

บทความพิเศษ

Chido/Rodgers Blood Group System

ภาวิณี คุปตวินทุ¹ และ อ้อยทิพย์ ณ กลาง²

¹ห้องปฏิบัติการพิเศษ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ²ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ปัจจุบัน International Society of Blood Transfusion (ISBT) ได้กำหนดหมู่โลหิตระบบต่างๆ ทั้งหมดไว้ 30 ระบบ และมีหมู่โลหิต 24 ระบบที่เป็น protein-based ซึ่งขึ้นอยู่กับ orientation และการ assembly กับผิวเม็ดโลหิตแดง โดยแบ่งได้เป็น 4 แบบ คือ แบบที่ 1 Single pass จำนวน 10 ระบบ แบบที่ 2 Multi-pass จำนวน 9 ระบบ แบบที่ 3 Glycosylphosphatidylinositol-linked จำนวน 4 ระบบ และแบบที่ 4 Adsorbed from the plasma จำนวน 1 ระบบ^{1,2} สำหรับหมู่โลหิต Chido/Rodgers (CH/RG) หรือ ISBT 017 นั้นแอนติเจนของหมู่โลหิตระบบนี้ไม่ได้สร้างจากเม็ดโลหิตแดง แต่เป็นแอนติเจนที่เป็นโปรตีนสร้างจากส่วนของคอมพลีเมนต์ (complement) ในพลาสมา คือ C4d แล้ว adsorb ขึ้นมาอยู่บนผิวของเม็ดโลหิตแดง ประกอบด้วยแอนติเจน 9 ชนิด คือ Ch1, Ch 2, Ch3, Ch4, Ch5, Ch6 (CH/RG1-CH/RG6), Rg1 (CH/RG11) และ Rg2 (CH/Rg12) ซึ่งประชากรส่วนใหญ่พบแอนติเจนกลุ่มนี้ได้มากกว่า 90% ส่วน WH (CH/RG7) เป็นแอนติเจนที่พบได้ประมาณ 15%^{2,3} แอนติบอดีของหมู่โลหิตระบบนี้คือ anti-Ch และ anti-Rg เป็นแอนติบอดีชนิด IgG ที่สร้างจากผู้ที่เป็น Ch/Rg null (Ch/Rg-) ซึ่งพบได้ประมาณ 3% ในผู้บริจาคโลหิต⁴

Clinical significance of Chido/Rodgers System

การค้นพบหมู่โลหิตระบบ Chido/Rodgers นั้น ได้มีรายงานการพบ anti-Ch ในซีรัมผู้ป่วยตั้งแต่ปี ค.ศ. 1962 โดย คณะผู้วิจัยทั้งที่ Minneapolis และลอนดอน พบว่า ในการทำ crossmatch ซีรัมผู้ป่วยเกิดปฏิกิริยาจับกลุ่มกับเม็ดโลหิตแดงของคนส่วนใหญ่ แต่ไม่เกิดปฏิกิริยาจับกลุ่มกับเม็ดโลหิตแดงของ panel cells ที่มาจากลอนดอน หลังจากนั้นได้พบตัวอย่างซีรัมผู้ป่วยที่มีปฏิกิริยาจับกลุ่มกับเม็ดโลหิตแดงลักษณะเดียวกันอีก 6 ตัวอย่างจึงตั้งชื่อแอนติบอดีนี้ว่า anti-Chido ซึ่งได้รายงานโดย Harris และคณะ ในปี ค.ศ. 1967⁵ แอนติบอดีนี้ทำให้เกิดปัญหาในการตรวจหาโลหิต ผู้บริจาคที่เข้ากันได้กับผู้ป่วย ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อทดสอบซีรัมผู้ป่วยกับเม็ดโลหิตแดงของผู้บริจาคจะเกิดปฏิกิริยาจับกลุ่มที่ indirect antiglobulin test (IAT) เสมอ เดิมเชื่อว่าแอนติบอดีอาจมีคุณสมบัติเป็นทั้งแอนติบอดีต่อเม็ดโลหิตแดงและเม็ดโลหิตขาว เพราะ

