บทความพิเศษ

Cord Blood Bank in Thailand

รัชนี โอเจริญ

ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ

Cord blood หรือเลือดจากรก คือเลือดที่เจาะเก็บได้จาก umbilical vein ของสายรกภายหลังการคลอดของเด็ก umbilical cord blood (UCB) ที่เจาะเก็บได้นี้ จะถูกตรวจสอบคุณภาพตามมาตรฐานที่กำหนด รวมทั้ง HLA และผ่านขบวนการเก็บแช่แข็ง cord blood ทุกยูนิตที่มีคุณสมบัติตามมาตรฐานจะถูกเก็บแช่แข็งไว้ในถังไนโตรเจนเหลว (liquid N2) ซึ่งมีอุณหภูมิประมาณ -196° ซ. cord blood อาจถูกเก็บใน liquid phase หรือ vapor phase ของถัง liquid N2 ซึ่งสามารถเก็บไว้ได้เป็นระยะนานหลายปี และพร้อมที่จะแจกจ่ายไปให้กับผู้ป่วย การเก็บ cord blood ไว้เป็นจำนวนหลายๆ ยูนิตนี้ จึงมีสภาพเป็น cord blood bank

ผลสำเร็จของการใช้ UCB จาก HLA-matched sibling donor ในการรักษาผู้ป่วยเด็ก ซึ่งป่วยเป็นโรค Fanconi anemia ได้ถูกรายงานโดย Gluckman และคณะ ในปี ค.ศ. 1989[1] สองสามปีต่อมา Kurtzberg และคณะ ได้รายงานผลสำเร็จของการใช้ unrelated UCB ในการรักษาผู้ป่วย[2] ทำให้หน่วยงานต่างๆ ทั่วโลกได้ให้ความสนใจกับการใช้ UCB ในการรักษาผู้ป่วยเพิ่มมากขึ้นอย่างมาก ประสบการณ์การใช้ UCB เป็น source ของ stem cell ในการทำ stem cell transplantation แทนการใช้ stem cell จากไขกระดูก (bone marrow) หรือ peripheral blood stem cell (PBSC) จาก unrelated donor ทำให้สามารถสรุปได้ว่า cord blood bank มีข้อดีกว่า unrelated donor registry อยู่หลายประการ[3] อาทิเช่น

1. UCB สามารถเจาะเก็บมาเก็บไว้และนำมาใช้ได้โดยไม่เกิดผลกระทบต่อมารดา และบุตร ซึ่งถ้าไม่เจาะเก็บ UCB ไว้ ทั้งรกและ UCB นั้นก็ถูกนำไปทำลายทิ้ง
2. สามารถเลือกเก็บให้ได้ความสมดุลของ ethnic group ต่างๆ หรือ เก็บไว้เฉพาะ UCB ที่มี HLA ที่ต้องการ
3. โรคติดเชื้อบางชนิด เช่น CMV พบได้น้อยกว่าในเด็กแรกคลอด
4. มีอยู่ใน bank พร้อมที่จะแจกจ่ายให้ผู้ป่วยใช้ได้ทันทีที่ต้องการ โดยไม่ต้องรอการตาม unrelated donor ที่ลงทะเบียนไว้
5. frozen UCB สามารถจัดส่งไปยัง transplant center ได้สะดวกกว่า เมื่อเทียบกับการเจาะเก็บไขกระดูกหรือ PBSC ซึ่งจะต้องจัดส่งโดยไม่ได้แช่แข็ง และต้องการการประสานงานอย่างดีระหว่างผู้เกี่ยวข้อง

