

บทบรรณาธิการ

The Augustine Blood Group System

อ้อยทิพย์ ณ ถลาง

บัณฑิตศึกษา คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

การตรวจทางห้องปฏิบัติการธนาคารเลือดเพื่อเตรียมโลหิตที่เหมาะสมและปลอดภัยให้กับผู้ป่วยนั้น ต้องปฏิบัติตามมาตรฐานงานธนาคารเลือดและงานบริการโลหิต¹ ประกอบด้วย การตรวจหาหมู่เลือด ABO โดยตรวจทั้ง cell และ serum grouping, Rh(D) typing การตรวจกรองแอนติบอดีในซีรัมหรือพลาสมาของผู้ป่วยและผู้บริจาคโลหิต รวมทั้งการตรวจความเข้ากันได้ของโลหิตผู้ป่วยกับโลหิตผู้บริจาค (crossmatch) ซึ่งต้องเลือกโลหิตและส่วนประกอบของโลหิตผู้บริจาคที่มีหมู่โลหิต ABO และ Rh ที่ตรงกันหรือเข้ากันได้กับผู้ป่วย และกรณีที่มีการตรวจกรองแอนติบอดีในผู้ป่วยให้ผลบวก ต้องทำการตรวจแยกชนิดของแอนติบอดีและคัดเลือกโลหิตผู้บริจาคที่ไม่มีแอนติเจนตรงกับแอนติบอดีที่ตรวจพบในซีรัมหรือพลาสมาของผู้ป่วย มาทดสอบ crossmatch อีกทั้งต้องให้โลหิตผู้บริจาคที่เข้ากันได้ (compatible blood) กับผู้ป่วยเท่านั้น สำหรับกรณีที่ไม่สามารถสรุปแยกชนิดของแอนติบอดีได้ เช่น กรณีที่ตรวจซีรัมผู้ป่วยพบว่า เกิดปฏิกิริยาจับกลุ่มกับ panel cells ทุกราย ยกเว้นกับเม็ดโลหิตแดงของตนเอง ทำให้ไม่สามารถหาโลหิตผู้บริจาคที่เข้ากันได้ รวมทั้งเมื่อทดสอบเม็ดโลหิตแดงของผู้ป่วยกับแอนติซีรัมของหมู่โลหิตต่างๆ ก็ยังไม่สามารถสรุปแยกชนิดของแอนติบอดีได้ สาเหตุหนึ่งที่พบได้คือ ผู้ป่วยสร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจนของหมู่โลหิตที่เป็น high-incidence antigens ดังนั้นผู้ปฏิบัติงานควรตรวจสอบข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย เช่น เพศ อายุ เชื้อชาติ รวมทั้งประวัติการตั้งครรภ์หรือการได้รับโลหิต เพื่อช่วยในการพิจารณาการทดสอบเพิ่มเติม ในการจัดหาโลหิตและส่วนประกอบของโลหิตที่เหมาะสมให้กับผู้ป่วย

จากรายงานการประชุมของ International Society of Blood Transfusion (ISBT) ที่กรุงโซล สาธารณรัฐเกาหลีใต้ ในปี ค.ศ. 2014 และที่กรุงลอนดอน สหราชอาณาจักรในปี ค.ศ. 2016 โดย Working Party on Red Cell Immunogenetics and Terminology ได้กำหนดหมู่โลหิตระบบต่างๆ ไว้ จำนวน 36 ระบบ ซึ่งประกอบด้วย แอนติเจนที่พบบนผิวเม็ดโลหิตแดงจำนวน 308 ชนิด² และหมู่โลหิตที่ได้จัดลำดับเป็นระบบที่ 36 (ISBT no. 036) คือ Augustine (AUG) ซึ่งก่อนหน้านี้จัดอยู่ในกลุ่มของ 901 series of high-incidence antigens³ และมีแอนติเจนอยู่ 2 ชนิดคือ AUG1 และ AUG2

