นิพนธ์ต้นฉบับ

ความถี่ของจีโนไทป์ *HPA-1* ถึง *HPA-11, HPA-13, -14, -15* และ *HPA-17* ในผู้บริจาคโลหิตคนไทย

ธานน อินอรวงศ์สกุล[1] ชาย ฤกษ์ชัย[1] อรรถพล ศรีสุดดี[1] ศรีประไพ ขนุนทอง[1] ศิริลักษณ์ เพียรเจริญ[1]
ภาวิณี คุปตวินทุ[1] และ มยุรี เก่งเกตุ[2]
[1]ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย [2]กลุ่มวิชาธนาคารโลหิต คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

บทคัดย่อ

บทนำ *Human platelet antigen (HPA) system มีความสำคัญโดยเฉพาะการเกิดภาวะ fetal-neonatal alloimmune thrombocytopenia, platelet transfusion refractoriness และ post-transfusion purpura การตรวจ จีโนไทป์ของ HPA จะเป็นประโยชน์ในการวินิจฉัยและการรักษาโรค* ***วัตถุประสงค์*** *เพื่อศึกษาข้อมูลย้อนหลังของความถี่จีโนไทป์ HPA-1 ถึง HPA-11, HPA-13 ถึง HPA-15 และ HPA-17 ในผู้บริจาคเลือดคนไทย* ***วัสดุและวิธีการ*** *ศึกษาข้อมูลของความถี่จีโนไทป์ HPA-1, -2, -4, -5 และ HPA -6 จำนวน 10,510 ราย และตรวจจีโนไทป์ HPA-3, -7, -8, -9, -10, -11, -13, -14, -15 และ HPA-17 เพิ่มเติมในผู้บริจาคเลือดจำนวน 2,009 ราย ด้วยวิธี real-time PCR ในผู้บริจาคเลือด และเปรียบเทียบความถี่จีโนไทป์กับกลุ่มประชากรอื่นที่เคยมีรายงานไว้* ***ผลการศึกษา*** *จากผลการตรวจ พบว่า genotype frequencies ของ HPA ทั้ง 7 ระบบ คือ HPA-1a และ HPA-1b เท่ากับ 0.981 และ 0.019, HPA-2a และ HPA-2b เท่ากับ 0.953 และ 0.047, HPA-3a และ HPA-3b เท่ากับ 0.564 และ 0.436, HPA-4a และ HPA-4b เท่ากับ 0.999 และ 0.001, HPA-5a และ HPA-5b เท่ากับ 0.967 และ 0.033, HPA-6a และ HPA-6b เท่ากับ 0.985 และ 0.015 และ HPA-15a และ HPA-15b เท่ากับ 0.530 และ 0.470 ตามลำดับ พบว่า ส่วนใหญ่เป็น จีโนไทป์แบบ homozygous aa รองลงมาคือ heterozygous ab ส่วน homozygous bb พบได้น้อย ยังไม่พบ HPA-4b4b แต่พบ HPA-6b6b ได้ 1 ราย อัตราความชุกของจีโนไทป์ HPA-1 ถึง HPA-6 และ HPA-15 ในการศึกษานี้ใกล้เคียงกับรายงานก่อนหน้าในผู้บริจาคเลือดคนไทยแต่พบความแตกต่างกลุ่มประชากรเอเชียอื่นที่มีรายงานไว้* ***สรุป*** *การศึกษานี้ได้รายงานความถี่ของจีโนไทป์ HPA-1 ถึง HPA-6 และ HPA-15 รวมทั้ง HPA-7 ถึง HPA-11, HPA-13, HPA-14 และ HPA-17 ในผู้บริจาคเลือดคนไทย ซึ่งเป็นข้อมูลที่สามารถนำไปใช้ในการจัดหาเกล็ดเลือดจากผู้บริจาคเลือดที่เป็น HPA-matched ให้กับผู้ป่วยที่สร้างแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือด อีกทั้งใช้ในการเตรียมเซลล์มาตรฐานที่เหมาะสมในการตรวจแยกชนิดของแอนติบอดี เพื่อช่วยเพิ่มความปลอดภัยของการให้เกล็ดเลือดกับผู้ป่วย*

คำสำคัญ : *● แอนติเจนต่อเกล็ดเลือด ● HPA ● ความถี่จีโนไทป์ ● ผู้บริจาคเลือดคนไทย*

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต. 2564;31:9-16.

ได้รับต้นฉบับ 23 ธันวาคม 2563 แก้ไขบทความ 14 มกราคม 2564 รับลงตีพิมพ์ 24 กุมภาพันธ์ 2564

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ ธานน อินอรวงศ์สกุล ฝ่ายห้องปฏิบัติการพิเศษ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย 1871 ถนน อังรีดูนังต์ เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330 โทรศัพท์ 02-2554213, 02-2639600 ต่อ 1310 หรือ 1312 โทรสาร 02-2556925 Email: thanon.i@redcross.or.th

Original Article

Frequencies of *HPA-1* to *HPA-11*, *HPA-13*, *-14*, *-15* and *HPA-17* in Thai blood donors

Thanon Inornwongsakul[1], Chai Roekchai[1], Atthapol Srisuddee[1], Sriprapai Khanuntong[1], Sirilak Phiancharoen[1], Pawinee Kupatawintu[1] and Mayuree Kengkate[2]

[1]National Blood Centre, Thai Red Cross Society; [2]Department of Blood Bank, Faculty of Medical Technology, Huachiew Chalermprakiet University

Abstract:

