

ผลของยาเมตโทรเทรกเซตต่อระดับซีรัมอินเตอรฺลิวคิน 17 และ อินเตอรฺลิวคิน 22
ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินชนิดพลาควที่มีความรุนแรงปานกลางถึงรุนแรงมาก

นางสาว จิตรลดา มีพันแสน

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2551

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECT OF METHOTREXATE ON THE SERUM LEVELS OF INTERLEUKIN-17
AND INTERLEUKIN-22 IN PATIENTS WITH MODERATE TO SEVERE
PLAQUE-TYPE PSORIASIS

Miss Jitlada Meephansan

A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medicine

Department of Medicine

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2008

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลของยาเมตโทรเทรกเซตต่อระดับซีรั่มอินเตอรฺลิวคิน 17 และอินเตอรฺลิวคิน 22 ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน ชนิดพลาทที่มีความรุนแรงปานกลางถึงรุนแรงมาก

โดย

นางสาว จิตรลดา มีพันแสน

สาขาวิชา

อายุรศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษา

รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง วัฒนศรี สินธุภัก

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. แพทย์หญิง จงกลณี วงศ์ปิยะบวร

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต



..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ อติศร ภัทราตุลย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ กัมมันต์ พันธุมจินดา)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง วัฒนศรี สินธุภัก)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. แพทย์หญิง จงกลณี วงศ์ปิยะบวร)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(พันเอกพิเศษ แพทย์หญิง นุชา เนียมประดิษฐ์)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ เถลิงศักดิ์ กาญจนบุษย์)

จิตจรดา มีพันแสน : ผลของยามาตโรเทรกเซตต่อระดับซีรัมอินเตอร์ลิวคิน 17 และ อินเตอร์ลิวคิน 22 ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินชนิดพลาควที่มีความรุนแรงปานกลางถึงรุนแรงมาก. (EFFECT OF METHOTREXATE ON THE SERUM LEVELS OF INTERLEUKIN-17 AND INTERLEUKIN-22 IN PATIENTS WITH MODERATE TO SEVERE PLAQUE-TYPE PSORIASIS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ.พญ.วันฉวีศรีสินธุภาค, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ผศ.ดร.พญ.จงกลณี วงศปิยะบวร จำนวนหน้า 158 หน้า.

ความสำคัญและที่มาของการวิจัย: Interleukin-17 (IL-17) และ interleukin-22 (IL-22) เป็น effector cytokines ของ T-helper 17 (Th-17) ทำให้เกิดกระบวนการอักเสบรวมถึงการแบ่งตัวที่ผิดปกติของ keratinocytes ในโรคสะเก็ดเงิน Methotrexate จัดเป็นยาตัวแรกที่ใช้ในการรักษาโรคสะเก็ดเงินที่มีความรุนแรงปานกลางขึ้นไป ซึ่งยา Methotrexate นั้นมีหลายกลไกในการลดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน แต่ยังไม่มีความชัดเจนว่า Methotrexate สามารถลดการสร้าง Th-17 cytokines ได้

วัตถุประสงค์: เพื่อเปรียบเทียบระดับ serum IL-17 และ IL-22 ในผู้ป่วย Moderate to severe plaque type psoriasis ก่อนและหลังได้รับยา Methotrexate

วิธีการศึกษา: ศึกษาในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินที่มี Psoriasis area severity index (PASI) score มากกว่าหรือเท่ากับ 10 จำนวน 19 คน โดยให้ Methotrexate 15 mg ต่อสัปดาห์เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ เจาะเลือดเพื่อวัดระดับซีรัม IL-17 และ IL-22 โดยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) ก่อนและหลังการรักษา

ผลการศึกษา: ผู้ป่วย 11 คนจาก 19 คน มีระดับ PASI score ลดลงมากกว่า 75% ระดับซีรัม IL-22 ในผู้ป่วยสะเก็ดเงิน [56.63±60.73 pg/ml] แตกต่างจากกลุ่มควบคุม [12.58±12.59 pg/ml] อย่างมีนัยสำคัญ ระดับซีรัม IL-22 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญหลังจากได้รับยา Methotrexate [Z=3.5, P<0.001] พบความสัมพันธ์กันระหว่างระดับ PASI score และระดับ IL-22 ในซีรัม [r=0.63, p=0.004] ระดับซีรัม IL-17 พบในผู้ป่วยเพียง 2 คน (10.53%) แต่ไม่พบไซโตไคน์ดังกล่าวในกลุ่มควบคุม และไม่พบความแตกต่างของระดับซีรัม IL-17 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [p=0.142] และไม่สามารถตรวจพบ IL-17 ในซีรัมผู้ป่วยหลังการรักษา

สรุปผลการศึกษา: กลไกลดการทำงานของระบบ T helper-17 น่าจะเป็นกลไกสำคัญอีกกลไกหนึ่งของการทำงานของยา Methotrexate ในการรักษาโรคสะเก็ดเงิน IL-22 น่าจะเป็น biomarker ที่ดีตัวหนึ่งสำหรับการประเมินการตอบสนองของโรคสะเก็ดเงินต่อการรักษาด้วยยา Methotrexate ในผู้ป่วยไทย

ภาควิชา.....อายุรศาสตร์.....
สาขาวิชา.....อายุรศาสตร์.....
ปีการศึกษา.....2551.....

