นิพนธ์ต้นฉบับ • Original Article

ความสัมพันธ์ระหว่างพันธุกรรมของแอนติเจนหมู่เลือดดัฟฟีต่อการติดเชื้อและความรุนแรงของโรคติดเชื้อเอชไอวี

สรายศ ร่าเริงใจ[1*], อรทัย พงศทัศน์เหม[2]
[1]แขนงภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา
[2]ห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลดอกคำใต้ จังหวัดพะเยา

Genetically Association of Duffy Blood Group Antigens in HIV Infection and Severity

Sarayot Rareongjai[1*], Orrathai Pongtussanahem[2]
[1]Department of Clinical Immunology, Faculty of Allied Health Sciences, University of Phayao
[2]Laboratory of Medical Technology, Dok-Khamtai Hospital, Phayao.

หลักการและวัตถุประสงค์: เชื้อเอชไอวีเข้าสู่เซลล์เป้าหมายได้โดยการจับกับตัวรับชนิดไกลโคโปรตีนที่จำเพาะ ซึ่งตัวรับลักษณะนี้สามารถพบได้ทั้งในเซลล์เม็ดเลือดขาวและแอนติเจนของเม็ดเลือดแดงที่สามารถนำไปสู่การส่งเสริมกระบวนการติดเชื้อได้ การศึกษานี้จึงมุ่งศึกษาความสัมพันธ์ของหมู่เลือดที่มีลักษณะเป็นไกลโคโปรตีน 3 ชนิดต่อการติดเชื้อและความรุนแรงของโรคติดเชื้อเอชไอวี

วิธีการศึกษา: ศึกษาการแสดงออกของแอนติเจนหมู่เลือดในกลุ่มอาสาสมัครสุขภาพดีและผู้ติดเชื้อเอชไอวี จำนวนกลุ่มละ 60 ราย โดยอาศัยการทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีที่จำเพาะด้วยวิธีมาตรฐาน และศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหมู่เลือดดัฟฟีโดยอาศัยการเทคนิค PCR-SSP และ PCR-RFLP ในผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีการจำแนกระดับความรุนแรงจากระดับ CD4 จำนวน 200 ราย ก่อนวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของหมู่เลือดต่อการติดเชื้อและความรุนแรงของโรคติดเชื้อเอชไอวี

ผลการศึกษา: จากแอนติเจนที่มีลักษณะเป็นไกลโคโปรตีนที่คล้ายคลึงกัน 3 ชนิด มีเพียงแอนติเจน Fy^b เท่านั้นที่มีความสัมพันธ์ต่อการติดเชื้อเอชไอวี โดยพบการแสดงออกได้ในอาสาสมัครปกติและกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีได้ที่ร้อยละ 26.7 และ 56.7 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะทางพันธุกรรมที่ตรวจพบจีโนไทป์ *FYA/FYB* ในกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีมากกว่าอาสาสมัครสุขภาพดีที่ร้อยละ 50.5 และ 25.4 ตามลำดับ

Background and Objective: Human Immuno-Deficiency Virus (HIV) can infect target cells by binding to specific glycoprotein receptors. These receptors have been found expressed not only on target white blood cells, but also red blood cells. The binding of HIV and red blood cell glycoprotein leads to novel infection called trans-infection. This study aimed to investigate the correlation between 3 glycoproteins antigens on HIV infection and its severity.

Method: Expression of glycoproteins antigens on red blood cells was detected using specific monoclonal antibodies by standard tube technique in 60 samples from 2 study groups including healthy control and HIV-infected patients. Then, genotyping of the *DARC* gene was analyzed using PCR-SSP and PCR-RFLP in 200 HIV-infected patients, in which CD4 level was detected. The association between glycoproteins antigen on HIV infection and severity was statistically tested.

Results: It was demonstrated that only Fy^b antigen showed significant association with HIV infection, which was 26.7% and 56.7% of healthy control and HIV-infected patients, respectively. It was also shown that a correlation existed with DARC genotype. *FYA/FYB* was found at higher frequencies in HIV-infected patients than in healthy control by about 50.5% and 25.4%, respectively.

*Corresponding Author: Sarayot Rareongjai, Department of Clinical Immunology, Faculty of Allied Health Sciences, University of Phayao, Thailand, 56000 Email: Gangkku@hotmail.com

เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าแอนติเจนดังกล่าวก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อเอชไอวีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p < 0.0001 และ Odd ratio = 2.99 (95%CI = 1.81-4.92) แต่ไม่พบความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้น

สรุป: แอนติเจน Fy^b ช่วยส่งเสริมให้เกิดการติดเชื้อ ทำให้เกิดการติดเชื้อได้ง่ายขึ้นถึง 2.99 เท่า แต่ไม่มีผลต่อระดับความรุนแรงของการติดเชื้อที่เกิดขึ้นแต่อย่างใด

คำสำคัญ: เอชไอวี, ดัฟฟี, การติดเชื้อ, แอนติเจนเม็ดเลือดแดง

Chi-square testing showed a significant association at *p-value <0.0001* and Odd ratio 2.99 (95% CI = 1.817-4.926). However, this antigen lacks any association to the severity of HIV infection.

