บทความทั่วไป

ความก้าวหน้าและประเด็นสำคัญในกลยุทธ์การตรวจความเข้ากันได้ของระบบ HLA ระหว่างผู้บริจาคและผู้รับในการเปลี่ยนถ่ายอวัยวะ
The HLA System: An Update and Relevance to Patient-Donor Matching Strategies in Clinical Transplantation

ปรียานาถ วงศ์จันทร์ *

บทนำ

เป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่าสิ่งสำคัญที่สุดสิ่งหนึ่งสำหรับแพทย์ในการพิจารณาให้การผ่าตัดเปลี่ยนอวัยวะใดๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเปลี่ยนถ่ายไขกระดูก คือเรื่องของความเข้ากันได้ของ Human Leucocyte Antigen (HLA) ซึ่งมียีนที่ควบคุมคือ Major Histocompatibility Complex หรือ MHC gene ปัจจุบันความก้าวหน้าทางเทคนิค DNA typing และ DNA sequencing ทำให้เราได้ทราบถึงลักษณะทางพันธุกรรมและการถ่ายทอดของยีนที่เกี่ยวข้อง ทราบถึงโครงสร้างและหน้าที่ทางภูมิคุ้มกันวิทยาของ HLA บทความนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อฟื้นฟูความรู้เกี่ยวกับ HLA, MHC gene ทั้ง classical และ non-classical MHC genes ตลอดถึงความรู้และพัฒนาการด้าน HLA matching, transplant cross-matching techniques เพื่อประยุกต์ใช้ในทางคลินิกและการคัดเลือกผู้บริจาคอวัยวะ

พันธุศาสตร์ภูมิคุ้มกันวิทยาของ MHC (Immunogenetics of Human MHC)

Classical HLA antigens

Classical human MHC มีโครงสร้างเป็น glycoprotein, heterodimer ประกอบด้วย heavy chain และ light chain ถูกควบคุมด้วยยีน 2 ชุดซึ่งมีลักษณะเป็น highly polymorphic มีขนาดประมาณ 3600 kbp อยู่บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 6 (6p21.3) (Fig. 1) ทำหน้าที่ในการนำเสนอ processed antigenic peptides ให้แก่ T cells แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

---

* ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

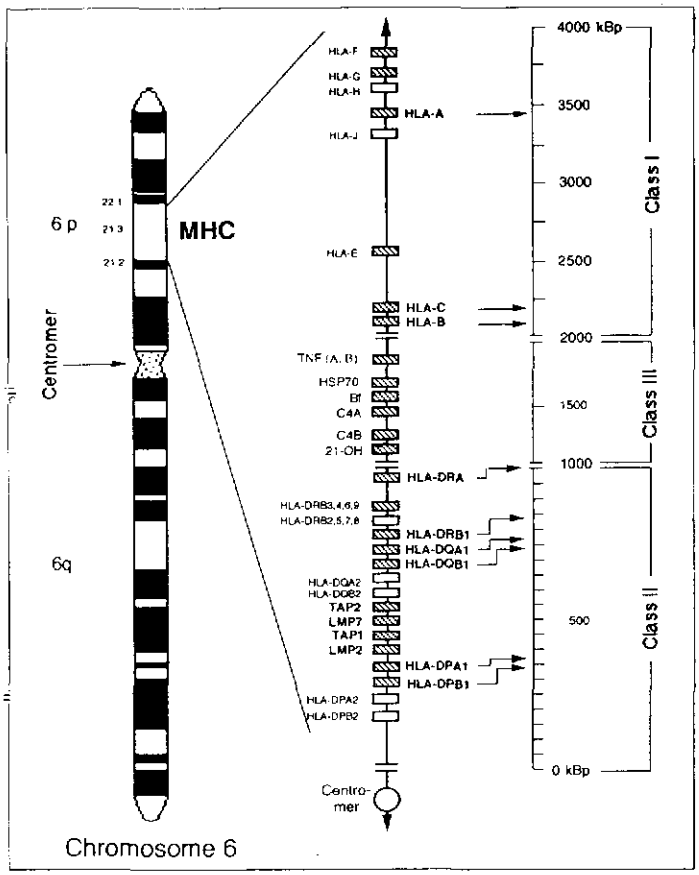

Fig. 1. Organization of the major histocompatibility complex (MHC) in humans. The human MHC (HLA-Complex) is located on the short arm of chromosome 6 (6p). HLA-A, -B, -C and HLA-DRA1, -DRB1, -DQO1, and -DPA1, -DPB1 genes encode for the HLA-A, -B, -C and HLA-DR, -DQ, -DP antigens, respectively. The products of class II TAP1, 2 and LMP1, 7 genes are involved in antigen processing, whereas class III genes do not encode for HLA or HLA-related molecules. Genes = ▨ ; pseudogenes (not expressed) = ▭

HLA class I แบ่งเป็น 3 subclass คือ HLA-A, -B และ -C สาย heavy chain หรือ alpha-chain มีลักษณะเป็น single chain glycoprotein น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 45 kD จับแบบ non-covalent bond กับสาย light chain หรือ beta-chain คือ β2-micro-globulin น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 12 kD และถูกควบคุมโดยยีนบนโครโมโซมคู่ที่ 15 แบบนับถึงปัจจุบันแต่ละ subclass ยังแบ่งแยกย่อยเป็น variant alleles ได้อีกมากมายเช่น HLA-A มี 56 alleles, HLA-B มี 111 alleles และ HLA-C มี 34 alleles ทั้งนี้ไม่นับยีนในบริเวณใกล้เคียงอีกมากมายซึ่งเป็นทั้ง silent substitutions และ null alleles

