

ความสัมพันธ์ระหว่างระดับโปรตีนบลิสในเลือดหลังปลูกถ่ายไตกับการปฏิเสธไต



นางวรรณรัตน์ พงศ์พิรุฬห์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2557

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Association between Post Transplant Serum BLYS and Kidney Allograft Rejection

Mrs. Wannarat Pongpirul



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medicine
Department of Medicine
Faculty of Medicine
Chulalongkorn University
Academic Year 2014
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความสัมพันธ์ระหว่างระดับโปรตีนบิลิสในเลือดหลังปลูกถ่ายไตกับการปฏิเสธไต
โดย	นางวรรณรัตน์ พงศ์พิรุฬห์
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ญัฐวุฒิ ไทวนำชัย
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ยິงยศ อวิหิงสานนท์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ โสภณ นภาธร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ฉันทชาย สิริพิพันธุ์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ญัฐวุฒิ ไทวนำชัย)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ยິงยศ อวิหิงสานนท์)

.....กรรมการ
(นายแพทย์ สืบพงศ์ ธารสารวิมล)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์ อติศรั ทศณรงค์)

วรรณรัตน์ พงศ์พิรุฬห์ : ความสัมพันธ์ระหว่างระดับโปรตีนบลิสในเลือดหลังปลูกถ่ายไตกับการปฏิเสธไต (Association between Post Transplant Serum BLYS and Kidney Allograft Rejection) อ.ที่ปริกษาวิทยาพนธ์หลัก: ผศ. นพ. ณัฐวุฒิ ไทวน้ำชัย, อ.ที่ปริกษาวิทยาพนธ์ร่วม: ศ. นพ. ยิ่งยศ อวิหิงสานนท์, 96 หน้า.

ความสัมพันธ์ระหว่างระดับโปรตีนบลิสในเลือดหลังปลูกถ่ายไตกับการปฏิเสธไต

ความสำคัญและที่มา: การทำนายการเกิดการปฏิเสธไตชนิดแอนติบอดี (antibody-mediated rejection: ABMR) เป็นสาเหตุสำคัญ ที่ทำให้เกิดการสูญเสียอวัยวะที่ได้รับการปลูกถ่ายไต ส่วนใหญ่จะอาศัยข้อมูลของดีเอสเอแอนติบอดี (donor specific antibodies: DSA) โดยทั่วไปผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไตที่มีดีเอสเอแอนติบอดีเป็นบวก ร้อยละ 30-40 จะเกิดการปฏิเสธไตชนิดแอนติบอดี ดังนั้น จำเป็นจะต้องอาศัยเครื่องหมายชีวภาพ ที่มาช่วยในการทำนาย ที่ดีขึ้น ซึ่งกลไกที่สำคัญในการเกิดการปฏิเสธไตชนิดแอนติบอดีนั้นจะผ่านทางการทำงานของปิโลิมโฟไซท์เซลล์ ซึ่งโปรตีนบลิส (B Lymphocyte Stimulator: BLYS) เป็นโปรตีนที่สำคัญที่จะทำให้บีเซลล์เกิดการ พัฒนา และทำให้เกิดการสร้างแอนติบอดีได้ แต่ข้อมูลของแบฟท์ในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไตยังมีจำกัด ดังนั้น ผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างบลิสในช่วงหลังการผ่าตัดกับการทำนายการเกิด การปฏิเสธไตชนิดแอนติบอดี

ระเบียบวิธีวิจัย: ผู้ป่วยที่ได้เข้ามาปลูกถ่ายไตในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ตั้งแต่ มิถุนายน พ.ศ.2556 - ธันวาคม พ.ศ.2557 รวม 76 คน มีการเจาะเลือดเพื่อตรวจค่าบลิสหลังผ่าตัดปลูกถ่ายไต 7 วัน และติดตามผู้ป่วยที่ 180 วัน เพื่อทำ การเจาะชิ้นเนื้อไต สำหรับการวินิจฉัยการปฏิเสธไตชนิดแอนติบอดี การตรวจดีเอสเอแอนติบอดีก่อน การปลูกถ่ายตรวจด้วยเครื่องลูมิเน็กซ์ ระดับแบฟท์ในเลือดตรวจด้วยอีไลซ่า จะแบ่งผู้ป่วยด้วยผลบวกและ ลบของแอนติบอดีดีเอสเอ และผลบลิสน้อยกว่า 500 พก/มล. จัดว่าเป็นระดับต่ำ และค่าบลิสที่มากกว่า 500 พก/มล จัดว่าเป็นระดับสูง และคำนวณความเสี่ยงการเกิดการปฏิเสธไตชนิดแอนติบอดีด้วย อัตราของค็อกซ์พรีอพอซันนัลฮัตสาด

ผลการศึกษา: ผู้ป่วยเข้าร่วมโครงการวิจัย 76 คน ทุกคนได้รับการติดตามครบตามระยะเวลา 180 วันทั้งหมด ร้อยละ 17.1 เกิดการปฏิเสธไตชนิดแอนติบอดีที่วินิจฉัยโดยพยาธิวิทยา โดยที่ผู้ป่วยยังไม่มีอาการหรืออาการแสดง ค่าเฉลี่ย ของบลิสหลังผ่าตัด 7 วันเท่ากับ 392.3 ± 318.8 พก/มล. มีผู้ป่วย 18 คน (ร้อยละ 44.2) มีค่าบลิสสูง เกิด การปฏิเสธไตชนิดแอนติบอดีมากกว่าคนที่มีความบลิสต่ำกว่า (ร้อยละ 8.62) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผู้ป่วยที่มีแอนติบอดีดีเอสเอเป็นบวกเกิดการปฏิเสธไตชนิดแอนติบอดี 39 คน เมื่อแบ่งผู้ป่วยตามระดับบลิส พบว่า ผู้ป่วยที่มีระดับบลิสต่ำร่วมกับค่าแอนติบอดีดีเอสเอเป็นลบ, ระดับบลิสสูงร่วมกับค่าแอนติบอดี ดีเอสเอเป็นลบ, ระดับบลิสต่ำร่วมกับค่าแอนติบอดีดีเอสเอเป็นบวก และระดับบลิสสูงร่วมกับ ค่าแอนติ บอดีดีเอสเอเป็นบวกมีอุบัติการณ์การปฏิเสธไตชนิดแอนติบอดีร้อยละ 0,17.9,16.7 และ 41.7 ตามลำดับ เมื่อคำนวณความเสี่ยงต่อการเกิดการปฏิเสธไตชนิดแอนติบอดีด้วย อกซ์พรีอพอซันนัลฮัตสาด พบว่า กลุ่ม ผู้ป่วยที่มีค่าบลิสสูง มีความเสี่ยงต่อการเกิด 2.07 เท่า (1.35-3.20) เมื่อควบคุมด้วยค่าแอนติบอดีดีเอสเอ

สรุป: ค่าบลิสในระยะหลังการผ่าตัดสามารถช่วยทำนายการเกิดการปฏิเสธไตชนิดแอนติบอดีได้ โดยระดับบลิส ที่สูง มีความสัมพันธ์พยาธิวิทยาที่เป็นการปฏิเสธไตชนิดแอนติบอดี แม้ว่าจะมีค่าแอนติบอดีดีเอสเอเป็นบวก หรือลบ ดังนั้นค่าบลิสสามารถใช้เป็นเครื่องหมายชีวภาพและใช้สำหรับการติดตาม ภาวะอิมมูนหลังการปลูกถ่ายไต

ภาควิชา อายุรศาสตร์

ลายมือชื่อนิสิต

สาขาวิชา อายุรศาสตร์

ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาหลัก

ปีการศึกษา 2557

ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาร่วม

5674068930 : MAJOR MEDICINE

KEYWORDS: BLYS, ANTIBODY MEDIATED REJECTION, KIDNEY TRANSPLANTATION, PATHOLOGY, BIOMARKER, IMMUNE MONITORING

WANNARAT PONGPIRUL: Association between Post Transplant Serum BLYS and Kidney Allograft Rejection. ADVISOR: ASST. PROF. DR. NATAVUDH TOWNAMCHAI, CO-ADVISOR: PROF. DR. YINGYOS AVIHINGSANON, 96 pp.

Association between Post Transplant Serum BLYS and Kidney Allograft Rejection

Background: The prediction of Antibody mediated rejection (ABMR), the major cause of allograft loss, has depended mainly on the Donor Specific Antibody (DSA). As only 30-40% of recipients with DSA developed ABMR, additional biomarkers are needed for better prediction. As a crucial factor for B-cell activation, differentiation, and antibody production, the B Lymphocyte Stimulator (BLYS) is a potential candidate with limited evidence on its role in kidney transplantation (KT). Herein, we explored the association between perioperative BLYS level and ABMR.

Method: This prospective cohort study was conducted in all new KT recipients at King Chulalongkorn Memorial Hospital during June 2013 and December 2014. BLYS was measured at the 7th and 180th day post-KT, using ELISA method. Pre-KT DSA was measured by solid phase Luminex® platform. The transplanted kidney biopsy was performed at 180th day for detection of ABMR. Recipients were stratified by pre-KT DSA (negative vs positive) and BLYS (low vs high, using 500 pg/mL cut point) into four groups. The risks of ABMR between high and low BLYS KT recipients were compared using Cox proportional hazard ratio (HR).

Results: Seventy-six KT recipients were included with no loss to follow up. The 6-month incidence of ABMR by surveillance biopsy was 17.1%. Overall mean BLYS level at day 7 was 392.3 ± 318.8 pg/mL. Eighteen recipients with high BLYS level at 7th day have significantly higher incidence of ABMR than 58 recipients with low BLYS level (44.4% and 8.62%, respectively, $p < 0.05$). Thirty-nine percent of recipients with positive DSA developed ABMR. The risk of ABMR was significant higher in high BLYS group (HR = 2.07 [1.35–3.20] with pre-KT DSA adjusted). The rates of ABMR among negative DSA / low BLYS , negative DSA / high BLYS , positive DSA / low BLYS , and positive DSA / high BLYS recipients were 0, 17.9, 16.7 and 41.7%, respectively ($p < 0.05$).

Conclusion: Post-KT ABMR can be predicted by perioperative BLYS level. The high BLYS level on day 7th post-KT was significantly correlated with pathological diagnosis of ABMR in both positive and negative pre-KT DSA status. BLYS can be used as a biomarker and a noninvasive immune monitoring for ABMR in KT.

Department: Medicine
Field of Study: Medicine
Academic Year: 2014

Student's Signature

Advisor's Signature

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ญัฐวุฒิ โทวนนำชัย ที่ปรึกษาหลักวิทยานิพนธ์ ที่คอยอบรมสั่งสอน ตลอดจนช่วยแก้ปัญหาในงานวิจัยชิ้นนี้

ขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ยิ่งยศ อวิหิงสานนท์ อาจารย์ นายแพทย์ อัษฎาศรี ลีพหวนิชกุล และ อาจารย์ นายแพทย์ วิวัฒน์ จันเจริญฐานะ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ที่ช่วยแนะนำขั้นตอนต่างๆ ในการทำวิจัย

ขอขอบคุณ คณาจารย์หน่วยโรคไตโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทวิชา

ขอขอบคุณ คุณฉิตีมา เบ็ญจะชาติ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ที่ช่วยให้คำปรึกษาและแก้ปัญหาในเรื่องการตรวจวัดระดับบิลิรูบีนตลอดการทำวิจัย

ขอขอบคุณ คุณสาลิน วัฒนาทร พยาบาลผู้ดูแลผู้ป่วยปลูกถ่ายไต ที่ช่วยทำการนัดหมายผู้ป่วย

ขอขอบคุณ ทีมพยาบาลตึกพร้อมพันธ์ 3 ที่ช่วยดูแล เก็บเลือดผู้ป่วยตลอดการวิจัย

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่หน่วยโรคไตโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ อันได้แก่ เจ้าหน้าที่ห้องแลป เจ้าหน้าที่ห้องธุรการ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำการศึกษาวิจัยและช่วยให้การวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ ทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนค่าใช้จ่ายในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ แพทย์ประจำบ้านต่อยอดหน่วยโรคไตทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการทำงานมาโดยตลอด

ขอขอบคุณ ครอบครัวผู้ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการทำงานมาตลอด

ท้ายสุดนี้ ขอขอบคุณ ผู้ป่วยทุกท่านที่ยอมเสียสละเวลา และให้ความร่วมมือด้วยความเต็มใจ ส่งผลให้ งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูป.....	ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (background and rationale).....	1
1.2 คำถามของการวิจัย (research question).....	2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (objectives).....	2
1.4 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (conceptual framework).....	3
1.5 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	4
1.6 ปัญหาทางจริยธรรม.....	4
1.7 ข้อจำกัดในการวิจัย.....	5
1.8 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย	5
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
2.1 ปัจจัยที่มีผลเกี่ยวข้องต่อการทำงานของไตที่ได้รับการปลูกถ่าย (Risk factors of graft failure in kidney transplantation).....	6
2.2 ความรู้เบื้องต้น เกี่ยวกับ B lymphocyte.....	10
2.3 B lymphocytic cell และ BLyS กับ การปลูกถ่ายไต	13
2.4 BLyS receptors และ cytokine ในการเกิดโรคในมนุษย์	27
2.5 BLyS family receptors และ cytokine กับ kidney transplantation ในระยะต่างๆ	30

2.6 สรุป	39
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	40
3.1 รูปแบบการวิจัย	40
3.2 ระเบียบการวิจัย.....	40
3.3 การดำเนินการวิจัย.....	42
3.4 การรวบรวมข้อมูล.....	50
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล	52
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	53
4.1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา	53
4.2 ค่า BLYS หลังผ่าตัด 7 วัน และ 6 เดือน	58
4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า BLYS หลังผ่าตัด 7 วัน และผลพยาธิวิทยา.....	60
4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า BLYS หลังผ่าตัด 180 วัน และผลพยาธิวิทยา.....	65
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล ข้อจำกัดและข้อเสนอแนะ.....	66
5.1 สรุปผลการวิจัย	66
5.2 อภิปรายผล.....	66
5.3 ข้อจำกัด.....	67
5.4 ข้อเสนอแนะ	68
รายการอ้างอิง	69
ภาคผนวก.....	70
เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย.....	71
เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย	79
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	82

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 2.1 แสดงการออกฤทธิ์ของยาต่อ B-cell และวิธีการรักษา antibody-mediated rejection.....	17
ตาราง 3.1 Banff grading schema พ.ศ. 2556 ที่ใช้สำหรับการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา.....	51
ตาราง 4.1 แสดงข้อมูลผู้ป่วยและผู้บริจาคไตก่อนการผ่าตัด kidney transplantation.....	54
ตาราง 4.2 แสดงข้อมูลผู้บริจาคไตก่อนการผ่าตัด kidney transplantation.....	56
ตาราง 4.3 แสดงข้อมูลในช่วงระยะก่อนและหลังการผ่าตัด kidney transplantation 7 วัน.....	57
ตาราง 4.4 ค่า BLYS ที่ 7 วันหลังผ่าตัด เมื่อแบ่งผู้ป่วยตามลักษณะพยาธิวิทยาที่ 6 เดือน.....	59
ตาราง 4.5 ค่า BLYS ที่ 6 เดือนหลังผ่าตัด เมื่อแบ่งผู้ป่วยตามลักษณะพยาธิวิทยา.....	59
ตาราง 4.6 ความแตกต่างของระดับ BLYS ที่ 7 วันหลังผ่าตัดของผู้ป่วยในแต่ละลักษณะพยาธิวิทยา โดยเปรียบเทียบกับค่า BLYS ในผู้ป่วยที่มีลักษณะพยาธิวิทยาปกติ.....	60
ตาราง 4.7 Cox proportional hazard ratio ของค่า BLYS เมื่อควบคุมตัวแปรด้วยอายุ.....	64
ตาราง 4.8 Cox proportional hazard ratio ของค่า BLYS เมื่อควบคุมตัวแปรด้วยอายุและ DSA.....	64
ตาราง 4.9 ความแตกต่างของระดับ BLYS ที่ 180 วันหลังผ่าตัดของผู้ป่วยในแต่ละลักษณะพยาธิวิทยา โดยเปรียบเทียบกับค่า BLYS ในผู้ป่วยที่มีลักษณะพยาธิวิทยาปกติ.....	65

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1.1 กรอบแนวคิดในการวิจัย	3
รูปที่ 2.1 วงจรชีวิตของ B cell	11
รูปที่ 2.2 บทบาทของ B cell.....	12
รูปที่ 2.3 การพัฒนาของ B cell	14
รูปที่ 2.4 การทำงานของแอนติบอดี.....	15
รูปที่ 2.5 การเกิด donor specific antibody	16
รูปที่ 2.6 การรักษา antibody-mediated rejection.....	18
รูปที่ 2.7 B cell tolerance	19
รูปที่ 2.8 การแสดงออกของ BLYS family บน B cell lineage	21
รูปที่ 2.9 Receptor ของโปรตีน BLYS และ APRIL.....	22
รูปที่ 3.1 วิธีการวิจัย	43
รูปที่ 3.2 การตรวจระดับ BLYS ในเลือด.....	48
รูปที่ 3.3 วิธีการเจือจาง calibrator diluent และวัดค่า optical densitometry	49
รูปที่ 3.4 การวัดความเข้มข้นของ BLYS จาก optical densitometry	49
รูปที่ 4.1 ระดับ BLYS ที่ 7 วันหลังผ่าตัดของผู้ป่วยในแต่ละลักษณะพยาธิวิทยา.....	61
รูปที่ 4.2 ROC curve ของระดับ BLYS ที่ 7 วันหลังผ่าตัดในการพยากรณ์การเกิด antibody-mediated rejection ที่ 6 เดือน.....	62
รูปที่ 4.3 อัตราส่วนของการเกิด antibody-mediated rejection แบ่งตามผลของ DSA ร่วมกับ BLYS.....	63

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ABMR	Antibody-Mediated Rejection
APRIL	A proliferation-inducing ligand
AFCs	Antibody-forming Cells
ATG	Anti-thymocyte Globulin
ATN	Acute Tubular Necrosis
BAFF	B Activating Factor
BAFF-R	BAFF-Receptor
BCMA	B Cell Maturation Antigen
BCR	B Cell Receptor
BLyS	B Lymphocyte Stimulator
BR 3	B cell Receptor 3
CIT	Cold Ischemic Time
CNI	Calcineurin Inhibitor
CRD	Cystein-rich Domain
CVID	Common Variable Immunodeficiency Disease
DGF	Delay Graft Function
DSA	Donor Specific Antibody
ESRD	End-Stage Renal Disease
FDC	Follicular Dendritic Cell
GC	Germinal Center
GFR	Glomerular Filtration Rate
HLA	Human Leukocyte Antigen
IgM	Immunoglobulin M
IL-2	Interleukin-2
IL-4	Interleukin-4
IFN	Interferon
IVIg	Intravenous Immunoglobulin
LLPC	Long-Lived Plasma expanding Cell

MFI	Mean Fluorescent Intensity
MHC	Major Histocompatibility Complex
PRA	Panel Reactive Antibody
mTOR	Mammalian Target Of Rapamycin
PTC	Peritubular Capillaritis
RT-PCR	Real-Time Polymerase Chain Reaction
SLPC	Short-Lived Plasma expanding Cell
TACI	Transmembrane Activator and CAML Interactor
TD	T-Dependent response
TI	T-Independent response
TNF	Tumor Necrosis Factor
TRDD	TNF receptors-associated death domain
TWEAK	TNF Weak Inducer of Apoptosis
TCMR	T-Cell Mediated rejection

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (background and rationale)

ภาวะการปฏิเสธไต (kidney allograft rejection) ในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไต (kidney transplantation) เป็นปัญหาที่สำคัญในการวินิจฉัยและรักษา อาจส่งผลทำให้ผู้ป่วยต้องสูญเสียไตอย่างถาวรได้ (graft loss) กลไกการเกิด rejection ผ่านการตอบสนองต่อ antigens ของระบบ cellular และ humoral response โดยอาศัยการทำงานของ T lymphocytes และ B lymphocytes เกิดเป็น T-cell mediated rejection และ antibody-mediated rejection การเกิด rejection พบได้ในทุกระยะของการปลูกถ่ายไต¹ ซึ่งสามารถป้องกันได้ด้วยการให้ยากดภูมิคุ้มกัน ในระดับที่เหมาะสม โดยอาศัยการเจาะระดับยาให้เหมาะสมที่จะเกิดโอกาส rejection น้อยที่สุด² หรือไม่เป็นพิษจากยา ร่วมกับการประเมินค่าการทำงานของไต (glomerular filtration rate; GFR) และการประเมินทางคลินิก

วิธีมาตรฐานในการประเมินการทำงานของไตที่ได้รับการปลูกถ่าย คือ การเจาะชิ้นเนื้อไตเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา ซึ่งปกติมักจะทำเพื่อประเมินการเกิดพิษจากยากดภูมิคุ้มกัน เป็นแนวทางในการปรับเปลี่ยนการรักษา³ ตลอดจนการวินิจฉัยภาวะปฏิเสธไต ซึ่งในกรณีหลัง มักจะทำเมื่อมีอาการทางคลินิกให้เห็นแล้ว แต่ก็อาจสายเกินกว่าที่จะแก้ไขได้ทัน โดยเฉพาะในกรณี chronic allograft rejection⁴ นอกจากนี้การเจาะชิ้นเนื้อไตที่ได้รับการปลูกถ่ายนั้น ไม่สามารถทำได้ในทุกๆสถาบันที่มีการดูแลผู้ป่วย

การให้ยากดภูมิคุ้มกันในผู้ป่วยหลังการผ่าตัดปลูกถ่ายไตนั้น จำเป็นจะต้องรักษาระดับยาให้มีโอกาส rejection ให้น้อยที่สุด แต่ไม่สามารถทราบได้ว่าระดับของภูมิคุ้มกันที่ถูกกดด้วยยานั้น จะมีปริมาณเท่าใด ดังนั้น จึงมีการค้นหาวิธีการตรวจบางอย่างที่สามารถบอกระดับของภาวะภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยว่ามากหรือน้อยเพียงใด จะทำให้กำหนดทิศทางการปรับยากดภูมิได้ง่ายขึ้น โดยเฉพาะการตรวจระดับการทำงานของ B lymphocyte กล่าวคือ การเพิ่มขึ้นของ ligands ในการกระตุ้นและควบคุมการเกิด cell death ในระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่ B activating factor (BAFF) และ A proliferation-inducing ligand (APRIL) หรือเรียกโดยรวมว่า B lymphocyte stimulator (BLyS) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีหน้าที่ทำให้ B lymphocyte มีชีวิตอยู่ ผ่านการกระตุ้นผ่าน B cell receptor อีก

ทั้งยังเป็น co-stimulator ของ T-cell activator⁵ และการเพิ่มปริมาณของ ligands เหล่านี้ เป็นส่วนหนึ่งของการเกิด early acute antibody rejection⁶

ด้วยเหตุนี้เอง ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาถึงความสัมพันธ์ของระดับของ BAFF และ APRIL ในเลือด ตั้งแต่ช่วงหลังการทำการผ่าตัดปลูกถ่ายไต กับการเกิด kidney allograft rejection ที่สามารถวินิจฉัยได้โดยการตรวจชิ้นเนื้อไตเท่านั้น รวมถึงในช่วงเวลาที่ติดตามการรักษา เพื่อช่วยทำนายการเกิดการปฏิเสธไต และค่าการทำงานของไต เพื่อใช้ในการปรับการรักษา หรือใช้เป็นแนวทางในการปรับยาทดแทนให้เหมาะสมกับผู้ป่วยในแต่ละราย

1.2 คำถามของการวิจัย (research question)

คำถามหลัก (primary research question)

- Serum BLYS มีความสัมพันธ์กับการเกิด subclinical/clinical allograft rejection หลังผ่าตัดปลูกถ่ายไตหรือไม่

คำถามรอง (secondary research question)

- Serum BLYS มีความสัมพันธ์กับการเกิด interstitial fibrosis/tubular atrophy หลังผ่าตัดปลูกถ่ายไตหรือไม่
- Serum BLYS มีความสัมพันธ์กับค่าการทำงานของไต (glomerular filtration rate; GFR) หลังผ่าตัดปลูกถ่ายไตหรือไม่
- Serum BLYS มีความสัมพันธ์กับโปรตีนในปัสสาวะ (proteinuria) หลังผ่าตัดปลูกถ่ายไตหรือไม่
- Serum BLYS มีความสัมพันธ์กับระดับยา tacrolimus หลังผ่าตัดปลูกถ่ายไตหรือไม่

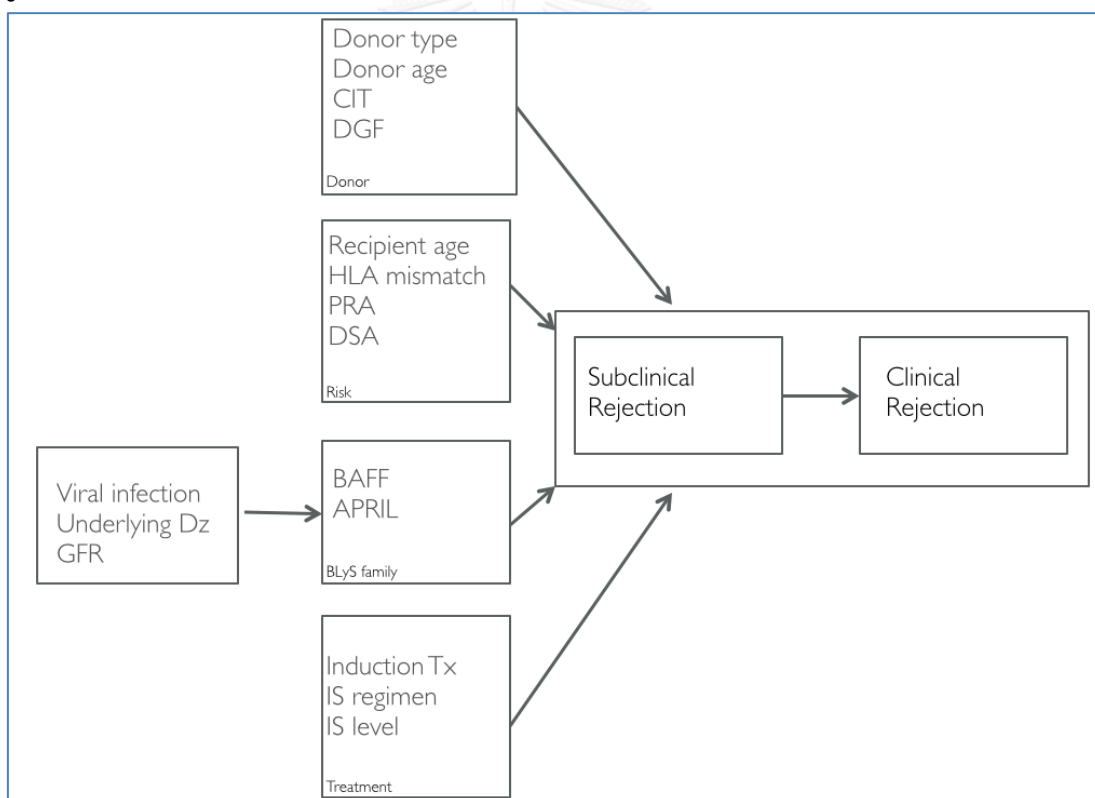
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (objectives)

- เพื่อประเมินความสัมพันธ์ระหว่างระดับ Serum BLYS (ได้แก่ BAFF และ APRIL) ของผู้ป่วยหลังผ่าตัด 7 วัน กับการเกิด subclinical/clinical allograft rejection หลังผ่าตัดปลูกถ่ายไต ที่ได้มาจากการเจาะชิ้นเนื้อไต ที่ 6 เดือน ตาม standard of care ของหน่วยโรคไต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย

- เพื่อประเมินความสัมพันธ์ระหว่างระดับ Serum BLyS กับเกิดการเกิด interstitial fibrosis/tubular atrophy หลังผ่าตัดปลูกถ่ายไตที่ 6 เดือน
- เพื่อประเมินความสัมพันธ์ระหว่างระดับ Serum BLyS กับค่าการทำงานของไต (glomerular filtration rate; GFR) หลังผ่าตัดปลูกถ่ายไตที่ 6 เดือน
- เพื่อประเมินความสัมพันธ์ระหว่างระดับ Serum BLyS กับโปรตีนในปัสสาวะ (proteinuria) หลังผ่าตัดปลูกถ่ายไตที่ 6 เดือน

1.4 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (conceptual framework)

รูปที่ 1.1 กรอบแนวความคิดในการวิจัย



1.5 วิธีการดำเนินการวิจัย

- ใช้รูปแบบการการวิจัยแบบไปข้างหน้า (Prospective observational cohort study)
- คัดเลือกผู้ป่วยสัญชาติไทยอายุตั้งแต่ 18 ปีขึ้นไปที่ได้รับการผ่าตัดปลูกถ่ายไตในรพ. จุฬาลงกรณ์
- ในหลังผ่าตัดวันที่ 7 นำตัวอย่างเลือดปริมาณ 5 มล. นำส่งตรวจวัดระดับ BAFF และ APRIL
- ในช่วงหลังผ่าตัด 6 เดือน นำตัวอย่างเลือดปริมาณ 5 มล. นำส่งตรวจวัดระดับ BAFF และ APRIL และจะได้รับการเจาะชิ้นเนื้อไต ตาม standard of care ของหน่วยโรคไต
- อ่านผลพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อไตตามระบบ Banff classification โดยพยาธิแพทย์เฉพาะทางท่านเดียวที่ไม่ทราบ clinical ของผู้ป่วย
- วิเคราะห์และสรุปผลการวิจัย

1.6 ปัญหาทางจริยธรรม

- การเข้าร่วมงานวิจัยในครั้งนี้ตั้งอยู่บนพื้นฐานของการเคารพในการให้คำยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย โดยผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการทุกท่านจะได้รับข้อมูลที่ถูกต้อง พอเพียง ไม่บิดบัง ข้อมูลเกี่ยวกับความเสี่ยงหรืออันตรายที่อาจจะเกิดในระหว่างการวิจัย ให้ข้อมูลที่เปิดเผยแก่อาสาสมัครนำกลับไปอ่าน หรือปรึกษาญาติ หรือผู้ที่ไว้วางใจ ก่อนตัดสินใจ ผู้เข้าร่วมการวิจัยไม่ถูกชักจูงด้วยอามิสสินจ้าง และมีสิทธิที่จะถอนตัวจากโครงการวิจัยโดยไม่ต้องชดใช้ค่าเสียหาย หรือถูกละเลยการดูแลรักษา
- งานวิจัยนี้ยึดหลักความยุติธรรม (Justice) ไม่มีการเลือกปฏิบัติ มีเกณฑ์การคัดเลือกและออกชัดเจน ไม่มีการให้ประโยชน์กับอาสาสมัครคนหนึ่งคนใดเป็นพิเศษ
- งานวิจัยนี้ให้ความเคารพในบุคคล (Respect for person) ความเป็นส่วนตัว และรักษาความลับในข้อมูลที่ใช้ในการวิจัย นอกจากนี้จะให้ผู้ที่เข้าร่วมโครงการวิจัยเซ็นชื่อหรือประทับลายนิ้วมือเพื่อยืนยันการตัดสินใจของผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย โดยมีพยานรู้เห็นร่วมลงนามก่อนเริ่มการวิจัย ในการดำเนินการวิจัยจะใช้เลขแทนชื่อของผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย โดยมีผู้วิจัยหลักเป็นผู้กำหนด

- งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการหาความสัมพันธ์ของระดับของ BLyS กับ การปฏิเสธไต ซึ่งไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการรักษา ยึดหลักการให้ประโยชน์ ไม่ก่อให้เกิดอันตราย (Beneficence/Non-maleficence) ผู้ป่วยทุกคนยังได้รับการรักษาที่เป็นมาตรฐานเหมือนเดิม หลังจากผู้ดำเนินการวิจัยอธิบายวัตถุประสงค์ ประโยชน์ที่ได้รับ และอันตรายที่อาจเกิดขึ้นซึ่งคาดว่าจะไม่น่ามีข้อพิจารณาด้านจริยธรรม

1.7 ข้อจำกัดในการวิจัย

งานวิจัยนี้ต้องการวัดระดับ BLyS เทียบกับผลทางพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อไตหลังการปลูกถ่าย 6 เดือน ผู้ป่วยอาจจะไม่ได้รับการเจาะชิ้นเนื้อตรงตามกำหนด ดังนั้นผู้วิจัย จะดำเนินการประสานให้ผู้ป่วยได้รับการเจาะชิ้นเนื้อไตตามเวลา

1.8 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

ทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ของระดับ serum BLyS กับ subclinical/clinical allograft rejection ซึ่งจะช่วยในการกำหนดทิศทางของการให้ยากดภูมิให้เหมาะกับระดับภูมิคุ้มกันในผู้ป่วยแต่ละคน และเป็นข้อมูลเพื่อใช้ในการศึกษาขนาดใหญ่ในอนาคต

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปัจจัยที่มีผลเกี่ยวข้องต่อการทำงานของไตที่ได้รับการปลูกถ่าย (Risk factors of graft failure in kidney transplantation)

ปัจจัยที่มีผลเกี่ยวข้องต่อการทำงานของไตที่ได้รับการปลูกถ่ายระยะสั้น (Short term)