ลายมือชื่อผู้ผลิต.....จิตจรดา มีพันแสน.....
ลายมือชื่อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....
ลายมือชื่อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

5074759330 : MAJOR MEDICINE

KEYWORDS : METHOTREXATE / PSORIASIS / IL-17 / IL-22

JITLADA MEEPHANSAN : EFFECT OF METHOTREXATE ON THE SERUM LEVELS OF INTERLEUKIN-17 AND INTERLEUKIN-22 IN PATIENTS WITH MODERATE TO SEVERE PLAQUE-TYPE PSORIASIS. ADVISOR: ASSOC. PROF. WANNASRI SINDHUPHAK, M.D., CO-ADVISOR: ASSIST.PROF.JONGKONNEE WONGPIYABOVORN, M.D., 158 pp.

Background: Interleukin-17 (IL-17) and interleukin-22 (IL-22) are effector molecules of T-helper 17 (Th-17) lineage that responsible for pro-inflammation and keratinocytes proliferation in psoriasis. Methotrexate has been widely used as first-line treatment in moderate to severe psoriasis. Methotrexate has many mechanisms to inhibit inflammatory responses. But no evidence has shown that methotrexate is able to downregulate Th17 cytokines.

Objective: To compare serum levels of IL-17 and IL-22 in patients with moderate to severe plaque type psoriasis before and after treatment with metrotrexate

Methods: Nineteen patients with Psoriasis Area Severity Index (PASI) score ≥ 10 were given methotrexate 15 mg per week up to 12 weeks. Clot blood for measurement of IL-17 and IL-22 by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA: R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) was taken before and after treatment.

Results: Eleven of 19 patients [57.8%] achieved 75% PASI score reduction. IL-22 levels were significantly higher in psoriasis patients[56.63 \pm 60.73 pg/ml] than in controls[12.58 \pm 12.59 pg/ml]. Methotrexate significantly reduced IL-22 levels after therapy [Z=3.5, p<0.001]. A significant positive correlation between IL-22 and PASI was found [r=0.63, p=0.004]. Serum IL-17 level was detected in 2 patients (10.53%) but not in controls. No statistical difference in IL-17 levels between both groups [p=0.142]. No serum IL-17 level was found after treatment.

Conclusion: Downregulate Th17 cytokines is one possible mechanisms of therapeutic efficacy of methotrexate in psoriasis. IL-22 is possible to be a good biomarker for assessment psoriasis clinical response to methotrexate in Thai populations.

Department : Medicine

Field of Study : Medicine

Academic Year : 2008

Student's Signature *Jitlada Meephanon*

Advisor's Signature *W. Sindhuphak*

Co-Advisor's Signature *Jongkonnee Wongpiyabovorn*

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมทำให้งานวิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงสมความมุ่งหมาย
 ประธานและคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำเพื่อให้
 วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ ถูกต้อง และเป็นประโยชน์มากขึ้น

อาจารย์ที่ปรึกษาและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม สำหรับคำแนะนำทุกเรื่องที่เป็นส่วน
 สำคัญให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จ

รศ.นพ.วิวัฒน์ ก่อกิจ สำหรับคำปรึกษา เกี่ยวกับภูมิคุ้มกันวิทยาผิวหนัง และการ
 อภิปรายผลการวิจัย

ผศ.นพ.ดร.ธนิษฐ์ อัศววิเชียรจินดา สำหรับคำแนะนำเรื่อง research design,
 research methodology และการเขียนรายงานวิจัย

รศ.สมรัตน์ เลิศมหาฤทธิ์ อาจารย์ประจำภาควิชาเวชศาสตร์ป้องกันและสังคม
 สำหรับคำแนะนำเกี่ยวกับสถิติที่ใช้ในงานวิจัย

นางสาวพรรณทิพา พรตเจริญ และ นางสาวธิติมา เบญจชาติ สำหรับความ
 ช่วยเหลือในการเตรียมซีรัมและการทำ ELISA

แพทย์ พยาบาล ผู้ช่วยพยาบาลแผนกผิวหนัง โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ในการ
 ช่วยคัดกรองผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

ขอบคุณผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินทุกคนที่เข้าร่วมร่วมในโครงการวิจัยนี้

ขอบพระคุณอาจารย์ประจำหน่วยผิวหนังทุกท่าน ที่ได้ให้คำปรึกษาในเรื่องต่างๆ
 เป็นอย่างดี และให้โอกาสที่ดีที่สุดในการเข้ามาศึกษาต่อในด้านตจวิทยา

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณ บิดา มารดา และครอบครัว ที่เป็นกำลังใจ และสนับสนุน
 งานวิจัยมาตลอดตั้งแต่ต้นจนจบการศึกษา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฎ
สารบัญภาพ.....	ฐ
สารบัญแผนภูมิ.....	ฒ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย.....	1
1.1 คำถามของการวิจัย.....	2
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 สมมติฐาน.....	2
1.4 กรอบแนวคิดการวิจัย.....	3
1.5 คำสำคัญ.....	3
1.6 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย.....	4
1.7 ปัญหาทางจริยธรรม.....	4
1.8 ข้อจำกัดในการวิจัย.....	4
1.10 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย.....	4
1.11 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการในการแก้ไข.....	5
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
2.1 In aspect of systemic treatments of psoriasis that down regulate IL-23, Th17 cytokines and adhesion molecules expression.....	6
2.2 In aspect of immunosuppressive effects of methotrexate	13