Introduction: *Human platelet antigen (HPA) systems are involved in fetal-neonatal thrombocytopenia, platelet transfusion refractoriness, and post-transfusion purpura. The HPA genotyping is beneficial in the diagnosis and treatment.* ***Objective:*** *This retrospective study aimed to determine genotype frequencies of HPA-1 to HPA-11, HPA-13 to HPA-15 and HPA-17 in Thai blood donors.* ***Materials and Methods:*** *Totally, 10,510 donor samples were genotyped for HPA-1, -2, -4, 5, and HPA-6, and extended genotypes by real time-PCR. Consequently, 2,009 samples were genotyped for HPA-3, -7, -8, -9, -10, -11, -13, -14,-15 and HPA-17. The frequencies were compared with other populations previously reported.* ***Results****: Among blood donors, the frequencies of HPA-1a and HPA-1b were 0.981 and 0.019; HPA-2a and HPA-2b were 0.953 and 0.047; HPA-3a and HPA-3b were 0.564 and 0.436, respectively. The frequencies of HPA-4a and HPA-4b were 0.999 and 0.001; HPA-5a and HPA-5b were 0.967 and 0.033 and HPA-6a and HPA-6b were 0.985 and 0.015. For the HPA extended genotypes, the most common was homozygous aa, followed by heterozygous ab and homozygous bb was rare. The HPA-4b4b was not found while, only one donor with HPA-6b6b was observed. The prevalence rates of HPA-1 to HPA-6, and HPA-15 were similar to a related study in Thai blood donors and showed significantly different from other Asian populations previously reported.* ***Conclusion:*** *This study showed genotype frequencies of HPA-1 to HPA-6, and HPA-15, and extended genotypes in Thai blood donors. This data is useful to provide HPA-matched platelet donors for patients with HPA antibodies. In addition, the data file could provide appropriate panel cells not only to identify antibody specificity but also to increase transfusion safety.*

Keywords : ● *Human platelet antigen* ● *HPA* ● *Genotype frequencies* ● *Thai blood donors*

J Hematol Transfus Med. 2021;31:9-16.

บทนำ

Human platelet antigen (HPA) system มีความสำคัญทางคลินิก โดยเฉพาะการเกิดภาวะ venous thrombosis, myocardial infarction, platelet transfusion refractoriness (PTR), post-transfusion purpura (PTP), drug-induced immune thrombocytopenia, fetal-neonatal alloimmune thrombocytopenia (FNAIT)[1-4] ปัจจุบัน The Platelet Working Party of the International Society of Blood Transfusion (ISBT) กำหนดชื่อระบบของ HPA เป็น 29 ระบบ คือ HPA-1 ถึง HPA-29w ถึงแม้ว่าแอนติบอดีที่พบในผู้ป่วยที่มีปัญหา PTR, PTP และ FNAIT ส่วนใหญ่เป็นแอนติบอดีต่อ human leukocyte antigen (HLA) แต่อย่างไรก็ตามผู้ป่วยบางรายอาจพบแอนติบอดีต่อทั้ง HLA และ/หรือ HPA จึงจำเป็นต้องทำการตรวจเพื่อแยกชนิดของแอนติบอดีที่พบในผู้ป่วยและเตรียมเกล็ดเลือดจากผู้บริจาคเลือดที่มีหมู่เลือด ABO compatible และ HLA-matched หรือ HPA-matched platelets[5]

แอนติบอดีต่อ HPA ที่พบว่าทำให้เกิดปัญหาทางคลินิกในผู้ป่วย ส่วนใหญ่เกิดจากแอนติบอดีต่อ HPA-1 ถึง HPA-5 และ HPA-15 สำหรับในประเทศไทยมีการรายงานโดย อรรถพล ศรีสุดดี และคณะ[6] ในผู้ป่วยที่ส่งตรวจแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือด ณ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย เพื่อจัดหาเกล็ดเลือดที่เข้ากันได้และเหมาะสมให้กับผู้ป่วย ทั้งในกลุ่ม PTR และ FNAIT จำนวน 508 ราย พบว่า ส่วนใหญ่เป็นแอนติบอดีต่อ HLA 84.26%, แอนติบอดีต่อ HLA ร่วมกับ HPA 13.27% และ แอนติบอดีต่อ HPA 2.47% สำหรับผู้ป่วยที่สร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจน HLA และ/หรือ HPA อาจต้องตรวจจีโนไทป์ของ HLA และ/หรือ HPA ทั้งในผู้ป่วยและผู้บริจาคเลือดเพื่อจัดหาเกล็ดเลือดที่เป็น HLA-matched และ/หรือ HPA-matched platelets และมีผล platelet crossmatch เข้ากันได้กับผู้ป่วย[6-8]