1. Delay graft function (DGF)

DGF หมายถึง การที่ต้องทำการฟอกเลือด หรือล้างไตทางหน้าท้อง เนื่องมาจากการทำงานของไตหลังการปลูกถ่ายไตไม่ดีพอ ค่าซีรัมครีเอตินินลดลง น้อยกว่า ร้อยละ 10 ต่อวัน ทำให้ผู้รับไตมีข้อบ่งชี้ในการบำบัดทดแทนไตด้วยวิธีอื่นเพิ่ม ภายใน 7 วันหลังการผ่าตัด การเกิด DGF ส่งผลต่อ graft survival ทั้งระยะสั้นและระยะยาว ในระยะสั้น อาจส่งผลให้เกิด early graft rejection โดย DGF เกิดจากปัจจัยต่างๆ ดังนี้ 1.) ปัจจัยจากเก็บรักษาอวัยวะ ได้แก่ ไตที่ได้มาจากผู้บริจาคที่หัวใจหยุดเต้น cold ischemic time (CIT) โดย CIT ที่เพิ่มขึ้น ทุกๆ 6 ชั่วโมง จะเพิ่มความเสี่ยงของการเกิด DGF¹ และ CIT ที่มากกว่า 22 ชั่วโมง เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิด DGF² 2.) ปัจจัยจากผู้บริจาคไต ได้แก่ อายุของผู้บริจาคไต โรคประจำตัว เพศ ค่าครีเอตินิน การบาดเจ็บของเนื้อเยื่อไต 3.) ปัจจัยที่มาจากผู้รับไต ได้แก่ อายุ ความดันโลหิต mean arterial pressure น้อยกว่า 100 มม.ปรอท²⁻⁶

2. Human leukocyte antigen antibodies

ผู้รับไตที่มีแอนติบอดีต่อ human leukocyte antigen (HLA) ตั้งแต่ก่อน หรือเกิดหลังผ่าตัดปลูกถ่ายไต พบว่าเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดการทำงานของไตล้มเหลวในระยะเวลา 1 ปีแรก⁷ นอกจากนี้ แอนติบอดีต่อ HLA หลัก ได้แก่ HLA-A HLA-B และ HLA-DR แล้ว ยังมีแอนติบอดีต่อ Major-histocompatibility-complex class I-related chain A (MICA) ที่เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดการปฏิเสธไต และการทำงานของไตล้มเหลว ในระยะเวลาหลังผ่าตัด 1 ปี มีการศึกษาใน 13 ประเทศ โดย Zou และคณะ⁸ พบว่า กลุ่มผู้ป่วยที่มีแอนติบอดีต่อ MICA ทั้งก่อน หรือพบหลังจากการผ่าตัด มีอัตราการอยู่รอดของไตที่ได้รับการปลูกถ่ายในปีแรก เท่ากับร้อยละ 88 ซึ่งน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่พบแอนติบอดี (ร้อยละ 93) อีกทั้งยังเพิ่มความเสี่ยงต่อการปฏิเสธไตมากกว่ากลุ่มที่ไม่พบแอนติบอดีนี้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3. ประเภทของผู้บริจาคไต

ไตที่ได้รับการบริจาคมี 2 ประเภทหลัก คือ ไตที่ได้รับบริจาคจากผู้บริจาคมีชีวิต (living donor) และไตที่ได้รับบริจาคจากผู้ปวยสมองตาย (cadaveric donor) โดยไตที่ได้รับบริจาคจากผู้บริจาคมีชีวิตจะมีอัตราการรอดชีวิตของไต (survival rate) ดีกว่าไตที่ได้รับบริจาคจากผู้ปวยสมองตาย ทั้งระยะสั้นและระยะยาว⁹ สามารถอธิบายได้จากการที่มี tissue injury มากกว่าในไตที่ได้รับบริจาคจากผู้ปวยสมองตาย แต่ในไตที่ได้รับบริจาคจากผู้ปวยสมองตายนั้น สามารถจำแนกได้ตามลักษณะของผู้บริจาคได้ดังนี้

3.1 Standard-criteria-donor kidneys

เป็นไตที่ได้มาจากผู้บริจาคที่ได้รับการวินิจฉัยสมองตายตามปกติ ไม่เข้าข่าย expanded criteria-donor kidney และ expanded-criteria-donor kidney จะมีอัตราการรอดชีวิตของไตมากที่สุด ใน 3 กลุ่ม โดยอธิบายได้จากการที่มีการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อไต

3.2 Expanded-criteria-donor kidney

เป็นไตที่ได้มาจากผู้บริจาคสมองตายที่อายุมากกว่า 60 ปี หรือ อายุ 50 – 59 ปี ร่วมกับมีปัจจัย 2 ใน 3 ข้อ ดังต่อไปนี้ โรคความดันโลหิตสูง เสียชีวิตจากโรคเส้นเลือดสมอง หรือค่าซีรัมครีเอตินินขึ้นสูงมากกว่าเท่ากับ 1.5 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร โดยผู้รับบริจาคไตที่ได้รับไตประเภทนี้ จะพบว่า มี graft survival ต่ำกว่า standard-criteria-donor kidneys แต่เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ปวยไตวายเรื้อรังที่ต้องฟอกเลือดต่อ กับผู้ปวยที่ได้รับไตจาก expanded-criteria-donor จะมี patient survival สูงกว่า¹⁰⁻¹²

3.3 Donation after cardiac death

เป็นไตที่ได้มาจากผู้บริจาคที่ยังไม่มีภาวะสมองตาย แต่ระบบไหลเวียนโลหิตล้มเหลว โดยทั่วไป ไตที่มาจากผู้บริจาคไตประเภทนี้น่าจะมีการบาดเจ็บที่เนื้อเยื่อไตมากกว่าประเภทอื่น แต่การศึกษาในประเทศอังกฤษ เปรียบเทียบผู้รับไตอายุเท่าๆ กัน มีปัจจัยทางอิมมูโนโลยีเหมือนกันที่ได้รับไตจากผู้บริจาคประเภทนี้กับผู้บริจาคสมองตาย พบว่า graft survival ไม่แตกต่างกัน แต่ในกรณีที่มี cold ischemic time แตกต่างกันพบว่า ที่ 24 ชั่วโมง ในไตที่มาจาก donation after cardiac death มี graft survival ที่แยกว่า CIT ที่ 12 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ¹³

4. อายุของผู้บริจาคไต

ไตที่ได้จากผู้บริจาคสมองตายที่มีอายุมากกว่า 55 ปี พบว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิด delay graft function เมื่อเทียบกับผู้บริจาคที่มีอายุน้อยกว่า¹⁴ ส่วนผู้บริจาคที่อายุมากกว่า 60 ปี เพิ่มความเสี่ยงของการปลูกถ่ายไตล้มเหลว⁴

5. โรคประจำตัวของผู้บริจาคไต

ไตที่ได้รับการบริจาคจากผู้ที่ยังมีชีวิตอยู่ จะมีการคัดกรองโรคหรือค่าการทำงานของไต เป็นปกติ ผู้ที่ได้รับไตประเภทนี้จะมี graft survival ที่ดี แต่ไตที่ได้จากผู้ป่วยสมองตาย โดยเฉพาะผู้บริจาคที่มีโรคประจำตัว ได้แก่ ความดันโลหิตสูง เบาหวาน จะเกิด delay graft function มากกว่าเล็กน้อย และมีอัตรา graft survival ที่ 1 ปี น้อยกว่า ไตที่ได้จากผู้บริจาคสมองตายที่ไม่มีโรคร้อยละ 50 และร้อยละ 90 ตามลำดับ เมื่อติดตามไป 3 ปี อัตรา graft survival ในผู้บริจาคไตสมองตายที่มีโรคดังกล่าว เท่ากับร้อยละ 65 เทียบกับร้อยละ 75 โดยเฉพาะผู้บริจาคที่เป็นโรคความดันโลหิตสูงนานกว่า 10 ปี graft survival จะน้อยกว่าถึงร้อยละ 36^{9, 15}

ปัจจัยที่มีผลเกี่ยวข้องต่อการทำงานของไตที่ได้รับการปลูกถ่ายระยะยาว (Long term)

1. ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน

1.1 การเกิดการปฏิเสธไต

จากการรวบรวมข้อมูลในอดีต พบว่า ถ้าหากเกิดการปฏิเสธไตในระยะหลังปลูกถ่ายไตในช่วง 6 เดือนแรก จะเพิ่มความเสี่ยงต่อการทำงานของไตที่ลดลงในระยะยาว (chronic allograft nephropathy)¹⁶

1.2 การเข้ากันได้ของ human leukocyte antigen (HLA)

โดยทั่วไป HLA mismatch ระหว่างผู้บริจาคและผู้รับไตนั้น จะมีการรายงาน 6 ตำแหน่ง ซึ่งมีการศึกษาที่เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า การที่ไม่มี HLA mismatch จะให้ผลลัพธ์ของการปลูกถ่ายไตมากกว่าผู้รับที่มี HLA mismatch มากกว่า และมากที่สุดของคนที่มี 6 ตำแหน่ง

1.3 Sensitization

ในผู้ป่วยที่มีประวัติ เคยตั้งครรภ์ เคยปลูกถ่ายอวัยวะมาก่อน เคยได้รับเลือดมาก่อน ประวัติเหล่านี้ อาจจะเป็นตัวช่วยว่า ผู้ป่วยเคยสัมผัสต่อแอนติเจนมาก่อน อาจมีการสร้าง

แอนติบอดีก่อนได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะ (preform antibody) ซึ่งสามารถตรวจได้ก่อนการผ่าตัดได้แก่ panel reactive antibody (PRA) หรือ donor specific antibody (DSA)

2. ปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน

2.1 การบาดเจ็บของเนื้อเยื่อไต

การเกิดการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อไต อาจเกิดมาจากการไตที่ได้มาจากผู้ป่วยที่หัวใจหยุดเต้น หรือมีระยะ cold ischemic time ที่นานเกินไป เกิด ischemic reperfusion injury และ acute tubular necrosis ส่งผลกระทบต่อ adhesion molecule และ MHC class II

2.2 การได้รับปริมาณเนื้อไตที่ปลูกถ่ายไม่เพียงพอ

การที่ได้รับไตที่มีขนาดเล็ก โดยเฉพาะผู้รับไตที่มีน้ำหนักมากกว่า 100 กิโลกรัม¹⁷

2.3 ความสม่ำเสมอในการรับประทานยากดภูมิคุ้มกัน

เป็นที่แน่ชัดว่า ผู้ป่วยที่รับประทานยาไม่สม่ำเสมอเกิด antibody-mediated rejection มากกว่า

2.4 ภาวะความดันโลหิตสูงภายหลังการปลูกถ่ายไต

มีการศึกษาในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไตจากผู้บริจาคสมองตายที่มากกว่า 1 ปี พบว่าความดันโลหิตสูงทั้ง systolic, diastolic และ mean arterial pressure เพิ่มความเสี่ยงต่อการทำงานของไตที่ลดลง¹⁸

2.5 การกลับมาเป็นใหม่ของโรคไตอักเสบหลังการปลูกถ่ายไต

ในผู้ป่วยที่เป็นโรคไตอักเสบจนเกิดไตวายเรื้อรัง อาจเกิดโรคกำเริบได้ในระยะหลังการปลูกถ่ายไต โดยโรคไตอักเสบบางชนิดอาจทำให้เกิด graft loss ได้ เช่น โรคไตจากเบาหวาน membranoproliferative glomerulonephritis

2.6 ประเภทของผู้บริจาคไต

2.7 ค่า resistive index

การศึกษาในผู้ป่วยหลังผ่าตัดปลูกถ่ายไตที่ 0, 3, 6 และ 12 เดือน พบว่า ค่า resistive index ของเส้นเลือดแดงที่เลี้ยงไตมากกว่า 0.8 สัมพันธ์ต่อการเกิดการทำงานของไตที่ลดลงในระยะยาว¹⁹

2.2 ความรู้เบื้องต้น เกี่ยวกับ B lymphocyte

วงจรชีวิตและหน้าที่ของ B cell

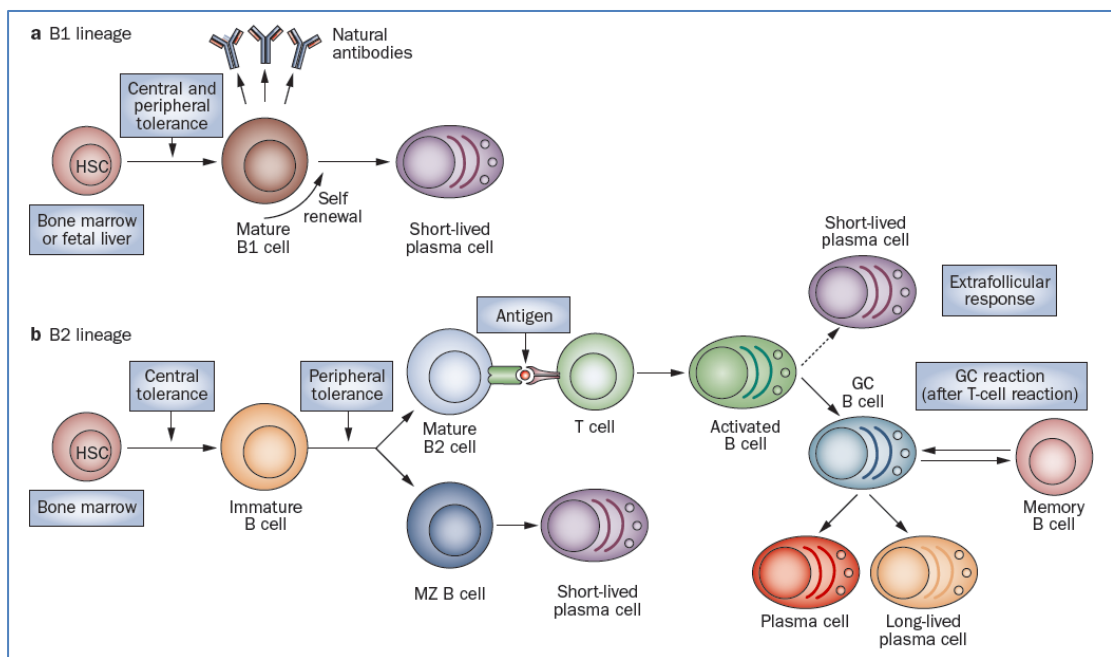
B cell มีบทบาทหลักในการสร้างแอนติบอดี ทั้งที่มีต่อสิ่งแปลกปลอมรวมถึงอวัยวะ ที่ได้รับการปลูกถ่าย ดังนั้น การลดการสร้างแอนติบอดีจะช่วยให้ไตที่ได้รับการปลูกถ่าย มีอายุยาวนานขึ้น โดยปกติ B cell แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ B-1 cell และ B-2 cell โดย B-1 cell มีสัดส่วนน้อยกว่า B-2 cell แต่ถูกพัฒนาขึ้นก่อนและมีวงจรชีวิตที่ยาวนานกว่า สร้างมาที่เซลล์ตับของทารก พบได้ที่เยื่อหุ้มปอดและช่องเยื่อหุ้มท้อง พบน้อยมากที่ต่อมน้ำเหลืองและไขกระดูก²⁰ B-1 cell จะสร้างแอนติบอดีตัวแรกของร่างกาย คือ immunoglobulin M (IgM) และ immunoglobulin A (IgA) เป็นส่วนใหญ่ ทำหน้าที่กำจัดไวรัสและแบคทีเรียชนิดแคปซูล และ apoptotic cells²¹ B-1 cell ยังแบ่งได้อีกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ B-1a และ B-1b ทำหน้าที่ตอบสนองต่อแอนติเจนที่มากกระตุ้น สร้างแอนติบอดี ในการทดลองในหนู พบการทำงานของ B-1a และ B-1b อย่างชัดเจน²² แต่ในมนุษย์สามารถบอกได้แค่เพียงการสร้าง IgM เท่านั้น ส่วนหน้าที่อื่นๆ นั้นยังไม่ชัดเจน^{23, 24} ในหนูและผู้ป่วยโรคลูปัสพบว่ามีปริมาณ B-1 cell เพิ่มสูงขึ้น²⁵ เช่นเดียวกับในหนูที่ได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะ เกิดการ rejection ในกลุ่มที่มี B-1 cell^{26, 27}

B-2 cell มีการพัฒนาอยู่ตลอดเวลา มีความสามารถสร้างแอนติบอดีได้หลายชนิด สร้างที่ไขกระดูกและมีการพัฒนาเป็น pro-B cell pre-B cell และ immature B cell แล้วค่อยปล่อยออกมา นอกไขกระดูก โดยมีขบวนการกำจัด B cell ที่ทำลายแอนติเจนของร่างกาย (central tolerance) เช่นเดียวกับการพัฒนา T-cell ในต่อมธัยมัส²⁸ B-2 cell จะออกจากไขกระดูกมายังม้าม เรียกระยะนี้ว่า transitional stage มีความสำคัญในการเกิด peripheral tolerance²⁹ immature B-2 cell จะถูกแบ่งเป็น follicular B cell และ marginal zone B cell (MZ-B cell) follicular B cell สามารถเคลื่อนตัวไปมาระหว่างเลือด ต่อมน้ำเหลือง ม้าม และ Peyer's patches มีหน้าที่เสนอชิ้นส่วนแอนติเจนให้กับ T cell³⁰ ในขณะที่ MZ-B cell จะอยู่ในต่อมน้ำเหลือง และมีหน้าที่คล้ายกับ B-1 cell

Mature B cell หรือ follicular B cell เมื่อพบกับแอนติเจนร่วมกับการกระตุ้นจาก T helper cell จะเปลี่ยนไปเป็น activated B cell และพัฒนาต่อไปเป็น plasmablast หรือ plasma cell ที่มีอายุสั้น³¹ plasmablast มีอายุสั้น เพียง 2-3 วัน และตอบสนองต่อ pathogen ได้เร็วมาก บางส่วนของ activated B cell จะเคลื่อนเข้าสู่ germinal center ที่ประกอบไปด้วย follicular dendritic cells (FDCs) ที่ทำหน้าที่นำเสนอชิ้นส่วนแอนติเจน บริเวณนี้ activated B cell จะพัฒนาต่อไปเป็น plasma cell และจะมี chemokine receptor ช่วยนำ plasma cell ออกจากม้าม³² ไปอาศัยในไขกระดูกและจะมีอายุยาวขึ้น เรียกว่า long-lived plasma cell plasma cell จะมี

ความสามารถในการหลั่ง immunoglobulin ได้มากกว่า plasmablast³¹ plasma cell บางส่วนจะพัฒนาเป็น memory B cell memory B cell จะไวต่อแอนติเจนที่ได้สัมผัส และจะแบ่งตัวต่อเป็น plasma cell ได้ในระยะเวลาอันสั้นและมีปริมาณมาก ทั้ง plasma cell และ memory B cell นั้นมีอายุยาวนานเป็นปี โดยวงจรชีวิตของ B cell ทั้งหมด แสดงได้ในรูปที่ 2.1

รูปที่ 2.1 วงจรชีวิตของ B cell

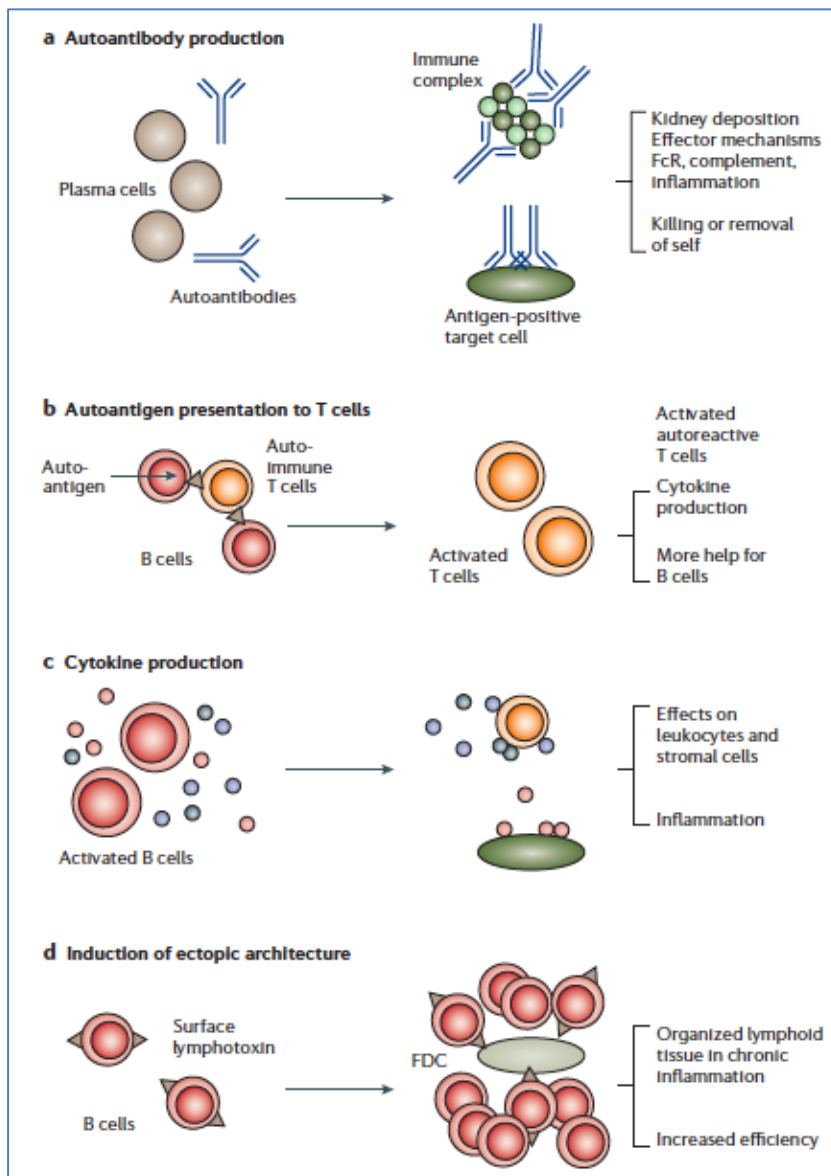


หน้าที่หลักของ B cell คือการสร้างแอนติบอดีเพื่อตอบสนองกับแอนติเจน และจับกันเป็น immune complex โดยอาศัยกระบวนการ phagocytosis หรืออาศัยกระบวนการที่ต้องใช้ complement เพื่อกำจัดแอนติเจนออกไป ขั้นตอนเหล่านี้จะมีเม็ดเลือดขาวมาเกี่ยวข้องทำให้เกิดการอักเสบ และเมื่อ pathogen ถูกกำจัด การอักเสบจะหายไป แต่ถ้ากระบวนการอักเสบนี้เกิดที่อวัยวะที่ได้รับการปลูกถ่ายหรืออวัยวะของร่างกาย (self antigen) นั้น จะทำให้อวัยวะนั้นๆเกิดการอักเสบเรื้อรัง อาจทำให้สูญเสียอวัยวะได้ การพบเซลล์เม็ดเลือดขาวบนอวัยวะที่ได้รับการปลูกถ่าย ร่วมกับการที่มีการทำงานของอวัยวะนั้นๆ เสียไป โดยเฉพาะการปฏิเสธไตชนิดแอนติบอดี³³ สิ่งเหล่านี้เป็นหลักฐานยืนยันได้ถึงบทบาทของ B cell ในการเกิดการปฏิเสธไต

หน้าที่อื่นของ B cell ได้แก่ การนำเสนอชิ้นส่วนแอนติเจนแก่ CD40 T cell ผ่านทาง peptide major compatibility complex class II มีการหลั่ง interleukin 2 (IL-2) interleukin 4 (IL-4) และ interferon gamma ทำให้เม็ดเลือดขาวมารวมตัวกันมากขึ้น ทำให้เกิดการอักเสบเรื้อรัง³⁴⁻³⁶ สุดท้าย B cell บางกลุ่มสามารถแสดง lymphotoxin- α/β ที่ผิวผ่านการหลั่ง cytokines และ

กระตุ้นให้ follicular dendritic cell (FDC) แบ่งตัวล้อมรอบตำแหน่งที่มีการอักเสบ ส่งผลให้มีการทำลายแอนติเจนต่อเนื่อง^{37, 38} หน้าที่ของ B cell ทั้งหมดแสดงได้ดังรูปที่ 2.2

รูปที่ 2.2 บทบาทของ B cell



- สร้างแอนติบอดีโดยการจับกับแอนติเจน เกิดเป็น immune complex ถูกกำจัดโดย Fc-receptor-bearing effector cells หรือระบบ complement
- B cell ทำหน้าที่นำเสนอชิ้นส่วนแอนติเจนให้กับ T cell เกิดเป็น activated T cell ทำหน้าที่หลั่ง cytokines ต่างๆ กลับมากระตุ้น B cell ให้พัฒนาต่อไปเป็น activated B cell

- c. activated B cell หลั่ง cytokines กระตุ้นเม็ดเลือดขาว และ stromal cell ให้มาชุมนุมกันที่บริเวณที่มีการอักเสบ
- d. B cell สามารถสร้าง lymphoid tissue ในตำแหน่งที่เกิดการอักเสบเรื้อรัง โดยแสดง lymphotoxin ที่อยู่บนผิวของ B cell เพื่อเพิ่มการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน³⁹

2.3 B lymphocytic cell และ BLyS กับการปลูกถ่ายไต

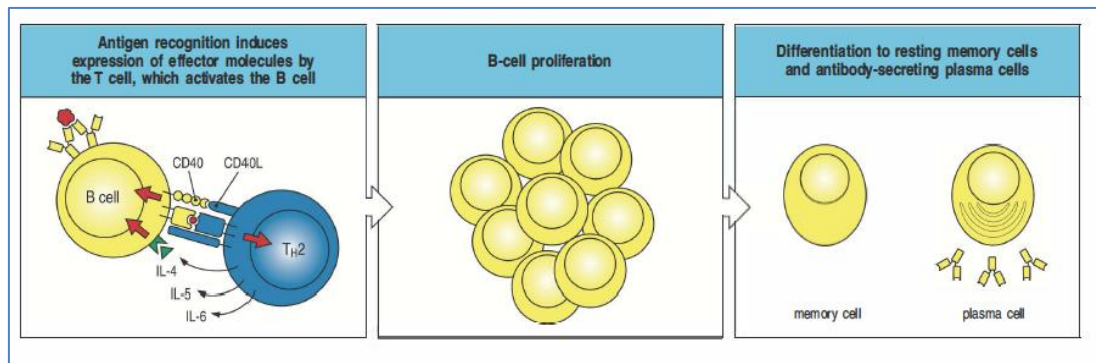
ในอดีตในช่วงปีหลังปีค.ศ.1980 การควบคุม T-cell mediated autoimmunity ในผู้ป่วยที่ปลูกถ่ายไต โดยการใช้ยากดภูมิคุ้มกันที่มีประสิทธิภาพ⁴⁰ ทำให้อุบัติการณ์ของ T-cell mediated rejection และ T-cell mediated rejection จึงลดลงไปอย่างมาก โดยอุบัติการณ์ของ acute T-cell mediated rejection หลังปลูกถ่ายไตน้อยกว่า ร้อยละ 10⁴¹ แต่ยังไม่สามารถลดการเกิด antibody-mediated rejection ซึ่งจะทำให้เกิด graft loss ได้ทั้งระยะสั้น และระยะยาว ดังนั้น B lymphocyte จึงเป็นที่สนใจเพิ่มขึ้นในปัจจุบัน

การตอบสนองของ B cell เมื่อมีการปลูกถ่ายไต

หลังจากมีการปลูกถ่ายไต จะมีการตอบสนองต่อแอนติเจนจากอวัยวะที่ได้รับการปลูกถ่าย กล่าวคือ major histocompatibility complex (MHC) class I และ II ผ่านทาง T cell activation และ B cell activation การตอบสนองของ B cell เริ่มจากการเคลื่อนตัวของ antigen presenting cells; APCs (ส่วนใหญ่เป็น dendritic cell) ของผู้บริจาค จาก graft ไปยัง secondary lymphoid organs ของผู้รับ โดยมีการกระตุ้น T cell ของผู้รับ ผ่านทาง direct pathway ที่ T cell zone ของ secondary lymphoid organ และย้ายตัวกลับมาที่ไตที่ได้รับการปลูกถ่าย ทำให้เกิดการอักเสบและการปฏิเสธไตได้ เมื่อ APCs ของผู้บริจาคทำงานลดลง APCs ของผู้รับจะเข้ามามีบทบาททดแทน โดย B cell จะทำหน้าที่เป็น APCs เกิดการกระตุ้น B cell และสร้างแอนติบอดีได้มากที่สุด^{42, 43}

เมื่อมีแอนติเจนเข้ามาในร่างกาย ในที่นี้ก็คือ โปรตีนจาก MHC class I และ II ผู้บริจาคไต จะเกิดการกระตุ้น B cell จะได้รับการช่วยเหลือจาก T cell โดยจะเป็น T helper cell ได้แก่ T follicular helper (T_{FH}) cells การกระตุ้น B cell อาศัย 2 สัญญาณ สัญญาณแรกเกิดจากการจับกันของ CD40 ที่อยู่บนผิวของ B cell กับ co-stimulatory CD40 ligands (CD154) บนผิวของ T helper cell สัญญาณที่สอง มีการหลั่ง cytokines ได้แก่ interleukin-4, 5 และ 6 จาก T helper cell มากกระตุ้น B cell โดยกระตุ้น B cell นี้ อาจเกิดจากการที่ B cell ทำตัวเป็น APCs เอง หรือทั้งสองสัญญาณหรือเพียงหนึ่งสัญญาณก็ได้ ทำให้ B cell เจริญและพัฒนาไปเป็น memory B-cell และพลาสมาเซลล์ที่สามารถสร้างแอนติบอดีได้⁴²⁻⁴⁶ ดังรูปที่ 2.3

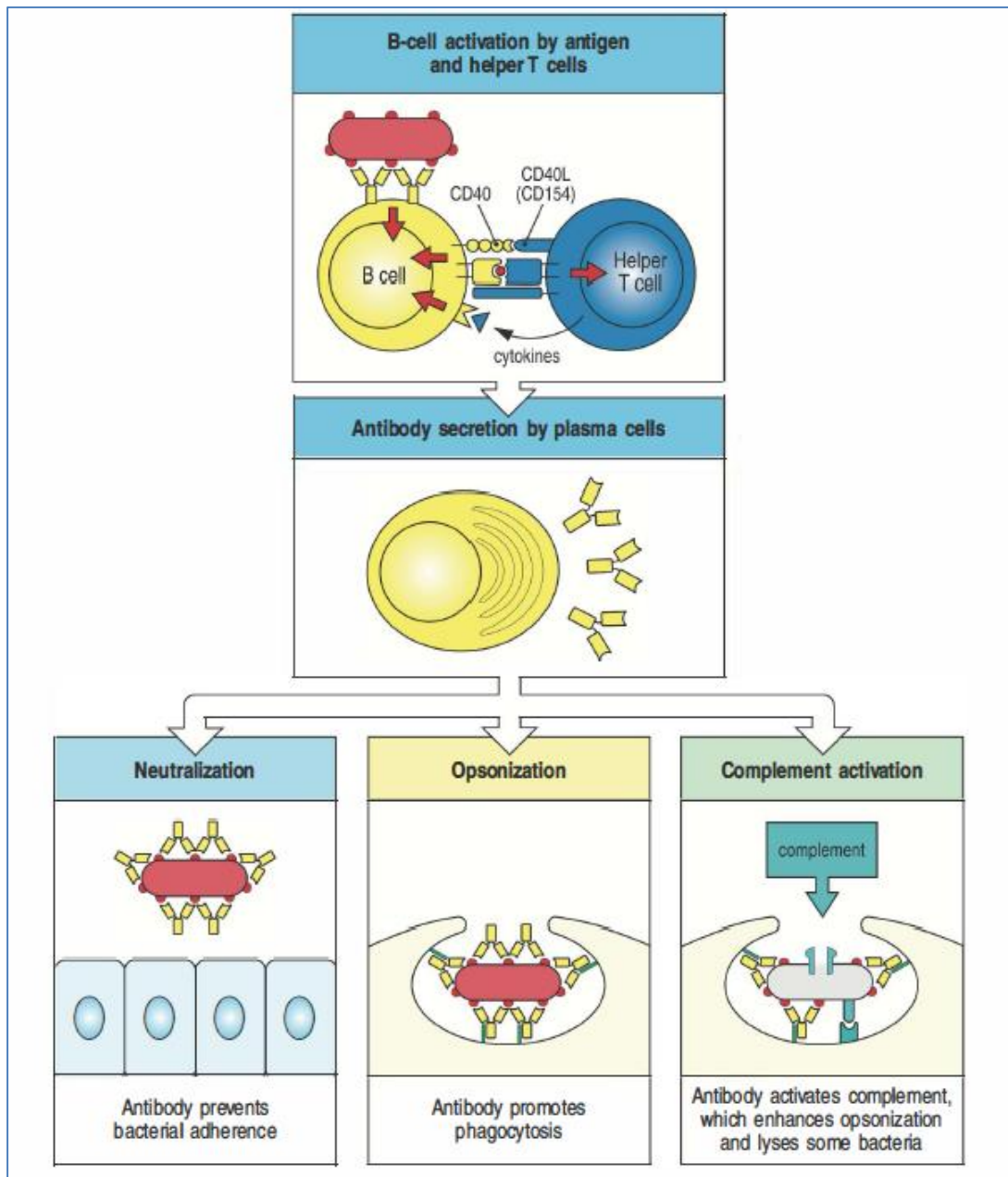
รูปที่ 2.3 การพัฒนาของ B cell



T helper cells กระตุ้น B cells ได้โดยผ่านแสดงออกของ CD40 ligands บนผิวของ T helper cells ทำให้มีการหลั่ง cytokines ได้แก่ IL-4, IL-5 และ IL-6 กลับไปกระตุ้นให้ B cell โดย B cell ส่วนใหญ่การเจริญและพัฒนาไปเป็นพลาสมาเซลล์ที่สามารถสร้างแอนติบอดีได้ ส่วนที่เหลือจะเปลี่ยนไปเป็น memory B cell ⁴⁷

