

นิพนธ์ต้นฉบับ

การศึกษา Gene Frequencies ของ HLA-A และ -B Antigens ในอาสาสมัครบริจาคเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต

ศิริลักษณ์ เพียรเจริญ, ภาวิณี คุปตวินทุ, อ้อยทิพย์ ณ กลาง*, พรทิพย์ รัตจักร,

อารยา ตัตวร และ รัชนี โอเจริญ

ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย *ภาควิชาพยาธิวิทยา วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า

บทคัดย่อ: ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ได้จัดตั้ง Thai National Stem Cell Donor Registry ภายใต้การควบคุมดูแลของแพทยสภา โดยมีหน้าที่จัดหาอาสาสมัครบริจาคเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต เพื่อหาผู้บริจาคที่มี HLA ตรงกันกับผู้ป่วย ซึ่งไม่สามารถหาผู้บริจาคที่เป็นพี่น้องหรือญาติได้ ตั้งแต่เดือนเมษายน 2545 ถึง มีนาคม 2546 มีผู้สมัครเข้าร่วมโครงการจำนวน 1,652 ราย ได้ศึกษาการกระจายของ HLA-A และ -B antigens ในอาสาสมัครบริจาคเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต โดยเปรียบเทียบกับคนไทยภาคกลาง คนไทยภาคเหนือ และคนไทยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

วัสดุและวิธีการ: ตัวอย่างเลือดจากผู้บริจาคโลหิตที่สมัครเข้าร่วมโครงการบริจาคเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต ได้ทำการทดสอบ HLA-A และ -B antigens โดยเทคนิค ซีโรโลยี ด้วยวิธี microlymphocytotoxicity test

ผลการศึกษา: พบว่ามี HLA-A และ HLA-B ที่ตรวจพบได้ 26 และ 43 ชนิด ตามลำดับ แอนติเจนที่พบได้บ่อยคือ HLA-A2 (27.57%), HLA-A11 (26.66%), HLA-A24 (17.37%), HLA-A33 (14.41%) และ HLA-B46 (12.22%), HLA-B60 (10.74%) และ HLA-B13 (8.13%) ตามลำดับ แอนติเจนที่พบได้น้อยคือ HLA-A23 (0.09%), HLA-A25 (0.03%), HLA-A80 (0.03%) และ HLA-B45 (0.06%), HLA-B47 (0.06 %), HLA-B41 (0.03%) และ HLA-B49 (0.03%)

แอนติเจนที่ไม่พบในการศึกษารั้งนี้คือ HLA-B42 และ -B78 เมื่อเปรียบเทียบความถี่ของแอนติเจนที่ตรวจพบกับการศึกษาในคนไทยกลุ่มอื่นพบว่า แอนติเจนที่พบได้บ่อยคล้ายคลึงกันคือ HLA-A2, -A24, -A11, -A33 และ -B46, -B60 และ -B13 ถึงแม้ว่าจำนวนความถี่ของแอนติเจนจะพบแตกต่างกันบ้างในแต่ละกลุ่มประชากร อาจเกิดจากความจริงที่ว่าในการศึกษานี้มีผู้ซึ่งเป็นญาติพี่น้องกันเองรวมอยู่ด้วย ในขณะที่การศึกษาประชากรกลุ่มอื่นๆ เลือจากการสุ่มและแต่ละคนไม่ใช่เป็นญาติพี่น้องกัน นอกจากนี้ อาจเกิดจากการใช้แอนติซีรัมในการทดสอบแตกต่างกันหรือมีความแตกต่างของกลุ่มประชากรที่ทำการศึกษา

สรุป: จากการศึกษาการกระจายของ HLA-A และ -B antigens ในครั้งนี้จะเห็นว่า การรณรงค์ให้อาสาสมัครบริจาคเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตเพิ่มขึ้นย่อมเพิ่มโอกาสในการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตให้ผู้ป่วยที่มีแอนติเจนของ HLA ที่หายาก

Key Words : ● Human leukocyte antigen ● Unrelated stem cell donors

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2547;14:171-9.

