

ชื่อวิทยานิพนธ์ การตรวจหาแอนติบอดีที่มีปฏิกิริยาข้ามกลุ่มกับเนื้อเยื่อหัวใจและแอนติบอดีต่อเปปไทด์จากโปรตีน เอ็ม จากเชื้อสเตรปโตคอคคัส กรุ๊ป เอ ในผู้ป่วยโรคหัวใจรูมาติก

ผู้เขียน นางสาว สุทธิรัตน์ สิทธิศักดิ์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา

คณะกรรมการตอบวิทยานิพนธ์

ศศ. คร. สุมาลี พุดกษากร	ประธานกรรมการ
รศ. ประสิทธิ์ ธราวิจิตรกุล	กรรมการ
ศศ. คร. วัชรระ กลินฉกษณ์	กรรมการ
นพ. คร. นพพร สิทธิสมบัติ	กรรมการ

บทคัดย่อ

การติดเชื้อ สเตรปโตคอคคัส กรุ๊ป เอ ยังพบได้ทั่วโลก ส่วนอาการที่ตามหลังการติดเชื้อ เช่น ไข้รูมาติก และ กรวยไตอักเสบเฉียบพลัน (acute glomerulonephritis) ก็ยังพบได้ในประเทศที่กำลังพัฒนา โดยทั่วไปหลังจากที่มีการติดเชื้อ สเตรปโตคอคคัส กรุ๊ป เอ ผู้ป่วยจะมีการสร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจนต่างๆ ของเชื้อ แต่แอนติบอดีที่มีความสำคัญ คือ แอนติบอดีที่ช่วยในการป้องกันการติดเชื้อ (protective antibodies) ซึ่งจำเพาะต่อโปรตีน เอ็ม (M protein) และ แอนติบอดีที่มีปฏิกิริยาข้ามกลุ่มกับเนื้อเยื่อหัวใจ ในการศึกษาครั้งนี้ได้วิเคราะห์หาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเปปไทด์ 145 ซึ่งได้มาจากส่วนที่ไม่เปลี่ยนแปลง (conserved region) ของโปรตีน เอ็ม จากเชื้อสเตรปโตคอคคัส กรุ๊ป เอ และโปรตีนเอ็มจากเชื้อ เอ็ม ไทป์ 5 ที่สกัดด้วยเปปซิน (pep M 5 protein) ในซีรัมของผู้ป่วยโรคหัวใจรูมาติกโดยวิธี ELISA หลังจากนั้นนำซีรัมมาทำ Indirect bactericidal assay เพื่อดูการฆ่าเชื้อ สเตรปโตคอคคัส กรุ๊ป เอ และ ทดสอบหาแอนติบอดีที่มีปฏิกิริยาข้ามกลุ่มกับเนื้อเยื่อหัวใจโดยวิธี SDS - PAGE และ Immunoblotting

จากการศึกษาครั้งนี้พบ แอนติบอดีต่อ เปปไทด์ 145 และ pep M 5 protein ในซีรัมของผู้ป่วยโรคหัวใจรูมาติกและคนปรกติที่ไม่เป็นโรค โดยระดับแอนติบอดีจะพบได้สูงในคนอายุน้อย เมื่อคำนวณหาค่า Geometric mean ต่อ peptide 145 ในกลุ่มคนไข้และกลุ่มคนปรกติมีค่าเท่ากับ 348.22 และ 518.19 ตามลำดับและค่า Geometric mean ต่อ pep M 5 protein ในกลุ่มคนไข้และกลุ่มคนปรกติมีค่าเท่ากับ 682.08 และ 653.48 ตามลำดับ ค่า Titer จากคนทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ค่า titer ที่จำเพาะต่อเปปไทด์ 145 ในคนที่นำมาทดสอบพบว่าอยู่ในช่วง 50 ถึง 3200 ขณะที่ค่า titer ต่อ pep M 5 protein พบว่าอยู่ในช่วง 200 ถึง >6400 ตามลำดับ