แอนติบอดีที่สร้างมาจากพลาสมาเซลล์ มีความสามารถในการทำลายสิ่งแปลกปลอมโดยมีหลายวิธี ได้แก่ การรวมตัวกับสิ่งแปลกปลอมแล้วทำลาย (neutralization) เป็นตัวช่วยให้เกิดการ phagocytosis เรียกว่า opsonization รวมถึงการกระตุ้นผ่านระบบคอมพลีเมนต์ให้เกิดการทำลายสิ่งแปลกปลอมนั้น ๆ ดังรูปที่ 2.4 ในกรณีการปลูกถ่ายไต แอนติบอดีที่เกิดขึ้นผ่านกระบวนการ antibody-mediated rejection คือ HLA-antibodies หรือ donor specific antibodies (DSA)

รูปที่ 2.4 การทำงานของแอนติบอดี

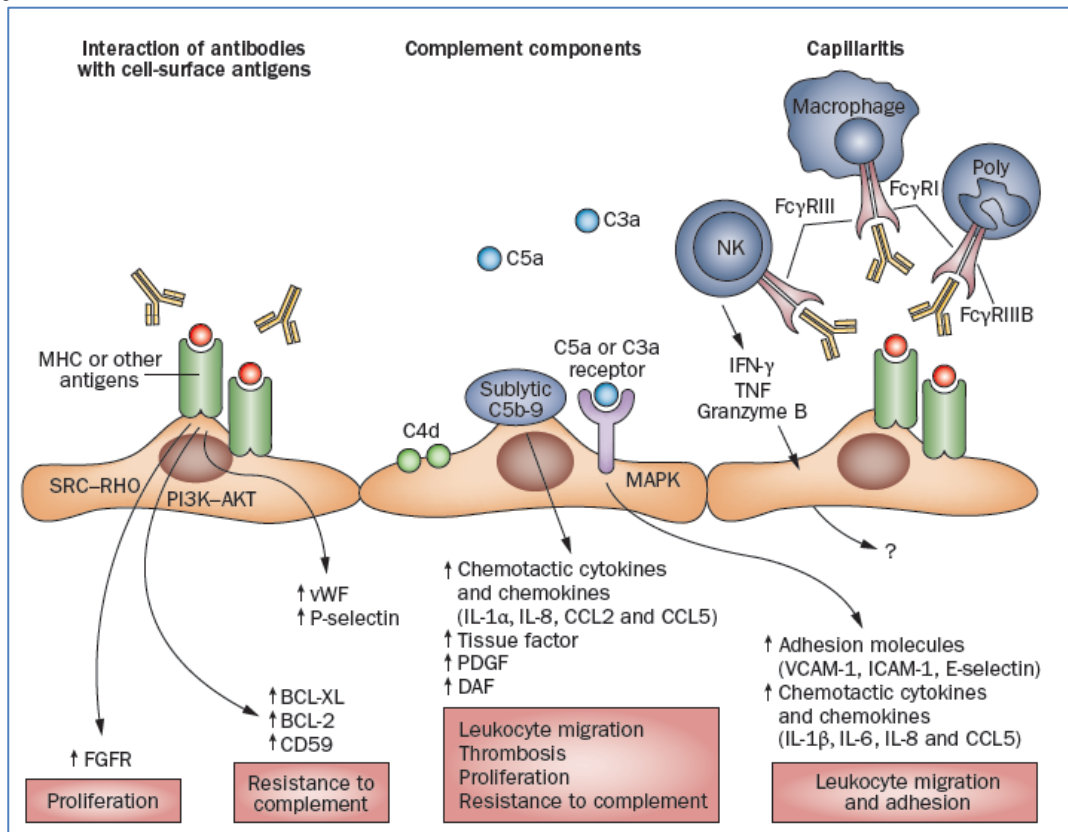


แอนติบอดี ช่วยป้องกันสิ่งแปลกปลอมได้ 3 วิธี 1. Neutralization คือ การรวมตัวกับสิ่งแปลกปลอม แล้วทำลาย 2. Opsonization คือ การที่แอนติบอดีเป็นตัวช่วยให้เกิดการ phagocytosis ทำให้เกิดการทำลายสิ่งแปลกปลอม 3. แอนติบอดีจะช่วยกระตุ้นผ่านระบบคอมพลีเมนต์ให้มาทำลายสิ่งแปลกปลอม

การตอบสนองระหว่างการปลูกถ่ายไตข้ามหมู่เลือด (ABO-incompatibility kidney transplantation) การที่ผู้รับไตสร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจนของผู้บริจาค หรือ การที่ผู้รับไตมี

แอนติบอดีก่อนการปลูกถ่ายไต (preexisting antibody) เป็นเหตุสำคัญที่จะทำให้เกิดการปฏิเสธไต
 เมื่อมีแอนติบอดีจับกับผนังของ endothelial cell ของไตที่ได้รับการปลูกถ่าย⁴⁸ กระตุ้นผ่านระบบ
 คอมพลีเมนต์ macrophage และ monocyte โดยจับกับ Fc receptor⁴⁹ เกิดการทำลายผนังหลอดเลือด
 เลือดฝอย เหนี่ยวนำให้เซลล์เม็ดเลือดขาว เซลล์อักเสบ เกร็ดเลือดมาชุมนุมกัน ทำให้เลือดแข็งตัวของ
 เลือดในเส้นเลือดฝอยง่ายขึ้น เกิดเส้นเลือดอุดตัน เส้นเลือดข้างท่อไตอักเสบ (peritubular
 capillaritis; PTC) เส้นเลือดฝอยในหน่วยไตอักเสบ (glomerulitis)^{33, 50} ส่งผลให้เกิดการปฏิเสธไต
 ชนิดแอนติบอดี การทำงานไตลดลง และเพิ่มความเสี่ยงต่อการสูญเสียไต⁵¹ ดังรูปที่ 2.5

รูปที่ 2.5 การเกิด donor specific antibody



DSA ทำให้เกิด endothelial injury ในไตที่ได้รับการปลูกถ่าย เกิดจากการที่มีแอนติบอดีต่อ
 MHC molecule มีผลทางตรงทำให้เส้นเลือดฝอยอักเสบ มีผลทางอ้อมโดยการกระตุ้นระบบคอมพลี
 เมนต์ เกิด antibody-mediated rejection⁵⁰

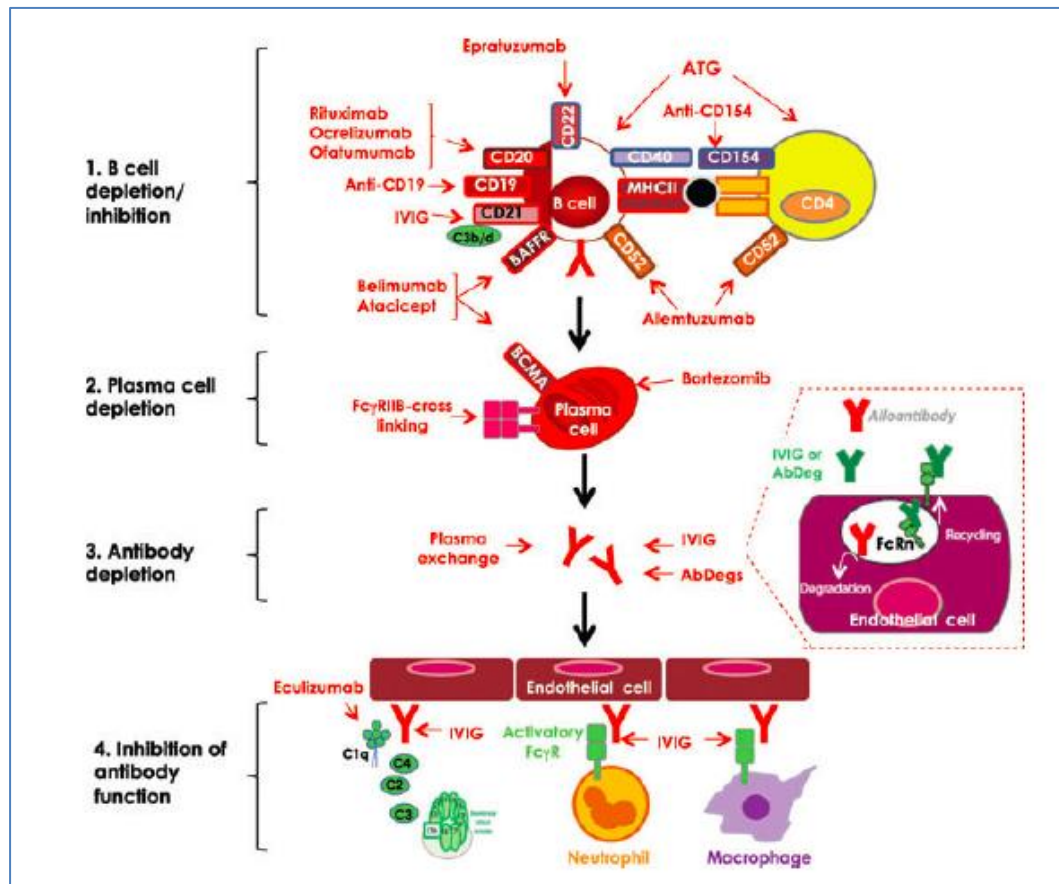
ดังนั้น การปลูกถ่ายไตจำเป็นจะต้องให้ยากดภูมิคุ้มกัน เพื่อลดการตอบสนองต่อ non-self
 antigen ที่มากเกินไปของทั้ง T cell และ B cell mediated response โดยวิธีการลดแอนติบอดีทำ
 ได้หลายวิธีได้แก่ การให้ยา corticosteroids bortezomib eculizumab rituximab intravenous

immunoglobulin การทำ plasmapheresis หรือการทำ immunoabsorption ⁵² ดังนั้น การรักษา antibody-mediated rejection ก็จะใช้หลักการการลด B-cell และ แอนติบอดีเช่นเดียวกัน โดยแต่ละวิธีก็ออกฤทธิ์แตกต่างกันไป ดังตารางที่ 2.1⁵² และรูปที่ 2.6

ตาราง 2.1 แสดงการออกฤทธิ์ของยาต่อ B-cell และวิธีการรักษา antibody-mediated rejection

การรักษา	กลไกการออกฤทธิ์
Plasmapheresis (PP)	Decrease the titer and block the effect of DSA
Immunoadsorption (column)	Decrease the titer of DSA
Intravenous immunoglobulin (IVIg)	Decrease the titer and block the effect of DSA
Bortezomib	Decrease production of DSA
Corticosteroids	Decrease inflammation caused by DSA in graft and decrease production of DSA, suppression of T cells
Anti-thymocyte globulin (ATG)	Reduce production of DSA by decreasing Helper T cells, suppression of T cells
Eculizumab	Block complement activation resulting from DSA activation
Mycophenolate	Block the effect and decrease production of DSA, suppression of T cells
Rituximab, Cyclophosphamide, IL-2	Decrease production of DSA
Tacrolimus	Decrease production of DSA, Suppression of T cells
Splenectomy	Decrease production of DSA

รูปที่ 2.6 การรักษา antibody-mediated rejection

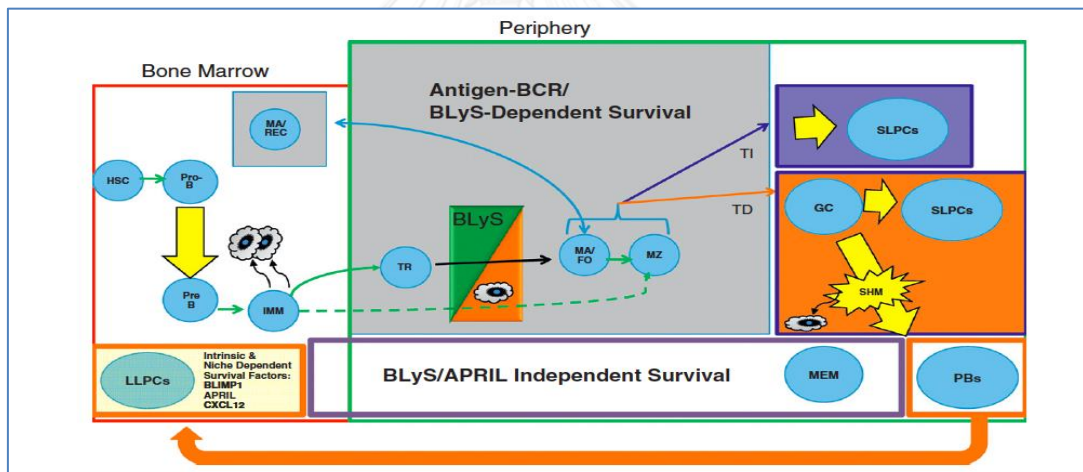


แอนติบอดีที่เป็นสาเหตุของโรคอื่นๆ ได้แก่ systemic lupus erythematosus เกิดจากการทำงานของ B cell และ T cell ผิดปรกติ เกิดสร้างออโตแอนติบอดี แล้วเกิดการกระตุ้นของ innate immune response⁵³ ก่อให้เกิดอาการตามมาได้ ดังนั้นในการรักษาโรค SLE ก็คือ การลดระดับ B cell และ ออโตแอนติบอดีที่มากเกินไป เช่นเดียวกับหลักการของการรักษา antibody-mediated rejection ในการปลูกถ่ายไต แต่ในโรค SLE มีการใช้ยา belimumab อยู่ในกลุ่ม B lymphocyte stimulating (BLyS) antagonist สามารถไปลด B-cell activation และยับยั้ง B cell ไม่ให้พัฒนาไปเป็น plasma cell⁵⁴ ดังนั้น BLyS จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจในวงการปลูกถ่ายอวัยวะ

ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับ BLyS

เมื่อมีการสร้าง pro-B cell โดย hematopoietic stem cells ในไขกระดูก pro-B cell เหล่านี้จะมีการตัดเรียงรูปร่าง heavy chain ของ immunoglobulin ทำให้พัฒนาไปเป็น pre B cell โดย pre B cell จะมีการจัดรูปร่าง light chain ของ B cell receptor (BCR) ซึ่ง immunoglobulin ส่วนใหญ่ที่แสดงออกที่ผิวเซลล์จะเป็นชนิด IgM รวมเรียกว่า immature B cell⁵⁵ ในส่วนนี้จะมีการตรวจสอบแอนติเจนว่าเป็น self antigen หรือ non-self antigen ขั้นตอนนี้เรียกว่า central tolerance แอนติเจนที่สามารถจับกับ BCR ได้ดี ก็จะตายไป จะมีส่วนของ immature B cell ประมาณร้อยละ 10 จะออกจากไขกระดูก เปลี่ยนแปลงเป็น transitional B cell (TR B cell) จะเข้าสู่ขั้นตอน peripheral tolerance เพื่อกำจัด self-reactive B cell โดยในขั้นตอนนี้ควบคุมโดย cytokine ในกลุ่ม tumor necrosis factor (TNF) เพื่อจะพัฒนาต่อไปเป็น mature B cell⁵⁶⁻⁵⁸ ดังรูปที่ 2.7⁵⁷

รูปที่ 2.7 B cell tolerance



TNF ligands จัดเป็น type 2 transmembrane protein อยู่ในรูป homotrimer โดยจับกับผิวเซลล์ มี 2 รูปแบบคือ soluble form และ membrane form ส่วน TNF receptors ก็เป็น transmembrane protein มีส่วนที่ยื่นจากผิวเซลล์ไปจับ ligands ประกอบด้วย cystein rich domain (CRD)⁵⁹ TNF receptor บางตัวมีส่วน cytoplasmic death domain จะกระตุ้นโปรตีนชื่อ TNF receptors-associated death domain (TRDD) เช่น Fas pathway ทำให้เกิดกระบวนการ apoptosis ส่วน TNF receptor บางตัว ก็มี TNF receptors-associated factors (TRAFs) ทำให้เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันเกิดการพัฒนาและอยู่รอดได้ ดังนั้น ทำให้สามารถอธิบายได้ว่า

การกระตุ้นผ่าน TNF family มีการตอบสนองได้หลายแบบ เนื่องจาก ligands ที่มาจับและบาง ligands สามารถจับได้หลาย receptors ทำให้เกิดการ ทำงานที่ หลากหลายมากขึ้น

B lymphocyte stimulator (BLyS) family จัดเป็นสมาชิกส่วนหนึ่งของ TNF ligands โดยที่ BLyS family ถูกค้นพบจากการศึกษาของยีน และค้นพบโดยบังเอิญ ทำให้มีการเรียกชื่อและตั้งชื่อทับซ้อนกัน อาจต่างกันที่ขนาด การเรียงตัวของกรดอะมิโน ประกอบด้วยโปรตีน 2 ligands คือ B lymphocyte stimulator (BLyS) หรือ B cell activating factor (BAFF) และ A proliferation-inducing ligand (APRIL) พบได้ใน neutrophils monocytes macrophages dendritic cells และ osteoclasts ทั้ง BLyS/BAFF และ APRIL จะถูกสร้างอยู่ในรูป monomer และจะจัดเรียงตัวเป็น trimers และบางส่วนจะถูกตัดย่อยให้อยู่ในรูปอิสระด้วยเอนไซม์ furin แล้วจะไปจับกับ receptors ได้แก่ BAFF-receptor (BAFF-R) หรือ B cell receptor 3 (BR3) transmembrane activator and CAML interactor (TACI) และ B cell maturation antigen (BCMA)^{60, 61}

BLyS

BLyS เป็นโปรตีนที่ประกอบได้ด้วยกรดอะมิโน 285 ตัว มีขนาดมวลโมเลกุล 32 กิโลดาลตัน แต่เมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ furin จะมีขนาด 17,038 ดาลตัน BLyS จะอยู่ในรูปแบบ soluble form และ membrane form ในสัตว์จำพวกเป็ดและไก่จะมีโครงสร้างคล้ายกับในหนูและคนมากกว่า 76% ซึ่งหน้าที่ในสัตว์แต่ละประเภทก็ทำหน้าที่เหมือนกัน^{62-64 65} BLyS แตกต่างจากโปรตีนอื่น ใน TNF ligands ในแง่โครงสร้างที่มีแกนสั้นและแบนกว่า สามารถทำปฏิกิริยากับแมกนีเซียมได้ดี และมีขั้วลบบที่มีความเป็นกรดสูง จะทำให้จับกับ BR3 ได้ดีกว่า APRIL

BLyS สร้างจากโครโมโซมตำแหน่ง 13q34 ในมนุษย์ และ 8 ในหนู พบได้ในเซลล์หลายชนิด ได้แก่ neutrophils, dendritic cells, monocytes, macrophages โดยมีการกระตุ้นการสร้างผ่าน cytokines เช่น interferon-gamma (IFN- γ), IL-4 และ IL-10^{66 67}

APRIL

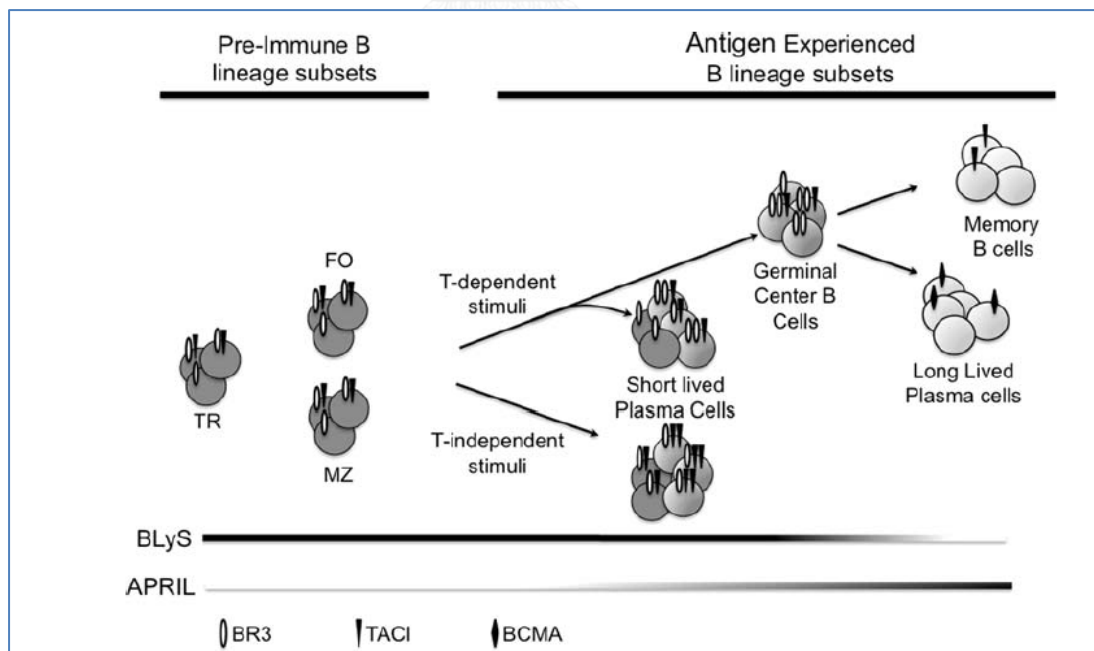
APRIL พบครั้งแรกในการทดลองสกัดเซลล์จาก B lymphoma ในหนู และ embryonic kidney cell ในคน สามารถกระตุ้น fibroblast⁶⁸ ยีนของ APRIL อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 11 ในหนู และในคนจะอยู่บนตำแหน่ง 17p13.3⁶⁹ มีความแตกต่างจาก TNF ligands อื่นๆ ได้แก่ 1) มีส่วนของ exon ที่พร้อมจะถูกตัดด้วยเอนไซม์ furin แล้วทำให้ exon ส่วนนั้นสามารถสร้างเป็น soluble form 2) มีส่วนของ exon มากกว่าหนึ่งตำแหน่ง 3) มีตำแหน่งยีนใกล้เคียงกับ TNF ligands ที่ชื่อว่า TNF Weak Inducer of Apoptosis (TWEAK) โดยทั้งสองยีนนี้สามารถรวมตัวกันสร้างโปรตีนที่เรียกว่า

TWE-PRIL ที่สามารถจับกับ receptor ได้เหมือน APRIL แต่คุณสมบัติที่เป็น soluble form จะคล้ายกับ TWEAK^{70, 71}

APRIL ประกอบด้วย 250 อะมิโนแอซิด มีลักษณะทางโครงสร้างคล้ายกับโปรตีนใน TNF family เพียง 20–30% แต่คล้ายกับ BlyS ถึง 50%^{72, 73} APRIL สามารถจับได้กับ receptors 2 ตัว ได้แก่ B Cell Maturation antigen (BCMA) และ Transmembrane Activator and Calcium signaling and cyclophilin ligand (CAML) Interactor (TACI) ไม่สามารถจับกับ BlyS receptor 3 (BR3) ได้ นอกจากนี้ การที่ APRIL มีเบสปลายสายเป็นไนโตรเจน (N-terminal) ทำให้สามารถเกิดปฏิกิริยากับ surface proteoglycans แต่ยังไม่ทราบหน้าที่แน่ชัด^{74, 75, 76} หน้าที่ของ APRIL ที่ได้รับการพิสูจน์แล้ว คือ เป็นส่วนหนึ่งของการเกิด B cell activation และ isotype switching และทำปฏิกิริยากับ plasma cell ในเซลล์ไคระตุกผ่าน BCMA ดังนั้น APRIL อาจเป็นส่วนหนึ่งที่ทำให้เซลล์ไคระตุกมีอายุยืนยาวขึ้น นอกจากนี้ APRIL ก็อาจจะทำให้เซลล์มะเร็งมีการคงอยู่ได้ ได้แก่ B cell lymphoma, Hodgkin lymphoma^{77, 78}

การแสดงออกของ BlyS และ APRIL บน B cell แตกต่างกันไปตามระยะต่างๆ ของ B cell ดังรูปที่ 2.8⁶⁰

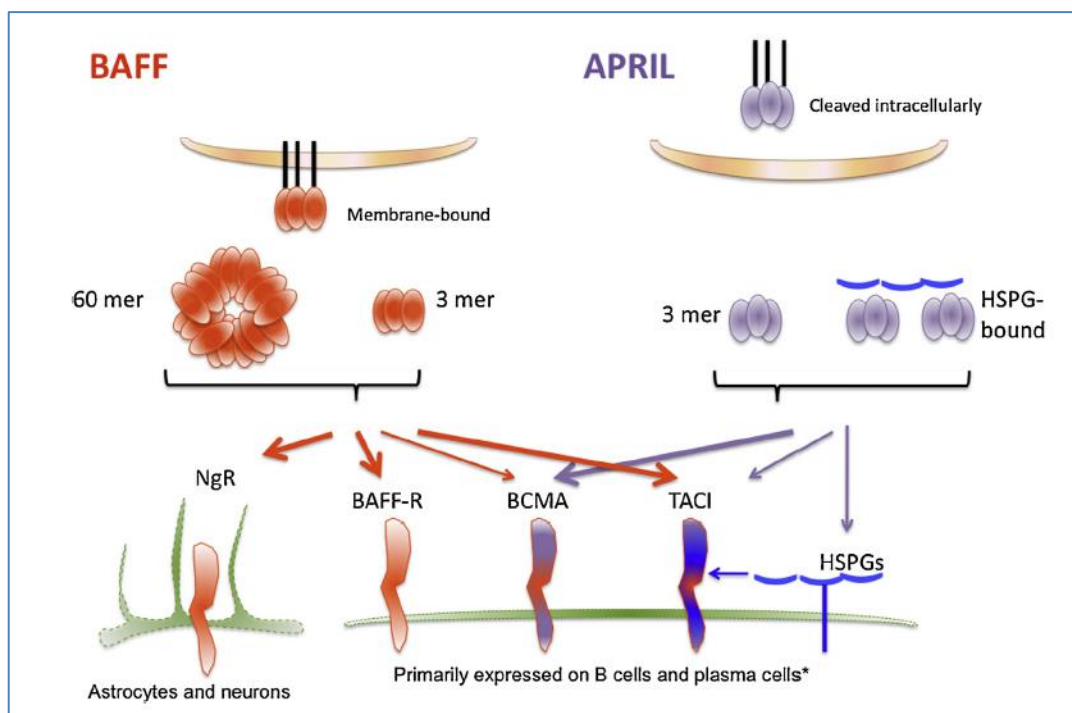
รูปที่ 2.8 การแสดงออกของ BlyS family บน B cell lineage



BLyS family receptors

Receptor ของ BLyS และ APRIL มี 3 receptors ได้แก่ BCMA⁷⁹ TACI⁸⁰ และ BR3 โดยทั่วไป receptors ในกลุ่มนี้ จะแตกต่างกับ TNF family receptor อื่นเพราะมีโครงสร้างของ ligand-binding CDDs น้อยกว่า ทำให้ขาดความจำเพาะต่อ ligand (ligand-binding specificity) โดยปกติ receptor จะอยู่บนผิวเซลล์ในรูป monomer หลังจากมีการจับกับ BLyS ligand จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูป trimerization ของ receptor ส่งสัญญาณผ่าน TRAF receptor ของ BLyS และ APRIL แสดงดังรูปที่ 2.9 คุณสมบัติของ receptor แต่ละตัวจะกล่าวแยกรายละเอียดต่อไป

รูปที่ 2.9 Receptor ของโปรตีน BLyS และ APRIL



B Cell Maturation Antigen (BCMA)

BCMA เป็น transmembrane protein type3 พบครั้งแรกใน T cell lymphoma⁸¹ มีขนาด 20 กิโลดาลตัน อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 16 ในหนู และตำแหน่ง 16p13.1 ในคน โปรตีน BLYS และ APRIL สามารถจับกับ receptor นี้ได้ แต่จะจับกับ APRIL ได้แน่นกว่า

ในกลุ่มของ TNF receptors ในด้านโครงสร้าง BCMA จะแตกต่างจาก receptor อื่น มี single CRD motif คล้ายกับ BR3 สามารถกระตุ้นผ่าน TRAF1, 2, 3 และ NF- κ B ได้⁷⁹ ส่วนบทบาท BCMA ยังไม่แน่ชัด ต้องรอการศึกษาต่อไป

Transmembrane Activator and Calcium signaling modulating and cyclophilin ligand (CAML) Interactor (TACI)

TACI เป็น transmembrane protein type3 เริ่มค้นพบครั้งแรกจากการศึกษา CAML⁸² ประกอบด้วย 293 กรดอะมิโน อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 11 ในหนู และตำแหน่ง 17p11.2 ในคน TACI มีส่วนของ CRDs 2 ตำแหน่ง และมีส่วน intracytoplasmic domain ที่สามารถจับกับ TRAF2, 5 และ 6 มีการกระตุ้นผ่าน CAM-independent pathway (NFAT, AP-1 และ NF- κ B) ทำให้ BLYS และ APRIL สามารถจับกับ TACI ได้ดีพอๆกัน⁸³ ส่วนบทบาทหน้าที่ของ TACI นั้นยังไม่ชัดเจน มีทั้งบทบาทที่สนับสนุนและยับยั้งการทำงานของ B cell เช่น หนูที่ไม่มียีน TACI พบว่า เกิด B cell hyperplasia เกิดอาการของโรคออโตอิมมูน ได้แก่ anti-dsDNA autoantibodies, proteinuria และ glomerulonephritis⁸⁴ และผลจากการที่ APRIL กระตุ้น TACI ทำให้ B cell มีชีวิตยืนยาวขึ้น⁸⁵

BLYS Receptor 3 (BR3)

BR3 หรือ BAFFr เป็น receptor ที่ค้นพบตัวสุดท้าย จากการที่พบว่ามีกระตุ้นการพัฒนา B cell ผ่าน receptor ที่ไม่ใช่ทั้ง BCMA และ TACI สามารถพบได้ใน B cell ต้นกำเนิด และ mature B cell⁸⁶⁻⁸⁸ โครงสร้างของ BR3 ประกอบด้วย ส่วนของ CRD นอกเซลล์ 1 ตำแหน่ง ร่วมกับส่วนที่จับกับ TRAF3 ในเซลล์ ในการศึกษาในหนูพบว่า การจับกันของ BLYS และ BR3 ผ่านการกระตุ้นผ่าน nonclassical NF- κ B pathway และมีการ upregulation ของ Bcl-2 family members ทำให้ B cell มี survival ซึ่งแตกต่างจากการทำงานผ่าน TACI ที่ Bcl-2 family จะยับยั้ง apoptosis ที่ระดับเซลล์เหนือกว่าระดับของไมโทคอนเดรีย^{89, 90}

หน้าที่ของ BLyS family และ preimmune B cell

การพัฒนาของ primary B cell

B cell สร้างมาจากเซลล์ต้นกำเนิด (stem cell) ในตัวตั้งแต่อยู่ในครรภ์ ในม้ามตั้งแต่วัยเด็ก และในไขกระดูกเมื่อเจริญเติบโตเป็นผู้ใหญ่ ระหว่างที่ B cell อยู่ในไขกระดูกจะมีการพัฒนาและสร้าง immunoglobulin ทั้ง light chain และ heavy chain เรียกระยะนี้ว่า BM pro และ pre B cell ต่อมา immunoglobulin มั่งสองสายนี้จะรวมตัวกับ Ig α และ Ig β เป็น B cell receptor (BCR) ที่มีการแสดงออกที่ผิวเซลล์ เรียกระยะนี้ว่า immature (IMM) BM subset จากนั้น B cell จะออกจากไขกระดูกไปยังม้าม เรียกระยะนี้ว่า transitional (TR) development เมื่อถึงระยะนี้ B cell จะพัฒนาอย่างเต็มที่ และทำหน้าที่ได้อย่างสมบูรณ์ แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ follicular (FO) และ marginal zone (MZ)^{91, 92}

ในระหว่างการพัฒนา B cell จะมีขั้นตอนการเลือก (selection) B cell เพื่อที่จะมาทำหน้าที่ในระบบภูมิคุ้มกัน ขึ้นอยู่กับความจำเพาะของ BCR ในระยะ IMM และ TR ในขั้นตอน positive และ negative selection นั้น มีเพียง IMM B cell ร้อยละ 10 ที่จะพัฒนาต่อและออกมาจากไขกระดูกได้ ส่วนน้อยที่เหลือจะเจริญต่อไปเป็น preimmune B cell pool^{93, 94}

การกำจัด B cell ที่รู้จักแอนติเจนของร่างกาย (negative selection) B cell ที่จับกับ BCR แนนมากจะถูกกำจัดออก เกิดในระยะทั้ง IMM และ TR ส่วน positive selection จะเลือก B cell ที่มีความสามารถจับกับแอนติเจนภายนอกในร่างกาย จะเกิดในช่วง TR ขึ้นไป พบว่า การที่ primary B cell จะอยู่รอดได้นั้น จำเป็นจะต้องมีการกระตุ้น BCR อยู่เป็นระยะๆ ไม่เช่นนั้นเซลล์จะตาย^{95, 96}

