

บทบรรณาธิการ

ความสำคัญของแอนติเจน HLA

อมรรัตน์ ร่มพฤษ์

คลังเลือดกลาง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Human leukocyte antigen (HLA) เป็นแอนติเจนที่พบได้บนผิวเซลล์ของเม็ดเลือดขาวและเนื้อเยื่ออื่นๆ ของร่างกาย เกี่ยวข้องกับกระบวนการกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยโมเลกุลของ HLA ทำหน้าที่จับและนำเสนอเปปไทด์ (peptide) แอนติเจนของสิ่งแปลกปลอม ซึ่งผ่านกระบวนการเข้าสู่เซลล์ และเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์แล้ว หรือนำเสนอเปปไทด์ของตัวเองออกสู่ผิวเซลล์ เพื่อให้เซลล์ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันสามารถจำแนกสิ่งแปลกปลอมนั้นได้ และเข้าจับอย่างจำเพาะกับเปปไทด์ของสิ่งแปลกปลอมนั้น เกิดการหลั่ง cytokine กระตุ้นให้เกิด effector CD4+ T cells และ effector CD8+ T cells สำหรับ effector CD4+ T cells จะกระตุ้นการทำงานของ cell mediated immune (CMI) เช่น กระตุ้น macrophages และ humoral mediated immune (HMI) เช่น กระตุ้น B-cells ให้สร้างแอนติบอดีได้ดียิ่งขึ้น ส่วน effector CD8+ T cells จะทำหน้าที่เป็น cytotoxic T cells จากนั้นจะนำไปสู่กระบวนการต่างๆ เพื่อกำจัดเซลล์ที่แสดงเปปไทด์ของสิ่งแปลกปลอมนั้นๆ ดังนั้นแอนติเจน HLA จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการกำจัดสิ่งแปลกปลอม เช่น เชื้อโรค เซลล์ที่ติดเชื้อ เซลล์ที่ผิดปกติ เซลล์มะเร็ง และในกระบวนการปฏิเสธเนื้อเยื่อในการปลูกถ่ายอวัยวะ

ยีนที่ควบคุมการสร้างแอนติเจน HLA

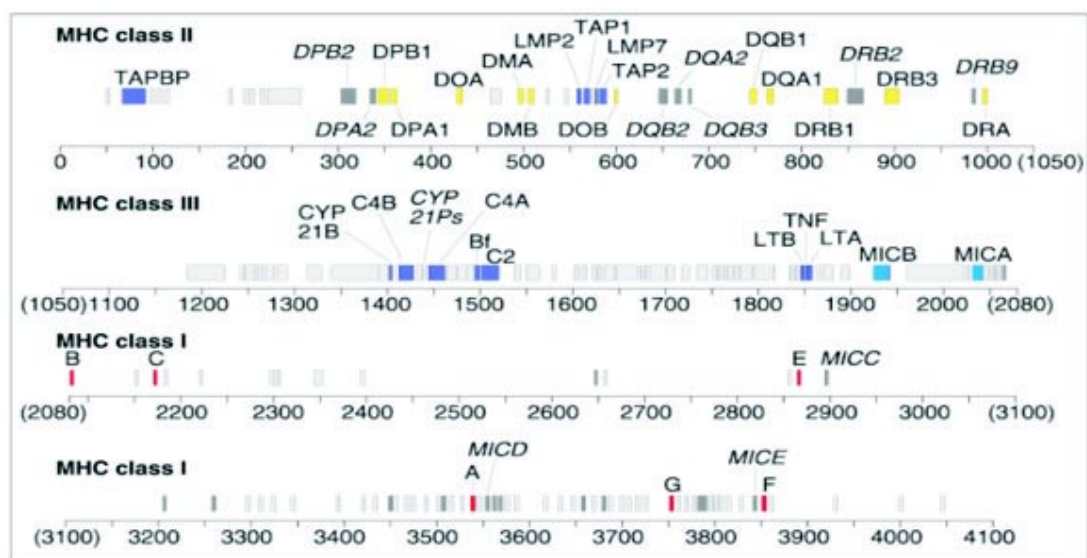
แอนติเจน HLA ถูกควบคุมการสร้างโดยยีน Major

histocompatibility complex (MHC) ซึ่งเป็นกลุ่มยีนที่อยู่บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 6 ในมนุษย์ (ดังรูปที่ 1) แบ่งเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