จากผลการทดสอบบางครั้งพบว่า แอนติบอดีถูก adsorb ได้ด้วยเม็ดโลหิตขาว⁶ แต่จากการศึกษาต่อมาพบว่าหมู่โลหิตระบบนี้ไม่มีความสัมพันธ์กับ human leukocyte antigens (HLA)⁷

ต่อมาตรวจพบ anti-Ch เพิ่มขึ้นในซีรัมผู้ป่วยหลายราย และเชื่อว่าแอนติบอดีที่พบในซีรัมผู้ป่วยเหล่านี้ไม่ทำให้เม็ดโลหิตแดงของผู้บริจาคที่มี Chido antigen แตกในร่างกายผู้ป่วย ในปี ค.ศ. 1972 Middleton และ Crookston ได้รายงานว่า ปฏิกิริยาจับกลุ่มของแอนติบอดีกับเม็ดโลหิตแดงของผู้บริจาคหายไป เมื่อเติมพลาสมาของคนปกติลงไป ซึ่งเชื่อว่าในพลาสมาที่เติมไปนั้นอาจมี Chido antigen จึงเป็นที่มาของการทำ neutralization test ที่ใช้ในการตรวจหา Chido antigen⁸ วิธีนี้ช่วยให้แยก anti-Chido ออกจากแอนติบอดีชนิดอื่นที่เป็น high titer low avidity (HTLA) เช่น Knops, Cs^a และ Yk^a ได้ แต่มีรายงานต่อมาว่า anti-Yk^a สามารถถูก inhibit เมื่อทำ plasma inhibition test⁹

แอนติบอดีอีกชนิดหนึ่งที่มีรายงานในปี ค.ศ. 1976 เป็นแอนติบอดีที่ถูก neutralized ได้ด้วยพลาสมา เช่นเดียวกันคือ anti-Rodgers (anti-Rg) แอนติบอดีนี้พบในซีรัมผู้ป่วยที่เคยได้รับโลหิตซึ่งตรวจพบ anti-E ในซีรัมและพบ anti-Rg ทำปฏิกิริยาจับกลุ่ม (4+) กับเม็ดโลหิตแดงของผู้บริจาคที่มีแอนติเจน E- โดยที่ไม่สอดคล้องกับปฏิกิริยาของแอนติบอดีชนิดที่เป็น low avidity¹⁰ จากการศึกษาเพิ่มเติมด้วย plasma neutralization test ในผู้บริจาคโลหิต พบว่าประมาณ 3% ของผู้บริจาคที่เม็ดโลหิตแดงไม่สามารถยับยั้งแอนติบอดีนี้ได้เรียกว่า Rodgers negative แต่ก็พบผู้บริจาคบางรายที่เป็น partial inhibitors ซึ่งพบลักษณะของ partial inhibitors ของ Chido antigen ได้เช่นกัน อาจเกิดจาก inherited trait ดังนั้นในการทดสอบ inhibition test จึงได้มีการแนะนำให้ใช้ pooled inert plasma แทนการใช้ single plasma เพื่อให้ได้แอนติเจนครบในการทำ neutralization test^{11,12} ในช่วงแรกเชื่อว่า Rodgers มีความสัมพันธ์กับ HLA แต่ต่อมาในปี ค.ศ. 1976 พบว่า ทั้ง Chido และ Rodgers มีความสัมพันธ์กับโปรตีนของคอมพลีเมนต์ (C4) ในส่วนของ C4d^{13,14} การตรวจพบปริมาณของ C4d ได้น้อยบนผิวเม็ดโลหิตแดงอาจเป็นเพราะคุณสมบัติที่เป็น low avidity

ของ anti-Ch หรือ anti-Rg แต่หากทำปฏิกิริยาในภาวะ low ionic แอนติบอดีทั้งสองชนิดจะเกิดปฏิกิริยาแรงขึ้น¹⁵ สำหรับการเกิด partial inhibition ของปฏิกิริยาแอนติเจนและแอนติบอดีของหมู่โลหิตทั้ง Chido และ Rodgers นั้น เกิดจากความหลากหลาย (polymorphism) ของ C4 genes ซึ่งมีอัลลีลหลายชนิดที่ส่งผลต่อ Ch หรือ Rg determinants

