进行输血管理。

附录一：抗独特型抗体法

I.原理与目的

抗独特型抗体一般为抗CD47抗体药物制造厂家制备的特异性针对抗CD47抗体的抗体。该抗体与抗CD47抗体药物的亲和力非常强,在血浆中可以与红细胞竞争结合血浆中游离的抗CD47抗体药物,从而减少红细胞上的抗CD47抗体。本附录的目的是描述如何使用抗独特型抗体来去除抗CD47抗体药物对输血前相容性检测的干扰。

II. 所需材料与试剂

抗独特型抗体、患者血浆、谱细胞、抗人球卡、其他耗材(10 mm×75 mm试管、EP管、一次性吸管)。

III. 所需设备

卡式离心机、孵育器、移液枪、离心机。

IV. 步骤

1. 使用抗独特型抗体与患者血浆按适当比例混合并孵育(按厂家说明书指导比例及孵育条件)。

2. 利用抗独特型抗体中和后的血浆和红细胞进行抗体筛查和交叉配血。

V. 注意

抗独特型抗体与患者血浆反应的比例及时间要恰当,需各输血实验室根据厂家指导说明书自行摸索最佳试验条件。试验同时需做阳性对照(患者血浆)、空白对照(生理盐水或抗独特型抗体稀释液)和阴性对照(正常人血浆)。

附录二: 乏IgG4抗球蛋白法

I. 原理与目的

某些抗CD47抗体药物是IgG4型抗体,对于这些抗CD47抗体可以利用非IgG4型抗人球蛋白试剂与空白微柱凝胶卡制备乏IgG4型抗球蛋白卡或者直接购买乏IgG4抗人球蛋白卡去除干扰。由于该卡片不含有IgG4型抗体,因此不与IgG4抗体致敏的红细胞反应。本附录的目的是描述如何制备并使用乏IgG4型抗人球蛋白试剂来去除抗CD47抗体药物对输血前相容性检测的干扰。

II. 所需材料与试剂

抗人球蛋白试剂(乏IgG4型)、空白微柱凝胶卡、乏IgG4抗人球蛋白卡、患者血浆、抗人球卡、谱细胞、其他耗材(10 mm×75 mm试管、EP管、一次性吸管)。

III. 所需设备

卡式离心机、孵育器、移液枪、离心机。

IV. 步骤

1. 在空白微柱凝胶卡加入10 μL乏IgG4型抗人球蛋白试剂,并在卡式离心机离心中以1 200 r/min离心

10 min。

2. 使用步骤1中的卡片或乏IgG4抗人球蛋白卡进行抗体筛查和交叉配血。

V. 注意

对于不同厂商的乏IgG4型抗体,加入空白微柱凝胶卡的抗体体积有所不同,需各输血实验室自行摸索最佳试验条件。试验同时须做阳性对照(如使用IgG类抗D抗体与RhD阳性红细胞进行交叉配血)、阴性对照(正常人血浆)和空白对照(空白微柱凝胶卡不加入乏IgG4型抗人球蛋白试剂)。

附录三: 可溶性CD47抗原法和高表达CD47细胞法

I. 原理与目的

过量的可溶性CD47抗原、Daudi细胞、CD47high 293T细胞和ccdee表型红细胞都能和红细胞竞争结合血浆中游离的CD47抗体。通过孵育和离心,可以去除抗CD47抗体对输血前相容性检测带来的干扰。因此本附录的目的是描述如何使用过量的可溶性CD47抗原、Daudi细胞、CD47high 293T细胞和ccdee表型红细胞来去除抗CD47抗体药物对输血前相容性检测的干扰。

II. 所需材料与试剂

可溶性CD47抗原、Daudi细胞、CD47high 293T细胞、ccdee表型红细胞、患者血浆、谱细胞、抗人球卡、其他耗材(10 mm×75 mm试管、EP管、一次性吸管)。