ได้รับต้นฉบับ 10 มิถุนายน 2547 และให้ตีพิมพ์ 1 กรกฎาคม 2547

ต้องการสำเนาต้นฉบับ ติดต่อ นางศิริลักษณ์ เพียรเจริญ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

การปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต มีบทบาทสำคัญในการรักษาโรคทางพันธุกรรมบางชนิด โรคทางโลหิตวิทยา เช่น โรคกระดูกไขกระดูกเนื้องอก โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว โรคไขกระดูกฝ่อ โรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง^{1,2} ปัจจัยสำคัญในการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตคือ ต้องมีผู้บริจาคที่มี human leukocyte antigen (HLA) ตรงกันกับผู้ป่วย หากมี HLA แตกต่างกันทำให้เกิด graft versus host disease (GvHD) และ graft rejection สูงขึ้น^{3,4} ดังนั้นจึงต้องมีการคัดเลือกผู้บริจาคที่เหมาะสม โดยเลือกจากพี่น้องร่วมบิดามารดาเดียวกันกับผู้ป่วย ซึ่งมีโอกาสซึ่งจะมี HLA-A, -B และ -DR ตรงกันได้ประมาณร้อยละ 30-35⁵ แต่ถ้าหาพี่น้องที่เหมาะสมไม่ได้หรือเป็นบุตรคนเดียวก็จำเป็นต้องหาจากอาสาสมัครบริจาคเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต (unrelated donor) ซึ่งในต่างประเทศและหลายประเทศในเอเชีย เช่น สหรัฐอเมริกา อังกฤษ เยอรมัน ญี่ปุ่น ไต้หวัน และเกาหลี ได้มีการจัดตั้งศูนย์หรือเครือข่ายเพื่อขึ้นทะเบียนอาสาสมัครบริจาคเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตและไขกระดูกให้แก่ผู้ป่วยซึ่งหาผู้บริจาคที่เหมาะสมจากญาติไม่ได้¹¹ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ได้รับอนุมัติจากแพทยสภาเมื่อวันที่ 30 เมษายน 2545 ให้ดำเนินการจัดหาผู้บริจาคบริจาคเซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกหรือกระแสโลหิตในกรณีที่ผู้บริจาคไม่ใช่ญาติของผู้รับบริจาค โดยการจัดตั้ง Unrelated Stem Cell Donor Registry Program ภายใต้การดูแลของแพทยสภา¹² ห้องปฏิบัติการ HLA ฝ่ายห้องปฏิบัติการร่วมกับองค์การอนามัยโลกได้เริ่มทำการตรวจ HLA-A และ -B typing ให้กับผู้บริจาคที่สมัครเข้าร่วมโครงการและเก็บข้อมูลของ HLA antigens เข้าโปรแกรมคอมพิวเตอร์ สำหรับเป็นข้อมูลในการคัดเลือกผู้บริจาคเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตที่เหมาะสมกับผู้ป่วยต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการกระจายของ HLA-A และ -B anti-

gens ในอาสาสมัครคนไทยที่สมัครเข้าร่วมโครงการบริจาคเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดจากผู้บริจาคโลหิตที่ทั่วไปทั้งที่สมัครคนเดียวและสมัครทั้งครอบครัวจำนวน 1,652 รายเข้าร่วมโครงการบริจาคเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตและได้เซ็นยินยอมบริจาคที่ฝ่ายประชาสัมพันธ์และจัดหาผู้บริจาคโลหิต ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย หลังจากการบริจาคโลหิตตามปกติได้เก็บเลือดใส่ในหลอดบรรจุน้ำยาเก็บเลือดแข็ง ACD 1 หลอดปริมาตร 8.5 มล.