การเกิดปฏิกิริยาไม่เพียงประสงค์ในผู้ป่วยที่มี anti-Chido/Rodgers เมื่อได้รับโลหิตของผู้บริจาคที่มีแอนติเจนตรงกับแอนติบอดีนั้นพบได้น้อย แต่มีรายงานผู้ป่วยที่เกิดปฏิกิริยา anaphylaxis หลังจากได้รับโปรตีนในพลาสมาของ pooled platelets โดยที่ตรวจพบ anti-Ch ในซีรัมของผู้ป่วยและเมื่อใช้ saline-suspended platelets ปฏิกิริยาดังกล่าวหายไป¹⁶ นอกจากนี้ มีรายงานผู้ป่วยที่เกิด severe transfusion reaction หลังจากได้รับพลาสมาและ prothrombin complex concentrate ผู้ป่วยรายนี้ไม่เคยได้รับโลหิตและตรวจพบ anti-Rg เท่านั้น¹⁷ ผู้ป่วยทั้งสองรายไม่พบ anti-IgA หรือแอนติบอดีต่ออิมมูโนโกลบูลินชนิดอื่น ดังนั้น การตรวจพบ anti-Chido/Rodgers ในซีรัมของผู้ป่วยอาจใช้เป็นข้อควรระวังสำหรับการให้พลาสมาหรือส่วนประกอบโลหิตที่มีส่วนผสมของพลาสมา แต่การให้เม็ดโลหิตแดงไม่ทำให้เกิดปฏิกิริยาอันไม่พึงประสงค์ชนิด hemolytic transfusion reactions^{2,7}

ลักษณะโครงสร้างของแอนติเจนและยีนหมู่โลหิตระบบ Chido/Rodgers

แอนติเจน Chido/Rodgers เกิดจากความหลากหลายของคอมพลีเมนต์ C4 บน exon 25, 26 และ 28 ของยีน C4 ซึ่งประกอบด้วย 2 ส่วน (Isotype) คือ C4A และ C4B แอนติเจน Chido ส่วนใหญ่พบอยู่บนโปรตีน C4B แอนติเจน Rodgers ส่วนใหญ่พบอยู่บนโปรตีน C4A¹⁸⁻²⁰ ซึ่งความแตกต่างของแอนติเจน Chido/Rodgers เกิดจากความแตกต่างของกรดอะมิโนที่เรียกว่า Single-Nucleotide Polymorphism (SNP) บนคอมพลีเมนต์²¹ ในกระบวนการสร้างคอมพลีเมนต์ของเซลล์ตับสามารถเกิดความ

แตกต่างของปริมาณโปรตีน C4 ที่หลั่งออกจากเซลล์ตับมาอยู่ในพลาสมา ทำให้เกิดการหลังคอมพลีเมนต์ C4A ได้น้อยกว่า C4B หรือ C4A มากกว่า C4B หรือ ในปริมาณที่เท่ากัน ขึ้นกับความแตกต่างของแต่ละบุคคล²² ผู้ที่ไม่มีการสร้างคอมพลีเมนต์ C4A มีโอกาสที่จะสร้าง anti-Rg ส่วนผู้ที่มีการสร้างคอมพลีเมนต์ C4B มีโอกาสที่จะสร้าง anti-Ch และผู้ที่อยู่ในภาวะขาดคอมพลีเมนต์ C4 จะไม่พบทั้งแอนติเจน Chido/Rodgers ในปี ค.ศ. 1989 Giles CM²³ ได้ศึกษาเพื่อหาแอนติเจน Chido/Rodgers โดยการสุ่มตัวอย่างประชากรทั่วไป จากการศึกษานับ Ch: 1, 2, 3; 88.2% และ Rg: 1, 2; 95% ดังแสดงใน Table 1