HLA class I พบได้บนผิวเซลล์ที่มีนิวเคลียสทุกชนิด รวมทั้งเกร็ดเลือด ยกเว้นใน fetal trophoblast ทำหน้าที่ในการนำเสนอ processed endogenous antigenic peptides ที่มีกรดอะมิโนขนาดประมาณ 8-9 ลำดับ โดยส่งผ่านทาง peptide binding groove ซึ่งอยู่ระหว่าง $\alpha 1$ และ $\alpha 2$ domain มีลักษณะเป็น allele specific conformation และมีความจำเพาะต่อ T cell receptor (TCR) ของ $CD8^+$ T cells มีผลทำให้เกิด cytotoxic effects ขึ้นต่อเซลล์ดังกล่าว ซึ่งได้แก่ viral infected cells และ tumor cells

HLA class II ประกอบด้วย 3 subclass ได้แก่ HLA-DR, -DQ และ -DP ลักษณะโครงสร้างเป็น heterodimer ประกอบด้วย glycoprotein 2 สายจับกันแบบ non-covalent bond คือสาย alpha และ beta chain น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 31-34 kD และถูกควบคุมโดยยีน 2 ชนิดคือ alpha gene และ beta gene ปัจจุบันสามารถตรวจพบความแตกต่างของ HLA class II มากมายได้แก่ DRA 2 alleles, DRB 126 alleles, DQA 22 alleles, DPA 6 alleles และ DPB 56 alleles จากหลักฐานทาง X-ray crystallography พบว่าที่ตำแหน่งระหว่าง $\alpha 1$ จับกับ $\beta 1$ มีโครงสร้างเป็น groove ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับที่พบใน HLA class I อย่างยิ่ง อาจกล่าวได้ว่าที่ตำแหน่งนี้จะทำหน้าที่ในการนำเสนอ processed antigenic peptide ให้แก่ TCR ของ $CD4^+$ T cells และเป็นแอนติเจนชนิด exogenous antigen. HLA class II พบได้บนผิวเซลล์หลายชนิดแต่น้อยกว่า HLA class I คือพบได้บน B cells, activated T cells, dendritic cells, Langerhans' cells, monocyte/macrophage lineage และ γIFN-induced cells เป็นต้น

HLA ทั้งสองชนิดจะแสดงความเป็น self -antigen ให้แก่ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายและสำหรับ identical twins เท่านั้น หาก HLA ที่ปรากฏบนผิวเซลล์ใดๆก็ตามต่างไปจากของบุคคลนั้นๆ ย่อมแสดงความเป็น non-self ให้แก่บุคคลนั้น และเกิดการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้ต่อต้านทันที ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในการเปลี่ยนถ่ายอวัยวะดังกล่าว

Non-classical และ Non-HLA Genes ในระบบ MHC

ความก้าวหน้าและพัฒนาการทางอนุพันธุศาสตร์และพันธุวิศวกรรม ซึ่งประกอบด้วยการโคลนยีน (gene cloning) การหาลำดับเบส (DNA sequencing) และการทำแผนที่ยีน (gene mapping) ทำให้เราได้ทราบว่ายังมียีนอีกหลายกลุ่มที่อยู่ใน region เดียวกับ MHC genes แต่ไม่ได้มีส่วนเกี่ยวข้องกับระบบนี้เลย เรียกว่า Non-classical หรือ Non-HLA genes ปัจจุบันพบแล้วประมาณ 17 fragments ซึ่ง 3 ใน 17 นี้ทราบแล้วว่าทำหน้าที่กำหนดการสร้างโปรตีน 3 ชนิดคือ HLA-E, -F และ -G ตามลำดับ อย่างไรก็ตามยังไม่ทราบหน้าที่ของโปรตีนเหล่านี้ ทราบเพียงแต่ว่าสามารถพบ HLA-E ได้บนผิวเซลล์หลายชนิดเช่น ต่อมไธมัส ตับ ม้าม ต่อมน้ำเหลือง เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด T cells, B cells และ eosinophils

และยังพบได้บนผิว colon mucosa สำหรับ HLA-F พบได้บนผิวเซลล์หลายชนิดเช่นกัน HLA-F gene ควบคุมการสร้างโปรตีนที่แตกต่างจาก Classical MHC genes แต่ยังไม่ทราบหน้าที่ของโปรตีนดังกล่าว สำหรับ HLA-G ได้มีการศึกษาและพบรายละเอียดกว่าคือ พบในกลุ่มคนอเมริกันผิวดำ และพบได้เฉพาะใน fetal cytotrophoblast cells ลำดับของยีนมีความใกล้เคียงกับ HLA class I มาก เชื่อกันว่าโปรตีนที่ถูกควบคุมด้วย HLA-G จะทำหน้าที่เป็น fetal antigen-presenting/recognition molecules และเนื่องจากมีโครงสร้างคล้ายกับ HLA class I จึงไม่ทำให้เกิดปฏิกิริยาระหว่างแม่ต่อเนื้อเยื่อของทารกในครรภ์

เช่นเดียวกับ HLA class I gene จากการศึกษาพบว่ายังมียีนอีกหลายกลุ่มใน HLA class II region ที่เป็น non-classical และ non-HLA gene โดยพบว่าอยู่ระหว่าง DP และ DQ subregion กล่าวกันว่า DP-DQ regions มี non-classical และ non-HLA genes อยู่มากมาย จึงเรียกว่าเป็น RING หรือ "Really Interesting New Genes" สามารถจำแนกได้ดังนี้

