

นิพนธ์ต้นฉบับ

Major histocompatibility complex class I-related chain A allele mismatching ในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตที่มีการปฏิเสธอวัยวะ

จิตภินันท์ ลุนทรนิพัทธ์¹ ชาญวิทย์ ลีลาวัฒน์^{2,3} จิตรานนท์ จันทร์อ่อน⁴ อมรรัตน์ ร่มพฤษ^{2,5} และ ปิยะพงษ์ สิมทอง^{2,3}

¹สาขาวิชาชีวเวชศาสตร์ คณะบัณฑิตวิทยาลัย ²ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์

³กลุ่มวิชามิคุ้มกันวิทยาคลินิกและวิทยาศาสตร์การบริการโลหิต คณะเทคนิคการแพทย์ ⁴ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ ⁵คลังเลือดกลาง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทคัดย่อ

บทนำ การปลูกถ่ายอวัยวะจะพิจารณาความเข้ากันได้ของแอนติเจน HLA เพื่อป้องกันการเกิดการปฏิเสธอวัยวะ อย่างไรก็ตามยังมีระบบแอนติเจนชนิดอื่น เช่น แอนติเจนชนิด major histocompatibility complex (MHC) class I-related chain A (MICA) ที่นำไปสู่การเกิดการปฏิเสธอวัยวะได้เช่นกัน **วัตถุประสงค์** เพื่อศึกษาความถี่ของการเกิดความไม่เข้ากันของแอนติเจน MICA ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตที่มีการปฏิเสธไตจากแอนติบอดี **วัสดุและวิธีการ** ตรวจสอบอัลลีลของ MICA ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตที่มีการปฏิเสธไตจากแอนติบอดีและคู่ผู้บริจาคจำนวน 93 คู่ ด้วยเทคนิค polymerase chain reaction with sequence specific primers (PCR-SSP) **ผลการศึกษา** ตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 93 คู่ พบ 68 คู่ (ร้อยละ 73) ที่มีผลแอนติเจน MICA ไม่ตรงกันระหว่างผู้ป่วยกับผู้บริจาค (MICA mismatched) โดยพบความถี่ของ MICA mismatched สูงที่สุดคือ MICA*008/027 (ร้อยละ 26.47) และผลการศึกษาความถี่ของอัลลีล MICA ทั้งในกลุ่มผู้ป่วยและผู้บริจาคไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยอัลลีลที่พบสูงสุดคือ MICA*008/027, 010, 002/020 **สรุป** การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกที่รายงานความถี่การเกิด MICA mismatched ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตชาวไทยที่มีการปฏิเสธไตจากแอนติบอดีและคู่ผู้บริจาค โดยพบความถี่ของการเกิด MICA mismatched ในผู้ป่วยได้สูง ซึ่งควรให้ความสำคัญเพราะอาจนำไปสู่ภาวะปฏิเสธอวัยวะจากแอนติบอดีในอนาคต

คำสำคัญ : ● การปฏิเสธอวัยวะ ● การตรวจหาแอนติบอดี ● การปลูกถ่ายไต

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต. 2563;30:255-61.

ได้รับต้นฉบับ 15 เมษายน 2563 แก้ไขบทความ 26 เมษายน 2563 รับลงตีพิมพ์ 14 พฤษภาคม 2563

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ ดร. ปิยะพงษ์ สิมทอง กลุ่มวิชามิคุ้มกันวิทยาคลินิกและวิทยาศาสตร์การบริการโลหิต คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002 Email: piyasi@kku.ac.th

Original article**Major histocompatibility complex class I-related chain A allele mismatching in organ rejection after renal transplant**

Jidpinan Suntornnipat¹, Chanvit Leelayuwat^{2,3}, Chitranon Chan-on⁴, Amornrat V Romphruk^{2,5} and Piyapong Simtong^{2,3}

¹Biomedical Sciences Program, Faculty of Graduate School; ²Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories, Faculty of Associated Medical Sciences; ³Department of Clinical Immunology and Transfusion Sciences, Faculty of Associated Medical Sciences; ⁴Internal Medicine Department, Faculty of Medicine; ⁵Blood Transfusion Center, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

Abstract:

Introduction: In organ transplantation, the human leukocyte antigen system is considered to be essential for matching to prevent graft rejection. However, other antigens such as the major histocompatibility complex (MHC) class I-related chain A (MICA) antigens can also lead to graft rejection. **Objective:** This study aimed to investigate the frequency of MICA mismatched in kidney transplant patients with antibody mediated rejection (KT-AMR).

