

การศึกษาแอนติบอดี และการเกาะติด Immunoglobulin Complement และ Fibrinogen ที่ Dermo-Epidermal Junction ในโรคตุ่มน้ำใส

ไพศาล รุ่งพิบูลโสภิสวี วท.บ., วท.ม.

พัชรินทร์ จันทร์จำรัสแสง พ.บ.

สมชัย ชายจนกิจสกุล วท.บ.

ดารากา ไพบุนพงศ์ วท.บ.

สถาบันโรคผิวหนัง กรมการแพทย์

Abstract Antibodies and Dermo-epidermal Deposit of Immunoglobulin, Complement, Fibrinogen in Vesiculobullous Diseases
Roongphiboolsopit P, Janjumratsang P, Chajanakijskul S, Phainupong D.
Institute of Dermatology. Department of Medical Services.
Bull Dept Med Serv 2004; 29:261-7.

Antibodies and immunoreactants in sera and skin biopsies of 55 autoimmune vesiculobullous disease patients (47 with bullous pemphigoid (BP), 4 with epidermolysis bullosa acquisita (EBA), 2 with adult linear IgA disease (adult LAD) and 2 with chronic bullous disease of childhood (CBDC)) are examined by direct and indirect immunofluorescence. Linear IgG and C₃ deposits at basement membrane zone (dermo-epidermal junction) were found in 93.62% of BP patients and 100% of EBA patients. Linear IgA and/or C₃ deposits at basement membrane zone were found in all of the adult LAD and CBDC patients. Circulating IgG anti-basement membrane antibodies were found in 87.23% of BP patients and 50% of EBA patients. IgA anti-basement membrane zone antibodies were detected in all of the CBDC patients. The positive finding of the immunoreactants in skin biopsies and circulating antibodies in sera were statically different for BP and EBA patients ($p < 0.05$), while they were indifferent for CBDC patients ($p > 0.05$).

Key words: vesiculobullous diseases, dermo-epidermal junction, anti-basement membrane antibody

เรื่องย่อ ทำการศึกษาแอนติบอดีและ immunoreactant ในน้ำเหลืองและชิ้นเนื้อผิวหนังของผู้ป่วยโรคตุ่มน้ำใส ๕๕ ราย ที่ประกอบด้วยโรค bullous pemphigoid (BP) ๔๗ ราย, epidermolysis bullosa acquisita (EBA) ๔ ราย, adult linear IgA disease (adult LAD) ๒ ราย และ chronic bullous disease of childhood (CBDC) ๒ ราย โดยวิธี direct immunofluorescence และ indirect immunofluorescence ผลการศึกษา immunoreactant พบ linear IgG และ C₃ ที่ basement membrane zone (dermo-epidermal junction) ๙๓.๖๒% ในโรค BP และ ๑๐๐% ในโรค EBA พบ linear IgA และ/หรือ C₃ ที่ basement membrane zone ๑๐๐% ในโรค adult LAD และ CBDC การศึกษาแอนติบอดีพบ IgG anti-basement membrane zone antibody ในโรค BP ๘๗.๒๓% และ EBA ๕๐% พบ IgA anti-basement membrane zone antibody ในโรค CBDC ๑๐๐% ผลบวกของการหา immunoreactant ในชิ้นเนื้อผิวหนัง และ circulating antibody ในน้ำเหลืองพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในโรค BP และ EBA ($p < ๐.๐๕$) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในโรค CBDC ($p > ๐.๐๕$)

คำสำคัญ: โรคตุ่มน้ำใส, การเกาะติดที่ dermo-epidermal junction, แอนติบอดีต่อ basement membrane zone

