บทที่ 4

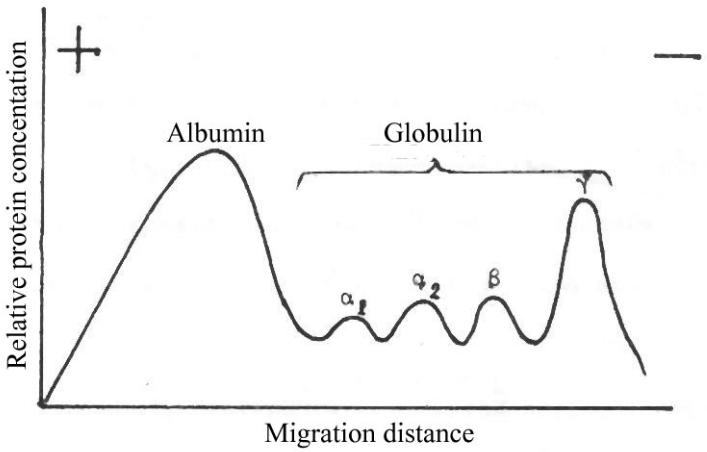
แอนติบอดี (Antibodies)

แอนติบอดีเป็นสารโปรตีนที่มีอยู่ในน้ำเหลืองและสารคัดหลั่ง ซึ่งร่างกายคนหรือสัตว์สร้างขึ้นเพื่อตอบสนองต่อแอนติเจนหรือแฮปเทนที่รวมกับตัวนำ (carrier) และแอนติบอดีจะมีปฏิกิริยาจำเพาะต่อแอนติเจนหรือแฮปเทนที่เข้ามากระตุ้นเท่านั้น โดยทั่วไปในสภาพปกติร่างกายจะไม่สร้างแอนติบอดีจำเพาะต่อเซลล์ของร่างกาย แอนติบอดีมีลักษณะพิเศษ 2 ประการคือ

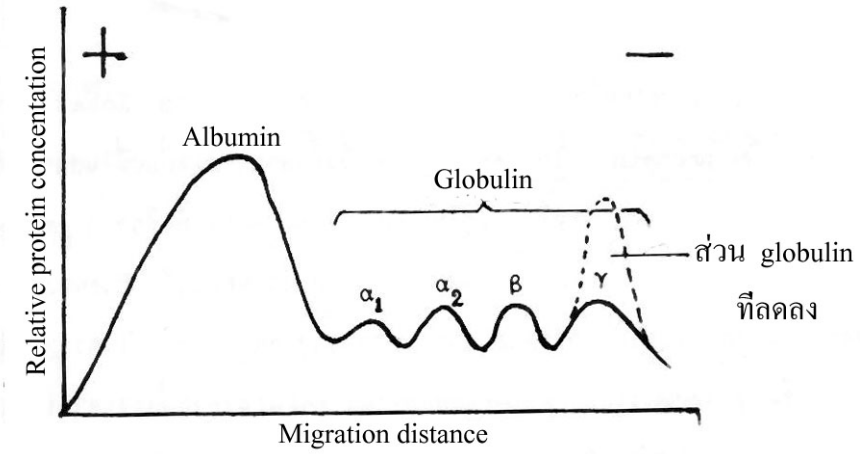
1. Recognition function ความสามารถในการจดจำ แล้วรวมกับแอนติเจนที่จำเพาะต่อมันได้

2. Effector function ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีสามารถทำให้เกิดผลต่างๆ ตามมา เช่น ทำให้เกิดการรวมกับโปรตีนอีกกลุ่มหนึ่ง ที่เรียกว่า complement แล้วทำให้เซลล์แตกสลาย (lysis) หรือปฏิกิริยาแอนติเจน-แอนติบอดีที่เกิดขึ้น ทำให้โมเลกุลของแอนติบอดีเกาะกับ mast cell เกิดการหลั่งของ histamine ออกมาเป็นต้น

การศึกษาคุณสมบัติของ แอนติบอดี : Tiselius และ Kobat พบว่า แอนติบอดีเป็นโปรตีนใน น้ำเหลือง ชนิดหนึ่งที่สามารถเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้า (electrophoretic mobility) อยู่ในกลุ่มของ โปรตีน ที่เรียกว่า gamma (γ) globulin โดยที่ Tiselius และ Kobat ทำการทดลองฉีด Pneumococcal polysaccharide เข้าในกระต่าย จนกระต่ายสร้าง แอนติบอดี ในกระแสเลือดจำนวนมาก คืออยู่ในลักษณะเป็น hyperimmunized rabbit จากนั้นจึงเจาะเลือดนำมาแยกเอา น้ำเหลือง ไปทำ eletrophoresis พบ protein fraction ต่างๆ คือ serum albumin, α_1-globulin, α_2-globulin, β-globulinและ γ-globulin (ภาพที่ 4-1) ต่อมาเขาได้นำเอา hyperimmune serum นี้ไปผสมกับแอนติเจนของมันจะเกิดปฏิกิริยาตกตะกอนของ antigen-antibody complex เมื่อนำไปปั่นเอาตะกอนออกและเอาเฉพาะส่วนที่เป็น supernatant มาทำ eletrophoresis ซ้ำใหม่ พบว่าส่วนที่มีปริมาณลดลงได้แก่ fraction ของ γ-globulin γ-globulin ที่หายไปก็คือส่วนที่เป็นแอนติบอดีซึ่งไปทำปฏิกิริยากับแอนติเจนแล้วตกตะกอน ต่อมามีผู้พบว่าแอนติบอดีซึ่งเป็น γ-globulin นี้มิได้ประกอบด้วย โปรตีน ชนิดเดียว แต่เป็น โปรตีน หลายชนิด (heterogeneous) ที่มีลักษณะบางอย่างคล้ายคลึงกัน จึงเรียกชื่อใหม่เป็น Immunoglobulin (Ig) Immunoglobulin นี้พบอยู่ในเลือด และใน tissue ต่างๆ ทั่วไป ถูกสร้างขึ้นมาโดย plasma cell เป็นส่วนใหญ่ มีบางส่วนสร้างจาก lymphocyte และ reticular cell บางตัว Immunoglobulin ที่สร้างขึ้นมานี้จะเป็นสารพวก glycoprotein ที่ประกอบด้วย polypeptide 2 แบบ คือ heavy chain และ light chain และมี carbohydrate เกาะอยู่บน ploypeptide ปริมาณของ carbohydrate จะไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการจับแอนติเจนเพราะ carbohydrate ไม่ได้อยู่ตรงส่วนที่แอนติบอดีจับกับแอนติเจนที่เรียกว่า antigenic binding site