Materials and methods: MICA alleles typing of 93 pairs of recipients with AMR and the corresponding donors were performed by polymerase chain reaction with sequence-specific primer (PCR-SSP). **Results:** Of the 93 pairs, 68 (73%) pairs were MICA mismatched and the most allele frequency of MICA mismatched was MICA*008/027 (26.47%). There was no statistically significant of MICA allele frequency between patient and donor (p -value > 0.05). The most common of MICA alleles in our study was MICA*008/027, 010, 002/020. **Conclusion:** This is the first study that reported the frequencies of MICA mismatched among Thais KT-AMR. Our data provide evidence that MICA mismatched in KT-AMR is high and should be remarkable that may lead to AMR in the future.

Keywords : ● Graft rejection ● Antibody mediated rejection ● Kidney transplant

J Hematol Transfus Med. 2020;30:255-61.

บทนำ

การปลูกถ่ายไตเป็นวิธีการรักษาสำหรับผู้ป่วยโรคไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายที่ให้ผลดีที่สุด เนื่องจากผู้ป่วยจะกลับมาใช้ชีวิตที่สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพส่งผลให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น และสามารถกลับมาใช้ชีวิตได้เหมือนคนปกติ อย่างไรก็ตามการปลูกถ่ายไตให้ประสบผลสำเร็จนั้นหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องทั้งจากผู้ป่วย อวัยวะจากผู้บริจาครวมทั้งวิธีการทดสอบจากห้องปฏิบัติการตรวจทางเนื้อเยื่อหรือ human leukocyte antigen (HLA) ทั้งนี้ความแตกต่าง (mismatched) ของแอนติเจน HLA ระหว่างเนื้อเยื่อของผู้ป่วยและผู้บริจาค เป็นปัจจัยที่ส่งผลให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันทำให้ไตนั้นถูกทำลาย และนำไปสู่การปฏิเสธไตในที่สุด¹ ปัจจุบันสาเหตุหลักของการเกิดการปฏิเสธอวัยวะ เกิดจากการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันด้านแอนติบอดี (antibody mediated rejection; AMR)² โดยเฉพาะการสร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจน HLA ที่ตรงกับแอนติเจนของผู้บริจาค (donor specific antibodies; DSA)

แอนติเจน HLA เป็นชนิดไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ที่พบการแสดงออกบนผิวเซลล์เม็ดเลือดขาวและเนื้อเยื่ออื่นๆ ถูกควบคุมการสร้างโดยกลุ่มยีน major histocompatibility complex (MHC) HLA มีบทบาทสำคัญเกี่ยวกับการนำเสนอเปปไทด์ของสิ่งแปลกปลอมให้กับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายผ่าน T cells จึงทำให้แอนติเจน HLA มีบทบาทสำคัญในการปลูกถ่ายอวัยวะ ดังนั้นการคัดเลือกแอนติเจน HLA ระหว่างผู้ให้กับผู้รับที่เหมือนกันมากที่สุด (HLA identical) จึงเป็นเกณฑ์พิจารณาในการจัดสรรไตให้กับผู้ป่วย เพื่อช่วยลดโอกาสที่จะเกิดการปฏิเสธอวัยวะ (graft rejection)² สำหรับการปลูกถ่ายไตผู้รับไตบริจาคจะได้รับการตรวจสอบความเข้ากันได้ของหมู่เลือด ABO/Rh, ทดสอบหาชนิดและความเข้ากันได้ของเนื้อเยื่อ (HLA crossmatching) และการตรวจหาแอนติบอดีต่อแอนติเจน HLA (panel reactive antibody; PRA)³ อย่างไรก็ตามแม้ว่าผู้รับอวัยวะและผู้บริจาคอวัยวะจะมีผลของ HLA identical ก็ไม่สามารถยืนยันได้ว่าหลังการปลูกถ่ายผู้ป่วยจะไม่เกิดการปฏิเสธอวัยวะแบบ AMR ซึ่งจากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า การเกิด graft rejection ไม่ได้เกิดจากการสร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจน HLA อย่างเดียวเท่านั้น ยังมีแอนติบอดีชนิดอื่นที่เป็นสาเหตุของการเกิด AMR อีกด้วย^{4,5}