บทนำ

โรคตุ่มน้ำใส (vesiculobullous) เป็นกลุ่มโรคหลายชนิดที่เกิดจากการสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานต่อตัวเอง โดยมีการสร้างแอนติบอดี ต่อ adhesion molecule ของผิวหนัง และเยื่อ (mucous membrane) ทำให้มีตุ่มน้ำขึ้น ตุ่มน้ำใสจะเกิดที่ใต้ชั้นหนังกำพวด (subepidermal blister) ซึ่งสามารถพบได้ในหลายโรค เช่นโรค bullous pemphigoid (BP), epidermolysis bullosa acquisita (EBA), chronic bullous disease of childhood (CBDC) และ adult linear IgA disease (LAD) โรคตุ่มน้ำใสใต้หนังกำพวดเหล่านี้จะมี immunoreactant เช่น immunoglobulin (Ig), complement component (C₃), fibrinogen (F) เกาะติดที่ basement membrane zone (BMZ) หรือ dermo-epidermal junction และ circulating antibody ในน้ำเหลืองที่เฉพาะในแต่ละโรค และสามารถที่จะตรวจหาได้โดยการทดสอบ direct immunofluorescence (DIF) และ indirect immunofluorescence (IIF)^{๑-๔} ลักษณะทางคลินิกของโรคตุ่มน้ำใสเหล่านี้บางครั้งจะคล้ายกัน การตรวจวินิจฉัยและแยกโรคจำเป็นต้องอาศัยการตรวจหา immunoreactant ในชั้นเนื้อผิวหนัง และ circulating antibody ในน้ำเหลืองร่วมด้วย

การศึกษาค้นคว้านี้ได้ทำการวิเคราะห์ผลการทดสอบหาแอนติบอดีและ immunoreactant ที่ BMZ ในผู้ป่วยโรคตุ่มน้ำใส โดยวิธี DIF และ IIF ซึ่งเป็นการศึกษาการเรียงตัวของ immunoreactant ที่เกาะติดในชั้นเนื้อผิวหนัง และ circulating antibody ในน้ำเหลือง พร้อมทั้งเปรียบเทียบผลบวกของการหา immunoreactant และ ระดับ titer ของแอนติบอดีที่พบ เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานของโรค และนำไปใช้ ในการวินิจฉัยแยกโรค

วัตถุประสงค์และวิธีการ

ผู้ป่วย

ศึกษาผู้ป่วยโรคตุ่มน้ำใสเพื่อหาแอนติบอดีและ immunoreactant จำนวน ๕๕ ราย ที่เข้าการรักษาที่

สถาบันโรคผิวหนัง กรุงเทพฯ ระหว่าง ปี พ.ศ. ๒๕๓๘ - ๒๕๔๕ ประกอบด้วยโรค BP ๔๗ ราย, EBA ๔ ราย, CBDC ๒ ราย และ adult LAD ๒ ราย การวินิจฉัยโรคต่างๆ อาศัยข้อบ่งชี้ดังนี้ ๑) อาการทางคลินิก ๒) ผลการทดสอบจุลพยาธิวิทยา (Histology) และ ๓) ผลการทดสอบ DIF และ IIF

กลุ่มควบคุมที่ทำการศึกษาเปรียบเทียบกับในการหา immunoreactant ประกอบด้วยผู้ป่วยโรคตุ่มน้ำใสชนิดอื่นได้แก่ pemphigus vulgaris และ pemphigus foliaceus และผู้ป่วยโรคผิวหนังที่ไม่มีตุ่มน้ำใสได้แก่ psoriasis, leukoclastic vasculitis, phototoxic dermatitis, dermatomyositis, atopic dermatitis, scleroderma, alopecia areata, lichen planus, erythema nodosum ส่วนในการเปรียบเทียบหาแอนติบอดีในน้ำเหลืองประกอบด้วยผู้ป่วยโรคผิวหนังชนิดต่างๆ ได้แก่ syphilis, systemic lupus erythematosus, alopecia areata, urticaria vasculitis และ pityriasis rosea

