

บทที่ 2

บทบาทของวอร์ณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ไซโตไคน์และแกมมาอินเตอร์เฟอรอน¹¹⁻¹⁴

ไซโตไคน์ (Cytokine) เป็นโปรตีนหรือ Glycoprotein กลุ่มหนึ่ง ซึ่งเซลล์ใช้เป็นสัญญาณการติดต่อระหว่างกัน สารเหล่านี้ทำงานในความเข้มข้นที่ต่ำมาก (picomole-nanomole) โดยการจับกับ specific surface receptor บนเซลล์เป้าหมาย

เซลล์แต่ละชนิดจะหลั่งไซโตไคน์เมื่อได้รับสัญญาณกระตุ้นที่จำเพาะ ส่วนเซลล์เป้าหมายที่ถูกไซโตไคน์กระตุ้นจะเกิดการเปลี่ยนแปลงได้มากมาย ที่สำคัญคือ growth, mobility, differentiation และหน้าที่ของเซลล์นั้น

แกมมาอินเตอร์เฟอรอน (IFN- γ) เป็นไซโตไคน์ชนิดหนึ่ง มีลักษณะเป็น homodimeric glycoprotein ที่ประกอบด้วย 2 subunit ซึ่งแต่ละ subunit อาจมีขนาดต่างกัน (อยู่ระหว่าง 21-24 kD) โดยประกอบด้วย polypeptide ขนาด 18 kD เหมือนๆกัน ซึ่ง encode จาก gene เดียวกันที่อยู่บนโครโมโซมที่ 12 แต่จะมี glycosylation ไม่เท่ากัน ทำให้มีขนาดต่างๆกัน

เซลล์ที่หลั่ง IFN- γ ได้แก่ activated CD4+ T cell ใน Th 1 subset, activated CD8+ T cell และ natural killer cell (NK cell)

หน้าที่ของ IFN- γ มีมากมาย ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัส คือ ทำหน้าที่กระตุ้น macrophage ให้กำจัดเชื้อที่เป็น intracellular pathogen ดังนั้นจึงทำหน้าที่เป็น Macrophage activating factor (MAF) ที่สำคัญ นอกจากนี้ยังทำให้มีการ expression ของ MHC class I เพิ่มขึ้น ทำให้เซลล์ต่างๆสามารถ present antigen ที่มีอยู่ได้ดีขึ้นและเป็นเป้าหมายของ cytotoxic killing ได้ดีกว่ามี intracellular pathogen อยู่ภายใน เพิ่ม expression ของ MHC class II ทำให้เซลล์ที่มี MHC ชนิดนี้ present antigen คือ CD4+ T cell ดีขึ้น และยัง suppress humoral immunity จากการ inhibit proliferation ของ Th 2

การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อวัณโรคที่สำคัญ คือ Cell-mediated immunity เชื้อวัณโรคเป็น intracellular pathogen ชนิดหนึ่ง เมื่อถูก macrophage จับกินแล้ว จะสามารถอาศัยใน macrophage ได้โดยไม่ถูกทำลาย การที่ร่างกายจะกำจัดเชื้อภายในเซลล์เหล่านี้ได้จะต้องอาศัยสิ่งมากระตุ้น macrophage เปลี่ยนสภาพเป็น activated macrophage จึงจะสามารถฆ่าเชื้อในตัวมันได้

ปัจจุบันเชื่อว่า เชื้อที่อยู่ในเซลล์จะ induce ให้ macrophage หลั่ง Interleukin 12 (IL-12) ซึ่งจะกระตุ้นให้ NK cell หลั่ง IFN- γ และโดยอาศัย IL-12 และ IFN- γ นี้ Naive CD4+ T cell (Th 0) จะ differentiate ไปเป็น Th 1 cell และ activated Th1 cell จะหลั่ง IFN- γ ไปกระตุ้น macrophage ให้ฆ่าเชื้อที่อยู่ในเซลล์ อย่างไรก็ตาม เชื้อวัณโรคอาจคือต่อการทำลายของ activated macrophage ทำให้มีการกระตุ้นอย่างเรื้อรัง activated macrophage จะมารวมอยู่กันเป็นกลุ่ม ล้อมรอบด้วย activated lymphocyte เกิดเป็นพยาธิสภาพที่เรียกว่า Granuloma ขึ้น ลักษณะของ activated macrophage จะเรียงตัวกันเหมือน epithelial cell จึงมีชื่อเรียกว่า Epithelioid cell และบางส่วนจะรวมกันเป็น Giant cell มักพบว่าบริเวณกลาง Granuloma มี necrosis ขึ้นซึ่งมีลักษณะเหมือนกับ cheese เรียกว่า Caseating granuloma ซึ่งเป็นพยาธิสภาพที่ใช้ในการวินิจฉัยวัณโรค