น้ำยา

ตั้งแต่เมษายน 2545 ถึงมีนาคม 2546 ได้ทำการทดสอบ HLA-A และ -B antigens ในตัวอย่างเลือดจำนวน 1,652 ตัวอย่างโดยเทคนิค ซีโรโลยี ด้วยวิธี microlymphocytotoxicity test โดยใช้ น้ำยา 3 บริษัท ในช่วงเวลาต่างกันตามข้อจำกัดของการผลิตและจัดส่งน้ำยา ได้แก่ HLA-A,-B typing trays (ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล, บริษัท One Lambda, Inc., USA และบริษัท Pel-Freez, USA) ดังแสดงชนิดแอนติซีรัมในตารางที่ 1 และ 2, Carbonyl iron (Sigma-Aldrich Co., Germany), Isoprep (Robbins Scientific, USA), Phosphate buffer saline (PBS) pH 7.2, McCoy's medium (Biochrom AG, Germany), และสีย Stain Fix (One Lambda, Inc., USA)

วิธีการ

การเตรียมเซลล์ลิมโฟซัยท์¹³

เติม carbonyl iron ประมาณ 0.1 กรัม ใส่ใน ACD blood เขย่าแบบ inversion ด้วยเครื่อง test tube rotator นาน 20 นาที เมื่อครบเวลานำไปปั่นที่ 2,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ดูดชั้นพลาสมาทิ้งแล้วดูดชั้น

ตารางที่ 1 ความจำเพาะของแอนติซีรั่มต่อ HLA-A ใน typing trays

HLA-A locus sera	DCH	Terasaki Oriental	Pel-Freez	HLA-A locus sera	DCH	Terasaki Oriental	Pel-Freez
A1	✓	✓	✓	A11	✓	✓	✓
A36	✓		✓	A11.1	✓		
A2	✓	✓	✓	A11.2	✓		
A203	✓			A29	✓	✓	✓
A28	✓	✓	✓	A30	✓	✓	✓
A68		✓		A31	✓	✓	✓
A69		✓	✓	A32	✓	✓	✓
A23	✓	✓	✓	A33	✓	✓	✓
A24	✓	✓	✓	A74	✓		✓
A2403	✓	✓		A80			✓
A25	✓	✓	✓				
A26	✓	✓	✓				
A34	✓	✓	✓				
A66	✓	✓	✓				

DCH = HLA-A,-B typing trays Lot. No. 9543-0301 ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

Terasaki Oriental =HLA-A,-B typing trays Lot. No. 22-24 บริษัท One Lambda, Inc., USA

Pel-Freez =HLA-A,-B typing trays Lot. No.152-153 บริษัท Pel-Freez, USA

buffy coat ใส่หลอดขนาด 15 มล. เจือจางด้วย PBS pH 7.2 อัตราส่วน 1: 5 นำเลือดที่เจือจางแล้วประมาณ 10 มล. มาoverlay ลงในหลอดขนาด 15 มล. ที่มี น้ำยา Isoprep 3 มล. ปั่นที่ 2,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที ดูดชั้นmononuclear cell ใส่หลอด ขนาด 15 มล. ปั่นล้างเซลล์ด้วย PBS pH 7.2 โดยปั่นที่ 1,200 รอบต่อ นาที นาน10 นาที จำนวน 2 ครั้ง ปรับเซลล์ลิ้มโฟซัยท์ให้มีความเข้มข้น 2,000 เซลล์/ไมโครลิตร ด้วย 5% heat inactivated fetal calf serum (HIFCS) ในน้ำยา McCoy's