การตรวจแอนติเจนและแอนติบอดีของหมู่โลหิตระบบ Chido/Rodgers

การตรวจหาแอนติเจนของหมู่โลหิตระบบ Chido/Rodgers จำเป็นต้องมีแอนติซีรัมจากผู้บริจาคคอมพลีเมนต์ C4 และมีการสร้างแอนติบอดีหลังจากได้รับโลหิตของผู้ที่มีแอนติเจน Chido/Rodgers จึงเป็นข้อจำกัดในการตรวจหาแอนติเจน เนื่องจากแอนติซีรัมไม่มีจำหน่ายโดยบริษัทผู้ผลิตน้ำยาสำเร็จรูป ในปี ค.ศ. 1994 Barba GM และคณะ²⁰ ได้พัฒนาการตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์ (polymerase chain reaction-sequence specific primer; PCR-SSP) สำหรับตรวจหา ยีนของ Chido/Rodgers แต่ไม่ได้รับความนิยม เนื่องจากต้องใช้วิธี nested-PCR ที่ค่อนข้างยุ่งยาก ปัจจุบันจึงนิยมตรวจหาแอนติเจนโดยทดสอบเม็ดโลหิตแดงกับแอนติซีรัมจากผู้บริจาคที่มี anti-Ch/Rg

สำหรับการตรวจหาแอนติบอดีต่อหมู่โลหิตระบบ Chido/Rodgers มีข้อสังเกตได้คือ แอนติบอดีจะทำปฏิกิริยาที่ไม่ค่อยแรงกับทุกเซลล์ที่ IAT และปฏิกิริยาจะลดลงเมื่อทดสอบกับน้ำยา low ionic strength solution (LISS) หรือ polyethylene glycol (PEG) นอกจากนี้เอนไซม์บางชนิด เช่น papain หรือ ficin จะทำลายแอนติเจนดังกล่าวได้ แต่แอนติเจนจะไม่ถูกทำลายด้วย 200 mM Dithiothreitol (DTT) โดยทั่วไปสามารถตรวจยืนยันแอนติบอดีต่อ

Table 1 Prevalence of Chido/Rodgers phenotypes in random samples²³

Chido antigens	Prevalence	Rodgers antigens	Prevalence
CH:1, 2, 3	88.2%	RG:1, 2	95%
CH:1, -2, 3	4.9%	RG:1, -2	3%
CH: 1, 2, -3	3.1%	RG:-1, 2	2%
CH:-1, -2, -3	3.8%		
CH:-1, 2, -3	rare		
CH:1, -2, -3	rare		

หมู่โลหิตระบบ Chido/Rodgers โดยใช้วิธี plasma inhibition²⁴ และ C4-coated red blood cells¹⁵ ทั้งสองวิธีจะมีหลักการทดสอบแตกต่างกัน คือ

1) วิธี plasma inhibition เป็นการทดสอบโดยนำพลาสมาของคนปกติซึ่งมีองค์ประกอบของคอมพลีเมนต์ C4 ทำปฏิกิริยา neutralization กับพลาสมาผู้ป่วย เพื่อทำลายแอนติบอดีต่อ Chido/Rodgers ก่อน แล้วจึงทดสอบกับเม็ดโลหิตแดงที่มีแอนติเจน Chido/Rodgers เปรียบเทียบปฏิกิริยาที่ IAT ระหว่างพลาสมาผู้ป่วยที่ incubate กับพลาสมาคนปกติ กับพลาสมาผู้ป่วยที่ incubate กับ 6% อัลบูมิน จะพบว่าพลาสมาที่มีแอนติบอดีต่อหมู่โลหิตระบบ Chido/Rodgers จะไม่เกิดปฏิกิริยาจับกลุ่มของเม็ดโลหิตแดงเมื่อทดสอบร่วมกับพลาสมาคนปกติ ในขณะที่พลาสมาที่ incubate กับ 6% อัลบูมิน จะเกิดปฏิกิริยาจับกลุ่มของเม็ดโลหิตแดงเสมอ