พยาธิกำเนิดและพยาธิสรีรวิทยาของวัณโรคเยื่อหุ้มปอด

วัณโรคเยื่อหุ้มปอดเกิดได้ใน 2 กรณี คือ เกิดตามหลัง primary infection ในช่วงเวลา 3-6 เดือนหลังติดเชื้อ หรือเกิดจาก reactivation ของวัณโรค⁶

เชื่อว่า การเกิดสารน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดจากวัณโรค เกิดจากการแตก (rupture) ของ subpleural caseous focus ในปอดเข้าสู่ช่องเยื่อหุ้มปอด⁴ ซึ่ง Stead และคณะได้รายงานว่าพบ caseous TB focus ในปอดติดกับรอยโรคในเยื่อหุ้มปอดขณะผ่าตัดผู้ป่วยที่มีวัณโรคเยื่อหุ้มปอด 12 รายจากทั้งหมด 15 ราย¹⁵ กลไกที่ทำให้เกิดสารน้ำขึ้นเชื่อว่าเกิดจาก Delayed type hypersensitivity คือ tuberculous protein การศึกษาในสัตว์ทดลองที่เคยถูก immunize ด้วย tuberculous protein มาแล้ว เมื่อนำ Purified protein derivative (PPD) เข้าช่องเยื่อหุ้มปอด จะทำให้เกิดสารน้ำที่เป็นเอกซุเดทขึ้นมาภายใน 24 ชั่วโมง¹⁶ และการเกิดสารน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดจะถูก suppress ได้ เมื่อให้ antilymphocyte serum โดยรูปแบบของการ suppression และ recovery

จะเหมือนกับกับ Delayed type hypersensitivity ต่อ PPD ที่ผิวหนัง ซึ่งบ่งว่าการเกิดสารน้ำนั้นเป็น จาก Delayed type hypersensitivity¹⁷

สรุปพยาธิกำเนิดและพยาธิสรีรวิทยาในคนจึงเชื่อว่าการแตกของ caseous focus ที่อยู่ติดกับเยื่อหุ้มปอด (subpleural) เข้าไปในช่องเยื่อหุ้มปอดแล้ว tuberculous protein ทำให้เกิด Delayed type hypersensitivity ในช่องเยื่อหุ้มปอด และเกิดพยาธิสภาพของเยื่อหุ้มปอดและเกิดสารน้ำขึ้นในช่องเยื่อหุ้มปอด

การศึกษาถึง T lymphocyte และไซโตไคน์ในวัณโรคเยื่อหุ้มปอด

Shimokata และคณะ¹⁸ พบว่า T lymphocyte จากวัณโรคเยื่อหุ้มปอดมีปริมาณของ CD4+ T cell มากกว่า CD8+ T cell ($65\pm 2\%$ และ $19\pm 3\%$ ตามลำดับ) และพบหลักฐานว่า CD4+ T cell เป็นเซลล์ที่มีการสร้าง antigen specific IFN- γ ¹⁹ และเมื่อนำ T lymphocyte จากน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดมา culture ร่วมกับ PPD ในหลอดทดลอง พบว่าเซลล์จากช่องเยื่อหุ้มปอดมีการสร้าง IFN- γ ในระดับสูงกว่าเซลล์จากเลือดมาก (>128 U/mL กับ 4-8 U/mL)

Barnes และคณะ²⁰ พบว่า mononuclear cell จากน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดของผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดจะ express mRNA ของไซโตไคน์ที่สร้างจาก Th 1 คือ IFN- γ และ IL-2 แต่ expression ของ mRNA ของไซโตไคน์จาก Th 2 จะต่ำเมื่อเทียบกับในเลือด