Conclusion: Red blood cell antigen Fy^b enhances HIV infection by 2.99 compared to the normal condition. However, it is not a contributory factor in the severity of HIV infection.

Keywords: HIV, Duffy, Infection, Red cell antigen

ศรีนครินทร์เวชสาร 2561; 33(4): 301-7. • Srinagarind Med J 2018; 33(4): 301-7.

บทนำ

เชื้อไวรัสเอชไอวีจะเข้าไปทำลายเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย โดยเข้าทำลายเซลล์เป้าหมายหลัก 2 ชนิดคือ ลิมโฟไซต์ชนิดซีดีสี่ และโมโนไซต์ ผ่านทาง CC-chemokine receptor 5 (CCR5) หรือ C-X-C chemokine receptor type 4 (CXCR-4) ตัวรับร่วมซึ่งช่วยในการรวมตัวเข้าไปยังเซลล์เป้าหมาย[1,2] เป็นเหตุให้เกิดการทำลายลิมโฟไซต์ชนิดซีดีสี่ และโมโนไซต์ ส่งผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันที่ต่ำลง[3,4] นำไปสู่ภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง นอกจากเชื้อจะสามารถบุกรุกเข้าเซลล์เม็ดเลือดขาวโดยตรงได้แล้ว เชื้อเอชไอวียังสามารถจับกับเซลล์เม็ดเลือดแดง ก่อนถูกขนส่งไปสู่เซลล์เม็ดเลือดขาวในลำดับต่อไป กระบวนการดังกล่าวเรียกว่าทรานซ์อินเฟคชั่น[5] และอาศัยแอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดงในการยึดเกาะก่อนล่องลอยไปยังบริเวณที่มีเม็ดเลือดขาวเป้าหมายอยู่ โมเลกุลที่อยู่บนผิวเม็ดเลือดแดงที่เชื้อสามารถจับได้นั้นคือ Duffy antigen receptor of Chemokine (DARC) ซึ่งเป็นแอนติเจนของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่พบได้ในคนที่มีหมู่เลือดดัฟฟี[6] ยิ่งไปกว่านั้นการศึกษาอื่นๆ ได้แสดงให้เห็นถึงความสามารถของเชื้อเอชไอวีในการจับกับตัวรับที่มีลักษณะต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นไกลโคลิปิด ไกลโคซามิโนไกลแคน โปรตีโอไกลแคน และเฮปพาแรนซัลเฟต ซึ่งเป็นสารชีวเคมีที่มีน้ำตาลเป็นส่วนประกอบ[7,8] โมเลกุลเหล่านี้สามารถพบได้บนผิวเซลล์ของเม็ดเลือดแดงและบางตัวก็ทำหน้าที่เป็นแอนติเจนของหมู่เลือด เช่น หมู่เลือด Duffy, MNS, Kidd, Kell, Xg และ Deigo ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าแอนติเจนของระบบหมู่เลือดอื่นๆ ที่มีคุณสมบัติที่จัดอยู่ในกลุ่มของไกลโคโปรตีนที่มีน้ำตาลเป็นส่วนประกอบอาจจะมีโอกาสจับได้กับเชื้อไวรัสเช่นเดียวกัน ยิ่งไปกว่านั้นจากการศึกษาความหลากหลายของจีน *DARC* พบว่าจีโนไทป์แบบ *DARC* -46C/C นำไปสู่ระดับความรุนแรงในการดำเนินโรคจากการติดเชื้อเอชไอวีที่น้อยกว่าผู้ติดเชื้อที่มีจีโนไทป์แบบ *DARC* -46T/T หรือ –46T/C ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การแสดงออกของดัฟฟีแอนติเจนมีผลต่อระดับความรุนแรงของโรคเอดส์[9,10] ดังนั้นโครงการวิจัยนี้ จึงมุ่งศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างหมู่เลือดต่างๆ ที่มีไกลโคโปรตีนเป็นองค์ประกอบและมีลักษณะคล้ายคลึงกับหมู่เลือดดัฟฟีในผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีกับความรุนแรงในการดำเนินโรคทั้งในระดับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และการแสดงออกของแอนติเจน รวมถึงความหลากหลายของจีน *DARC* ในตำแหน่ง -46 T->C ที่เกิดขึ้นจะส่งผลต่อระดับความรุนแรงของผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีในคนไทย เพื่อเป็นพื้นฐานในการป้องกันการติดเชื้อใหม่ที่อาจรุนแรงขึ้นได้จากการมีหมู่เลือดที่แตกต่างกันในแต่ละบุคคลต่อไป

