

Direct Immunofluorescence และ Indirect Immunofluorescence ในการวินิจฉัยผู้ป่วยกลุ่มโรค Pemphigus

ไพศาล รุ่งพิบูลโสภิษฐ์ วท.บ., วท.ม.

พัชรินทร์ จันทร์จำรัสแสง พ.บ.

สมชัย ชัยจนกิจสกุล วท.บ.

ดารากา ไพบูลพงศ์ วท.บ.

สถาบันโรคผิวหนัง กรมการแพทย์

Abstract Direct and Indirect Immunofluorescence in the Diagnosis of Pemphigus
Roongphiboolsopit P, Janjumsang P, Chajanakijskul S, Phainupong D.
Institute of Dermatology. Department of Medical Services.
Bull Dept Med Serv 2004; 29:268-74.

Direct and indirect immunofluorescence testing is studied in 110 patients with pemphigus (87 with pemphigus vulgaris (PV), 23 with pemphigus foliaceus (PF)) at Institute of Dermatology from 1995 to 2002. By direct immunofluorescence, IgG and C₃ were found in the intercellular space of epidermis. Deposits of IgG and C₃ were detected in 96.55% and 79.31% of PV patients respectively. In PF, deposits of IgG were found in 100% and of C₃ in 82.61% of cases. By indirect immunofluorescence using normal human skin as substrate, 93.10% of the PV patients and 95.65% of the PF patients revealed circulating IgG intercellular antibodies. The sensitivity of direct immunofluorescence and indirect immunofluorescence in pemphigus were 97.27% and 93.64% respectively, whereas the specificity of two tests were 100%. There was no significant positive findings difference between direct immunofluorescence and indirect immunofluorescence ($p > 0.05$).

Key words: direct immunofluorescence, indirect immunofluorescence, pemphigus

เรื่องย่อ การศึกษา direct immunofluorescence และ indirect immunofluorescence ในผู้ป่วยกลุ่มโรค pemphigus ๑๑๐ ราย ที่มารับการรักษาที่สถาบันโรคผิวหนัง ในช่วงปี พ.ศ. ๒๕๓๕-๒๕๔๕ เป็นโรค pemphigus vulgaris (PV) ๘๗ ราย และ pemphigus foliaceus (PF) ๒๓ ราย ผลการศึกษา direct immunofluorescence พบว่ามีการติดของ immunoreactant ๒ ชนิดคือ IgG และ C₃ เกาะติดที่ intercellular ของชั้นผิวหนังกำพร้า โดยในโรค PV พบการเกาะติดของ IgG ร้อยละ ๙๖.๕๕ และ C₃ ร้อยละ ๗๙.๓๑ ส่วนในโรค PF พบการเกาะติดของ IgG ร้อยละ ๑๐๐ และ C₃ ร้อยละ ๘๒.๖๑ ในการศึกษา indirect immunofluorescence โดยใช้ normal human skin เป็น substrate พบ circulating IgG intercellular antibody ร้อยละ ๙๓.๑๐ ในโรค PV และร้อยละ ๙๕.๖๕ ในโรค PF การทดสอบ direct immunofluorescence และ indirect immunofluorescence ในโรค pemphigus มีความไวร้อยละ ๙๗.๒๗ และร้อยละ ๙๓.๖๔ ตามลำดับ มีความเฉพาะร้อยละ ๑๐๐ ทั้งสอง การทดสอบ ผลบวกของการทดสอบทั้งสองชนิดพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