1. MHC class I อยู่ทางด้าน telomeric มีขนาดประมาณ 2,000 kilobases (kb) ได้แก่ HLA - locus A, locus B และ locus Cw ลักษณะโมเลกุลเป็น heterodimer ประกอบด้วย α -chain และ β 2-microglobulin แอนติเจน MHC class I นี้ จะพบอยู่บนเซลล์ที่มีนิวเคลียสเกือบทุกชนิด รวมทั้งเกล็ดเลือด จะทำหน้าที่จับ endogenous peptide ที่อยู่ใน cytosol เช่น viral protein, autoantigen และ tumor antigen ส่งออกที่ผิวเซลล์ เพื่อส่งต่อ CD8+ T cells

2. MHC class II อยู่ทางด้าน centromeric มีขนาดประมาณ 1,000 kb ได้แก่ HLA-DR, HLA-DQ และ HLA-DP ลักษณะโมเลกุลเป็น heterodimer ประกอบด้วย α -chain และ β -chain จะพบโมเลกุลของ class II บนผิวเซลล์บางชนิด พบได้บน antigen presenting cells (APC) ได้แก่ macrophage, dendritic cells, B-lymphocyte, monocyte และอื่นๆ จะทำหน้าที่จับ exogenous peptide ใน endosomal เช่น peptide ของเชื้อแบคทีเรียที่ macrophage จับกินและย่อยแล้วใน endosomal ออกสู่ผิวเซลล์ เพื่อส่งต่อ CD4+T cells

3. MHC class III อยู่ระหว่าง MHC class I และ class II มีขนาดประมาณ 1,000 kb ประกอบด้วยยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน เช่น ยีน Tumor



รูปที่ 1 Schematic map of human MHC loci on chromosome no.6 (Janeway CA, et al. Immunobiology. 5th ed., 2001)