III. 所需设备

卡式离心机、孵育器、移液枪、震荡器、离心机

IV. 步骤

1. 将过量的可溶性CD47抗原、Daudi细胞、CD47high 293T细胞或ccdee表型红细胞与患者血浆混合,在37℃下孵育15 min,并周期性混匀

2. 离心5 min,吸取上层血浆

3. 按1的步骤重复5次处理,并收集上层血浆(某些吸附处理可不用重复处理,需自行摸索)

4. 将最后获取的上层血浆进行抗体筛查和交叉配血

V. 注意

不同剂量、浓度和数量的可溶性CD47抗原、Daudi细胞、CD47high 293T细胞和ccdee表型细胞去除抗CD47抗体药物的效果不同,如不确定效果时可加重剂量或者进行重复多次吸附处理,需各输血实验室自行摸索最佳试验条件。无论选择何种方法去除干扰时均需同时做阳性对照(患者血浆)、阴性对照(正常人血浆)和空白对照(患者血浆和CD47抗原

The flowchart is organized into two main horizontal sections: "使用抗CD47抗体前" (Before using anti-CD47 antibody) and "使用抗CD47抗体后" (After using anti-CD47 antibody), separated by a dashed line. The central vertical flow involves the "患者" (Patient), who decides on and receives anti-CD47 antibody therapy, and then needs a blood transfusion. The "临床医师" (Clinician) and "输血科" (Transfusion Department) have parallel processes before and after treatment. Before treatment, the clinician notifies the transfusion department for pre-transfusion testing, and the transfusion department performs baseline testing and records. After treatment, the clinician monitors the patient and notifies the transfusion department for compatibility testing. The transfusion department then performs compatibility testing, which may involve retesting, cross-matching, or special handling for severe cases. Both paths lead to the final outcome: "输血" (Transfusion).

```

graph TD
    subgraph Before_Treatment [使用抗CD47抗体前]
        direction TB
        C1[临床医师] --> C1_1[通知输血科/血库进行用药前输血相关检测]
        C1_1 --> C1_2[临床抽取患者标本，送达输血科/血库进行输血前相关检测（ABO及RhD血型，抗体筛查，抗凝阳性者进行抗体鉴定），有条件者通过血清学或分子生物学进行非ABO血型系统抗原分型，并保存记录]
        C1_2 --> C1_3[建立患者信息卡]
        
        P1[患者] --> P1_1[患者决定使用抗CD47抗体]
        P1_1 --> P1_2[患者接受抗CD47抗体治疗]
        
        T1[输血科] --> T1_1[对患者标本进行基线检查及抗体筛查（ABO及RhD血型，抗体筛查，抗凝阳性者进行抗体鉴定），并留存患者标本，有条件者通过血清学或分子生物学进行非ABO血型系统抗原分型，并保存记录]
        T1_1 --> T1_2[建立患者信息卡]
    end

    subgraph After_Treatment [使用抗CD47抗体后]
        direction TB
        C2[临床医师] --> C2_1[对患者进行定期随访，密切关注患者血液学指标]
        C2_1 --> C2_2[通知输血科/血库，告知用药史，并申请输血，获取患者特殊输血风险知情同意]
        C2_2 --> C2_3{ }
        C2_3 --> C2_4[不紧急]
        C2_3 --> C2_5[紧急（危及生命的出血/紧急输血）]
        C2_4 --> C2_6[在输血申请中，需标注已使用过抗CD47抗体，交与输血科进行配血]
        C2_5 --> C2_7[及时与输血科联系，并与护理人员沟通，确保患者及时输血]
        
        T2[输血科] --> T2_1[进行抗CD47抗体使用后的输血前相容性检测]
        T2_1 --> T2_2{ }
        T2_2 --> T2_3[不紧急]
        T2_2 --> T2_4[紧急（危及生命的出血/紧急输血）]
        T2_3 --> T2_5[ABO/RhD血型复检]
        T2_5 --> T2_6{ }
        T2_6 --> T2_7[血型一致]
        T2_6 --> T2_8[阴性]
        T2_7 --> T2_9[常规IAT]
        T2_8 --> T2_10[按照通常的机构协议进行]
        T2_9 --> T2_11{ }
        T2_11 --> T2_12[抗独特型抗体、IgG4抗球蛋白法、红细胞表面和基因型分型法、可溶性CD47抗原法或高表达CD47细胞法去除干扰后进行抗体筛查和/或交叉配血]
        T2_12 --> T2_13{ }
        T2_13 --> T2_14[阴性]
        T2_13 --> T2_15[阳性]
        T2_14 --> T2_16[可以认为不存在临床上认为有意义的抗体，但不能排除特定方法对某些抗原的影响，给予交叉配血相容的红细胞]
        T2_15 --> T2_17[提示有红细胞间种抗体存在，但不能排除特定方法对某些抗原的影响，特定的处理方法可能使特定的抗体/抗原变性，则选择与这些抗体/抗原相容的血液]
        T2_16 --> T2_18[确定发血]
        T2_17 --> T2_18
        T2_4 --> T2_19[存在抗CD47抗体药物导致ABO血型正反定型不符或者定型困难的患者，且无溯源的既往血型结果时，抢救用血情况下，可按紧急用血通用流程，输注O型红细胞悬液和或血型非红细胞（血小板、血浆和冷沉淀凝血因子）]
        T2_19 --> T2_18
    end

    C1_3 --> P1_2
    T1_2 --> P1_2
    P1_2 --> C2_1
    P1_2 --> T2_1
    C2_6 --> T2_1
    C2_7 --> T2_1
    T2_18 --> P1_3[输血]
    T2_19 --> P1_3
  