ปัจจุบันการตรวจจีโนไทป์ของ HPA ทำได้หลายวิธี ได้แก่ polymerase chain reaction with sequence-specific primer (PCR-SSP), multiplex PCR, real time PCR และ high-throughput technology เช่น Bead arrays เป็นต้น[7,9] ตั้งแต่ พ.ศ. 2548 ห้องปฏิบัติการพิเศษได้เริ่มนำเทคนิค PCR-SSP มาตรวจจีโนไทป์ *HPA-1* ถึง *HPA-6* และ *HPA-15* ในผู้บริจาคเลือดจำนวน 500 ราย[10] ต่อมาในปี พ.ศ. 2555 ได้ประยุกต์ใช้เทคนิค multiplex PCR ในการตรวจจีโนไทป์ *HPA-1* ถึง *HPA-6* และ *HPA-15* เพื่อลดขั้นตอนและต้นทุนการตรวจ ความถี่ของจีโนไทป์ *HPA-1* ถึง *HPA-6* และ *HPA-15* ไม่มีความแตกต่างกันกับรายงานที่ผ่านมา โดยความถี่ของ *HPA-1b, -2b, -5b* และ *-6b* พบได้น้อย ส่วน *HPA-1b1b* และ *HPA-4b4b* ไม่พบในทั้งสองกลุ่มประชากร นอกจากนี้ *HPA-7b* ไม่พบในผู้บริจาคเลือดคนไทย[11] ในปี พ.ศ. 2558 ได้มีการศึกษาเปรียบเทียบการตรวจจีโนไทป์ *HPA-1* ถึง *HPA-6* และ *HPA-15* ด้วยเทคนิค real time PCR และ multiplex PCR ในตัวอย่างดีเอ็นเอของผู้บริจาคเลือดจำนวน 500 ราย แบ่งเป็นตัวอย่างที่ทราบจีโนไทป์แล้วจำนวน 300 ราย และไม่ทราบจีโนไทป์จำนวน 200 ราย พบว่า ผลการตรวจสอดคล้องกัน (98.4 %) โดยพบความคลาดเคลื่อนของการตรวจด้วยวิธี real time PCR ในตัวอย่างของ *HPA-5*, *HPA-6* และ *HPA-15* และได้ตรวจยืนยันผลด้วยวิธี DNA sequencing[12] แต่อย่างไรก็ตามการตรวจจีโนไทป์ของ HPA ด้วยวิธี multiplex PCR มีข้อจำกัด คือ การตรวจมีขั้นตอนของ pre- and post-PCR analysis ที่ต้องอาศัยประสบการณ์ของบุคลากร และใช้เวลาการทดสอบนาน จึงไม่เหมาะกับการตรวจในกรณีที่ต้องทดสอบตัวอย่างจำนวนมากพร้อมกัน ฝ่ายห้องปฏิบัติการพิเศษจึงใช้เทคนิค real time PCR ในการตรวจจีโนไทป์ของ HPA ทั้งในผู้ป่วยและผู้บริจาคเลือดซึ่งสามารถตรวจจีโนไทป์ HPA ได้เพิ่มขึ้นอีกหลายระบบ ส่งผลให้เพิ่มโอกาสการคัดเลือกผู้บริจาคเลือดที่มี HPA-match และ crossmatch เข้ากันได้กับผู้ป่วยที่สร้างแอนติบอดี วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาข้อมูลย้อนหลังของความถี่จีโนไทป์ *HPA-1* ถึง *HPA-6* และ *HPA-15* และจีโนไทป์ระบบ *HPA-7* ถึง *HPA-11*, *HPA-13*, *HPA-14* และ *HPA-17* ในผู้บริจาคเลือดคนไทย

วัสดุและวิธีการ

กลุ่มประชากรที่ใช้ในการศึกษา

ศึกษาข้อมูลย้อนหลังของผลการตรวจจีโนไทป์ *HPA-1* ถึง *HPA-6* และ *HPA-15* และจีโนไทป์ระบบ *HPA-7* ถึง *-11*, *-13*, *-14* และ *HPA-17* ในผู้บริจาคเลือด ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ตั้งแต่วันที่ 23 พฤศจิกายน พ.ศ. 2555 ถึงวันที่ 30 กันยายน พ.ศ. 2562 การศึกษานี้ได้รับอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย เลขที่ 20/2019

วิธีการศึกษา

รวบรวมข้อมูลของผลการตรวจจีโนไทป์ของ HPA ที่ทำการตรวจในผู้บริจาคเลือด ด้วยเทคนิค real time PCR (Roche Diagnotics, Mannheim, Germany) ณ ฝ่ายห้องปฏิบัติการพิเศษ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย โดยวิธีการตรวจ คือ นำตัวอย่างดีเอ็นเอมาทำการตรวจจีโนไทป์ของ HPA ด้วยชุดน้ำยา LightCycler 480 system (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) ชุดน้ำยาประกอบด้วย Sequence specific primers และ probes ที่จำเพาะต่อ HPA แต่ละชนิด ขั้น

ตอนการทดสอบปฏิบัติตามคู่มือการใช้งานและข้อแนะนำของบริษัทผู้ผลิต ซึ่งมีขั้นตอนโดยย่อดังนี้ ส่วนผสมของ PCR reaction mixture มีปริมาตรรวมเท่ากับ 10 μL ต่อหลุมทดสอบโดยใช้ PCR-grade water ปริมาตร 5.7 μL รวมกับ Reagent Mix containing all primers and probes ปริมาตร 0.5 μL 10× LightCyclerFastStart DNA Master HybProbe ปริมาตร 1 μL, $MgCl_2$ (3.0 mM) ปริมาตร 0.8 μL และตัวอย่างดีเอ็นเอ (ความเข้มข้นระหว่าง 50-100 ng/μL) ปริมาตร 2 μL จากนั้นนำมาเพิ่มปริมาณด้วยเครื่อง real-time PCR รุ่น LightCycler 480 (Roche Diagnostics, Rotkreuz, Switzerland) ซึ่งควบคุมอุณหภูมิและตั้งค่า PCR conditions ดังนี้ ขั้นแรก denaturation ที่อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 10 นาที ขั้นตอน annealing อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 10 วินาที อุณหภูมิ 72°C เป็นเวลา 15 วินาที จำนวน 45 cycles หลังการทำปฏิกิริยา PCR สิ้นสุดเป็นการทำ melting curve analysis ที่อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 30 วินาที และลดอุณหภูมิมาที่ 40°C เป็นเวลา 2 นาทีจากนั้นเพิ่มอุณหภูมิมาที่ 75°C โดยระหว่างที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้นเครื่องจะวิเคราะห์ค่าการเรืองแสงของฟลูออเรสเซนต์ขณะที่เกิดการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิไป 1°C และแสดงค่าเป็น melting curve ของ primers ที่มีความจำเพาะต่อ HPA โดยใช้โปรแกรม melting curve analysis ของ LightCycler 480 version 1.5.0.39 กรณีที่ให้ผลบวกต่อ a/a homozygous จะพบ peak จำนวน 1 peak ที่ช่วงอุณหภูมิ melting temperature (Tm) ของ primers นั้น หากให้ผลบวกต่อ b/b homozygous จะพบ peak จำนวน 1 peak ที่อีกช่วงอุณหภูมิหนึ่ง หากให้ผลบวกต่อ a/b heterozygous จะพบ peak ทั้งสองชนิดในแต่ละช่วงอุณหภูมิ[12] ดังแสดงใน Figure 1