คำสำคัญ: direct immunofluorescence, indirect immunofluorescence โรค pemphigus

บทนำ

Pemphigus เป็นโรคที่มีการสร้างแอนติบอดีต่อ keratinocyte-keratinocyte adhesion molecule ทำให้เกิดการแยกตัวของเซลล์ (acantholysis) และเกิดตุ่มน้ำที่ผิวหนังชั้นหนังกำพร้า(epidermis)และเยื่อ (mucous membrane) การทดสอบ direct immunofluorescence (DIF) และ indirect immunofluorescence (IIF) จะพบการเกาะติดของ IgG ที่ intercellular space (ICS) ในชั้นเนื้อผิวหนัง และ circulating IgG intercellular antibody ในน้ำเหลืองของผู้ป่วยซึ่งจะเจาะจงต่อโรค pemphigus^{๑-๕} มีรายงานผลการทดสอบ DIF และ IIF ในการวินิจฉัยโรค pemphigus ที่ไม่มีความสัมพันธ์กัน^{๔,๕} และพบ circulating IgG intercellular antibody ในโรคอื่นๆ เช่น โรคเชื้อรา, burn, malignancy, drug eruption, erythema multiforme, bullous pemphigoid, cicatricial pemphigoid^{๖-๑๑}

การศึกษานี้ได้ทำการวิเคราะห์การทดสอบ DIF และ IIF ในผู้ป่วย pemphigus เพื่อดูชนิดของ immunoreactant ที่พบในชั้นเนื้อผิวหนัง และแอนติบอดีในน้ำเหลืองผู้ป่วย ความไว ความเฉพาะ และความสัมพันธ์ของการทดสอบทั้งสอง ที่สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานและช่วยในการวินิจฉัยกลุ่มโรค pemphigus ในประเทศไทย

วัตถุประสงค์และวิธีการ

ผู้ป่วยและตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

ศึกษาผู้ป่วยกลุ่มโรค pemphigus ๑๑๐ ราย ที่มาทำการรักษาที่สถาบันโรคผิวหนัง กรุงเทพฯ ตั้งแต่ปี พ.ศ. ๒๕๓๘-๒๕๔๕ การวินิจฉัยโรคนี้ได้อาศัย ๑) ลักษณะทางคลินิก ๒) ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา และ ๓) การทดสอบ DIF และ IIF

ผู้ป่วยที่ทำการศึกษาเปรียบเทียบในการทดสอบ DIF ประกอบด้วย ผู้ป่วยโรคตุ่มน้ำใสอื่นๆ (Other bullous disease) ซึ่งเป็น bullous pemphigoid, epidermolysis bullosa acquisita, bullous LE และ

linear IgA disease และผู้ป่วยโรคผิวหนังชนิดต่างๆ (Nonbullous dermatose) ประกอบด้วย psoriasis, leukoclastic vasculitis, phototoxic dermatitis, dermatomyositis, atopic dermatitis, scleroderma, alopecia areata, lichen planus, erythema nodosum ผู้ป่วยที่ทำการศึกษาเปรียบเทียบในการทดสอบ IIF ประกอบด้วยผู้ป่วยโรคตุ่มน้ำใสอื่นๆ (Other bullous disease) ได้แก่ bullous pemphigoid, epidermolysis bullosa acquisita, bullous LE และ linear IgA disease และผู้ป่วยโรคผิวหนังชนิดต่างๆ (Nonbullous derma-tose) ได้แก่ syphilis, systemic lupus erythematosus, alopecia areata, urticaria vasculitis และ pityriasis rosea

ตัวอย่างที่นำมาศึกษาได้แต่ชั้นเนื้อผิวหนังและน้ำเหลืองที่ได้จากการเจาะเลือดผู้ป่วยครั้งแรกที่มาตรวจรักษา

การทดสอบ Direct immunofluorescence

การทดสอบ DIF ในชั้นเนื้อผิวหนังทำตามวิธีของ Beutner และคณะ^{๑๒} ดังนี้ ชิ้นเนื้อที่ได้จากการทำ skin biopsy นำมาเก็บใน OCT compound (Tissue-Tek, Mile Inc) ที่อุณหภูมิ -๗๐°C ตัดทำ skin section ให้มีความหนา ๔ μ m โดยใช้เครื่อง cryostat นำมา อบ (incubate) ร่วมกับ rabbit anti-human IgG, IgM, IgA, C₃ และ fibrinogen ที่ label ด้วย fluorescein isothiocyanate (DAKO patt, Denmark) ที่อุณหภูมิห้อง ๓๐ นาที ล้างใน phosphate buffer saline (PBS) ๕ นาที ๒ ครั้ง อ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง (Fluorescence microscope) Conjugate antibody ทุกชนิดที่ใช้ย้อมนำมาเจือจาง ๑:๒๐ ด้วย PBS การทดสอบทำ positive control โดยใช้ ชิ้นเนื้อผิวหนังของผู้ป่วย pemphigus ที่ให้ผลบวกที่ ICS และ negative control โดยใช้ชิ้นเนื้อผิวหนังปกติทำคู่ไปทุกครั้ง