```

*具体根据机构协议执行或临床实际情况而定；†综合考虑患者病情、临床医生判定和输血科/血库交叉配血结果对患者进行输血

稀释液、细胞培养液或者生理盐水混合孵育，同步进行后续检测）。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献

宝燕（西安交通大学医学院第一附属医院）、王杰（山东省血液中心）、王琪（中国医科大学附属第一医院）、王学锋（上海交通大学医学院附属瑞金医院）、武云香（太原市血液中心（太原市输血技术研究所））、向东（上海市血液中心）、谢珏（浙江大学医学院附属第一医院）、尹文（空军军医大学第一附属医院）、张军（蚌埠医科大学第一附属医院）、张鹏宇（天津医科大学肿瘤医院）、张琦（复旦大学附属华山医院）、赵莲（军事医学研究院）、周小玉（南京医科大学第一附属医院（江苏省人民医院））、朱自严（上海市血液中心）、祝丽丽（贵州医科大学附属医院）、庄金木（南方医科大学深圳医院）。

- [1] LI B, CHAN H L, CHEN P P. Immune checkpoint inhibitors: basics and challenges[J]. *Curr Med Chem*, 2019, 26(17): 3009-3025.
- [2] LOGTENBERG M E W, SCHEEREN F A, SCHUMACHER T N. The CD47-SIRP α immune checkpoint[J]. *Immunity*, 2020, 52(5): 742-752.
- [3] WANG R J, ZHANG C, CAO Y T, et al. Blockade of dual immune checkpoint inhibitory signals with a CD47/PD-L1 bispecific antibody for cancer treatment[J]. *Theranostics*, 2023, 13(1): 148-160.
- [4] VELLIQUETTE R W, AESCHLIMANN J, KIRKEGAARD