วิธีการศึกษา

1. กลุ่มตัวอย่างในการศึกษา

กลุ่มตัวอย่างในการศึกษาจำแนกออกเป็น 2 ชุด ประกอบด้วย กลุ่มตัวอย่างในการศึกษา การแสดงออกของแอนติเจนหมู่เลือด จำนวน 120 ราย จำแนกได้เป็นอาสาสมัครสุขภาพดีและผู้ติดเชื้อเอชไอวีกลุ่มละ 60 ราย โดยคัดเลือกผู้บริจาคโลหิตที่ผ่านการคัดกรองร่องรอยของการติดเชื้อซิฟิลิส ไวรัสตับอักเสบชนิดบี ไวรัสตับอักเสบชนิดซี และเอชไอวี สำหรับผู้ติดเชื้อเอชไอวีคัดเลือกจากเป็นอาสาสมัครที่ให้ผลบวกต่อตรวจการติดเชื้อเอชไอวีตามขั้นตอนมาตรฐานจากโรงพยาบาลดอกคำใต้ โดยเป็นผู้ป่วยรายใหม่ซึ่งยังไม่ได้รับยาต้านไวรัสที่อาจส่งผลต่อการแสดงออกของแอนติเจนหมู่เลือด

ในการทดสอบทางพันธุกรรมได้มีการเก็บตัวอย่างชุดที่ 2 เพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือให้แก่การศึกษาในระดับพันธุกรรม เพิ่มเติมในกลุ่มตัวอย่างควบคุม และกลุ่มผู้ติดเชื้อเพิ่มขึ้นจนมีจำนวนตัวอย่างรวมที่ 118 และ 200 รายตามลำดับ ซึ่งเป็นผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่เข้ารับการตรวจติดตามความรุนแรงของภาวะการติดเชื้อในโรงพยาบาลดอกคำใต้อย่างสม่ำเสมอในช่วงเดือน มกราคม ถึง ธันวาคม 2558 สารพันธุกรรมของ

ตัวอย่างผู้ติดเชื้อเอชไอวีถูกสกัดจากเม็ดเลือดขาวในกระแสเลือดจากเลือดเหลือใช้ในการตรวจติดตามการดำเนินของโรคปริมาตร 2 มิลลิลิตร ด้วยเทคนิคการสกัดด้วยฟีนอลคลอโรฟอร์มเพื่อใช้ในการศึกษาทางพันธุกรรมในลำดับต่อไป ซึ่งจำนวนตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาได้จากการคำนวณตามความถี่ของหมู่เลือดที่สนใจในการศึกษาของประชากรไทยที่พบได้น้อยที่สุดที่ร้อยละ 15 ด้วยการคำนวณตามสูตรของ Cochran

2. การแสดงออกบนผิวเซลล์ของหมู่เลือด

หมู่เลือดที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันและมีองค์ประกอบเป็นไกลโคโปรตีน 3 หมู่เลือด ประกอบด้วย Duffy MNSs และ Kidd ถูกเลือกมาทำการทดสอบการแสดงออกของแอนติเจนของหมู่เลือด แอนติเจนดังกล่าวถูกทำการทดสอบโดยการทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีที่จำเพาะ ประกอบด้วย Anti-Fy^a, Anti-Fy^b, Anti-M, Anti-N Anti-S, Anti-JK^aและ Anti-JK^b (CSL biotherapies, Victoria, Australia) โดยเม็ดเลือดแดงของตัวอย่างถูกนำมาเตรียมเป็นให้มีความเข้มข้นเป็น 3% (V/V) ในน้ำเกลือปกติก่อนทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีแต่ละชนิดในอัตราส่วนแอนติบอดีต่อเซลล์ที่ 2:1 เป็นเวลา 5 นาที แอนติเจนที่มีการแสดงออกจะสังเกตได้จากการเกิดปฏิกิริยาการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงในหลอดทดลอง

3. การจำแนกหมู่เลือดดัฟฟีทางพันธุกรรมและความหลากหลายในตำแหน่ง -46 T->C

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของหมู่เลือดดัฟฟีในจีน *DARC* ได้ถูกทำการทดสอบเพื่อยืนยันความสัมพันธ์ของหมู่เลือดดัฟฟีต่อการติดเชื้อเอชไอวีโดยการศึกษาการกลายพันธุ์ของจีนในตำแหน่งที่เกี่ยวข้องกับการสร้างแอนติเจน Fy^a และ Fy^b ร่วมกับการกลายพันธุ์ในส่วนต้นของจีนในตำแหน่ง -46 T->C โดยอาศัยเทคนิค PCR-SSP และ PCR-RFLP ตามลำดับ โดยอาศัยกระบวนการตามที่เคยมีการศึกษาไว้ก่อนหน้าของ Tournamille และคณะ[11] การแปลผลการทดสอบจะอาศัยการพิจารณาแถบดีเอ็นเอบน 15% acrylamide gel หากพบการกลายพันธุ์ในตำแหน่งดังกล่าวจะพบแถบดีเอ็นเอขนาด ที่มีขนาด 65 bps แสดงถึงการมีอยู่ของอัลลีล C ของ *DARC*-46T->C