การแสดงออกของ BLyS receptors และการพัฒนาของ primary B cell

มีการศึกษาที่พิสูจน์แล้วว่า B cell จะพัฒนาไปเป็น TR, FO และ MZ B cell นั้น ต้องใช้สัญญาณของ BLyS ผ่าน BR3 เริ่มแรกในไขกระดูก immature B cell จะมี TACI และ BR3 ปริมาณสูงและเพิ่มขึ้นในช่วง TR และจะมีปริมาณสูงที่สุดในช่วง preimmune ส่วนระยะ FO และ MZ ก็พบว่า มีระดับของ TACI และ BR3 สูงเช่นเดียวกัน และมีความไวต่อระดับ BLyS มาก ดังนั้น สัญญาณของ BLyS และ BR3 จึงมีความสำคัญต่อการมีชีวิตรอดของ preimmune B cell ที่จะพัฒนาจากระยะ TR^{97, 98}

BLYS และ BR3 signal

BLYS และ BR3 มีวิธีการต่างกันในกระบวนการอยู่รอดของ B cell กล่าวคือ BCR จะจับกับ Src และ tyrosine kinase กระตุ้น receptor ที่อยู่ในรูป oligomerization เกิดสัญญาณเหนี่ยวนำให้มีภาวะไวต่อการกระตุ้นแคลเซียม มีการสร้าง MALT/Bcl-10/CARMA complex มีการกระตุ้นผ่าน classical NF- κ B⁹⁹ ขณะที่ BR3 อาศัยความร่วมมือของ TRAF3 และ NF- κ B inducing kinase (NIK) กระตุ้นผ่าน nonclassical NF- κ B เกิดเป็น p52 จากการย่อยสลาย p100 ซึ่งเป็น substrate ให้ BR3 ส่งผลให้เกิด B cell survival¹⁰⁰

นอกจากการกระตุ้นผ่านทั้ง classical NF- κ B และ nonclassical NF- κ B pathway แล้ว BLYS ยังควบคุมการอยู่รอดของ B cell ผ่าน BR3 signal โดยใช้วิธีอื่น เช่น mTOR (mammalian target of rapamycin) ทำให้เกิดการเพิ่มของโปรตีน anti-apoptotic protein ชื่อ myeloid cell leukemia1 ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการตายของเซลล์¹⁰¹

ดังนั้น สามารถสรุปได้ว่า BCR และ BLYS ต่างทำงานร่วมมือกัน ตัวอย่างเช่น B cell ที่ขาด BR3 จะไม่พัฒนาไปเป็น mature B cell แม้ว่าจะมีการแสดงออกของ BCR ในทางกลับกัน B cell ที่ขาดการแสดงออกของ BCR โดยที่มีสัญญาณจาก BR3 B cell เหล่านั้นก็ไม่สามารถพัฒนาไปเป็น mature B cell ได้

หน้าที่ของ experienced B cell กับ BLYS

Antigen-experienced B cell แบ่งย่อยๆ ได้แก่ antibody-forming cells (AFCs), memory B cells, short and long-lived plasma expanding cell (SLPC, LLPC), germinal center (GC) และ peritoneal B cell

การตอบสนองของ B cell ที่เกิดหลังจากขั้นตอนของ pre-immune B cell แบ่งเป็นสองกลุ่ม คือ T-dependent response (TD) และ T-independent response (TI) TD response จะอาศัยการกระตุ้นภูมิคุ้มกันผ่าน T cell เป็นหลัก พบใน follicular B cell (FO) หลังจากจับกับแอนติเจนแล้ว จะย่อยเป็นโปรตีนสายสั้น เป็นตัวนำเสนอ T cell ผ่านทาง MHC class II หลังจากนั้น จะเกิดการ class switching recombination (CSR) และ somatic hypermutation (SHM) ได้ เป็นแอนติบอดีใน germinal center ที่มีความจำเพาะสูง ได้แก่ LLPCs อยู่ในไขกระดูก และ memory B cells ที่ไม่ทราบที่อยู่แน่ชัด ส่วน TI response ไม่เกิดใน GC มีความจำเพาะต่ำกว่า ไม่สามารถพัฒนาเป็น LLPC ได้ โดย TI จะแบ่งเป็น TI-1 และ TI-2 โดยทั้งสองแอนติเจนนี้จะพบใน MZ และ B1 cell สามารถจับกับ BCR ได้ดีเหมือนกัน โดย TI-1 จะกระตุ้นผ่าน Toll like receptors (TLRs) โดยใช้ TI-1 ส่วน TI-2 ประกอบด้วย epitope ที่สามารถกระตุ้น BCR ได้

เมื่อมีการตอบสนองของการสัมผัสแอนติเจนของ TD และ TI จะมีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว เกิดเป็น short-lived plasma cells (SLPCs) เป็นเซลล์ที่สร้างแอนติบอดีที่เป็น IgM เป็นหลัก IgG เป็นส่วนน้อย หลังจากขั้นตอนนี้ TI จะค่อยๆ สลายตัว ภายใน 8-14 วัน ส่วน TD response ยังดำเนินต่อ ทำให้เกิดการสร้างแอนติบอดีจากเซลล์สองกลุ่ม แตกต่างกันตามการแบ่งตัวเร็วหรือช้า ทำให้ภายใน GC มีลักษณะพยาธิสภาพเป็น dark zone และ light zone

BLyS receptors กับ TI activation

หลังจากที่ B cell สัมผัสกับแอนติเจน TI-1 หรือ TI-2 B cell จะเกิด upregulation ของ TACI⁸⁴ มากกว่านั้น TACI expression จะเพิ่มปริมาณ AFCs ตามหลัง TI-2 response¹⁰² บทบาทของการกระตุ้นการพัฒนา B cell ที่มีอายุสั้นผ่านทาง TACI นั้น ยังไม่ทราบรายละเอียดที่ชัดเจน เชื่อว่า TACI จะทำงานได้นั้น ต้องจับกับ multimeric ligands เช่น oligomerized BLyS หรือ surface bound APRIL¹⁰³ ปกติ SLPCs ไม่ว่าจะมาจาก TI หรือ TD response ต่างก็แสดงออก TACI ปริมาณสูงเช่นเดียวกัน ดังนั้นความแตกต่างของ receptor ในแต่ละเซลล์ อาจจะทำให้มีผลต่อการอยู่รอด

การกระตุ้น TACI จะส่งผลผ่าน classical NF- κ B โดยกลไก post mitochondrial anti-apoptotic mechanism, stress response protein เช่น XIAP¹⁰⁴ ทำให้การตรวจสอบ cell cycle checkpoint ผิดพลาด ทำให้เกิด B cell แบ่งตัวและสร้างแอนติบอดีต่อไป แตกต่างจาก BR3 ที่อาศัยกลไก pre-mitochondrial survival การแสดงออกและหน้าที่ของ BLyS family ของ antigen experienced B cell

BLyS signal และ germinal center reaction

กลไก negative และ positive selection อาศัยความจำเพาะของ BCR ใน GC เหมือนขั้นตอนการพัฒนา primary B cell มีหลักฐานเชื่อว่า BLyS family น่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการนี้ได้แก่ BR3 upregulation จาก BCR engagement ร่วมกับ CD40 ligation¹⁰⁵ Qian และคณะแสดงให้เห็นว่า Act1 ที่ทำหน้าที่ยับยั้ง BR3 และ CD40 (negative selection) ส่งผลให้ B cell ใน GC ทำงานลดลงไปได้¹⁰⁶ ส่วน TACI ก็พบว่ามีความเพิ่มขึ้นเมื่อมีการกระตุ้นจาก TD และพบได้น้อยใน TI response

ดังนั้น BLyS และ BR3 ต้องอาศัย TD response เป็นหลัก แต่มีการศึกษาในหนู A/WySnJ ที่ขาด BR3 พบว่ามีการพัฒนา GC ที่มีประสิทธิภาพลดลง¹⁰⁷ เช่นเดียวกับการศึกษาของกลุ่มห้องปฏิบัติการ Manser พบว่า BR3 ไม่ใช่สิ่งสำคัญในการเกิด GC แต่มีบทบาทในการดำเนิน GC reaction โดยการศึกษาที่ใช้ BCMA-Fc เป็นแอนติบอดีที่ไปยับยั้งการทำงานของ BLyS และ APRIL

พบว่าได้ผลเหมือนกับการขาด BR3^{108 109} นอกจากนี้ คณะ FDC network พบว่า GC จะไม่พัฒนา หาก BlyS และ APRIL ถูกยับยั้ง¹¹⁰ ซึ่งทำให้อธิบายเหตุของ B cell ที่ลดน้อยลงใน GC ได้

BlyS signal ใน LLPC และ memory cell

มีหลักฐานที่แสดงว่า BlyS receptors มีความจำเป็นต่อ LLPC และ memory cell กล่าวคือ BCMA มีส่วนช่วยในการคงอยู่ของ LLPC¹¹¹ และการขาด BlyS หรือ APRIL ตัวใดตัวหนึ่งพบว่าทำให้ LLPC มีอายุสั้นลง¹¹² APRIL ถูกสร้างในปริมาณมากที่ osteoclasts ทำให้ LLPC อาศัยเป็นปัจจัยการยึดอายุ รวมทั้ง APRIL ยังสามารถจับกับ proteoglycans ที่สร้างมาจากเซลล์อยู่ในไขกระดูกได้ด้วย⁷⁶ กลไกของ BCMA signal ใน LLPC ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่พบว่า B cell และ plasma cell มีการกระตุ้นผ่าน NF-κB ดังที่กล่าวมาแล้ว และมีการสร้างโปรตีนที่นำเสนอแอนติเจน และเพิ่มการสร้าง IL-2 ตรงกันข้ามกับ LLPC¹¹³

แม้ว่า plasma cell จะมีระดับของ TACI สูง แต่ไม่พบความสัมพันธ์กับ BlyS และ APRIL เลย¹¹² และพบว่าทำให้ anti-BlyS ไม่สามารถกำจัด memory B cell และ B1 ได้¹¹⁴

2.4 BlyS receptors และ cytokine ในการเกิดโรคในมนุษย์

จากบทบาทของ BlyS family ที่มีต่อ primary B cell และ antigen-experienced B cell ดังที่กล่าวมาแล้วนั้น พบว่า BlyS family นอกจากจะเกี่ยวข้องกับการปลูกถ่ายอวัยวะแล้ว ยังมีส่วนเกี่ยวข้องข้องกับโรคต่างๆ ได้แก่ โรคที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกัน โรคมะเร็ง โรคติดเชื้อ เป็นต้น

BlyS family กับโรคอโตอิมมูน

ในผู้ป่วย SLE Sjogren's syndrome และ rheumatoid arthritis มีการตรวจพบ BlyS และ APRIL ในระดับสูงในเลือด น้ำไขข้อ มากกว่าคนปกติ โดยในผู้ป่วยที่มีอาการข้ออักเสบในโรค SLE ก็ตรวจพบ BlyS ในระดับสูง สัมพันธ์ไปกับการอักเสบของเยื่อข้อ เช่นเดียวกับความอาการแสดงทางระบบประสาทในผู้ป่วย multiple sclerosis^{115 116 117}

จากการศึกษาของ Zhang พบว่า ผู้ป่วยที่เป็น SLE จะมีการเพิ่มขึ้นของ BlyS และ สัมพันธ์กับ anti-dsDNA¹¹⁸ โดยสอดคล้องกับการศึกษาของ Stohl เปรียบเทียบระดับ BlyS ในเลือดของผู้ป่วย SLE กับคนปกติ พบว่า ในคนปกติจะมีระดับ BlyS คงที่อยู่ตลอด ส่วนผู้ป่วย SLE จะมีระดับ BlyS สูงถึงร้อยละ 50 เมื่อเทียบกับผู้ป่วยกลุ่มเดียวกัน โดยที่จะมีสัดส่วนของผู้ป่วยที่มีระดับ BlyS สูงค่า ร้อยละ 25 และร้อยละ 25 เป็นผู้ป่วยที่มีระดับ BlyS สูงเป็นพักๆ ตามขนาดของสเต็มเซลล์ระดับสูง¹¹⁹

Treamtrakanpon และคณะ ได้ทำการศึกษา BLYS ในผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังก่อนทำการรักษาเปรียบเทียบกับหลังการรักษาที่ 6 เดือน พบว่า APRIL มีความสัมพันธ์กับระดับโปรตีนในปัสสาวะ ระดับความรุนแรงของลักษณะพยาธิวิทยาของไต ในขณะที่ BLYS สัมพันธ์กับระดับคอมพลีเมนต์ และปริมาณยากดภูมิที่ใช้ในการรักษา¹²⁰

ดังนั้นการรักษาผู้ป่วยโรคออโตอิมมูนแนวใหม่ จึงมุ่งเน้นการปรับหรือลดการกระตุ้น B cell pathway เป็นหลัก ได้แก่ belimumab เป็นแอนติบอดีต่อ BLYS ได้ผลดีในผู้ป่วย SLE แต่ยังคงต้องการศึกษาในผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังต่อไป^{121, 122}

BLYS family กับโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง

จากการศึกษาในผู้ป่วยโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องชนิด common variable immunodeficiency disease (CVID) พบว่า ผู้ป่วยเหล่านี้ มียีนผิดปกติ ทำให้สายกรดอะมิโนที่แสดงออกเป็น BAFF receptors ผิดปกติไป เกิด B cell deficiency¹²³ รวมทั้งผู้ป่วยที่ขาด TAC1 ทำให้ไม่สามารถตอบสนองต่อ BLYS และ APRIL และ IgA deficiency¹²⁴

BLYS family กับ B cell malignancies

การเพิ่มขึ้นของ BLYS, APRIL และ receptors เป็นกลไกหนึ่งของการพัฒนาเซลล์มะเร็ง ได้แก่ non-Hodgkin's lymphoma, chronic lymphocytic leukemia, Waldenstrom's macroglobulinemia โดยเซลล์มะเร็งที่เป็น B cell จะมีการแสดงออกของ BLYS family receptors ทำให้ BLYS หรือ APRIL มาจับ และเกิดการพัฒนาดำเนินเป็นเซลล์มะเร็งที่มากขึ้น^{125 126, 127}

ในมะเร็งบางชนิด ได้แก่ Burkitt lymphoma, Hodgkin lymphoma และ post-transplant lymphoma มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ Epstein-barr virus ทำให้ B cell เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์มะเร็งได้¹²⁸ เป็นที่น่าสนใจว่า Sjogren's disease ที่มีระดับ BLYS สูงนั้น ก็มีความสัมพันธ์กับการเกิด lymphoma ด้วย¹²⁹ ดังนั้น B cell และ BLYS family ยังมีส่วนสำคัญให้เกิดทั้งโรคออโตอิมมูนและเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งด้วย

นอกจากมะเร็งที่เกี่ยวข้องกับ B cell แล้ว BLYS family ยังมีความสัมพันธ์กับมะเร็งชนิดอื่นๆ ได้แก่ มะเร็งตับ (hepatocellular carcinoma)¹³⁰ มะเร็งเซลล์ไต (renal cell carcinoma)¹³¹

BLYS family กับโรคติดเชื้อ

มีการศึกษาในเรื่องความสัมพันธ์ของ BLYS family ในแง่ภูมิคุ้มกันของโรคติดเชื้อ ทั้งเชื้อไวรัสแบคทีเรีย และการติดเชื้อปรสิต โดยการศึกษาในเชื้อไวรัสได้แก่ ไวรัสตับอักเสบบี¹³² ไวรัสเอชไอวี¹³³ ไวรัสไข้หวัดสายพันธุ์ H₁N₁¹³⁴ นั้น มีการกระตุ้นให้ BLYS มีการแสดงออกมากขึ้น ในขณะที่

coronavirus-induced encephalomyelitis เกิดจากการกระตุ้น การแสดงออกของ APRIL เชื่อว่าเพิ่มการทำงานของ BlyS family เกิดจากติดเชื้อไวรัสแล้วกระตุ้นผ่าน monocyte โดยอาศัย Interferon (IFN) โดยพบหลักฐานในการรักษาเอชไอวี ที่ใช้ IFN- α ร่วมกับการใช้ยาต้านไวรัส พบว่าได้ผลดีกว่าการใช้ยาต้านไวรัสอย่างเดียว เนื่องมาจาก IFN- α จะมีส่วนช่วยในการกระตุ้นการสร้าง anti-HIV antibody¹³⁵

ดังที่กล่าวไปแล้ว ในผู้ป่วยที่มี mutation ของ TACI หรือ BAFF-R เกิดเป็นโรค CVID ผู้ป่วยมักจะมีอาการติดเชื้อทางเดินหายใจส่วนบนบ่อยๆ¹³⁶ ส่วนการติดเชื้อแบคทีเรียอื่น ที่มีความสัมพันธ์กับ BlyS family ได้แก่ การติดเชื้อวัณโรค ซึ่งกลไกผ่านทาง การเพิ่มขึ้นของ IFN กระตุ้นการทำงานของ BlyS และ APRIL¹³⁷ เช่นเดียวกับการติดเชื้อไวรัส

BlyS family กับโรคไตวายเรื้อรัง

เป็นที่ทราบกันดีว่า ผู้ป่วยไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย (end-stage renal disease: ESRD) จะมีการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันที่ผิดปกติ เนื่องมาจากมีของเสียคั่งในร่างกาย หรือเรียกว่ามีภาวะยูรีเมีย ผู้ป่วยกลุ่มนี้จะมีการทำงานของเซลล์ที่ใช้น้ำเสนอแอนติเจน ได้แก่ macrophage และ monocyte การทำงานของระบบ T cell โดยเฉพาะการสร้างแอนติบอดีโดย B cell^{138, 139}

การศึกษาของ B cell ในผู้ป่วย ESRD นั้น เดิมมีการศึกษาว่า ผู้ป่วย ESRD จะมีปริมาณ B-cell lymphopenia ทำให้ผู้ป่วยกลุ่มนี้มี humoral immunity ที่ต่ำกว่าคนปกติ แต่สาเหตุนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด มีการศึกษาของ Pahl และคณะ¹⁴⁰ ศึกษา B-cell subpopulations และ IL-7, BlyS และ BAFF receptor ในผู้ป่วยไตวายที่ได้รับการฟอกเลือด 21 คน เปรียบเทียบคนปกติ 21 คน พบว่า B-cell subpopulations ได้แก่ Total B cells (CD19+), memory B cells (CD19+/CD27+), naive B cells (CD19+/CD27-), innate B1 cells (CD19+/CD5+) และ conventional B2 cells (CD19+/CD5-) มีปริมาณน้อยกว่าผู้ป่วยปกติ ยกเว้น transitional B cells (CD19+/CD10+) เมื่อทำการวิเคราะห์เรื่อง B cell apoptosis ก็ไม่มีความแตกต่างกันทั้ง 2 กลุ่ม ส่วนการวัดค่า BlyS และ IL-7 พบว่า ผู้ป่วย ESRD มีค่าสูงกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะเมื่อวัด BAFF receptor และ IL-7 กลับลดลงในผู้ป่วย ESRD การศึกษานี้จึงเชื่อว่าภาวะยูรีเมียทำให้ลดการทำงานของ BlyS และ IL-7 เกิดการรบกวนขั้นตอนการพัฒนา transitional B cell ไปเป็น mature B cell

2.5 BLYS family receptors และ cytokine กับ kidney transplantation ในระยะต่างๆ

B cell มีความสำคัญในการปลูกถ่ายไต โดย BLYS family ก็จะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเจริญ และพัฒนาไปเป็นพลาสมาเซลล์ และเกิดเป็น DSA ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญต่อการเกิด antibody mediated rejection ส่งผลให้อวัยวะที่ได้รับการปลูกถ่ายมีการทำงานของแย่งลง

การศึกษาในหนูที่ปลูกถ่ายหัวใจ พบว่ากลุ่มหนูที่มี BLYS -deficient recipients เกิดการปฏิเสธเนื้อเยื่อช้ากว่ากลุ่มที่มี BLYS หรือ BAFF-R ในขณะที่ TACI และ BCMA มีผลน้อยกว่า โดยที่ทั้งสองกลุ่มได้รับยา cyclosporine เหมือนกัน และก่อนการเปลี่ยนหัวใจมี BLYS ในระดับต่ำ เช่นเดียวกัน¹⁴¹ จึงเป็นที่มาให้เกิดการศึกษาในการปลูกถ่ายอวัยวะอื่น เช่นการศึกษาของ Parsons และคณะ¹⁴² ทดลองให้แอนติบอดีต่อ BLYS (neutralizing anti- BLYS monoclonal antibody) ร่วมกับการให้ยา rapamycin ในหนูเบาหวานที่ได้รับการปลูกถ่ายตับอ่อน พบว่ามีค่าที่แสดงออกถึงภาวะ tolerance ดีขึ้น แต่การทำงานของ islet cell ยังไม่สามารถสรุปผลได้เนื่องจากต้องอาศัยปัจจัยอื่นอีก

ดังนั้น BLYS family จึงมีความสำคัญในการปลูกถ่ายอวัยวะ จึงเริ่มมีการศึกษาของ BLYS family กับการปลูกถ่ายไตทั้งในสัตว์ทดลองและมนุษย์ สามารถสรุปได้ตามระยะเวลาของการปลูกถ่ายไต ดังนี้

1. ระยะก่อนการปลูกถ่ายไต

1.1 การศึกษาของ Banham และคณะ¹⁴³

Banham และคณะ ทำการศึกษาแบบไปข้างหน้าตั้งแต่ปี พ.ศ.2542-2551 โดยแบ่งผู้ป่วยเป็นสองกลุ่ม กลุ่มแรกเป็นผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดแอนติบอดีสูง มี donor-specific HLA class I หรือ II antibodies (antibody-incompatible transplantation: Ai) 32 คน มีผู้ป่วย 1 คนที่เป็นการปลูกถ่ายไตข้ามกลุ่มเลือด (ABO-incompatible transplantation) และมีเพียง 1 คนที่ได้รับไตจากผู้ป่วยสมองตาย ผู้ป่วยทุกคนในกลุ่มนี้จะได้รับการทำหัตถการเพื่อลดแอนติบอดี (antibody reduction protocol) ได้แก่ การทำ double-filtration plasmapheresis (DFPP) 3-6 ครั้ง ส่วนกลุ่มที่สองเป็นผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดแอนติบอดี (antibody-compatible transplantation; Ac) 319 คน ผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มจะได้รับการตรวจ BAFF ในเลือด ด้วยวิธี ELISA ก่อนทำการผ่าตัดและก่อนทำ DFPP

ผลของ BLYS ในกลุ่ม Ai มีค่าเฉลี่ย 229.3 ng/mL และกลุ่ม Ac มีค่าเฉลี่ย 17.35 ng/mL จากการวิเคราะห์แบบ univariate analysis พบว่าระดับ BLYS ที่

มากกว่า 100 ng/ml ในกลุ่ม Ai สัมพันธ์กับการเกิด antibody mediated rejection มากกว่ากลุ่ม Ac 1.4 เท่า ส่วนการเกิด acute cellular rejection, pre-transplant DSA และ การทำงานของไตในระยะ 12 และ 24 เดือน ไม่แตกต่างกัน แต่ในกลุ่ม Ac ไม่พบความสัมพันธ์ดังตัวแปรที่กล่าวมาข้างต้น

ดังนั้น pre-transplant BLYS ช่วยในการบอกความเสี่ยงที่จะเกิด ABMR ในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูงเท่านั้น และไม่สัมพันธ์กับการเกิด donor-specific antibodies (DSA) อีกทั้งยังไม่ช่วยทำนายการทำงานของไตที่ได้รับการปลูกถ่ายทั้งในระยะยาวและระยะสั้น อาจจะต้องอาศัยปัจจัยอื่นประกอบกัน หรือการตรวจ BLYS ในช่วงหลังการปลูกถ่ายไตไปแล้ว

1.2 การศึกษาของ Snanoudj และคณะ¹⁴⁴

Snanoudj และคณะ ทำการศึกษา ผู้ป่วย 101 คนที่มีแอนติบอดีต่อ HLA โดยวิธี single antigen bead, B cell subsets โดยวิธี flow cytometry และ BLYS ด้วยวิธี ELISA ในกลุ่มผู้ป่วยไตวายที่บำบัดทดแทนไต ในวันที่จะได้รับการผ่าตัดปลูกถ่ายไต พบว่าผู้ป่วยที่มีแอนติบอดีต่อ HLA ทั้ง class I และ II ค่า mean fluorescent intensity (MFI) มากกว่า 3,000 ค่าเฉลี่ยของระดับ BLYS เท่ากับ $1,412 \pm 1,083$ pg/mL โดย BLYS ไม่สัมพันธ์กับ B cell subsets ทั้งร้อยละและปริมาณ แต่ระดับ BLYS จะแตกต่างในผู้ที่มีแอนติบอดีต่อ HLA มีค่า ($1,651 \pm 1,297$ pg/mL) มากกว่ากลุ่มที่ไม่มีแอนติบอดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่ BAFF ที่ค่าสูงในผู้ที่มีแอนติบอดีต่อ HLA สูงเช่นเดียวกัน แต่ pretransplant BLYS ไม่มีความสัมพันธ์ต่อการเกิด DSA และ antibody mediated rejection หลังปลูกถ่ายไตในช่วง 1 ปีแรก

ทั้งการศึกษาของ Banham และ Snanoudj ยังไม่สามารถสรุปได้ว่า pretransplant BLYS จะสามารถทำนายความสัมพันธ์ของการเกิด antibody mediated rejection หรือ การเกิด DSA หลังการปลูกถ่ายไตได้ เชื่อว่า BLYS ส่งผลต่อ B cell โดยจะป้องกันหรือยับยั้ง B cell ในช่วง transitional form immature B cells ไปเป็น mature B cell ในไขกระดูก ดังนั้น บทบาทของ BLYS ในช่วงก่อนการเปลี่ยนไตนั้น ยังไม่สามารถสรุปผลทางคลินิกได้อย่างชัดเจน

2. ระยะเวลาหลังการปลูกถ่ายไตช่วงแรก

2.1 การศึกษาของ Xu และคณะ¹⁴⁵

Xu และคณะ ศึกษาาระบบของ BLyS เปรียบเทียบในคนปรกติ ผู้ป่วยไตวายที่ได้รับการฟอกเลือด และผู้ที่ปลูกถ่ายไตไปแล้วมากกว่า 5 ปี พบว่า การแสดงออกของ BLyS บน T lymphocyte และ monocyte ด้วยวิธี flow cytometry พบว่าผู้ที่ปลูกถ่ายไตจะมีการแสดงออกของ BLyS บนผิวเซลล์มากที่สุดในกลุ่ม และค่อยๆเพิ่มขึ้นหลังปีที่ 5 และเมื่อแบ่งผู้ป่วยตามค่าครีเอตินิน กลุ่มแรกน้อยกว่า 1.63 mg/dL กลุ่มที่สองมากกว่าเท่ากับ 1.63 mg/dL กลุ่มที่สองมีการแสดงออกของ BLyS บนผิวเซลล์มากกว่ากลุ่มที่มีครีเอตินินน้อยกว่า ดังนั้น พอจะอนุมานได้ว่า ค่าการทำงานของไตมีผลต่อการแสดงออกของ BLyS บนผิวเซลล์

ในการตรวจ BLyS ในเลือดด้วยวิธี ELISA นั้น พบว่าไม่แตกต่างกันในผู้ป่วยทั้งสามประเภท แต่ BLyS mRNA ที่ตรวจด้วยวิธี real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) มีความแตกต่างจาก BLyS ELISA กล่าวคือ BLyS mRNA จะมีค่าสูงในกลุ่มที่ปลูกถ่ายไต 1-4 ปี และมากกว่า 5 ปี แต่เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์แบบสหสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกของ BLyS บนผิวเซลล์ลิโฟไซท์กับการเกิด anti-HLA antibodies ทั้ง class I และ II พบว่ามีความสัมพันธ์กันทางสถิติ แต่อย่างไรก็ตาม ยังไม่สามารถแยกได้ว่ามีความสัมพันธ์เกิดในช่วงระยะเวลาใดหลังการปลูกถ่ายไต

2.2 การศึกษาของ Bloom และคณะ¹⁴⁶

Bloom และคณะ ทำการศึกษาในผู้ป่วยระยะหลังปลูกถ่ายไตเฉลี่ย 2-16 เดือน 40 คน เปรียบเทียบกับคนสุขภาพดี (กลุ่มควบคุม) 7 คน โดยทุกคนจะได้รับยา alemtuzumab ซึ่งเป็นแอนติบอดีต่อ CD52 มีฤทธิ์กดทั้ง B และ T cell โดยเริ่มต้น กลุ่มควบคุมจะมีค่า BLyS ที่ตรวจได้ในเลือดด้วยวิธี ELISA มีค่า 700-800 pg/mL ในขณะที่ระดับ BLyS ของผู้ป่วยก่อนการปลูกถ่ายไตและยังไม่ได้ alemtuzumab 1,245 pg/mL เมื่อติดตามเป็นเวลา 6 เดือน กลุ่มผู้ปลูกถ่ายไตแต่ไม่ได้ alemtuzumab มีค่า BLyS เฉลี่ย 801 pg/mL ส่วนผู้ปลูกถ่ายไตและได้รับ alemtuzumab มีค่า BLyS เฉลี่ย 2,228 pg/mL ดังนั้น พอจะสรุปได้ว่า ผู้ปลูกถ่ายไตและได้รับ alemtuzumab จะทำให้ค่า BLyS สูงขึ้น และเมื่อติดตามต่อเนื่อง 2 ปี ค่า BLyS ก็ไม่เปลี่ยนแปลงโดยไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ค่าเฉลี่ย 1,792 pg/mL, SD=1,342, p=0.35) แม้ว่าผู้ป่วยกลุ่มนี้จะได้รับยากดภูมิคุ้มกันแตกต่างกัน

ส่วนระดับ APRIL ที่วัดด้วยวิธี ELISA ไม่มีความแตกต่างกันแม้ว่าจะได้รับหรือไม่ได้รับ alemtuzumab

ในการศึกษานี้ มีการตรวจ BLYS mRNA โดยวิธี RT-PCR เพื่อดูระดับของ BLYS ที่อยู่บนผิวเซลล์โมโนไซค์ (protein-bound) พบว่าผู้ปลูกถ่ายไตและได้รับ alemtuzumab จะมี BLYS mRNA ค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม 2-7 เท่า มีความสัมพันธ์กับระดับ soluble BLYS ที่สูงขึ้นด้วย คิดเป็น ค่าสหสัมพันธ์ 0.74 ($r^2 = 0.74$) โดย BLYS mRNA จะลดลงเมื่อติดตามไป 2 ปี แต่ไม่มีความสัมพันธ์สัมพันธ์กับระดับ soluble BLYS ที่เวลาเดียวกัน ดังนั้น ผู้วิจัยจึงสรุปว่า alemtuzumab มีผลต่อ soluble BLYS เท่านั้น ไม่มีผลต่อ BLYS ที่อยู่บนผิวเซลล์

ส่วน การวัด receptor ของ BLYS ได้แก่ BCMA และ TACI โดยใช้จะอยู่บนผิวเซลล์เม็ดเลือดขาว (CD19+) พบว่า ที่ 2-4 เดือนหลังจากได้ยา alemtuzumab พบว่า มีปริมาณ BAFF-R และ TACI ลดลงน้อยกว่าคนปกติ แต่เมื่อติดตามไป 2 ปี มีปริมาณ BAFF-R และ TACI ลดลงน้อยกว่าคนปกติ แต่มีนัยสำคัญทางสถิติเฉพาะกลุ่มที่มีระดับ BLYS สูงกว่า 2,500 pg/mL เท่านั้น ส่วน receptor ที่เหลือของ BLYS คือ BAFF-R และ TACI ที่แสดงออกบนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด CD3+ พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับระดับ BLYS

ในการศึกษานี้ ได้ทำการทดลองด้วยวิธี mixed lymphocyte reactions (MLR) โดยดูปฏิกิริยาในหลอดทดลองของ peripheral blood mononuclear cell (PBMC) ใส่ recombinant human BLYS 5,000 pg/mL เพื่อดูความสามารถในการกด BLYS ของยากดภูมิ ปรากฏว่าระดับยา tacrolimus 10 ng/mL สามารถกดระดับของ BLYS ได้ ส่วนยา sirolimus ที่ 10 ng/mL ไม่สามารถกดระดับ BLYS ได้

ในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยา alemtuzumab 20 คน มีการหยุดยา calcineurin inhibitors (CNI withdrawal) พบว่า มีผู้ป่วยในกลุ่มนี้ 4 คน มีการปฏิเสธไตชนิดแอนติบอดี แต่ไม่สามารถสรุปได้ว่าเกิดจากการหยุดยาหรือไม่ แต่จากข้อมูลในหลอดทดลอง บอกได้เพียงแค่ว่า CNIs ไม่ได้เปลี่ยนแปลงระดับของ BLYS เมื่อให้ร่วมกับยา alemtuzumab แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าผู้ป่วยมีเกิดการปฏิเสธไต มีระดับ BLYS สูงกว่าคนปกติ

สรุปการศึกษานี้ ให้ข้อมูลว่าระดับ BLYS เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตที่ได้รับยา alemtuzumab โดยกลไกเชื่อว่ายาไปกด B cell ทำให้ระดับ BLYS ที่