	หน้า
3 โรคสะเก็ดเงิน.....	18
3.1 อาการแสดงทางคลินิก.....	18
3.1.1 ลักษณะของผื่นในโรคสะเก็ดเงิน.....	19
3.1.2 การเปลี่ยนแปลงของเล็บในโรคสะเก็ดเงิน.....	24
3.1.3 Geographic tongue.....	25
3.1.4 Psoriatic arthritis.....	25
3.2 การเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาในโรคสะเก็ดเงิน.....	25
3.3 การตรวจทางห้องปฏิบัติการ.....	26
3.4 ภาวะแทรกซ้อน.....	26
3.5 ปัจจัยกระตุ้น.....	27
3.6 การดำเนินโรค.....	27
4 กลไกการเกิดโรคสะเก็ดเงิน.....	28
4.1 Sensitization phase- antigen processing and presentation.....	29
4.2 Sensitization phase- generation of effector and memory T cells.....	30
4.3 Effector phase- skin infiltration of T and other immune cells.....	31
4.4 Effector phase- immune cell activation in the skin.....	34
4.5 Effector phase- keratinocyte response.....	35
4.6 Effect of IL-22 on keratinocytes.....	38
4.7 Interleukin-12, Interleukin-23 and psoriasis.....	40
5 การรักษาโรคสะเก็ดเงิน.....	44
5.1 Phototherapy.....	44
5.1.2 Broadband and narrowband UVB.....	44
5.1.3 PUVA photochemotherapy.....	44
5.2 Systemic treatments.....	44
5.2.2 Traditional systemic agents	44
5.2.2.1 Methotrexate.....	45
5.2.2.2 Retinoids.....	46
5.2.2.3 Ciclosporin.....	47

	หน้า
5.2.2.4 Second line systemic treatments.....	47
5.2.3 Biologic agents.....	48
5.2.3.1 T cell agents.....	48
5.2.3.1.1 Alefacept.....	48
5.2.3.1.2 Efalizumab.....	49
5.2.3.2 TNF- α inhibitors.....	49
5.2.3.2.1 Etanercept.....	49
5.2.3.2.2 Infliximab.....	50
5.2.3.2.3 Adalimumab.....	50
5.2.3.3 Clinical trials targeting IL-12 and IL-23.....	51
5.2.3.3.1 Centocor $\text{\textcircled{R}}$	51
5.2.3.3.2 CNTO 1275 $\text{\textcircled{R}}$	51
5.2.3.3.3 ABT-874.....	52
6 Methotrexate.....	53
6.1 Indication.....	53
6.2 Contraindication.....	54
6.3 Premethotrexate evaluations.....	55
6.4 Risk factors for liver disease.....	55
6.5 Liver biopsy recommendation.....	56
6.6 Laboratory studies.....	56
6.7 Interpretation of laboratory studies.....	57
6.8 Liver biopsy.....	57
6.9 Folic acid supplement.....	59
6.10 Rotational therapy.....	59
6.11 Combination therapy.....	59
6.12 Over dosage.....	60
6.13 Adverse reactions.....	61
6.14 Drug interaction.....	61

	หน้า
7 วิธีดำเนินการวิจัย.....	63
7.1 ประชากรศึกษาและตัวอย่าง.....	63
7.2 การคำนวณขนาดตัวอย่าง.....	63
7.3 กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามาศึกษา.....	64
7.4 กฎเกณฑ์ในการตัดออกจากการศึกษา.....	64
7.5 การสุ่มตัวอย่าง.....	65
7.6 รูปแบบการวิจัย.....	65
7.7 วิธีดำเนินการวิจัย.....	65
7.8 การเก็บรวบรวมข้อมูล.....	69
7.9 การวิเคราะห์ซีรัมด้วยวิธี ELISA.....	69
7.9.1 การเตรียมซีรัม.....	69
7.9.2 อุปกรณ์และสารเคมี.....	69
7.9.3 วิธีการทำ ELISA.....	71
7.10 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	76
8 รายงานผลการศึกษา.....	78
8.1 คุณลักษณะทั่วไปของตัวอย่างที่ศึกษา.....	78
8.2 ข้อมูลเกี่ยวกับโรคสะเก็ดเงินของกลุ่มตัวอย่าง.....	80
8.3 วิเคราะห์ผลและตรวจสอบสมมติฐาน.....	86
8.4 วิเคราะห์เปรียบเทียบกับการศึกษาอื่น.....	100
9 การอภิปรายผลการวิจัย.....	101
10 ข้อเสนอแนะ.....	107
รายการอ้างอิง.....	109
ภาคผนวก.....	122
ภาคผนวก ก การคำนวณ PASI score.....	123
ภาคผนวก ข แบบฟอร์มบันทึกข้อมูล.....	124
ภาคผนวก ค หลักการ ELISA และรายงานค่า ELISA.....	127
ภาคผนวก ง ภาพถ่าย.....	130
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	158