การทดสอบ Immunofluorescence

ชิ้นเนื้อและน้ำเหลือง

ชิ้นเนื้อผู้ป่วยได้จากการทำ skin biopsy เก็บใน tissue embedding (OCT) compound (Tissue Tek, Mile Inc) ที่อุณหภูมิ -๗๐°C นำมาตัด section ด้วยเครื่อง cryostat ให้มีความหนา ๔ μm เก็บที่อุณหภูมิ -๗๐°C ส่วนชิ้นเนื้อที่ใช้เป็น substrate ในการทดสอบ IIF ได้จาก normal human skin โดยทำการตัดชิ้นเนื้อให้มี ความหนา ๔ μm เก็บที่อุณหภูมิ -๗๐°C เหมือนกับชิ้นเนื้อที่ทำการทดสอบ DIF น้ำเหลืองได้จากการเจาะเลือดผู้ป่วยประมาณ ๕ มล. และปั่นแยกน้ำเหลือง เก็บไว้ที่ อุณหภูมิ ๔°C

การทดสอบ Direct immunofluorescence

การทดสอบ DIF ทำตามวิธีของ Bentnes และคณะ^๕ โดยนำ skin section ของผู้ป่วย อบ (incubate) ที่อุณหภูมิห้องร่วมกับ rabbit anti-human IgG, IgM, IgA, C₃ และ fibrinogen ที่ label ด้วย fluorescein

isothiocyanate (Conjugate antibody) (Dako Patt, Denmark) ๓๐ นาที ล้างใน phosphate buffer saline (PBS) ๕ นาที ๒ ครั้ง อ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง (Fluorescence microscope) Conjugate antibody ทุกชนิดที่นำมาทดสอบจะเจือจาง ๑:๒๐ ด้วย PBS ในการทดสอบใช้ ผิวหนังของผู้ป่วย BP ที่ให้ผลบวกที่ BMZ เป็น positive control และใช้ผิวหนังปกติเป็น negative control ทำควบคู่ไปด้วยทุกครั้ง

การทดสอบ Indirect immunofluorescence

การทดสอบ IIF ทำตามวิธีของ Bentnes และคณะ^๕ ดังนี้ เจือจางน้ำเหลือง ๑:๑๐ ด้วย PBS นำไปหยดบน skin section ออบที่อุณหภูมิห้อง ๓๐ นาที ล้างใน PBS ๒ ครั้งๆ ละ ๕ นาที หยด rabbit anti-human IgG ที่ label ด้วย fluorescein isothiocyanate (เจือจาง ๑:๘๐ ด้วย PBS) (Dako Patt, Denmark) ลงบน skin section ออบที่อุณหภูมิห้อง ๓๐ นาที ล้างด้วย PBS ๒ ครั้งๆ ละ ๕ นาที อ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง ใช้น้ำเหลืองของผู้ป่วย BP ที่ให้ผลบวกต่อ BMZ เป็น positive control และ น้ำ

เหลืองคนปกติเป็น negative control ทำควบคู่ไปทุกครั้งเมื่อการทดสอบให้ผลบวกจะทำการเจือจางน้ำเหลือง ๑:๑๐ ถึง ๑:๒๕๖๐ และทำการทดสอบเพื่อหา anti-body titer

สถิติที่ใช้ การทดสอบความแตกต่างของผลบวกที่ได้จากการหา immunoreactant ในชั้นเนื้อโดยการทดสอบ DIF และ แอนติบอดีในน้ำเหลืองโดย IIF ใช้ chi-square test

ผล

ผู้ป่วยโรคตุ่มน้ำใส ๕ รายที่ทำการศึกษาประกอบด้วยผู้ป่วย BP จำนวน ๔๗ ราย (ร้อยละ ๘๕.๔๕) อายุ ๑๖-๙๑ ปี (เฉลี่ย ๖๘.๙๓ ± ๑๘.๗๗ ปี) ชาย ๑๗ ราย หญิง ๓๐ ราย ระยะเวลาการเกิดโรคตั้งแต่ ๑ สัปดาห์ถึง ๓ ปี ผู้ป่วย EBA จำนวน ๔ ราย (ร้อยละ ๗.๒๗) อายุ ๓๘-๖๗ ปี (เฉลี่ย ๕๗.๗๕ ± ๑๓.๔๐ ปี) ชาย ๑ ราย หญิง ๓ ราย ระยะเวลาการเกิดโรคตั้งแต่ ๖ สัปดาห์ถึง ๑ ปี ผู้ป่วย CBDC จำนวน ๒ ราย (ร้อยละ ๓.๖๔) อายุ ๑-๖ ปี (เฉลี่ย ๓.๕ ± ๓.๕๓ ปี) ชาย ๑ ราย หญิง ๑ ราย ระยะเวลาการเกิดโรคตั้งแต่ ๘ เดือน ถึง ๑ ปี ผู้ป่วย