2) วิธี C4-coated red cells เป็นการเพิ่มความแรงของแอนติเจน Chido/Rodgers บนผิวเซลล์เม็ดโลหิตแดงโดย incubate เม็ดโลหิตแดงกับพลาสมาคนปกติซึ่งมีองค์ประกอบของคอมพลีเมนต์ C4 ก่อนการทดสอบ ทำให้เพิ่มความแรงของปฏิกิริยาการจับกลุ่ม เมื่อทดสอบเปรียบเทียบปฏิกิริยา IAT ระหว่างเม็ดโลหิตแดงปกติกับเม็ดโลหิตแดงที่ coated ด้วย C4 จะพบว่า พลาสมาที่มีแอนติบอดีต่อหมู่โลหิตระบบ Chido/Rodgers จะให้ปฏิกิริยาแรงขึ้นเมื่อทดสอบกับเม็ดโลหิตแดงที่ coated ด้วย C4

สำหรับการทดสอบเพื่อแยกชนิดของ anti-Chido กับ anti-Rodgers จำเป็นต้องใช้ red cell panel ที่มีแอนติเจน Ch-, Rg+ และ Ch+, Rg- ในการทดสอบ โดยต้องทำความเข้าใจการทดสอบชนิดของแอนติเจน Chido/Rodgers บนเม็ดโลหิตแดงผู้ป่วยเพื่อช่วยในการแปลผลเสมอ

การจัดหาโลหิตให้กับผู้ป่วยที่พบแอนติบอดีต่อหมู่โลหิต Chido/Rodgers

กรณีที่ผู้ป่วยสร้างแอนติบอดีต่อหมู่โลหิตระบบ Chido/Rodgers ซึ่งเป็นแอนติบอดีในกลุ่มที่ไม่มีความสำคัญทางคลินิกในการให้เม็ดโลหิตแดง เนื่องจากไม่มีรายงานการเกิด red cell hemolysis จากโลหิตที่ให้ผู้ป่วย^{2,7} ดังนั้นการให้โลหิตที่มีผลการทดสอบความเข้ากันได้เป็น incompatible crossmatch จึงสามารถทำได้ แต่มีข้อควรระวังคือ ในซีรัมผู้ป่วยต้องไม่มีแอนติบอดีต่อหมู่โลหิตระบบอื่นร่วมด้วย ซึ่งต้องมีการทดสอบเพิ่มเติมกับ extra panel cells ภายหลังจากการ adsorption แอนติบอดีของ Chido/Rodgers ด้วย autologous red blood cells ซึ่ง coated ด้วย homologous C4²⁵ เพื่อแยก anti-Chido/Rodgers ออกจากแอนติบอดีของ high frequency antigens ของหมู่โลหิตระบบอื่น

สรุป

การตรวจแอนติเจนและแอนติบอดีของหมู่โลหิตระบบ Chido/Rodgers นั้น ถึงแม้ว่าจะไม่ได้เป็นการตรวจประจำเช่นเดียวกับการตรวจหมู่โลหิตระบบ ABO และ Rh แต่ในกรณีที่ผู้ป่วยสร้างแอนติบอดีต่อหมู่โลหิต Chido/Rodgers ทางการแพทย์อาจเกิดปัญหาในการทดสอบเพื่อเตรียมโลหิตของผู้บริจาคที่เข้ากันได้กับผู้ป่วย ทำให้ผู้ป่วยต้องรอโลหิตที่เหมาะสมนาน แต่อย่างไรก็ตาม การให้โลหิตแก่ผู้ป่วยที่มีแอนติเจน Chido/Rodgers ยังคงมีความปลอดภัย เพราะปฏิกิริยาอันไม่พึงประสงค์จากการรับโลหิตโดยเฉพาะพลาสมาที่เกิดจากแอนติเจนและแอนติบอดีของหมู่โลหิตระบบ Chido/Rodgers นั้นพบได้น้อย