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงแผนการปฏิบัติงาน.....	5
ตารางที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง gene expression และ response score ที่ 1 เดือน ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินที่ได้รับการรักษาด้วยยา Etanercept.....	9
ตารางที่ 3 แสดงการลดลงของระดับ serum IL-23 ในผู้ป่วย rheumatoid arthritis หลังได้รับการรักษาด้วยยา Etanercept.....	10
ตารางที่ 4 แสดงการเปลี่ยนแปลงของเล็บในโรคสะเก็ดเงิน.....	24
ตารางที่ 5 แสดงการพยากรณ์และการดำเนินโรค.....	27
ตารางที่ 6 แสดงหลักฐานในคนและหนูที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคสะเก็ดเงินโดย ผ่านทาง IL12/IL23 model.....	41
ตารางที่ 7 แสดงยากลุ่ม biologic drugs ที่ใช้ในโรคสะเก็ดเงิน.....	48
ตารางที่ 8 แสดง dose-response ของ ABT-874 phase II clinical trial.....	52
ตารางที่ 9 แสดงข้อแนะนำในการทำ liver biopsy ในผู้ป่วยที่ทาน methotrexate.....	68
ตารางที่ 10 แสดงข้อแนะนำการบริหารยา Methotrexate.....	68
ตารางที่ 11 แสดงผลข้างเคียงจากยา Methotrexate ต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกาย.....	61
ตารางที่ 12 แสดง Drug interaction ระหว่างยา Methotrexate และตัวยาอื่น ๆ	62
ตารางที่ 13 แสดงวิธีการสรุปและวิเคราะห์ข้อมูลในงานวิจัย.....	77
ตารางที่ 14 เปรียบเทียบ baseline characteristic ระหว่างกลุ่มที่เลือกและ ไม่ถูกเลือกเข้ามาศึกษา.....	78
ตารางที่ 15 แสดงข้อมูลทั่วไป (Baseline characteristics) ของตัวอย่างที่ศึกษา.....	79
ตารางที่ 16 แสดงอายุและ BMI ของกลุ่มตัวอย่างเป็น Mean และ SD โดยแยกตามเพศ.....	79
ตารางที่ 17 แสดงกลุ่มอายุที่เริ่มเป็นโรคสะเก็ดเงินโดยแยกตามเพศ.....	80
ตารางที่ 18 แสดงค่า Median และ Interquartiles ของ PASI score และ IL-22.....	84
ตารางที่ 19 แสดงการทดสอบสมมติฐานของ IL-22 ก่อนการรักษาในกลุ่มผู้ป่วยเทียบกับ กลุ่มควบคุม.....	86

	หน้า
ตารางที่ 20 แสดงผลการทดสอบสมมติฐาน: ระดับ IL-22 ก่อนและหลังรักษา.....	87
ตารางที่ 21 แสดงการทดสอบสมมติฐานของ IL-22 หลังการรักษาของผู้ป่วย เทียบกับกลุ่มควบคุม.....	88
ตารางที่ 22 Spearman's correlation: ระหว่าง IL-22 และ PASI score ก่อนการรักษา.....	89
ตารางที่ 23 Spearman's correlation: ระหว่าง IL-22 และ PASI score หลังการรักษา.....	90
ตารางที่ 24 แสดงการทดสอบสมมติฐานความสัมพันธ์ระหว่าง IL-22 และการตอบสนองต่อการรักษา.....	91
ตารางที่ 25 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่าง ๆ ต่อระดับ IL-22.....	95
ตารางที่ 26 แสดงระดับซีรัม IL-17 ในกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม.....	96
ตารางที่ 27 แสดงการวิเคราะห์สหสัมพันธ์.....	98
ตารางที่ 28 แสดงการวิเคราะห์สหสัมพันธ์.....	98
ตารางที่ 29 แสดงการวิเคราะห์สหสัมพันธ์.....	99
ตารางที่ 30 แสดง mean \pm SD ของระดับ IL-22 ในซีรัมก่อนและหลังการรักษาด้วยยา Methotrexate, Etanercept และ Acitretin.....	100
ตารางที่ 27 แสดงค่า Concentration ของ IL-22 ใน serum ของกลุ่มตัวอย่าง.....	128
ตารางที่ 28 แสดงค่า Concentration ของ IL-17 ใน serum ของกลุ่มตัวอย่าง.....	129

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 แสดงกรอบแนวคิดการวิจัย.....	3
ภาพที่ 2 แสดง expression ของ IL-12/IL-23p40 และ IL-23p19 ในชั้นผิวหนัง ก่อนและหลังรักษาด้วย NB-UVB.....	7
ภาพที่ 3 แสดงระดับ IL-17 และ IL-22 ในกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วย Etanercept และ Acitretin เทียบกับ control.....	11
ภาพที่ 4 แสดง correlation ระหว่าง IL-17 และ IL-22 กับ PASI score.....	12
ภาพที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างยา Methotrexate และ CLA+ T-cell.....	14
ภาพที่ 6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง CLA+ T-cell ในเลือดและในเนื้อเยื่อ ก่อนและหลังจากได้รับยา Methotrexate.....	15
ภาพที่ 7 แสดงผื่นชนิด chronic plaque-type psoriasis.....	19
ภาพที่ 8 แสดงผื่นชนิด guttate psoriasis.....	20
ภาพที่ 9 แสดงผื่นชนิด Psoriasis inversus.....	21
ภาพที่ 10 แสดงผื่นชนิด erythrodermic psoriasis.....	22
ภาพที่ 11 แสดงผื่นชนิด pustular psoriasis.....	23
ภาพที่ 12 แสดงการเปลี่ยนแปลงของเล็บในโรคสะเก็ดเงิน.....	24
ภาพที่ 13 แสดงการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาในโรคสะเก็ดเงิน.....	25
ภาพที่ 14 แสดงการกระตุ้น naïve T-cell ไปเป็น T helper cell ประเภทต่าง ๆ	30
ภาพที่ 15 แสดงกลไกการเข้ามายังบริเวณผิวหนังของ CLA+ T-cell.....	31
ภาพที่ 16 แสดง cytokines ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ keratinocytes.....	36
ภาพที่ 17 สรุปกลไกการเกิดโรคสะเก็ดเงิน.....	39
ภาพที่ 18 แสดงโครงสร้างของ IL-12 และ IL-23.....	40
ภาพที่ 19 แสดงการทำงานของ IL-12/IL-23 ผ่าน inflammatory cells.....	41
ภาพที่ 20 แสดงขั้นตอนการทำวิจัย.....	68
ภาพที่ 21 แสดงชุดตรวจ ELISA IL-22 [R&D systems, Minneapolis, MN, USA].....	70