Clinical importance of Augustine blood group system

เนื่องจากแอนติเจนของหมู่โลหิตระบบนี้ซึ่งเดิมเรียกชื่อว่า At^a antigen เป็น high-incidence antigen คือ ประชากรส่วนใหญ่จะตรวจพบแอนติเจนนี้เรียกว่า At (a+) phenotype เมื่อปี ค.ศ. 1967 Applewhite และคณะได้รายงานการตรวจพบ anti-At^a ในซีรัมของ Mrs. Augustine เป็นคนผิวดำที่มีเผ่าพันธุ์มาจาก West Indies คลอดบุตรคนที่ 3 และตรวจพบว่า การทำ direct antiglobulin test (DAT) ในเม็ดโลหิตแดงของทารกให้ผลบวก แต่ทารกไม่มีอาการของ hemolytic disease of the fetus and newborn (HDFN)⁴ ต่อมาจึงมีการตรวจหาแอนติเจนชนิดนี้เพิ่มเติมในผู้บริจาคโลหิตที่เมืองนิวยอร์ก สหรัฐอเมริกา จำนวน 6,600 ราย ซึ่งเป็นผู้บริจาคโลหิตผิวดำ 2,200 ราย แต่พบ At (a-) phenotype เพียง 1 รายเท่านั้นแสดงว่า แอนติเจน At^a เป็น high-incidence antigen หลังจากนั้นมีการศึกษาที่เมืองดีทรอยต์ สหรัฐอเมริกา ในผู้บริจาคโลหิตผิวดำ จำนวน 8,552 ราย และพบ At (a-) phenotype จำนวน 1 ราย ต่อมาในปี ค.ศ. 1973 Gellerman และคณะ ได้รายงานผู้หญิง African-Americans จำนวน 6 รายที่เป็น At (a-) phenotype มีประวัติคลอดบุตรจำนวน 31 คนโดยที่ไม่พบปัญหาของ HDFN แต่มีมารดา 1 รายที่ได้รับโลหิตและพบอาการของ mild transfusion reaction^{5,6}

แอนติเจนของหมู่เลือด Augustine ควบคุมโดยยีนที่เป็น autosomal dominant และไม่เกี่ยวข้องกับยีนของหมู่เลือดระบบ ABO, MNS, P1PK, Rh, Kidd และ Xg เนื่องจาก anti-At^a มีคุณสมบัติเป็น IgG เกิดปฏิกิริยาในหลอดทดลองได้ดี โดยใช้ antiglobulin test และเป็น enzyme resistant ส่วนใหญ่แอนติบอดีนี้สร้างขึ้นในมารดาที่เป็น At (a-) phenotype ที่มีประวัติตั้งครรภ์และทารกมี At (a+) phenotype แอนติบอดีชนิดนี้พบได้ในคนผิวดำที่มีเผ่าพันธุ์มาจาก Caribbean หรือ Southeastern United States (African American) จึงสันนิษฐานว่า At (a-) phenotype เกิดจาก gene mutation ใน West Africa หรือ West Indies ซึ่งมีรายงานผู้ป่วยหลายรายที่เกิด HDFN และพบปัญหาทั้ง mild และ severe delayed hemolytic transfusion reactions จากแอนติบอดีนี้⁵⁻¹⁰ อีกทั้งมีรายงานผู้ป่วยที่ตรวจพบ anti-At^a ร่วมกับ autoimmune disease¹¹