4. ความสัมพันธ์ของหมู่เลือดและการติดเชื้อเอชไอวีและความรุนแรงของโรค

ความสัมพันธ์ของหมู่เลือดต่อการติดเชื้อเอชไอวี และความรุนแรงของโรคติดเชื้อเอชไอวีในอาสาสมัครถูกวิเคราะห์โดยอาศัยการวิเคราะห์ทางสถิติเชิงความสัมพันธ์ Chi-square และอัตราส่วน Odd โดยอาศัยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ก่อนทดสอบความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคตามปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดซีดีสี่ อาศัยเกณฑ์การจำแนกความรุนแรงตามมาตรฐานของ WHO โดยจำแนกผู้ป่วยออกเป็น 3 กลุ่มตามความรุนแรงประกอบด้วยรุนแรงน้อย รุนแรงปานกลางและรุนแรงมากตามปริมาณการลดลงของเม็ดเลือดขาวชนิด CD4 ที่ 80 , 81-100 และ >100 เซลล์/ปี ตามลำดับ ด้วย spearman correlation การคำนวณหาอัตราการลดลงของปริมาณ CD4 ในผู้ป่วยทำได้โดยอาศัยสูตรดังแสดง

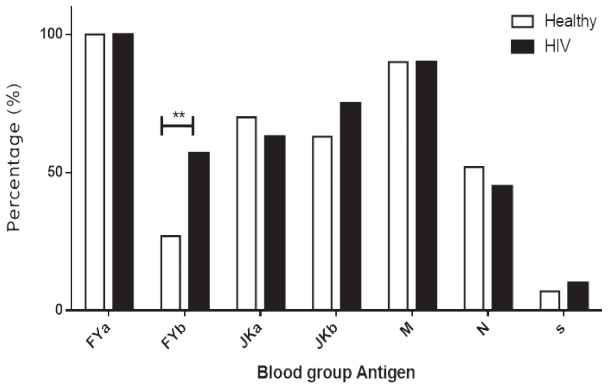
$$\text{อัตราการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของ } CD4 = \frac{\text{ปริมาณ } CD4 \text{ ก่อนรักษา - ปริมาณ } CD4 \text{ ล่าสุด}}{\text{จำนวนปีที่รักษา}}$$

กระบวนการศึกษาทั้งหมดได้ผ่านการพิจารณารับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์มหาวิทยาลัยพะเยาเป็นที่เรียบร้อยเมื่อวันที่ 16 กันยายน 2558 ตามเลขที่การรับรองหมายเลข 57 03 01 0003 และ 57 03 01 004

ผลการศึกษา

แอนติเจนดัฟฟีบีและการติดเชื้อเอชไอวี

ผลการศึกษาความถี่ของแอนติเจนระบบหมู่เลือด Duffy, Kidd และ MNs ที่มีการแสดงออกบนผิวเม็ดเลือดแดงด้วยแอนติบอดีที่จำเพาะ ในอาสาสมัครสุขภาพดีและผู้ติดเชื้อเอชไอวีจำนวนกลุ่มละ 60 ราย พบว่า ในกลุ่มอาสาสมัครสุขภาพดีตรวจพบแอนติเจน Fy^a มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 100 รองลงมาคือ แอนติเจน M, Jk^a, Jk^b, N, Fy^b และ S ที่ร้อยละ 90, 70, 63.3, 51.7, 26.7 และ 6.7 ตามลำดับ และในกลุ่มผู้ที่ติดเชื้อเอชไอวีพบความถี่ของแอนติเจน Fy^a มากที่สุดเช่นเดียวกับกลุ่มคนปกติที่ร้อยละ 100 อันดับรองลงมาคือแอนติเจน M, Jk^b, Jk^a, Fy^b, N และ S ที่ร้อยละ 90, 75, 63.3, 56.7, 45, และ 10 ตามลำดับ (รูปที่ 1) เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลในกลุ่มประชากรด้วยการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าแอนติเจน Fy^b มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อไวรัสเอชไอวีมากที่สุด เมื่อพิจารณาร่วมกับค่าความสัมพันธ์ทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ Chi-square พบว่าแอนติเจน Fy^b มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อเอชไอวีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p = 0.0015$ และ Odd Ratio = 3.6 (95% CI = 1.670-7.742)

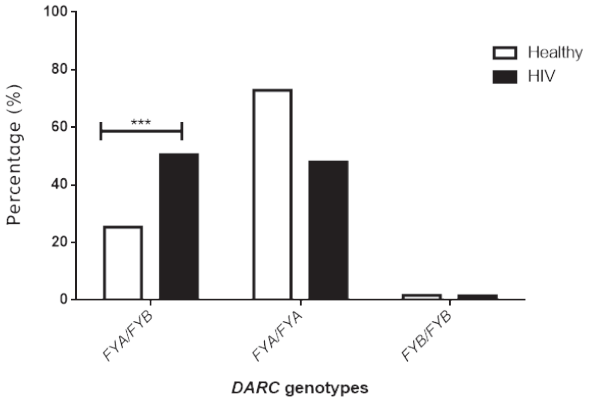


รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ของแอนติเจน Fy^b ต่อการติดเชื้อเอชไอวี