- J, et al. Monoclonal anti-CD47 interference in red cell and platelet testing[J]. *Transfusion*, 2019, 59(2): 730-737.
- [5] OLDENBORG P A, ZHELEZNYAK A, FANG Y F, et al. Role of CD47 as a marker of self on red blood cells[J]. *Science*, 2000, 288(5473): 2051-2054.
- [6] CHAO M P, ALIZADEH A A, TANG C, et al. Anti-CD47 antibody synergizes with rituximab to promote phagocytosis and eradicate non-Hodgkin lymphoma[J]. *Cell*, 2010, 142(5): 699-713.
- [7] KIM D, WANG J, WILLINGHAM S B, et al. Anti-CD47 antibodies promote phagocytosis and inhibit the growth of human myeloma cells[J]. *LeukeMi^a*, 2012, 26(12): 2538-2545.
- [8] CHAO M P, ALIZADEH A A, TANG C, et al. Therapeutic antibody targeting of CD47 eliminates human acute lymphoblastic leukemia[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(4): 1374-1384.
- [9] PETROVA P S, VILLER N N, WONG M, et al. TTI-621(SIRPαFc): a CD47-blocking innate immune checkpoint inhibitor with broad antitumor activity and minimal erythrocyte binding[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(4): 1068-1079.
- [10] ADVANI R, FLINN I, POPPLEWELL L, et al. CD47 blockade by Hu5F9-G4 and rituximab in non-Hodgkin's lymphoma[J]. *N Engl J Med*, 2018, 379(18): 1711-1721.
- [11] 陈洁, 胡兴斌, 陈要臻, 等. 单克隆抗-CD47干扰输血前检测: 国内外临床试验案例分析[J]. *中国输血杂志*, 2021, 34(11): 1215-1218.
- [12] BERLIN J, HARB W, ADJEI A, et al. 385 A first-in-human study of lemparlimab, a differentiated anti-CD47 antibody, in subjects with relapsed/refractory malignancy: initial monotherapy results[J]. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 2020, 8: A410-A410.
- [13] WANG H F, ZHANG Q K, TENG Q L, et al. A Phase 1b Study Evaluating the Safety and Efficacy of AK117(anti-CD47 monoclonal antibody) in Combination with Azacitidine in Patients with Treatment-Naïve Acute Myeloid Leukemia[J]. *Blood*, 2023, 142: 4280.
- [14] Mi^aO M, TENG Q L, WU D P, et al. AK117(anti-CD47 monoclonal antibody) in combination with azacitidine for newly Diagnosed higher risk myelodysplastic syndrome(HR-MDS): AK117-103 phase 1b results[J]. *Blood*, 2023, 142: 1865.
- [15] YU J F, LI S, CHEN D Z, et al. SIRPα-Fc fusion protein IMM01 exhibits dual anti-tumor activities by targeting CD47/SIRPα signal pathway via blocking the “don't eat me” signal and activating the “eat me” signal[J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 167.
- [16] YANG W, GAO S J, YAN X J, et al. Latest results of a phase 2 study of IMM01 combined with azacitidine(AZA) as the first-line treatment in adults with higher risk myelodysplastic syndromes(MDS)[J]. *J Clin Oncol*, 2024, 42(16_suppl): 6510.
- [17] SONG Z B, TONG X, ZHANG Y, et al. IMM01 plus tislelizumab in patients with advanced solid tumors and lymphoma: an open-label, multicenter, phase 1b/2 dose escalation and expansion study(IMM01-04)[J]. *J Clin Oncol*, 2023, 41(16_suppl): 2600.
- [18] YU J F, LI S, CHEN D Z, et al. IMM0306, a fusion protein of CD20 MAb with the CD47 binding domain of SIRPα, exerts excellent cancer killing efficacy by activating both macrophages and NK cells via blockade of CD47-SIRPα interaction and FcγR engagement by simultaneously binding to CD47 and CD20 of B cells[J]. *LeukeMi^a*, 2023, 37(3): 695-698.
- [19] CHAUCHET X, CONS L, CHATEL L, et al. CD47xCD19 bispecific antibody triggers recruitment and activation of innate immune effector cells in a B-cell lymphoma xenograft model[J]. *Exp Hematol Oncol*, 2022, 11(1): 26.
- [20] UPTON R, BANUELOS A, FENG D D, et al. Combining CD47 blockade with trastuzumab eliminates HER2-positive breast cancer cells and overcomes trastuzumab tolerance[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118(29): e2026849118.
- [21] QU T L, ZHONG T T, PANG X H, et al. Ligufalimab, a novel anti-CD47 antibody with no hemagglutination demonstrates both monotherapy and combo antitumor activity[J]. *J Immunother Cancer*, 2022, 10(11): e005517.
- [22] LIU Z R, CHEN H Y, TAN N, et al. Anti-CD47 antibody enhances the efficacy of chemotherapy in patients with gastric cancer liver metastasis[J]. *J Cancer*, 2023, 14(3): 350-359.
- [23] DAHL K N, WESTHOFF C M, DISCHER D E. Fractional attachment of CD47(IAP) to the erythrocyte cytoskeleton and visual colocalization with Rh protein complexes[J]. *Blood*, 2003, 101(3): 1194-1199.
- [24] REINHOLD M I, LINDBERG F P, PLAS D, et al. In vivo expression of alternatively spliced forms of integrin-associated protein(CD47)[J]. *J Cell Sci*, 1995, 108(Pt 11): 3419-3425.
- [25] BRIERLEY C K, STAVES J, ROBERTS C, et al. The effects of monoclonal anti-CD47 on RBCs, compatibility testing, and transfusion requirements in refractory acute myeloid leukemia[J]. *Transfusion*, 2019, 59(7): 2248-2254.