ตารางที่ ๑ การเรืองแสงที่ basement membrane zone ในชั้นเนื้อของโรคตุ่มน้ำใสและโรคอื่นๆ ของการทดสอบ direct immunofluorescence

โรค	จำนวน (ราย)	การเรืองแสงที่ BMZ (linear pattern)	
		ผลบวก (ร้อยละ)	ผลลบ (ร้อยละ)
Bullous pemphigoid	๔๓	๔๔ (๕๓.๖)	๓ (๖.๔)
Epidermolysis bullosa acquisita	๔	๔ (๑๐๐)	๐
Chronic bullous disease of childhood	๒	๒ (๑๐๐)	๐
Adult linear IgA disease	๒	๒ (๑๐๐)	๐
Other bullous disease*	๑๑๐	๐	๑๑๐ (๑๐๐)
Nonbullous dermatose**	๑๐๐	๐	๑๐๐ (๑๐๐)
รวม	๒๖๕	๕๒ (๑๙.๖)	๒๑๓ (๘๐.๔)

*Other bullous disease ประกอบด้วยโรค pemphigus vulgaris ๕๒ ราย, pemphigus foliaceus ๒๖ ราย

**Nonbullous dermatose ประกอบด้วยโรค psoriasis ๑๔ ราย, leukoclastic vasculitis ๓๐ ราย, phototoxic dermatitis ๖ ราย, dermatomyositis ๓ ราย, atopic dermatitis ๑๐ คน, scleroderma ๘ ราย, alopecia areata ๖ ราย, lichen planus ๑๓ ราย, erythema nodosum ๑๐ ราย

adult LAD จำนวน ๒ ราย (ร้อยละ ๓.๖๔) อายุ ๓๘ ปี (เฉลี่ย ๓๘ ปี) ชาย ๑ ราย หญิง ๑ ราย ระยะเวลาการเกิดโรคตั้งแต่ ๘ เดือน ถึง ๑ ปี

ผลการตรวจชิ้นเนื้อผิวหนังพบ immunoreactant เกาะติดเป็นแนวยาวไปตาม BMZ ในโรค BP, EBA, CBDC และ adult LAD โดยจะไม่พบผลบวกนี้ในโรคตุ่มน้ำใสอื่น (pemphigus vulgaris และ pemphigus foliaceus) และโรคที่ไม่มีตุ่มน้ำใส พบผลบวกในโรค BP ๔๔ ใน ๔๗ ราย (ร้อยละ ๙๓.๖๒), โรค EBA ๔ ใน ๔ ราย (ร้อยละ ๑๐๐), โรค CBDC ๒ ใน ๒ ราย (ร้อยละ ๑๐๐) และ โรค adult LAD ๒ ใน ๒ ราย (ร้อยละ ๑๐๐) (ตารางที่ ๑) ชนิดของ immunoreactant ที่พบในแต่ละโรคจะแตกต่างกัน ในโรค BP ส่วนมาก

จะพบ IgG และ C₃ ที่ BMZ ร่วมกัน โดยผลบวก ๔๔ ราย จะพบ C₃ ๔๔ ราย (ร้อยละ ๑๐๐), พบ IgG ๔๓ ราย (ร้อยละ ๙๗.๗๓), นอกจากนี้พบ fibrinogen ร่วมกับ IgG+ C₃ ๑ ราย (ร้อยละ ๒.๒๗) ส่วนในโรค EBA พบ IgG และ C₃ ทุกราย (ร้อยละ ๑๐๐) และพบ IgM, IgA, fibrinogen ร่วมกับ IgG+ C₃ ๑ ราย (ร้อยละ ๒๕) สำหรับโรค CBDC และ adult LAD พบ IgA ที่ BMZ ทุกราย (ร้อยละ ๑๐๐) และในโรค adult LAD พบ C₃ ร่วมกับ IgA ทั้งสองรายที่ให้ผลบวก (ร้อยละ ๑๐๐) (ตารางที่ ๒)