จากการทดสอบการแสดงออกของแอนติเจนหมู่เลือด 7 ชนิดประกอบด้วย Fy^a, Fy^b, JK^a, JK^b, M, N และ s ด้วยแอนติบอดีที่จำเพาะแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของการตรวจพบแอนติเจน Fy^b ที่สูงขึ้นในผู้ติดเชื้อเอชไอวีเมื่อเทียบกับอาสาสมัครสุขภาพดีโดยพบที่ร้อยละ 56.7 และ 26.7 ตามลำดับ เมื่อทดสอบความสัมพันธ์กับการติดเชื้อเอชไอวีโดยอาศัยการทดสอบ Chi-square พบว่าแอนติเจนดัฟฟีบีมีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อเอชไอวีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p = 0.0015**

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของจีน *DARC* และการติดเชื้อเอชไอวี

เมื่อยืนยันความสัมพันธ์ของหมู่เลือดดัฟฟีต่อการติดเชื้อเอชไอวีโดยการตรวจวิเคราะห์การมีอยู่ของจีน *FYA* และ *FYB* ในกลุ่มอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 118 ราย และผู้ติดเชื้อเอชไอวีจำนวน 200 ราย พบลักษณะทางพันธุกรรมที่บ่งชี้ถึงการมีอยู่ของจีนในการสังเคราะห์ดัฟฟีแอนติเจน 3 ลักษณะประกอบด้วย *FYA/FYB, FYA/FYA* และ *FYB/FYB* ซึ่งสามารถพบได้ในระดับที่แตกต่างกันในกลุ่มตัวอย่าง (รูปที่ 2) กล่าวคือลักษณะ *FYA/FYB* จะพบในกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีได้มากกว่าอาสาสมัครสุขภาพดีที่ร้อยละ 50.5 และ 25.4 ตามลำดับในขณะที่ลักษณะ *FYA/FYA* จะพบในอาสาสมัครสุขภาพดีสูงกว่าผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ร้อยละ 72.9 และ 48.0 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของลักษณะพันธุกรรมต่อการติดเชื้อเอชไอวีพบว่าลักษณะ *FYA/FYB* มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อเอชไอวีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ chi-square p =0.0001 และ Odd ratio 2.99 (95% CI = 1.817-4.926) นอกจากความหลากหลายทางพันธุกรรมที่นำไปสู่การเปลี่ยนแปลงลำดับกรดอะมิโนจากดัฟฟีเอ เป็นดัฟฟีบีแล้วนั้นยังมีการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเหนือจีน *DARC* อีกหนึ่งตำแหน่งที่พบความสัมพันธ์กับการแสดงออกของแอนติเจนหมู่เลือดดังกล่าว การกลายพันธุ์ดังกล่าวอยู่ในตำแหน่ง *DARC*-46 T->C จากการศึกษาการกลายพันธุ์ในตำแหน่งดังกล่าวของกลุ่มประชากรทั้งหมด พบว่าตรวจไม่พบลักษณะการกลายพันธุ์ดังกล่าวในกลุ่มประชากรบ่งชี้ว่ากลุ่มประชากรมีการแสดงออกของแอนติเจนหมู่เลือดดัฟฟีตามลักษณะทางพันธุกรรมของหมู่เลือดที่ตรวจพบได้อย่างชัดเจนและการมีอยู่ของแอนติเจนเหล่านั้นพร้อมที่จะส่งเสริมให้เกิดการติดเชื้อเอชไอวีได้มากขึ้น

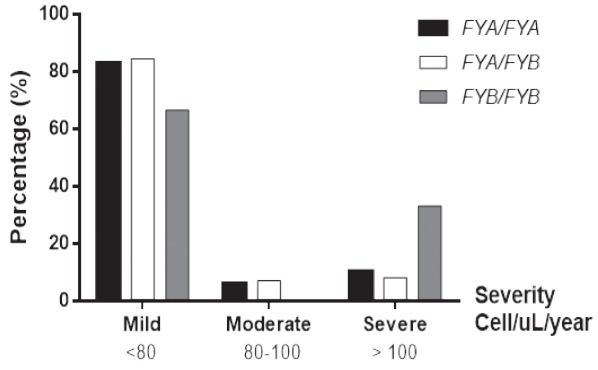


รูปที่ 2 ลักษณะทางพันธุกรรมของหมู่เลือดดัฟฟีและการติดเชื้อเอชไอวี

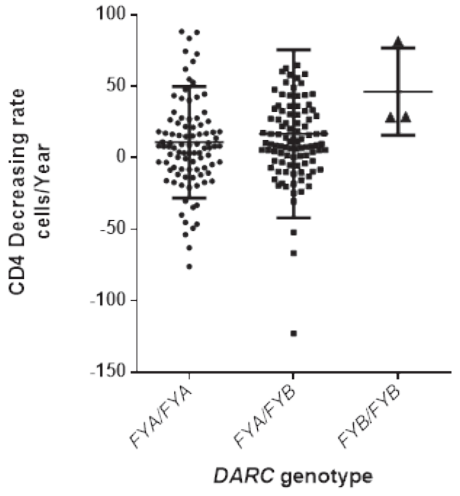
ลักษณะทางพันธุกรรมของหมู่เลือดดัฟฟีในกลุ่มประชากรสามารถตรวจพบได้ 3 ลักษณะประกอบด้วย *FYA/FYA, FYA/FYB* และ *FYB/FYB* ซึ่งพบว่าลักษณะทางพันธุกรรมของหมู่เลือดดัฟฟีแบบ *FYA/FYB* ในความถี่ที่สูงขึ้นในผู้ติดเชื้อเอชไอวี และมีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อเอชไอวีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p < 0.0001***