เพิ่มขึ้น และไปทำให้ receptor ของ BlyS ลดลงตามไปด้วย แต่กลไกนี้สามารถอธิบายได้เฉพาะกลุ่มที่มี BlyS สูงมากเท่านั้น

2.2 การศึกษาของ Zarkhin และคณะ^{147, 148}

Zarkhin และคณะ ได้ศึกษาผลของการให้ยา rituximab เป็นแอนติบอดีต่อ CD20 B cell ในผู้ป่วยอายุ 2-23 ปี ที่เปลี่ยนไตแล้วเกิดการปฏิเสธไต โดยสุ่มแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มแรก ได้รับการรักษาตามมาตรฐาน ได้แก่ การให้สเตียรอยด์ขนาดสูง thymoglobulin ร่วมกับได้รับ rituximab (RIS) 10 คน กลุ่มที่สองคือกลุ่มควบคุมที่ได้รับการรักษาตามมาตรฐานแต่ไม่ได้รับ rituximab (CIS) 10 คน พบว่า การทำงานของไตดีขึ้นในกลุ่ม CIS เมื่อติดตามไป 12 เดือน ขึ้นเนื้อไตหลังการรักษาที่นำไปย้อม CD20+ ซึ่งเป็นตัวแทนของ B cell พบว่า มีปริมาณลดลงตั้งแต่ เดือนที่ 1 และเดือนที่ 6 และเมื่อติดตาม CD19+ ในเลือดของกลุ่ม RIS พบว่ามีปริมาณลดลงสูงสุดตั้งแต่เดือนแรกเมื่อเปรียบเทียบกับจุดที่เกิดการปฏิเสธไต และค่อยๆ เพิ่มขึ้น (repopulation) จนกลับมาเข้าใกล้จุดที่เกิดการปฏิเสธไตใน 12 เดือน ส่วนกลุ่ม CIS จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงเลย ส่วน CD3 ลดต่ำลงได้ในการให้ thymoglobulin จากการศึกษาพบว่าไม่แตกต่างกันทั้ง 2 กลุ่ม และจะกลับมาสู่ระดับที่ปรกติได้ในระยะเวลา 6 เดือน

การศึกษานี้ได้เพิ่มการเจาะ BlyS ในเลือดของผู้ป่วยกลุ่ม RIS พบว่า ระดับของ CD19 ที่มีขนาดสูงขณะที่เกิดการปฏิเสธไต และจะลดจำนวนลงเมื่อได้ยา rituximab ลดลงมากที่สุดที่ 3 เดือน และจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนกลับมาเข้าใกล้ระดับเดิมที่ 12 เดือน (repopulation) ในขณะที่ BlyS เพิ่มสูงขึ้นหลังจากได้ยา rituximab และจะเพิ่มสูงที่สุดที่ 3 เดือน และจะค่อยๆ ลดลง แปรผกผันกับกับระดับ CD19 เมื่อเจาะระดับยา rituximab เปรียบเทียบกับ BlyS ก็พบว่า ระดับยาที่ลดลงแปรผกผันกับระดับ BlyS ที่เพิ่มขึ้น และระยะเวลาของการตอบสนองของ BlyS กับ repopulation ของ CD19 ในผู้ป่วยเด็กที่อายุมากกว่า 12 ปี

ในการศึกษานี้สามารถบอกได้เพียงแค่ว่า การให้ rituximab จะทำให้ระดับ BlyS ในเลือดเพิ่มขึ้น อาจเกิดจากการที่ยาทำให้เกิดการทำลาย peripheral B cell แล้ว BlyS กลับเพิ่มจำนวนเพื่อสร้าง B cell หรือทำให้ B cell มีชีวิตต่อไปได้

2.3 การศึกษาของ Xu และคณะ¹⁴⁹

การศึกษาของ Xu และคณะ ทำการศึกษาลักษณะทางพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อไต ในผู้ป่วยหลังเปลี่ยนไตครั้งแรกตั้งแต่ปี พ.ศ. 2544-2550 และมีค่าการทำงานไตที่ปกติ โดยการเจาะชิ้นเนื้อไตเป็นการเจาะตามระยะเวลาที่กำหนด (protocol biopsy) รวม 22 ราย พบปฏิเสไตตามลักษณะทางพยาธิวิทยา 10 ราย interstitial fibrosis/tubular atrophy 3 ราย และอีก 9 ราย ไม่ทราบสาเหตุ โดยนำชิ้นเนื้อไตมาย้อม C4d ที่เป็นหนึ่งในเกณฑ์การวินิจฉัยของ antibody-mediated rejection ตาม Banff 1997 และ BLyS ด้วยวิธี immunoperoxidase พบว่าชิ้นเนื้อไตของผู้ป่วยที่มีการปฏิเสไตทุกคนจะย้อมติด BLyS ที่ตำแหน่งของ perinephric tubular epithelial cell cytoplasm และ cytomembrane เช่นเดียวกับ C4d ในขณะที่ ผู้ป่วยที่มีลักษณะพยาธิวิทยาปกติ ไม่ติด BLyS และ C4d เลย โดยค่าสหสัมพันธ์ (r) ระหว่าง BLyS และ C4d เท่ากับ 0.923 ($p < 0.001$)

ดังนั้น การศึกษานี้บอกได้เพียงแค่ BLyS มีความสัมพันธ์กับการย้อมติด C4d ในผู้ป่วยที่มีการปฏิเสไตทั้งระยะเฉียบพลันและเรื้อรัง จากหลักฐานของการศึกษานี้ เชื่อว่า BLyS น่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิด antibody-mediated rejection

2.4 การศึกษาของ Lehnhardt และคณะ¹⁵⁰

Lehnhardt และคณะ ทำการศึกษาเปรียบเทียบระบบ BLyS และ receptor ในผู้ป่วยเด็กที่ได้รับการปลูกถ่ายไต 43 คน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเป็นเด็กสุขภาพดี 22 คน ระดับ BLyS ในเลือดด้วยวิธี ELISA สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($1,375 \pm 418$ pg/mL เทียบกับ 894 ± 189 pg/mL) เมื่อศึกษาเกี่ยวกับเม็ดเลือดขาวด้วยวิธี flow cytometry พบว่า ผู้ป่วยที่ปลูกถ่ายไตมีเครื่องหมายของ Treg โดยใช้ CD4+, CD25+, FoxP3+ ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ส่วนเครื่องหมายของ B cell receptor (BR3) ที่อยู่ทั้งบน B cell และ T cell โดยใช้ CD19+ สำหรับ B cell CD3+ สำหรับ T cell พบว่ากลุ่มที่ปลูกถ่ายไตมีการแสดงออกของ CD19+ ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วน CD3 ใบบการแสดงออกทั้งกลุ่มปลูกถ่ายไตและกลุ่มสุขภาพดี สรุปได้ว่า ค่า BLyS ที่เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตไม่เกี่ยวข้องกับการแสดงออกของ B cell และ T cell

2.4 การศึกษาของ Comoli และคณะ¹⁵¹

Colmoli และคณะ ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง BLyS และ DSA ที่เกิดหลังทำการเปลี่ยนไต (de novo DSA) ในผู้ป่วยเด็กที่มีความเสี่ยงต่อการปฏิเสธไตต่ำ (low risk) 87 คน โดยติดตามระดับ BLyS ด้วยวิธี ELISA และ DSA ด้วยชุดตรวจ single antigen หลังการปลูกถ่ายไต 3, 6, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72 เดือน พบว่า ค่า BLyS ที่ 3 เดือน เฉลี่ย 380 ± 285 pg/mL โดยที่จะเพิ่มปริมาณสูงที่สุดที่ 12 เดือนหลังการปลูกถ่ายไต (616 ± 382 pg/mL) โดยหลังจาก 12 เดือนแล้วจะไม่มี การเปลี่ยนแปลงมากนัก และเมื่อแยกกลุ่มที่มี DSA กลุ่มที่ไม่มี DSA และกลุ่มที่ไม่มี anti-HLA antibody พบว่าค่า BLyS ในเลือดไม่มีความแตกต่างกัน ณ จุดเวลาเดียวกัน

แต่เมื่อมาวิเคราะห์การเกิด anti-HLA antibody (ทั้ง DSA และ non-DSA) กับกลุ่มที่ไม่เกิด anti-HLA antibody ที่มีค่าการทำงานไตดี (ค่าการทำงานของไตด้วยวิธี Schwartz มากกว่า 50 mL/min) พบว่า กลุ่มแรกจะมีค่า BLyS สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เป็นที่น่าสังเกตว่ากลุ่มที่เกิด anti-HLA antibody จะมีค่า BLyS ค่อยๆ สูงขึ้นหลัง 6-12 เดือนและจะคงที่อยู่ที่ระดับสูงต่อไป แต่กลุ่มที่ไม่เกิด anti-HLA antibody ค่า BLyS จะสูงขึ้นในช่วง 6 เดือนแรกเท่านั้นและจะลดลง เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงของค่า BLyS กับการทำนายการเกิด de novo DSA และ การเกิดการปฏิเสธไตชนิดแอนติบอดี พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน

3. ระยะหลังการปลูกถ่ายไตมากกว่า 5 ปี

3.1 การศึกษาของ Xu และคณะ¹⁵²

Xu และคณะ ศึกษาในผู้ป่วยสามกลุ่ม กลุ่มแรกเป็นผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไตมากกว่า 5 ปี 69 คน กลุ่มที่สองเป็นผู้ป่วยไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายที่ฟอกเลือด 17 คน กลุ่มที่สามเป็นคนปกติสุขภาพดี 13 คน ทำการวัดระบบของ BLYS เมื่อวัดการแสดงออกของ BLYS บนผิว T cell lymphocyte (CD3) ด้วยวิธี flow cytometry พบว่า กลุ่มที่ฟอกเลือด และผู้ที่เปลี่ยนไต 1-4 ปี มีการแสดงออกของ BLYS บนผิว T cell ไม่แตกต่างจากคนปกติ แต่จะเพิ่มขึ้นจนเห็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปลี่ยนไตไปแล้ว 5 ปี และเมื่อแบ่งโดยใช้ค่าครีเอตินินที่ 1.6 mg/dL จัดว่าเป็นค่าปกติของการศึกษานี้ แบ่งผู้ป่วยออกเป็นค่าครีเอตินินน้อยกว่า 1.6 mg/dL และกลุ่มที่ค่าครีเอตินินมากกว่า 1.6 mg/dL BLYS ในเลือดที่วัดด้วยวิธี flow cytometry พบผู้ป่วยที่มีค่าครีเอตินินมากกว่า 1.6 mg/dL จะมีการแสดงออกของ BLYS บนผิว T cell มากกว่ากลุ่มที่มีค่าครีเอตินินน้อยกว่า 1.6 mg/dL ดังนั้น การแสดงออกของ BLYS บนผิว T cell อาจจะมีผลจากการทำงานของไตที่ถดถอยลงได้

ส่วนปริมาณ BLYS ที่อยู่ในเม็ดเลือดขาวที่วัดโดยการสกัด mRNA ของโมโนไซค์ วัดโดยวิธี RT-PCR ได้ผลออกมาคล้ายกับการวัด flow cytometry แต่จะเริ่มสูงขึ้นหลังการปลูกถ่ายไตปีที่ 1 เป็นต้นไป การวัดค่า BLYS ที่อยู่ในรูปอิสระ วัดด้วยวิธี ELISA มีค่าอยู่ระหว่าง 30.26-2,411 pg/mL แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติทั้งสามกลุ่ม ซึ่งโดยการศึกษาก่อนหน้านี้ก็พบว่าค่า BLYS ที่อยู่ในรูปอิสระ ไม่มีความสัมพันธ์กับการแสดงออกของ BLYS บนผิวเซลล์⁶⁶

ในการศึกษานี้ได้หาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ BLYS บนผิว T cell ที่เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตพบว่า anti-HLA I และ II ที่สูงสัมพันธ์กับการแสดงออกของ BLYS บนผิว T cell เพิ่มขึ้น ($p=0.08$) แต่ค่าสหสัมพันธ์ (Pearson correlation) ได้เพียง 0.59 ดังนั้นการศึกษานี้จึงพอบอกได้ว่า BLYS เป็นส่วนชี้วัดการเกิด anti-HLA ที่มีผลเสียต่อการทำงานของไตในระยะยาว

3.1 การศึกษาของ Thibault-Espitia และคณะ¹⁵³

Thibault-Espitia และคณะ ทำการศึกษาติดตามในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตมากกว่า 5 ปีเป็นระยะเวลา 6-8 ปี เป็นไตที่มาจากผู้บริจาคสมองตาย มีค่าการทำงานของไตคงตัว (MDRD GFR มากกว่าเท่ากับ 40 mL/min) รวม 143 คน โดยศึกษาความสัมพันธ์ของระบบ BLYS กับระยะเวลาการเกิด graft dysfunction การเกิด anti-HLA antibodies

และ DSA ผู้ป่วยทั้ง 143 คน เมื่อติดตามไปพบ graft dysfunction 21 คน เกิด anti-HLA antibodies ขึ้นใหม่ (de novo anti-HLA antibodies) 23 คน เกิดเป็น donor-specific antibodies (DSA) 10 คน

การศึกษา graft dysfunction ในระยะยาว และ ระบบ BLYS พบว่า การแสดงออกของ BAFF-r ที่สูงขึ้นมากกว่าเท่ากับ 0.1 มีความเสี่ยงต่อการเกิด graft dysfunction มากขึ้น 3.6 เท่า ส่วนการศึกษาความเสี่ยงที่จะเกิด DSA โดยระดับ BLYS-transcripts ที่ตรวจด้วยวิธี RT-PCR ที่น้อยกว่า 0.36 จะเพิ่มความเสี่ยง 4 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่มีค่าสูงกว่าเท่ากับ 0.36 เมื่อทดสอบ BLYS ที่อยู่ในรูปอิสระด้วยวิธี ELISA พบว่าค่า BLYS ที่มากกว่า 1.01 เพิ่มความเสี่ยง 4.8 เท่าต่อการเกิด DSA จึงพอสรุปได้ว่าระดับ BLYS-transcripts และ BLYS-s มีความสัมพันธ์กับการเกิด anti-HLA antibodies แต่เมื่อดูในแง่ของ graft function ตามวิธี cox proportional hazard model พบว่า มีเพียง BAFF-r ที่มากกว่า 0.1 เท่านั้นที่พอจะทำนายการเกิด graft dysfunction ในอนาคตได้

ผู้วิจัยได้สรุปว่า เมื่อหลังการปลูกถ่ายไตไปนานมากขึ้น จะมีการแสดงออกของ BLYS มากขึ้น และผลที่ออกมาในการศึกษานี้อาจจะไม่เหมือนกับการศึกษาก่อน ได้แก่ Xu และคณะ¹⁵² เนื่องจากการศึกษานี้ทำในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตเฉื่อยนานกว่า และวิธีการวัดของ BLYS ก็แตกต่างกันด้วย

4. ระยะที่มีการสลัดไต (graft failure)

4.1 การศึกษาของ Thauinat และคณะ¹⁵⁴

Thauinat และคณะ ทำการศึกษาขึ้นเนื้อไตที่มาจากผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไตแล้วเกิดการสลัดไตจากการปฏิเสธไตชนิด chronic antibody-mediated rejection โดยการตัดไตที่ได้รับการปลูกถ่ายและตรวจต่อมน้ำเหลือง (tertiary lymphoid organ) ที่อยู่บริเวณข้างเคียง พบว่าการแสดงออกของ BLYS mRNA ในต่อมน้ำเหลืองสูงกว่ากลุ่มปกติ และในชิ้นเนื้อไตก็มีการแสดงออกของ BLYS mRNA สูงเช่นเดียวกัน โดยเฉพาะผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยา rituximab

ต่อมน้ำเหลืองของผู้ป่วย chronic antibody-mediated rejection ที่ได้รับการรักษาด้วย rituximab พบว่า ยังพบ B cell lymphocyte เมื่อย้อมด้วย CD20 แทรกตัวอยู่รอบๆเส้นเลือด และเมื่อย้อม anti-human BLYS ก็ได้ผลเช่นเดียวกับ B cell

ดังนั้นการศึกษานี้พอจะบอกได้แค่ว่าการรักษาผู้ป่วย chronic antibody-mediated rejection ด้วยยา rituximab แม้ว่าจะสูญเสียไตไปแล้วก็ยังคงตรวจพบ BLYS

ที่เป็นสัญลักษณ์ของการพัฒนา B cell แม้ว่าในเลือดจะพบ B cell ในเลือดน้อยลงแล้วก็ตาม

2.6 สรุป

ผลสำเร็จของการปลูกถ่ายไตขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย แต่ปัจจัยที่สำคัญคือการป้องกันไม่ให้เกิดแอนติบอดีต่อไตที่ได้รับการปลูกถ่าย(alloantibody) หรือ DSA ที่สร้างมาจาก B cell เป็นกลไกหลักที่ทำให้เกิด antibody-mediated rejection โดย B cell จะมีโปรตีนที่ช่วยในการพัฒนาไปเป็นพลาสมาเซลล์ก็คือ BLYS ดังนั้น เมื่อพบ BLYS ที่สูงมากขึ้น อาจจะสัมพันธ์ต่อการเกิด antibody-mediated rejection ด้วย และการรักษาในปัจจุบัน ต้องใช้วิธีการลดแอนติบอดีร่วมกันหลายวิธี แต่ผลการรักษายังไม่ดีนัก แต่ถ้า BLYS มีความสัมพันธ์ดังกล่าว อาจจะใช้แนวทางที่ประยุกต์มาจากโรคออโตอิมมูน ได้แก่ การให้ยา belimumab ที่มีผลโดยตรงต่อ BLYS

การศึกษาที่ผ่านมาทั้งหมดเป็นการศึกษาความสัมพันธ์ของระบบ BLYS กับการเกิด antibody-mediated rejection แต่เป็นการใช้ surrogate marker เท่านั้น หรือใช้ผลทางพยาธิวิทยาที่มีการทำงานของไตลดลงไปแล้ว ดังนั้น ผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาระดับของ BLYS ในช่วงแรกหลังการผ่าตัดปลูกถ่ายไต กับการเกิด antibody-mediated rejection โดยวินิจฉัยทาง pathology ทั้ง clinical rejection และ subclinical rejection

บทที่ 3

วิธีการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย

การวิจัยแบบไปข้างหน้า (Prospective observational cohort study)

3.2 ระเบียบการวิจัย

3.2.1 ประชากรเป้าหมาย

ผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดปลูกถ่ายไต

3.2.2 กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามารักษา (inclusion criteria)

ผู้ป่วยโรคไตวายเรื้อรังซึ่งได้รับการผ่าตัดปลูกถ่ายไตในรพ.จุฬาลงกรณ์ทุกคน ที่มีสัญชาติไทย และอายุตั้งแต่ 18 ปีขึ้นไป โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม

1. ผู้ป่วยที่มีอาการทั่วไปและมีค่าทางห้องปฏิบัติการอยู่ในเกณฑ์ปกติได้แก่
 - การเพิ่มขึ้นของระดับครีเอตินินในเลือดเปรียบเทียบกับครีเอตินินเดิมไม่เกินร้อยละ 10 ในช่วง 1 เดือนที่ผ่านมา
 - ระดับโปรตีนในปัสสาวะน้อยกว่า 0.5 กรัมต่อวัน หรือ 0.5 กรัมต่อกรัม ครีเอตินิน

ผู้ป่วยทุกคน หลังปลูกถ่ายไต 6 เดือน จะได้รับการตรวจชิ้นเนื้อที่ไต ตามมาตรฐานการรักษาของหน่วยโรคไต รพ.จุฬาลงกรณ์ เพื่อส่งชิ้นเนื้อเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา

2. ผู้ป่วยที่มีอาการหลังปลูกถ่ายไตผิดปกติหรือมีค่าทางห้องปฏิบัติการผิดปกติ อย่างนั้นข้อใดข้อหนึ่ง
 - มีอาการเจ็บบริเวณไตที่ได้รับการปลูกถ่าย
 - การเพิ่มขึ้นของระดับครีเอตินินในเลือดเปรียบเทียบกับครีเอตินินเดิมมากกว่าร้อยละ 10 ในช่วง 1 เดือนที่ผ่านมา
 - ระดับโปรตีนในปัสสาวะมากกว่าเท่ากับ 0.5 กรัมต่อวัน หรือ 0.5 กรัมต่อกรัม ครีเอตินิน
 - แพทย์ที่ดูแลมีความเห็นว่าควรได้รับการตรวจชิ้นเนื้อที่ไต เพื่อประกอบการรักษา

ผู้ป่วยจะได้รับการตรวจชิ้นเนื้อที่ไต อาจจะก่อนหรือหลังการเจาะไตที่ 6 เดือน ที่เป็นมาตรฐานการรักษาเพื่อส่งชิ้นเนื้อเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา

- การวินิจฉัยทางพยาธิวิทยาตาม Banff grading schema ปีพ.ศ. 2556 เพื่อประเมินลักษณะของชิ้นเนื้อไตที่ได้รับการปลูกถ่าย

สามารถแบ่งได้เป็นกลุ่มตามการวินิจฉัยโดยลักษณะทางพยาธิวิทยา ได้ดังนี้

- ปกติ (normal)
- ปฏิเสธไต (rejection) ตาม Banff grading schema ปีพ.ศ. 2556
 - T-cell mediated rejection
 - Acute/active antibody-mediated rejection
 - Chronic active antibody-mediated rejection
- Calcineurin inhibitor nephrotoxicity
 - Acute calcineurin inhibitor nephrotoxicity
 - Chronic Calcineurin inhibitor nephrotoxicity
- Viral infection ได้แก่ CMV nephropathy และ BK virus nephropathy
- Interstitial fibrosis และ tubular atrophy
 - Mild (<25% of cortical area)
 - Moderate (26–50% of cortical area)
 - Severe (>50% of cortical area)

3.2.3 กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกออกจากการศึกษา (exclusion criteria)

1. ผู้ป่วยที่ไม่สามารถตรวจชิ้นเนื้อที่ไตได้แก่
 - ผู้ป่วยที่มีภาวะเลือดออกง่ายผิดปกติ
 - ผู้ป่วยที่ไม่สามารถให้ความร่วมมือได้
 - ผู้ป่วยที่มีความดันโลหิตสูงที่ไม่สามารถควบคุมได้
 - ผู้ป่วยตั้งครรภ์
2. ผู้ป่วยที่ทำการปลูกถ่ายไตร่วมกับอวัยวะอื่น (multi-organ Transplantation)

3.2.4 การกำหนดขนาดตัวอย่าง

ใช้วิธีคำนวณขนาดตัวอย่างโดยสูตรที่ใช้หาความชุกของการเกิดเหตุการณ์ ซึ่งในที่นี้ หมายถึง การปฏิเสธไต

$$n = \frac{Z_{\alpha/2}^2 pq}{d^2}$$

$$n = \frac{1.96^2 \times 0.12 \times 0.88}{0.1^2} = 40.57 \approx 41$$

ดังนั้นประชากรที่จะนำมาศึกษาเป็น 41 คน

Z_{α} = ค่า Z ที่ได้จากการแจกแจงปกติมาตรฐานเมื่อกำหนดระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95% มีค่าเท่ากับ 1.96 (type I error ที่ 5%)

p = สัดส่วนของผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจชิ้นเนื้อไตโดยที่ยังไม่อาการหรือมีการเพิ่มขึ้นของค่าครีเอตินีน (subclinical rejection) จากการทบทวนวรรณกรรมของ Rush และคณะ พบการปฏิเสธไต ระยะแรก ประมาณ 12%

$$q = 1-p$$

d = ระดับความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้เท่ากับ 10%

3.3 การดำเนินการวิจัย

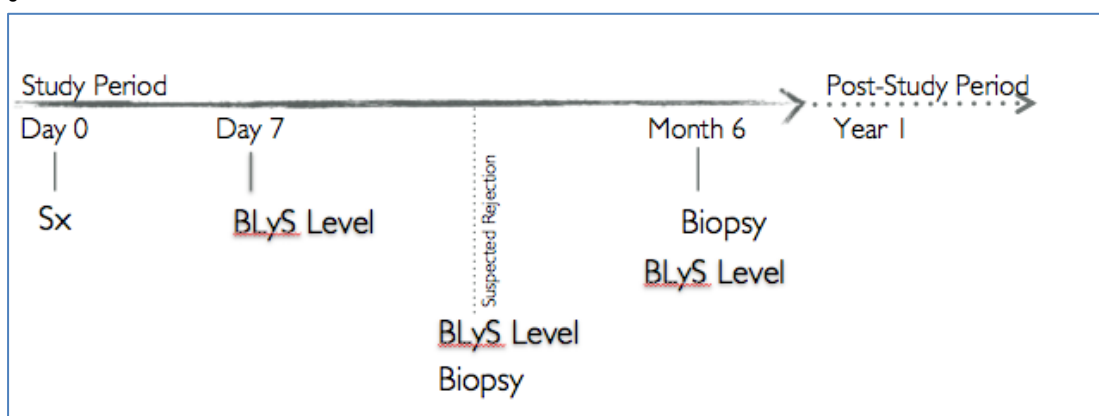
3.3.1 วิธีการวิจัย

ผู้ป่วยไตวายที่ได้รับการผ่าตัดปลูกถ่ายไตจะได้รับการดูแลตามมาตรฐานการรักษาของหน่วยโรคไต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ อาสาสมัครจะได้รับการอธิบายข้อดี ข้อเสียในการเจาะเลือด และจะเริ่มดำเนินการวิจัยหลังจากได้รับความยินยอมจากอาสาสมัคร ในหลังผ่าตัดวันที่ 7 จะได้รับการเจาะเลือดเพื่อตรวจระดับ BLYS และ APRIL โดยไม่ต้องเจาะเลือดเพิ่มจากเดิม เนื่องจากจะมีการเจาะเลือดเพื่อตรวจติดตามการทำงานของไตทุกวันอยู่แล้ว โดยใช้เลือดปริมาณ 5 มล. และนำส่งตรวจวัดระดับ BLYS และ APRIL ดังกล่าวด้วยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ณ ห้องปฏิบัติการตึก อปร. รพ.จุฬาลงกรณ์

ในช่วงหลังผ่าตัด 6 เดือน ผู้ป่วยที่ไม่มีข้อห้ามในการเจาะชิ้นเนื้อไต หลังปลูกถ่ายไตจะได้รับการเจาะชิ้นเนื้อไต ตาม standard of care ของหน่วยโรคไต โดยผู้ป่วยจะได้รับการแนะนำเกี่ยวกับการปฏิบัติตน ก่อนและหลังการเจาะไต ส่งชิ้นเนื้อเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา รพ.จุฬาลงกรณ์ และจะการเจาะเลือดเพื่อตรวจระดับ BLYS และ APRIL อีกครั้ง โดยไม่ต้องเจาะเลือด

เพิ่มจากเดิม เนื่องจากจะมีการเจาะเลือดว่าไม่มีข้อห้ามของการเจาะชิ้นเนื้อไต เมื่อได้ผลแล้วจะนำมาหาค่าความสัมพันธ์กับระดับ BLYS และ APRIL ที่ได้เจาะไปตั้งแต่วันที่ 7 หลังการผ่าตัด และภายในช่วงระยะเวลาที่ 6 เดือน หากผู้ป่วยมีอาการแสดง ค่าการทำงานของไตผิดปกติ โดยแพทย์ผู้ทำการรักษาจะส่งผู้ป่วยมาทำการเจาะชิ้นเนื้อไตก่อน ก็จะมีการเก็บข้อมูลของผู้ป่วยและบันทึกผลทางพยาธิวิทยาด้วย

รูปที่ 3.1 วิธีการวิจัย



3.3.2 ตัวแปรในการวิจัย

- ลักษณะทางพยาธิวิทยาตาม Banff grading schema ปีพ.ศ. 2556
- ระดับ BLYS ในเลือดด้วยวิธี ELISA
- ระดับ APRIL ในเลือดด้วยวิธี ELISA
- การวัดครีเอตินีนในเลือด หน่วยเป็น มก./ ดล.
- ระดับโปรตีนในปัสสาวะ โดยวิธี 24-hour urine protein หน่วยเป็นกรัมต่อวันหรือใช้วิธี UPCI โดยเก็บปัสสาวะแบบ spot urine เพื่อนำมาคำนวณในสมการ [urine protein (มก./ ดล.) / urine creatinine (มก./ ดล.)]
- ระดับยากดภูมิคุ้มกันชนิดต่างๆ ได้แก่ ยาไซโคลสปอรินส์ ทาโครลิมุส หน่วยเป็นนาโนกรัม/ มิลลิลิตร

3.2.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวัด

- การตรวจทางห้องปฏิบัติการ
- ลักษณะทางพยาธิวิทยาตาม Banff grading schema ปีพ.ศ. 2556 ซางจะบรรยายลักษณะทางพยาธิวิทยาได้ดังนี้

Glomerular abnormality (g)

g0 = No glomerulitis

g1 = Glomerulitis in less than 25% of glomeruli

g2 = Segmental or global glomerulitis in 25 to 75% of glomeruli

g3 = Glomerulitis (mostly global) in more than 75% of glomeruli

Chronic glomerular abnormality (cg)

cg0 = No glomerulopathy - double contours in <1 % of peripheral capillary loops in most severely affected glomerulus

cg1 = Double contours affecting up to 25% of peripheral capillary loops in the most affected of nonsclerotic glomeruli

cg2 = Double contours affecting 26 to 50% of peripheral capillary loops in the most affected of nonsclerotic glomeruli

cg3 = Double contours affecting more than 50% of peripheral capillary loops in the most affected of nonsclerotic glomeruli

Interstitial abnormality (i)

i0 = No or trivial interstitial inflammation (<10% of unscarred parenchyma)

i1 = 10 to 25% of parenchyma inflamed

i2 = 26 to 50% of parenchyma inflamed

i3 = More than 50% of parenchyma inflamed

Chronic interstitial abnormality (ci)

ci0 = Interstitial fibrosis in up to 5% of cortical area

ci1 = Mild interstitial fibrosis in 6 to 25% of cortical area

ci2 = Moderate interstitial fibrosis in 26 to 50% of cortical area

ci3 = Severe interstitial fibrosis >50% of cortical area

Tubular abnormality (t)

t0 = No mononuclear cells in tubules

t1 = Foci with 1 to 4 cells/tubular cross section (or 10 tubular cells)

t2 = Foci with 5 to 10 cells/tubular cross section

t3 = Foci with >10 cells/tubular cross section, or the presence of at least two areas of tubular basement membrane destruction

accompanied by i2/i3 inflammation and t2 tubulitis elsewhere in the biopsy

Chronic tubular abnormality (ct)

ct0 = No tubular atrophy

ct1 = Tubular atrophy in up to 25% of the area of cortical tubules

ct2 = Tubular atrophy involving 26 to 50% of the area of cortical tubules

ct3 = Tubular atrophy in >50% of the area of cortical tubules

Vascular abnormality (v)

v0 = No arteritis

v1 = Mild to moderate intimal arteritis in at least one arterial cross section

v2 = Severe intimal arteritis with at least 25% luminal area lost in at least one arterial cross section

v3 = Transmural arteritis and/or arterial fibrinoid change and medial smooth muscle necrosis with lymphocytic infiltration in vessel

Chronic vascular abnormality (cv)

cv0 = No chronic vascular changes

cv1 = Vascular narrowing of up to 25% luminal area by fibrointimal thickening of arteries ± breach of internal elastic lamina or presence of foam cells or occasional mononuclear cells

cv2 = Increased severity of changes described above with 26 to 50% narrowing of vascular luminal area

cv3 = Severe vascular changes with >50% narrowing of vascular luminal area

Arteriolar hyalinosis (ah)

ah0 = No PAS-positive hyaline thickening

ah1 = Mild to moderate PAS-positive hyaline thickening in at least one arteriole

ah2 = Moderate to severe PAS-positive hyaline thickening in at least one arteriole

ah3 = Severe PAS-positive hyaline thickening in at least one arteriole

Mesangial matrix abnormality (mm)

mm0 = No mesangial matrix increase

mm1 = Up to 25% of nonsclerotic glomeruli affected (at least moderate matrix increase)

mm2 = 26 to 50% of nonsclerotic glomeruli affected (at least moderate matrix increase)

mm3 = >50% of nonsclerotic glomeruli affected (at least moderate matrix increase)

Peritubular capillaritis (PTC)

ptc0 = No significant cortical PTC, or <10% of PTCs with inflammation

ptc1 = $\geq 10\%$ of cortical peritubular capillaries with capillaritis, with max 3 to 4 luminal inflammatory cells

ptc2 = $\geq 10\%$ of cortical peritubular capillaries with capillaritis, with max 5 to 10 luminal inflammatory cells

ptc3 = $\geq 10\%$ of cortical peritubular capillaries with capillaritis, with max >10 luminal inflammatory cells

Complement 4d staining (C4d)

C4d0 = Negative: 0%

C4d1 = Minimal C4d stain/detection: 1-9%

C4d2 = Focal C4d stain/positive: 10-50%

C4d3 = Diffuse C4d stain/positive: >50%

- แบบบันทึกการเก็บข้อมูล (case record form)