ผลการทดสอบ IIF ในน้ำเหลืองพบ IgG anti-BMZ antibody ในโรค BP, EBA และ IgA anti-BMZ antibody ในโรค CBDC ไม่พบผลบวกนี้ในโรค

ตารางที่ ๒ ชนิดของ immunoreactant ที่ basement membrane zone ในชิ้นเนื้อที่พบในผู้ป่วยโรคตุ่มน้ำใส

โรค	จำนวน (ราย)	ผลบวกที่ BMZ	ชนิดของ immunoreactant				
			IgG	IgM	IgA	C ₃	F
Bullous pemphigoid	๔๗	๔๔	๔๓	-	-	๔๔	๑
Epidermolysis bullosa acquisita	๔	๔	๔	๑	๑	๔	๑
Chronic bullous disease of childhood	๒	๒	๐	๐	๒	๐	๐
Adult linear IgA disease	๒	๒	๐	๐	๒	๒	๐
รวม	๕๕	๕๒	๔๗	๑	๓	๕๐	๒

ตารางที่ ๓ แอนติบอดีในน้ำเหลืองที่พบในโรคตุ่มน้ำใส และโรคต่างๆ ของการทดสอบ indirect immunofluorescence

โรค	จำนวน (ราย)	IgG anti-BMZ Ab ผลบวก (ร้อยละ)	IgA anti-BMZ Ab ผลบวก (ร้อยละ)
Bullous pemphigoid	๔๗	๔๑ (๘๗.๒)	๐
Epidermolysis bullosa acquisita	๔	๒ (๕๐)	๐
Chronic bullous disease of childhood	๒	๐	๒ (๑๐๐)
Nonbullous dermatose*	๑๐๐	๐	๐
รวม	๑๕๓	๔๓ (๒๘.๑)	๒ (๑.๓)

*Nonbullous dermatose: syphilis ๑๐ ราย, systemic lupus erythematosus ๕ ราย, alopecia areata ๓๐ ราย, urticaria vasculitis ๓๕ ราย, pityriasis rosea ๒๐ ราย

ตุ่มน้ำใสชนิดอื่น (pemphigus vulgaris, pemphigus foliaceus) และโรคผิวหนังที่ไม่มีตุ่มน้ำใส (ตารางที่ ๓) ในโรค BP พบผลบวก ๔๑ ใน ๔๗ ราย (ร้อยละ ๘๗.๒๓), EBA พบ ๒ ใน ๒ ราย (ร้อยละ ๑๐๐), ส่วน CBDC พบ ๒ ใน ๒ ราย (ร้อยละ ๑๐๐) (ตารางที่ ๓) สำหรับ antibody titer ที่ให้ผลบวกในโรคต่างๆ พบว่าในโรค BP พบได้ตั้งแต่ ๑:๑๐ ถึง \geq ๑:๒๕๖๐, โรค EBA พบที่ ๑:๔๐ และ ในโรค CBDC พบที่ ๑:๑๐ เท่านั้น (ตารางที่ ๔)

เมื่อเปรียบเทียบผลบวกที่ได้จากการหา immunoreactant ในชั้นเนื้อผิวหนัง และ circulating antibody ในน้ำเหลืองของผู้ป่วยเดียวกันพบว่า การหา immunoreactant ให้ผลบวกที่มากกว่าในโรค BP และ EBA (ร้อยละ ๘๓.๖๒ : ๘๗.๒๓ ในโรค BP; ร้อยละ ๑๐๐ : ๕๐ ในโรค EBA) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < ๐.๐๕$) ส่วนโรค CBDC พบได้เท่ากัน (ร้อยละ ๑๐๐) และ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > ๐.๐๕$) (ตารางที่ ๕)

ตารางที่ ๔ แสดง antibody titer ของ anti-basement membrane antibody ในโรค bullous pemphigoid, epidermolysis bullosa acquisita และโรค chronic bullous disease of childhood