การทดสอบ Indirect immunofluorescence

การทดสอบ IIF ในน้ำเหลืองทำตามวิธีของ

Beutner และคณะ^{๑๒} โดยใช้ normal human skin เป็น substrate มีวิธีการดังนี้ เจือจางน้ำเหลือง ๑:๑๐ ด้วย PBS นำไปหยดลงบน ๔ μm normal human skin section อบที่อุณหภูมิห้อง ๓๐ นาที ล้างด้วย PBS ๕ นาที ๒ ครั้ง หยด rabbit anti-human IgG conjugated fluorescein isothiocyanate (เจือจาง ๑:๘๐ ด้วย PBS) ลงบน sections อบที่อุณหภูมิห้อง ๓๐ นาที ล้างด้วย PBS ๕ นาที ๒ ครั้ง อ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง การทดสอบจะทำ positive control โดยใช้ น้ำเหลืองของ ผู้ป่วย pemphigus ที่ให้ผลบวกต่อ ICS ในชิ้นเนื้อผิวหนัง และ negative control จากน้ำเหลืองคนปกติคู่ไปทุกครั้ง และเมื่อ น้ำเหลือง กลุ่มนี้ ให้ผลบวก จะทำการเจือจางน้ำเหลือง ๑:๑๐ ถึง ๑:๒๕๖๐ ด้วย PBS และทำการทดสอบอีกครั้งเพื่อหา antibody titer

การทดสอบทางสถิติ

๑. ความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ของการทดสอบ DIF และ IIF ในการวินิจฉัยโรค pemphigus คำนวณได้ดังนี้

๑.๑ ความไว (ร้อยละ)

$$= \frac{\text{true-positive}}{\text{true-positive} + \text{false-negative}} \times 100$$

๑.๒ ความจำเพาะ (ร้อยละ)

$$= \frac{\text{true-negative}}{\text{true-negative} + \text{false-positive}} \times 100$$

๒. การทดสอบความแตกต่างของผลบวกของการทดสอบ DIF และ IIF ใช้ chi square test

ผล

ผู้ป่วยกลุ่มโรค pemphigus ๑๑๐ ราย ที่ทำการศึกษาประกอบด้วยผู้ป่วย pemphigus vulgaris (PV) จำนวน ๘๗ ราย (ร้อยละ ๗๙.๑) เป็นชาย ๔๕ ราย หญิง ๔๒ ราย อายุระหว่าง ๑๙-๘๒ ปี (เฉลี่ย ๕๐.๓๑ $\pm$ ๑๕.๖ ปี) ระยะเวลาเกิดโรค ตั้งแต่ ๑ สัปดาห์ ถึง ๒ ปี ผู้ป่วย pemphigus foliaceus (PF) จำนวน ๒๓ ราย

(ร้อยละ ๒๐.๙) เป็นชาย ๑๔ ราย หญิง ๙ ราย อายุระหว่าง ๑๘-๘๓ ปี (เฉลี่ย ๕๔.๘๗ $\pm$ ๑๖.๕๐ ปี) ระยะเวลาเกิดโรค ๑ สัปดาห์ ถึง ๒ ปี