Fujuwara และคณะ²¹ พบว่า น้ำจากช่องเยื่อหุ้มปอดมี sensitized T lymphocyte ที่จำเพาะต่อ tuberculous protein ในสัดส่วนที่สูงกว่าในเลือด ($1/2,204$ เซลล์ และ $1/14,970$ เซลล์ตามลำดับ)

Ribera และคณะ²² ศึกษาการนำเซลล์ลิมโฟไซต์จากน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดของผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดที่มี tuberculin skin test positive มา culture กับ PPD พบว่าเซลล์เหล่านี้มีการแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้นและสร้าง IFN- γ ในปริมาณสูงกว่าเซลล์จากในเลือด เช่นเดียวกับการศึกษาของ Shimokata

การศึกษาเกมมาอินเตอร์เฟอรอนในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด

Ribera และคณะ²³ ศึกษาปริมาณ T lymphocyte และระดับ IFN- γ ในน้ำจากช่องเยื่อหุ้มปอดในผู้ป่วย 80 ราย และมีวัณโรคเยื่อหุ้มปอด 30 ราย พบว่าในทุกโรค เซลล์ลิมโฟไซต์ส่วนใหญ่เป็น T lymphocyte และมีสัดส่วนของ CD4+ T cell มากกว่า CD8+ T cell แต่วัณโรคเยื่อหุ้มปอดมีระดับ IFN- γ สูงกว่าสาเหตุอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ และระดับ IFN- γ ที่สูงนี้ไม่สัมพันธ์กับปริมาณลิมโฟไซต์ในน้ำจากช่องเยื่อหุ้มปอด เป็นที่น่าสังเกตว่า ระดับ IFN- γ จากวัณโรคเยื่อหุ้มปอดไม่มีค่าคาบเกี่ยว (overlap) กับสาเหตุอื่นๆเลย จึงมีผู้อ้างถึงการศึกษานี้ในภายหลังถึงการนำไปใช้วินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดว่ามีความไวและความจำเพาะสูงถึง 100%²⁴ แต่การศึกษานี้ไม่ได้รับการออกแบบให้ตอบคำถามเกี่ยวกับการวินิจฉัย รวมทั้งไม่ได้กล่าวถึงเกณฑ์การเลือกผู้ป่วยเข้าศึกษาไว้

Shimokata และคณะ²⁵ ศึกษาระดับไซโตไคน์ต่างๆได้แก่ IL-1, IL-2 และ IFN- γ ในน้ำจากช่องเยื่อหุ้มปอดของผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดและมะเร็งเยื่อหุ้มปอดอย่างละ 20 ราย พบว่าระดับ IFN- γ ในวัณโรคสูงกว่ามะเร็งอย่างมีนัยสำคัญ การศึกษานี้ไม่ได้ออกแบบให้ตอบคำถามเรื่องการวินิจฉัยเช่นเดียวกับการศึกษาของ Ribera

Valdes และคณะ¹⁰ ศึกษาระดับของ biologic parameter ต่างๆได้แก่ Adenosine Deaminase, Lysozyme และ IFN- γ เพื่อใช้ในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด ในผู้ป่วยที่รับไว้ในโรงพยาบาลเนื่องจากมีน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดจำนวน 405 ราย ในการศึกษานี้มีผู้ป่วย 145 รายที่ได้รับการตรวจหาระดับ IFN- γ ในน้ำจากช่องเยื่อหุ้มปอด และ 35 รายมีสาเหตุจากวัณโรคเยื่อหุ้มปอด ผลการศึกษาพบว่าเมื่อใช้จุดตัดของระดับ IFN- γ ในน้ำจากช่องเยื่อหุ้มปอดที่ ≥ 140 pg/ml. ในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด มีความไว (Sensitivity) 94.2% และความจำเพาะ (Specificity) 91.8% (ระดับ IFN- γ ในการศึกษา มีค่าคาบเกี่ยวกันเล็กน้อยในกลุ่มของวัณโรคเยื่อหุ้มปอดและกลุ่มที่เกิดจากสาเหตุอื่นๆ) การศึกษานี้แม้จะออกแบบให้ตอบคำถามเกี่ยวกับการนำไปใช้วินิจฉัยโรคและผลการศึกษาได้การทดสอบที่มีประโยชน์ แต่ประชากรในการศึกษานี้เป็นผู้ป่วยที่รับไว้ในโรงพยาบาล ซึ่งต่างไปจากผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดในประเทศไทยที่ส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วยนอก และในรายงานไม่ได้กล่าวถึงเกณฑ์ในการเลือกผู้ป่วยจาก 405 รายเหลือเพียง 145 รายว่ามีการเลือกโดยสุ่มหรือไม่