	หน้า
ภาพที่ 22 แสดงเครื่อง ELISA PLATE READER.....	70
ภาพที่ 23 แสดงซีรัมของผู้ป่วยและ control.....	71
ภาพที่ 24 แสดงขั้นตอนการใส่ assay diluents ลงใน well.....	71
ภาพที่ 25 แสดงการเติม Serum ของผู้ป่วยและ control ลงใน well.....	72
ภาพที่ 26 แสดงการ Incubate serum ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง.....	72
ภาพที่ 27 แสดงการล้าง well ด้วย wash buffer.....	73
ภาพที่ 28 แสดง enzyme-linked IL-22 monoclonal antibody และ substrate.....	73
ภาพที่ 29 แสดงการเปลี่ยนแปลงหลังใส่ substrate ลงใน well.....	74
ภาพที่ 30 แสดงการหยุดปฏิกิริยาด้วย stop solution.....	74
ภาพที่ 31 แสดงการเปลี่ยนแปลงของสีสารละลายหลังเติม stop solution.....	75
ภาพที่ 32 แสดงหลักการ ELISA.....	127
ภาพที่ 33 ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 5.....	130
ภาพที่ 34 ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 6.....	132
ภาพที่ 35 ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 7.....	135
ภาพที่ 36 ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 8.....	138
ภาพที่ 37 ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 9.....	142
ภาพที่ 38 ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 10.....	144
ภาพที่ 39 ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 11.....	146
ภาพที่ 40 ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 14.....	148
ภาพที่ 41 ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 17.....	152
ภาพที่ 42 ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 18.....	156

สารบัญแผนภูมิ

	หน้า
แผนภูมิที่ 1 ฮีสโตแกรมแสดงระยะเวลาที่เป็นโรคสะเก็ดเงินในกลุ่มตัวอย่าง.....	80
แผนภูมิที่ 2 ฮีสโตแกรมแสดง PASI baseline ของกลุ่มตัวอย่าง.....	81
แผนภูมิที่ 3 ฮีสโตแกรมแสดง PASI score หลังการรักษา.....	82
แผนภูมิที่ 4 ฮีสโตแกรมแสดงการกระจายของ IL-22 ก่อนการรักษา.....	82
แผนภูมิที่ 5 ฮีสโตแกรมแสดงการกระจายของ IL-22 หลังการรักษา.....	83
แผนภูมิที่ 6 ฮีสโตแกรมแสดงการกระจายของค่าความแตกต่างของ IL-22 ก่อนและหลังการรักษา.....	83
แผนภูมิที่ 7 กราฟแสดง PASI score ก่อนและหลังการรักษา.....	84
แผนภูมิที่ 8 กราฟแสดงระดับ Serum IL-22 ก่อนและหลังการรักษา.....	85
แผนภูมิที่ 9 Boxplot แสดง IL-22 baseline ในกลุ่มผู้ป่วยเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	86
แผนภูมิที่ 10 Boxplot แสดง IL-22 ก่อนและหลังการรักษา.....	87
แผนภูมิที่ 11 Boxplot แสดง IL-22 หลังการรักษาของกลุ่มผู้ป่วยเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	88
แผนภูมิที่ 12 Linear correlation: IL-22 และ PASI score ก่อนการรักษา.....	89
แผนภูมิที่ 13 Linear correlation: IL-22 และ PASI score หลังการรักษา.....	90
แผนภูมิที่ 14 กราฟแสดงระดับซีรัม IL-17 และ PASI score.....	96
แผนภูมิที่ 15 กราฟแสดงระดับซีรัม IL-22 และ IL-17 ก่อนการรักษา.....	97

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background & Rationale)

โรคสะเก็ดเงินจัดเป็นโรคผิวหนังอักเสบเรื้อรังที่พบได้บ่อย มีอัตราความชุก 2-3 % ของประชากร เมื่อเป็นโรคแล้วจะเป็นเรื้อรังรักษาไม่หายขาด ส่งผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยเป็นอย่างมาก

ผื่นอาจจะมาได้ในหลายรูปแบบ ทั้งเป็นตุ่มหนอง ไม่มีตุ่มหนอง บางครั้งอาจพบอาการทางข้อร่วมด้วย ในบรรดาชนิดของผื่นสะเก็ดเงินนั้น ผื่นชนิด Chronic plaque type พบได้บ่อยที่สุด 80% พยาธิสภาพของการเกิดโรคสะเก็ดเงินไม่ได้เกิดขึ้นเฉพาะการแบ่งตัวของที่ผิดปกติของเซลล์ผิวหนัง แต่เกิดจากการทำงานที่ไม่สมดุลกันของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ทำให้มีการสร้าง inflammatory cytokines, Chemokines และ Growth factors เพิ่มมากขึ้นบริเวณผิวหนัง