การทดสอบ HLA-A, -B antigen โดยวิธีซีโรโลยี

นำ HLA-A, -B typing trays จากตู้แช่แข็ง -70 °ซ

มาละลายที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำเซลล์ลิ้มโฟซัยท์ที่ปรับความเข้มข้นแล้ว มาหยดลงใน HLA-A,-B typing trays โดยใช้ single dispensing syringe ขนาด 50 ไมโครลิตร หยดเซลล์หลุมละ 1 ไมโครลิตร incubate ส่วนผสมของเซลล์และซีรั่มนาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้น หยด 5 ไมโครลิตร ของ rabbit complement ทุกหลุมแล้ว incubate ต่อไปนาน 60 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบเวลา หยดสี Stain fix 10 ไมโครลิตร ลงไปทุกหลุม เพื่อย้อมเซลล์และหยุดปฏิกิริยา

การอ่านผล

อ่านผลโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิด inverted phase contrast โดยเทียบดูจากเปอร์เซ็นต์เซลล์ตายซึ่งมี

ตารางที่ 2 ความจำเพาะของแอนติซีรั่มต่อ HLA-B ใน typing trays

HLA-B	DCH	Terasaki	Pel-Freez	HLA-B	DCH	Terasaki	Pel-Freez
locus sera	Oriental			locus sera	Oriental		
B51	✓	✓	✓	B21(50)	✓	✓	✓
B52	✓	✓	✓	B54	✓	✓	✓
B53	✓	✓	✓	B55	✓	✓	✓
B7	✓	✓	✓	B56	✓	✓	✓
B8	✓	✓	✓	B27	✓	✓	✓
B44	✓	✓	✓	B35	✓	✓	✓
B45	✓	✓	✓	B37	✓	✓	✓
B13	✓	✓	✓	B60	✓	✓	✓
B14	✓	✓	✓	B61	✓	✓	✓
B62	✓	✓	✓	B48	✓	✓	✓
B63	✓	✓	✓	B46	✓	✓	✓
B75	✓	✓	✓	B47	✓	✓	✓
B76	✓	✓	✓	B41			✓
B77	✓	✓		B42		✓	✓
B38	✓	✓	✓	B59		✓	✓
B39	✓	✓	✓	B71		✓	✓
B67	✓	✓	✓	B72		✓	
B57	✓	✓	✓	B73			✓
B58	✓	✓	✓	B78			✓
B18	✓	✓	✓	B81		✓	✓
B49	✓	✓	✓	B82		✓	

DCH = HLA-A,-B typing trays Lot. No. 9543-0301 ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

Terasaki Oriental =HLA-A,-B typing trays Lot. No. 22-24 บริษัท One Lambda, Inc., USA

Pel-Freez =HLA-A,-B typing trays Lot. No.152-153 บริษัท Pel-Freez, USA

ลักษณะบวม ขนาดใหญ่ ติดสีทึบ ในขณะที่เซลล์มีชีวิต จะมีขนาดเล็ก วาวและไม่ติดสี การให้คะแนนผลการทดสอบแสดงไว้ในตารางที่ 3

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

ผล HLA-A และ -B antigens ที่ได้นำมาคำนวณ gene frequencies (GFs) ซึ่งมีสูตรคือ $GF = 1-(1-f)^{1/2}$ โดย f คือ ความถี่ของ HLA antigen

ผลการศึกษา

จากข้อมูลตั้งแต่เมษายน 2545 ถึงมีนาคม 2546 มี

ตารางที่ 3 การให้คะแนนผลการทดสอบตามมาตรฐานของ American Society for Histocompatibility and Immunogenetics (ASHI)¹³

เปอร์เซ็นต์เซลล์ตาย	คะแนน	การแปลผล
0-10	1	Negative
11-20	2	Doubtful Negative
21-50	4	Weak Positive
51-80	6	Positive
81-100	8	Strong positive
	0	Not Readable