เนื่องจาก anti-At^a พบได้น้อยมากในคนทุกเชื้อชาติ ทำให้ไม่มี specific antisera จำหน่ายเหมือนกับแอนติบอดีของหมู่โลหิตระบบอื่น แต่จะมีแอนติซีรัมที่ได้จากผู้ป่วยหรือผู้บริจาคโลหิต ซึ่งมีเฉพาะห้องปฏิบัติการในต่างประเทศที่เป็น reference laboratories เท่านั้น ดังนั้นโดยทั่วไปการคัดเลือก screening cells และ panel cells สำหรับตรวจกรองและตรวจแยกชนิดของแอนติบอดี จึงไม่มีการตรวจแอนติเจนชนิดนี้เพราะส่วนใหญ่จะเป็น At (a+) phenotype แต่กรณีผู้ป่วยที่เป็นคนผิวดำและพบผลบวกของการตรวจกรองแอนติบอดี แต่ไม่สามารถแยกชนิดของแอนติบอดีได้ เพราะซีรัมเกิดปฏิกิริยาจับกลุ่มกับ panel cells ทุกราย อีกทั้งไม่สามารถหาเลือดของผู้บริจาคโลหิตที่เข้ากันได้ ถึงแม้ว่าจะตรวจในผู้ป่วยจำนวนมาก และผู้ป่วยที่มี anti-At^a จำเป็นต้องได้รับเลือดจากผู้บริจาคโลหิตที่เป็น At (a-) phenotype เท่านั้น ดังนั้นสำหรับธนาคารเลือดในกรณีนี้ผู้ป่วยต้องได้รับโลหิตและส่วนประกอบของโลหิต อาจต้องตรวจหาหมู่โลหิตเพิ่มเติมจากครอบครัว หรือจัดหาได้จาก Rare blood donor program ผ่านทางศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

ยีนหมู่โลหิตระบบ Augustine

ลักษณะพื้นฐานทางพันธุกรรมของหมู่โลหิต Augustine นั้นยังไม่ทราบข้อมูลที่ชัดเจน แต่มีรายงานว่า พบ non-synonymous single nucleotide polymorphism (SNP) ในยีน *SLC29A1* (rs45458701) บนโครโมโซม 6 ที่ควบคุม equilibrative nucleoside transporter 1 (ENT1) โดยที่ polymorphism นี้เกิดจาก missense point mutation ที่ c.1171G>A ใน nm_001078174 ทำให้เกิดการแทนที่ของกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 391 เปลี่ยนจาก glutamic acid เป็น lysine (p.Glu391Lys) ซึ่งเป็นตัวกำหนดว่าเป็น At (a+) phenotype และ At (a-) phenotype¹² ดังนั้นตำแหน่ง SNP นี้จึงสามารถประยุกต์ใช้ในการตรวจจีโนมของหมู่โลหิต Augustine ได้

การตรวจแอนติเจนและแอนติบอดีของหมู่โลหิตระบบ Augustine

การตรวจหาแอนติเจนของหมู่โลหิตระบบ Augustine ต้องใช้แอนติซีรัมของผู้ป่วย At (a-) phenotype ที่สร้างแอนติบอดีจากการตั้งครก หรือหลังจากได้รับโลหิตที่เป็น At (a+) phenotype จึงเป็นข้อจำกัดในการตรวจหาแอนติเจน เนื่องจากแอนติซีรัมไม่มีจำหน่ายโดยบริษัทผู้ผลิตน้ำยาสำเร็จรูป สำหรับวิธีการตรวจจะใช้เม็ดโลหิตแดงของผู้ป่วยหรือผู้บริจาคมาทดสอบกับ human anti-At^a โดยทำปฏิกิริยาที่ 37°C และ indirect anti-globulin test (IAT) หากพบปฏิกิริยาจับกลุ่มของเม็ดโลหิตแดง

แสดงว่า เป็น At (a+) phenotype แต่หากไม่พบการจับกลุ่มของเม็ดโลหิตแดงแสดงว่า เป็น At (a-) phenotype⁶

สำหรับการตรวจหาแอนติบอดีต่อหมู่โลหิตระบบ Augustine มีข้อสังเกตได้คือ แอนติบอดีในซีรัมผู้ป่วยจะทำปฏิกิริยาจับกลุ่มกับทุกเซลล์ทั้ง screening cells และ panel cells แบบ pan-agglutination ที่ IAT และปฏิกิริยาไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อทดสอบโดยใช้เทคนิคเอ็นไซม์ โดยทั่วไปการทดสอบเพื่อช่วยบอกความจำเพาะของแอนติบอดีต่อหมู่โลหิตระบบ Augustine จำเป็นต้องใช้ red cell extra panel ที่ทราบชนิดของแอนติเจนว่าเป็น At (a-) หรือ At (a+) สำหรับการทดสอบเพื่อแยกชนิดของ anti-At^a กับ แอนติบอดีต่อ high-incidence antigens อื่นๆ ต้องทำการตรวจแอนติเจนบนเม็ดโลหิตแดงของผู้ป่วยควบคู่ไปด้วย⁶