เมื่อนำซีรัมมาทำ Indirect bactericidal assay เพื่อหา opsonizing antibodies ที่ช่วยในการฆ่าเชื้อ สเตรปโตคอคคัส กรุ๊ป เอ ไทป์ เอ็ม ห้า พบว่า มีซีรัมบางรายจากผู้ป่วยโรคหัวใจรูมาติก (15%) และคนปรกติที่ไม่เป็นโรค (27.5%) มี opsonizing antibodies ที่ช่วยในการฆ่าเชื้อ สเตรปโตคอคคัส กรุ๊ป เอ ไทป์ เอ็ม ห้า โดยพบว่า Titer ต่อ เปปไทด์ 145 และ pep M 5 protein จะแตกต่างกันไปในแต่ละราย แต่ ทุกซีรัมที่มี แอนติบอดี Titer ต่อ pep M 5 protein เท่ากับหรือมากกว่า 3200 จะมี opsonizing antibodies

เมื่อทดสอบหาแอนติบอดีเฉพาะในซีรัมที่ช่วยในการฆ่าเชื้อ โดยการทำ Inhibition assay ด้วย เปปไทด์ 145 และ pep M 5 protein ก่อนทำ Indirect bactericidal assay พบว่า pep M 5 protein ยับยั้ง opsonization ในทุกซีรัม โดยมี percent inhibition อยู่ในช่วง 9.48 % ถึง 46.85 % มีความสัมพันธ์กันปานกลางระหว่าง percent killing เชื้อ สเตรปโตคอคคัส กรุ๊ป เอ ไทป์ เอ็ม ห้า กับ percent inhibition โดย pep M 5 protein (ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r) มีค่าเท่ากับ 0.59) นอกจากนี้พบว่า มีซีรัมเพียงสองรายจาก คนที่ไม่เป็นโรค ที่สามารถยับยั้ง opsonization ได้ด้วยเปปไทด์ 145 โดยมี percent inhibition เท่ากับ 30.7 % และ 39.19% ซึ่งซีรัมนี้มี แอนติบอดีต่อเปปไทด์ 145 ในระดับสูงเท่ากับ 3200

เมื่อนำซีรัมที่มี opsonizing antibodies ที่ช่วยในการฆ่าเชื้อ สเตรปโตคอคคัส กรุ๊ป เอ ไทป์ เอ็ม ห้า มาทดสอบหาว่ามี opsonizing antibodies ที่ช่วยในการ opsonize และฆ่าเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยสายพันธุ์ H9, H92, ARF 1, ARF 3 พบว่าในซีรัมส่วนมากมีแอนติบอดีที่ช่วยในการ opsonize และฆ่าเชื้อเหล่านี้ และสามารถยับยั้ง opsonic activity ได้ด้วย pep M protein จาก เชื้อสายพันธุ์เดียวกัน มีความสัมพันธ์กันปานกลางระหว่าง percent killing เชื้อสเตรปโตคอคคัส กรุ๊ป เอ สายพันธุ์ H9, H92, ARF 1 กับ ระดับของแอนติบอดีต่อ pep M protein โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.54, 0.56, 0.58 ตามลำดับ นอกจากนี้มีความสัมพันธ์กันต่ำ ๆ ระหว่าง percent killing เชื้อ สเตรปโตคอคคัส กรุ๊ป เอ สายพันธุ์ ARF 3 กับ ระดับของแอนติบอดีต่อ pep M protein (ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.35) ส่วน เปปไทด์ 145 พบว่าไม่สามารถยับยั้ง opsonizing activity ในซีรัมเหล่านี้ได้ ยกเว้นซีรัมของคนที่ไม่เป็นโรคราย

เมื่อทดสอบหาแอนติบอดีที่มีปฏิกิริยาข้ามกลุ่มกับเนื้อเยื่อหัวใจ ในซีรัมของผู้ป่วย และ คนปกติที่นำมาศึกษา พบว่าโปรตีนขนาด 200 kDa. ซึ่งพบว่าเป็น myosin antigen จะทำปฏิกิริยาได้อย่างเด่นชัดกับแอนติบอดีในซีรัมของผู้ป่วย แอนติบอดีต่อ myosin นี้พบในผู้ป่วย RHD (65%) สูงกว่าในคนปกติที่ไม่เป็นโรค (0%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) มีเพียง 21% ของ ซีรัมที่มีแอนติบอดีต่อ myosin ที่มี ASO Titer มากกว่า 250 และส่วนใหญ่ที่มีแอนติบอดีนี้มี ELISA titer ต่อ pep M antigen มากกว่าหรือเท่ากับ 800