โรคสะเก็ดเงินจัดโรคในกลุ่ม T-cell mediated disease ในปัจจุบันเชื่อว่า สารเคมีตัวหลักในการกระตุ้นให้ T-cell เหล่านี้แบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากกว่าปกติคือ Interleukin-23 ซึ่งหลากหลายการศึกษาแสดงให้เห็นว่ามีการเพิ่มขึ้นของ Interleukin-23 บริเวณที่เป็นรอยโรคมากกว่าบริเวณผิวหนังปกติในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน (1-3) โดย IL-23 จะไปกระตุ้นการสร้างและการทำงานของ T-helper 17 cells (Th17) ในการสร้าง Th17 cytokines ซึ่งได้แก่ IL-17 และ IL-22 เป็นต้น ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ในโรคสะเก็ดเงินเช่น เกิดการชักนำ neutrophils เข้ามาบริเวณผื่น ทำหน้าที่เป็น pro-inflammatory cytokines และทำให้ชั้น epidermis เกิดการหนาตัวขึ้น

ในแง่ของการรักษาโรคสะเก็ดเงินนั้นมีวิธีการต่าง ๆ มากมาย ทั้งการรักษาแบบดั้งเดิม (Conventional Therapy) ได้แก่การรักษาด้วยยา Methotrexate, Ciclosporin หรือการฉายแสงด้วย narrow band UVB ซึ่งการรักษาเหล่านี้จะออกฤทธิ์ไม่เฉพาะเจาะจงต่อ Inflammatory cells ตัวใดตัวหนึ่ง รวมถึงสามารถยับยั้งการแบ่งตัวของ keratinocytes ได้ ในขณะที่ยากกลุ่มใหม่ ๆ นั้นเช่น TNF α blocker หรือ biologics สามารถจับกับ inflammatory cells หรือ cytokines ตัวใดตัวหนึ่งใน pathways นั้น ๆ ได้โดยตรง เป็นที่น่าแปลกกว่า efficacy ของการรักษาในทั้งสองกลุ่มนั้นกลับไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางคลินิก (40-70% Improvement 75% of PASI score) การ

เลือกให้ยารักษาโรคสะเก็ดเงินในปัจจุบันจึงขึ้นกับ สภาวะของคนไข้ ข้อห้ามต่อการให้ยา เนื่องจาก ในยากลุ่มเก่า ๆ นั้นมักมีผลข้างเคียงที่รุนแรงและเกิดขึ้นได้บ่อย เมื่อเทียบกับยากลุ่มใหม่ ๆ ซึ่งพบ ผลข้างเคียงได้น้อยกว่า แต่ราคาก็แพงกว่าหลายหมื่นเท่าต่อการรักษาหนึ่งครั้ง

ปัจจุบันได้มีการคิดค้นพัฒนายาที่สามารถไปจับกับ Key cytokine คือ IL-23 ได้โดยตรง ได้แก่ยา Centocor ซึ่ง ใน phase II นั้นพบว่า Efficacy ของยาสามารถทำให้ผู้ป่วยมี PASI score ดี ขึ้น 75% ใน 12 สัปดาห์ 67 % (4) จะเห็นได้ว่า efficacy ของการรักษาไม่ได้แตกต่างไปจากการ รักษาที่เราใช้อยู่ในปัจจุบัน แม้ว่ากลไกของยาไม่ได้ไปยับยั้งที่ Key cytokine โดยตรง

Methotrexate จัดเป็นยาที่ใช้ได้ดีในปัจจุบัน ผู้ป่วยมักมีการตอบสนองต่อการรักษาที่ ค่อนข้างเร็ว และราคาไม่แพงจนเกินไป มีการศึกษาการออกฤทธิ์ของยาที่นอกเหนือไปจากการยับยั้ง การแบ่งตัวของเซลล์ผิวหนังพบว่า ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน methotrexate สามารถยับยั้งการแบ่งตัว ของ human monocytic cell line และ human T-cell line ได้ดีกว่า keratinocyte 10-100 เท่า และ 1000 เท่าตามลำดับเมื่อเทียบกับเซลล์ผิวหนังคนปกติ (5) นอกจากนี้ยังสามารถลดการแสดงออก ของ adhesion molecules ต่าง ๆ รวมถึง T-cell บางชนิดที่บริเวณรอยโรคได้ด้วย (6)

ในปัจจุบันไม่มีการศึกษาผลของยา methotrexate ต่อการเปลี่ยนแปลงของ Th17 cells หรือ Th17 cytokines ได้แก่ IL-17 และ IL-22 ในผู้ป่วยสะเก็ดเงิน

คำถามของการวิจัย (Research Question)

ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินชนิด chronic plaque type ที่ได้รับยา methotrexate จากคลินิก ผิวหนังโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ในช่วงเวลาตั้งแต่เดือนกันยายน 2550 ถึง มีนาคม 2552 มีระดับ Serum interleukin-17 และ interleukin-22 ลดลงแตกต่างจากก่อนได้รับยามากกว่า 50% หรือไม่