การวิเคราะห์ข้อมูล

รายงานข้อมูลความถี่ของจีโนไทป์ HPA แต่ละระบบเป็นจำนวนและร้อยละ รายงานข้อมูล genotype และ gene frequencies เปรียบเทียบความแตกต่างของความถี่จีโนไทป์ HPA แต่ละระบบ

A) *HPA-1a1a*

B) *HPA-1a1b*

C) *HPA-1b1b*

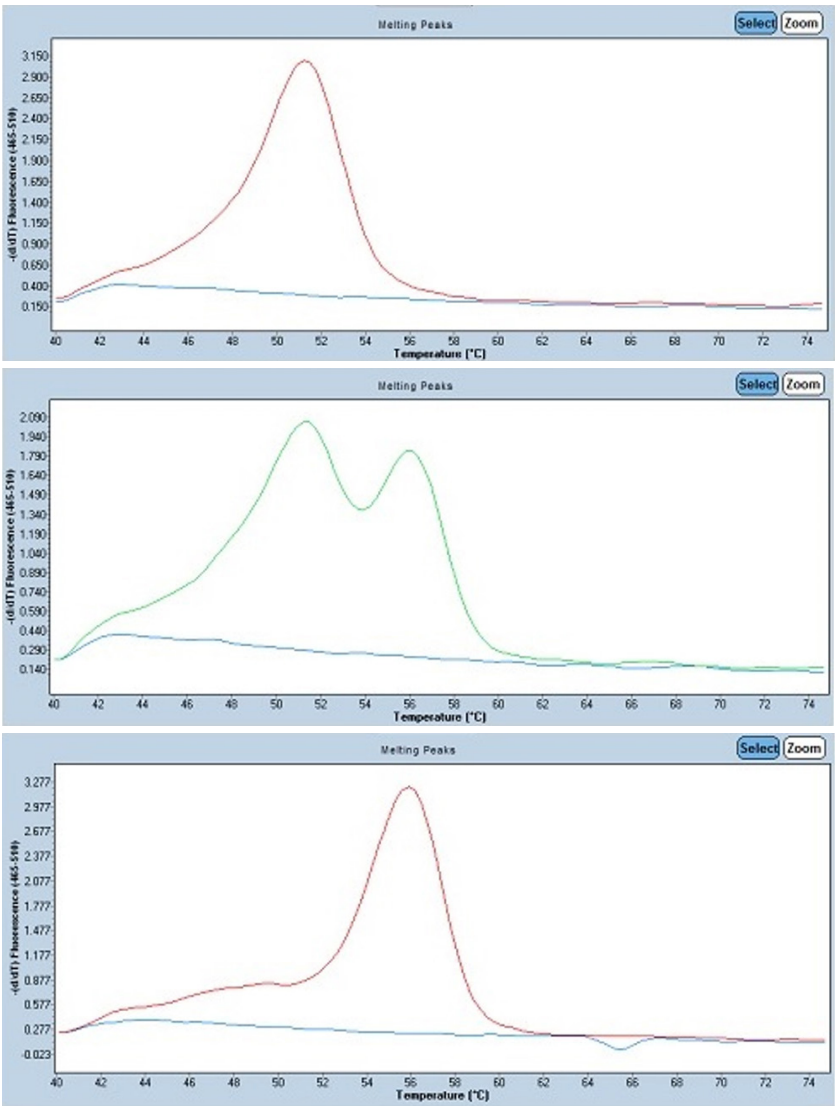

Figure 1 Melting curve analysis of *HPA-1a1a* (A), *HPA-1a1b* (B) and *HPA-1b1b* (C) using simple-probe real-time PCR technique

กับกลุ่มประชากรอื่นที่เคยมีรายงานไว้ด้วย Chi-square test และ Fisher's exact test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS software (version 23.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ค่า *p*-value น้อยกว่า 0.05 ถือว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการศึกษา

ในช่วงแรกตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2555 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2557 ได้ทำการตรวจจีโนไทป์ของระบบ HPA-1 ถึง HPA-6 และ HPA-15, HPA-7 ถึง HPA-11, HPA-13, HPA-14 และ HPA-17 ด้วยวิธี real time PCR จากตัวอย่างดีเอ็นเอผู้บริจาคเลือดจำนวน 2,009 ราย พบว่า จีโนไทป์ *HPA-1b*, *-2b* และ *-5b* ซึ่งพบได้น้อยในประชากรไทย จากการศึกษานี้พบ *HPA-1b1b*, *-2b2b* และ *-5b5b* จำนวน 1, 5 และ 2 ราย ตามลำดับ ขณะที่ยังไม่พบ *HPA-4b4b* และ *HPA-6b6b* โดย genotype frequencies ของ HPA ทั้ง 6 ระบบ คือ *HPA-1a* และ *HPA-1b* เท่ากับ 0.989 และ 0.011, *HPA-2a* และ *HPA-2b* เท่ากับ 0.950 และ 0.050, *HPA-3a* และ *HPA-3b* เท่ากับ 0.564 และ 0.436, *HPA-4a* และ *HPA-4b* เท่ากับ 1.000 และ 0.000, *HPA-5a* และ *HPA-5b* เท่ากับ 0.971 และ 0.029, *HPA-6a* และ *HPA-6b* เท่ากับ 0.988 และ 0.012 และ *HPA-15a* และ *HPA-15b* เท่ากับ 0.530 และ 0.470 ตามลำดับ รายละเอียดดังแสดงใน Table 1 นอกจากนี้เมื่อตรวจจีโนไทป์ของ HPA ระบบ

Table 1 Genotype and gene frequencies of *HPA-1 to HPA-11, HPA-13, -14, -15 and HPA-17* in Thai blood donors