necrosis factor, complements, MHC-class I chain related (MIC) เป็นต้น

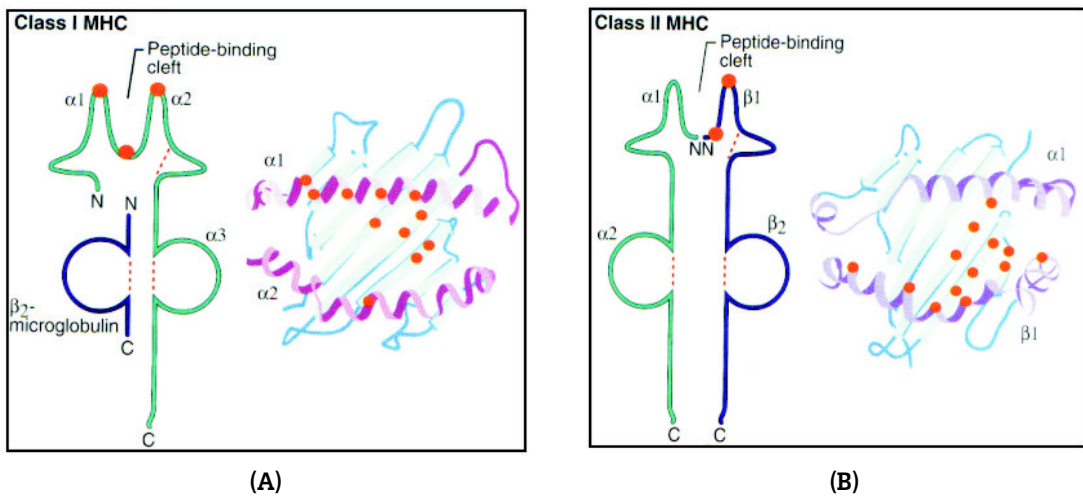
Nomenclature and Polymorphism

แอนติเจน HLA ในมนุษย์มีการค้นพบในปี ค.ศ. 1954 โดย Prof. Dr. Jean Dausset ได้ค้นพบแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดขาว ในระยะเริ่มแรกของการเรียกชื่อแอนติเจน จะอาศัยผลการทดสอบแอนติเจนบนผิวเซลล์ด้วยวิธีซีโรไลย์ โดยเรียงลำดับการค้นพบก่อนหลัง จะเห็นว่าชื่อ HLA-A และ HLA-B จะรวมกันอยู่ หมายเลขไม่ซ้ำกัน เช่น A1, A2, A3, B5, B7, B8 และ A9 เมื่อมีการศึกษามากขึ้นจนถึงระดับ DNA จึงมีการค้นพบอัลลีลมากมาย ทาง WHO Nomenclature Committee for Factors of the HLA System จึงกำหนดชื่อของอัลลีล ในแต่ละ locus โดยให้เริ่มต้นด้วยตัวอักษรที่บอกถึง locus ตามด้วยเครื่องหมาย “ * ” และตัวเลข 4 หลัก โดย 2 หลักแรก แสดงถึง group specific และ 2 หลักท้าย แสดงถึง allele specific เช่น แอนติเจน HLA-A2 ถูกควบคุมโดยยีนจำนวน 58

อัลลีล ก็จะมีชื่อตั้งแต่ HLA-A*0201-A*0258 เป็นต้นตามรายงานถึงปี ค.ศ. 2002² พบยีน HLA -A จำนวน 250 ชนิด B จำนวน 490 ชนิด Cw จำนวน 119 ชนิด DRB1 จำนวน 315 ชนิด DOB1 จำนวน 53 ชนิด และ DPB1 จำนวน 99 ชนิด จะเห็นว่ายีน HLA มีความหลากหลายสูงมาก (highly polymorphic gene) ตำแหน่ง polymorphic site ของโมเลกุล จะพบทั้งในส่วนที่ใช้จับ peptide (peptide - binding cleft) และส่วนที่ใช้จับ T-cell receptor ซึ่งเป็นบริเวณ α -helices รอบๆ cleft ดังรูปที่ 2