Titer	Bullous pemphigoid	Epidermolysis bullosa acquisita	Chronic bullous disease of childhood
	จำนวน (ร้อยละ)	จำนวน (ร้อยละ)	จำนวน (ร้อยละ)
๑:๑๐	๑ (๒.๔)	๐	๒ (๑๐๐)
๑:๒๐	๑ (๒.๔)	๐	๐
๑:๔๐	๕ (๒๑.๕)	๒ (๑๐๐)	๐
๑:๘๐	๖ (๑๔.๖)	๐	๐
๑:๑๖๐	๗ (๑๗.๐)	๐	๐
๑:๓๒๐	๔ (๙.๗)	๐	๐
๑:๖๔๐	๖ (๑๔.๖)	๐	๐
๑:๑๒๘๐	๖ (๑๔.๖)	๐	๐
\geq ๑:๒๕๖๐	๑ (๒.๔)	๐	๐

ตารางที่ ๕ การเปรียบเทียบการหา immunoreactant ในชั้นเนื้อและ circulating antibody ในน้ำเหลืองของผู้ป่วยโรคตุ่มน้ำใสชนิดต่างๆ

โรค	จำนวน	ผลบวก immunoreactant	ผลบวกของ circulating
		ในชั้นเนื้อ (ร้อยละ)	antibody ในน้ำเหลือง (ร้อยละ)
Bullous pemphigoid	๔๗	๔๔ (๙๓.๖)	๔๑ (๘๗.๒)
Epidermolysis bullosa acquisita	๔	๔ (๑๐๐)	๒ (๕๐)
Chronic bullous disease of childhood	๒	๒ (๑๐๐)	๒ (๑๐๐)
รวม	๕๓	๕๐ (๙๔.๓)	๔๕ (๘๔.๕)

วิจารณ์

ในการศึกษานี้ได้ยืนยันว่าโรค BP, EBA, CBDC และ adult LAD ซึ่งเป็นโรคตุ่มน้ำใสได้หนึ่งกำพร้า เป็นโรคที่มี immunoreactant ที่ BMZ (linear pattern) และ circulating anti-BMZ antibody ที่เฉพาะต่อโรค สามารถนำไปใช้ในการวินิจฉัยและแยกโรคตุ่มน้ำใสได้ผิวหนังได้ จากการศึกษา immunoreactant ที่ BMZ ในโรค BP และ EBA พบ IgG และ C₃ โดยในโรค BP พบผลบวกร้อยละ ๙๓.๖๒ และส่วนมากจะพบ IgG และ C₃ ร่วมกัน ซึ่ง C₃ พบได้ทุกราย (ร้อยละ ๑๐๐) ที่ให้ผลบวกส่วน IgG พบร้อยละ ๙๗.๙๓ แต่ไม่พบ IgA และ IgM นอกจากนี้พบ fibrinogen ในบางรายด้วย (ร้อยละ ๒.๒๗) ซึ่งแตกต่างจากรายงานเดิมที่ผ่านมา^{๖,๗} ที่พบ IgA ร้อยละ ๑๗ และ IgM ร้อยละ ๓๐ ที่ BMZ ร่วมด้วย ในโรค EBA ที่ทำการศึกษาพบ IgG และ C₃ ทุกราย (ร้อยละ ๑๐๐) และพบ immunoreactant ชนิดอื่นร่วมด้วย (IgM, IgA, fibrinogen) ในบางราย เหมือนกับการศึกษาที่ผ่านมา^{๘,๙} ในโรค CBDC และ adult LAD ที่ทำการศึกษาพบ IgA และ/หรือ C₃ ที่ BMZ ทุกราย (ร้อยละ ๑๐๐) แตกต่างจากรายงานที่ผ่านมา^๑ ที่พบ IgA และ/หรือ C₃ เหมือนกันแต่พบ IgG และ IgM ร่วมกับ IgA ด้วย ในบางราย (ร้อยละ ๑๕-๒๐)