ภาพที่ 4-1 Protein fractions ต่าง ๆ ของ immuned serum (Roitt *et al.*,1993)



ภาพที่ 4-2 Protein fractions ต่าง ๆ ภายหลังจากที่นำ immuned serum ทำปฏิกิริยากับแอนติเจน (Roitt *et al.*, 1993)

ชนิดและโครงสร้างของ immunoglobulin

Immunoglobulin แบ่งออกเป็น 5 class ตามชนิดของ heavy chain ดังนี้

IgG มี heavy chain เป็นชนิด γ-chain (gamma)

IgM มี heavy chain เป็นชนิด μ-chain (mu)

IgA มี heavy chain เป็นชนิด α-chain (alpha)

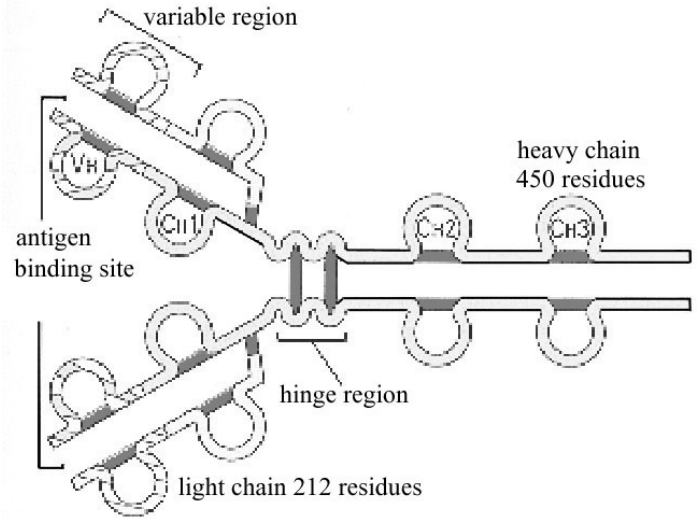
IgD มี heavy chain เป็นชนิด δ-chain (delta)

IgE มี heavy chain เป็นชนิด ε-chain (epsilon)

ส่วน Light chain ของ immunoglobulin ทั้ง 5 ชนิด จะเหมือนกันหมด คือมีอยู่ 2 ชนิด ได้แก่ κ (Kappa) chain และ λ (lambda) chain โดยปกติปริมาณของ κ :และ λ จะมีปริมาณ 3:2 ยกเว้น ของ IgD ซึ่งมีปริมาณ λ-chain มากกว่า κ-chain และในโมเลกุลเดียวกันจะต้องประกอบด้วย 2 Kappa หรือ 2 lambda ไม่มีชนิดใดที่มี 2 อย่างรวมกัน อย่างไรก็ตามโครงสร้างพื้นฐานของ immunoglobulin แต่ละ class จะคล้ายคลึงกัน แต่คุณสมบัติทางเคมีบางอย่าง เช่น น้ำหนักโมเลกุลต่างกัน ความสามารถในหน้าที่ (biological activity) แตกต่างกัน ตลอดจนปริมาณในคนปกติต่างกันดังในตาราง 4-1

โครงสร้างพื้นฐานของ Immunoglobulin

โมเลกุลของ Immunoglobulin แต่ละหมู่จะประกอบด้วย polypeptide chain 2 คู่ คือมี heavy (H) chain 1 คู่ และ light (L) chain 1 คู่ เชื่อมติดกันด้วย disulfide (s-s) bond (ภาพที่ 4-3)



ภาพที่ 4-3 โครงสร้างพื้นฐานของ Immunoglobulin (lgG) (Irving L.Weissman *et al*, 1978)

Heavy chain เป็น peptide เส้นยาวของ Ig มีลักษณะจำเพาะเป็นตัวแสดง class ต่างๆ ของ Ig ชนิดนั้นๆ คือ H-chain ของ IgG เรียกว่า gamma (γ) IgA เรียกว่า alpha (α) IgM เรียกว่า mu (μ) IgD เรียกว่า delta (δ) IgE เรียกว่า epsilon (ε) Ig แต่ละchain จะมี H-chain 2 เส้น ที่แสดงลักษณะจำเพาะของ Ig นั้นเสมอ H-chain มีน้ำหนักโมเลกุล 50,000 ประกอบด้วย amino acid 450 ตัว เรียงตัวกันเป็น polypeptide chain มีด้านปลายทาง amino acid (NH_2) เปลี่ยนแปลงได้มากเรียก variable region (V_H) ประกอบด้วย amino acid 107-115 ตำแหน่ง ส่วนที่เหลือ 310-330 ตำแหน่งอยู่ทางด้านปลาย carboxyl terminal เป็น amino acid ที่ค่อนข้างคงที่เรียก H-chain constant region (C_H) ซึ่งแบ่งออกเป็น C_H1, C_H2, C_H3 domain

ตารางที่ 4-1 แสดงคุณสมบัติบางประการของ Immunoglobulin หมู่ต่าง ๆ
(ดัดแปลงจาก Bernard D.Davis *et al*, 1973)