Aoki และคณะ⁹ ศึกษาระดับ Adenosine Deaminase และ IFN- γ ในน้ำจากช่องเยื่อหุ้มปอดและระดับ CA125ในซีรัม เพื่อการวินิจฉัยแยกวัณโรคเยื่อหุ้มปอดในผู้ป่วย 39 ราย ในจำนวนนี้ 11 รายมีสาเหตุจากวัณโรคเยื่อหุ้มปอด ผลการศึกษาพบว่าระดับ IFN- γ ในน้ำจากช่องเยื่อหุ้มปอดในวันโรคเยื่อหุ้มปอดสูงกว่าสาเหตุอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ และไม่มีค่าที่คาบเกี่ยวกันเลย ผู้ศึกษาได้สรุปไว้ว่าการใช้ระดับ IFN- γ ในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดมีความไวและความจำเพาะ 100% แต่ไม่ได้กล่าวถึงจุดตัดที่ใช้ การศึกษานี้ทำในผู้ป่วยจำนวนน้อย และประชากรที่ศึกษาเป็นกลุ่มที่ไม่เหมาะสมนัก (inappropriate clinical spectrum) เนื่องจากมีผู้ป่วยที่เป็น Empyema, Parapneumonic effusion, Transudate อยู่รวม 13 ราย (หนึ่งในสามของผู้ป่วยที่นำมาศึกษา) ซึ่งโดยปกติผู้ป่วยในกลุ่มนี้มีลักษณะทางคลินิกและคุณสมบัติของน้ำในเยื่อหุ้มปอดที่ต่างไปจากวัณโรคเยื่อหุ้มปอดอยู่แล้ว

Villena และคณะ²⁴ ศึกษาระดับ IFN- γ เพื่อใช้ในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม immunocompetent กับ immunocompromised ในผู้ป่วย 388 ราย โดยมีวัณโรคเยื่อหุ้มปอด 73 ราย (ในจำนวนนี้รู้ HIV status 50 ราย เป็น HIV positive 9 รายและ HIV negative 41 ราย) พบว่าเมื่อใช้จุดตัด 3.7 U/mL จะมีความไว 99% ความจำเพาะ 98% และไม่มี ความแตกต่างของระดับ IFN- γ ระหว่างผู้ป่วย HIV positive กับ HIV negative แม้การศึกษานี้จะมีขนาดตัวอย่างมากที่สุดแต่ก็รวมผู้ป่วย parapneumonic effusion และ transudate ไว้ 89 ราย และอีก 46 รายไม่ทราบสาเหตุของน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด (กลุ่มหลังนี้ 3 รายมีระดับ IFN- γ สูงกว่าจุดตัดในการวินิจฉัยวัณโรค)

โดยสรุป การศึกษาเกี่ยวกับการใช้ระดับ IFN- γ ในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดมีไม่มากนัก ข้อมูลจากการศึกษาที่มีอยู่ให้ผลตรงกันว่า ในวัณโรคเยื่อหุ้มปอดมีระดับสูงกว่าสาเหตุอื่นอย่างมีนัยสำคัญ และมีค่าคาบเกี่ยวกันน้อยจนน่าจะนำมาใช้ในการวินิจฉัยโรคได้ การศึกษาเท่าที่มีอยู่ยังคงไม่ได้ออกแบบให้ทดสอบในกลุ่มประชากรที่เหมาะสม (appropriate clinical spectrum) ซึ่งในทางคลินิกเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่จะนำผลจากการศึกษามาใช้จริง^{26,27}