1. LMP2/LMP7 genes (Large Multifunctional Protease) ควบคุมการแปลรหัสสำหรับ peptide subunits ที่ประกอบกันเป็น proteosome ซึ่งเป็น cytoplasmic complex ประกอบด้วย polypeptides น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 15-30 kD มีความสำคัญคือเป็น peptide ที่ทำหน้าที่ในการย่อย endogenous antigen ให้ได้ processed peptide เพื่อพร้อมสำหรับการนำเสนอ (Fig. 2) ความผิดปกติในยีนดังกล่าวเช่นการเกิด deletion ย่อมทำให้มีผลต่อ proteosome และส่งผลให้เกิดความผิดปกติในการ process antigen ขึ้นได้

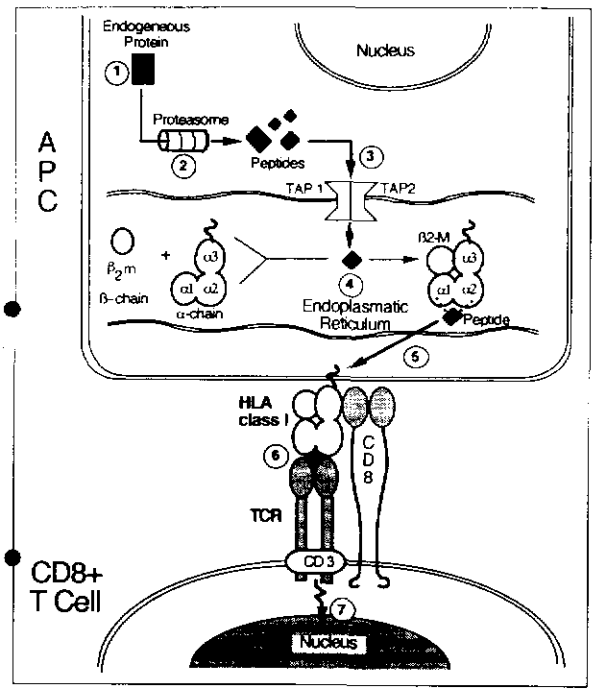

Fig. 2. Processing of an endogenous protein within an antigen-presenting cell (APC) and presentation of an antigen-derived peptide by HLA class 1 of the APC to a CD8+ T cell. Cleavage of an APC-derived protein antigen (1) by the cytoplasmatic proteosome complex (2). Translocation of an antigen-derived peptide into the endoplasmatic reticulum (ER) by means of TAP 1, 2 peptide transporter molecules (3). Formation of a peptide/HLA class 1 (α-chain, β-chain) complex (4). Arrival of this complex at the APC surface (5). Recognition of this complex by a CD8+ T cell (6), *i.e.*, signal 1 for T-cell activation (7). TCR = T-cell receptor; CD8 and CD3 = TCR-associated proteins.

2. TAP1/TAP2 genes (Transporter of Antigen Peptides) ยีนทั้งสองชนิดอยู่ระหว่าง DP-DQ regions เช่นกัน ควบคุมการแปลรหัสสำหรับ transporter ซึ่งเป็น Membrane-spanning complex ทำหน้าที่ในการนำ processed peptide เข้าสู่ endoplasmic reticulum เพื่อจับกับ HLA class I ที่ตำแหน่ง peptide binding groove การทำงานของ transporter จะอาศัย ATP ด้วย จากการศึกษาพบว่า polymorphism ที่เกิดขึ้นได้ระหว่างยีนทั้งสองมีผลต่อ transporter ที่จะถูกสร้าง และหมายถึงความแตกต่างในการเลือกลำดับและขนาดความยาวของกรดอะมิโนของ processed peptide ที่จะถูกนำ หรือกล่าวได้ว่ามีผลต่อการคัดเลือก processed peptide ที่จะถูกนำไปจับกับ HLA class I ภายใน endoplasmic reticulum ได้

3. DMA/DMB genes อยู่ระหว่าง DP-DQ region เช่นกัน กำหนดการแปลรหัสสำหรับลำดับกรดอะมิโนที่อยู่ระหว่าง α1 และ β1-chain และทำหน้าที่ในการเตรียมรับ processed peptide สำหรับ HLA class II จากการศึกษาใน mutant B lymphoblastoid cell lines พบว่าการประกอบกันระหว่าง α1 และ β1-chain ในขณะที่อยู่ใน endoplasmic reticulum จะมีลักษณะเป็น complex เรียกว่า CLIP (Class II-Associated-Invariant Chain Peptide) คือมี third chain น้ำหนักโมเลกุล 35 kD จับอยู่ที่รอยต่อระหว่าง α1 และ β1-chain (ปัจจุบัน Invariant chain คือ CD74) โครงสร้างดังกล่าวจะอยู่ภายใน endoplasmic reticulum จนกว่าจะมี processed peptide ซึ่งถูกย่อยอยู่ภายใน phagosome หรือ lysosome มันจะเคลื่อนตัวเข้าสู่ phagosome หรือ lysosome ที่จุดนี้ third chain จะถูกตัดออกด้วย lysozyme เพื่อให้ processed peptide เข้าจับที่ตำแหน่ง peptide binding groove แทน จากนั้นจะออกสู่ผิวเซลล์เพื่อการนำเสนอต่อ CD4+ T cells (Fig. 3)