- [26] 吕依扬,孔文兵,陈晓钢,等.抗-CD47单抗对输血相容性检测的干扰及处理[J].中国输血杂志,2023,36(3):238-241.
- [27] 糜坚青,蔡晓红,王少元,等.CD38单克隆抗体对输血相容性检测干扰及其应对方案的专家共识[J].中国输血杂志,2021,34(4):327-334.
- [28] JIANG Z X,SUN H,YU J F,et al.Targeting CD47 for cancer immunotherapy[J].J Hematol Oncol,2021,14(1):180.
- [29] MURPHY M F,RAJBHANDARY S,CARAYIANNIS S,et al.How do transfusion services manage patients taking therapies such as anti-CD38 and anti-CD47 known to interfere with red blood cell compatibility testing?[J].Transfusion,2024,64(7):1217-1222.
- [30] 马春娅,李小飞,于洋,等.红细胞意外抗体筛查与鉴定抗原谱构成中国专家共识[J].临床输血与检验,2024,26(2):156-163.
- [31] 中华预防医学会血液安全专业委员会红细胞血型意外抗体筛查专家共识编写组.红细胞血型意外抗体筛查专家共识[J].中国输血杂志,2024,37(4):369-376.
- [32] 李小飞,马春娅,蔡晓红,等.红细胞血型抗原拓展匹配适用范围中国专家共识[J].临床输血与检验,2024,26(3):289-298.
- [33] WESTHOFF C M.Blood group genotyping[J].Blood,2019,133(17):1814-1820.
- [34] 莫春妍,岑雨贞,王贞,等.抗-CD47单克隆抗体对输血前检测试验的干扰及处理措施——附1例报告[J].中国输血杂志,2021,34(3):290-292.
- [35] 李鹏,房阔,张警丹,等.抗独特型抗体在CD47单抗治疗患者抗体筛查和配血中的应用[J].中国输血杂志,2024,37(4):392-398.
- [36] KIM T Y,YOON M S,HUSTINX H,et al.Assessing and mitigating the interference of ALX148,a novel CD47 blocking agent,in pretransfusion compatibility testing[J].Transfusion,2020,60(10):2399-2407.
- [37] WEI H,CUI Y,REN D X,et al.Pretreatment with Daudi cells eliminates anti-CD47 monoclonal antibody interference in immunohematology testing[J].Trasfusione Del Sangue,2024,22(1):20-29.
- [38] WANG F,WANG W T,WU X S,et al.Depletion of anti-CD47mAb in plasma by genetically modified cells for pre-transfusion testing[J].Genes Dis,2024,11(5):101104.
- [39] 中国医师协会输血科医师分会,中华医学会临床输血学分会.特殊情况紧急抢救输血推荐方案[J].中国输血杂志,2014,27(1):1-3.

(收稿日期:2024-10-19)

(本文编辑:曹媛)