การจัดหาโลหิตในประเทศไทยให้กับผู้ป่วยที่สร้าง anti-At^a

ในปี ค.ศ. 2014 ห้องปฏิบัติการพิเศษ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ได้รับตัวอย่างโลหิตของหญิงสาวกีนี ที่ตั้งครรภ์แฝด และเคยมีบุตรแล้ว 4 คน แพทย์จึงโลหิตเพื่อเตรียมผ่าตัด cesarean section ผลการตรวจพบว่า หมู่โลหิต AB, Rh positive, D+C-E-c+e+, M+N-S-s+, Jk(a+b-), Fy(a-b-), K-k+, Di(a-) และ P1+ ซึ่งพบว่า การตรวจกรองแอนติบอดีให้ผลบวก แต่ไม่สามารถสรุปแยกชนิดของแอนติบอดีได้ เพราะให้ผลบวกกับทุกเซลล์ทั้งที่ IAT และการตรวจด้วยวิธีเอ็นไซม์ เมื่อทำการ crossmatch ด้วยการสุมโลหิตจากผู้บริจาคจำนวนมาก ก็ไม่พบโลหิตที่เข้ากันได้กับผู้ป่วยสันนิษฐานว่า เป็นแอนติบอดีต่อ high-incidence antigens ทางห้องปฏิบัติการจึงส่งตัวอย่างโลหิตมารดาสามี และทารกทั้งสองรายไปตรวจเพิ่มเติม ที่ Red Cell Reference Laboratory, Australian Red Cross Blood Service ซึ่งพบว่า ผลการตรวจทางซีโรโลยี และ DNA sequencing สรุปว่า มารดาเป็น At (a-) phenotype ที่มี anti-At^a สามีเป็น At (a+) phenotype และบุตรทั้งสองคนเป็น At (a+) phenotype¹³

จากปัญหาการจัดหาโลหิตให้กับผู้ป่วย At (a-) phenotype ที่ตรวจพบ anti-At^a ดังกล่าว ทางศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทยได้ประสานความร่วมมือกับ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ พัฒนาการตรวจยีนของหมู่โลหิต Augustine ด้วยวิธีพีซีอาร์ขึ้นใช้เอง เนื่องจากชุดน้ำยาสำเร็จรูปของต่างประเทศ สำหรับตรวจยีนหมู่โลหิต Augustine ด้วยวิธีพีซีอาร์ยังไม่มีจำหน่าย ซึ่งชุดน้ำยาตรวจที่พัฒนาขึ้น สามารถตรวจแยกชนิดระหว่าง At (a+) และ At (a-) phenotypes ได้ อีกทั้งมีข้อดีคือ กรณีที่เป็น At (a+) สามารถบอกได้ว่า เป็น c.1171G homozygote หรือเป็น c.1171G/A heterozygote ได้ถูกต้อง

และแม่นยำ นอกจากนี้ได้ศึกษาอื่นของหมู่โลหิตระบบนี้ในตัวอย่างดีเอ็นเอของผู้บริจาคโลหิตจำนวน 940 ราย พบว่า เป็น At (a+) ทุกราย จึงถือว่า At (a-) phenotype เป็น rare phenotype ในคนไทย¹³ ดังนั้นวิธีพีซีอาร์นี้สามารถประยุกต์ใช้ในการกรณีที่ต้องการตรวจคัดกรองผู้บริจาคโลหิตจำนวนมาก เพื่อหาผู้บริจาคโลหิตที่เป็น At (a-) หรือใช้ตรวจเพื่อช่วยในการสรุปผลของชนิดแอนติบอดีในผู้ป่วยได้ต่อไป