HPA	Genotype (%)			Gene frequencies	
	aa	***ab***	***bb***		
HPA-1	10,122	383	5	*HPA-1a*	0.981
	(96.31)	(3.64)	(0.05)	*HPA-1b*	0.019
HPA-2	9,548	935	27	*HPA-2a*	0.953
	(90.85)	(8.9)	(0.26)	*HPA-2b*	0.047
HPA-3	651	965	393	*HPA-3a*	0.564
	(32.4)	(48.03)	(19.56)	*HPA-3b*	0.436
HPA-4	10,489	21	0	*HPA-4a*	0.999
	(99.8)	(0.2)	(0)	*HPA-4b*	0.001
HPA-5	9,821	677	12	*HPA-5a*	0.967
	(93.44)	(6.44)	(0.11)	*HPA-5b*	0.033
HPA-6	10,186	323	1	*HPA-6a*	0.985
	(96.92)	(3.07)	(0.01)	*HPA-6b*	0.015
HPA-7	2,009	0	0	*HPA-7a*	1.000
	(100)	(0)	(0)	*HPA-7b*	0.000
HPA-8	2,007	2	0	*HPA-8a*	0.999
	(99.9)	(0.1)	(0)	*HPA-8b*	0.001
HPA-9	2,009	0	0	*HPA-9a*	1.000
	(100)	(0)	(0)	*HPA-9b*	0.000
HPA-10	2,008	1	0	*HPA-10a*	0.999
	(99.95)	(0.05)	(0)	*HPA-10b*	0.001
HPA-11	2,009	0	0	*HPA-11a*	1.000
	(100)	(0)	(0)	*HPA-11b*	0.000
HPA-13	2,009	0	0	*HPA-13a*	1.000
	(100)	(0)	(0)	*HPA-13b*	0.000
HPA-14	2,007	2	0	*HPA-14a*	0.999
	(99.9)	(0.1)	(0)	*HPA-14b*	0.001
HPA-15	542	1047	420	*HPA-15a*	0.530
	(26.98)	(52.12)	(20.91)	*HPA-15b*	0.470
HPA-17	2,008	1	0	*HPA-17a*	0.999
	(99.95)	(0.05)	(0)	*HPA-17b*	0.001

n of each HPA-1, -2, -4, -5, -6 is 10,510 donors; n of each HPA-3, -7, -8, -9, -10, -11, -13, -14, -15, -17 is 2,009 donors

อื่นเพิ่มเติมพบว่า *HPA-7b*, *-9b*, *-11b* และ *HPA-13b* ไม่พบในกลุ่มประชากรนี้ ดังนั้น genotype frequencies ของทั้ง *HPA-7a*, *-9a*, *-11a* และ *-13a* เท่ากับ 1.000 ดังแสดงใน Table 1 ในขณะที่ *HPA-8a8b*, *-10a10b*, *-14a14b* และ *-17a17b* พบได้จำนวน 2, 1, 2 และ 1 ราย ตามลำดับ โดยมี genotype frequencies เป็น *HPA-8a* และ *HPA-8b* เท่ากับ 0.999 และ 0.001, *HPA-10a* และ *HPA-10b* เท่ากับ 0.999 และ 0.001, *HPA-14a* และ *HPA-14b* เท่ากับ 0.999 และ 0.001, *HPA-17a* และ *HPA-17b* เท่ากับ 0.999 และ 0.001 ตามลำดับ

เนื่องจากความถี่ของจีโนไทป์ HPA บางระบบที่มีความสำคัญทางคลินิกพบได้น้อยในกลุ่มประชากรจำนวน 2,009 ราย ทางฝ่ายห้องปฏิบัติการพิเศษมีความต้องการที่จะจัดเตรียมเซลล์มาตรฐานให้เหมาะสมสำหรับตรวจหาแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือดที่พบปัญหาได้บ่อยในผู้ป่วยคนไทย ดังนั้นในช่วงตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2557 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2562 ได้ทำการตรวจจีโนไทป์ *HPA-1*, *-2*, *-4*, *-5* และ *HPA -6* ด้วยวิธี real time PCR จากตัวอย่างดีเอ็นเอผู้บริจาคเลือดเพิ่มเติมจำนวน 8,501 ราย พบว่า จีโนไทป์ของ *HPA-1b*, *-2b* และ *-5b* ที่พบได้น้อยในกลุ่มตัวอย่างจำนวน 2,009 ราย แต่เมื่อทำการตรวจเพิ่มเติมพบ *HPA-1b1b*, *-2b2b*, *-5b5b* และ *-6b6b* ได้จำนวน 4, 22, 10 และ 1 ราย ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบความถี่จีโนไทป์ของ *HPA-1* ถึง *HPA-6* และ *HPA-15* ในกลุ่มผู้บริจาคเลือดคนไทยของการศึกษานี้จำนวน 2,009 ราย กับกลุ่มผู้บริจาคเลือดคนไทยภาคกลางที่เคยรายงานไว้[10] พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับผู้บริจาคเลือดคนไทยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ[13]พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เฉพาะความถี่ของจีโนไทป์ *HPA-1* เท่านั้น และเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มประชากรเอเชียที่เคยรายงานไว้[13-19] สำหรับความถี่ของจีโนไทป์ *HPA-1* ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มประชากรเวียดนามและเกาหลี ($p > 0.05$) แต่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มประชากร Malay-Malay, ญี่ปุ่น จีนฮั่น และไต้หวัน ($p < 0.05$) ส่วนความถี่ของจีโนไทป์ *HPA-2* พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มประชากรเกาหลี ญี่ปุ่น และจีนฮั่น ($p < 0.05$) และความถี่ของจีโนไทป์ *HPA-3* พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มประชากร Malay-Malay, เวียดนาม ญี่ปุ่น และจีนฮั่น ($p < 0.05$) สำหรับความถี่จีโนไทป์ *HPA-4* พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มประชากร Malay-Malay, เกาหลี ญี่ปุ่น และจีนฮั่น ($p < 0.05$) ส่วนความถี่จีโนไทป์ *HPA-5* พบความแตกต่างกับกลุ่มประชากร Malay-Malay และจีนฮั่น ($p < 0.05$) ส่วนความถี่ของจีโนไทป์ HPA-6 พบความแตกต่างกับกลุ่มประชากรไต้หวัน ($p < 0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของจีโนไทป์ HPA-15 กับทุกกลุ่มประชากร ($p > 0.05$) รายละเอียดดังแสดงใน Table 2