อาสาสมัครเข้าร่วมโครงการบริจาคเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตจำนวน 1,652 ราย พบว่าตรวจพบแอนติเจนของ HLA-A 26 ชนิด และ HLA-B 43 ชนิด โดยแอนติเจนที่พบบ่อยในกลุ่มที่ทำการศึกษามีได้แก่ HLA-A2 (27.57%), -A11 (26.66%), -A24 (17.37%) และ -A33 (14.41%) และ HLA-B46 (12.22%), -B60 (10.74%) และ -B13 (8.13%) ตามลำดับ แอนติเจนที่พบน้อยได้แก่ HLA-A23 (0.09%), -A25 (0.03%) และ -A80 (0.03%) สำหรับแอนติเจนของ HLA-B ที่พบน้อย ได้แก่ HLA-B45 (0.06%), -B47 (0.06%), -B41 (0.03%) และ -B49 (0.03%) ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4

เมื่อศึกษาในกลุ่มแอนติเจนที่พบได้น้อยในคนไทย โดยดูจากนํ้ายาแอนติซีรั่มที่บรรจุใน HLA-A,-B typing tray ของแต่ละบริษัท สำหรับ HLA-A นั้นพบว่า HLA-A23 ที่ตรวจพบ 3 รายนั้น สามารถตรวจแยกชนิดได้โดยใช้นํ้ายาทั้ง 3 บริษัท HLA-A25 ตรวจพบ 1 ราย โดยนํ้ายาบริษัท One Lambda, Inc., USA ซึ่งแอนติเจน A25 สามารถตรวจแยกชนิดได้โดยใช้นํ้ายาทั้ง 3 บริษัทเช่นเดียวกัน และ HLA-A80 ตรวจพบ 1 ราย โดยนํ้ายาบริษัท Pel-Freez, USA ซึ่งแอนติเจนนี้ไม่สามารถตรวจแยกชนิดได้โดยใช้นํ้ายาอีก 2 บริษัท ดังแสดงในตารางที่ 1

สำหรับ HLA-B แอนติเจนที่พบได้น้อยในคนไทย ได้แก่ HLA-B45, -B47, -B49 และ -B67 สามารถตรวจแยกชนิดได้โดยใช้นํ้ายาทั้ง 3 บริษัท แต่ HLA-B41 ที่ตรวจพบ 1 ราย โดยนํ้ายาบริษัท Pel-Freez, USA นั้นไม่สามารถตรวจแยกชนิดได้โดยใช้นํ้ายาอีก 2 บริษัท ดังแสดงในตารางที่ 2 ทั้งนี้เนื่องจากนํ้ายาของภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาลและบริษัท One Lambda, Inc., USA มีความจำเพาะกับแอนติเจนที่พบบ่อยในคนไทยและคนไทยเชื้อเท่านั้น

วิจารณ์

ห้องปฏิบัติการ HLA ฝ่ายห้องปฏิบัติการร่วมกับองค์การอนามัยโลก ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ได้เริ่มทำการตรวจ HLA-A และ -B typing ให้กับผู้บริจาคโลหิตที่สมัครเข้าร่วมโครงการบริจาคเซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกหรือกระแสโลหิต ในกรณีที่ผู้บริจาคโลหิตไม่ใช่ญาติของผู้ป่วย และเก็บข้อมูลของ HLA antigens เข้าโปรแกรมคอมพิวเตอร์ เพื่อเป็นข้อมูลในการคัดเลือกผู้บริจาคเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตที่เหมาะสมกับผู้ป่วยตั้งแต่เมษายน 2545 โดยมีอาสาสมัครบริจาคเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตเข้าร่วมโครงการจนถึงมีนาคม 2546 จำนวน 1,652 ราย