	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Older names	7S, G	A, A	19S, M, M	-	Reagin
Percent of total	75-85	10-15	5-10	1	0.01
Serum concentration (mg/100ml)	1275±280	225±55	125±45	3	0.03
Molecular weight value	150000	155000-350000	900000	183000	200000
Molecular formulas					
Carbohydrate(%)	2.5	10	10	2.8	10.7
Half life (day)	25	7	10	2.8	2.3
Synthtic rate (mg/Kg/day)	35	10	7	0.4	0.02
Number of subclass	4	2	2	1	1
Immunologic valency	2	2	10	1	2
stable at 56°C-60°C	YES	YES	YES	YES	NO
Resistance to-SH	HIGH	MODERATE	LOW	HIGH	-
Pass placenta	YES	NO	NO	NO	NO
Bind complement	YES	NO	YES	NO	NO
Appearance after immunization	Latest	Immediate	Earliest	-	-
Present in secretion	+	+++	-	-	+
Precipitation	++	±	+++	-	-
Agglutination	+	-	++	-	-
Opsonization	+	-	+++	-	-
Virus neutralization	+	-	++	-	-
Hemolysis	+	-	++	-	-
Skin fixation	-	-	-	-	+++
Site of biosynthesis	All lymphoid tissues	Spleen Lymphoid tissues, submucosa	Much in spleen, Lymphoid tissues	Spleen Lymph node	Predominantly in submucosa

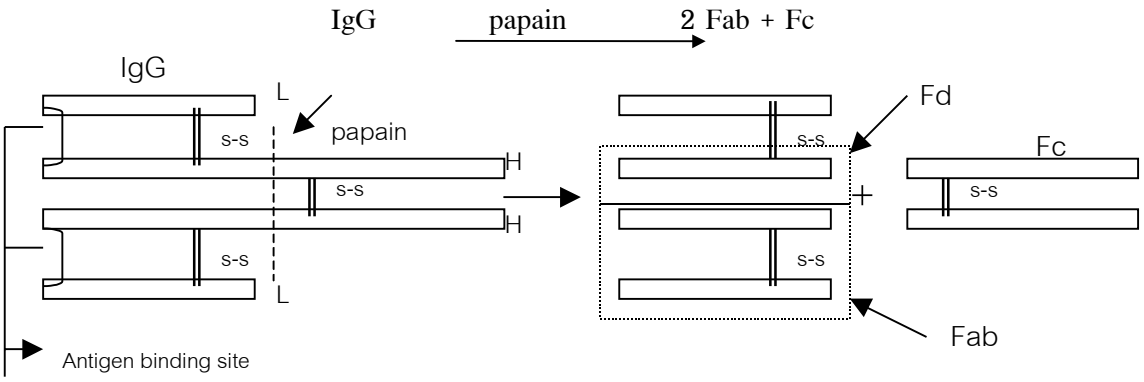
Light chain มีน้ำหนักโมเลกุล 25,000 เป็น peptide เส้นสั้นของ Ig จะประกอบด้วย amino acid เรียงตัวกันเป็น polypeptide chain มี 2 แบบ คือชนิด Kappa (κ) และ Lambda (λ) จะมีลักษณะคล้ายคลึงกันประกอบด้วย amino acid ประมาณ 214 ตัว ชนิดของ amino acid ที่เรียงตัวกันอยู่ตั้งแต่กึ่งกลางของ light chain มาจนถึงปลายทางด้าน carboxyl terminal มีกรด amino อยู่ 107-111 ตำแหน่ง จะคงที่เรียกว่า L-chain constant (V_H) และ amino acid ที่เรียงตัวกันอีกครึ่งหนึ่งทางด้าน amino terminal (NH_2) นั้น จะไม่คงที่เรียก L-chain variable (V_L)

ในบริเวณ N-terminal ของทั้ง L-chain และ H-chain มี amino acid ที่ไม่แน่นอนเปลี่ยนแปรไปอยู่เสมอ จะเป็นส่วนของ immunoglobulin ที่มีหน้าที่จับกับแอนติเจน (antigen combining site) จะเห็นว่าแต่ละโครงสร้างของ Immunoglobulin ที่มีสูตรโครงสร้างพื้นฐานนี้ จะมี antigen binding site 2 แห่ง

Domain ของ Ig ไม่ได้อยู่เป็นเส้นตรง แต่จะงอพับบิดเป็นห่วงรูปสามมิติ ซึ่งเกิดจาก disulfide bond และแรงอื่นๆ ส่วนต่างๆ บน peptide chain ที่งอพับเหล่านี้เรียกว่า domain ตั้งชื่อ domain บน H-chain ตามความคงที่หรือเปลี่ยนแปลงของกรด amino จากปลาย NH_2 เป็น V_H, C_H1, C_H2, C_H3 (และเพิ่ม C_H4 สำหรับ IgM และ IgE ซึ่งมี H-chain ยาวกว่าชนิดอื่นๆ และชื่อบน L-chain เป็น V_L และ C_L แต่ละห่วงหรือ domain มีขนาดใกล้เคียงกัน คือมีกรด amino ประมาณ 100-110 ตำแหน่ง)

Antigen binding site คือส่วนของแอนติบอดีที่จับกับแอนติเจน ประกอบด้วยส่วน variable region ของ H และ L-chain (V_H และ V_L) ซึ่งเข้ามาใกล้กันพอเหมาะ การเรียงตัวของกรด amino บน V_H และ V_L นี้ขึ้นกับ Immnological specificity ของแอนติบอดีนั้นๆ เช่น โมเลกุลของ anti-tetanus antitoxin ย่อมมี variable region ที่พอเหมาะ ทำให้จับกับ tetanus toxoid ได้พอดี ตำแหน่งบน variable region ที่มีการเปลี่ยนแปลงของกรด amino ได้มากที่สุด ซึ่งว่าสัมพันธ์กับ antigen binding site เรียก hypervariable region