ผลการศึกษา DIF ในชิ้นเนื้อกลุ่มผู้ป่วยกลุ่มโรค pemphigus ๑๑๐ ราย (PV ๘๗ ราย, PF ๒๓ ราย) และโรคตุ่มน้ำใสชนิดอื่น ๆ (Other bullous disease) และโรคผิวหนังที่ไม่ใช่โรคตุ่มน้ำใส (Nonbullous dermatose) ๑๗๐ ราย พบผลบวกที่ ICS ในโรค pemphigus ๑๐๗ ราย โดยในโรค PV พบ IgG ๘๔ ราย (ร้อยละ ๙๖.๕) พบ C₃ ๖๙ ราย (ร้อยละ ๗๙.๓) ในโรค PF พบ IgG ทุกราย (ร้อยละ ๑๐๐), พบ C₃ ๑๙ ราย (ร้อยละ ๘๒.๖) (ตารางที่ ๑, ๒) นอกจากนี้พบ fibrinogen ที่ basement membrane zone และ vessel ร่วมกับ IgG + C₃ ที่ ICS อย่างละ ๑ รายในโรค PV (ร้อยละ ๑.๒) และ PF (ร้อยละ ๔.๓)

ในผู้ป่วยกลุ่มโรค pemphigus ทั้ง PV และ PF ที่ให้ผลบวกของการทดสอบ DIF ๑๐๗ ราย พบ IgG ทุกราย (ร้อยละ ๑๐๐) ส่วน C₃ จะพบร่วมกับ IgG โดยพบ ๘๘ ราย (ร้อยละ ๘๒.๒) (ตารางที่ ๒)

ความไวและความจำเพาะของการทดสอบ DIF ในการวินิจฉัยโรค pemphigus พบว่ามีความไวร้อยละ ๙๗.๒๗ และความจำเพาะร้อยละ ๑๐๐ โดยในโรค PV และ PF มีความไวร้อยละ ๙๖.๕๕ และร้อยละ ๑๐๐ ตามลำดับ และมีความจำเพาะร้อยละ ๑๐๐ ทั้งในโรค PV และ PF (ตารางที่ ๓)

การทดสอบ IIF ในน้ำเหลืองของผู้ป่วยกลุ่มโรค pemphigus ๑๑๐ ราย (PV ๘๗ ราย, PF ๒๓ ราย) และโรคอื่น ๆ (Other bullous disease และ Nonbullous disease) ๑๕๙ ราย พบ IgG intercellular antibody ในโรค pemphigus ๑๐๗ ราย โดยพบในโรค PV ๘๑ ราย (ร้อยละ ๙๓.๑) และ PF ๒๒ ราย (ร้อยละ ๙๕.๖) (ตารางที่ ๔)

ระดับของ antibody titer ของ IgG intercellular antibody ที่ผู้ป่วยมาทำการเจาะเลือดครั้งแรกที่รักษา พบได้ตั้งแต่ ๑:๑๐ ถึง $\geq$ ๑:๒๕๖๐ แต่ส่วนใหญ่จะพบได้ $\geq$ ๑:๑๖๐ โดยมีผู้ป่วย ๒ ราย (ร้อยละ ๑.๙) ที่ให้ผลบวก low titer (ตารางที่ ๕)

ตารางที่ ๑ การทดสอบ direct immunofluorescence ในชั้นเนื้อผิวหนังของผู้ป่วยโรคต่างๆ

โรค	จำนวนที่ทดสอบ (ราย)	ผลบวกที่ ICS (ราย)	ผลลบที่ ICS (ราย)
Pemphigus vulgaris	๘๖	๘๔	๓
Pemphigus foliaceus	๒๓	๒๓	๐
Other bullous disease*	๗๐	๐	๗๐
Nonbullous dermatose**	๑๐๐	๐	๑๐๐
รวม	๒๘๐	๑๐๗	๑๗๓

*Other bullous disease ประกอบด้วยโรค bullous pemphigoid ๕๕ ราย, epidermolysis bullosa acquisita ๖ ราย, bullous LE ๓ ราย, linear IgA disease ๖ ราย