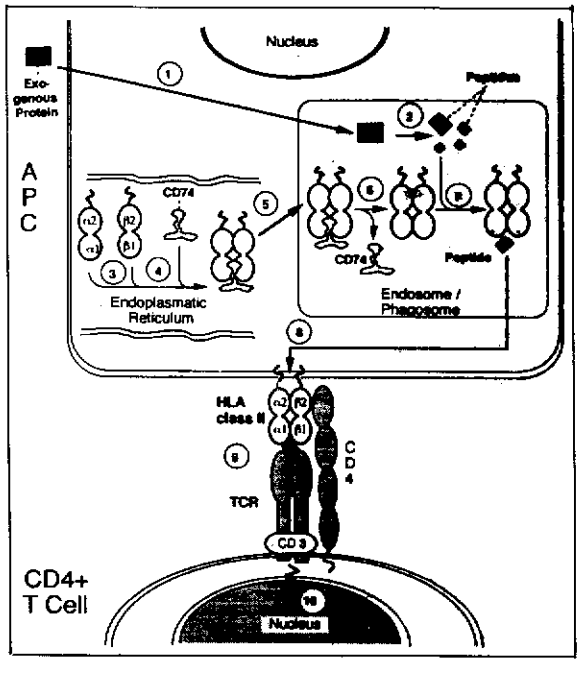

Fig. 3. Processing of an exogenous protein by an antigen-presenting cell (APC) and presentation of an antigen-derived peptide by HLA class II of the APC to a CD4+ T cell. Encorporation of a circulating antigen into the endosome/phagosome compartment of the APC (1), where degradation into peptides occurs (2). Association of class II HLA α-and β-chains (3) and the invariant chain (CD74) in the endoplasmatic reticulum (4). Translocation of the resulting trimolecular complex into the phagosome/endosome compartment (5), where CD74 is removed (6). Formation of an antigen-derived peptide/HLA class II molecule complex (7). Arrival of this complex at the cell surface (8), and recognition of this complex by CD4+ T cells (9), *i.e.*,signal 1 for T-cell activation (1). TCR = T-cell receptor; CD3 and CD4 = TCR-associated proteins.

จะเห็นได้ว่าการศึกษามากมายเกี่ยวกับ HLA และยีนที่เกี่ยวข้อง ทำให้โฉมหน้าของ HLA molecule เปลี่ยนแปลงไป จากที่ทราบแต่เพียงว่าโมเลกุลเหล่านี้ทำหน้าที่ในการนำเสนอ antigenic peptide ให้แก่ TCR เท่านั้น แต่ปัจจุบันเราทราบมากกว่านั้นว่าโมเลกุลเหล่านี้ไม่เพียงแต่ส่งผ่าน antigenic peptide แต่ยังมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคและความผิดปกติหลายอย่างที่เกิดในร่างกายผู้ป่วย ไม่ว่าจะเกิดจากโมเลกุลของ HLA เอง (HLA-associated disease) หรือจากโมเลกุลที่ควบคุมโดยยีนที่อยู่ใกล้ชิดกับ HLA genes (Linkage disequilibrium) ความรู้ใหม่ๆ เหล่านี้ทำให้เกิดแนวทางและความคิดในการพัฒนาวิธีการทำ HLA typing, HLA cross-matching เพื่อหาผู้บริจาคอวัยวะที่มี HLA ที่แตกต่างจากผู้รับน้อยที่สุดหรือมีความเหมือนกันให้ได้มากที่สุด

HLA และการปลูกถ่ายอวัยวะ (HLA and Transplantation)

เนื่องจาก HLA เป็นแอนติเจนบนผิวเซลล์และแสดงความเป็น strongly immunogenic เมื่อใดก็ตามที่ผู้ให้ (donor) และผู้รับ (host) มี HLA ที่ต่างกันไม่ว่าจะมากหรือน้อย เมื่ออวัยวะดังกล่าวได้สัมผัสกับระบบภูมิคุ้มกันของผู้รับ จะเกิดการรับรู้ (recognition) ความเป็น *non-self* ของอวัยวะนั้นๆ และกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันทั้งระบบเซลล์ (CMI) และระบบสารน้ำ (HMI) กระตุ้นเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ ให้แบ่งตัวเพิ่มจำนวน และสร้างสารหลั่งชนิดต่างๆ เพื่อทำลายอวัยวะ และมีการสร้างแอนติบอดีทำลายแอนติเจนที่แปลกปลอมนั้นด้วย ส่งผลให้เกิดการปฏิเสธกราฟท์หรืออวัยวะนั้นๆ (graft rejection) นอกจากนี้ยังเกิดปฏิกิริยาอีกลักษณะหนึ่งเรียกว่า Graft versus Host Disease (GvHD) คือการที่เซลล์ในอวัยวะปฏิเสธเซลล์ของผู้รับเสียเอง เป็นผลให้เกิดการทำลายเซลล์ของผู้รับและขณะเดียวกันทำให้อวัยวะที่ปลูกถ่ายเข้าไปนั้นเสียสภาพไป (graft failure) หรือรุนแรงถึงกับทำให้ผู้รับเสียชีวิตได้ GvHD มีสาเหตุจากการที่ผู้รับมักอยู่ในสภาวะ immunocompromized host ดังนั้น T cells ในอวัยวะที่ปลูกถ่ายซึ่ง active จะทำหน้าที่กลับกันในการรับรู้ความเป็น non-self ต่อตัวเอง มีการกระตุ้นเซลล์ของตัวเองและหลั่งสารมาทำลายเซลล์ของผู้รับได้ พบได้บ่อยในกรณีของการปลูกถ่ายไขกระดูก (Bone Marrow Transplantation)