The major histocompatibility complex class I-related chain A (MICA) เป็นแอนติเจนชนิด glycoprotein ถอดรหัสพันธุกรรมได้จากยีน MICA หรือ PERB11.1 ณ ตำแหน่ง โครโมโซมที่ 6 p21.3 ใกล้กับ HLA-B ประมาณ 46.4 kilobase มีกรด

อะมิโน 383 ชนิด ซึ่งโมเลกุลนี้มีขนาด 42,915 ดัลตัน โปรตีนประกอบด้วยโดเมนของสาย α chain ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$) ถูกควบคุมโดย exon 2, 3 และ 4 ส่วนเยื่อหุ้มเซลล์ (transmembrane domain) ถูกควบคุมโดย exon 5 และส่วน carboxy terminal cytoplasmic tail ถูกควบคุมโดย exon 6 ปัจจุบันมี 107 อัลลีลและโปรตีน 87 ชนิด⁶ จากการศึกษาของ Romphruk, et al⁷ พบว่าอัลลีล MICA ที่พบได้บ่อยในคนไทยภาคตะวันออกเฉียงเหนือคือ MICA*002, MICA*008, MICA*010, และ MICA*019 แอนติเจน MICA พบการแสดงออกอยู่บน endothelial cells, epithelial cells, dendritic cells, fibroblasts, gastrointestinal tract, keratinocytes ยกเว้นระยะพัก (resting state) ของ T และ B cells⁸ แอนติเจนชนิดนี้สามารถถูกกระตุ้นภายในภาวะเครียด ได้แก่ โรคแพ้ภูมิคุ้มกันตัวเอง (autoimmune diseases) เกิดความเสียหายของ DNA (DNA damage) การบาดเจ็บจากภาวะขาดเลือด (ischemia reperfusion injury) การติดเชื้อไวรัส (viral infections) และการอักเสบ (inflammation)⁹

MICA มีความสำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกัน เนื่องจากเป็น ligand ของ activating C-type lectin-like (NKG2D) receptor แสดงออกบน NK cells, $\gamma\delta$ T cells และ CD8+ $\alpha\beta$ T cells ทำให้เกิดการตอบสนองของ NK cell, T-lymphocyte และการหลั่ง cytokine¹⁰ จากการศึกษาของ Zou Y, et al¹¹ รายงานการพบ MICA antibodies ร้อยละ 11.4 ในผู้ป่วยที่รอการปลูกถ่ายไตซึ่งสัมพันธ์กับอัตราการเกิด graft rejection ที่เพิ่มขึ้น และร้อยละ 5-9 ของผู้ป่วยที่เกิด graft rejection ตรวจพบ MICA antibodies และส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตของไตที่ลดลง¹²

ปัจจุบันข้อมูลการศึกษาเกี่ยวกับยีน MICA ในผู้ป่วยที่ปลูกถ่ายอวัยวะในประเทศไทยยังมีอยู่อย่างจำกัด อีกทั้งการทดสอบทางห้องปฏิบัติการทดสอบเนื้อเยื่อก่อนการปลูกถ่ายอวัยวะจะคำนึงถึงเฉพาะแอนติเจน HLA เท่านั้น ดังนั้นจึงมีโอกาสเกิด mismatch และการตรวจพบแอนติบอดีระบบอื่นที่เป็นสาเหตุของการเกิด graft rejection ได้ เช่น ระบบ MICA ซึ่งการตรวจหาแอนติบอดี MICA นั้นสามารถใช้เทคนิค Luminex สำหรับตรวจคัดกรอง และตรวจหาแอนติบอดีต่อแอนติเจน MICA ที่ตรงกับแอนติเจนของผู้บริจาคได้ การศึกษารังนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความถี่ของการเกิด ความไม่เข้ากันของแอนติเจน MICA (MICA mismatching) ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตที่มีการปฏิเสธไตชนิด AMR โดยทำการตรวจหา ยีน MICA ในคู่ของผู้บริจาคและผู้ปลูกถ่ายไตที่มีภาวะปฏิเสธไตจากแอนติบอดี โดยเทคนิค polymerase chain reaction with sequence specific primers (PCR-SSP)