UCB ที่เก็บแช่แข็งไว้ อาจแบ่งตามวัตถุประสงค์ของการนำไปใช้ดังนี้

1. Autologous Cord Blood

คือ umbilical cord blood ที่เก็บแช่แข็งไว้ เพื่อใช้เฉพาะกับเด็กเจ้าของ UCB เท่านั้น ส่วนใหญ่จะเป็นการดำเนินการของบริษัทเอกชน (Private Cord Blood Bank) ซึ่งจะเก็บค่าบริการในการเก็บ ค่าแช่แข็งในเบื้องต้นและค่า maintenance เป็นรายปี จากการประชุมของคณะกรรมการบริหารของ World Marrow Donor Association (WMDA) ซึ่งได้สรุปและประกาศ

ได้รับต้นฉบับ 7 กันยายน 2549 ให้ลงตีพิมพ์ 21 กันยายน 2549
ต้องการสำเนาต้นฉบับกรุณาติดต่อ พญ.รัชนี โอเจริญ ผู้อำนวยการศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

ไว้ใน WMDA Policy Statement เมื่อ 25 พฤษภาคม 2006 ว่า โอกาสที่ autologous blood unit จะถูกนำไปใช้เพื่อ autologous transplantation นั้น มีน้อยมาก และในปัจจุบันก็ยังไม่มีการพิสูจน์ที่ชัดเจนว่า UCB จะสามารถนำไปใช้ใน regenerative medicine หรือรักษาโรคอื่นๆ ได้ในอนาคต และรัฐไม่ควรสนับสนุน หรือให้งบประมาณในการจัดเก็บ autologous หรือ related cord blood ถ้าไม่มี medical indication ที่ชัดเจน

2. Related หรือ Sibling Cord Blood

คือ UCB ที่เก็บไว้จากเด็กแรกคลอด ซึ่งเป็นน้องของผู้ป่วย เช่นผู้ป่วยธาลัสซีเมีย เมื่อครอบครัวใดครอบครัวหนึ่งมีบุตรซึ่งเป็นธาลัสซีเมียและควรจะได้รับการรักษาด้วย stem cell transplant แพทย์จะตรวจ HLA ของพี่น้องของผู้ป่วยเพื่อหาผู้บริจาค stem cell ที่มี HLA ตรงกันกับผู้ป่วย หากไม่มีพี่น้องหรือมีแต่ HLA ไม่ตรงกัน บางครอบครัวอาจตั้งใจที่จะมีบุตร หากโชคดีบุตรในท้องไม่เป็นโรคธาลัสซีเมียหรือเป็นธาลัสซีเมียแฝง และตรวจแล้วว่า HLA ตรงกันกับผู้ป่วย ทีมแพทย์จะได้วางแผนในการเก็บ cord blood หลังเด็กคลอดทันที และเก็บแช่แข็งไว้ระยะหนึ่งจนกว่าจะนำไปใช้ปลูกถ่ายให้พี่

3. Unrelated Cord Blood

คือ UCB ที่เจาะเก็บจากสายรกของเด็กซึ่งมารดาได้แสดงความจำนงที่จะบริจาค cord blood ดังกล่าวให้หน่วยงานที่ได้รับมอบหมายนำไปใช้รักษาผู้ป่วยที่มี HLA เข้ากันได้ สำหรับประเทศไทย แพทยสภาได้มอบหมายให้ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทยเป็นหน่วยงานหลักในการจัดตั้ง Unrelated Stem Cell Registry Programme และ unrelated cord blood bank[4] ศูนย์บริการโลหิตฯ ได้ขอความร่วมมือจากโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ในการขอบริจาค cord blood จากหญิงตั้งครรภ์ไว้ล่วงหน้า เมื่อถึงวันคลอดจะมีเจ้าหน้าที่ไปเก็บ cord blood หลังเด็กคลอดทันที นำมาเก็บแช่แข็ง พร้อมทั้งส่งตัวอย่างตรวจทางห้องปฏิบัติการ รวมถึง HLA ซึ่งจะเก็บข้อมูล HLA ไว้ในโปรแกรม (software) ซึ่งมีระบบการ search หา cord blood ที่มี HLA ตรงกันกับผู้ป่วย ซึ่งหากผลการตรวจยืนยันทุกอย่างตรงกันและเหมาะสม ทางศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ จะได้จัดส่ง cord blood นั้นไปยังโรงพยาบาลตามวัน เวลา ที่กำหนดไว้ต่อไป