จะเห็นได้ว่ามีปัญหาเกิดขึ้นได้หลายอย่างในการเปลี่ยนถ่ายอวัยวะ แต่อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนถ่ายอวัยวะก็ยังถือเป็นทางเลือกในการรักษา (treatment of choice) สำหรับผู้ป่วยโรคต่างๆ ที่อยู่ในระยะสุดท้าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งไตวาย (renal failure) และมะเร็งเม็ดเลือดชนิดต่างๆ (haematologic malignancies)

ความเข้ากันได้ของ HLA กับการเปลี่ยนไต (HLA matching in Renal Transplantation)

ในปี ค.ศ. 1968 Patel และคณะได้พิสูจน์ให้เห็นถึงเหตุผลและความจำเป็นในการตรวจความเข้ากันได้ระหว่าง HLA ของทั้งผู้รับ และ

ผู้บริจาคอวัยวะที่ไม่ใช่ญาติสายตรง (unrelated donor) โดยชี้ให้เห็นว่าจะสามารถยืดอายุการทำงานของอวัยวะได้นานกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกรณีที่ไม่ได้ทำการตรวจ ต่อๆมาได้มีการศึกษาอีกมากมายและผลที่ได้ต่างสอดคล้องกันและให้ความเชื่อมั่นว่า การตรวจความเข้ากันได้ของ HLA แอนติเจนโดยเฉพาะ HLA-A, -B และ HLA-DR แอนติเจน มีความสำคัญต่อการเปลี่ยนไตเป็นอย่างยิ่ง มีการสรุปผลการติดตามอายุกราฟท์ภายหลังการเปลี่ยนถ่าย (graft survival rate, GSR) พบว่าหากมีเป็นอวัยวะที่ได้รับการตรวจความเข้ากันได้และผลเป็น Fully-matched (HLA-A, -B, -DR) จะมีอวัยวะที่มี GSR เกินกว่า 1 ปีถึง 94% ในขณะที่อวัยวะจากพ่อแม่และจากพี่น้อง (identical sibling) ที่ได้ตรวจความเข้ากันได้ในระดับ haploidentical พบว่าอวัยวะที่มี GSR เกิน 1 ปีมีเพียง 89 และ 90% ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาถึงอายุครึ่งชีวิตของอวัยวะที่ปลูกถ่าย (half life of graft) คือเวลาที่นับจากการเปลี่ยนอวัยวะไปจนถึงเวลาที่อวัยวะนั้นลดความสามารถในการทำงานเหลือเพียง 50% พบว่าการให้อวัยวะจากผู้บริจาคที่ไม่ใช่ญาติสายตรง (unrelated donor) แต่ตรวจความเข้ากันได้แบบ fully-matched จะให้อายุครึ่งชีวิตของอวัยวะดังกล่าวได้ยาวนานกว่า คือจะให้อายุครึ่งชีวิตได้นานถึง 26 ปีหลังการผ่าตัด ในขณะที่อวัยวะที่ตรวจความเข้ากันได้ในระดับ haploidentical จะให้อายุครึ่งชีวิตเพียง 12.2 และ 10.8 ปี ถ้าเป็นอวัยวะจากพ่อแม่และพี่น้องท้องเดียวกันตามลำดับ

สำหรับการเปลี่ยนไตที่ได้รับจากผู้เสียชีวิต (cadaveric kidney donor, CKD) จะมีลักษณะของ GSR ในทำนองเดียวกันคือ หากเป็นไตที่เป็น fully matched (HLA-A, -B และ HLA-DR) เปรียบเทียบกับ mismatched จะได้ 1-year GSR เท่ากับ 88% และ 79% ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากอายุครึ่งชีวิตของกราฟท์ พบว่าในกรณีแรกจะมีอายุนานถึง 17.3 ปี ในขณะที่กรณีหลังมีอายุครึ่งชีวิตของกราฟท์เป็น 7.8 ปีเท่านั้น

ไม่นานมานี้ความก้าวหน้าในการตรวจความเข้ากันได้ของ HLA antigen โดยอาศัยเทคนิคทาง PCR-based sequence-specific oligonucleotide probing technique เพื่อตรวจหาความแตกต่างในระดับยีน แทนการตรวจสอบทางน้ำเหลืองวิทยา (serology) ซึ่งเป็นวิธีดั้งเดิม พบว่าวิธีดังกล่าวสามารถตรวจพบความแตกต่างในลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างผู้บริจาคและผู้รับ แม้ว่าผลตรวจทางน้ำเหลืองวิทยาจะให้ผลเป็น HLA identical ก็ตาม เมื่อศึกษาถึงอายุกราฟท์หลังการผ่าตัด พบว่ากราฟท์ที่ผ่านการตรวจทั้งทางน้ำเหลืองวิทยาและอณูชีววิทยาได้ผลเป็น HLA identical จะให้ GSR นานกว่า (87%) เมื่อเปรียบเทียบกับผลการตรวจทางน้ำเหลืองวิทยาเพียงอย่างเดียว (69%) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง HLA-DR ถ้าเป็นการตรวจในระดับน้ำเหลืองวิทยา โอกาสที่จะพลาดในการตรวจพบ HLA-DRB1 subregion ได้บ่อยมาก แต่หากใช้การตรวจทางอณูชีววิทยามาช่วย เช่น PCR-SSOP (PCR-sequence-specific oligonucleotide probe) จะทำให้ตรวจพบได้ ดังนั้นจะเห็นว่ายิ่งสามารถตรวจได้ละเอียดมากเพียงใด ก็จะช่วยทำ