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างทดสอบ

ตัวอย่างดีเอ็นเอของผู้ป่วยปลูกถ่ายไตที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเกิดการปฏิเสธไตชนิด AMR ตามเกณฑ์การวินิจฉัยของ Banff, et al¹³ ปี ค.ศ. 2017 และผู้บริจาคจำนวน 93 คู่ (186 คน) และตัวอย่างพลาสมาของผู้ป่วย ซึ่งได้จากการส่งตรวจ DSA ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน ค.ศ. 2017 ถึงเดือนกรกฎาคม ค.ศ. 2019 ณ คลังเลือดกลาง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น การศึกษาไม่ได้ทำการคัดแยกผู้ป่วยที่มีแอนติบอดีชนิด HLA ออกจากการศึกษา สกัดตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้จากเม็ดเลือดขาวโดยวิธี guanidine-hydrochloride¹⁴ การศึกษานี้ได้รับการขออนุญาตจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เลขที่ HE611397

การตรวจหา MICA

งานวิจัยนี้ได้คัดเลือก allele specific primers ที่สามารถตรวจหา MICA โดยคัดเลือก primers จาก 3 การศึกษา¹⁵⁻¹⁷ สามารถตรวจหา MICA ใน exon 1-4 โดยทดสอบหาอัลลีล MICA *001, *002/020, *004, *005, *008/027, *009, *010, *011, *012, *013, *015, *016, *017, *018, *019, *026, *052 ด้วยเทคนิค PCR-SSP ตามการศึกษาของ Romphruk, et al¹⁶ เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Applied Biosystems Veriti™ thermal cycler โดยมีขั้นตอนดังนี้ denaturation ที่อุณหภูมิ 94°C 2 นาที ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 94°C 30 วินาที 68°C 1 นาที และ 72°C 40 วินาที จำนวน 5 รอบ ตามด้วยทำปฏิกิริยาที่ 94°C 30 วินาที 65°C 1 นาที และ 72°C 40 วินาที จำนวน 21 รอบ และตามด้วยทำปฏิกิริยาที่ 94°C 30 วินาที 55°C 75 วินาที และ 72°C 120 วินาที จำนวน 4 รอบ และที่อุณหภูมิ 72°C 10 นาที จากนั้นตรวจสอบผลผลิตดีเอ็นเอจากปฏิกิริยา PCR โดยวิธีแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้าบนแผ่นวุ้น (agarose gel electrophoresis)

โดยใช้ agarose gel ร้อยละ 1.5 ย้อมด้วยสีพิเศษ GelRed® ซึ่งจะเรืองแสงเมื่อกระทบกับแสงอัลตราไวโอเล็ต (UV light) แล้วอ่านแถบดีเอ็นเอเรืองแสงบนแผ่นวุ้นภายใต้แสงยูวี เพื่อถ่ายภาพและนำผลการทดสอบไปวิเคราะห์

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

คำนวณหาความถี่ของยีน MICA จากสูตรร้อยละของ gene frequencies = Σ จำนวนตัวอย่างที่พบ allele นั้น / 2N x 100 โดยเมื่อ N = จำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่ใช้ในการศึกษา สำหรับทดสอบหาความแตกต่างความถี่ของแอนติเจนระหว่าง 2 กลุ่ม ใช้สถิติ Chi-square (X^2) ค่า p value น้อยกว่า 0.05 ถือว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการศึกษา

จากการทดสอบจีโนไทป์ของ MICA ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตที่มีภาวะปฏิเสธไตจากแอนติบอดี และผู้บริจาคจำนวน 93 คู่ ด้วยเทคนิค PCR-SSP ผลการศึกษาพบความถี่ของอัลลีล MICA ทั้งในกลุ่มผู้ป่วยและผู้บริจาค ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยอัลลีลที่พบได้บ่อยคือ MICA*008/027, 010, 002/020 (Table 1)