เอกสารอ้างอิง

1. Reid ME. ISBT Scientific Series – State of the Art Invited speaker Protein blood group systems: Berlin and beyond. ISBT Science Series 2012;7:41-3.
2. Daniels G. Other blood groups. In: Roback JD, Combs MR, Grossman BJ, Hillyer CD, eds. Technical manual. 16th ed. Bethesda: American Association of Blood Banks 2008:411-36.
3. www.isbtweb.org/working-parties/red-cell-immunogenetics-and-blood-group-terminology/blood-group-terminology/ (cited on 04/10/2013).
4. Giles CM. Partial inhibition of anti-Rg and anti-Ch reagents. Vox Sang 1985;48:160-6.
5. Harris JP, Tegoli J, Swanson J, Fisher N, Gavin J, Noades J. A nebulous antibody responsible for crossmatching difficulties (Chido). Vox Sang 1967;12:140-2.
6. Swanson J, Olson J, Azar M. Serological evidence that antibodies of Chido-York-Csa specificity are white cell antibodies (abstract). Fed Proc 1971;30:248.
7. Mougey R. A review of the Chido/Rodgers blood group. Immunohematology 2010;26:30-8.
8. Middleton J, Crookston MC. Chido substance in plasma. Vox Sang 1972;23:256-61.
9. Swanson JL. Laboratory problems associated with leukocyte antibodies. In: Seminar on recent advances in immunohematology. Washington, DC: American Association of Blood Banks, 1973:121-55.
10. Longster G, Giles CM. A new antibody specificity, anti-Rg^a, reacting with red cell and serum antigen. Vox Sang 1976;30:175-80.
11. Nordhagen R, Olaisen B, Teisberg P, Gedde-Dahl T Jr. Association between the electrophoretically determined C4M haplotype product and partial inhibition of anti-Ch^a. J Immunogenet 1980;7:301-6.
12. Giles CM. A new genetic variant for Chido. Vox Sang 1984;46:149-56.
13. O'Neill GJ, Yang SY, Tegoli J, Berger R, Dupont B. Chido and Rodgers blood groups are distinct antigen components of human complement C4. Nature 1978;273:668-70.

14. Tilley CA, Romans DG, Crookston MC. Localization of Chido and Rodgers determinants to the C4d fragment of human C4. *Nature* 1978;273:713-5.
15. Judd WJ, Kraemer K, Moulds JJ. The rapid identification of Chido and Rodgers antibodies using C4d coated red blood cells. *Transfusion* 1981;21:189-92.
16. Westhoff CM, Sipherd BD, Wylie DE, Toalson LD. Severe anaphylactic reactions following transfusions of platelets to a patient with anti-Ch. *Transfusion* 1992;32:576-9.
17. Lambin P, LePennec PY, Hauptmann G, et al. Adverse transfusion reactions associated with a precipitating anti-C4 antibody of anti-Rodgers specificity. *Vox Sang* 1984;47:242-9.
18. Rittner C, Giles CM, Roos MH, et al. Genetics of human C4 polymorphism: detection and segregation of rare and duplicated haplotypes. *Immunogenetics* 1984;19:321-33.
19. Roos MH, Giles CM, Demant P, et al. Rodgers (Rg) and Chido (Ch) determinants on human C4: characterization of two C4B5 subtypes, one of which contains Rg and Ch determinants. *J Immunol* 1984;133:2634-40.
20. Barba GM, Braun-Heimer L, Rittner C, et al. A new PCR based typing of the Rodgers and Chido antigenic determinants of the fourth component of human complement. *Eur J Immunogenet* 1994;21:325-39.
21. Yu CY, Campbell RD, Porter RR. A structural model for the location of the Rodgers and Chido antigenic determinants and their correlation with the human complement components C4A/C4B isotypes. *J Immunogenet* 1988;27:399-405.
22. Chung EK, Yang Y, Rupert KL, et al. Determining the one, two, three, or four long and short loci human complement C4 in a major histocompatibility complex haplotype encoding C4A or C4B proteins. *Am J Hum Genet* 2002;71:810-22.
23. Giles CM. An update on Rodgers and Chido, the antigenic determinants of human C4. *Immunohematology* 1989;5:1-6.
24. Reid ME, Lomas-Francis C. *The blood group antigen factsbook*. 2nd ed. New York: Academic Press, 2004.
25. Ellisor SS, Shoemaker MM, Reid ME. Adsorption of anti-Chido from serum using autologous red blood cells coated with homologous C4. *Transfusion* 1982;22:243-5.