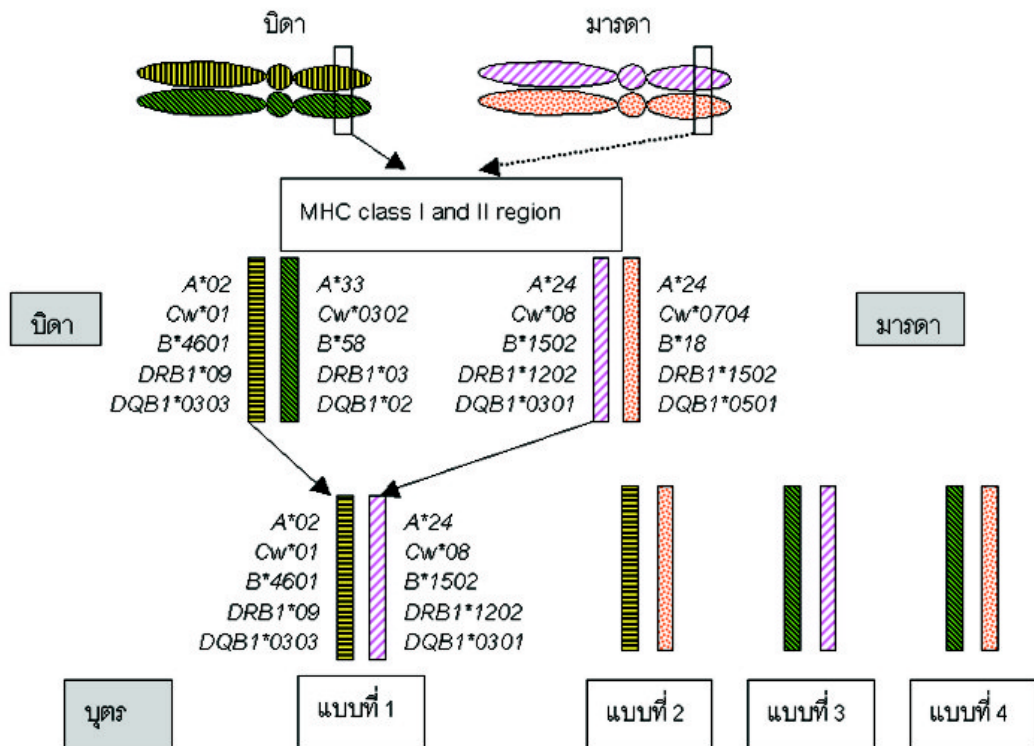
การถ่ายทอดของยีน

ในมนุษย์ ยีน HLA ซึ่งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 6 จะได้รับการถ่ายทอดจากบิดา 1 โครโมโซม และจากมารดาอีก 1 โครโมโซม นั่นคือในแต่ละบุคคลจะมีชุดของยีน HLA จำนวน 2 ชุด (2 haplotypes) และการแสดงออกของยีนเป็นแบบ codominant ดังนั้นในแต่ละบุคคลจะพบ แอนติเจน HLA -A , -B, -Cw, -DRB1, -DQB1 ได้ไม่เกินอย่างละ 2 ชนิด ดังรูปที่ 3



รูปที่ 2 Polymorphic site residues of a class I MHC molecule (A) and class II MHC molecule (B);

● = polymorphic site (Abbas AK & Lichtman AH. Cellular and molecular Immunology 5th ed., 2003)



รูปที่ 3 การถ่ายทอดโครโมโซม (ยีน HLA) จากบิดาและมารดา

เนื่องจากยีนในกลุ่ม MHC อยู่ใกล้ชิดกันมาก จนเกิดลักษณะ linkage disequilibrium กล่าวคือ มักพบแอนติเจนชนิดหนึ่งร่วมกับแอนติเจนอีกชนิดหนึ่ง (ต่าง locus) มากกว่าความถี่ที่ควรพบ เช่น พบ HLA - B*4601 ร่วมกับ Cw*01 เสมอ การกระจายของยีน HLA บางอัลลีลหรือบาง haplotypes จะพบมากหรือพบเฉพาะในบางกลุ่มประชากรจนเกิดลักษณะ conserved haplotypes ขึ้น ตัวอย่างของ conserved haplotype เช่น A1-B8-DR3 พบมากในชาวยุโรป A2-B46-DR9 พบมากในชาวไทยและชาวจีน เป็นต้น ดังนั้นการศึกษาแอนติเจน HLA ของกลุ่มประชากรต่างๆ จึงนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านมนุษยวิทยาเพื่อศึกษาค้นคว้า ยีนยีนที่มาของชนกลุ่มต่างๆ ได้

การศึกษาแอนติเจน HLA ในชาวไทย

รายงานการศึกษาแอนติเจน HLA ในคนไทยเริ่มต้นโดย ศาสตราจารย์แพทย์หญิงพิมล เชี่ยวศิริ และคณะ ในปี ค.ศ. 1976⁴ และ ศาสตราจารย์แพทย์หญิงทัศนียา จันทนียังยง คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล จากนั้นมีการศึกษาอีกหลายรายงานจนถึงปัจจุบัน ได้มีรายงานชนิดและความถี่ของแอนติเจนในชาวไทยภาคเหนือ, ชาวไทลื้อ, ชาวไทยอีสาน, ชาวไทยภาคกลาง, ชาวไทยมุสลิม และชาวไทยจีน⁵⁻¹⁵ เนื่องจากแต่ละการศึกษาใช้เทคนิคต่างกันทั้งด้าน ซีโรโลยีและ molecular typing