ผลการศึกษาความเข้ากันได้ของแอนติเจน MICA (MICA matching) ระหว่างผู้รับและผู้บริจาคจำนวน 93 คู่ พบว่ามี 25 คู่ (ร้อยละ 27) เป็น MICA matched และ 68 คู่ (ร้อยละ 73) เป็น MICA mismatched เมื่อวิเคราะห์ในกลุ่ม MICA mismatched จำนวน 68 คู่ พบว่ามี 58 คู่ (ร้อยละ 62) เกิด MICA mismatched 1 อัลลีล และอีก 10 คู่ (ร้อยละ 11) เกิด MICA mismatched ทั้งสองอัลลีล โดยอัลลีล MICA ที่พบความถี่ของการเกิด mismatched สูงที่สุดคือ MICA*008/027 (ร้อยละ 26.47) ดังแสดงใน Table 2

Table 1 Allele frequencies of MICA in KT-AMR patients and donors

MICA alleles	Patients (n = 186)		Donors (n = 186)		p-value
	n	%	n	%	
002/020	34	18.28	34	18.28	1.000
004	4	2.15	8	4.30	0.248
008/027	48	25.81	49	26.34	0.919
009	10	5.38	10	5.38	1.000
010	40	21.51	35	18.82	0.564
012	6	3.23	6	3.23	1.000
017	1	0.54	1	0.54	1.000
018	10	5.38	10	5.38	1.000
019	20	10.75	20	10.75	1.000
052	13	6.99	13	6.99	1.000

Table 2 The frequencies of mismatched MICA alleles in 68 kidney transplant patients with antibody mediated rejection

MICA alleles	Mismatched MICA allele (N)	% Mismatched MICA allele frequency
002/020	15	22.06
004	6	8.82
008/027	18	26.47
009	6	8.82
010	5	7.35
012	3	4.41
017	1	1.47
018	7	10.29
019	12	17.65
052	5	7.35

Table 3 Characteristics of recipients in kidney transplant patients with antibody mediated rejection (n = 93)

Characteristics	MICA match (n = 25)	MICA mismatch (n = 68)
Sex		
Female	12	23
Male	13	45
Recipient age (years)	41.52 ± 11.49	39.17 ± 13.26
Time of rejection after transplantation		
0-6 months	20 (21.50%)	44 (47.31%)
> 6 months	5 (5.38%)	24 (25.81%)

จากข้อมูลลักษณะของผู้ป่วยที่มีภาวะปฏิเสธไตชนิดแอนติบอดี โดยผู้ป่วยทั้งหมด 93 ราย มีอายุตั้งแต่ 14 ปีถึง 68 ปี (Table 3) พบว่า ใน 25 คู่ (ร้อยละ 27) ที่เป็น MICA matched ระหว่างผู้ป่วยและผู้บริจาค ในจำนวนนี้เป็นผู้ป่วยเป็นเพศชาย 13 ราย และเพศหญิง 12 ราย มีอายุเฉลี่ย 41.52 ± 11.49 ปี ส่วน อีก 68 คู่ (ร้อยละ 73) ที่เป็น MICA mismatched ระหว่างผู้ป่วยและผู้บริจาค ในกลุ่มนี้ผู้ป่วยเป็นเพศชาย 45 ราย และเพศหญิง 23 ราย มีอายุเฉลี่ย 39.17 ± 13.26 ปี ผลการศึกษาพบว่า การปฏิเสธไตที่เกิดขึ้นนั้นไม่มีความสัมพันธ์กับเพศ ($p = 0.209$) และอายุ ($p = 0.775$) การเกิดภาวะปฏิเสธอวัยวะหลังจากปลูกถ่ายไตในผู้ป่วย 93 ราย แบ่งเป็นช่วง 0-6 เดือน เป็นกลุ่ม MICA mismatched จำนวน 44 ราย (ร้อยละ 47.31) กลุ่ม MICA matched พบผู้ป่วย 20 ราย (ร้อยละ 21.50) ส่วนในช่วงระยะเวลามากกว่า 6 เดือนพบเป็นกลุ่ม MICA mismatched จำนวน 24 ราย (ร้อยละ 25.81) กลุ่ม MICA matched พบ 5 ราย (ร้อยละ 5.38)