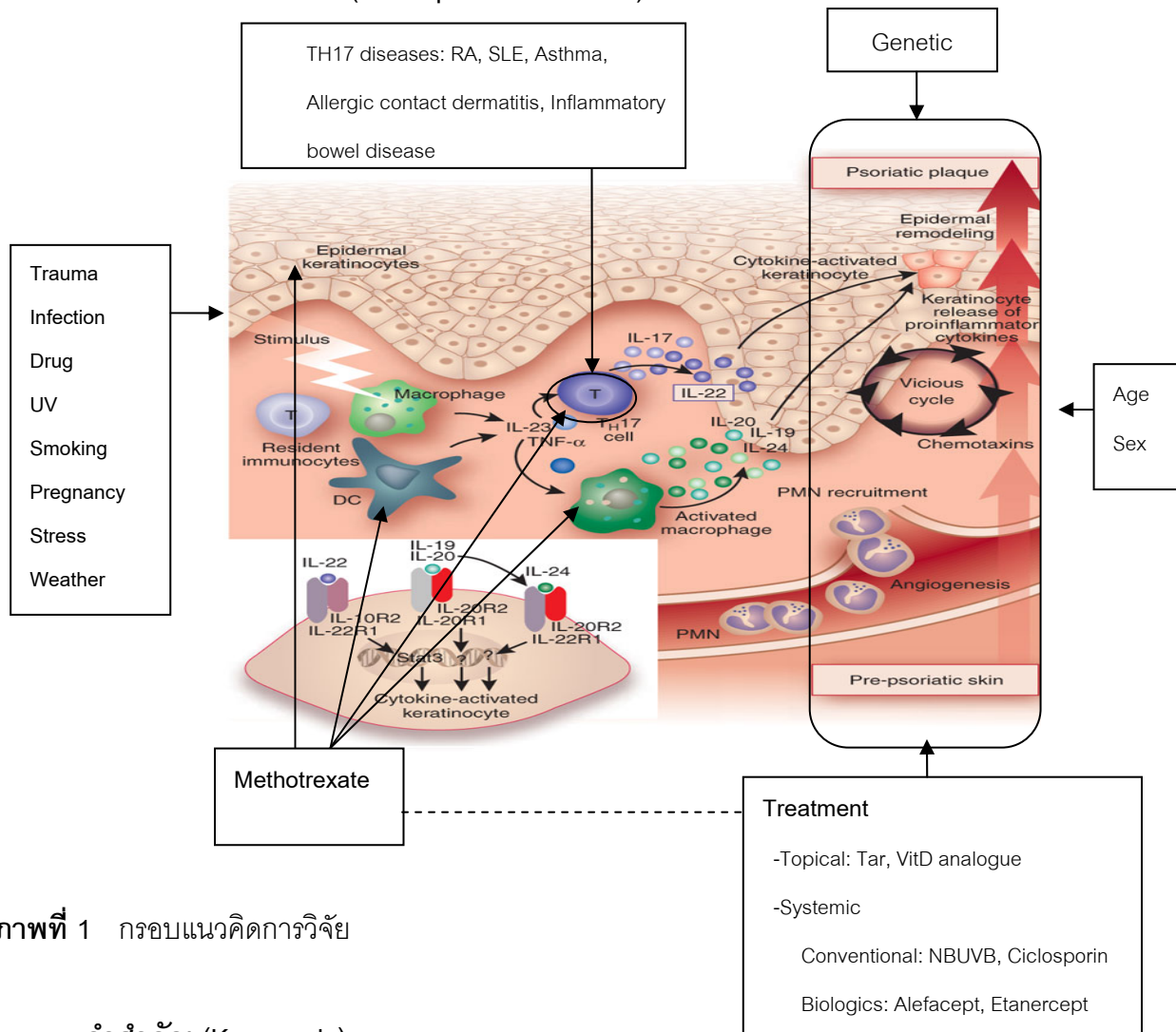
วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives)

เพื่อเปรียบเทียบระดับซีรัม Interleukin-17 และ interleukin-22 ของผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน ก่อนและหลังได้รับยา Methotrexate

สมมติฐาน (Hypothesis)

ระดับซีรัม Interleukin-17 และ interleukin-22 ของผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินหลังจากได้รับยา Methotrexate ลดลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ยา

กรอบแนวคิดการวิจัย (Conceptual Framework)



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิดการวิจัย

คำสำคัญ (Key words)

- Methotrexate
- Interleukin-17
- Interleukin-22
- Psoriasis

การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย (Operational Definition)

- Moderate to severe plaque-type psoriasis คือเอาเกณฑ์ดังนี้
- ผู้ป่วยที่มี PASI score มากกว่า 10

ปัญหาทางจริยธรรม (Ethical Considerations)

ก่อนที่จะคัดเลือกผู้ป่วยเข้ามาศึกษาในโครงการวิจัยนี้ ผู้ดำเนินการวิจัยจะอธิบายถึง จุดประสงค์และวิธีการที่จะใช้ในกระบวนการวิจัย ประโยชน์และผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นขณะทำการวิจัย หรือความไม่สะดวกต่าง ๆ ที่อาจเกิดขึ้นในระหว่างการทดลอง ยืนยันที่จะให้ผู้ป่วยมีสิทธิที่จะถอนตัวออกจากการศึกษาเมื่อไหร่ก็ได้ โดยการถอนตัวนั้นไม่ก่อให้เกิดอคติในการได้รับการดูแลรักษาพยาบาลต่อไป และข้อมูลจากการศึกษาจะถูกเก็บไว้เป็นความลับ