วิจารณ์

การศึกษาความถี่ของจีโนไทป์ *HPA* โดยเฉพาะระบบที่มีความสำคัญทางคลินิก คือ ระบบ HPA-1 ถึง HPA-6 และ HPA-15 นอกจากจะใช้เป็นข้อมูลในการจัดหาเกล็ดเลือดจากผู้บริจาคเลือดที่เป็น HPA-matched ให้กับผู้ป่วยที่พบการสร้างแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือดแล้วยังใช้ในการจัดเตรียมเซลล์มาตรฐานสำหรับตรวจหาแอนติบอดีในผู้ป่วย ดังนั้นการเพิ่มจำนวนข้อมูลของความถี่ของยีนและจีโนไทป์ของ *HPA* ทั้งระบบ HPA-1 ถึง HPA-6 และ HPA-15 รวมทั้งระบบอื่นที่พบว่า ทำให้เกิดปัญหา PTR, PTP และ FNAIT จะเป็นประโยชน์ในการทำนายความเสี่ยงต่อการเกิด platelet-specific alloimmunization ของแต่ละกลุ่มประชากร อีกทั้งเพิ่มความสามารถในการเตรียมจัดหาเกล็ดเลือดที่เข้ากันได้ให้กับผู้ป่วย[20,21]

ในช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2555 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2557 ผลการตรวจจีโนไทป์ *HPA-1* ถึง *HPA-6* และ *HPA-15* ในตัวอย่างดีเอ็นเอของผู้บริจาคเลือด จำนวน 2,009 ราย ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบการกระจายจีโนไทป์ของ HPA ที่เคยรายงานไว้โดยภาวิณี คุปตวินทุ และคณะ[10] ในปี พ.ศ. 2548 ในผู้บริจาคเลือดจำนวน 500 ราย พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ทั้งนี้จีโนไทป์ *HPA-1b1b*, *HPA-2b2b* และ *HPA-5b5b* ซึ่งไม่พบในรายงานที่ผ่านมา จะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มจำนวนประชากรที่ศึกษาสามารถพบจีโนไทป์ที่พบได้น้อยได้ ขณะที่จีโนไทป์ชนิดที่หายาก เช่น *HPA-4b4b* และ *HPA-6b6b* ยังไม่พบในตัวอย่างประชากรที่เพิ่มขึ้น ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ทำการตรวจจีโนไทป์ *HPA* ระบบอื่นเพิ่มเติม คือ *HPA-7*, *-8*, *-9*, *-10*, *-11*, *-13*, *-14*, และ *-17* พบว่า ส่วนใหญ่เป็นจีโนไทป์แบบ *homozygous aa* และ *heterozygous ab* พบได้น้อย ส่วน *homozygous bb* คือ *HPA-7b*, *-9b*, *-11b* และ *-13b* ไม่พบในการศึกษานี้ เช่นเดียวกับรายงานของ Tomoya Hayashi และคณะที่รายงานในกลุ่มผู้บริจาคเลือดชาวญี่ปุ่นจำนวน 2,170 ราย ก็ไม่พบจีโนไทป์ชนิด HPA-*7b*, *-8b*, *-9b*, *-10b*, *-11b*, *-13b*, *-14b* และ *-17b*[22] ดังนั้นโอกาสที่ผู้ป่วยจะสร้างแอนติบอดีต่อ HPA-7b, -8b, -9b, -10b, -11b, -13b, -14b และ -17b พบได้น้อยในทุกกลุ่มประชากร

เนื่องจากฝ่ายห้องปฏิบัติการพิเศษ ยังขาดเซลล์มาตรฐานจากผู้บริจาคเลือดที่มีจีโนไทป์ *HPA* ที่พบได้น้อย ดังนั้นในช่วงตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2557 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2562 จึงมีการ

Table 2 Gene frequencies of *HPA-1* to *-6* and *HPA-15* in Thai blood donors and Asian populations

Population	N	HPA													
		1a	*1b*	*2a*	*2b*	*3a*	*3b*	*4a*	*4b*	*5a*	*5b*	*6a*	*6b*	*15a*	*15b*
Thai (This study)	10,510	0.981	0.019	0.953	0.047	0.564*	0.436*	0.999	0.001	0.967	0.033	0.985	0.015	0.530*	0.470*
Central Thai[10]	500	0.985	0.015	0.952	0.048	0.560	0.440	0.100	0.000	0.968	0.032	0.986	0.014	0.509	0.491
Northeastern Thai[13]	300	0.972[b]	0.028[b]	0.938	0.062	0.533	0.467	1.000	0.000	0.963	0.037	0.985	0.015	0.495	0.505
Malay-Malay[14]	200	0.975[a]	0.025[a]	0.963	0.037	0.503[a]	0.497[a]	0.995[a]	0.005[a]	0.950[a]	0.050[a]	0.992	0.008	0.515	0.485
Vietnamese[15]	107	0.986	0.014	0.953	0.047	0.486[a]	0.514[a]	1.000	0.000	0.972	0.028	0.980	0.014	0.477	0.523
Korean[16]	200	0.988	0.012	0.923[a]	0.077[a]	0.555	0.445	0.990[b]	0.010[b]	0.978	0.022	NA	NA	NA	NA
Japanese[17]	331	0.998[a]	0.002[a]	0.900[b]	0.100[b]	0.718[b]	0.282[b]	0.989[b]	0.011[b]	0.973	0.027	NA	NA	NA	NA
Han Chinese[18]	1,000	0.994[a]	0.006[a]	0.952[b]	0.049[b]	0.595[a]	0.406[a]	0.996[b]	0.005[b]	0.986[b]	0.014[b]	0.986	0.014	0.532	0.468
Taiwanese[19]	566	0.997[b]	0.003[b]	0.960	0.040	0.575	0.425	0.998	0.002	0.985	0.015	0.963[a]	0.037[a]	0.538	0.462