วิจารณ์

การปลูกถ่ายไตมักเกิดปัญหาที่สำคัญอันหนึ่งมาจากความเข้ากันไม่ได้ของแอนติเจน HLA (HLA mismatched) ระหว่างผู้ให้กับผู้รับอวัยวะ นอกเหนือจากระบบ HLA ยังพบว่าแอนติบอดีต่อแอนติเจน MICA เป็นหนึ่งใหม่ปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการเกิด graft rejection และอัตราการอยู่รอดของไตที่ได้รับการปลูกถ่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ไม่พบแอนติบอดีต่อแอนติเจน HLA^{18,19} ทั้งนี้ความแตกต่างของแอนติเจน MICA ระหว่างเนื้อเยื่อของผู้ป่วยและผู้บริจาคสามารถกระตุ้นให้ผู้ป่วยสร้างแอนติบอดีที่ตรงกับแอนติเจนของผู้บริจาคได้ (DSA-MICA)

ในการศึกษาครั้งนี้ คณะผู้วิจัยจึงได้ตรวจ MICA typing ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตที่มีภาวะปฏิเสธไตจากแอนติบอดี และผู้บริจาคจำนวน 93 คู่ โดยวิธี PCR-SSP เพื่อประเมินโอกาสการเกิด MICA mismatched จากผลการศึกษา MICA typing ทั้งในผู้ป่วยและผู้บริจาคพบว่า มี 68 คู่ (ร้อยละ 73) มีผลเป็น MICA mismatched

โดยพบความถี่ของการเกิด MICA mismatched สูงที่สุด คือ MICA*008/027 (ร้อยละ 26.47) ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Cox, et al²⁰ ที่ศึกษาในผู้ป่วยปลูกถ่ายไต จำนวน 227 ราย และพบโอกาสการเกิด MICA mismatched สูงถึง ร้อยละ 67 ทั้งนี้เนื่องจากการมี linkage disequilibrium ระหว่าง MICA-HLA class I ดังนั้นหากผู้ป่วยและผู้บริจาคมี HLA class-I mismatched จึงน่าจะส่งผลต่อการมี MICA mismatched ได้ด้วย^{21,22}

เมื่อวิเคราะห์ในกลุ่มผู้ป่วยที่พบ MICA mismatched พบว่า ผู้ป่วย 44 ราย (ร้อยละ 47.31) ที่เกิด graft rejection ในช่วงเวลา 0-6 เดือนหลังการปลูกถ่ายไต สอดคล้องกับการศึกษาของ Gautier, et al²³ ที่ศึกษาในผู้ป่วยที่เกิด acute rejection พบว่า ร้อยละ 70 ของผู้ป่วยพบ MICA mismatched โดยร้อยละ 40 ของผู้ป่วยในจำนวนนี้พบการเกิด MICA mismatched ทั้งสองอัลลีล จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงผลของการมี MICA mismatched อาจมีความสัมพันธ์กับการเกิด acute rejection ทั้งนี้เนื่องจากแอนติเจน MICA แสดงออกอยู่บนผิวของ endothelial cells จึงอาจเป็นโมเลกุลเป้าหมายที่กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายให้เกิดการตอบสนองต่อแอนติเจนแปลกปลอมของอวัยวะที่ได้รับ²⁴

