



28 MAR 1990

ALLOTYPES OF THE FOURTH COMPONENT OF COMPLEMENT (C4) IN
NORMAL THAI AND PATIENTS WITH SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS
(SLE), DENGUE HAEMORRHAGIC FEVER (DHF), AND IGM NEPHROPATHY

SUCHAT UDOMSOPAGIT

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(MICROBIOLOGY)

อธินันทนาการ
จาก
นาย ยาท วิทยาศัย ฆ. มณีตล

IN
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY

1989

13896

ชื่อวิทยานิพนธ์

อัลโลทีย์พของคอมพลีเมนต์องค์ประกอบที่ 4 (C4) ในคนไทย และผู้ป่วย systemic lupus erythematosus (SLE), ไข่เลือดออก และ IgM nephropathy

ผู้วิจัย

สุชาติ อุดมโสภกิจ

ปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

ปรีดา มาลาลิทธิ พ.บ., M.R.C.P.

วันชัย วนะชีวานาวิน พ.บ.

สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ พ.บ., F.C.A.P.

วันที่สำเร็จการศึกษา

16 มิถุนายน พ.ศ.2532

บทคัดย่อ

ได้พัฒนาระบบการตรวจหาชนิดอัลโลทีย์พของคอมพลีเมนต์องค์ประกอบที่ 4 (C4) ในมนุษย์ขึ้นใหม่ วิธีการประกอบด้วยการย่อย plasma ด้วยเอนไซม์ neuraminidase และ carboxypeptidase B แล้วแยก C4 ด้วย agarose gel electrophoresis โปรตีนที่ถูกแยกจะถูกย้ายไปยังแผ่น nitrocellulose ด้วยวิธี semi-dry electroblotting จากนั้นตรวจหา C4 บนแผ่น nitrocellulose ด้วยแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ C4

วิธีการใหม่นี้ทำให้ตรวจหาชนิด isotype ของ C4 ได้ง่ายขึ้น โดยใช้ monoclonal antibody ที่เฉพาะต่อ alpha chain ข้อดีอีกประการหนึ่งคือ ลดจำนวนของ anti-C4 ที่ใช้ลงได้ 30 เท่า

ได้ศึกษาอัลโลทีย์พในผู้ป่วย systemic lupus erythematosus (SLE) จำนวน 97 ราย, dengue haemorrhagic fever (DHF) จำนวน 39 ราย และ IgM nephropathy จำนวน 48 ราย โดยเปรียบเทียบกับคนปกติจำนวน 134 คน พบว่า C4AQ0 และ C4BQ0 ในกลุ่มผู้ป่วยด้วยโรค SLE มีมากกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.0086$, $RR = 5.02$ และ $p = 0.0033$, $RR = 3.22$ ตามลำดับ) พบ C4B96 ในกลุ่มผู้ป่วย mesangial IgM nephropathy มากกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.0416$, $RR = 5.04$) และพบ C4B3 ในกลุ่มผู้ป่วย DHF และ IgM nephropathy มากกว่าคนปกติ ($p = 0.1637$, $RR = 3.57$ และ $p = 0.0227$, $RR = 6.00$ ตามลำดับ)

การที่พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่าง C4 null alleles กับ SLE สืบสวนสมมติฐานของศาสตราจารย์ Rodney Porter ที่กล่าวว่า null alleles ของ C4 ทำให้ประสิทธิภาพในการทำงานของระบบคอมพลีเมนต์ลดลง อันมีผลทำให้กลไกการกำจัด antigen-antibody complexes บกพร่อง ทำให้เกิด immune complex disease ตามมา ส่วนการที่พบความสัมพันธ์ระหว่าง C4B3 กับ DHF นั้น เนื่องจาก DHF เป็นโรคที่มีหลักฐานแสดงว่าระบบคอมพลีเมนต์ "มีประสิทธิภาพสูงกว่าปกติ" ข้อมูลดังกล่าวจึงบ่งชี้ว่า อัลโลทัยบางชนิดมีประสิทธิภาพมากกว่าปกติ อย่างไรก็ตาม ผลดังกล่าวยังต้องการการศึกษาเพิ่มเติม.

Thesis Title Allotypes of the Fourth Component of Complement (C4) in Normal Thai and Patients with Systemic Lupus Erythematosus (SLE), Dengue Haemorrhagic Fever (DHF), and IgM Nephropathy

Name Suchat Udomsopagit

Degree Master of Science (Microbiology)

Thesis Supervisory Committee

Frida Malasit, M.D., M.R.C.P.

Wanchai Wanachiwanawin, M.D.

Suttipant Sarasombath, M.D., F.C.A.P.

Date of Graduation 16 June B.E.2532 (1989)

ABSTRACT

A new technique of C4 allotyping based on electro-transfer of C4 protein from agarose gel to nitrocellulose membrane had been developed. Neuraminidase and carboxypeptidase-treated-EDTA plasma was electrophoresed on agarose gel and was then electrophoretically blotted onto nitrocellulose membrane. Bands of C4 were identified by immuno-enzyme technique with monospecific anti-C4. This technique allows the use of very high dilution of anti-C4 (1:1,000) antibody and enable the identification of isotype by the use of monoclonal antibody to the alpha chain.

C4 allotyping in 97 patients with systemic lupus erythematosus (SLE), 39 with Dengue Haemorrhagic Fever (DHF), and 48 with IgM nephropathy were investigated. The C4 allotypes obtained were compared with data from 134 normal Thais. C4AQ0 and C4BQ0 were significantly increased in SLE ($p = 0.0086$ with relative risk (RR) of 5.02 and $p = 0.0033$ with RR of 3.22 respectively). C4B96 was significantly

increased in mesangial IgM nephropathy ($p = 0.0416$ with RR of 5.04). C4B3 was found in greater frequencies in patients with DHF ($p = 0.1837$, RR = 3.57) and IgM nephropathy ($p = 0.0227$, RR = 6.00) as compared with control group.

The results confirm the association of null alleles of both isotypes with SLE and renders weight to the hypothesis that relative deficiency, in the form of null alleles might result in the mild inefficiency of the complement system leading to the defect in clearing antigen-antibody complexes, resulting in the generation of immune complex disease. The fact that one allotype (C4B3) was found to be associated with DHF, a disease whose main pathophysiology indicates a "hyperactive" complement system, is the first tentative evidence that some allotypes are more functionally active than others. This fact remains still to be proven.