เทคนิคการเจาะเก็บ cord blood

เทคนิคพื้นฐานในการเก็บ cord blood

1. ต้องเก็บโดย sterile technic
2. เก็บ cord blood ให้ได้จำนวนมากที่สุดและไม่เกิดก้อน clot
3. เป็น cord blood ของเด็ก ไม่มี contamination จากเลือดของมารดา

เทคนิคการเก็บ cord blood แบ่งตามลักษณะการคลอดเป็นได้ 2 แบบ คือ เก็บ cord blood จากการคลอดปกติ (normal vaginal delivery) และการเก็บ cord blood จากการผ่าตัดเด็กคลอดทางหน้าท้อง (cesarean section) นอกจากนั้นยังอาจแบ่งเทคนิคการเก็บ cord blood จากการคลอดปกติเป็นอีก 2 แบบ คือ เก็บในขณะที่รกยังไม่คลอด และยังอยู่ในมดลูก (intra utero collection) อีกแบบหนึ่งคือหลังจากรกคลอดแล้ว เจ้าหน้าที่ที่ได้รับการฝึกอบรมวิธีการเก็บจะรีบนำรกที่คลอดแล้วไปหุ้มห่อด้วยผ้าที่ sterile (plastic-line, absorbent cotton pad) ซึ่งรกที่ห่อหุ้มด้วยผ้าที่สะอาดนี้จะถูกวางให้สูงด้วยขาตั้งเหล็ก ผ้า sterile นี้จะเจาะช่องตรงกลางเพื่อปล่อยให้สาย cord ห้อยลงผ่านช่อง (Hanging technic)[5] เจ้าหน้าที่จะใช้ถุงเจาะเลือดซึ่งมีน้ำยา CPD ประมาณ 23 มิลลิลิตรเพื่อเจาะ cord blood โดยอาศัยหลักของ gravity ซึ่งมักได้ประมาณ 100-150 มิลลิลิตร เจ้าหน้าที่จะเก็บ cord blood จะเจาะเข้าที่ umbilical vein จากปลายสุดของสายรก และเจาะไล่ขึ้นข้างบนไปเรื่อยๆ จนกว่าจะไม่ได้เลือดจากการเจาะ

Cord blood จะนำมาใช้ประโยชน์ได้ และนำไปเก็บแช่แข็งต่อไป ต้องได้คุณภาพตามมาตรฐาน ดังต่อไปนี้[6]

1. จำนวนไม่น้อยกว่า 50 มิลลิลิตร
2. Total white blood cell (WBC) ต้องไม่น้อยกว่า $4x10^8$ cells

3. Sterile ไม่พบ bacteria หรือ fungus

เทคนิคการเก็บแช่แข็ง[7]

เทคนิคใหม่ที่ใช้ Automatic Cell Separation SEPAX-100

1. แยก mononuclear cell ออกจาก whole blood ที่เจาะเก็บได้โดยการปั่นแยก และเพื่อช่วยให้เม็ดเลือดแดงที่ปะปนอยู่ตกตะกอนได้ดี เติมสาร Hydroxy Ethyl Starch (HES)

2. Transfer UCB จากถุงเก็บไปยังถุงแยกที่ใช้กับเครื่อง automated cell separator (Biosafe) โดย sterile technic หลังจากนั้นเริ่มขบวนการแยกโดย stem cell จะถูกแยกเก็บในถุง ซึ่งเป็น freezing bag ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

3. เติม 10% DMSO 5 มิลลิลิตร ลงใน freezing bag โดยใช้ syring pump ผสมน้ำยา DMSO ให้เข้ากับ mononuclear cell ในภาชนะที่มีน้ำแข็งเพื่อป้องกันอุณหภูมิในถุงให้สูงขึ้น