นอกจากนี้เมื่อศึกษาความถี่ของอัลลีล MICA ระหว่างผู้รับและผู้บริจาคไตพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันของ ทั้ง 2 กลุ่มตัวอย่าง ($p > 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากกลุ่มตัวอย่างเป็นกลุ่มประชากรชนชาติเดียวกัน จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงโอกาสการพบอัลลีลที่เหมือนกันได้ค่อนข้างสูงในประชากรเดียวกัน เมื่อวิเคราะห์ความจำเพาะของชนิดอัลลีล MICA อัลลีลที่พบสูงสุดคือ MICA*008/027, 010, 002/020 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Romphruk, et al⁷ จากผลการศึกษาดังนี้ พบความถี่ของการเกิด MICA mismatched ในผู้ป่วยได้สูง ดังนั้นจึงควรมีการตรวจหาแอนติบอดีต่อแอนติเจน MICA เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของแอนติบอดีกับการเป็นสาเหตุของการเกิดการปฏิเสธอวัยวะต่อไป อย่างไรก็ตาม ข้อมูลความถี่ของแอนติเจน MICA ของผู้รับและผู้บริจาคไตสามารถประยุกต์ใช้เป็นฐานข้อมูลเพื่อการพิจารณาจัดสรรไตให้กับผู้ป่วยที่ขึ้นทะเบียนรอรับการปลูกถ่ายไตได้ต่อไป

แอนติเจน MICA เป็นแอนติเจนที่มีความสำคัญต่ออัตราการอยู่รอดของอวัยวะและอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยภายหลังการปลูกถ่ายไต ดังนั้นในการจัดสรรไตของผู้บริจาคแก่ผู้ป่วยที่รอไต นอกเหนือจากการคำนึงถึงแอนติเจน HLA แล้ว การทดสอบแอนติเจนระบบ MICA ก่อนทำการปลูกถ่ายไต อาจลดโอกาสการเกิด MICA mismatched ระหว่างผู้ป่วยและผู้บริจาคได้ และลดโอกาสการสร้าง DSA ที่จะนำไปสู่การเกิด graft rejection เพื่อให้การปลูกถ่ายอวัยวะประสบผลสำเร็จ

สรุป

ในงานปลูกถ่ายอวัยวะนั้น นอกจากแอนติเจน HLA ที่ควรให้ความสำคัญแล้ว ยังมีแอนติเจนชนิด MICA ที่ยังเป็นอีกหนึ่งปัจจัยอันนำไปสู่การเกิด AMR และส่งผลต่ออัตราการอยู่รอดของไต โดยงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการเกิด MICA mismatched ของกลุ่มผู้ป่วยคนไทยปฏิเสธไตจากแอนติบอดี พบว่า มี 68 คู่ (ร้อยละ 73) เกิด MICA mismatched โดยความถี่ของอัลลีลใน MICA mismatched ที่พบมากที่สุดคือ MICA*008/027 (ร้อยละ 26.47) จากผลการศึกษาพบความถี่ในการเกิด MICA mismatched ที่ค่อนข้างสูงจึงควรให้ความสำคัญเพราะอาจนำไปสู่การสร้าง DSA ได้ ดังนั้นจึงควรพิจารณาตรวจหาอัลลีล MICA ก่อนทำการปลูกถ่ายเพื่อลดความเสี่ยงต่อการเกิด AMR ในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากคณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น (IN 61314) และศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์มหาวิทยาลัยขอนแก่น อีกทั้งขอขอบคุณคลังเลือดกลาง คณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้การสนับสนุนในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LY, et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med.* 1999;2341:1725-30.
2. Ferrari-Lacraz S. Analysis and monitoring of anti-HLA antibodies in solid-organ and stem cell transplantation: What to do? When should they be tested? Geneva: Geneva University; 2015.
3. National Blood Centre, Thai Red Cross Society. Standards for blood banks and transfusion service. 4thed. Bangkok: Udomusksa; 2015.
4. Terasaki PI. Deduction of the fraction of immunologic and non-immunologic failure in cadaver donor transplants. *Clin Transpl.* 2003;449-52.
5. Sanchez ZE, Castro-Panete MJ, Castillo RM, Morales P, Lora PD, Valero HD, et al. Harmful effect of preformed anti-MICA antibodies on renal allograft evolution in early posttransplantation period. *Transplantation.* 2013;96:70-8.
6. HLA Nomenclature @ hla.alleles.org [Internet]. London: Anthony Nolan Research Institute; c2015 [cited 2019 Jan 2]. <http://hla.alleles.org/nomenclature/index.html>.
7. Romphruk AV, Naruse TK, Romphruk A, Kawata H, Puapairoj C, Kulski JK, et al. Diversity of MICA (PERB11.1) and HLA haplotypes in Northeastern Thais. *Tissue Antigens.* 2001;58:83-9.