Immuoglobulin สามารถถูกตัดออกเป็นชิ้นๆ ได้ โดย เอนไซม์ บางอย่าง เช่น papain, pepsin เป็นต้น Papain digestion เมื่อย่อยแล้วจะได้ออกมาเป็น 3 ชิ้น



ภาพที่ 4-4 Immunoglobulin เมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ papain (ดัดแปลงจาก Roitt *et al.*, 1997)

ชิ้นหนึ่งสามารถตกผลึกได้ที่ 4 องศาเซลเซียส เรียก Fc fragment (fragment-crystalizable) ชิ้นนี้ไม่สามารถจับกับแอนติบอดีเพราะเป็นส่วนปลายทางด้าน carboxyl end ของ H-chain ทั้ง 2 อัน ซึ่งจะมี carbohydrate เป็นส่วนประกอบอยู่ด้วยประมาณ 2.5 เปอร์เซ็นต์ ถึง 10 เปอร์เซ็นต์

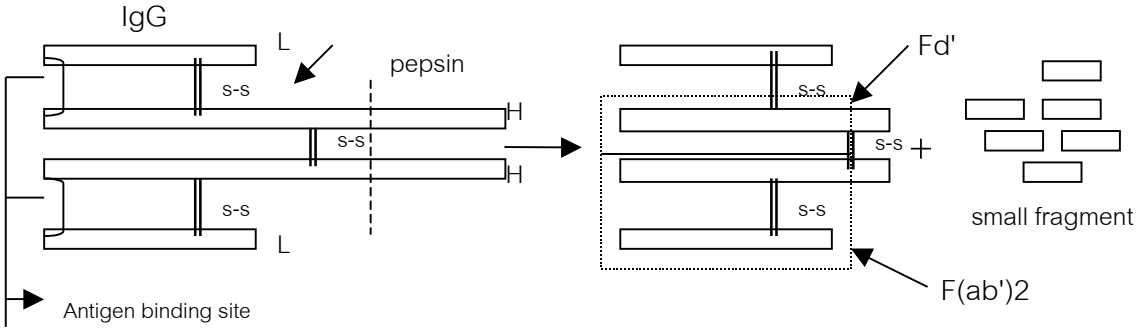
ส่วนอีก 2 ชิ้นมีลักษณะเหมือนกัน สามารถจับกับแอนติเจนได้ จึงเรียกว่า Fab fragment ซึ่งแต่ละ fragment ประกอบด้วย ส่วนปลายทางด้าน amino terminal ของ L-chain ทั้ง 2 อันโดยเชื่อมติดกันด้วย disulfide bond

ตารางที่ 4-2 เปรียบเทียบคุณสมบัติระหว่าง Fab และ Fc ของ immunoglobulin (Joseph A.Bellanti, 1971)

	Fab	Fc
Composition	1. Amino-terminal half of heavy chain and one light chain 2. Aberrated sequence	1. Carboxyl-terminal half of heavy chain dimer 2. Carbohydrate 3. Crystalizable 4. Constant amino acid sequence
Function	1. Antigen-binding or antibody active fragment	1. Complement fixation 2. Cutaneous attachment

<u>Pepsin digestion</u> เมื่อย่อยแล้วจะได้โมเลกุล 2 พวกคือ

IgG → Pepsin → F(ab')2 + small peptide fragments



ภาพที่ 4-5 Immunoglobulin เมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ pepsin (Roitt *et al.*,1993)

Fab 2 fragment เชื่อมกันด้วย disulfied bond จึงเรียกรวมเป็น F(ab')2 ซึ่งประกอบด้วย 2 light chain และ 2Fd (Fd = ส่วนของ Heavy chain ของ amino terminal) มี antigen binding site 2 ตำแหน่ง ซึ่งยังสามารถทำปฏิกิริยากับแอนติเจนและเกิด precipitation ได้แต่ specific antigenic determinant ของ IgG จะเสียไป ส่วน Fc fragment จะถูกย่อยออกเป็น Fragment ย่อย ๆ

Activity ของ Immunoglobulin

จากการศึกษาโครงสร้างของ immunoglobulin โดยใช้เอนไซม์ย่อยโครงสร้างดังกล่าว พบว่าในโมเลกุลหนึ่งของ immunoglobulin จะมีทั้งส่วนที่รับผิดชอบเกี่ยวกับ antibody activity และส่วนที่รับผิดชอบเกี่ยวกับ biological activity

1. Antibody activity คือความสามารถของ immunoglobulin ที่จะไปรวมกับ antigenic determinant ของแอนติเจน ซึ่งมี Fab fragment เป็นส่วนที่รับผิดชอบ

2. Biological activity ซึ่งมี Fc fragment เป็นส่วนที่รับผิดชอบอยู่ได้แก่

2.1 การ fix complement, Immunoglobulin ที่สามารถ fix complement ได้มีอยู่เพียง 2 ชนิดคือ IgG และ IgM เมื่อแอนติเจนรวมกับแอนติบอดี จะเกิดการเปลี่ยนแปลงในโมเลกุลของ immunoglobulin ในส่วน Fc fragment เป็นผลให้ส่วนนี้สามารถกระตุ้น complement ได้ ถ้าตัดส่วน Fc นี้ออกจะไม่เกิดปฏิกิริยาดังกล่าว

2.2 การถ่ายทอดผ่านรก จากแม่ไปยังลูก (placental transfer) IgG เท่านั้นที่สามารถผ่านรก จากแม่ไปสู่ทารกในครรภ์ได้และจะผ่านไปด้วยวิธี active transport mechanism คุณสมบัตินี้อยู่ที่บริเวณ Fc fragment ซึ่งมี carbohydrate อยู่

2.3 การตรึงเนื้อเยื่อ (tissue fixation) IgE เท่านั้นที่สามารถเกาะติดอยู่กับเซลล์บางชนิดได้ เช่น ผิวหนัง เยื่อระบบทางเดินหายใจ basophil และ mast cell ปฏิกิริยาการเกาะติดนี้ไม่ต้องอาศัย complement ความสามารถในการเกาะติดอยู่กับเซลล์ของ IgE นี้อยู่ที่ Fc fragment ของโมเลกุล