3.3.3 การคำนวณ

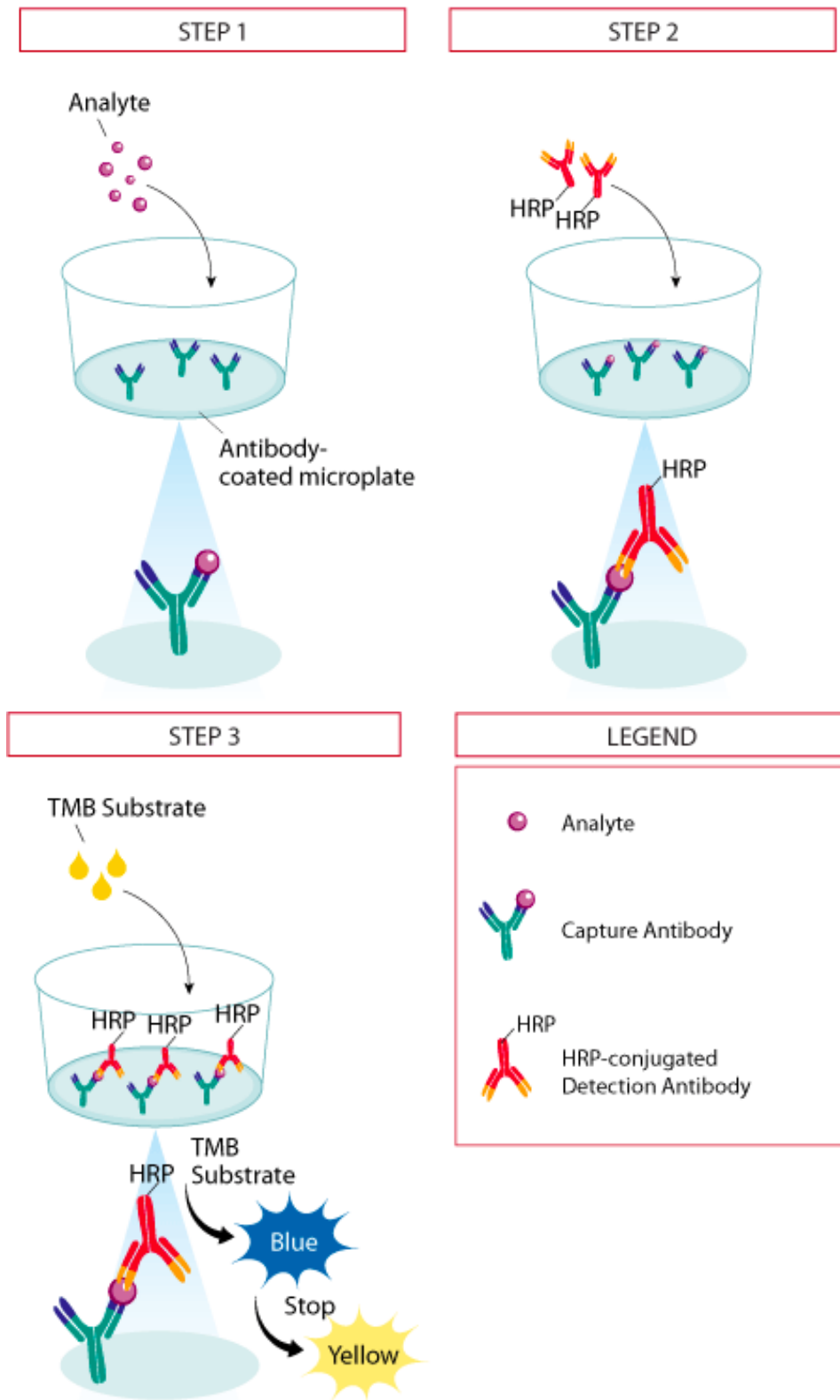
1. การวัดระดับ BLYS ในเลือดด้วยวิธี ELISA

การตรวจระดับ BLYS ในเลือดด้วยวิธี ELISA ของบริษัท R&D system และ Bender MedSystems GmbH โดยมีหลักการตามรูปที่ 3.2

ขั้นตอนการทำ

1. เตรียมน้ำยา พลาสมาของผู้ป่วยที่จะทำการทดสอบ และชุดมาตรฐานสำหรับการเปรียบเทียบ
2. หยดบัฟเฟอร์ (diluent RD1-111) ลงไปในแต่ละหลุมของ BLYS microplate ซึ่งจะมี mouse monoclonal antibody ต่อ BLYS เคลือบอยู่ที่ก้นหลุม
3. นำพลาสมาของผู้ป่วยที่จะทดสอบ น้ำกลั่น (control) และชุดทดสอบมาตรฐาน (standard sample ซึ่งประกอบด้วย recombinant human BLYS) ปริมาณ 50 μ L ลงในแต่ละหลุม อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง
4. ดูดน้ำยาออก และล้าง microplate ซ้ำๆ กัน 4 ครั้ง ด้วยบัฟเฟอร์สำหรับล้างโดยเฉพาะ หลังจากล้างเสร็จ คว่ำ microplate รอให้แห้ง
5. เติม polyclonal antibody ต่อ BLYS ที่เคลือบ horseradish peroxidase ลงไปในแต่ละหลุม อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง
6. ทิ้งน้ำยาออกให้หมด และล้าง microplate ซ้ำๆ กัน 4 ครั้ง ด้วยบัฟเฟอร์สำหรับล้าง
7. เติม substrate ที่เตรียมไว้ (โดยทำการผสม hydrogen peroxide กับ tetramethylbenzidine ในปริมาณเท่าๆกันทิ้งไว้ 15 นาทีก่อนใช้) ปริมาณ 200 μ L ลงไปในหลุม อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที โดยขั้นตอนนี้ต้องระวังไม่ให้ถูกแสง
8. เติมน้ำยา sulfuric acid 50 μ L สำหรับหยุดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น สีในแต่ละหลุมควรเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีเหลือง สำหรับหลุมที่ยังเป็นสีเขียวหรือยังเปลี่ยนเป็นสีเหลืองไม่ทั่ว ให้เคาะข้างหลุมเบาๆ เพื่อให้น้ำยาผสมกันทั่ว
9. อ่านผลด้วยเครื่อง optical densitometry ภายใน 30 นาที โดยใช้คลื่นแสงที่ 540 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปเทียบกับค่าที่ได้จาก calibrator (ที่เตรียมโดยการสร้างกราฟจากการเจือจางด้วย calibrator diluent RD6Q และอ่านผลโดย optical densitometry) และเทียบค่าเป็นพิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ดังรูป 3.3 และ 3.4

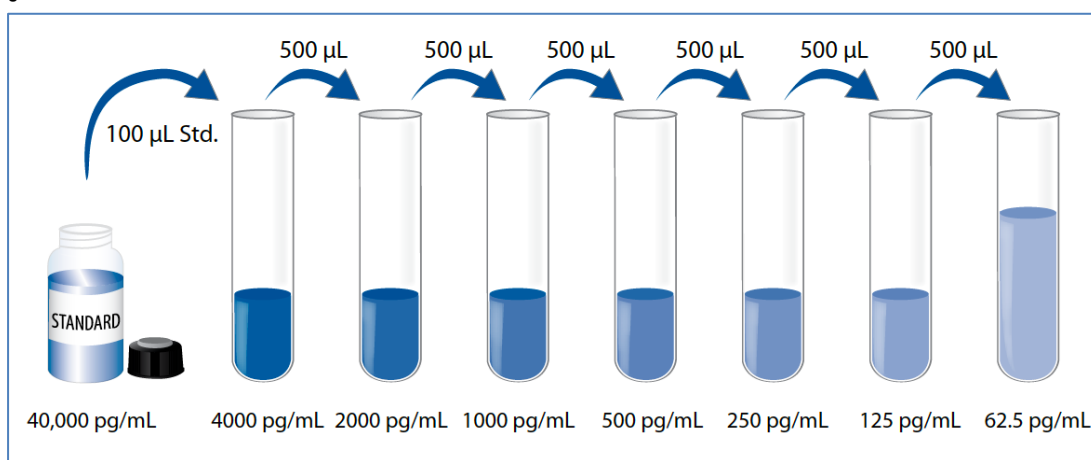
รูปที่ 3.2 การตรวจระดับ BlyS ในเลือด



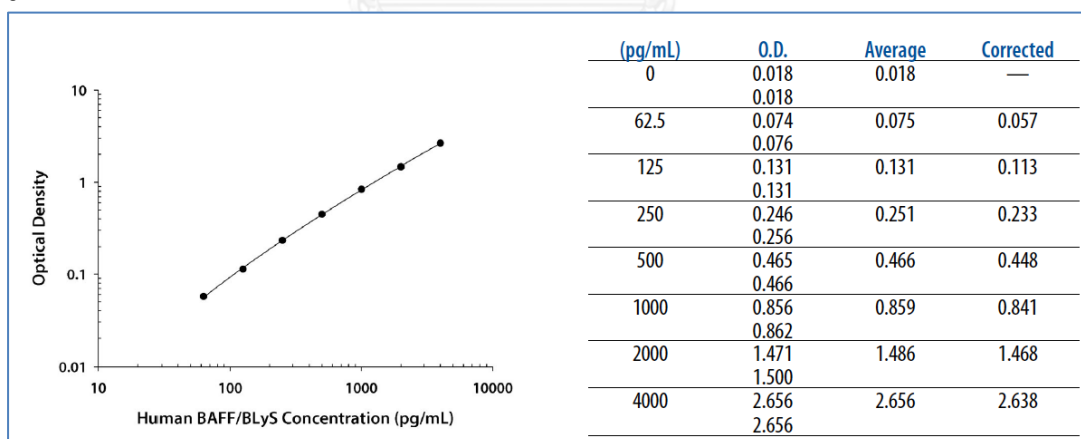
การเก็บสิ่งส่งตรวจสำหรับการตรวจ BLyS โดยเก็บหลังจากผ่าตัดที่ 7 วัน และหลังผ่าตัด 6 เดือน รวมทั้งในกรณีที่แพทย์จะทำการเก็บชิ้นเนื้อไต

1. เก็บเลือดตัวอย่างจากผู้ป่วยแล้วนำมาปั่นแยกเซลล์เม็ดเลือดออกโดยใช้เครื่องปั่นแยกด้วยความเร็ว 1,000 รอบ นาน 10 นาที และเก็บส่วนพลาสมาที่อุณหภูมิ -20°C ทันที
2. ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ 50 μL

รูปที่ 3.3 วิธีการเจือจาง calibrator diluent และวัดค่า optical densitometry



รูปที่ 3.4 การวัดความเข้มข้นของ BLyS จาก optical densitometry



3.4 การรวบรวมข้อมูล

3.4.1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย

เพศ อายุ สาเหตุของไตวายเรื้อรัง โรคประจำตัวอื่นๆ ระยะเวลาก่อนการปลูกถ่ายไต และ ข้อมูลอายุ เพศ โรคประจำตัวของผู้บริจาคไต

3.4.2 ข้อมูลที่ศึกษา

1. อาการทั่วไป (ความดันโลหิต น้ำหนัก ภาวะบวม น้ำ ความรู้สึกเจ็บที่ไต)
2. ข้อมูลเกี่ยวกับการรักษา (การได้รับยากดภูมิชนิดต่างๆ ปริมาณปัสสาวะ การใช้การบำบัดทดแทนไตด้วยวิธีอื่น เช่น ฟอกเลือดหรือล้างไตทางช่องท้อง)
3. ค่าทางห้องปฏิบัติการ
 - CBC
 - Serum creatinine
 - UPCI/ 24-hour urine protein
 - Immunosuppressive drug level (C0 tacrolimus, everolimus, sirolimus หรือ C2 cyclosporin)
 - Fasting blood sugar
 - Serum BLYS และ APRIL
4. Kidney allograft indices

Banff grading schema พ.ศ. 2556

 - T-cell mediated rejection
 - : IA (i2 or i3 with t2)
 - : IB (i2 or i3 with t3)
 - : IIA (moderate intimal arteritis, v1)
 - : IIB (severe intimal arteritis, v2)
 - : III (transmural arteritis and/or arterial fibrinoid necrosis, v3)
 - Antibody-mediated rejection

ตาราง 3.1 Banff grading schema พ.ศ. 2556 ที่ใช้สำหรับการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา

Type of rejection	DSA	Histologic	C4d	Clinical (Cr, proteinuria)
Subclinical AMR	Yes	Yes g, ptc, v, ATN	Yes	No
Acute AMR	Yes	Yes g, ptc, v, ATN	Yes	Yes
Acute TCMR type IA	No	Yes i2 or i3 and t2	No	Yes
Acute TCMR type IB	No	Yes i2 or i3 and t3	No	Yes
Acute TCMR type IIA	No	Yes v1	No	Yes
Acute TCMR type IIB	No	Yes v2	No	Yes
Acute TCMR type III	No	Yes v3	No	Yes
Chronic active TCMR	No	Yes Arterial intimal fibrosis, neo-intema	No	Yes
IF/TA grade I	No	Yes Mild (<25% of cortical area)	No	Yes
IF/TA grade II	No	Yes Moderate(25-50% of cortical area)	No	Yes
IF/TA grade III	No	Yes Severe(>50% of cortical area)	No	Yes

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

การสรุปข้อมูล: ข้อมูลเชิงปริมาณ ได้แก่ ระดับ BLYS และ APRIL ค่าครีเอทีนีน ค่าการทำงานของไต (glomerular filtration rate; GFR) วัดผลเป็นค่าเฉลี่ยเลขคณิต และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การนำเสนอข้อมูล: baseline characteristics ค่า score ของผลพยาธิตันเนื้อไต แบ่งตาม Banff grading schema นำเสนอในรูปแบบตารางและ Box-plot กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงปริมาณเช่น BLYS และ APRIL กับระดับยา tacrolimus BLYS และ APRIL กับระดับโปรตีนในปัสสาวะ นำเสนอในรูปแบบ scatter diagram

การทดสอบสมมติฐาน: การเปรียบเทียบระหว่างสองกลุ่มใช้ independent T-test (normal distribution data) และ Mann-Whitney-U test (non-normal distribution data) สำหรับความสัมพันธ์ของข้อมูลใช้ Pearson's correlation (normal distribution data) Spearman's rank correlation (non-normal distribution data) และ สมการถดถอยเชิงพหุคูณแบบโลจิสติกส์ (Multiple Logistic Regression) กำหนด p-value <0.05 ถือว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ สถิติคำนวณด้วย ด้วยโปรแกรม STATA version 13/SE

บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา

ผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไตเข้าร่วมการศึกษาทั้งหมด 76 ราย และติดตามผู้ป่วยได้ครบตลอดการศึกษา แบ่งเป็นผู้ป่วยเพศชาย 33 ราย เพศหญิง 43 ราย มีอายุระหว่าง 39.35 ถึง 45.15 ปี อายุเฉลี่ย 42.25 ปี สาเหตุของไตวายเรื้อรัง คือ ไตทรานส์พลาซันตา (35.53%) presumed glomerulonephritis (15.79%) และ IgA nephropathy (11.84%) เป็นผู้ป่วย living-related transplantation 39 ราย living-unrelated transplantation 7 ราย cadaveric transplantation 30 ราย ผู้ป่วยส่วนใหญ่ได้รับการผ่าตัดปลูกถ่ายไตครั้งแรก (96.05%) ระยะเวลา ระหว่างเริ่มการบำบัดทดแทนไตครั้งแรกจนถึงปลูกถ่ายไต (dialysis vintage) คิดเป็นค่ามัธยฐานเท่ากับ 24 เดือน

เมื่อแบ่งผู้ป่วยตามหมู่เลือด หมู่เลือดบี 34 คน (44.74%) หมู่เลือดโอ 26 คน (34.21%) มีการปลูกถ่ายไตข้ามหมู่เลือด 4 คน (5.26%) ค่า panel reactive antibody (PRA) ก่อนการปลูกถ่ายไตไม่เกิน 3 เดือน มีค่ามัธยฐานเท่ากับ 0% มีผู้ป่วยที่มี anti-HLA antibody 24 คน (31.58%) ค่า mean fluorescent intensity (MFI) เท่ากับ 3,745.18 (1,467.547 – 6,022.81) มีผู้ป่วยได้รับการทำหัตถการเพื่อลด antibody ก่อนทำการผ่าตัด 14 คน (18.42%)

ผู้บริจาคไตเป็นเพศชาย 47 คน (61.84%) หญิง 29 คน (38.16%) มีอายุระหว่าง 35.39 ถึง 40.37 ปี เฉลี่ย 37.88 ปี มีผู้บริจาคไต 12 คน (15.79%) ที่เข้าข่าย expanded criteria donor (ECD) รายละเอียดตามตารางที่ 4.1-4.2

ตาราง 4.1 แสดงข้อมูลผู้ป่วยและผู้บริจาคไตก่อนการผ่าตัด kidney transplantation

Characteristics	Value	% หรือ 95% confidence interval
N	76	100%
Recipient gender N (%)		
Male	33	43.42%
Female	43	56.58%
Recipient age (years)	42.25	36.35 – 45.15
First KT N (%)	73	96.05%
Type of transplantation N (%)		
Living-related	39	51.32%
Living-unrelated	7	9.21%
Cadaveric	30	39.47%
Cause of ESRD N (%)		
Presumed chronic glomerulonephritis	12	15.79%
IgA nephropathy	9	11.84%
Diabetic nephropathy	7	9.21%
Lupus nephritis	6	7.89%
Membranous nephropathy	4	5.26%
ADPKD	2	2.63%
Stone	2	2.63%
Other	5	6.58%
Unknown	27	35.53%

ตาราง 4.1 แสดงข้อมูลผู้ป่วยและผู้บริจาคไตก่อนการผ่าตัด kidney transplantation (ต่อ)

Characteristics	Value	% หรือ 95% confident interval
Dialysis vintage (months) (median)	24	-
Blood group		
A	8	10.53%
B	34	44.74%
AB	8	10.53%
O	26	34.21%
ABO-incompatibility KT (N, %)	4	5.26%
HLA mismatches N		
0	5	6.58 %
1	8	10.53%
2	11	14.47%
3	31	40.79%
4	10	13.16%
5	7	9.21%
6	4	5.26%
HLA mismatches (mean)	2.92	2.59 – 3.25
Panel reactive antibody (%)		
Current (median)	0	
Peak (median)	0	
Positive anti-HLA antibody (N, %)	24	31.58%
Mean fluorescent intensity (MFI)	3,745.18	1,467.55 – 6,022.81
Prior desensitization [†] (N)	14	18.42%

† หมายถึง การทำ plasmapheresis และ/หรือ ได้รับ intravenous immunoglobulins (IVIGs) และ/หรือ rituximab ก่อน kidney transplantation ไม่เกิน 3 เดือน

ตาราง 4.2 แสดงข้อมูลผู้บริจาคไตก่อนการผ่าตัด kidney transplantation

Characteristics	Value	% หรือ 95% confident interval
Donor age (years) (mean \pm SD)	37.88	35.39 - 40.37
Donor gender		
Male (N, %)	47	61.84%
Female (N, %)	29	38.16%
Expanded criteria donor ⁺⁺ (N, %)	12	15.79%
Negative crossmatching (N, %)	76	100%

++ Expanded criteria donor หมายถึง ผู้บริจาคไตที่อายุมากกว่าเท่ากับ 60 ปี หรืออายุมากกว่าเท่ากับ 50 ปี ร่วมกับมี 2 ใน 3 ข้อ ดังนี้ 1. ความดันโลหิตสูง 2. ค่าซีรัมครีเอตินินมากกว่าเท่ากับ 1.5 mg/dL 3.

Cerebrovascular accident

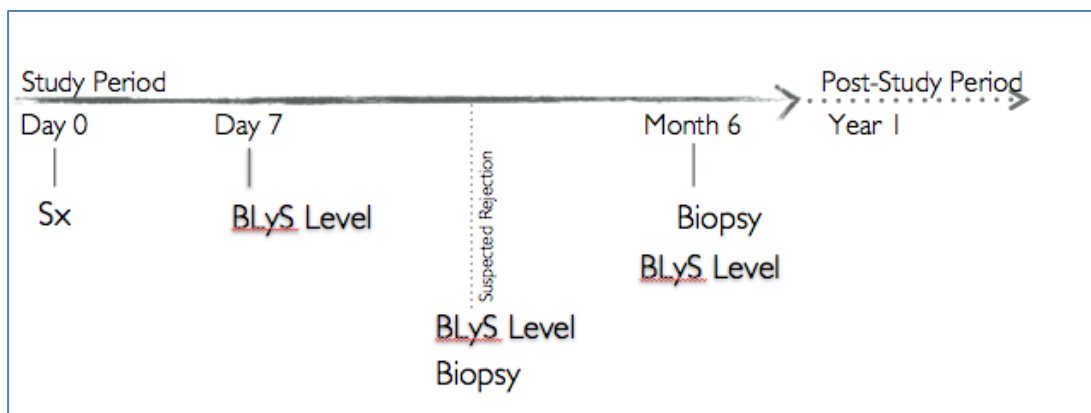
ในการผ่าตัด ผู้ป่วยมีระยะ cold ischemic time เฉลี่ย 7.84 ชั่วโมง (5.66 - 10.02) ระยะ warm ischemic time เฉลี่ย 0.63 ชั่วโมง (0.58 - 0.67) ผู้ป่วยส่วนใหญ่ 62 คน (81.58%) ได้รับ induction therapy ด้วยยา basiliximab หลังการผ่าตัด ผู้ป่วยมีภาวะ delay graft function (DGF) 23 คน (30.26%) ผู้ป่วยทุกคนได้รับยากดภูมิคุ้มกันเหมือนกัน ได้แก่ mycophenolate mofetil, tacrolimus และ prednisolone

ค่าซีรัมครีเอตินินของผู้ป่วยในวันที่ 7 หลังการทำผ่าตัด เฉลี่ย mg/dL ระดับ tacrolimus ng/dL ขนาดของยา prednisolone ต่อวันเฉลี่ย 48.03 mg ค่า white blood cell เฉลี่ย 11,402.89 cell/mm³ ค่า total lymphocyte count เฉลี่ย 1,479.95 cell/mm³ เมื่อเก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมง พบว่า ค่า creatinine clearance เฉลี่ย 47.14 mL/min และพบโปรตีนในปัสสาวะเฉลี่ย 1.38 g/day รายละเอียดดังตารางที่ 4.4

ตาราง 4.3 แสดงข้อมูลในช่วงระยะก่อนและหลังการผ่าตัด kidney transplantation 7 วัน

Characteristics	Value	% หรือ 95% confident interval
N	76	100%
Ischemic time (mean) (hours)		
Cold	7.84	5.66 - 10.02
Warm	0.63	0.58 - 0.67
Induction therapy N (%)		
Basiliximab	62	81.58%
Thymoglobulin	14	18.42%
Delay graft function N (%)	23	30.26%
Maintenance immunosuppressive drugs		
Mycophenolate mofetil + Tacrolimus + Prednisolone	76	100%
Mean prednisolone dose (mg)	48.03	46.09 - 49.97
C0 tacrolimus (ng/dL) (mean)	5.64	4.94 - 6.35
Serum creatinine (mg/dL) (mean)	3.75	2.82 - 4.68
White blood cell count (cell/mm ³)	11,402.89	8,009.18 - 14,796.61
Total lymphocyte count (cell/mm ³)	1,480.00	116.05 - 9,742.06
24-hour urine protein (g) (mean)	1.38	0.15 - 7.20
24-hour urine creatinine clearance (mL/min)	47.14	0.02 - 102.90
eGFR by CKD-EPI (mL/min/1.73m ²)	47.68	3.14 - 116.60
eGFR by MDRD Thai (mL/min/1.73m ²)	47.42	6.37 - 106.66
eGFR by MDRD Asian (mL/min/1.73m ²)	50.14	3.31 - 117.02

4.2 ค่า BLYS หลังผ่าตัด 7 วัน และ 6 เดือน



ระดับ BLYS ของผู้ป่วยในวันที่ 7 หลังจากการผ่าตัดปลูกถ่ายไต มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 392.29 pg/mL (319.43-465.13) ในช่วงหลังการผ่าตัด 6 เดือน ผู้ป่วยจะได้รับการตรวจชิ้นเนื้อไต พร้อมกับการตรวจค่า BLYS ระดับ BLYS หลังการผ่าตัดที่ 6 เดือน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 787.67 pg/mL (673.87-939.46) เพิ่มขึ้นจากระดับ BLYS หลังผ่าตัด 7 วันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (student's paired t-test; $p < 0.001$)

เมื่อแยกผู้ป่วยตามลักษณะพยาธิวิทยา พบว่า ผู้ป่วยที่มีลักษณะพยาธิวิทยาปรกติ จะมีค่า BLYS ที่ 7 วันหลังผ่าตัดน้อยที่สุด เฉลี่ย 179.78 pg/mL (96.08-263.49) ผู้ป่วยที่มีลักษณะพยาธิวิทยาเป็น antibody-mediated rejection จะมีค่า BLYS ที่ 7 วันหลังผ่าตัดมากที่สุด เฉลี่ย 735.30 pg/mL (488.69-981.92) ส่วนลักษณะพยาธิวิทยาอื่นๆ ได้แก่ acute tubular necrosis, T cell-mediated rejection, calcineurin inhibitor nephrotoxicity มีค่า BLYS ที่ 7 วันหลังผ่าตัดเฉลี่ย 297.92 (196.64-399.19), 381.58 (119.17-643.99), 395.08 pg/mL (266.72-523.45) ตามลำดับ รายละเอียดดังแสดงในตาราง 4.5

เมื่อพิจารณาค่า BLYS ณ วันที่เจาะชิ้นเนื้อไต ที่ 6 เดือน แบ่งแยกผู้ป่วยตามลักษณะพยาธิวิทยา พบว่า ผู้ป่วยที่มีลักษณะพยาธิวิทยาปรกติ จะมีค่า BLYS น้อยที่สุด เฉลี่ย 291.32 pg/mL (96.08-263.49) ผู้ป่วยที่มีลักษณะพยาธิวิทยาเป็น antibody-mediated rejection จะมีค่า BLYS มากที่สุด เฉลี่ย 1,225.50 pg/mL (867.21 - 1,583.8) ส่วนลักษณะพยาธิวิทยาอื่นๆ ได้แก่ acute tubular necrosis, T cell-mediated rejection, calcineurin inhibitor nephrotoxicity มีค่า BLYS ที่ 7 วันหลังผ่าตัดเฉลี่ย 655.73 (431.82-879.64), 763.35 (353.63-1,173.1), 932.37 pg/mL (544.13 - 1,320.6) ตามลำดับ รายละเอียดดังแสดงในตาราง 4.6

ตาราง 4.4 ค่า BLYS ที่ 7 วันหลังผ่าตัด เมื่อแบ่งผู้ป่วยตามลักษณะพยาธิวิทยาที่ 6 เดือน

Pathology (N)	BLYS level (pg/mL)	Range* (pg/mL)
Overall (76)	392.29	319.43 - 465.13
Normal (11)	179.78	96.08 - 263.49
ATN (21)	297.92	196.64 - 399.19
TCMR (7)	381.58	119.17 - 643.99
CNI toxicity (22)	395.08	266.72 - 523.45
ABMR (13)	735.30	488.69 - 981.92

*ใช้ค่า 95% confident interval

ตาราง 4.5 ค่า BLYS ที่ 6 เดือนหลังผ่าตัด เมื่อแบ่งผู้ป่วยตามลักษณะพยาธิวิทยา

Pathology (N)	BLYS level (pg/mL)	Range* (pg/mL)	p value [†]
Overall (76)	788.67	637.87 - 939.46	<0.001
Normal (11)	291.32	211.71 - 370.92	0.004
ATN (21)	655.73	431.82 - 879.64	0.003
TCMR (7)	763.35	353.63 - 1173.1	0.09
CNI toxicity (22)	932.37	544.13 - 1320.6	0.006
ABMR (13)	1225.50	867.21 - 1583.8	0.002

*ใช้ค่า 95% confident interval

†เปรียบเทียบค่า BLYS ที่ 7 วัน และ 6 เดือน โดยใช้ student's paired t-test

4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า BLyS หลังผ่าตัด 7 วัน และผลพยาธิวิทยา

ผู้ป่วยที่รวบรวมในการศึกษานี้มีจำนวนทั้งหมด 76 คน แต่มีผู้ป่วยจำนวน 8 คนที่เกิด antibody-mediated rejection ในช่วงหลังการผ่าตัด 1 เดือน เหลือผู้ป่วย 68 คน เมื่อพิจารณา ระดับของ BLyS หลังผ่าตัดวันที่ 7 พบว่าผู้ป่วยที่มีลักษณะพยาธิวิทยาเป็น antibody-mediated rejection แตกต่างกับผู้ป่วยที่มีลักษณะพยาธิวิทยาปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) รายละเอียดดังตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.1

ตาราง 4.6 ความแตกต่างของระดับ BLyS ที่ 7 วันหลังผ่าตัดของผู้ป่วยในแต่ละลักษณะพยาธิวิทยา โดยเปรียบเทียบกับค่า BLyS ในผู้ป่วยที่มีลักษณะพยาธิวิทยาปกติ

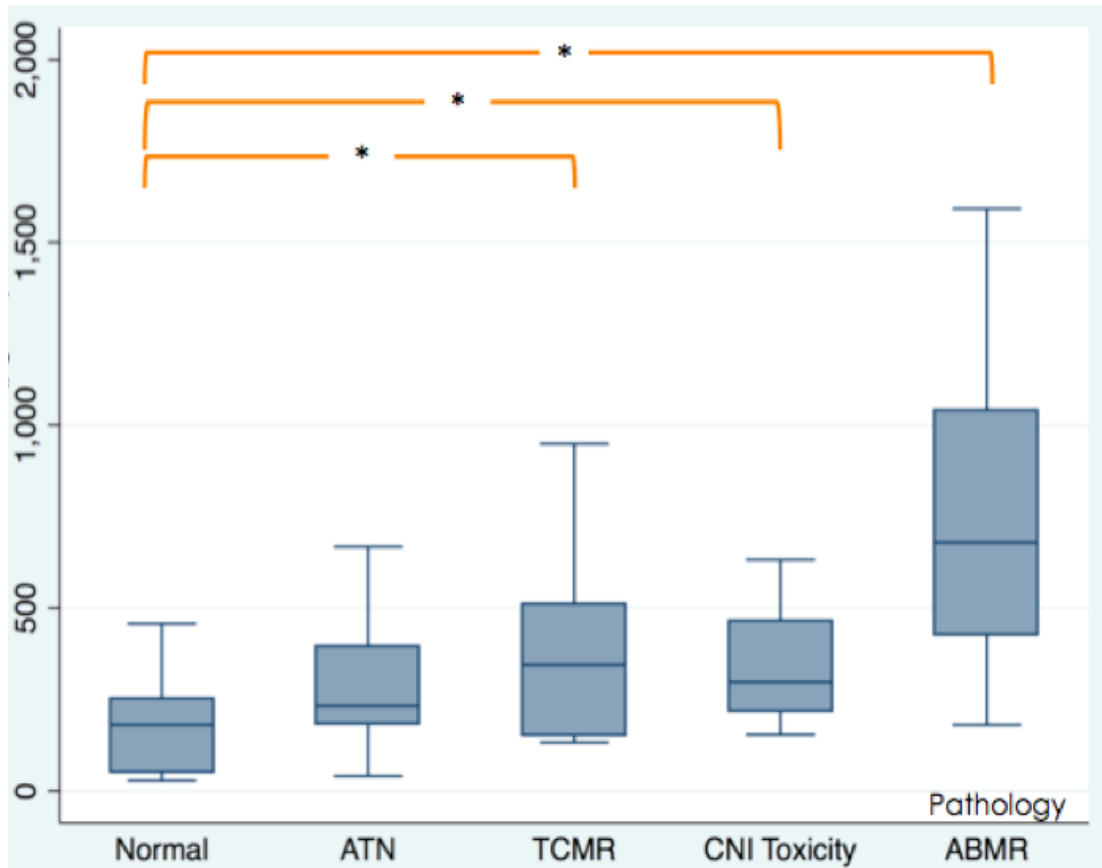
Pathology (N =68)	BLyS level (pg/mL)	Range* (pg/mL)	p value†
Normal (11)	179.78	96.08 – 263.49	Reference
ATN (19)	311.94	226.09 – 420.91	0.08
TCMR (7)	381.58	119.17 – 643.99	0.05
CNI toxicity (21)	399.85	265.21 – 534.49	0.03
ABMR (9)	819.04	502.28 – 1135.80	< 0.001

* ใช้ค่า 95% confident interval

† student's unpaired t-test

รูปที่ 4.1 ระดับ BLYS ที่ 7 วันหลังผ่าตัดของผู้ป่วยในแต่ละลักษณะพยาธิวิทยา

BLYS level (pg/mL)