ทำให้ข้อมูลที่ได้ไม่สามารถเปรียบเทียบได้ละเอียดชัดเจน แต่ก็สามารถสรุปได้ว่าในชาวไทยมีชนิดของแอนติเจนที่คล้ายกัน แม้ว่าความถี่จะแตกต่างกันบ้าง เช่น HLA-A2, 11, 24, 33 ; HLA-B-13, 15, 46, 58 ; DRB1-09, 12, 15 เป็นต้น สำหรับในการศึกษาระดับนานาชาติ ได้มีการประชุมร่วมมือกันทำ workshop ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1964 มุ่งเน้นในแง่การพัฒนาเทคนิคการทดสอบ มีการแบ่งกลุ่มศึกษา allele and haplotype ชนิดต่างๆ และศึกษาวิเคราะห์ข้อมูลด้าน anthropology/human diversity ในกลุ่มประชากรทั่วโลกอย่างต่อเนื่องตลอดมา และจะมีการประชุมครั้งต่อไปที่ประเทศออสเตรเลีย ในปี ค.ศ. 2005

ลักษณะ MHC haplotypes ในชาวไทย

ยีน MHC มีความหลากหลายมาก ดังนั้นโอกาสที่แต่ละบุคคลจะมีชุดของยีนเหมือนกัน โดยที่ไม่ใช่เครือญาติ จะพบได้น้อย อย่างไรก็ตามบาง MHC haplotypes จะเป็นลักษณะจำเพาะที่เหมือนกัน (conserved) ในประชากรบางกลุ่ม หรือหลายกลุ่มได้ จากกลไกการคัดเลือกโดยธรรมชาติ (natural selection) ทำให้คนที่มี haplotype บางชนิดจะอยู่รอดได้ดีสามารถดำรงสืบต่อลูกหลานได้ ในที่นี้จะยกตัวอย่าง MHC haplotypes ของชาวไทยอีสาน (ตารางที่ 1) ที่ได้จากการศึกษาในผู้ที่มีสุขภาพแข็งแรง และไม่เป็เครือญาติกัน จำนวน 400

ตารางที่ 1 ความถี่ของ HLA-B*4601 haplotypes ในชาวไทยอีสาน (Romphruk A et al. Hum Immunolgy 2004, in press)

A*	Cw*	B*	DRB1*	DQB1*	% haplotype frequency
11	01	4601	09	0303	1.5
11	01	4601	1202	0502	0.8
0207	01	4601	09	0303	3.4
0207	01	4601	1202	0502	2.0
0207	01	4601	1401	0502	1.3
0207	01	4601	1502	0501	0.6
0207	01	4601	1602	0502	0.6

ราย ในตัวอย่างที่มี HLA-B*4601 เดียวกันก็มีลักษณะของยีนบริเวณ telomeric (locus A) และทางด้าน centromeric (locus DR, DQ) ต่างกัน เนื่องจากเกิด recombination ทำให้มีการเปลี่ยนในลักษณะกลุ่มยีน (block) จุดที่มักเกิด recombination คือบริเวณ locus A and Cw และบริเวณ locus B and DR ประเด็นสำคัญที่ตามมาคือ บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 6 ไม่ได้มีเพียงยีน HLA เท่านั้น แต่มียีนอื่นๆ ที่ตั้งกันพบแล้ว ซึ่งเกี่ยวกับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน หรือยีนที่ยังไม่ทราบหน้าที่ หรือยีนที่ยังไม่มีการค้นพบ จะถูกถ่ายทอดไปพร้อมๆ กัน ดังนั้นในการพิจารณาว่าบุคคลใดมียีน HLA เหมือนกัน ถ้าพบว่ามี haplotype เหมือนกัน นั้นแสดงว่านอกจากยีน HLA เหมือนกันแล้ว ยังมียีนอื่นๆ ที่อยู่บริเวณใกล้เคียงเหมือนกันด้วย