8. Baranwal AK, Mehra NK. Major histocompatibility complex class I chain-related A (MICA) molecules: relevance in solid organ transplantation. *Front Immunol.* 2017;28:182-94.
9. Valenzuela NM, Reed EF. Antibodies in transplantation: the effects of HLA and Non-HLA Antibody binding and mechanisms of injury. *Methods Mol Biol.* 2013;1034:41-70
10. Antje I, Daniela S, Sebastian M, Pranali S, Leslie E, Lutz W, et al. The MICA-129Met/Val dimorphism affects plasma membrane expression and shedding of the NKG2D ligand MICA. *Immunogenetics.* 2016;68:109-23.
11. Zou Y, Stastny P, Süsal C, Döhler B, Opelz G. Antibodies against MICA antigens and kidney-transplant rejection. *N Engl J Med.* 2007;357:1293-300.
12. Pierre T, Nathalie G, Mathias C, Caroline P, Stéphanie A, Sylvie C, et al. MICA variant promotes allosensitization after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 2013;24:954-66.
13. Haas M, Loupy A, Lefaucheur C, Roufosse C, Glotz D, Seron D, et al. The Banff 2017 Kidney Meeting Report: revised diagnostic criteria for chronic active T cell-mediated rejection, antibody-mediated rejection, and prospects for integrative endpoints for next-generation clinical trials. *Am J Transplant.* 2018;18:293-307.
14. Bowtell DD. Rapid isolation of eukaryotic DNA. *Anal Biochem.* 1987;162:463-5.
15. Stephens H a. F, Vaughan RW, Collins R, Kondeatis E, Theron J, Payne A. Towards a molecular phototyping system for allelic variants of MICA, encoded by polymorphisms in exons 2, 3 and 4 of MHC class I chain-related genes. *Tissue Antigens.* 1999;53:167-74.
16. Romphruk AV, Romphruk A, Choonhakarn C, Puapairoj C, Inoko H, Leelayuwat C. Major histocompatibility complex class I chain-related gene A in Thai psoriasis patients: MICA association as a part of human leukocyte antigen-B-Cw haplotypes. *Tissue Antigens.* 2004;63:547-54.
17. Collins RWM, Stephens HAF, Clare MA, Vaughan RW. High resolution molecular phototyping of MICA and MICB alleles using sequence specific primers. *Hum Immunol.* 2002;63:783-94.
18. Lee PC, Terasaki PI, Takemoto SK, Lee PH, Hung CJ, Chen YL, et al. All chronic rejection failures of kidney transplants were preceded by the development of HLA antibodies. *Transplantation.* 2002;74:1192-4.
19. Worthington JE, Martin S, Dyer PA, Jahson RWG. An association between posttransplant antibody production and renal transplant rejection. *Transplant Proc.* 2001;33:475-6.
20. Cox ST, Stephens HA, Fernando R, Karasu A, Harber M, Howie AJ, et al. Major histocompatibility complex class I-related chain A allele mismatching, antibodies, and rejection in renal transplantation. *Hum Immunol.* 2011;72:827-34
21. Bahram S, Bresnahan M, Geraghty DE, Spies T. A second lineage of mammalian major histocompatibility complex class I genes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994;91:6259-63.
22. Oliveira LA, Ribas F, Bicalho MG, Tsuneto LT, Petzl-Erler ML. High frequencies of alleles MICA*020 and MICA*027 in Amerindians and evidence of positive selection on exon 3. *Genes Immun.* 2008;9:697-705.
23. Gautier AC, Devys A, Cheneau ML, Simon PH, Martin C, Allard S, et al. MICA compatibility and immunization in third kidney transplantations. *Transplant Proc.* 2009;41:663-5.
24. Zwimer NW, Marcos CY, Mirbaha F, Zou Y, Stastny P. Identification of MICA as a new polymorphic alloantigen recognized by antibodies in sera of organ transplant recipients. *Hum Immunol.* 2000;61:97-24.