ผลแอนติบอดีจากการศึกษานี้ พบ anti-BMZ antibody ในโรคตุ่มน้ำใสได้หนึ่งกำพร้าเท่านั้น โดยพบ IgG anti-BMZ antibody ในโรค BP และ EBA โรค BP พบผลบวกร้อยละ ๘๗.๒๓ สูงกว่ารายงานเดิมที่พบ ประมาณร้อยละ ๗๐^๖ โรค EBA พบผลบวกร้อยละ ๕๐ เท่ากับรายงานเดิม^๖ สำหรับโรค CBDC พบ IgA anti-BMZ antibody โดยพบผลบวกร้อยละ ๑๐๐ มากกว่ารายงานที่ผ่านมาที่พบได้ร้อยละ ๘๐^๕ ส่วน antibody titer ที่พบจะใกล้เคียงกับ รายงานที่ผ่านมา^{๕,๖,๘} โดยในโรค BP จะพบได้ตั้งแต่ titer ต่ำถึงสูง (๑:๑๐ ถึง (๑:๒๕๖๐) ในโรค EBA พบได้ใน titer ปานกลาง (๑:๔๐) แต่ในโรค CBDC จะพบใน titer ต่ำเท่านั้น (๑:๑๐)

จากการศึกษานี้และจากที่รายงานมาจะเห็นว่า การหา immunoreactant ที่ BMZ ในชั้นเนื้อ และ circulating antibody ในน้ำเหลืองสามารถแยกวินิจฉัยโรคตุ่มน้ำใสได้ แต่ไม่สามารถที่จะแยกโรค BP และ EBA, โรค CBDC และ adult LAD ออกจากกัน การวินิจฉัยโรคที่ถูกต้อง จำเป็นต้องอาศัย ลักษณะทางคลินิก และการทดสอบอื่นๆ เฉพาะต่อโรคด้วยเช่น การหา anti-hemidesmosome antigen ๒๓๐ kDa และ ๑๘๐ kDa ที่เฉพาะในโรค BP^{๑๐,๑๑}, การทดสอบ direct immunoelectron microscopy ที่พบการเกาะติดของ immunoreactant ที่ sublamina densa zone ของ BMZ ในโรค EBA^{๑๒}, การใช้ salt split skin ในการทดสอบ DIF และ IIF ที่โรค BP จะพบการเรืองแสงที่ epidermal side หรือ epidermal และ dermal side ส่วนโรค EBA จะพบการเรืองแสงที่ dermal side^{๑๓,๑๔}

เมื่อเปรียบเทียบผลบวกของการหา immunoreactant ในชั้นเนื้อและแอนติบอดีในน้ำเหลือง จาก การศึกษานี้พบว่าผลบวกของการหา immunoreactant จะสูงกว่าโรค BP, EBA แต่จะเท่ากันในโรค CBDC และเมื่อเปรียบเทียบทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันของผลบวกทั้งสองในโรค BP, EBA ($p < ๐.๐๕$) แต่ไม่แตกต่างกันในโรค CBDC ($p > ๐.๐๕$) แสดงให้เห็นว่า การหา immunoreactant ในชั้นเนื้อจะช่วยในการวินิจฉัยโรคได้ดีกว่าการหาแอนติบอดีในน้ำเหลืองในโรค BP และ EBA สำหรับในโรค CBDC แม้ว่าผลบวกที่ได้ ไม่แตกต่างกัน แต่แอนติบอดีที่พบ จะมี titer ที่ต่ำ (๑:๑๐) ต่ำ และมีรายงานการที่พบผลบวกประมาณร้อยละ ๘๐ ในโรค CBDC^๕ ดังนั้นการวินิจฉัยโรค CBDC ควรจะทำการทดสอบหา linear IgA ที่ BMZ ด้วย

สรุป

การศึกษา immunoreactant ที่ BMZ (หรือ dermo-epidermal junction) ในชั้นเนื้อ และแอนติบอดีในน้ำเหลือง โดยวิธี DIF และ IIF พบว่าสามารถที่จะนำไปช่วยวินิจฉัยแยกโรคตุ่มน้ำใสได้หนึ่ง