แอนติเจน HLA และโรคบางชนิด

การศึกษาแอนติเจน HLA นอกจากใช้เป็นหลักฐานทางมนุษยวิทยาแล้ว แอนติเจน HLA มีความสำคัญเกี่ยวข้องโดยตรงกับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อสิ่งแปลกปลอม จากการศึกษาหลายๆ กลุ่ม พบว่าแอนติเจน HLA มีความสัมพันธ์กับโรคบางชนิด (disease susceptibility) เช่นพบแอนติเจน HLA-B27 ได้สูงในคนที่ เป็นโรค ankylosing spondylitis หรือ HLA-Cw06 ในผู้ป่วย Psoriasis เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันยังไม่สามารถอธิบายถึงกลไกความสัมพันธ์ที่ทำให้เกิดโรคได้ชัดเจน และเนื่องจาก relative risk ของแต่ละประชากรต่างกัน จึงมีการตั้งสมมุติฐานและกำลังค้นคว้ากันถึงยีนที่เป็นสาเหตุว่า 1) ไซยีน HLA หรือไม่ 2) อาจจะเป็นยีนอื่นที่ถ่ายทอดไปกับ HLA haplotype เดียวกัน 3) หรือมียีนที่เกี่ยวข้องกับโรคอย่างน้อย 2 ชนิดขึ้นไปและทำงานร่วมกัน

แอนติเจน HLA กับการปลูกถ่ายอวัยวะ

แอนติเจน HLA มีบทบาทสำคัญอย่างมากในการ

ปลูกถ่ายอวัยวะ เนื่องจากแอนติเจน HLA ของบุคคลหนึ่งย่อมเป็นสิ่งแปลกปลอมสำหรับอีกบุคคลหนึ่ง ดังนั้นในการปลูกถ่ายอวัยวะ ถ้าสามารถเลือกให้มีแอนติเจน HLA เหมือนกันมากที่สุด graft ก็จะสามารถอยู่ได้นานหรือไม่เกิดภาวะ graft versus host (GVH) โดยเฉพาะการปลูกถ่ายไขกระดูก หรือ stem cell การคัดเลือกไขกระดูกเพื่อการปลูกถ่าย มักสืบค้นในพี่น้องร่วมบิดามารดา เพราะโอกาสการพบ HLA ที่เหมือนกัน (identical sibling) ประมาณ 25% แต่เนื่องจากในปัจจุบันจำนวนสมาชิกพี่น้องในครอบครัวเล็กลง ทำให้โอกาสการพบ identical sibling ลดน้อยตาม จึงต้องคัดเลือกจากประชากรทั่วไป (unrelated donor) ดังนั้นการศึกษาแอนติเจนในกลุ่มประชากรต่างๆ ทำให้มีข้อมูลพื้นฐานของแต่ละกลุ่ม ทราบแบบแผนของยีน HLA ในแต่ละกลุ่มเชื้อชาติ ทำให้การสืบค้น unrelated donor เป็นไปได้สะดวกและรวดเร็ว เช่นถ้าผู้ป่วยมีภูมิลำเนาอยู่ในประเทศไทย มีแอนติเจน HLA ที่พบได้น้อยในคนไทย แต่เป็นชนิดที่พบได้บ่อยในชนผิวขาว ถ้าสืบค้นผู้บริจาคจากกลุ่มชนผิวขาวก็มีโอกาสพบได้สูงเป็นต้น นอกจากนี้แล้วยังสามารถพยากรณ์ความยากง่ายของโอกาสที่จะสืบค้นหา unrelated donor ได้อย่างคร่าวๆ คือถ้าเป็นแอนติเจนที่พบได้ในความถี่สูง (common allele) ก็จะสืบค้นได้ง่าย ในขณะที่ถ้าเป็นอัลลีลที่พบได้ยาก (rare allele) โอกาสที่จะพบก็ยากตาม จึงมีประโยชน์ช่วยในการวางแผนการรักษาผู้ป่วย ปัจจุบันในแต่ละภูมิภาคหรือประเทศต่างๆ ได้มีการจัดตั้งศูนย์ของ unrelated donors เช่น ในยุโรป อเมริกา เอเชีย ออสเตรเลีย สำหรับในประเทศไทยได้ก่อตั้ง Unrelated Stem Cell Donor Registry Program ในปี พ.ศ. 2545 ขึ้นที่ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย เพื่อดำเนินการจัดหาผู้บริจาค

การปลูกถ่ายไขกระดูกแม้ว่าจะทำใน identical sibling ก็ยังสามารถเกิด GVH ได้ ในขณะที่ปลูกถ่ายจาก unrelated donor จะพบ GVH ได้สูงกว่า ดังนั้นนอก