หมู่เลือดดัฟฟีและความรุนแรงของโรคติดเชื้อเอชไอวี

เมื่อทำการทดสอบทางสถิติเพื่อทดสอบความสัมพันธ์ของการตรวจพบลักษณะทางพันธุกรรมของจีนดัฟฟีในกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีระดับความรุนแรงแตกต่างกันพบว่าผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่จำแนกตามระดับความรุนแรงของโรคเป็นสามกลุ่มประกอบด้วย รุนแรงน้อย ปานกลาง และมาก นั้นสามารถตรวจพบจีน *FYB* ได้ในความถี่ที่ใกล้เคียงกันและไม่พบความสัมพันธ์ของจีนดังกล่าวกับระดับความรุนแรงของโรคติดเชื้อเอชไอวีทางสถิติแต่อย่างใด (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 ความถี่ของดัฟฟีจีโนไทป์ในผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีระดับความรุนแรงของโรคที่แตกต่างกัน



รูปที่ 4 ระดับการลดลงของปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิด CD4 ในผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีจีนดัฟฟีในลักษณะต่างๆ

เมื่อจำแนกกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีตามระดับความรุนแรงของโรคจากการลดลงของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดซีดีสี่เป็นสามกลุ่มประกอบด้วยความรุนแรงน้อย (<80 เซลล์/ไมโครลิตร/ปี) รุนแรงปานกลาง (80-100 เซลล์/ไมโครลิตร/ปี) และรุนแรงมาก (>100 เซลล์/ไมโครลิตร/ปี) จะเห็นว่ากลุ่มตัวอย่างในทุกความรุนแรงตรวจพบลักษณะทางพันธุกรรมของหมู่เลือด *FYA/FYA* มากกว่า *FYA/FYB* และ *FYB/FYB* ยกเว้นในกลุ่มความรุนแรงมากที่พบความถี่ของลักษณะพันธุกรรมแบบ *FYB/FYB* มากขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

จากการเปรียบเทียบระดับความรุนแรงของโรคในกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีจำนวน 200 ราย ตามอัตราลดลงของปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดซีดีสี่ หลังจากการตรวจติดตามการดำเนินของโรคจนครบ 1 ปีตามระยะเวลาการศึกษา ในครั้งแรกพบว่าในกลุ่มผู้ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมแบบ *FYA/FYA* เป็นกลุ่มที่มีระดับการลดลงของปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดซีดีสี่ที่สูง โดยพบการลดลงของเม็ดเลือดขาวดังกล่าวในกลุ่มตัวอย่างจำนวน 34 รายในกลุ่มประชากร 98 ราย ในขณะที่ผู้ป่วยที่มีลักษณะทางพันธุกรรมแบบ *FYA/FYB* พบจำนวนผู้ป่วยที่มีการลดลงของปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดซีดีสี่เพียง 27 รายจากตัวอย่าง 97 ราย ซึ่งปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดซีดีสี่ที่ลดลงเฉลี่ยในทั้งสองกลุ่มประชากรอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกันที่จำนวนเฉลี่ย 120 เซลล์/ไมโครลิตร/ปี และเมื่อทดสอบทางสถิติด้วย spearman correlation พบลักษณะทางพันธุกรรมของจีนดัฟฟีไม่มีความสัมพันธ์ต่อระดับการลดต่ำลงของปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดซีดีสี่ของผู้ป่วยแต่อย่างใด (R^2= *0.069,* p = 0.529) (รูปที่ 4)

ปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดซีดีสี่ที่ลดลงเฉลี่ยต่อปีในทั้งสองกลุ่มประชากรอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกันที่จำนวนเฉลี่ย 120 เซลล์/ไมโครลิตร และเมื่อทดสอบทางสถิติด้วย spearman correlation พบลักษณะทางพันธุกรรมของจีนดัฟฟีไม่มีความสัมพันธ์ต่อระดับการลดต่ำลงของปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดซีดีสี่ของผู้ป่วยแต่อย่างใด (R^2= *0.069,* p = 0.529)