ให้ประสิทธิภาพและการอยู่รอดของกราฟท์มีมากขึ้นและอายุการใช้งานนานขึ้น นอกจากจากพิจารณาอายุครึ่งชีวิตและ ประสิทธิภาพของกราฟท์แล้ว แพทย์ยังพิจารณาถึง cold-ischemic time ภายหลังการเปลี่ยนถ่ายอวัยวะด้วย และพบว่าหากได้ทำ HLA-identical แล้ว cold-ischemic time จะอยู่ได้นานถึง 48 ชั่วโมง

ความเข้ากันได้ของ HLA และการเปลี่ยนถ่ายไขกระดูก (HLA matching and Bone Marrow Transplantation)

การเปลี่ยนถ่ายไขกระดูก (bone marrow transplantation) จัดเป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาความผิดปกติหลายชนิดเช่น มะเร็งเม็ดเลือดชนิดต่างๆ (haemotological malignancies), ภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง (immunodeficiencies), ความผิดปกติในฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ (haemoglobinopathy) และผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของเมตาโบลิสมแต่กำเนิด (inborn errors of metabolism) การรักษาด้วยการเปลี่ยนถ่ายไขกระดูกเป็นวิธีการที่ได้ผลในการรักษาดียิ่ง แต่มีข้อเสียคือ survival rate ของผู้รับ ซึ่งมักเป็นปัญหาจากการปฏิเสธกราฟท์ (host reject graft) ปฏิกิริยาของกราฟท์ต่อต้านเซลล์ผู้รับ (graft versus host disease) และภาวะโรคกลับคืน (leukemic relapse)

Graft versus Host Disease (GvHD) เป็นความจริงที่ว่าระดับความเข้ากันได้มากน้อยของ HLA antigen จะมีส่วนเกี่ยวข้องกับภาวะนี้ หรือกล่าวได้ว่าเป็นเหตุเป็นผลของภาวะดังกล่าว แต่อย่างไรก็ตามแม้จะได้รับไขกระดูกจากพี่น้องท้องเดียวกัน และมี HLA identical พบว่าโอกาสของการเกิด GvHD ยังคงมีได้เสมอ โดยเฉลี่ยประมาณ 20-30% แต่ถ้าเป็น haploidentical โอกาสพบสูงกว่ามาก แต่การศึกษาจากหลายแห่งให้ผลสอดคล้องกันว่าใน ผู้ป่วยที่มี GvHD สูงจะมีอัตราการกลับคืนของโรค leukemia ต่ำลง ลักษณะดังกล่าวนี้เรียก Graft versus Leukemia (GvL) เป็นภาวะ leukemic-free suvival ซึ่งจัดเป็น good risk disease ที่เป็นเช่นนี้ได้เพราะสาเหตุจากปฏิกิริยาของกราฟท์ทำลายเซลล์ของผู้รับ ซึ่งจะทำลายเซลล์ทั้งที่ดีและเซลล์มะเร็งไปด้วย พบได้ในการเปลี่ยนถ่ายไขกระดูกในผู้ป่วย nonlymphocytic leukemia ในระยะเริ่มแรก (first remission), โรค chronic myeloleukemia ระยะเรื้อรัง (chronic phase) และ acute lymphocytic leukemia ในระยะที่หนึ่งหรือระยะที่สอง

ดังนั้นสรุปได้ว่า การเปลี่ยนถ่ายไขกระดูกที่ได้รับการตรวจความเข้ากันได้ของ HLA เป็น genotypically HLA identical หรือได้รับไขกระดูกจากแฝดไข่ใบเดียวกัน (identical twins) โอกาสเกิด GvHD จะพบประมาณ 30% แต่ถ้าเป็น fully matched HLA (serological test) จากผู้บริจาคที่ไม่ใช้ญาติสายตรง จะพบ GvHD ได้ถึง 79% จะเห็นได้ชัดเจนถึงความสำคัญของการทำ HLA matching และโดยเฉพาะการตรวจถึงระดับยีน ซึ่งจะชี้ชัดถึงความแตกต่างของ HLA ได้ดีกว่าระดับโมเลกุล

Leukemic relapse ภาวะที่โรคกลับเป็นขึ้นมาอีกภายหลังการเปลี่ยนถ่ายไขกระดูกแล้ว

เกิดได้ประมาณ 20-65% โอกาสที่จะเกิดขึ้นมากหรือน้อยขึ้นกับชนิดและระยะของโรคในขณะที่ได้รับการเปลี่ยนถ่ายไขกระดูก การใช้ T cell depleted marrow จะช่วยลดโอกาสของการเกิด GvHD แต่ก็ทำให้การกลับเป็นโรคมีเปอร์เซนต์สูงขึ้นตามกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ป่วยระยะ advanced leukemia และ CML เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการได้รับ T cell depleted marrow จาก HLA-identical และ T cell depleted marrow จาก HLA-compatible พบว่ากรณีแรกจะมีอัตราเสี่ยงของ relapse สูงกว่ากรณีหลังทั้งๆ ที่มี HLA identical ซึ่งกันและกัน แสดงให้เห็นว่า T cell ในไขกระดูกที่เปลี่ยนถ่ายให้ มีบทบาทในการกระตุ้น GvHD และมีส่วนในการทำลาย leukemic cell ด้วยเช่นกัน ดังกล่าวในตอนต้น