สรุป

การตรวจแอนติเจนและแอนติบอดีของหมู่โลหิตระบบ Augustine นั้น อาจไม่ได้เป็นการตรวจประจำเช่นเดียวกับการตรวจหมู่โลหิตระบบ ABO และ Rh แต่กรณีที่ผู้ป่วยสร้าง anti-At^a ทางธนาคารเลือดจะพบปัญหาในการทดสอบทั้งการตรวจแยกชนิดของแอนติบอดี และการทดสอบ crossmatch เพื่อเตรียมโลหิตของผู้บริจาคที่เข้ากันได้กับผู้ป่วย จึงต้องมีการประสานงานกับ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย เป็นอย่างดี เกี่ยวกับข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย ประวัติการตั้งครรภ์และ/หรือการได้รับโลหิต การวินิจฉัยโรค รวมทั้งผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นที่เกี่ยวข้อง เพื่อช่วยในการจัดเตรียมโลหิตและส่วนประกอบของโลหิตที่เหมาะสมและปลอดภัยให้กับผู้ป่วย

เอกสารอ้างอิง

1. National Blood Centre, Thai Red Cross Society. Standards for Blood Banks and Transfusion Services. 4thed. Bangkok: Udom Suksa; 2015.
2. Storry JR, Castilho L, Chen Q, Daniels G, Denomme G, Flegel WA, et al. International society of blood transfusion working party on red cell immunogenetics and terminology: report of the Seoul and London meetings. *ISBT Science Series*. 2016;11:118-22.
3. Reid ME, Lomas-Francis C, Olsson ML. The blood group antigen factsbook. 3rded. New York: Academic Press; 2012.
4. Applewhaite F, Ginsburg V, Cunningham CA, Gavin J. A very frequent red cell antigen Ata. *Vox Sang*. 1967;13:444-5.
5. Gellerman MM, McCreary J, Yeninak F, Stroup M. Six additional examples of anti-At^a. *Transfusion*. 1973;13:225-30.
6. Burnette R, Coulter K. A positive antibody screen-- an encounter with the Augustine antibody. *J Natl Med Assoc*. 2002;94:166-70.
7. Culver PL, Brubaker DB, Sheldon RE, Martin M, Richter CA. Anti-At^a causing mild hemolytic disease of the newborn. *Transfusion*. 1987;27:468-70.
8. Sweeney JD, Holme S, McCall D, Huett D, Storry J, Reid M. At (a-) phenotype: description of a family and reduced survival of At (a⁺) red cells in a propolis with anti-At^a. *Transfusion*. 1995;35:63-7.
9. Cash KL, Brown T, Sausais Vehlinger J, Reed LJ. Severe delayed hemolytic transfusion reaction secondary to anti-At^a. *Transfusion*. 1999;39:834-7.
10. Daniels G. Human blood group. 3rded. Chichester: Wiley-Blackwell; 2013.
11. Ramsey G, Sherman LA, Zimmer AM, Spies WG, Sharma L, Arndt P, et al. Clinical significance of anti-At^a. *Vox Sang*. 1995;69:135-7.
12. Daniels G, Ballif BA, Helias V, Saison C, Grimsley S, Mannesier L, et al. Lack of the nucleoside transporter ENT1 results in the Augustine-null blood type and ectopic mineralization. *Blood*. 2015;125:3651-4.
13. McBean R, Liew YW, Willson B, Kupatawintu P, Emthip M, Hyland C, et al. Genotyping confirms inheritance of the rare At (a-) type in a case of haemolytic disease of the newborn. *J Path Clin Res*. 2016;2:63-5.
14. Nathalang O, Intharanut K, Sasikarn W, Nathalang S, Kupatawintu P. A new polymerase chain reaction: sequence-specific primer method for the Augustine blood type. *Blood Transfus*. 2016;14:577-9.