วิจารณ์

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแอนติเจนของหมู่เลือดกับการติดเชื้อไวรัสเอชไอวี ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้คัดเลือกแอนติเจนที่ใช้ในการศึกษาจากระบบหมู่เลือด Duffy, Kidd, MNS ซึ่งเป็นหมู่เลือดที่มีลักษณะของไกลโคโปรตีนที่มีลำดับกรดอะมิโนคล้ายคลึงกับตำแหน่งที่สามารถจับกับเชื้อเอชไอวีได้ จะเห็นได้ว่าในการศึกษาพบว่ามีเพียงแอนติเจน Fy^b เท่านั้นที่พบว่ามีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อไวรัสเอชไอวีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งแอนติเจนของหมู่เลือดดัฟฟีนี้เป็นแอนติเจนที่สามารถรับรู้ได้กับสารเคมโมไคน์ในร่างกายและอาจเป็นไปได้ว่า แอนติเจนดังกล่าวจะมีหน้าที่อื่นนอกเหนือจากที่กล่าวมาข้างต้น ซึ่งสาเหตุการติดเชื้อไวรัสเอชไอวีมีความสัมพันธ์กับหมู่เลือดดัฟฟีนั้น เนื่องจากเชื้อไวรัสเอชไอวีมี V3 loop[12] ซึ่งสามารถจับได้กับโมเลกุลของ DARC ที่อยู่บนผิวเม็ดเลือดแดงของหมู่เลือดดัฟฟีก่อนส่งไปยังเซลล์เป้าหมาย เรียกกระบวนการนี้ว่าทรานส์อินเฟคชั่น จึงทำให้คนที่มีหมู่เลือดดัฟฟีบีบวกสามารถนำส่งเชื้อให้แก่เซลล์เป้าหมายได้มากขึ้นนำไปสู่การติดเชื้อเอชไอวีได้ง่ายกว่าคนที่มีหมู่เลือดดัฟฟีบีเป็นลบ ทั้งนี้เชื้อเอชไอวีอาจสามารถ

จับกับโมเลกุล DARC ได้ดีกว่าหากนิวคลีโอไทด์ที่ 125 เป็นเบส Adenine ซึ่งส่งผลให้เกิดเป็นกรดอะมิโน Aspartic acid ในลำดับกรดอะมิโนที่ 42 ของ DARC ของ Fy^b และจะจับได้ลดลงหากตำแหน่งที่ 125 นี้เป็นเบส Guanine ซึ่งจะส่งผลให้เกิดกรดอะมิโน Glycine ในลำดับกรดอะมิโนที่ 42 ของ DARC ใน Fy^a [12,13] ซึ่งการแสดงออกของหมู่เลือดดัฟฟี นั้นถูกควบคุมด้วยการเข้าจับของทรานสคริปชันเฟคเตอร์ในตำแหน่ง -46 ทำให้หากมีการกลายพันธุ์ของจีน *DARC* ที่ตำแหน่ง -46 ก็จะทำให้กระบวนการแสดงออกของโมเลกุลดังกล่าวพร่องลงนำไปสู่ความผิดปกติของการขนส่งเคโมไคน์ระหว่างเซลล์และส่งผลกระทบถึงการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันที่ทำหน้าที่ในการควบคุมการติดเชื้อนำไปสู่อาการของโรคที่รุนแรงได้[5, 14] การศึกษาที่ผ่านมาพบว่า DARC มีความสัมพันธ์กับการจับของเชื้อเอชไอวี ทำให้เชื้อเอชไอวีสามารถจับได้กับเม็ดเลือดแดงที่มีการแสดงออกของหมู่เลือดดัฟฟีในลักษณะเป็นองค์ประกอบเชิงซ้อนรวมกับเกล็ดเลือดนำไปสู่การหลบหลีก การทำลายจากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย และยารักษาโรคติดเชื้อเอชไอวีได้อีกด้วย[14] แต่จากการยืนยันผลของการกลายพันธุ์ดังกล่าวกับการติดเชื้อเอชไอวีในกลุ่มประชากรพบว่า ให้ผลที่แตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้าคือ ในการศึกษาครั้งนี้ตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ในตำแหน่งดังกล่าวทำให้กลุ่มประชากรได้รับผลกระทบจากการแสดงออกของแอนติเจนในหมู่เลือดดัฟฟีอย่างสมบูรณ์ทำให้กลุ่มประชากรที่มีจีน *FYB* มีการแสดงออกของแอนติเจนอย่างสมบูรณ์และส่งผลต่อการติดเชื้อเอชไอวีได้มากขึ้นแต่ยังคงทำให้ระบบภูมิคุ้มกันตอบสนองได้ในระดับที่ไม่ต่างกันจึงเป็นเหตุให้ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับการลดลงของซีดีสี่ในผู้ป่วย โดยพบว่าผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้มีความแตกต่างจากการศึกษาที่เกิดขึ้นก่อนหน้าในกลุ่มประชากรอเมริกันและแอฟริกันอเมริกัน ซึ่งพบว่าในกลุ่มประชากรแอฟริกันอเมริกันซึ่งมีเชื้อสายมาจากแอฟริกานั้น มีความถี่ของการกลายพันธุ์ของจีน DARC ในตำแหน่ง -46 ที่เป็นแบบ C/C สูงขึ้นเป็นผลให้ประชากรกลุ่มดังกล่าวไม่มีการแสดงออกของแอนติเจนหมู่เลือดดัฟฟี ที่ส่งผลให้ประชากรกลุ่มดังกล่าวมีอัตราการติดเชื้อและความรุนแรงของการดำเนินของโรคที่ลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องจากการพร่องแอนติเจนดัฟฟีที่ส่งเสริมการเข้าสู่เซลล์ของเชื้อร่วมกับการลดระดับการตอบสนองของเคมโมไคน์ลงทำไปสู่การทำลายเม็ดเลือดขาวชนิดซีดีสี่ที่น้อยลงจึงยังสามารถส่งเสริมให้ระบบภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อเชื้อเอชไอวีได้อย่างมีประสิทธิภาพ