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

ตารางที่ ๒ Immunoreactant ที่พบใน intercellular space ของผิวหนังกำพร้าในผู้ป่วยกลุ่มโรค pemphigus

โรค	จำนวนที่ทดสอบ (ราย)	ผลบวก DIF (ราย)	จำนวน ที่ให้ผลบวกต่อ ICS (ราย)			
			IgG	IgM	IgA	C ₃
Pemphigus vulgaris	๘๖	๘๔	๘๔	๐	๐	๖๕
Pemphigus foliaceus	๒๓	๒๓	๒๓	๐	๐	๑๕
รวม	๑๑๐	๑๐๗	๑๐๗	๐	๐	๘๐

ตารางที่ ๓ ความไวและความจำเพาะของการทดสอบ direct immunofluorescence ในการวินิจฉัยโรค pemphigus

โรค	ความไว (ร้อยละ)	ความจำเพาะ (ร้อยละ)
Pemphigus vulgaris	๕๖.๖	๑๐๐
Pemphigus foliaceus	๑๐๐	๑๐๐
Pemphigus group	๕๖.๓	๑๐๐

การทดสอบ IIF ในการวินิจฉัยกลุ่มโรค pemphigus พบมีความไวร้อยละ ๕๖.๖ ความจำเพาะร้อยละ ๑๐๐ โดยในโรค PV และ PF มีความไวร้อยละ ๕๓.๑ และ ๕๕.๖ ตามลำดับ และมีความจำเพาะร้อยละ ๑๐๐ ทั้งสองโรค (ตารางที่ ๖)

การเปรียบเทียบการทดสอบ DIF และ IIF ในผู้ป่วยกลุ่มโรค pemphigus ๑๑๐ ราย พบผลบวกทั้ง DIF และ IIF ๑๐๓ ราย (ร้อยละ ๙๓.๖) พบผลลบทั้ง DIF และ IIF ๓ ราย (ร้อยละ ๒.๗) ผู้ป่วยที่ให้ผลลบ DIF ๓ ราย ไม่พบว่าให้ผลบวก IIF แต่ผู้ป่วยที่ให้ผลลบ IIF ๗ ราย พบผลบวก DIF ๔ ราย (ตารางที่ ๗)

เมื่อนำผลบวกของการทดสอบ DIF และ IIF ไปทดสอบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ chi-square test เพื่อใช้ในการวินิจฉัยโรค pemphigus พบว่า ผลบวกของการทดสอบจะไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

วิจารณ์

ในการศึกษาผู้ป่วยกลุ่มโรค pemphigus ที่สถาบันโรคผิวหนังนี้ พบว่าผลการทดสอบ DIF และ

ตารางที่ ๔ การทดสอบ indirect immunofluorescence ในผู้ป่วยโรคต่างๆ

โรค	จำนวน (ราย)	IgG Intercellular antibody	
		ผลบวก (ร้อยละ)	ผลลบ (ร้อยละ)
Pemphigus vulgaris	๘๗	๘๑ (๙๓.๑)	๖ (๖.๙)
Pemphigus foliaceus	๒๓	๒๒ (๙๕.๖)	๑ (๔.๓)
Other bullous disease*	๕๕	๐	๕๕ (๑๐๐)
Nonbullous dermatose**	๑๐๐	๐	๑๐๐ (๑๐๐)
รวม	๒๖๕	๑๐๓	๑๖๒

*Other bullous disease: bullous pemphigoid ๕๐ ราย, epidermolysis bullosa acquisita ๔ ราย, Bullous LE ๓ ราย, linear IgA disease ๒ ราย

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

ตารางที่ ๕ ระดับ antibody titer ของ intercellular antibody ที่ให้ผลบวกในผู้ป่วยกลุ่มโรค pemphigus