4. นำถุงเก็บในตลับทำด้วยอลูมิเนียมหรือ stainless (canister) เพื่อรักษาถุง freezing bag ให้แบนราบเสมอกัน และป้องกันการกระทบกระเทือนต่อ freezing bag

5. นำ canister ไปใส่ในเครื่อง contral rate freezer ซึ่งจะค่อยๆ ลดอุณหภูมิลงจาก 1-2 องศาเซลเซียส/นาที ในช่วงอุณหภูมิ 4 °ซ. ถึง 40 °ซ. และ 10 °ซ./นาที จนถึง -90 °ซ.

6. นำ canister ไม่เก็บแช่แข็งต่อในถัง liquid N_2 ตามตำแหน่งที่กำหนด

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

ตัวอย่างของ cord blood จะนำไปตรวจทางห้องปฏิบัติการดังนี้

1. Complete blood count (CBC), differential count และคำนวณ total WBC และ total mononuclear cell

2. ตรวจหาจำนวน total CD34

3. ตรวจ infectious markers คือ HBsAg, anti HIV, anti HCV โดยทาง serology ตรวจ HIV/HCV/HBV โดยเทคนิค NAT, ตรวจ CMV IgG และ CMV IgM

4. ตรวจหาการปนเปื้อน bacteria หรือ fungus

5. ตรวจ HLA class I หรือ class I/II โดยเทคนิค DNA PCR-SSO

ผลการตรวจ HLA และข้อมูลอื่นๆ ของ cord blood ที่เก็บได้โดยเฉพาะ unrelated cord blood จะถูกเก็บไว้ในคอมพิวเตอร์ซึ่งมี software ที่สามารถที่จะตรวจสอบหา (search) HLA class I หรือ HLA class I/II ที่ตรงกันระหว่าง HLA ของผู้ป่วยและ cord blood

ข้อดีของ cord blood เมื่อเทียบกับ stem cell ที่เจาะเก็บจากไขกระดูก (bone marrow) หรือ PBSC คือ สามารถนำไปปลูกถ่ายให้ผู้ป่วยได้สำเร็จโดยไม่จำเป็นต้องมี HLA class I และ class II ตรงกันทุกตัว จากการศึกษาต่างๆ พบว่า HLA ตรงกัน 5/6 หรือ 4/6 ก็สามารถใช้ได้[8]

นอกจากนั้น cord blood ยังมีเก็บอยู่แล้วใน cord blood bank ซึ่งพร้อมที่จะแจกจ่ายให้ผู้ป่วยที่เหมาะสมได้ทันทีที่ต้องการ ต่างจาก stem cell ที่เจาะเก็บจาก unrelated donor ที่เป็นผู้ใหญ่ ซึ่งอาจมีปัญหาหรือใช้เวลาในการติดตามผู้บริจาค ผู้บริจาคที่เคยสมัครไว้อาจเปลี่ยนใจไม่บริจาค หรือไม่สะดวกที่จะบริจาคตามกำหนดที่แพทย์ผู้รักษาต้องการ

สถานการณ์ของ cord blood bank ที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย (updated จนถึง 30 กันยายน 2549)