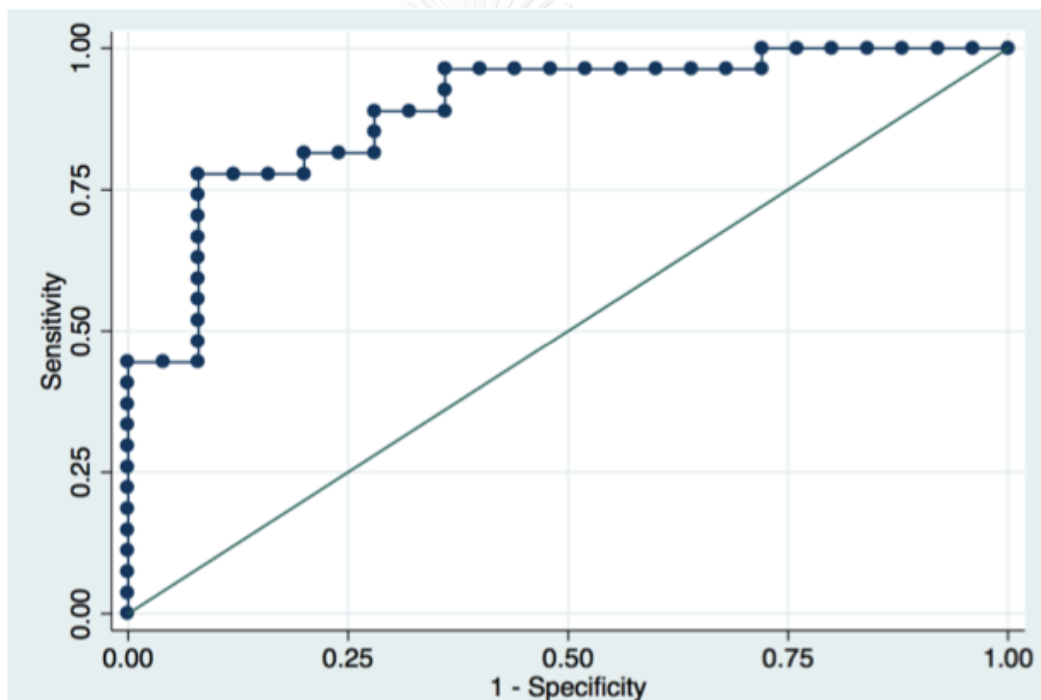


* student's unpaired t-test

หมายเหตุ ATN: acute tubular necrosis, TCMR: T cell-mediated rejection, CNI toxicity: Calcineurin inhibitor nephrotoxicity, ABMR: antibody-mediated rejection

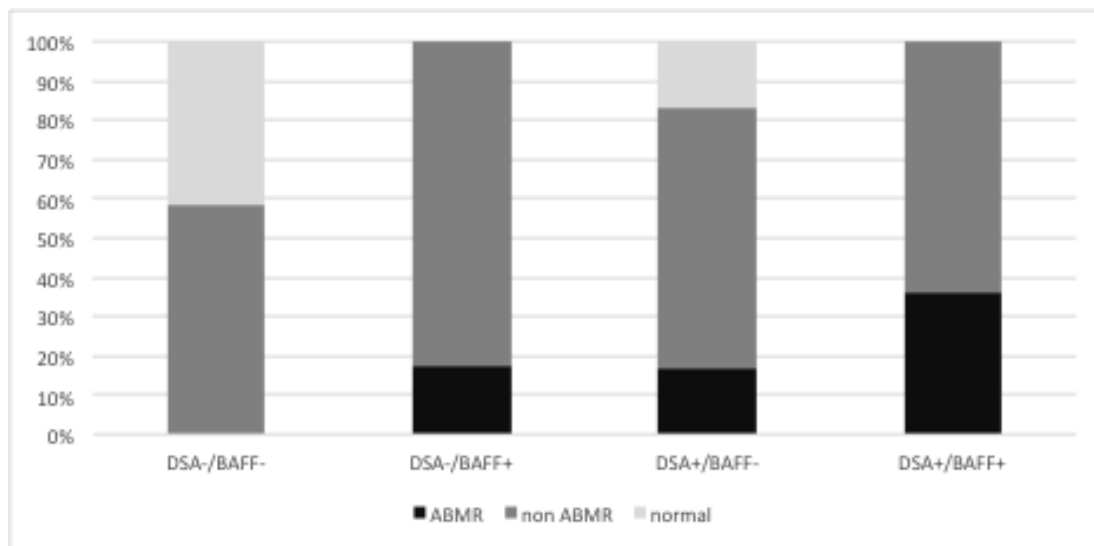
จากข้อมูลดังที่แสดงมาข้างต้น พบว่าค่า BLYS มีความสัมพันธ์กับ antibody-mediated rejection วินิจฉัยโดยผลทางพยาธิวิทยา เมื่อพิจารณาค่า BLYS ในระดับต่างๆ แสดงเป็นค่า receiver operating characteristic (ROC) curve ดังรูปที่ 4.2 ในการพยากรณ์การเกิด antibody mediated rejection และเมื่อค่า cut off ที่ระดับ BLYS ที่มากกว่า 499.98 pg/mL สามารถพยากรณ์การเกิด antibody mediated rejection ที่ 6 เดือน โดยค่า cut off ดังกล่าวจะมีความไวร้อยละ 77.78 และมีความจำเพาะร้อยละ 92

รูปที่ 4.2 ROC curve ของระดับ BLYS ที่ 7 วันหลังผ่าตัดในการพยากรณ์การเกิด antibody-mediated rejection ที่ 6 เดือน



เมื่อพิจารณาค่า BLYS ที่มากกว่า 500 pg/mL ร่วมกับค่า DSA ที่เป็นปัจจัยที่สำคัญที่จะทำให้เกิด antibody mediated rejection ในผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา พบว่าผู้ป่วยที่มีค่า DSA เป็นบวก ร่วมกับค่า BLYS ตั้งแต่ 500 pg/mL เกิด antibody-mediated rejection มากที่สุด 35% ส่วนผู้ป่วยที่มีค่า DSA เป็นลบร่วมกับค่า BLYS น้อยกว่า 500 pg/mL ไม่พบว่าเกิด antibody mediated rejection รายละเอียดดังรูปที่ 4.3

รูปที่ 4.3 อัตราส่วนของการเกิด antibody-mediated rejection แบ่งตามผลของ DSA ร่วมกับ BLyS



ดังนั้น เมื่อวิเคราะห์ความเสี่ยงต่อการเกิด antibody-mediated rejection ที่ค่า BLyS ระดับต่างๆ ใช้การวิเคราะห์ multivariate Cox proportional hazard model โดยใส่ตัวแปรที่เกี่ยวข้อง โดยใช้วิธี forward stepwise แบ่งค่า BLyS เป็น 3 ช่วง คือ 0-300 pg/mL 301- pg/mL และมากกว่า 500 pg/mL เมื่อควบคุมตัวแปรอายุ พบว่าค่า BLyS 0-300 pg/mL มีความเสี่ยงต่อการเกิด antibody-mediated rejection ร้อยละ 64 ค่า BLyS 301-500 pg/mL มีความเสี่ยงต่อการเกิด antibody-mediated rejection ร้อยละ 112 ค่า BLyS มากกว่า 500 pg/mL มีความเสี่ยงต่อการเกิด antibody-mediated rejection ร้อยละ 251 ดังนั้น สรุปได้ว่าระดับ BLyS ที่เพิ่มขึ้นจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิด antibody-mediated rejection อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทุก ดังในตารางที่ 4.7

ตาราง 4.7 Cox proportional hazard ratio ของค่า BLyS เมื่อควบคุมตัวแปรด้วยอายุ

BLyS level (pg/mL)	Adjusted hazard ratio	Confidence interval*	P value
0-300	1.64	1.06 – 2.54	0.03
301-500	2.12	1.37 – 3.27	0.01
มากกว่า 500	2.51	1.57 – 4.00	<0.01

*ใช้ค่า 95% confident interval

เมื่อควบคุมตัวแปรที่เป็นปัจจัยสำคัญต่อการเกิด antibody mediated rejection คือ pretransplant anti-HLA ร่วมกับอายุ พบว่าค่า BLyS 0-300 pg/mL มีความเสี่ยงต่อการเกิด antibody-mediated rejection ร้อยละ 64 ค่า BLyS 301-500 pg/mL มีความเสี่ยงต่อการเกิด antibody mediated rejection ร้อยละ 112 ค่า BLyS มากกว่า 500 pg/mL มีความเสี่ยงต่อการเกิด antibody mediated rejection ร้อยละ 251 ดังนั้น สรุปได้ว่าค่า BLyS ที่เพิ่มขึ้นจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิด antibody mediated rejection อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังในตารางที่ 4.8

ตาราง 4.8 Cox proportional hazard ratio ของค่า BLyS เมื่อควบคุมตัวแปรด้วยอายุและ DSA

BLyS level (pg/mL)	Adjusted hazard ratio	Confidence interval*	P value
0-300	1.35	(0.97 – 1.01)	0.18
301-500	2.07	(1.34 – 3.20)	0.01
มากกว่า 500	2.60	(1.63 – 4.16)	<0.01

*ใช้ค่า 95% confident interval

4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า BLyS หลังผ่าตัด 180 วัน และผลพยาธิวิทยา

เมื่อพิจารณาค่า BLyS ณ วันที่เจาะชิ้นเนื้อไต ในหลังการผ่าตัด 180 วัน แบ่งแยกผู้ป่วยตามลักษณะพยาธิวิทยาดังตารางที่ 14 พบว่าผู้ป่วยที่มีลักษณะพยาธิวิทยาเป็น antibody-mediated rejection จะมีระดับของ BLyS หลังผ่าตัดวันที่ 180 แตกต่างกับผู้ป่วยที่มีลักษณะพยาธิวิทยาปกติ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ดังตารางที่ 4.9

ตาราง 4.9 ความแตกต่างของระดับ BLyS ที่ 180 วันหลังผ่าตัดของผู้ป่วยในแต่ละลักษณะพยาธิวิทยา โดยเปรียบเทียบกับค่า BLyS ในผู้ป่วยที่มีลักษณะพยาธิวิทยาปกติ

Pathology (N)	BLyS level (pg/mL)	95% CI (pg/mL)	p value*
Normal (11)	291.32	211.71 – 370.92	Reference
ATN (21)	655.73	431.82 – 879.64	0.02
TCMR (7)	763.35	353.63 – 1173.06	0.003
CNI toxicity (21)	932.37	544.13 – 1320.62	0.02
ABMR (13)	1225.50	867.21 – 1583.80	< 0.001

* student's unpaired t-test

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล ข้อจำกัดและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ค่า BLYS มากที่สุดทั้งในระยะหลังการผ่าตัดปลูกถ่ายไต 7 วันและ 6 เดือน ในกลุ่มผู้ป่วยที่เป็น antibody-mediated rejection ที่ 6 เดือน ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับ BLYS สูง พบอุบัติการณ์ antibody-mediated rejection ร้อยละ 17.1 ระดับ BLYS ที่สูงหลังผ่าตัด 7 วันมีความสัมพันธ์กับลักษณะพยาธิวิทยาที่เป็น antibody-mediated rejection เมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะพยาธิวิทยาปกติ โดยเฉพาะระดับ BLYS ที่มากกว่าเท่ากับ 499.98 pg/mL โดยมีค่า sensitivity ร้อยละ 77.8 และ specificity ร้อยละ 92 ดังนั้น การเจาะระดับ BLYS หลังผ่าตัดจะช่วยทำนายการเกิด antibody-mediated rejection ได้

5.2 อภิปรายผล

ค่า BLYS ที่สูง เกิดจากกระตุ้นที่ BAFF-R ในระยะ late transitional B cell ทำให้ BLYS มี sensitivity มากขึ้น ระดับ BLYS จะเพิ่มขึ้น เกิดการเปลี่ยนแปลงจาก late transitional B cell ไปเป็น mature B cell ระดับของ BLYS ยังคงสูงขึ้นอีกและ BAFF-R มี sensitivity ที่เพิ่มขึ้น เมื่อมีการสัมผัสด้วยแอนติเจนก็คือการได้รับ allograft ระดับ BLYS ก็ยังมีระดับที่สูงและ BAFF-R มี sensitivity ที่มาก คงตัวอยู่ระยะหนึ่ง ซึ่งเป็นระยะที่จะทำให้ mature B cell เปลี่ยนแปลงไปเป็น memory B cell และ plasma cell มีหน้าที่สร้างแอนติบอดีทำให้เกิด antibody-mediated rejection ได้

การที่ผู้ป่วยหลังผ่าตัดปลูกถ่ายไต ก็คือการสัมผัสกับแอนติเจน ในผู้ป่วยที่มีการเพิ่มของระดับ BLYS ก็น่าจะบ่งบอกถึงภาวะที่มีการกระตุ้นการพัฒนาของ mature B cell ไปเป็น memory B cell และ plasma cell ที่เพิ่มขึ้น หรือการที่ B-cell เหล่านี้จะมีอายุ (survival) ที่ยาวนานขึ้น ดังนั้น การตรวจพบค่า BLYS ที่เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยหลังการผ่าตัด สามารถช่วยทำนายการเกิด antibody-mediated rejection ได้ โดยที่การศึกษาสามารถแสดงถึงความสัมพันธ์ของ ระดับ BLYS ที่เพิ่มขึ้น หลังผ่าตัด 7 วัน กับการเกิด antibody-mediated rejection ที่เป็นลักษณะ subclinical rejection ที่ระยะเวลา 6 เดือน ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาอื่นที่แสดงถึงความสัมพันธ์ของระดับ BLYS

ที่สูงกับ surrogate marker อื่นๆ ได้แก่ DSA^{150 153 148} หรือผลพยาธิวิทยาเมื่อเกิดอาการและอาการแสดงของการปฏิเสธไตแล้ว (indicated biopsy)^{143, 146, 152}

ช่วงเวลาในการเจาะระดับ BLYS ในเลือด จากการศึกษา¹⁴³ ผู้วิจัยมีความเห็นว่า การเจาะระดับ BLYS หลังผ่าตัด 7 วัน มีความสัมพันธ์กับการเกิด antibody-mediated rejection อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทางทฤษฎีดังที่ได้กล่าวไปตอนต้นนั้น BLYS ที่ก่อนผ่าตัด¹⁴³ มีความสัมพันธ์ต่อการเกิด antibody-mediated rejection ในระยะหลังการปลูกถ่ายไตไปแล้วมากกว่า 5 ปี ในกลุ่มที่มีความเสี่ยงสูงเท่านั้น อาจเกิดจากการเจาะก่อนการผ่าตัดปลูกถ่ายไตเป็นช่วงที่ยังไม่ได้สัมผัสกับแอนติเจนที่มาจากไตที่ได้รับ และยังมีปัจจัยกวน ได้แก่ ค่าการทำงานของไตก่อนการผ่าตัด¹⁴⁰

แต่การเจาะระดับ BLYS หลังการทำการผ่าตัด 3 เดือน 6 เดือน และ 12 เดือน ไม่มีความแตกต่างกันในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงต่อการเกิด antibody-mediated rejection แต่ระดับ BLYS จะสูงขึ้นหลัง 12 เดือนเป็นต้นไป และไม่พบความสัมพันธ์ของระดับ BLYS และการเกิด antibody-mediated rejection ในระยะยาวอีกด้วย¹⁵¹ แต่การศึกษานี้อธิบายการเกิด antibody-mediated rejection ด้วยการวินิจฉัยด้วยพยาธิวิทยาในผู้ป่วยที่สงสัย antibody-mediated rejection เท่านั้น จึงไม่สามารถบอกได้ถึง subclinical rejection ได้

การใช้ pre-transplant DSA และ de novo DSA จะสามารถช่วยในการทำนายการเกิด allograft dysfunction ได้เพียง 20-30%¹⁵⁵ และในกรณีที่ตรวจไม่พบ DSA อาจจะไม่สามาถ exclude ว่าไม่เกิด antibody-mediated rejection ได้ ดังนั้น จากการศึกษา¹⁵⁵ พบว่า ค่า BLYS ที่สูงมากกว่า 500 pg/mL ร่วมกับ pre-transplant DSA จะสามารถช่วยในการจำแนกผู้ป่วยว่าผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงต่อการเกิด antibody-mediated rejection มากที่สุดคือ ผู้ป่วยที่มีค่า BLYS สูงและ pre-transplant DSA เป็นบวก ส่วนผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงต่อการเกิด antibody-mediated rejection ต่ำที่สุดคือ ผู้ป่วยที่มีค่า BLYS น้อยกว่า 500 pg/mL และ pre-transplant DSA เป็นลบ

5.3 ข้อจำกัด

การศึกษานี้ทำการศึกษาเฉพาะ soluble BLYS ซึ่งไม่ได้ศึกษาทั้งระบบของ BLYS อันได้แก่ receptor, transcription ซึ่งจะทำให้สามารถบอกความสัมพันธ์กับการเกิด antibody-mediated rejection ได้ดียิ่งขึ้น และการใช้ค่า BLYS หลายๆ จุด อาจบอก kinetics ของ BLYS ที่ทำให้เกิด antibody-mediated rejection ได้ดียิ่งขึ้น และเนื่องจากระยะเวลาที่ทำการศึกษานี้ค่อนข้างจำกัด จึงไม่สามารถบอกถึงการทำงานของไตในระยะยาวของผู้ป่วยแต่ละกลุ่มได้

5.4 ข้อเสนอแนะ

ในปัจจุบันการตรวจระดับ BLYS ในเลือดยังไม่เป็นที่แพร่หลาย แต่เป็นการตรวจที่ใช้เทคนิค ELISA ที่ไม่ยุ่งยาก สามารถทำได้ในสถาบันต่างๆ หากมีการใช้ในทางคลินิกอาจจะต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับ ค่า BLYS ที่ระยะเวลาหลังการผ่าตัดต่างกัน หรือ ระดับต่างกัน และความสัมพันธ์กันทางคลินิก

5.4.1 การนำไปใช้ในเชิงปฏิบัติ (Implication for practice)

การใช้ค่าของ BLYS หลังผ่าตัด 7 วันร่วมกับ DSA จะสามารถแยกผู้ป่วยตามความเสี่ยงต่อการเกิด antibody-mediated rejection ได้ และช่วยเป็นแนวทางในการป้องกันการเกิดและรักษา antibody-mediated rejection ได้

5.4.2 การนำไปใช้ในเชิงงานวิจัยในอนาคต (Implication for further research)

ในปัจจุบัน มียาที่ยับยั้งการทำงานของระบบ BLYS ได้แก่ Belimumab ที่ยับยั้งการทำงานของ BLYS ไม่ให้จับกับ B cell receptor ซึ่งได้ผลในการรักษา systemic lupus erythematosus ดังนั้น ผู้ป่วยที่มีค่า BLYS สูง อาจจะได้ประโยชน์ในยาในกลุ่มนี้ ซึ่งจะต้องทำการศึกษาต่อไป

รายการอ้างอิง

1. Ojo AO, Wolfe RA, Held PJ, Port FK, Schmouder RL. Delayed graft function: Risk factors and implications for renal allograft survival. *Transplantation*. 1997;63:968-74.
2. Quiroga I, McShane P, Koo DD, Gray D, Friend PJ, Fuggle S, et al. Major effects of delayed graft function and cold ischaemia time on renal allograft survival. *Nephrol Dial Transplant*. 2006;21:1689-96.
3. Yarlagadda SG, Coca SG, Formica RN, Jr., Poggio ED, Parikh CR. Association between delayed graft function and allograft and patient survival: A systematic review and meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2009;24:1039-47.
4. Perico N, Cattaneo D, Sayegh MH, Remuzzi G. Delayed graft function in kidney transplantation. *Lancet*. 2004;364:1814-27.
5. Malinoski DJ, Patel MS, Ahmed O, Daly MC, Mooney S, Graybill CO, et al. The impact of meeting donor management goals on the development of delayed graft function in kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2013;13:993-1000.
6. Boom H, Mallat MJ, de Fijter JW, Zwinderman AH, Paul LC. Delayed graft function influences renal function, but not survival. *Kidney Int*. 2000;58:859-66.
7. Terasaki PI, Ozawa M. Predicting kidney graft failure by hla antibodies: A prospective trial. *Am J Transplant*. 2004;4:438-43.
8. Zou Y, Stastny P, Susal C, Dohler B, Opelz G. Antibodies against mica antigens and kidney-transplant rejection. *N Engl J Med*. 2007;357:1293-300.
9. Port FK, Merion RM, Goodrich NP, Wolfe RA. Recent trends and results for organ donation and transplantation in the united states, 2005. *Am J Transplant*. 2006;6:1095-100.
10. Ojo AO, Hanson JA, Meier-Kriesche H, Okechukwu CN, Wolfe RA, Leichtman AB, et al. Survival in recipients of marginal cadaveric donor kidneys compared with

- other recipients and wait-listed transplant candidates. *J Am Soc Nephrol.* 2001;12:589-97.
11. Sellers MT, Velidedeoglu E, Bloom RD, Grossman RA, Markmann JW, Najj A, et al. Expanded-criteria donor kidneys: A single-center clinical and short-term financial analysis--cause for concern in retransplantation. *Transplantation.* 2004;78:1670-5.
 12. Pascual J, Zamora J, Pirsch JD. A systematic review of kidney transplantation from expanded criteria donors. *Am J Kidney Dis.* 2008;52:553-86.
 13. Summers DM, Johnson RJ, Hudson A, Collett D, Watson CJ, Bradley JA. Effect of donor age and cold storage time on outcome in recipients of kidneys donated after circulatory death in the uk: A cohort study. *Lancet.* 2013;381:727-34.
 14. Lim WH, Chang S, Chadban S, Campbell S, Dent H, Russ GR, et al. Donor-recipient age matching improves years of graft function in deceased-donor kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25:3082-9.
 15. Ojo AO, Leichtman AB, Punch JD, Hanson JA, Dickinson DM, Wolfe RA, et al. Impact of pre-existing donor hypertension and diabetes mellitus on cadaveric renal transplant outcomes. *Am J Kidney Dis.* 2000;36:153-9.
 16. Meier-Kriesche HU, Ojo AO, Hanson JA, Cibrik DM, Punch JD, Leichtman AB, et al. Increased impact of acute rejection on chronic allograft failure in recent era. *Transplantation.* 2000;70:1098-100.
 17. Brenner BM, Cohen RA, Milford EL. In renal transplantation, one size may not fit all. *J Am Soc Nephrol.* 1992;3:162-9.
 18. Mange KC, Cizman B, Joffe M, Feldman HI. Arterial hypertension and renal allograft survival. *JAMA.* 2000;283:633-8.
 19. Naesens M, Heylen L. Intrarenal resistive index after renal transplantation. *N Engl J Med.* 2014;370:677-8.
 20. Hayakawa K, Hardy RR, Herzenberg LA. Progenitors for ly-1 b cells are distinct from progenitors for other b cells. *J Exp Med.* 1985;161:1554-68.
 21. Baumgarth N. The double life of a b-1 cell: Self-reactivity selects for protective effector functions. *Nat Rev Immunol.* 2011;11:34-46.

22. Montecino-Rodriguez E, Dorshkind K. New perspectives in b-1 b cell development and function. *Trends Immunol.* 2006;27:428-33.
23. Griffin DO, Holodick NE, Rothstein TL. Human b1 cells in umbilical cord and adult peripheral blood express the novel phenotype cd20+ cd27+ cd43+ cd70. *J Exp Med.* 2011;208:67-80.
24. Verbinnen B, Covens K, Moens L, Meyts I, Bossuyt X. Human cd20+cd43+cd27+cd5- b cells generate antibodies to capsular polysaccharides of streptococcus pneumoniae. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;130:272-5.
25. Duan B, Morel L. Role of b-1a cells in autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2006;5:403-8.
26. Nogueira-Martins MF, Mariano M. B-1 cell participation in t-cell-mediated alloimmune response. *Immunobiology.* 2010;215:264-74.
27. Zhou W, Ohdan H, Asahara T. Calcineurin inhibitors block b-1 cell differentiation: The relevance to immunosuppressive treatment in abo-incompatible transplantation. *Transplant Proc.* 2005;37:1808-11.
28. Goodnow CC, Sprent J, Fazekas de St Groth B, Vinuesa CG. Cellular and genetic mechanisms of self tolerance and autoimmunity. *Nature.* 2005;435:590-7.
29. Dorner T, Radbruch A, Burmester GR. B-cell-directed therapies for autoimmune disease. *Nat Rev Rheumatol.* 2009;5:433-41.
30. Allman D, Pillai S. Peripheral b cell subsets. *Curr Opin Immunol.* 2008;20:149-57.
31. Shapiro-Shelef M, Calame K. Regulation of plasma-cell development. *Nat Rev Immunol.* 2005;5:230-42.
32. Kunkel EJ, Butcher EC. Plasma-cell homing. *Nat Rev Immunol.* 2003;3:822-9.
33. Nankivell BJ, Alexander SI. Rejection of the kidney allograft. *N Engl J Med.* 2010;363:1451-62.
34. Itano AA, Jenkins MK. Antigen presentation to naive cd4 t cells in the lymph node. *Nat Immunol.* 2003;4:733-9.
35. Harris DP, Goodrich S, Mohrs K, Mohrs M, Lund FE. Cutting edge: The development of il-4-producing b cells (b effector 2 cells) is controlled by il-4, il-4 receptor alpha, and th2 cells. *J Immunol.* 2005;175:7103-7.

36. Rodriguez-Pinto D, Moreno J. B cells can prime naive cd4+ t cells in vivo in the absence of other professional antigen-presenting cells in a cd154-cd40-dependent manner. *Eur J Immunol.* 2005;35:1097-105.
37. Gommerman JL, Browning JL. Lymphotoxin/light, lymphoid microenvironments and autoimmune disease. *Nat Rev Immunol.* 2003;3:642-55.
38. Tumanov AV, Kuprash DV, Nedospasov SA. The role of lymphotoxin in development and maintenance of secondary lymphoid tissues. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003;14:275-88.
39. Browning JL. B cells move to centre stage: Novel opportunities for autoimmune disease treatment. *Nat Rev Drug Discov.* 2006;5:564-76.
40. Starzl TE, Weil R, 3rd, Iwatsuki S, Klintmalm G, Schroter GP, Koep LJ, et al. The use of cyclosporin a and prednisone in cadaver kidney transplantation. *Surg Gynecol Obstet.* 1980;151:17-26.
41. Ferguson R. Acute rejection episodes--best predictor of long-term primary cadaveric renal transplant survival. *Clin Transplant.* 1994;8:328-31.
42. Barnett N, Dorling A, Mamode N. B cells in renal transplantation: Pathological aspects and therapeutic interventions. *Nephrol Dial Transplant.* 2011;26:767-74.
43. Noorchashm H, Reed AJ, Rostami SY, Mozaffari R, Zekavat G, Koeberlein B, et al. B cell-mediated antigen presentation is required for the pathogenesis of acute cardiac allograft rejection. *J Immunol.* 2006;177:7715-22.
44. MacLennan IC, Gulbranson-Judge A, Toellner KM, Casamayor-Palleja M, Chan E, Sze DM, et al. The changing preference of t and b cells for partners as t-dependent antibody responses develop. *Immunol Rev.* 1997;156:53-66.
45. Parker DC. T cell-dependent b cell activation. *Annu Rev Immunol.* 1993;11:331-60.
46. Batista FD, Harwood NE. The who, how and where of antigen presentation to b cells. *Nat Rev Immunol.* 2009;9:15-27.
47. Murphy KP. *Janeway's immunobiology.* 8 ed. New York: Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC, an informa business,; 2008.
48. Zhou W, Medof ME, Heeger PS, Sacks S. Graft-derived complement as a mediator of transplant injury. *Curr Opin Immunol.* 2007;19:569-76.

49. Wasowska BA. Mechanisms involved in antibody- and complement-mediated allograft rejection. *Immunol Res.* 2010;47:25-44.
50. Farkash EA, Colvin RB. Diagnostic challenges in chronic antibody-mediated rejection. *Nat Rev Nephrol.* 2012;8:255-7.
51. Loupy A, Lefaucheur C, Vernerey D, Prugger C, Duong van Huyen JP, Mooney N, et al. Complement-binding anti-hla antibodies and kidney-allograft survival. *N Engl J Med.* 2013;369:1215-26.
52. Roberts DM, Jiang SH, Chadban SJ. The treatment of acute antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients-a systematic review. *Transplantation.* 2012;94:775-83.
53. Yurasov S, Wardemann H, Hammersen J, Tsuiji M, Meffre E, Pascual V, et al. Defective b cell tolerance checkpoints in systemic lupus erythematosus. *J Exp Med.* 2005;201:703-11.
54. Dillon SR, Gross JA, Ansell SM, Novak AJ. An april to remember: Novel tnfr ligands as therapeutic targets. *Nat Rev Drug Discov.* 2006;5:235-46.
55. Nossal GJ, Pike BL. Evidence for the clonal abortion theory of b-lymphocyte tolerance. *J Exp Med.* 1975;141:904-17.
56. Cyster JG, Hartley SB, Goodnow CC. Competition for follicular niches excludes self-reactive cells from the recirculating b-cell repertoire. *Nature.* 1994;371:389-95.
57. Parsons RF, Vivek K, Redfield RR, 3rd, Migone TS, Cancro MP, Najj A, et al. B-lymphocyte homeostasis and blys-directed immunotherapy in transplantation. *Transplant Rev (Orlando).* 2010;24:207-21.
58. Parsons RF, Redfield RR, 3rd, Rodriguez E, Mustafa MM, Vivek K, Murayama M, et al. Primary b cell repertoire remodeling to achieve humoral transplantation tolerance. *Semin Immunol.* 2012;24:109-14.
59. Cosman D. A family of ligands for the tnfr receptor superfamily. *Stem Cells.* 1994;12:440-55.
60. Trembl JF, Hao Y, Stadanlick JE, Cancro MP. The blys family: Toward a molecular understanding of b cell homeostasis. *Cell Biochem Biophys.* 2009;53:1-16.

61. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The tnf and tnf receptor superfamilies: Integrating mammalian biology. *Cell*. 2001;104:487-501.
62. Guan ZB, Ye JL, Dan WB, Yao WJ, Zhang SQ. Cloning, expression and bioactivity of duck baff. *Mol Immunol*. 2007;44:1471-6.
63. Koskela K, Nieminen P, Kohonen P, Salminen H, Lassila O. Chicken b-cell-activating factor: Regulator of b-cell survival in the bursa of fabricius. *Scand J Immunol*. 2004;59:449-57.
64. Schneider K, Kothlow S, Schneider P, Tardivel A, Gobel T, Kaspers B, et al. Chicken baff--a highly conserved cytokine that mediates b cell survival. *Int Immunol*. 2004;16:139-48.
65. Kothlow S, Morgenroth I, Graef Y, Schneider K, Riehl I, Staeheli P, et al. Unique and conserved functions of b cell-activating factor of the tnf family (baff) in the chicken. *Int Immunol*. 2007;19:203-15.
66. Nardelli B, Belvedere O, Roschke V, Moore PA, Olsen HS, Migone TS, et al. Synthesis and release of b-lymphocyte stimulator from myeloid cells. *Blood*. 2001;97:198-204.
67. Scapini P, Bazzoni F, Cassatella MA. Regulation of b-cell-activating factor (baff)/b lymphocyte stimulator (blys) expression in human neutrophils. *Immunol Lett*. 2008;116:1-6.
68. Hahne M, Kataoka T, Schroter M, Hofmann K, Irmeler M, Bodmer JL, et al. April, a new ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates tumor cell growth. *J Exp Med*. 1998;188:1185-90.
69. Kelly K, Manos E, Jensen G, Nadauld L, Jones DA. April/trdl-1, a tumor necrosis factor-like ligand, stimulates cell death. *Cancer Res*. 2000;60:1021-7.
70. Pradet-Balade B, Medema JP, Lopez-Fraga M, Lozano JC, Kolfschoten GM, Picard A, et al. An endogenous hybrid mrna encodes twe-pril, a functional cell surface tweak-april fusion protein. *EMBO J*. 2002;21:5711-20.
71. Kolfschoten GM, Pradet-Balade B, Hahne M, Medema JP. Twe-pril; a fusion protein of tweak and april. *Biochem Pharmacol*. 2003;66:1427-32.
72. Wallweber HJ, Compaan DM, Starovasnik MA, Hymowitz SG. The crystal structure of a proliferation-inducing ligand, april. *J Mol Biol*. 2004;343:283-90.

73. Hymowitz SG, Patel DR, Wallweber HJ, Runyon S, Yan M, Yin J, et al. Structures of april-receptor complexes: Like bcma, taci employs only a single cysteine-rich domain for high affinity ligand binding. *J Biol Chem*. 2005;280:7218-27.
74. Bossen C, Schneider P. Baff, april and their receptors: Structure, function and signaling. *Semin Immunol*. 2006;18:263-75.
75. Hendriks J, Planelles L, de Jong-Odding J, Hardenberg G, Pals ST, Hahne M, et al. Heparan sulfate proteoglycan binding promotes april-induced tumor cell proliferation. *Cell Death Differ*. 2005;12:637-48.
76. Ingold K, Zumsteg A, Tardivel A, Huard B, Steiner QG, Cachero TG, et al. Identification of proteoglycans as the april-specific binding partners. *J Exp Med*. 2005;201:1375-83.
77. Chiu A, Xu W, He B, Dillon SR, Gross JA, Sievers E, et al. Hodgkin lymphoma cells express taci and bcma receptors and generate survival and proliferation signals in response to baff and april. *Blood*. 2007;109:729-39.
78. Mackay F, Tangye SG. The role of the baff/april system in b cell homeostasis and lymphoid cancers. *Curr Opin Pharmacol*. 2004;4:347-54.
79. Madry C, Laabi Y, Callebaut I, Roussel J, Hatzoglou A, Le Coniat M, et al. The characterization of murine bcma gene defines it as a new member of the tumor necrosis factor receptor superfamily. *Int Immunol*. 1998;10:1693-702.
80. von Bulow GU, Bram RJ. Nf- κ B activation induced by a caml-interacting member of the tumor necrosis factor receptor superfamily. *Science*. 1997;278:138-41.
81. Laabi Y, Gras MP, Brouet JC, Berger R, Larsen CJ, Tsapis A. The bcma gene, preferentially expressed during b lymphoid maturation, is bidirectionally transcribed. *Nucleic Acids Res*. 1994;22:1147-54.
82. Zane NA, Gundelach JH, Lindquist LD, Bram RJ. Essential role for caml in follicular b cell survival and homeostasis. *J Immunol*. 2012;188:3009-18.
83. Baker KP, Edwards BM, Main SH, Choi GH, Wager RE, Halpern WG, et al. Generation and characterization of lymphostat-b, a human monoclonal antibody that antagonizes the bioactivities of b lymphocyte stimulator. *Arthritis Rheum*. 2003;48:3253-65.