2.4 การแสดง antigenic determinant ของ immunoglobulin โมเลกุล

2.5 ควบคุมการแยกสลายตัวของ immunoglobulin โมเลกุล

คุณสมบัติของ Immunoglobulin แต่ละหมู่

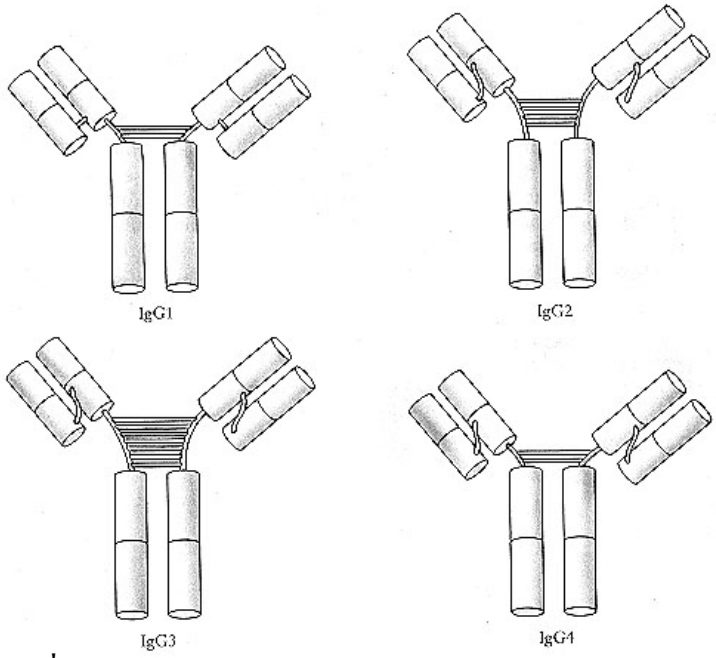
Immunoglobulin G (IgG) เป็น immunoglobulin ที่มีมากที่สุดใน น้ำเหลือง คือมีประมาณ 75-85 เปอร์เซ็นต์ของ immunoglobulin ทั้งหมดใน serum IgG มีอยู่ในเลือดประมาณครึ่งหนึ่ง อีกครึ่งหนึ่งอยู่ใน interstitial fluid และ extravascular space ความเข้มข้นของ IgG ในเลือดคนปกติมีประมาณ 1275 ± 280 มิลลิกรัมต่อ น้ำเหลือง 100 มิลลิลิตร มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 150,000 มีปริมาณ carbohydrate ประกอบอยู่ 2.5 เปอร์เซ็นต์ มี immunologic valency เท่ากับ 2 (คือมีบริเวณที่จับกับแอนติเจน 2 แห่ง) และมี half life ประมาณ 25 วัน IgG เป็น immunoglobulin ชนิดเดียวที่สามารถผ่านรก (placenta) จากมารดาไปยังทารกในครรภ์ได้ ฉะนั้นจึงมีบทบาทสำคัญในการป้องกันทารกแรกเกิดจากการติดเชื้อได้หลายชนิด IgG เป็นแอนติบอดีที่สำคัญของร่างกายที่ทำให้เกิดภูมิคุ้มกันติดเชื้อ bacteria virus และ exotoxin ของ bacteria บางอย่าง เช่น Diphtheria toxin และ Tetanus toxin เป็นต้น IgG เมื่อจับกับแอนติเจนแล้วสามารถ activate complement ทำให้มีสารต่างๆ (mediators) ออกมาหลายอย่าง เช่น chemotactic factor, anaphylatoxin, permeability factor, kinin เป็นต้น ซึ่งเป็น

ผลทำให้ bacteria ถูกฆ่าและมีการอักเสบเกิดขึ้นบริเวณนั้น (inflammatory response) นอกจากนั้น IgG ยังมีคุณสมบัติเป็น blocking antibody ในผู้ป่วยที่เป็นโรคภูมิแพ้ โดยจะคอยดักจับแอนติเจนเสียก่อนที่จะไปรวมกับ reaginic antibody (IgG) ทำให้ผู้ป่วยมีอาการดีขึ้น

IgG อาจแบ่งออกเป็นหมู่ย่อย (subclass) ได้อีก 4 ชนิด ได้แก่ IgG1 IgG2 IgG3 และ IgG4 การแบ่งนี้อาศัยความแตกต่างของแอนติเจนบน heavy chain ของ IgG ซึ่งเรียกว่า Gm antigen เป็นสำคัญคุณสมบัติของ IgG แต่ละ subclass เป็นดังนี้

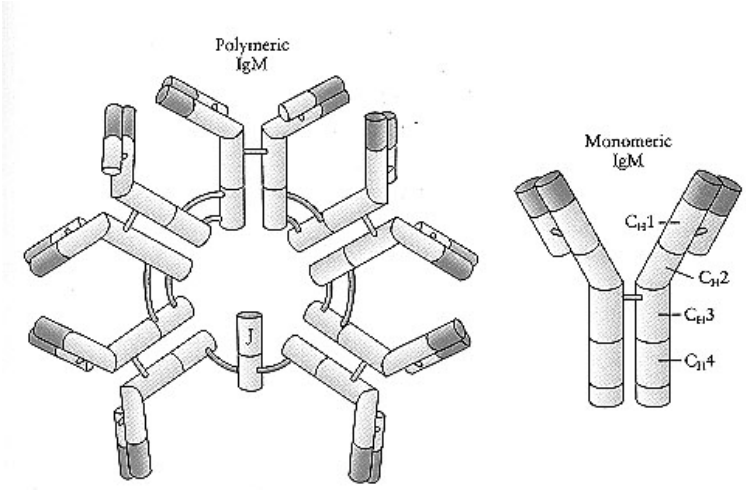
ตารางที่ 4-3 เปรียบเทียบคุณสมบัติบางประการของ IgG_1, IgG_2, IgG_3, IgG_4 (Roitt *et al.*,1993)