Titer	ผู้ป่วยโรค pemphigus vulgaris	ผู้ป่วยโรค pemphigus foliaceus	ผู้ป่วยกลุ่มโรค pemphigus
	จำนวน (ร้อยละ)	จำนวน (ร้อยละ)	จำนวน (ร้อยละ)
๑:๑๐	๒ (๒.๔)	๐	๒ (๑.๙)
๑:๒๐	๐	๐	๐
๑:๔๐	๗ (๖.๖)	๔ (๑๘.๒)	๑๑ (๑๐.๖)
๑:๘๐	๖ (๗.๔)	๒ (๙.๑)	๘ (๗.๗)
๑:๑๖๐	๒๒ (๒๗.๑)	๒ (๙.๑)	๒๔ (๒๓.๓)
๑:๓๒๐	๑๐ (๑๒.๓)	๔ (๑๘.๒)	๑๔ (๑๓.๕)
๑:๖๔๐	๑๗ (๒๐.๕)	๔ (๑๘.๒)	๒๔ (๒๓.๓)
๑:๑๒๘๐	๖ (๗.๔)	๒ (๙.๑)	๘ (๗.๗)
≥๑:๒๕๖๐	๑๑ (๑๓.๕)	๔ (๑๘.๒)	๑๕ (๑๔.๕)

ตารางที่ ๖ ความไวและความเฉพาะของการทดสอบ indirect immunofluorescence ในการวินิจฉัยโรค pemphigus

โรค	ความไว (ร้อยละ)	ความจำเพาะ (ร้อยละ)
Pemphigus vulgaris	๙๓.๑	๑๐๐
Pemphigus foliaceus	๙๕.๖	๑๐๐
Pemphigus group	๙๓.๖	๑๐๐

IIF สามารถที่จะนำไปใช้ในการวินิจฉัยโรค pemphigus และแยกโรคออกจากโรคตุ่มน้ำใสชนิดอื่นๆได้ โดยการทดสอบ DIF พบผลบวกร้อยละ ๙๗.๓ ซึ่งมากกว่ารายงานที่ผ่านมา^{๒,๔} ที่พบร้อยละ ๘๒-๙๒ ส่วนชนิดของ immunoreactant ที่ ICS พบว่าเป็น IgG และ C₃ เท่านั้น โดย IgG พบทุกรายที่ให้ผลบวก (ร้อยละ ๑๐๐) ส่วน C₃ พบเพียงร้อยละ ๘๒.๒ และจะพบร่วมกับ IgG นอกจากนี้ยังพบ fibrinogen ที่ basement mem-

ตารางที่ ๗ การเปรียบเทียบการทดสอบระหว่าง direct immunofluorescence และ indirect immunofluorescence ในผู้ป่วยกลุ่มโรค pemphigus

การทดสอบ indirect immunofluorescence	การทดสอบ direct immunofluorescence		
	ผลบวก	ผลลบ	รวม
ผลบวก	๑๐๓	๐	๑๐๓
ผลลบ	๔	๓	๗
รวม	๑๐๗	๓	๑๑๐

brane zone และ vessel ร่วมกับ IgG+C₃ ที่ ICS ในบางราย (ร้อยละ ๑.๘๒) แตกต่างจากรายงานของ Judd และคณะ^๕ ซึ่งพบ IgG ที่ ICS ทุกรายที่มีการเรืองแสงเหมือนกัน แต่พบ C₃ เพียงร้อยละ ๕๓ และพบ IgM ร้อยละ ๔๑ และ IgA ร้อยละ ๔๖ ด้วย ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การพบ IgG ที่ ICS จะเป็นตัวที่ช่วย ในการวินิจฉัยโรค pemphigus ได้ดีที่สุด

ผลการทดสอบ IIF ในโรค pemphigus จากการศึกษาพบผลบวกร้อยละ ๙๓.๖๔ มากกว่ารายงานเดิมที่พบผลบวกร้อยละ ๘๒-๘๔^{๑๓-๑๕} ส่วน titer ที่ให้ผลบวกจากรายงานนี้ พบได้ตั้งแต่ ๑:๑๐ ถึง $\geq ๑:๒๕๖๐$ และส่วนใหญ่จะให้ผลบวกที่ titer $\geq ๑:๔๐$ โดยมีผู้ป่วยเพียง ๒ ราย (ร้อยละ ๑.๘๔) เท่านั้นที่ให้ผลบวก low titer (๑:๑๐) และจากรายงานที่พบความสัมพันธ์ระหว่าง antibody titer และ disease activity^{๑๖} แสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยที่ศึกษาซึ่งได้รับการรักษาและเจาะเลือดครั้งแรก ส่วนใหญ่จะมีอาการของโรคเป็น active stage