NA = not applicable; [a]$p < 0.05$; [b]$p < 0.01$; *n = 2009

ตรวจจีโนไทป์เพิ่มเติม เฉพาะบางระบบ คือ HPA-1, -2, -4, -5, และ -6 ซึ่งในผู้บริจาคเลือดจำนวน 8,501 ราย พบว่า สามารถตรวจพบ *HPA-6b6b* จำนวน 1 ราย ขณะที่ไม่พบ *HPA-4b4b* แต่พบจำนวนของ *HPA-4a4b* เพิ่มขึ้น แสดงว่า *HPA-4b4b* เป็นจีโนไทป์หายากในกลุ่มประชากรไทย หากผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์ *HPA-4a4a* ได้รับเกล็ดเลือดที่เป็น *HPA-4a4b* อาจกระตุ้นให้สร้าง anti-HPA-4b ได้ ซึ่งแอนติบอดีนี้มีรายงานการเกิด FNAIT ในทารกแรกเกิดทั้งในชาวญี่ปุ่นและ Caucasians[23,24] เช่นเดียวกับการพบจีโนไทป์ *HPA-6b6b* ร่วมกับ *HPA-6a6b* ในจำนวนที่เพิ่มขึ้นแสดงว่าการสร้าง anti-HPA-6b อาจพบได้ในประชากรไทย จากรายงานในปี พ.ศ. 2559 อรรถพล ศรีสุดดี และคณะ ได้รายงานว่า พบ anti-HPA-6b ร่วมกับ anti-HLA ในผู้ป่วยที่มีภาวะ thrombocytopenia[6] สำหรับจีโนไทป์ *HPA-1b1b* พบได้ 0.05% แสดงว่า ผู้ป่วยที่สร้าง anti-HPA-1a ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิด thrombocytopenia, PTR, PTP และ FNAIT สามารถพบได้ในกลุ่มประชากรไทย แต่พบได้น้อยกว่าในกลุ่ม Caucasians[4,23,25-28] สำหรับจีโนไทป์ *HPA-2b2b* และ *HPA-5b5b* พบ 0.26% และ 0.12% ตามลำดับ แสดงว่ายังมีโอกาสที่จะพบผู้ป่วยที่มีการสร้าง anti-HPA-2a และ anti-HPA-5a ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญในการเกิด PTP และ FNAIT[28-30]

เมื่อเปรียบเทียบความถี่จีโนไทป์ *HPA-1* ถึง *HPA-6* และ *HPA-15* ในกลุ่มผู้บริจาคเลือดคนไทยในการศึกษานี้กับผู้บริจาคเลือดคนไทยภาคกลางที่เคยรายงานไว้[10] ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญแต่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับผู้บริจาคเลือดคนไทยภาคตะวันเฉียงเหนือ[13] เฉพาะความถี่ของ *HPA-1* เท่านั้น เมื่อเปรียบเทียบความถี่จีโนไทป์ *HPA-1* ถึง *HPA-6* และ *HPA-15* ในผู้บริจาคเลือดคนไทยครั้งนี้กับกลุ่มประชากรอื่นในเอเชียที่เคยรายงานไว้ Malay-Malay, เวียดนาม ญี่ปุ่น เกาหลี และจีน[14-19] พบว่า มีจีโนไทป์ของ *HPA-15* ที่ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญสอดคล้องกับการศึกษาจีโนไทป์ *HPA* ในผู้บริจาคเลือดที่เคยรายงานไว้[10,19]

สรุป

การศึกษานี้ได้รายงานความถี่ของจีโนไทป์ *HPA-1* ถึง *HPA-11, -13, -14, -15* และ *HPA-17* ในผู้บริจาคเลือดคนไทย ซึ่งเป็นข้อมูลที่สามารถนำไปใช้ในการจัดหาเกล็ดเลือดจากผู้บริจาคเลือดที่เป็น HPA-matched ให้กับผู้ป่วยที่สร้างแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือด อีกทั้งใช้ในการเตรียมเซลล์มาตรฐานที่เหมาะสมในการตรวจแยกชนิดของแอนติบอดี เพื่อช่วยเพิ่มความปลอดภัยของการให้เกล็ดเลือดกับผู้ป่วย