	IgG_1	IgG_2	IgG_3	IgG_4
% of total IgG in normal serum	65	23	8	4
Electrophoretic mobility	Slow	slow	slow	fast
Spontaneous aggregation	-	-	+++	-
Gm allotypes	a, z, f, x	n	b, b_3, b_4, s, t, c, g	
Ga site reacting with rheumatoid factor	+++	+++	-	+++
Combination with Stapphylococcal A protein	+++	+++	-	+++
Cross placenta	++	$\pm$	++	++
Complement fixation (C_1 pathway)	+++	++	++++	$\pm$
Binding to monocyte	+++	+	+++	$\pm$
Binding to heterologous skin	++	-	++	++
Block IgE binding	-	-	-	+
Antibody domonant	Anti-Rh	Anti-dextran Anti-levan	Anti-Rh	Anti-Factor VIII



ภาพที่ 4-6 โครงสร้างของ IgG (Roitt *et al.*, 1993)

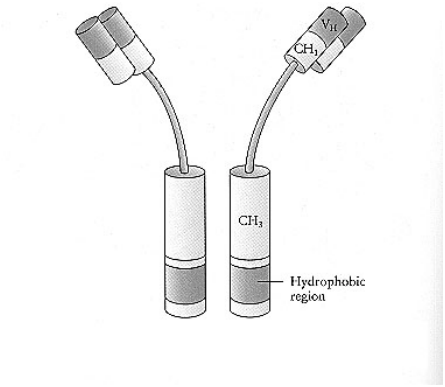
Immunoglobulin M. (IgM หรือ Macroglobulin) มีอยู่ในน้ำเหลืองคนปกติประมาณ 5-10 เปอร์เซนต์ของ Immunoglobulin ทั้งหมดหรือ ประมาณ 125 ± 45 มิลลิกรัมต่อน้ำเหลือง 100 มิลลิลิตร จะไม่พบ IgM ในเด็กแรกเกิด ระดับจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นเกือบถึงระดับปกติภายใน 2-3 เดือนแรก ปริมาณ IgM ในเพศหญิงจะพบมากกว่าเพศชาย ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากผลของฮอร์โมน มีส่วนเกี่ยวข้องกับปริมาณ IgM half life ของ IgM ประมาณ 10 วัน และมีการสร้างน้อยคือประมาณ 5-8 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน มีปริมาณ carbohydrate ประมาณ 10 เปอร์เซนต์ เกาะอยู่ทาง Fc fragment ของ heavy chain IgM ประกอบด้วย โมเลกุลที่มีโครงสร้างพื้นฐาน 5 โมเลกุล ต่อเชื่อมกันด้วย J-chain ดังนั้นจึงมีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่า Immunoglobulin ชนิดอื่นๆ คือมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 900,000 และมีค่า sedimentation constant เท่ากับ 19s มี immunologic valency เท่ากับ 10



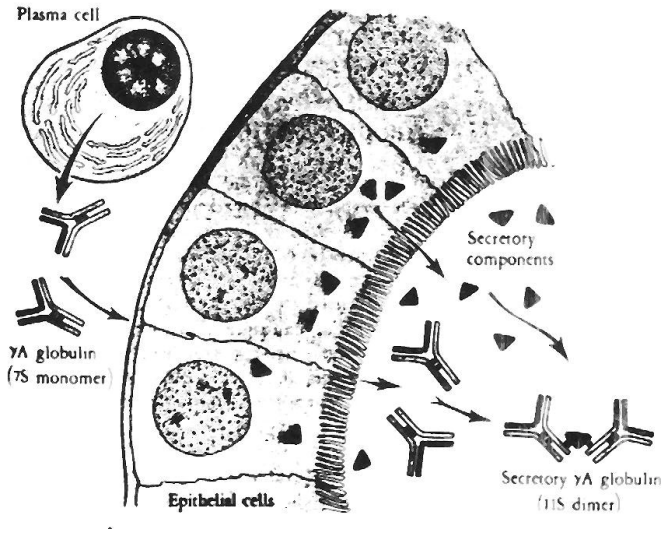
ภาพที่ 4-7 โครง สร้างของ IgM (Roitt *et al.*,1993)

เมื่อร่างกายถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจน IgM จะถูกสร้างขึ้นก่อนตัวอื่นๆ แล้วต่อมา IgM จะค่อยๆ ลดลง ซึ่งจะถูกแทนที่โดย IgG IgM สามารถ fix complement ได้ดีทำให้มีการกระตุ้นระบบ complement จนสามารถฆ่าแบคทีเรียได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวก Gram-negative bacteria นอกจากนั้น IgM ยังช่วยทำหน้าที่ opsonization, virus neutralization และ agglutination ต่อแอนติเจนและจุลินทรีย์ต่างๆ เพื่อให้ reticuloendothelial system กำจัดเชื้อโรคต่างๆ ที่บุกรุกเข้าไปในร่างกายได้โดยง่าย แอนติเจนที่สามารถกระตุ้นการสร้าง IgM ได้ดีคือ polysaccharide แอนติเจนและแอนติบอดีที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติหลายอย่าง เช่น natural isohemagglutinin (anti-A, anti-B), heterophile antibody, rheumatoid factor, cold agglutinin ล้วนแต่เป็น IgM ทั้งสิ้น นอกจากนี้ IgM จะพบมีปริมาณมากกว่าปกติในคนที่ได้รับ viral infection, malarial infection และ trypanosomal infection