Graft rejection อัตราการปฏิเสธไขกระดูกในผู้ป่วยจะมากถ้าได้รับไขกระดูกที่มี HLA mismatched (15%) จะน้อยลงถ้าเป็น HLA identical (5%) และเมื่อเปรียบเทียบ phenotypically HLA matched และ genotypically HLA matched กรณีหลังจะพบน้อยมากคือประมาณ 1% เท่านั้น

การตรวจความเข้ากันได้ของ HLA: ข้อจำกัดและแนวทางเลือกใหม่ (HLA Matching for Transplantation: Current Limitations and Alternative Approach)

จะเห็นได้ว่ามีปัจจัยหลายประการที่ต้องคำนึงถึงก่อนที่จะพิจารณาให้การเปลี่ยนถ่ายอวัยวะ ทั้งนี้เพื่อให้ได้กราฟท์ที่มีประสิทธิภาพและอายุการใช้งานนาน ซึ่งหมายรวมถึงเปอร์เซนต์การอยู่รอดทั้งของอวัยวะและชีวิตผู้ป่วยด้วย

สำหรับการเปลี่ยนถ่ายอวัยวะ (solid organ) ปัจจุบันการศึกษามากมายทำให้ได้ทราบถึงกลไกการปฏิเสธกราฟท์ ทั้งจากระบบภูมิคุ้มกันและระบบอื่นๆ ดังนั้นจึงสามารถป้องกันและแก้ไขปัญหาตลอดจนภาวะแทรกซ้อนต่างๆ ที่จะเกิดขึ้นภายหลังการผ่าตัด และการใช้อวัยวะก็ไม่จำเป็นต้องเป็นจากญาติสายตรง ซึ่งแม้มิได้เป็นญาติกันก็ตาม แต่หากตรวจหาชนิดและตรวจความเข้ากันได้ของ HLA ก็สามารถทำการเปลี่ยนถ่ายให้กันได้ และนอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงการนำอวัยวะจากสัตว์มาใช้กับคนได้ด้วย (xeno-graft, xenotransplantation) และเป็นที่คาดหมายว่าจะเป็นแหล่งสำรองอวัยวะสำหรับผู้ป่วยในอนาคตด้วย

เมื่อเปรียบเทียบกับการเปลี่ยนถ่ายไขกระดูก ซึ่งมีความซับซ้อนและละเอียดอ่อนมาก การพิจารณาญาติสายตรงและมีทั้ง HLA identical และ compatibility กับผู้ป่วย ยังเป็นหลักสำคัญสำหรับการหาไขกระดูกอยู่ การศึกษาในประชากรยุโรปซึ่งโดยเฉลี่ยจะมีบุตร 2.7 คนต่อครอบครัว พบว่าในจำนวนพี่น้องท้องเดียวกันจะมี genotypically HLA identical เพียง 30% เท่านั้น การพิจารณาใช้ไขกระดูกจากผู้บริจาคอื่นๆ ที่ไม่ใช่ญาติสายตรงจึงเกิดขึ้นและมีการตรวจหากันมาก แต่โอกาสที่จะพบว่ามี HLA compatibility กันมีน้อยมาก ในต่างประเทศมีองค์กรเรียกว่า Bone Marrow Donors Worldwide Registry โดยมีการตรวจสอบชนิดของ HLA-A, -B, -DR subclass ต่างๆ ของสมาชิกเก็บ

เป็นบันทึกไว้ ปัจจุบันได้ทำไปแล้วกว่า 9 แสนคนจากจำนวนสมาชิกทั้งหมด 2.7 ล้านคน จำนวนที่ได้ตรวจสอบไว้แล้วนี้ดูเหมือนจะมากมายและเพียงพอสำหรับผู้ป่วยรอเปลี่ยนถ่ายอวัยวะที่มีอยู่ทั่วโลกขณะนี้ แต่จำนวนที่ตรวจสอบไปแล้วนี้ ไม่ได้เข้ากันได้กับผู้ป่วยเลยก็มี และโดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ป่วยที่มี HLA antigen ชนิดหาได้ยาก (rare HLA haplotypes)

ปัจจุบันได้มีผู้ศึกษาเพื่อหาหนทางแก้ไขปัญหาสำหรับผู้ป่วยที่มี HLA antigen ชนิดหายากดังกล่าว โดยการนำเซลล์จาก cord blood ของทารกในครรภ์มาใช้แทนไขกระดูก ดังเป็นที่ทราบว่าใน cord blood ประกอบด้วยเซลล์ต้นกำเนิด (progenitor cells) มากมายเช่นเดียวกับในไขกระดูก นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ cord blood ในการปลูกถ่ายแทนการให้ไขกระดูก ยังลดอัตราการเกิด GvHD ได้อีกด้วย จากการศึกษาเบื้องต้นเปรียบเทียบการใช้ cord blood และไขกระดูก และได้ทำการตรวจ HLA mismatched จากผู้บริจาคที่เป็นญาติสายตรง (related donor) และ/หรือ HLA compatible จากผู้บริจาคที่มิใช่ญาติ พบว่าการให้ cord blood ทดแทนจะมีโอกาสเกิด GvHD น้อยกว่าการใช้ไขกระดูก