1. Autologous cord blood จำนวน 120 คน ใช้ปลูกถ่ายผู้ป่วยไปแล้ว 0 คน

2. Related cord blood จำนวน 26 คน ใช้ปลูกถ่ายผู้ป่วยไปแล้ว 8 คน

3. Unrelated cord blood จำนวน 275 คน ใช้ปลูกถ่ายผู้ป่วยไปแล้ว 7 คน

ตารางที่ 1 Transplanted patients with related cord blood

Recipient				Stem cell		HAL Match	Donor HLA			Recipient HLA			Total		
No.	Gender	Age	โรค	Type	Source	Allele	A1,2	B1,2	DR1,2	A1,2	B1,2	DR1,2	Weight kg	WBC x 10^8	CD34 x 10^6
1	M	2	ALL	CB	Related	6	11,30	13,35	04,07	3001,1101	3501,1302	0701,0406		10.29	4.73
2	M	12	Adencleucodystrophy	CB	Related	6	02,30	13,58	03,12	02,33	13,58	0301,1202		5.10	6.10
3	M	6	Thalassemia	CB	Related	6	01,02	62,57	07,14	01,02	62,57	07,14		14.90	5.00
4	M	3	Thalassemia	CB	Related	6	11	1501,5201	04,15	11	1501,5201	04,15		11.10	0.44
5	M	<5	Thalassemia	CB	Related	5	2,24	61,46	7,14	2,24	61,46	14,14	28	15.90	5.88
6	M	1	Thalassemia	CB	Related	6	*0203,*68	*1564,*52	*15,*15	*0203,*68	*1564,*52	*15,*15		15.66	8.30
7	M	6	Thalassemia	CB	Related	6	2	35,40	15	2,40	40,35	15		14.44	3.90

ตารางที่ 2 Transplanted patients with unrelated cord blood

Recipient				HAL Match	Donor HLA			Recipient HLA			Dose/kg		
No.	Gender	Age	โรค	Allele	A1,2	B1,2	DR1,2	A1,2	B1,2	DR1,2	Weight kg	WBC x 10^8	CD34 x 10^6
1	M	P	Wishott-Aldmich	5	0203,33	46,58	0301,1207	0207,33	46,58	0301,1207	6	4.20	5.30
2	F	P	β Thalassemia HbE	6	0207,2407	3505,46	0901,1202	0207,2407	3505,46	0901,1202	24	0.47	0.32
3	M	P	β Thalassemia HbE	5	0201,1101	46,4001	0901,1602	0201,1101	3901,4001	0901,1602	10	0.74	0.30
4	F	P	Severe Aplastic Anemia	4	01,02	1502,38	18,15	0201,0203	1502,3802	1602,1202	55	0.28	0.11
5	M	P	ALL	5	1101,3001	3802/08,1302	1502/14, 0701/08	0201,3001	3802/08, 1302	1502/14, 0701/08	30	0.45	0.10
6	F	P	Diamond Blacktan Syndro	5	1101,2402	2704,1502	1101,1202	11,24	2704,1502	1405,1202	10	0.38	0.18

p = pediatric patient

เอกสารอ้างอิง

1. *Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, et al. Hematopoietic reconstruction in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. N Engl J Med 1989; 321:1174-8.*
2. *Kurtgberg J, Langhlin M, Graham ML, et al. Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients. N Engl J Med 1996;335:157-66.*
3. *Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G, et al. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. Proc Natl Acad Sci 1989;86:3828-32.*
4. *ข้อบังคับแพทยสภาว่าด้วยการรักษาจริยธรรมแห่งวิชาชีพเวชกรรม (ฉบับที่ 6) พ.ศ.2545. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป; เล่ม 119 ตอนที่ 42ง (23 พฤษภาคม 2545):52-6.*
5. *Rubinstein P, Dobrila L, Rosenfield RE, et al. Processing and cryopreservation and cryopreservation of placenta/umbilical cord blood for unrelated bone marrow reconstitution. Proc Natl Acad Sci 1955;92: 10119-122.*
6. *Gluckman E, Rocha V, Arcese W, et al. Factors associated with outcome of unrelated cord blood transplant : guidelines for donor choice. Exp Hematol 2004;32:397-407.*
7. *Armitage S, Warwick R, Fehily D, Navarrete C, Contreras M. Cord blood banking in London:the first 1000 collections. Bone Marrow Transplant 1999;24: 139-45.*
8. *Barker JN, Weisdorf DJ, De For TE, et al. Transplantation of 2 partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy. Blood 2005;105:1343-7.*