สรุป

ผลการศึกษาเสนอให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของหมู่เลือดดัฟฟี ที่มีลักษณะเป็นไกลโคโปรตีนที่สามารถเพิ่มโอกาสเสี่ยงต่อการติดเชื้อเอชไอวีในกลุ่มประชากรได้สูง โดยเฉพาะกับผู้ที่มีการแสดงออกของแอนติเจน Fy^b หรือมีลักษณะทางพันธุกรรมแบบ *FYA/FYB* และไม่มีการกลายพันธุ์ของจีน *DARC* ในตำแหน่ง -46 จาก T เป็น C แต่การแสดงออกของแอนติเจนดังกล่าวนั้นไม่ได้มีความสัมพันธ์ต่ออาการรุนแรงของโรคเอชไอวีในผู้ป่วยแต่อย่างใด

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณหน่วยงานเอดส์โรงพยาบาลดอกคำใต้และที่อนุญาตให้เก็บข้อมูลผู้ป่วยเพื่อการดำเนินงานวิจัย และขอขอบคุณงบประมาณสนับสนุนงานวิจัยจากศูนย์เครือข่ายความร่วมมือเพื่อการพัฒนาเชิงพื้นที่แบบสร้างสรรค์และสำนักงานสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย สัญญาเลขที่ ABC57007

เอกสารอ้างอิง

1. Weiss RA. How does HIV cause AIDS? Science (New York, NY). 1993; 260(5112): 1273-9.
2. Douek DC, Roederer M, Koup RA. Emerging concepts in the immunopathogenesis of AIDS. Annu Rev Med 2009; 60: 471-84.
3. Garg H, Mohl J, Joshi A. HIV-1 induced bystander apoptosis. Viruses 2012; 4: 3020-43.
4. Alimonti JB, Ball TB, Fowke KR. Mechanisms of CD4+ T lymphocyte cell death in human immunodeficiency virus infection and AIDS. J Gen Mol Virol 2003; 84: 1649-61.
5. He W, Neil S, Kulkarni H, Wright E, Agan BK, Marconi VC, et al. Duffy antigen receptor for chemokines mediates trans-infection of HIV-1 from red blood cells to target cells and affects HIV-AIDS susceptibility. Cell Host Microbe 2008; 4: 52-62.
6. Walton RT, Rowland-Jones SL. HIV and chemokine binding to red blood cells--DARC matters. Cell Host Microbe Microbe 2008; 4: 3-5.
7. Beck Z, Brown BK, Wieczorek L, Peachman KK, Matyas GR, Polonis VR, et al. Human erythrocytes selectively bind and enrich infectious HIV-1 virions. PloS One 2009; 4: e8297.
8. Trowbridge JM, Gallo RL. Dermatan sulfate: new functions from an old glycosaminoglycan. Glycobiology 2002; 12: 117r-25r.
9. Reich D, Nalls MA, Kao WH, Akylbekova EL, Tandon A, Patterson N, et al. Reduced neutrophil count in people of African descent is due to a regulatory variant in the Duffy antigen receptor for chemokines gene. PLoS Genet 2009; 5: e1000360.

10. Grann VR, Ziv E, Joseph CK, Neugut AI, Wei Y, Jacobson JS, et al. Duffy (Fy), DARC, and neutropenia among women from the United States, Europe and the Caribbean. Br J Haematol 2008; 143: 288-93.
11. Tournamille C, Colin Y, Cartron JP, Le Van Kim C. Disruption of a GATA motif in the Duffy gene promoter abolishes erythroid gene expression in Duffy-negative individuals. Nat Genet 1995; 10: 224-8.
12. King CL, Adams JH, Xianli J, Grimberg BT, McHenry AM, Greenberg LJ, et al. Fy(a)/Fy(b) antigen polymorphism in human erythrocyte Duffy antigen affects susceptibility to Plasmodium vivax malaria. Proc Natl Acad Sci U S A 2011; 108: 20113-8.
13. Kulkarni H, Marconi VC, He W, Landrum ML, Okulicz JF, Delmar J, et al. The Duffy-null state is associated with a survival advantage in leukopenic HIV-infected persons of African ancestry. Blood 2009; 114: 2783-92.
14. Lachgar A, Jaureguiberry G, Le Buenac H, Bizzini B, Zagury JF, Rappaport J, et al. Binding of HIV-1 to RBCs involves the Duffy antigen receptors for chemokines (DARC). Biomed Pharmacother 1998; 52: 436-9.