แม้ว่าในปัจจุบันจะมีการนำเทคนิคทางอณูชีววิทยามาใช้เพื่อการตรวจแยกความหลากหลายของ HLA polymorphism และสามารถทำให้การตรวจความเข้ากันได้ของ HLA antigens ในระหว่างบุคคลมีประสิทธิภาพดีขึ้นมาก แต่ก็ยังไม่มีการตรวจสอบใดที่มีความจำเพาะและมีความเชื่อถือได้เพียงพอที่จะใช้คาดเดาภาวะอันไม่พึงประสงค์ที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการเปลี่ยนถ่ายอวัยวะ ได้แก่ GvHD และ disease relapse เท่าที่ทำกันในปัจจุบันคือการตรวจหาระดับ cytotoxic และ helper lymphocyte precursors (CTLp และ HTLp) ในหลอดทดลอง ร่วมกับการปรับปรุงวิธีการตรวจแบบมาตรฐานดังเดิม (วิธี mixed lymphocyte reaction) เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบดีขึ้น อันหมายถึงลดโอกาสของการปฏิเสธกราฟท์และ/หรือการคาดเดาโอกาสของการปฏิเสธกราฟท์ที่อาจจะเกิดขึ้นได้แม่นยำขึ้น

สิ่งที่น่าสนใจยิ่งในขณะนี้คือ ในจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการเปลี่ยนถ่ายอวัยวะจำนวนหนึ่งซึ่งแม้จะได้รับอวัยวะที่เป็น HLA mismatched ก็ตาม แต่กลับสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้โดยปกติไม่เกิดการปฏิเสธกราฟท์ หรือบางรายมีแต่ไม่รุนแรง ทำไมจึงเป็นเช่นนี้ จากการศึกษาในผู้ป่วยดังกล่าวสามารถสันนิษฐานได้เป็น 2 เหตุผลคือ ประการแรกผู้ป่วยมีการพัฒนาตนเองให้มีความทนต่ออวัยวะนั้นๆ ได้ และประการที่สอง T cell repertoire ของผู้ป่วยไม่สามารถจดจำ หรือแยกแยะภาวะ incompatibility ที่เกิดขึ้นในร่างกายได้ นอกจากเหตุผลสองประการดังกล่าวแล้ว ยังมีอีกเหตุผลหนึ่งที่อธิบายได้คือ จากหลักฐานการศึกษาและการพิสูจน์ได้ว่าโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับการปฏิเสธอวัยวะ อาจไม่ได้เกิดจาก HLA อย่างเดียว แต่เกิดได้จากทั้ง HLA และ non-HLA-linked genetic factors ด้วย ดังนั้นหากสามารถตรวจความเข้ากันได้ในระดับยีนและพบว่า non-HLA-linked genetic factors เข้ากันได้ แม้ว่าส่วนของ HLA จะเข้ากันไม่ได้ ผู้ป่วยก็จะไม่มี

การปฏิเสธอวัยวะและมีอายุรอดของอวัยวะและการใช้งานได้นาน

บทสรุป

จากเหตุผลและความเป็นมาทั้งหมด สามารถกล่าวได้ว่า แม้จะมีการปรับปรุงและพัฒนายาและเคมีภัณฑ์ ตลอดจนการปฏิบัติและดูแลรักษาผู้ป่วยภายหลังการเปลี่ยนถ่ายอวัยวะได้ดีเพียงใด การตรวจหาชนิดและการตรวจสอบความเข้ากันได้ของ HLA antigens ระหว่างผู้ให้และผู้รับ ยังถือเป็นปัจจัยหลักในการพิจารณาสำหรับแพทย์ก่อนให้การรักษา สำหรับการเปลี่ยนถ่ายอวัยวะอื่นๆ ที่มิใช่ไขกระดูก การพิจารณายังมุ่งให้ความสำคัญอยู่ที่ระดับของความเข้ากันไม่ได้ของ HLA antigen (degree of incompatibility) เป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจร่วมกับการพิจารณาอายุของอวัยวะที่จะนำมาเปลี่ยนถ่าย และความรุนแรงของอาการทางคลินิกที่จะเกิดขึ้นภายหลังการผ่าตัด แต่สำหรับการเปลี่ยนถ่ายไขกระดูก ความเข้ากันได้ (degree of compatibility) ถือเป็นเรื่องสำคัญอย่างยิ่งและเป็นความจำเป็นต้องตรวจสอบ ดังนั้นเพื่อตอบสนองเหตุและผลดังกล่าว การศึกษา HLA antigen ในระดับโมเลกุลอย่างละเอียด และการพิจารณานำเทคนิคทางอณูชีววิทยามาใช้ในการตรวจหาและตรวจความเข้ากันได้ในระดับยีนจึงเป็นเรื่องน่าสนใจ ร่วมกับองค์ประกอบอื่นๆ ได้แก่การคัดเลือกผู้บริจาคที่เหมาะสม การใช้ยาและเคมีภัณฑ์ที่ดี การเตรียมความพร้อมในด้านการรักษาและป้องกันภาวะอันไม่พึงประสงค์ที่จะเกิดขึ้นกับผู้ป่วย ทั้งหมดเหล่านี้ร่วมกัน จะนำมาซึ่งความสำเร็จในการเปลี่ยนถ่ายอวัยวะ นั่นหมายถึงความปลอดภัยและการยืดอายุผู้ป่วยให้อยู่ได้นานต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Howell MW, Navarrete C. The HLA System: an update and relevance to patient-donor matching strategies in clinical transplantation. Vox Sang 1996; 71: 6-12.
2. Ottinger H, Grosse-Wilde H. Immunological aspects of bone marrow transplantation. In: Schaefer UW, Beelen DW (eds), Bone Marrow Transplantation. 2nd ed. Karger, Switzerland, 1966: 4-21.