เมื่อศึกษา GFs ของ HLA antigens พบว่า HLA-A ที่พบได้บ่อยคือ -A2, -A24, -A11 และ -A33 ส่วนใน HLA-B ได้แก่ -B46, -B60 และ -B13 สำหรับในประเทศไทยกลุ่ม HLA-A2 พบความถี่สูงในกลุ่มคนไทยภาคเหนือ (NT)¹⁴ ในขณะที่ HLA-A33 จะพบความถี่สูงในกลุ่มคนไทยภาคกลาง (PDT) มากกว่ากลุ่มคนไทยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (NE Thais)^{15,16} HLA-B22 พบความถี่สูงในกลุ่ม NE Thais และ HLA-B46 พบความถี่สูงในกลุ่ม NT แต่ไม่พบในกลุ่มคนไทยมุสลิมที่ได้มีรายงานไว้¹⁷ ความแตกต่างกันของ GFs ของแอนติเจนชนิด A และ B อาจเกิดจากความแตกต่างของนํ้ายาแอนติซีรั่มที่ใช้ในการทดสอบแต่ละครั้ง ลักษณะและภูมิลาเนาประชากรที่ทำการศึกษา และความแตกต่างของวิธีการทดสอบทำให้การเรียกชื่อของแอนติเจนไม่เหมือนกันแต่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน¹⁸ ได้แก่ B62, B63, B75, B76, B77 เป็น split antigens ของ B15 สำหรับในกลุ่ม NE Thais แอนติเจนของ B15 เมื่อทำการศึกษาเพิ่มเติมด้วย DNA typing สามารถจำแนกเป็น HLA-B75 (8.9%) และ HLA-B62 (4.08%)¹⁹

สำหรับแอนติเจนของ A2 และ A11 นั้น เฉพาะนํ้ายา HLA typing tray ที่ผลิตในประเทศไทยเท่านั้นที่สามารถแยก split antigens ของ A203 จาก A2;

ตารางที่ 4 HLA-A, B gene frequencies ในอาสาสมัครบริจาคเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต 1,652 ราย

HLA-A	GFs (%)	HLA-B	GFs (%)	HLA-B	GFs (%)
A1	2.57	B5	0.15	B58	7.34
A2	25.09	B51	4.37	B18	3.77
A203	2.48	B52	2.58	B21	0.12
A3	1.43	B7	2.67	B49	0.03
A9	0.06	B8	0.51	B50	0.09
A23	0.09	B12	0.03	B22	0.15
A24	16.89	B44	4.78	B54	1.9
A2403	0.48	B45	0.06	B55	1.8
A10	0.03	B13	8.13	B56	1.09
A25	0.03	B14	0.12	B27	3.05
A26	2.04	B15	0.73	B35	4.72
A34	0.85	B62	5.17	B37	0.63
A66	0.03	B63	0.24	B40	0.12
A11	12.04	B75	7.24	B60	10.74
A11.1	13.01	B76	0.33	B61	2.45
A11.2	1.61	B77	0.21	B41	0.03
A19	0.24	B70	0.06	B46	12.22
A29	0.42	B16	0.09	B47	0.06
A30	1.74	B38	3.52	B48	1.00
A31	1.24	B39	2.39	B53	0.09
A32	0.42	B17	0.51	B67	0.15
A33	14.41	B57	1.65	ABL	5.94
A74	0.12				
A80	0.03				
A28	1.21				
ABL	9.1				

ABL= HLA-A Unknown specificities, BBL= HLA-B Unknown specificities

A2403 จาก A24 และ A11.1, A11.2 จาก A11 ได้ รวมทั้งสามารถแยก B60, B61 จาก B40 และ B62, B63, B75, B76, B77 จาก B15 ได้ แต่แอนติเจนที่หายากเช่น A68, A69, B71, B72, B81, B82, B42 และ B78 ไม่สามารถตรวจแยกชนิดได้ด้วยเทคนิคซีโรโลยีโดยใช้น้ำยาจากบริษัทเดียวกัน

เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาในกลุ่มผู้บริจาคโลหิตประจำ ซึ่งไม่ได้ทำการคัดแยกภูมิลาเนาจากประวัติครอบครัวและจำนวนหนึ่งมาจากครอบครัวเดียวกันและอาจมีเชื้อชาติอื่นปะปนอยู่ การตรวจแอนติเจนของ HLA โดยใช้ HLA-A,-B typing tray ชนิดที่จำเพาะกับคนไทยหรือคนเอเชียเท่านั้น อาจไม่สามารถจำแนกชนิดของ HLA ที่พบน้อยได้เพราะไม่มีแอนติซีรั่มที่ครอบคลุมเพียงพอ เช่น HLA-A80 และ HLA-B41 นอกจากนี้การตรวจ HLA-A และ -B antigens ด้วยเทคนิคซีโรโลยียังมีข้อจำกัดในกรณีของ A blank และ B blank คือสรุปไม่ได้ว่าเป็น homozygous หรือ heterozygous การนำเทคนิค DNA typing มาช่วยในการสรุปและยืนยันผล ทำให้ผลการตรวจมีความแม่นยำขึ้น^{17,19} เนื่องจากประชากรที่ทำการศึกษา GFs ในครั้งนี้มีจำนวนมากกว่าในการศึกษาที่ผ่านมาทำให้สามารถตรวจพบแอนติเจนของ HLA ที่พบได้น้อยในคนไทยและคนเอเชีย^{9,11} เช่น A23, A25, A80 และ B45, B47, B49, B41 และ B67

จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า ในประเทศไทยการที่จะเพิ่มโอกาสให้แก่ผู้ป่วยที่รอรับการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต จำเป็นที่จะต้องรณรงค์หาผู้บริจาคที่เหมาะสมให้มีจำนวนมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ผู้ป่วยมี HLA antigens ชนิดที่หายาก

เอกสารอ้างอิง

1. Marks D. Allogeneic transplantation for leukaemia using unrelated donors. *Best Pract Res Clin Haematol* 2001;14:793-805.
2. Hongeng S, Hathirat P, Chuansumrit A, et al. Matched unrelated donor and nonmyeloblastic stem cell transplantation in thalassemia. *การประชุมสัมมนาวิชาการราชวิทยาลัยแพทยศาสตร์ครั้งที่ 7*, 2544:121-6.
3. John A, Hansen MD, Theodore A, et al. Bone marrow transplants from unrelated donor for patients with chronic myeloid Leukemia. *N Eng J Med* 1998;338:962-8.
4. Kernan NA, Bartsch G, Ash RC, et al. Analysis of 462 transplantations from unrelated donor facilitated by the National Marrow Donor Program. *N Eng J Med* 1993;328:593-7.
5. Hurley CK, Fernandez Vina M, Setter Holm M. Maximizing optimal hematopoietic stem cell donor selection from registries of unrelated adult volunteers. *Tissue Antigens* 2003;61:415-24.
6. Nathalang O, Arnutti P, Prayoonwivat W, Krutvecho T, Sriphaisal T. Donor selection in families for allogeneic bone marrow transplantation. *Intern Med J Thai* 2002;18:32-4.
7. Peterdorf EW, Gooly TA, Anasetti C, et al. Optimizing outcome after unrelated marrow transplantation by comprehensive matching of HLA class I and II alleles in the donor and recipient. *Blood* 1998;92:3515-20.
8. A Physician's Guide to the National Marrow Donor Program; National Marrow Donor Program, Minneapolis, 1997.
9. Kodaera Y, Morishima Y, Kato S, et al. Analysis of 500 bone marrow transplants from unrelated donors (UR-BMT) facilitated by the Japan Marrow Donor Program: confirmation of UR-BMT as a standard therapy for patients with leukemia and aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant* 1999;24:995-1003.
10. Shaw CK, Lin CL, Li CC, Lee TD, Tseng WP. Marrow donor registry and bone marrow transplantation from unrelated donors in Taiwan: initial experience of the Tzu Chi Taiwan Marrow Donor Registry (TCTMDR). *Bone Marrow Transplant* 1999;23:727-30.
11. Oh HB, Kim SI, Park MH, Akasa T, Juji T. Probability of finding HLA-matched unrelated marrow donors for Koreans and Japanese from the Korean and Japan Marrow Donor Programs. *Tissue Antigens* 1999;53:347-9.