การเรืองแสงที่พบจากการศึกษานี้พบได้เหมือนกับรายงานที่ผ่านมา^{๑๓-๑๕} โดยพบการเรืองแสงของ IgG และ C₃ ที่ ICS ในชั้นเนื้อผิวหนังเหมือนกัน แต่ส่วนมากเห็นการเรืองแสงของ IgG ที่ ICS ชัดมากกว่า C₃ และผลบวกของการเรืองแสงในการทดสอบ DIF และ IIF ก็จะเห็นเหมือนกัน

พบว่าในโรค PV และ PF ที่ทำการศึกษานี้ การเรืองแสงของ IgG และ/หรือ C₃ ที่ ICS และ circulat-

ing IgG intercellular antibody ที่พบเหมือนกัน นอกจากนี้ผลบวกของการทดสอบ DIF และ IIF ก็ใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าการทดสอบ DIF และ IIF สามารถที่นำมาวินิจฉัยโรค pemphigus ได้ดี แต่ไม่สามารถที่จะแยกโรค PV และ PF ออกจากกันได้ แต่อย่างไรก็ตามได้มีรายงานของ Bystryn และคณะ^{๑๗} พบว่าในโรค PF บางรายจะพบการเรืองแสงชัดเจนที่บริเวณ superficial epidermal layer และในโรค PV บางรายจะมีการเรืองแสงที่ชัดเจนบริเวณ lower epidermal layer

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการทดสอบ DIF และ IIF ในโรค pemphigus จากการศึกษาพบว่าผลบวกของการทดสอบทั้งสองพบได้เฉพาะในโรค pemphigus เท่านั้น โดยมีความจำเพาะร้อยละ ๑๐๐ ทั้งสองการทดสอบแตกต่างจากรายงานเดิมที่พบ pemphigus-like antibody โดยการทดสอบ IIF ในโรคต่าง ๆ^{๑๖-๑๙} ส่วนความไวของการทดสอบพบว่า การทดสอบ DIF มีความไวมากกว่า IIF (ร้อยละ ๙๗.๓ : ๙๓.๖) แต่เมื่อเปรียบเทียบผลบวกของการทดสอบทั้งสองทางสถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > ๐.๐๕$) แสดงให้เห็นว่าการทดสอบ DIF และ IIF สามารถนำมาใช้ในการวินิจฉัยโรค pemphigus ได้ดีและเมื่อไม่สามารถที่ตัดสินใจมาทดสอบ DIF ก็สามารถที่ใช้การทดสอบ IIF ในการตรวจหา circulating IgG intercellular antibody มาใช้ในการวินิจฉัยได้ แต่อย่างไรก็ตามในผู้ป่วยที่ให้ผลลบของการทดสอบ IIF และสงสัยว่าเป็นโรค pemphigus จริง ก็ควรจะยืนยันการวินิจฉัยด้วยการทดสอบ DIF เพราะ จากการศึกษาพบว่าในผู้ป่วยที่ให้ผลลบ IIF ๗ ราย จะพบผลบวก DIF ถึง ๔ ราย และมีรายงานในผู้ป่วยที่เริ่มเป็นโรค (early stage) และที่ได้รับการรักษา การทดสอบ IIF จะให้ผลลบในบางราย^๕

สรุป

การศึกษา DIF และ IIF ในผู้ป่วยกลุ่มโรค pemphigus พบว่าสามารถนำไปใช้ในการวินิจฉัยโรคได้ และในโรค PV และ PF พบว่าผลการทดสอบจะ