กำพว้าเช่น โรค BP, EBA, CBDC และ adult LAD ได้ โดยพบ linear IgG และ C₃ ในโรค BP และ EBA, linear IgA และ/หรือ C₃ ที่ BMZ ในโรค CBDC และ adult LAD ส่วนแอนติบอดีในน้ำเหลืองพบ IgG anti-BMZ antibody ในโรค BP และ EBA, IgA anti-BMZ antibody ในโรค CBDC ผลบวกของการหา immunoreactant จะพบได้มากกว่าผลบวกของการหา แอนติบอดีอย่างมีนัยสำคัญในโรค BP และ EBA (p < 0.05) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในโรค CBDC (p > 0.05)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ นพ. สมชาติ ไตรรักษา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้คำแนะนำในการเขียนงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Jordon RE, Triftshauer CT, Schroeter AL. Direct immunofluorescence studies of pemphigus and bullous pemphigoid. *Arch Dermatol* 1971; 103:486-91.
2. Gammon WR. The immunopathology of bullous pemphigoid antibodies. *In: Beuner EH, Chorzelski TP, Kumar V, editors. Immunopathology of skin. 3rd ed. New York: John Wiley & Sons; 1987. p. 322-36.*
3. Woodley DT, Gammon WR, Briggaman RA. Epidermolysis bullosa acquisita. *In: Jordon RE, editors. Immunologic diseases of the skin. Norwalk (CT): Appleton & Lange; 1991. p. 321-33.*
4. Wojnarowska F, Marsden RA, Bhogal B, Black MM. Chronic bullous disease of childhood, childhood cica-

tricial pemphigoid, and linear IgA disease of adults. A comparative study demonstrating clinical and immunopathologic overlap. *J Am Acad Dermatol* 1988; 19: 792-805.

5. Beuner EH, Nisengard RJ, Kumar V. Define immunofluorescence: basic concepts and their application to clinical immunopathology. *In: Beutner EH, Chorzelski TP, Bean SF editors. Immunopathology of the skin. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons Inc; 1979, p. 29-75.*
6. Ahmed AR, Maize JC, Provost TT. Bullous pemphigoid: clinical and immunologic follow up after successful therapy. *Arch Dermatol* 1977; 113:1043-6.
7. Jordon RE. Complement activation in bullous skin diseases. *J Invest Dermatol* 1975; 65:162-9.
8. Briggaman RA, Gammon WR, Woodley DT. Epidermolysis bullosa acquisita of the immunopathological type (dermolytic pemphigoid). *J Invest Dermatol* 1985; 85:79s-84s.
9. Wilson BD, Birnkrant AF, Beutner EH, Maize JC. Epidermolysis bullosa acquisita: a clinical disorder of varied etiologies. *J Am Acad Dermatol* 1980; 3:280-5.
10. Stanley JR, Woodley DT, Katz SI. Identification and partial characterization of pemphigoid antigen extracted from normal human skin. *J Invest Dermatol* 1984; 82:108-11.
11. Zhu XJ, Niimi Y, Bystryk JC. Molecular identification of major and minor bullous pemphigoid antigens. *J Am Acad Dermatol* 1990; 23:876-80
12. Yaoita H, Briggaman RA, Lawley TJ, Provost TT, Katz SI. Epidermolysis bullosa acquisita: ultrastructural and immunological studies. *J Invest Dermatol* 1981; 76:288-92.
13. Gammon WR, Kowalewski C, Chorzelski TP, Kumar V, Briggaman RA, Beutner EH. Direct immunofluorescence studies of sodium chloride-separated skin in the differential diagnosis of bullous pemphigoid and epidermolysis bullosa acquisita. *J Am Acad Dermatol* 1990; 22:664-70.
14. Gammon WR, Briggaman RA, Inman AO 3rd, Queen LL, Wheeler CE. Differentiating anti-lamina lucida and anti-sublamina densa anti-BMZ antibodies by indirect immunofluorescence on 1.0 M sodium chloride-separated skin. *J Invest Dermatol* 1984; 82:139-44.