84. Seshasayee D, Valdez P, Yan M, Dixit VM, Tumas D, Grewal IS. Loss of taci causes fatal lymphoproliferation and autoimmunity, establishing taci as an inhibitory blys receptor. *Immunity*. 2003;18:279-88.
85. Treml LS, Carlesso G, Hoek KL, Stadanlick JE, Kambayashi T, Bram RJ, et al. Tlr stimulation modifies blys receptor expression in follicular and marginal zone b cells. *J Immunol*. 2007;178:7531-9.
86. Thompson JS, Bixler SA, Qian F, Vora K, Scott ML, Cachero TG, et al. Baff-r, a newly identified tnf receptor that specifically interacts with baff. *Science*. 2001;293:2108-11.
87. Martin F, Kearney JF. Marginal-zone b cells. *Nat Rev Immunol*. 2002;2:323-35.
88. Yan M, Brady JR, Chan B, Lee WP, Hsu B, Harless S, et al. Identification of a novel receptor for b lymphocyte stimulator that is mutated in a mouse strain with severe b cell deficiency. *Curr Biol*. 2001;11:1547-52.
89. Harless SM, Lentz VM, Sah AP, Hsu BL, Clise-Dwyer K, Hilbert DM, et al. Competition for blys-mediated signaling through bcmd/br3 regulates peripheral b lymphocyte numbers. *Curr Biol*. 2001;11:1986-9.
90. Shulga-Morskaya S, Dobles M, Walsh ME, Ng LG, MacKay F, Rao SP, et al. B cell-activating factor belonging to the tnf family acts through separate receptors to support b cell survival and t cell-independent antibody formation. *J Immunol*. 2004;173:2331-41.
91. Hardy RR, Kincade PW, Dorshkind K. The protean nature of cells in the b lymphocyte lineage. *Immunity*. 2007;26:703-14.
92. Georgopoulos K. Haematopoietic cell-fate decisions, chromatin regulation and ikaros. *Nat Rev Immunol*. 2002;2:162-74.
93. Allman DM, Ferguson SE, Lentz VM, Cancro MP. Peripheral b cell maturation. ii. Heat-stable antigen(hi) splenic b cells are an immature developmental intermediate in the production of long-lived marrow-derived b cells. *J Immunol*. 1993;151:4431-44.
94. Osmond DG. Population dynamics of bone marrow b lymphocytes. *Immunol Rev*. 1986;93:103-24.

95. McLean AR, Rosado MM, Agenes F, Vasconcellos R, Freitas AA. Resource competition as a mechanism for b cell homeostasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94:5792-7.
96. Freitas AA, Rosado MM, Viale AC, Grandien A. The role of cellular competition in b cell survival and selection of b cell repertoires. *Eur J Immunol*. 1995;25:1729-38.
97. Hsu BL, Harless SM, Lindsley RC, Hilbert DM, Cancro MP. Cutting edge: Bly enables survival of transitional and mature b cells through distinct mediators. *J Immunol*. 2002;168:5993-6.
98. von Bulow GU, van Deursen JM, Bram RJ. Regulation of the t-independent humoral response by taci. *Immunity*. 2001;14:573-82.
99. Shinohara H, Yasuda T, Aiba Y, Sanjo H, Hamadate M, Watarai H, et al. Pkc beta regulates bcr-mediated ikk activation by facilitating the interaction between tak1 and carma1. *J Exp Med*. 2005;202:1423-31.
100. Xu LG, Shu HB. Tnfr-associated factor-3 is associated with baff-r and negatively regulates baff-r-mediated nf-kappa b activation and il-10 production. *J Immunol*. 2002;169:6883-9.
101. Patke A, Mecklenbrauker I, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Tarakhovsky A. Baff controls b cell metabolic fitness through a pkc beta- and akt-dependent mechanism. *J Exp Med*. 2006;203:2551-62.
102. Mantchev GT, Cortesao CS, Rebrovich M, Cascalho M, Bram RJ. Taci is required for efficient plasma cell differentiation in response to t-independent type 2 antigens. *J Immunol*. 2007;179:2282-8.
103. Bossen C, Cachero TG, Tardivel A, Ingold K, Willen L, Dobles M, et al. Taci, unlike baff-r, is solely activated by oligomeric baff and april to support survival of activated b cells and plasmablasts. *Blood*. 2008;111:1004-12.
104. Holcik M, Korneluk RG. Xiap, the guardian angel. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2001;2:550-6.
105. Smith SH, Cancro MP. Cutting edge: B cell receptor signals regulate bly receptor levels in mature b cells and their immediate progenitors. *J Immunol*. 2003;170:5820-3.

106. Qian Y, Qin J, Cui G, Naramura M, Snow EC, Ware CF, et al. Act1, a negative regulator in cd40- and baff-mediated b cell survival. *Immunity*. 2004;21:575-87.
107. Miller DJ, Hanson KD, Carman JA, Hayes CE. A single autosomal gene defect severely limits igg but not igm responses in b lymphocyte-deficient a/wywj mice. *Eur J Immunol*. 1992;22:373-9.
108. Rahman ZS, Rao SP, Kalled SL, Manser T. Normal induction but attenuated progression of germinal center responses in baff and baff-r signaling-deficient mice. *J Exp Med*. 2003;198:1157-69.
109. Vora KA, Wang LC, Rao SP, Liu ZY, Majeau GR, Cutler AH, et al. Cutting edge: Germinal centers formed in the absence of b cell-activating factor belonging to the tnf family exhibit impaired maturation and function. *J Immunol*. 2003;171:547-51.
110. Hase H, Kanno Y, Kojima M, Hasegawa K, Sakurai D, Kojima H, et al. Baff/blys can potentiate b-cell selection with the b-cell coreceptor complex. *Blood*. 2004;103:2257-65.
111. O'Connor BP, Raman VS, Erickson LD, Cook WJ, Weaver LK, Ahonen C, et al. Bcma is essential for the survival of long-lived bone marrow plasma cells. *J Exp Med*. 2004;199:91-8.
112. Benson MJ, Dillon SR, Castigli E, Geha RS, Xu S, Lam KP, et al. Cutting edge: The dependence of plasma cells and independence of memory b cells on baff and april. *J Immunol*. 2008;180:3655-9.
113. Yang M, Hase H, Legarda-Addison D, Varughese L, Seed B, Ting AT. B cell maturation antigen, the receptor for a proliferation-inducing ligand and b cell-activating factor of the tnf family, induces antigen presentation in b cells. *J Immunol*. 2005;175:2814-24.
114. Scholz JL, Crowley JE, Tomayko MM, Steinel N, O'Neill PJ, Quinn WJ, 3rd, et al. Blys inhibition eliminates primary b cells but leaves natural and acquired humoral immunity intact. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:15517-22.
115. Groom J, Kalled SL, Cutler AH, Olson C, Woodcock SA, Schneider P, et al. Association of baff/blys overexpression and altered b cell differentiation with sjogren's syndrome. *J Clin Invest*. 2002;109:59-68.

116. Cheema GS, Roschke V, Hilbert DM, Stohl W. Elevated serum b lymphocyte stimulator levels in patients with systemic immune-based rheumatic diseases. *Arthritis Rheum.* 2001;44:1313-9.
117. Krumbholz M, Theil D, Derfuss T, Rosenwald A, Schrader F, Monoranu CM, et al. Baff is produced by astrocytes and up-regulated in multiple sclerosis lesions and primary central nervous system lymphoma. *J Exp Med.* 2005;201:195-200.
118. Zhang J, Roschke V, Baker KP, Wang Z, Alarcon GS, Fessler BJ, et al. Cutting edge: A role for b lymphocyte stimulator in systemic lupus erythematosus. *J Immunol.* 2001;166:6-10.
119. Stohl W, Metyas S, Tan SM, Cheema GS, Oamar B, Xu D, et al. B lymphocyte stimulator overexpression in patients with systemic lupus erythematosus: Longitudinal observations. *Arthritis Rheum.* 2003;48:3475-86.
120. Treamtrakanpon W, Tantivitayakul P, Benjachat T, Somparn P, Kittikowit W, Eiam-Ong S, et al. April, a proliferation-inducing ligand, as a potential marker of lupus nephritis. *Arthritis Res Ther.* 2012;14:R252.
121. Navarra SV, Guzman RM, Gallacher AE, Hall S, Levy RA, Jimenez RE, et al. Efficacy and safety of belimumab in patients with active systemic lupus erythematosus: A randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet.* 2011;377:721-31. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
122. Furie R, Petri M, Zamani O, Cervera R, Wallace DJ, Tegzova D, et al. A phase iii, randomized, placebo-controlled study of belimumab, a monoclonal antibody that inhibits b lymphocyte stimulator, in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2011;63:3918-30.
123. Losi CG, Silini A, Fiorini C, Soresina A, Meini A, Ferrari S, et al. Mutational analysis of human baff receptor tnfrsf13c (baff-r) in patients with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol.* 2005;25:496-502.
124. Salzer U, Chapel HM, Webster AD, Pan-Hammarstrom Q, Schmitt-Graeff A, Schlesier M, et al. Mutations in tnfrsf13b encoding taci are associated with common variable immunodeficiency in humans. *Nat Genet.* 2005;37:820-8.

125. Kern C, Cornuel JF, Billard C, Tang R, Rouillard D, Stenou V, et al. Involvement of baffle and apelin in the resistance to apoptosis of B-cells through an autocrine pathway. *Blood*. 2004;103:679-88.
126. Briones J, Timmerman JM, Hilbert DM, Levy R. Blyss and blyss receptor expression in non-hodgkin's lymphoma. *Exp Hematol*. 2002;30:135-41.
127. El-Sawa SF, Novak AJ, Grote DM, Ziesmer SC, Witzig TE, Kyle RA, et al. B-lymphocyte stimulator (blyss) stimulates immunoglobulin production and malignant B-cell growth in Waldenström macroglobulinemia. *Blood*. 2006;107:2882-8.
128. Kuppers R. B cells under influence: Transformation of B cells by Epstein-Barr virus. *Nat Rev Immunol*. 2003;3:801-12.
129. Szodoray P, Jonsson R. The baffle/apelin system in systemic autoimmune diseases with a special emphasis on Sjögren's syndrome. *Scand J Immunol*. 2005;62:421-8.
130. Notas G, Alexaki VI, Kampa M, Pelekanou V, Charalampopoulos I, Sabour-Alaoui S, et al. Apelin binding to BCMA activates a JNK2-Foxo3-GADD45 pathway and induces a G2/M cell growth arrest in liver cells. *J Immunol*. 2012;189:4748-58.
131. Pelekanou V, Notas G, Theodoropoulou K, Kampa M, Takos D, Alexaki VI, et al. Detection of the TNFSF members baffle, apelin, TWEAK and their receptors in normal kidney and renal cell carcinomas. *Anal Cell Pathol (Amst)*. 2011;34:49-60.
132. Toubi E, Gordon S, Kessel A, Rosner I, Rozenbaum M, Shoenfeld Y, et al. Elevated serum B-lymphocyte activating factor (baffle) in chronic hepatitis C virus infection: Association with autoimmunity. *J Autoimmun*. 2006;27:134-9.
133. Rodriguez B, Valdez H, Freimuth W, Butler T, Asaad R, Lederman MM. Plasma levels of B-lymphocyte stimulator increase with HIV disease progression. *AIDS*. 2003;17:1983-5.
134. McNamara PS, Fonseca AM, Howarth D, Correia JB, Slupsky JR, Trinick RE, et al. Respiratory syncytial virus infection of airway epithelial cells, in vivo and in vitro, supports pulmonary antibody responses by inducing expression of the B cell differentiation factor baffle. *Thorax*. 2013;68:76-81.

135. Adalid-Peralta L, Godot V, Colin C, Krzysiek R, Tran T, Poignard P, et al. Stimulation of the primary anti-hiv antibody response by ifn-alpha in patients with acute hiv-1 infection. *J Leukoc Biol.* 2008;83:1060-7.
136. Tsuji S, Cortesao C, Bram RJ, Platt JL, Cascalho M. Taci deficiency impairs sustained blimp-1 expression in b cells decreasing long-lived plasma cells in the bone marrow. *Blood.* 2011;118:5832-9.
137. Liu K, Zhang Y, Hu S, Yu Y, Yang Q, Jin D, et al. Increased levels of baff and april related to human active pulmonary tuberculosis. *PLoS One.* 2012;7:e38429.
138. Girndt M, Sester U, Sester M, Kaul H, Kohler H. Impaired cellular immune function in patients with end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant.* 1999;14:2807-10.
139. Girndt M, Sester M, Sester U, Kaul H, Kohler H. Molecular aspects of t- and b-cell function in uremia. *Kidney Int Suppl.* 2001;78:S206-11.
140. Pahl MV, Gollapudi S, Sepassi L, Gollapudi P, Elahimehr R, Vaziri ND. Effect of end-stage renal disease on b-lymphocyte subpopulations, il-7, baff and baff receptor expression. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25:205-12.
141. Ye Q, Wang L, Wells AD, Tao R, Han R, Davidson A, et al. Baff binding to t cell-expressed baff-r costimulates t cell proliferation and alloresponses. *Eur J Immunol.* 2004;34:2750-9.
142. Parsons RF, Yu M, Vivek K, Zekavat G, Rostami SY, Ziaie AS, et al. Murine islet allograft tolerance upon blockade of the b-lymphocyte stimulator, blys/baff. *Transplantation.* 2012;93:676-85.
143. Banham G, Prezzi D, Harford S, Taylor CJ, Hamer R, Higgins R, et al. Elevated pretransplantation soluble baff is associated with an increased risk of acute antibody-mediated rejection. *Transplantation.* 2013;96:413-20.
144. Snanoudj R, Candon S, Roelen DL, Jais JP, Claas FH, Legendre C, et al. Peripheral b-cell phenotype and baff levels are associated with hla immunization in patients awaiting kidney transplantation. *Transplantation.* 2014;97:917-24.

145. Xu H, He X, Liu Q, Chen Y, Zhu Y, Shi D, et al. The abnormal high expression of b cell activating factor belonging to tnf superfamily (baff) and its potential role in kidney transplant recipients. *Cell Mol Immunol*. 2008;5:465-70.
146. Bloom D, Chang Z, Pauly K, Kwun J, Fechner J, Hayes C, et al. Baff is increased in renal transplant patients following treatment with alemtuzumab. *Am J Transplant*. 2009;9:1835-45.
147. Zarkhin V, Li L, Kambham N, Sigdel T, Salvatierra O, Sarwal MM. A randomized, prospective trial of rituximab for acute rejection in pediatric renal transplantation. *Am J Transplant*. 2008;8:2607-17.
148. Zarkhin V, Li L, Sarwal MM. Baff may modulate the rate of b-cell repopulation after rituximab therapy for acute renal transplant rejection. *Transplantation*. 2009;88:1229-30.
149. Xu H, He X, Sun J, Shi D, Zhu Y, Zhang X. The expression of b-cell activating factor belonging to tumor necrosis factor superfamily (baff) significantly correlated with c4d in kidney allograft rejection. *Transplant Proc*. 2009;41:112-6.
150. Lehnhardt A, Dunst F, van Husen M, Loos S, Oh J, Eiermann T, et al. Elevated serum levels of b-cell activating factor in pediatric renal transplant patients. *Pediatr Nephrol*. 2012;27:1389-95.
151. Comoli P, Quartuccio G, Cioni M, Parodi A, Nocera A, Basso S, et al. Posttransplant soluble b-cell activating factor kinetics in pediatric recipients of first kidney allograft. *Transplantation*. 2014.
152. Xu H, He X, Liu Q, Shi D, Chen Y, Zhu Y, et al. Abnormal high expression of b-cell activating factor belonging to the tnf superfamily (baff) associated with long-term outcome in kidney transplant recipients. *Transplant Proc*. 2009;41:1552-6.
153. Thibault-Espitia A, Foucher Y, Danger R, Migone T, Pallier A, Castagnet S, et al. Baff and baff-r levels are associated with risk of long-term kidney graft dysfunction and development of donor-specific antibodies. *Am J Transplant*. 2012;12:2754-62.

154. Thauinat O, Patey N, Gautreau C, Lechaton S, Fremeaux-Bacchi V, Dieu-Nosjean MC, et al. B cell survival in intragraft tertiary lymphoid organs after rituximab therapy. *Transplantation*. 2008;85:1648-53.
155. Wu P, Everly MJ, Rebellato LM, Haisch CE, Briley KP, Bolin P, et al. Trends and characteristics in early glomerular filtration rate decline after posttransplantation alloantibody appearance. *Transplantation*. 2013;96:919-25.





ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

ชื่อโครงการวิจัย

ความสัมพันธ์ระหว่าง ระดับโปรตีนบลิสในเลือดหลังปลูกถ่ายไตกับการปฏิเสธไต

แพทย์ผู้ทำวิจัย

ชื่อ พญ.วรรณรัตน์ พงษ์พิรุฬห์

ที่อยู่ หน่วยโรคไต ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-2564251 ต่อ 202 ในเวลาราชการ มือถือ 085-951-5281

แพทย์ผู้ร่วมในโครงการวิจัย

ชื่อ ศ.นพ.ยิ่งยศ อวิหิสานนท์

ที่อยู่ หน่วยโรคไต ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-2564251 ต่อ 216 ในเวลาราชการ มือถือ 086-774-5050

ชื่อ อ.นพ.ณัฐวุฒิ ไตวนำชัย

ที่อยู่ หน่วยโรคไต ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-2564251 ต่อ 216 ในเวลาราชการ มือถือ 089-490-4222

ชื่อ อ.นพ.วิวัฒน์ จันเจริญฐานะ

ที่อยู่ หน่วยโรคไต ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-2564251 ต่อ 216 ในเวลาราชการ มือถือ 081-927-8526

ชื่อ อ.นพ.ดร.กฤษณ์ พงศ์พิรุฬห์
 ที่อยู่ ภาควิชาเวชศาสตร์ป้องกันและสังคม คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 เบอร์โทรศัพท์ 02-2527864 ต่อ 118ในเวลาราชการ มือถือ 086-605-5088

ชื่อ อ.นพ.ดร.อัษฎาศ์ ลิฬหวนิชกุล
 ที่อยู่ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 เบอร์โทรศัพท์ 02-2564459ในเวลาราชการ มือถือ 081-714-9750

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่แสดงข้อมูลเพื่อใช้ประกอบการตัดสินใจของท่านในการเข้าร่วมการศึกษาวิจัย อย่างไรก็ตามก่อนที่ท่านจะตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างถี่ถ้วน เพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมทำวิจัย ซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ท่านได้

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ท่านมีเวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจโดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่า จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

เหตุผลความเป็นมา

หลังการปลูกถ่ายไต การรับประทานยากดภูมิคุ้มกันจะเป็นส่วนสำคัญในการป้องกันภาวะปฏิเสธไต การตรวจค่าการทำงานไต การตรวจระดับยา ไม่สามารถบอกถึงภาวะภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยได้ ดังนั้น จึงมีแนวคิดที่จะนำเอาระดับของโปรตีนของเม็ดเลือดขาวชนิดบีลิมโฟไซท์ (B-lymphocyte) ซึ่งเม็ดเลือดขาวชนิดนี้จะมีส่วนที่จะทำให้เกิดกระบวนการปฏิเสธไต

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

วัตถุประสงค์หลักจากการศึกษาในครั้งนี้คือการศึกษาความสัมพันธ์ของระดับโปรตีนของเม็ดเลือดขาวชนิดบีลิมโฟไซท์ (B-lymphocyte) กับการเกิดการปฏิเสธไต จำนวนผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย คือ 41 คน

วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

หลังจากท่านให้ความยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ หากท่านมีคุณสมบัติตามเกณฑ์คัดเข้า ท่านจะได้รับการเจาะเลือดหลังการผ่าตัด 7 วัน โดยไม่ต้องเลือดเพิ่มเติมจากการรักษาเดิม และหลังผ่าตัด 6 เดือน ท่านจะได้เชิญให้มาพบแพทย์ตามวันเวลาที่ผู้ทำวิจัยนัดหมาย คือ วันศุกร์ของทุกสัปดาห์ เวลา 9.00 – 12.00 น. เพื่อสอบถามประวัติการรักษา ประเมินผลทางห้องปฏิบัติการต่างๆ ที่จะอยู่ในแผนการรักษาเดิมของท่าน ผู้วิจัยจะขอตรวจเลือดเพิ่ม 3 มิลลิลิตร เพื่อนำไปตรวจระดับโปรตีนของเม็ดเลือดขาวชนิดบีลิมโฟไซท์ (B-lymphocyte)

โดยตลอดระยะเวลาที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัย คือ 6 เดือนและพบผู้วิจัยหรือผู้ร่วมทำวิจัยทั้งสิ้น 2 ครั้ง

ความรับผิดชอบของอาสาสมัครผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

เพื่อให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ ผู้ทำวิจัยใคร่ขอความความร่วมมือจากท่าน โดยจะขอให้ท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัยอย่างเคร่งครัด รวมทั้งแจ้งอาการผิดปกติต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นกับท่านระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัยให้ผู้ทำวิจัยได้รับทราบ

ความเสี่ยงที่อาจได้รับ

ท่านอาจมีความเสี่ยงเล็กน้อย ได้แก่ เสียเวลา ไม่สะดวก แต่ผู้วิจัยจะนัดผู้ป่วยในวันเดียวกับที่ผู้ป่วยต้องมาพบแพทย์เป็นประจำอยู่แล้ว โดยไม่ต้องเสียเวลาเพิ่ม อีกทั้งอาจมีความเสี่ยงที่เกิดจากการเจาะเลือดและความเสี่ยงที่ไม่ทราบแน่นอนได้

ความเสี่ยงที่ได้รับจากการเจาะเลือด

ท่านมีโอกาสที่จะเกิดอาการเจ็บ เลือดออก ช้ำจากการเจาะเลือด อาการบวมบริเวณที่เจาะเลือดหรือหน้ามืด และโอกาสที่จะเกิดการติดเชื้อบริเวณที่เจาะเลือดพบได้น้อยมาก

ความเสี่ยงที่ไม่ทราบแน่นอน

ท่านอาจเกิดอาการข้างเคียง หรือความไม่สบาย นอกเหนือจากที่ได้แสดงในเอกสารฉบับนี้ ซึ่งอาการข้างเคียงเหล่านี้เป็นอาการที่ไม่เคยพบมาก่อน เพื่อความปลอดภัยของท่าน ควรแจ้งผู้ทำวิจัยให้ทราบทันทีเมื่อเกิดความผิดปกติใดๆ เกิดขึ้น

หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เกี่ยวกับความเสี่ยงที่อาจได้รับจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านสามารถสอบถามจากผู้ทำวิจัยได้ตลอดเวลา

หากมีการค้นพบข้อมูลใหม่ ๆ ที่อาจมีผลต่อความปลอดภัยของท่านในระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัย ผู้ทำวิจัยจะแจ้งให้ท่านทราบทันที เพื่อให้ท่านตัดสินใจว่าจะอยู่ในโครงการวิจัยต่อไป หรือจะขอถอนตัวออกจากการวิจัย

การพบแพทย์นอกตารางนัดหมายในกรณีที่เกิดอาการข้างเคียง

หากมีอาการข้างเคียงใด ๆ เกิดขึ้นกับท่าน ขอให้ท่านรีบมาพบแพทย์ที่สถานพยาบาลทันที ถึงแม้ว่าจะอยู่นอกตารางการนัดหมาย เพื่อแพทย์จะได้ประเมินอาการข้างเคียงของท่าน และให้การรักษาที่เหมาะสมทันที หากอาการดังกล่าวเป็นผลจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่าย

ประโยชน์ที่อาจได้รับ

ท่านจะไม่ได้รับประโยชน์ใดๆ จากการเข้าร่วมในการวิจัยครั้งนี้ แต่ผลการศึกษาที่ได้จะทำให้สามารถนำไปพัฒนาการดูแลรักษาผู้ป่วยปลูกถ่ายไต และเพื่อนำมาใช้ป้องกันการเกิดการปฏิเสธไตได้ การเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้จะไม่กระทบต่อมาตรฐานการรักษาเดิมของท่าน

วิธีการและรูปแบบการรักษาอื่น ๆ ซึ่งมีอยู่สำหรับอาสาสมัคร

ท่านไม่จำเป็นต้องเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้เพื่อประโยชน์ในการรักษาโรคที่ท่านเป็นอยู่ เนื่องจากมีแนวทางการรักษาอื่น ๆ หลายแบบสำหรับรักษาโรคของท่านได้ ดังนั้นจึงควรปรึกษาแนวทางการรักษาวิธีอื่น ๆ กับแพทย์ผู้ให้การรักษาท่านก่อนตัดสินใจเข้าร่วมในการวิจัย

ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมในโครงการวิจัย

ขอให้ท่านปฏิบัติตามดังนี้

- ขอให้ท่านให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีต และปัจจุบัน แก่ผู้ทำวิจัยด้วยความสัตย์จริง
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างที่ท่านร่วมในโครงการวิจัย
- ขอให้ท่านงดการใช้ยาอื่นนอกเหนือจากที่ผู้ทำวิจัยได้จัดให้ รวมถึงการรักษาอื่น ๆ เช่น การรักษาด้วยสมุนไพร การซื้อยาจากร้านขายยา
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบทันที หากท่านได้รับยาอื่นนอกเหนือจากยาที่ใช้ในการศึกษาตลอดระยะเวลาที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัย
- ขอให้ท่านนำยาที่ใช้ในการศึกษาของท่านทั้งหมดที่เหลือจากการรับประทานมาให้ผู้ทำวิจัยทุกครั้งที่นัดหมายให้มาพบ

อันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัยและความรับผิดชอบของผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัย

หากพบอันตรายที่เกิดขึ้นจากการวิจัย ท่านจะได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมทันที และท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของทีมผู้ทำวิจัยแล้ว ผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัยยินดีจะรับผิดชอบต่อค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลของท่าน และการลงนามในเอกสารให้ความยินยอม ไม่ได้หมายความว่าท่านได้สละสิทธิ์ทางกฎหมายตามปกติที่ท่านพึงมี

ในกรณีที่ท่านได้รับอันตรายใด ๆ หรือต้องการข้อมูลเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย ท่านสามารถติดต่อกับผู้ทำวิจัยคือ พญ.วรรณรัตน์ พงศ์พิรุฬห์ได้ตลอด 24 ชั่วโมง

ค่าใช้จ่ายของท่านในการเข้าร่วมการวิจัย

ท่านจะได้รับการเจาะระดับโปรตีนของเม็ดเลือดขาวชนิดบีลิมโฟไซต์ (B-lymphocyte) ในโครงการวิจัยจากผู้สนับสนุนการวิจัยโดยไม่ต้องเสียค่าใช้จ่าย รวมทั้งค่าใช้จ่ายอื่นที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย เช่น ค่าธรรมเนียมทางการแพทย์ และ ค่าวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ผู้สนับสนุนการวิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบทั้งหมด

การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอลงตัวออกจากโครงการวิจัยจะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

ผู้ทำวิจัยอาจถอนท่านออกจากโครงการเข้าร่วมการวิจัย เพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน หรือเมื่อผู้สนับสนุนการวิจัยยุติการดำเนินงานวิจัย หรือ ในกรณีดังต่อไปนี้

- ท่านไม่สามารถปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัย
- ท่านรับประทานยาที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในการศึกษา
- ท่านตั้งครรภ์ระหว่างที่เข้าร่วมโครงการวิจัย
- ท่านเกิดอาการข้างเคียง หรือความผิดปกติของผลทางห้องปฏิบัติการจากการได้รับยาที่ใช้ในการศึกษา
- ท่านแพ้ยาที่ใช้ในการศึกษา
- ท่านต้องการปรับเปลี่ยนการรักษาด้วยยาตัวที่ไม่ได้รับอนุญาตจากการวิจัยครั้งนี้

การปกป้องรักษาข้อมูลความลับของอาสาสมัคร

ข้อมูลนี้อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน

จากการลงนามยินยอมของท่านผู้ทำวิจัย และผู้สนับสนุนการวิจัยสามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่านได้แม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม หากท่านต้องการยกเลิก

การให้สิทธิ์ดังกล่าว ท่านสามารถแจ้ง หรือเขียนบันทึกขอยกเลิกการให้คำยินยอม โดยส่งไปที่ พญ.วรรณรัตน์ พงศ์พิรุฬห์ หน่วยโรคไต ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่น ๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย และท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีก ทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับการวิจัยไม่ได้ถูกบันทึก

จากการลงนามยินยอมของท่านแพทย์ผู้ทำวิจัยสามารถบอกรายละเอียดของท่านที่เกี่ยวข้องกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้

การจัดการกับตัวอย่างชีวภาพที่เหลือ

ตัวอย่างชีวภาพที่ได้จากอาสาสมัคร เช่น เลือดที่เหลือจากการวิจัย ผู้วิจัยอาจจะจัดการขอเก็บตัวอย่างสำหรับตรวจซ้ำ เพื่อยืนยันความถูกต้องของผลการทดลองเป็นระยะเวลา 1 ปี

สิทธิ์ของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิ์ดังต่อไปนี้

1. ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้
2. ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์ รวมทั้งยาและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้
3. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
4. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย
5. ท่านจะได้รับการเปิดเผยถึงทางเลือกในการรักษาด้วยวิธีอื่น ยา หรืออุปกรณ์ซึ่งมีผลดีต่อท่านรวมทั้งประโยชน์และความเสี่ยงที่ท่านอาจได้รับ
6. ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษา ในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัย
7. ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

8. ท่านจะได้รับทราบว่าการยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลกระทบใด ๆ ทั้งสิ้น
9. ท่านจะได้รับเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยและสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่
10. ท่านมีสิทธิ์ในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับข่มขู่ หรือการหลอกลวง

หากท่านไม่ได้รับการชดเชยอันควรต่อการบาดเจ็บหรือเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นโดยตรงจากการวิจัย หรือท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกอำนวยการ ชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร 0-2256-4493 ต่อ 14, 15 ในเวลาราชการ

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย

การวิจัยเรื่อง ความสัมพันธ์ระหว่าง ระดับโปรตีนบิลิสในเลือดหลังปลูกถ่ายไตกับการปฏิบัติ

วันที่คำยินยอม วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว.....

ที่อยู่.....

ได้อ่านรายละเอียดจากเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยวิจัยที่แนบมาฉบับวันที่..... และข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยโดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนาม และ วันที่ พร้อมด้วยเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัย และแนวทางรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้ามีเวลาและโอกาสเพียงพอในการซักถามข้อสงสัยจนมีความเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ ด้วยความเต็มใจไม่ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้าจะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของบริษัทผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาอาจได้รับอนุญาตให้เข้ามาตรวจและประมวลผลข้อมูลของข้าพเจ้า ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความ

ถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของข้าพเจ้าได้

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใด ๆ เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและสามารถยกเลิกการให้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อ จะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบ การวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่เดือน.....พ.ศ.....

การจัดการกับตัวอย่างทางชีวภาพ

- ไม่มีตัวอย่างชีวภาพ
- มีแต่ไม่มีการขอเก็บ
- มีและขอเก็บตัวอย่างชีวภาพที่เหลือไว้เพื่อการวิจัยในอนาคต

ข้าพเจ้า ยินยอม

ไม่ยินยอม

ให้เก็บตัวอย่างชีวภาพที่เหลือไว้เพื่อการวิจัยในอนาคต

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์ หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัย อย่างละเอียด ให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วยความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ทำวิจัย

(.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน

(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่เดือน.....พ.ศ.....

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ-นามสกุล นาง วรณรัตน์ พงศ์พิรุฬห์

วัน เดือน ปีเกิด 18 มกราคม พ.ศ. 2525 จังหวัดเพชรบุรี

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

นิสิตแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2543-2549

แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลพระจอมเกล้า จ.เพชรบุรี 2549-2550

แพทย์แผนกอายุรกรรม สถาบันบำราศนราดูร 2550-2552

แพทย์ประจำบ้าน สาขาอายุรศาสตร์ 2552-2555

กำลังศึกษาสาขาอายุรศาสตร์โรคไต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2556-ปัจจุบัน

ปริญญาและประกาศนียบัตร

แพทยศาสตรบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2549

วุฒิบัตรแพทย์ผู้เชี่ยวชาญสาขาอายุรศาสตร์ 2555

สมาชิกสมาคมวิชาชีพ

สมาชิกราชวิทยาลัยอายุรแพทย์แห่งประเทศไทย

สมาชิกสมาคมโรคไตแห่งประเทศไทย

สมาชิกสมาคมปลูกถ่ายอวัยวะแห่งประเทศไทย

สมาชิกแพทยสภา