เอกสารอ้างอิง

1. *Ridker PM, Hennekens CH, Schmitz C, Stampfer MJ, Lindpaintner K. PIA1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risks of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis. Lancet. 1997;349:385-8.*
2. *Rosenberg N, Zivelin A, Chetrit A, Dardik R, Kornbrot N, Freimark D, et al. Effects of platelet membrane glycoprotein polymorphisms on the risk of myocardial infarction in young males. Isr Med Assoc J. 2002;4:411-4.*
3. *Tamatani T, Takamaru N, Ohe G, Nakagawa T, Kurio N, Kudou K, et al. The clinicopathologic roles of SOX2 and Oct4 expressions in stage 1 and 2 oral squamous cell carcinoma. AACR. 2018;78 (Suppl 13):Abstract nr 3061.*
4. *Hauck-Dlimi B, Hammon K, Eckstein R, Ott S, Zimmermann R, Dengler T, et al. Human platelet antigen genotypes in Turkish and Caucasian blood donors in Germany. Tissue Antigens. 2012;80:214-8.*
5. *Fung MK, Eder AF, Spitalnik SL, Westhoff CM, editors. Technical manual. 19th ed. Betheda, MD: American Association of Blood Banks; 2017.*
6. *Srisuddee A, Kupatawintu P, Roekchai C, Inorn K, Phiancharoen S, Nathalang O, et al. A study of platelet antibody detection in patients at the National Blood Centre, Thai Red Cross Society. J Hematol Transfus Med. 2016;26:183-9.*
7. *Heikal NM, Smock KJ. Laboratory testing for platelet antibodies. Am J Hematol. 2013;88:818-21.*
8. *Hayashi T, Hirayama F. Advances in alloimmune thrombocytopenia: perspectives on current concepts of human platelet antigens, antibody detection strategies, and genotyping. Blood Transfus. 2015;13:380-90.*
9. *Seo DH, Park SS, Kim DW, Furihata K, Ueno I, Han KS. Gene frequencies of eight human platelet-specific antigens in Koreans. Transfus Med. 1998;8:129-32.*
10. *Kupatawintu P, Nathalang O, O-Charoen R, Patmasiriwat P. Gene frequencies of the HPA-1 to 6 and Gov human platelet antigens in Thai blood donors. Immunohematology. 2005;21:5-9.*
11. *Kengkate M, Butthep P, Kupatawintu P, Khanunthong S, Chantratita W, Nathalang O. Genotyping of HPA-1 to -7 and -15 in the Thai population using multiplex PCR. Transfus Med. 2012;22:272-6.*
12. *Kengkate M, Butthep P, Kupatawintu P, Srisuddee A, Chantratita W, Nathalang O. Comparison of a simple-probe real-time PCR and multiplex PCR techniques for HPA-1 to HPA-6 and HPA-15 genotyping. J Clin Lab Anal. 2015;29:94-9.*
13. *Romphruk AV, Akahat J, Srivanichrak P, Puapairoj C, Romphruk A, Leelayuwat C. Genotyping of human platelet antigens in ethnic Northeastern Thais by the polymerase chain reaction-sequence specific primer technique. J Med Assoc Thai. 2000;83:1333-9.*
14. *Jia-Yi T, Lay-Hoong L, Veera SN. Genetic polymorphisms of human platelet antigens-1 to -6, and -15 in the Malaysian population. Blood Transfus. 2012;10:368-76*
15. *Halle L, Bach KH, Martageix C, Bianchi F, Lê T Kim T, Morel-Kopp MC, et al. Eleven human platelet systems studied in the Vietnamese and Ma'ohis Polynesian populations. Tissue Antigens. 2004;63:34-40.*
16. *Seo DH, Park SS, Kim DW, Furihata K, Ueno I, Han K S. Gene frequencies of eight human platelet-specific antigens in Koreans. Transfus Med. 1998;8:129-32.*
17. *Tanaka S, Ohnoki S, Shibata H, Okubo Y, Yamaguchi H, Shibata Y. Gene Frequencies of human platelet antigen on glycoprotein IIIa in Japanese. Transfusion. 1996;36:813-7.*
18. *Feng ML, Liu DZ, Shen W, Guo ZH, Zhang X, Du KM, et al. Establishment of an HPA-1- to -16-typed platelet donor registry in China. Transfus Med. 2006;16:369-74.*
19. *Shih MC, Liu TC, Lin IL, Lin SF, Chen CM, Chang JG. Gene frequencies of the HPA-1 to HPA-13, Oe and Gov platelet antigen alleles in Taiwanese, Indonesian, Filipino and Thai populations. Int J Mol Med. 2003;12:609-14.*
20. *Kekomaki R. Use of HPA- and HLA-matched platelets in alloimmunized patients. Vox Sang. 1998;74(Suppl 2):259-63.*
21. *Verran J, Gray D, Bennett J, Lown JAG, Erber WN. HPA-1, 3, 5 genotyping to establish a typed platelet donor panel. Pathology. 2000;32:27-35.*
22. *Tomoya H, Ryota A, Hiroyuki I, Yoshihiko T, Yoshihiro F, Yoshihiro T, et al. Frequency of allotype "b" in human platelet antigen 1 to 29 systems among blood donors in Japan estimated using high-resolution melt analysis. Transfusion. 2020;60:2702-13.*
23. *Uenaka M, Morizane M, Tanimura K, Deguchi M, Ebina Y, Hashimoto M, et al. Neonatal alloimmune thrombocytopenia: A report of four cases. Kobe J Med Sci. 2019;64:E197-99.*
24. *Morel-Kopp MC, Blanchard B, Kiefel V, Joly C, Mueller-Eckhardt C, Kaplan C. Anti-HPA-4b (anti-Yuk(a)) neonatal alloimmune thrombocytopenia: first report in a Caucasian family. Transfus Med. 1992;2:213-16.*
25. *Mangerona CM, Garcia FB, Moraes-Souza H. Frequency of human platelet antigens (HPA)-1, -2, -5 and -15 in Brazilian blood donors and establishment of a panel of HPA-typed donors. Transfusion Med. 2015; 25:189-94.*
26. *Kjaer M, Bertrand G, Bakchoul T, Massey E, Baker JM, Lieberman L, et al. Maternal HPA-1a antibody level and its role in predicting the severity of fetal/neonatal alloimmune Thrombocytopenia: a systematic review. Vox Sang. 2019;114:79-94.*
27. *Lucas GF, Pittman SJ, Davies S, Solanki T, Brüggemann K. Post-transfusion purpura (PTP) associated with anti-HPA-1a, anti-HPA-2b and anti-HPA-3a antibodies. Transfus Med. 1997;7:295-9.*
28. *Tao S, Chen S, Hong X, He J, Zhu F. Novel method for simultaneously detecting HPA and HLA antibodies using Luminex microbeads. J Transl Med. 2019;17:249.*
29. *Tazzari PL, Ricci F, Tassi C, Bontadini A, Fruet F, Conte R. Alloimmunization against human platelet antigen 2 (HPA2) in a series of multitransfused β-thalassemia patients. Haematologica. 1998;83:765-6.*
30. *Porta R, Serrano P, Paltrinieri A, Ristic G, Canals C, Lozano M. Neonatal alloimmune thrombocytopenia due to anti-HPA 5a in a HPA-5a homozygous neonate. Transfus Apher Sci. 2020;59:102880. doi: 10.1016/j.transci.2020.102880.*