Immunoglobulin A (IgA) พบได้ทั้งในน้ำเหลืองและในเนื้อเยื่อ แต่ที่สำคัญคือพบอยู่ในสารคัดหลั่งต่างๆ จำนวนมากเช่นในน้ำลาย น้ำมูก น้ำตา น้ำเมือกในหลอดลม ในลำไส้ ตลอดจนในปัสสาวะ ปริมาณ IgA ใน น้ำเหลือง มีเพียง 10-15 เปอร์เซนต์ ของจำนวน immunoglobulin ทั้งหมด มีค่าประมาณ 225±25 มิลลิกรัมต่อน้ำเหลือง 100 มิลลิลิตร ในทารกที่คลอดใหม่ๆ จะไม่พบ IgA ในน้ำเหลืองหรือสารคัดหลั่ง แต่จะเริ่มพบหลังจากคลอดประมาณ 1 ปี และระดับ IgA จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนย่างเข้าวัยหนุ่มสาว IgA มี half life เพียง 7 วัน ร่างกายสามารถสร้างได้ประมาณวันละ 8-10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม จึงทำให้ปริมาณในน้ำเหลืองมีน้อย



ภาพที่ 4-8 โครง สร้างของ IgA (Roitt *et al.*,1993)



ภาพที่ 4-9 การเกิด dimer ของ secretory IgA (Joseph A. Bellanti, 1971)

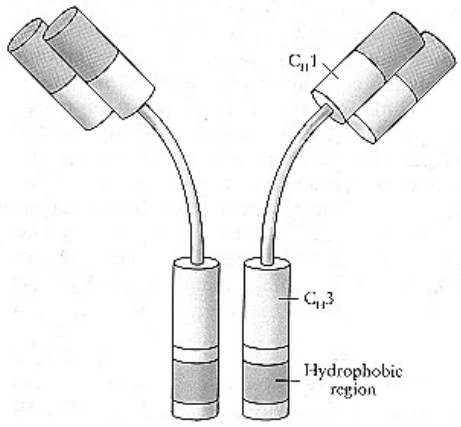
IgA .ในน้ำเหลืองมีสูตรโครงสร้างเหมือนกับ IgG นอกจาก heavy chain ซึ่งเป็น α-chain ที่มี carbohydrate มากกว่าคือมีประมาณ 10 เปอร์เซนต์ IgA มีคุณสมบัติเป็นแอนติบอดีต่อเชื้อหลายชนิดแต่ไม่จำเพาะเจาะจงต่อเชื้อชนิดใดชนิดหนึ่ง IgA ไม่สามารถฆ่า bacteria หรือกระตุ้นระบบ complement ได้ นอกจากเป็น aggregated IgA ซึ่งอาจจะกระตุ้น complement (C3) ได้โดยอาศัย alternative pathway ของระบบ complement สันนิษฐานว่า IgA อาจมีบทบาทในการทำลายจุลินทรีย์ได้ โดยทำหน้าที่ส่งเสริม phagocytosis

IgA ที่อยู่ใน secretionหรือที่เรียกว่า secretory IgA มีความสำคัญมากเพราะทำหน้าที่ต่อต้านจุลินทรีย์เฉพาะที่โดยไม่ให้ลุกล้ำผ่าน mucosa cell เข้าไปในร่างกายได้โดยง่าย secretory IgA มีลักษณะแตกต่างจาก IgA ที่อยู่ในเลือดคือ serum IgA มีน้ำหนักโมเลกุล 170,000 แต่ secretory IgA มีน้ำหนักโมเลกุล 370,000 secretory IgA ประกอบด้วย IgA 2 โมเลกุลต่อเชื่อมกันโดย secretory piece (sp) และ polypeptide ที่เรียกว่า J-chain

J-chain มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 24,000 จะจับ IgA 2 โมเลกุล ตรงปลายของ Fc fragment ไว้ด้วยกัน IgA สร้างจาก plasma cell ที่อยู่ใต้ผิว epithelium ของเยื่อบุ ขณะที่ IgA ทั้ง 2 โมเลกุลที่เชื่อมด้วย J-chain แล้วเคลื่อนผ่าน epithelial cell ของเยื่อบุจะได้ secretory piece (sp) ซึ่งสร้างจาก epithelial cell ติดออกมาด้วย กลายเป็น secretory IgA ปริมาณของ serum IgA และ secretory IgA ในคนมักจะมีความสัมพันธ์กันคือถ้าขาดก็มักจะขาดทั้ง 2 อย่าง เพราะต่างก็สร้างมาจาก plasma cell ในบริเวณ mucosa เช่นกัน มีส่วนน้อยที่พบว่า serum IgA สร้างในต่อมน้ำเหลืองและม้าม บางคนแม้จะขาด IgA ก็ไม่มีอาการอะไรเลยก็ได้ คงจะเป็นเพราะมี Immunoglobulin ชนิดอื่นมาช่วยในการต่อต้านเชื้อโรคแทน แต่ในผู้ที่ขาด IgA นี้จะมีอุบัติการของแอนติบอดีต่อแอนติเจนหลายอย่างเกิดขึ้นในตัวจึงมีผู้ให้ข้อสังเกตุว่า IgA อาจทำหน้าที่รวมกับ tissue antigen ที่สลายออกมาหรือ protein antigen อื่น ๆ ในลำไส้เป็นผลให้ถูกขับออกจากร่างกายไป ทำให้แอนติเจนเหล่านั้นไม่สามารถกระตุ้นให้ร่างกายสร้างแอนติบอดีชนิดอื่น ๆ เช่น IgE หรือ IgG ซึ่งอาจทำให้คนนั้นเป็นโรคภูมิแพ้ (allergy) ต่อแอนติเจนตัวนั้นได้ ฉะนั้น IgA จึงทำหน้าที่เสมือนหนึ่ง blocking antibody ถ้าผู้ป่วยขาด IgA แล้ว แอนติเจนจะเข้าสู่ร่างกายได้ง่ายและไปกระตุ้นให้เกิดแอนติบอดีหรืออาการแพ้ต่างขึ้นได้