12. ไตรโรจน์ คุรุเวช. โครงการรับบริจาคเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตจากผู้บริจาค. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2545;12:191-5.
13. Hopkins KA. The basic lymphocyte microcytotoxicity tests. In: Phelan DL, Mickelson EM, Noreen HS, eds. American society for histocompatibility and immunogenetics laboratory manual. 3th ed. IB1.1 -IB 1.13.
14. Fonsatikul L, Nantachit N, Kamthorn N, Leetrakool N. HLA Gene Frequencies of Northern Thais. J Med Assoc Thai 1997;80(suppl 1):S38-2.
15. Chandanayingyoung D, Stephens AFH, Klaythong R, et al. HLA-A, -B, -DRB1, -DQB1 Polymorphism in Thais. Human Immunol 1997;53:174-82.
16. Romphruk A, Burusrux S, Puapairoj C, Urwijitaroon Y, Romphruk A, Leelayuwat C. Distribution of HLA-A and B antigens in Thais. J Med Assoc Thai 1996; 79:732-6.
17. 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.
18. Marsh S, Albert ED, Bodmer WF, et al. Nomenclature for factors of the HLA system, 2002. Eur J Immunogenet 2002;29:463-515.
19. Romphruk A, Leelayuwat C, Barusrux S, Puapairoj C, Romphruk A, Urwijitaroon Y. DNA typing of the HLA-A, -B and -C Gene: Possible MHC Class I Haplotypes in Northeastern-Thais. J Med Assoc Thai 1997;80 (suppl 1):S14-9.

Distribution of HLA-A and -B antigens in the National Stem Cell Donor Registry Program

Sirilak Phiancharoen, Pawinee Kupatawintu, Oytip Nathalang*,

Pornthip Rattajak, Araya Tatawatorn and Rachanee O-Charoen

National Blood Centre, Thai Red Cross Society *Department of Pathology, Phramongkutklao College of Medicine, Bangkok, Thailand

Abstract: In April 2002, the National Blood Centre, Thai Red Cross Society under control of the Medical Council Association established the Thai National Stem Cell Donor Registry Program, to facilitate the recruitment of unrelated stem cell donors into the donor's pool and search for a suitable donor for patients who lack the HLA identical sibling. From April 2002 to March 2003, 1,652 blood samples were collected from unrelated stem cell volunteer donors at the National Blood Centre, Thai Red Cross Society. HLA-A and -B antigens were typed by standard microlymphocytotoxicity test. This study found 26 HLA-A and 43 HLA-B antigens. HLA-A2 (27.57%), HLA-A11 (26.66%), HLA-A24 (17.37%), HLA-A33 (14.41%) and HLA-B46 (12.22%), HLA-B60 (10.74%), HLA-B13 (8.13%) were the most common. The less common gene frequencies were HLA-A23 (0.09%), HLA-A25 (0.03%), HLA-A80 (0.03%) and HLA-B45 (0.06%), HLA-B47 (0.06 %), HLA-B41 (0.03%) and HLA-B49 (0.03%). HLA-B42 and -B78 were not found. When comparing these frequencies with different Thai groups, HLA-A2, -A24, -A11, -A33 and -B46, -B60 and -B13 were found to be relatively common. Although there were some differences among HLA frequencies, this may be due to the fact that the family members of some subjects were included in this study, while the subjects in other ethnic group studies were random and unrelated, in addition to the different antisera used for testing and different population studies. Furthermore, the increase of stem cell volunteer donors provides a wide opportunity for stem cell transplantation for patients with rare HLA antigens.

Key Words : ● Human leukocyte antigen ● Unrelated stem cell donors

Thai J Hematol Transf Med 2004;14:171-9.

ศติธรรมนำกำจัดจุดอ่อน

ศติดี ขุดดี ทำดี กบเขื่อนดี
ไปสู่สถานที่ดี โศคติแน่นนอน

พระครูปริยัติปัญญาวุธ
วัดโศกงาม อ.ด่านซ้าย จ.เลย