จากยีน HLA ที่เกี่ยวข้องโดยตรงแล้วน่าจะมียีนอื่นซึ่งเป็น minor histocompatibility ร่วมด้วย ที่น่าสนใจคือทางด้าน NK cells ซึ่งเป็นเซลล์สำคัญอีกชนิดหนึ่งในการตอบสนองของร่างกายทำให้เกิด GVH ขณะนี้มีหลายคณะที่มีความพร้อมทางด้านวิชาการทั้งในและต่างประเทศกำลังศึกษาเรื่องนี้อยู่ ซึ่งต้องติดตามอย่างใกล้ชิดต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik M, eds. *Immunobiology*. 5th ed. New York and London: Garland Publishing; 2001.
2. Marsh SG, Albert ED, Bodmer WF, et al. *Nomenclature for factors of the HLA system*, 2002. *Hum Immunol*. 2002;63:1213-68.
3. Abbas AK, Lichtman AH, eds. *Cellular and Molecular Immunology*. 5th ed. Elsevier Science, Philadelphia 2003.
4. Chiewsilp P, Chanarat P. The HL-A system in Thais. *Vox Sang*. 1976;30:74-80.
5. Greiner J, Schleiermacher E, Lenhard V, Kulapongs P, Vogel F. HLA antigen, gene, and haplotype frequencies in Thailand. *Hum Genet*. 1978;41:73-87.
6. Sujirachato K, Chiewsilp P, Tsuji K, et al. HLA class II polymorphism in Thais detected by PCR-SSO and PCR-RFLP. *Tissue Antigens*. 1994;43:224-8.
7. Chandanayingyong D, Stephens HA, Fan L, et al. HLA-DPB1 polymorphism in the Thais of Southeast Asia. *Hum Immunol*. 1994;40:20-4.
8. Romphruk A, Barusrux S, Puapairoj C, Urwijitroon Y, Romphruk A, Leelayuwat C. Distribution of HLA-A and B antigens in northeastern-Thais. *J Med Assoc Thai* 1996;79:732-6.
9. Chandanayingyong D, Stephens HA, Klaythong R, et al. HLA-A, -B, -DRB1, -DQA1, and -DOB1 polymorphism in Thais. *Hum Immunol*. 1997;53:174-82.
10. Chiewsilp P, Mongkolsuk T, Sujirachato K, Junpong S, Rattanasombat K, Uden C. HLA in southern Thai-Muslims. *J Med Assoc Thai* 1997;80(Suppl 1):S30-7.
11. Fongsatikul L, Nantachit N, Kamtorn N, Leetrakool N. HLA gene frequencies of northern Thais. *J Med Assoc Thai* 1997;80(Suppl 1):S38-42.
12. Romphruk A, Leelayuwat C, Barusrux S, Puapairoj C, Romphruk A, Urwijitroon Y. DNA typing of the HLA-A, -B and -C genes: possible MHC class I haplotypes in the northeastern-Thais. *J Med Assoc Thai* 1997;80(Suppl 1):S13-9.
13. Romphruk AV, Puapairoj C, Romphruk A, Barusrux S, Urwijitroon Y, Leelayuwat C. Distributions of HLA-DRB1/DOB1 alleles and haplotypes in the north-eastern Thai population: indicative of a distinct Thai population with Chinese admixtures in the central Thais. *Eur J Immunogenet* 1999;26:129-33.
14. Stephens HA, Chandanayingyong D, Kunachiwa W, et al. A comparison of molecular HLA-DR and DQ allele profiles forming DR51-, DR52-, and DR53-related haplotypes in five ethnic Thai populations from mainland southeast Asia. *Hum Immunol* 2000;61:1039-47.
15. Romphruk AV, Romphruk A, Klumkrathok K, Puapairoj C, Leelayuwat C. Conserved MHC haplotypes in northeast Thais vs. Southeast Asians indicates an ancient pool and diverse MHC haplotypes. *Hum Immunol* 2004 (in press).