Immunoglobulin D (IgD) เป็น immunoglobulin ที่มีอยู่ใน น้ำเหลือง คนปกติประมาณ 3 มิลลิกรัมต่อ น้ำเหลือง 100 มิลลิลิตร หรือเท่ากับปริมาณ 1 เปอร์เซนต์ของ immunoglobulin ทั้งหมด มีน้ำหนักโมเลกุล 180,000 และมีค่า sedimentation constant เท่ากับ 6.1s มี half life ของ ประมาณ 2.8 วัน และ IgD ถูกสร้างขึ้นประมาณ 0.4 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สำหรับหน้าที่ของ IgD ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่ก็มักจะพบ IgD เกาะอยู่บนผิวของ lymphocyte ในเลือดรวมกับ IgM ซึ่งอาจจะเป็นได้ว่าทั้ง IgD และ IgM จะทำงานร่วมกันโดยไปจับกับ antigen receptor บนผิวของ lymphocyte เพื่อควบคุมการ activate lymphocyte หรือการ suppress lymphocyte ต่อไป นอกจากนี้โมเลกุลของ IgD มีลักษณะต่างจาก

immunoglobulin ชนิดอื่นๆ คือ light chain ส่วนมากของ IgD เป็นชนิด λ type (Lambda) ซึ่ง immunoglobulin อื่นๆ light chain ส่วนมากเป็นชนิด κ type (Kappa)

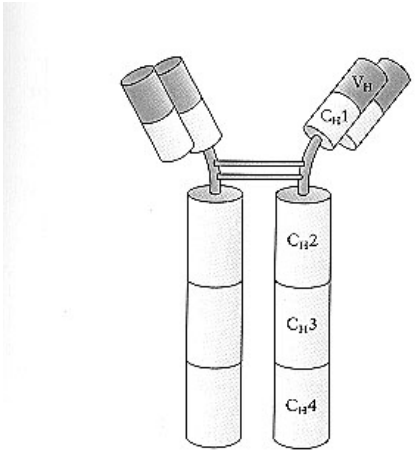


ภาพที่ 4-10 โครงสร้างของ IgD (Roitt *et al.*,1993)

Immunoglobulin E (IgE) แต่เดิมเรียกว่า reagin หรือ reagenic antibody หรือ skin sensitizing antibody เป็น immunoglobulin ที่มีอยู่ในเลือดน้อยที่สุดคือประมาณ 0.03 มิลลิกรัมต่อ น้ำเหลือง 100 มิลลิลิตรเท่านั้น หรือเท่ากับ 0.01 เปอร์เซนต์ของ immunoglobulin ทั้งหมด แต่ในผู้ป่วยโรคภูมิแพ้และในสภาวะที่มีอาการแพ้อยู่ในร่างกายอาจจะมีระดับ IgE สูงกว่าปกติประมาณ 50 เท่า IgE มีน้ำหนัก โมเลกุล 200,000 และมีค่า sedimentaion constant ประมาณ 8.2s มีสูตรโครงสร้างประกอบด้วย polypeptide chain 4 เส้นเช่นเดียวกับ immunoglobulin ชนิดอื่นๆ แต่ IgE มีขนาดโตกว่า IgG เพราะว่า IgE มีส่วน Fc fragment ยาวกว่า Fc fragment ของ IgG คือ น้ำหนักโมเลกุลเฉพาะ Fc fragment ของของ IgE ประมาณ 98,000 ซึ่ง Fc fragment ของ IgG หนักประมาณ 50,000

IgE มีปริมาณ carbohydrate อยู่ 10.7 เปอร์เซนต์ และมี half life สั้นที่สุด ประมาณ 2.3 วัน IgE สลายไดง่ายเมื่อถูกความร้อน (heat labile) ไม่สามารถผ่าน placenta จากแม่ไปยังลูกได้และไม่สามารถ fix complement คุณสมบัติพิเศษของ IgE คือ สามารถตรึงเนื้อเยื่อโดยเฉพาะที่ผิวหนัง (skin fixation) ได้เป็นเวลานานโดยใช้ส่วน Fc fragment ไปเกาะติดกับเนื้อเยื่อ ความสามารถในการเกาะของ Fc fragment จะเสียไปถ้าได้รับความร้อน 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เนื่องจาก IgE มีอยู่ในปริมาณน้อยมากใน น้ำเหลือง ของคนปกติ ฉะนั้นการหาค่าของ IgE จึงต้องใช้วิธีที่ sensitive เป็นพิเศษ ระดับ IgE ในเด็กเกิดใหม่จะต่ำคือมีเพียง 15 เปอร์เซนต์ ของระดับในผู้ใหญ่ และจะไม่มีความสัมพันธ์กับระดับ IgE ในแม่เมื่อเด็กเจริญเติบโตขึ้น ระดับ IgE จะค่อยๆ สูงขึ้นเท่ากับของผู้ใหญ่เมื่อถึงวัยหนุ่มสาวและ IgE ถูกสร้างขึ้นมาเป็นส่วนใหญ่จาก lymphoid tissue ในทางเดินหายใจและทางเดินอาหาร และจะพบได้เป็นจำนวนมากในสารคัดหลั่งของหลอดลมในผู้ป่วยที่เป็นโรคภูมิแพ้ของระบบทางเดินหายใจ IgE

สามารถเกาะติดอยู่กับ basophil และ mast cell ได้ ซึ่งเมื่อมี allergen เข้ามารวมกับ IgE จะทำให้มีการปลดปล่อย histamine, serotonin, bradykinin, และ slow reacting substance-anaphylaxis (SRS-A) ซึ่งสารเหล่านี้ล้วนแต่เป็นสาร vasoactive จึงทำให้ผู้ป่วยมีอาการต่าง ๆ ของโรคภูมิแพ้ได้



ภาพที่ 4-11 โครงสร้างของ IgE (Roitt *et al.*, 1993)