เหมือนกันโดยการทดสอบ DIF พบ IgG และ/หรือ C₃ ที่ ICS ของผิวหนังกำพร้า ในการทดสอบ IIF พบ circulating IgG intercellular antibody การทดสอบ DIF และ IIF พบมีความไวร้อยละ ๙๗.๓ ร้อยละ ๙๓.๖ ตามลำดับ มีความจำเพาะร้อยละ ๑๐๐ ทั้งสอง การทดสอบ และไม่พบความแตกต่างผลบวกของการทดสอบทั้งสองอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ นพ.สมชาติ ไตรรักษา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้คำแนะนำในการเขียนงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Beutner EH, Lever WF, Witebsky E, Jordon R, Chertock B. Autoantibodies in pemphigus vulgaris: response to an intercellular substance of epidermis. *JAMA* 1965; 192:682-8.
2. Jordon RE, Triftshauser CT, Schroeter AL. Direct immunofluorescent studies of pemphigus and bullous pemphigoid. *Arch Dermatol* 1971; 103:486-91.
3. Beutner EH, Jordon RE. Demonstration of skin antibodies in sera of pemphigus vulgaris patients by indirect immunofluorescent staining. *Proc Soc Exp Biol Med* 1964; 117:505-10.
4. Judd KP, Lever WF. Correlation of antibodies in skin and serum with disease severity in pemphigus. *Arch Dermatol* 1979; 115:428-32.
5. Bhogal B, Wojnarowska F, Black MM, Xu W, Levene GM. The distribution of immunoglobulins and the C₃ component of complement in multiple biopsies from the uninvolved and perilesional skin in pemphigus. *Clin Exp Dermatol* 1986; 11:49-53.
6. Peck SM, Osseman KE, Rule AH. Intercellular antibodies: presence in a *Tricophyton rubrum* infection. *J Invest Dermatol* 1972; 58:133-8.
7. Triftshauser C, Wypych J, Cloutier LC, Beutner EH. Fluorescent antibody studies of pemphigus like antibodies in burn sera. *Ann N Y Acad Sci* 1971; 177:227-33.
8. Ead RD. Pemphigus-like antibodies: a report of two cases. *Br J Dermatol* 1979; 100 723-5.
9. Fellner MJ, Prutkin L. Morbilliform eruptions caused by penicillin: A study by electron microscopy and immunologic tests. *J Invest Dermatol* 1970; 55:390-5.
10. Hein KG, Kumar A, Kordon RE. Pemphigus-like antibodies in bullous pemphigoid. *Arch Dermatol* 1980; 116:812-4.
11. Cram DL, Griffith MR, Fukuyama K. Pemphigus-like antibodies in cicatricial pemphigoid. *Arch Dermatol* 1974; 109:235-8.
12. Beutner EH, Nisengard RJ, Kumar V. In: Beutner EH, Chorzelski TP, Bean SF editors. *Immunopathology of the skin*, 2nd ed. New York: John Wiley & Sons Inc; 1979. p. 29-75.
13. Tuffanelli DL. Cutaneous immunopathology: recent observations. *J Invest Dermatol* 1975; 65:143-53.
14. Maurice PD, Allen BR, Marriot DW, Powell RJ, Reeves WG. Skin immunofluorescence in the diagnosis of primary bullous diseases-review of 279 cases. *Clin Exp Dermatol* 1986; 11:352-64.
15. Harman KE, Gratian MJ, Bhogal BS, Challacombe SJ, Black MM. The use of two substrates to improve the sensitivity of indirect immunofluorescence in the diagnosis of pemphigus. *Br J Dermatol* 2000; 142:1135-9.
16. Fitzpatrick RE, Newcomer VD. The correlation of disease activity and antibody titers in pemphigus. *Arch Dermatol* 1980; 116:285-90.
17. Bystryń JC, Abel E, DeFeco C. Pemphigus foliaceus: subcorneal intercellular antibodies of unique specificity. *Arch Dermatol* 1974; 110:857-61.