ข้อจำกัดในการวิจัย (Limitation)

ความซับซ้อนของกลไกการเกิดโรคสะเก็ดเงิน และ กลไกการออกฤทธิ์ของยาที่ไม่จำเพาะเจาะจงอาจจะทำให้การแปลผลที่ได้ค่อนข้างยาก

จำนวนผู้ป่วย (Number of case), ความร่วมมือของผู้ป่วย (Patient compliance), ผลข้างเคียงจากยา (Adverse drug reaction)

ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย (Expected Benefits & Application)

1. ทราบถึงกลไกการออกฤทธิ์ของยา methotrexate ในโรคสะเก็ดเงินว่ามีผลต่อระดับ Th17 cytokines ซึ่งเป็น product ของ IL-23 (key cytokine) ในการเกิดโรคสะเก็ดเงินหรือไม่

2. ผลระยะยาวทำให้ผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินได้รับผลประโยชน์สูงสุดในแง่ของ Cost-effectiveness ของการได้รับยา ถ้าเราพิสูจน์ได้ว่า methotrexate มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ Th17 cytokines ไม่ต่างไปจากยาตัวใหม่ ๆ ที่จะนำออกสู่ท้องตลาด เนื่องจากว่าในอนาคตจะต้องมีการพัฒนายาที่มีผลต่อ IL-23 ซึ่งเป็น master regulator ของ Th17 โดยตรง ซึ่งแน่นอนว่าค่าใช้จ่ายต่อครั้งของการรักษานั้นจะต้องสูงมาก เมื่อเทียบกับผลที่จะได้รับ และเป็นที่ทราบกันดีว่าโรคสะเก็ดเงินเป็นโรคเรื้อรังที่รักษาไม่หายขาด ดังนั้นการให้ยาทั้งหมดจึงเป็นการให้เพื่อลดความรุนแรงของโรคเท่านั้น หากเราพิสูจน์ได้ว่า methotrexate มีผลต่อการยับยั้ง Th17 cytokines ไม่ต่างไปจากยาตัวใหม่ ๆ เราจะสามารถลด Cost ของยาที่จะให้ในคนไข้ซึ่งต้องใช้ระยะเวลานานในการรักษาในแต่ละครั้ง หรืออาจจะใช้ methotrexate ร่วมกับวิธีการรักษาแบบอื่นเพื่อลดผลข้างเคียงของยาได้

3. สามารถนำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้กับโรคที่มีกลไกการเกิดโรคที่คล้ายคลึงกับโรคสะเก็ดเงิน เช่น Rheumatoid arthritis, multiple sclerosis, inflammatory bowel disease รวมถึงโรคผิวหนังอักเสบเรื้อรังอื่น ๆ ด้วย

อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการในการแก้ไข (Obstacles and Strategies to solve the problems)

ผู้ป่วยไม่มาตรวจตามนัด แก้ไขโดยอธิบายถึงความสำคัญของการวิจัย ขอความร่วมมือจากผู้ป่วยและสร้างสัมพันธ์ที่ดีระหว่างแพทย์และผู้ป่วย

การเก็บตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยหลังจากได้ตัวอย่างมาจะติดชื่อ นามสกุล เลขทะเบียนเพื่อป้องกันการสูญหายและสลับกับผู้ป่วยคนอื่น ๆ จากนั้นจะส่งไปยังห้องปฏิบัติการเก็บตัวอย่างเลือด โดยมีบุคลากรที่ชำนาญนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ต่อไป มีการบันทึกผลการตรวจอย่างเป็นระบบ เพื่อให้ง่ายต่อการวิเคราะห์ข้อมูล

ตารางที่ 1 ตารางการปฏิบัติงาน (Administration & Time Schedule)

การดำเนินการ	2550				2551												2552		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1.การศึกษา เตรียมงาน	←→																		
2.ดำเนิน งานวิจัย/ รวบรวมข้อมูล					←→														
3.การวิเคราะห์ ข้อมูล												←→							
4.เขียนรายงาน ผล																	←→		

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

In aspect of systemic treatments of psoriasis that down regulate IL-23, Th17 cytokines and adhesion molecules expression

ในปี 2004 Piskin G (7) และคณะ ได้ทำการศึกษาเรื่อง Clinical improvement in chronic plaque-type psoriasis lesions after narrow-band UVB therapy is accompanied by a decrease in the expression of IFN- γ inducers – IL-12, IL-18 และ IL-23

โดยทำการศึกษาในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินจำนวนทั้งสิ้น 10 คน ฉายแสง NB-UVB ความยาวคลื่น 311 nm 3 ครั้งต่อสัปดาห์ โดยผู้ป่วยทั้งหมดมี skin type 3 โดยจะเริ่มฉายแสงขนาด 0.08 J/cm² และจะเพิ่มขนาดขึ้น $\sqrt{2}$ ในครั้งถัด ๆ ไป โดยขนาดแสงสูงสุดคือ 0.25 J/cm² โดยมีระยะเวลาการฉายแสงนาน 10.6±1.9 wk ประเมิน PASI score ทุกครั้งที่ทำ biopsy โดยจะตัดชิ้นเนื้อที่ 0, 3 สัปดาห์หลังฉายแสงและที่สิ้นสุดการศึกษา โดยจะนำชิ้นเนื้อไปย้อม immunohistochemistry โดยใช้ antibody ต่อ cytokine ดังกล่าว

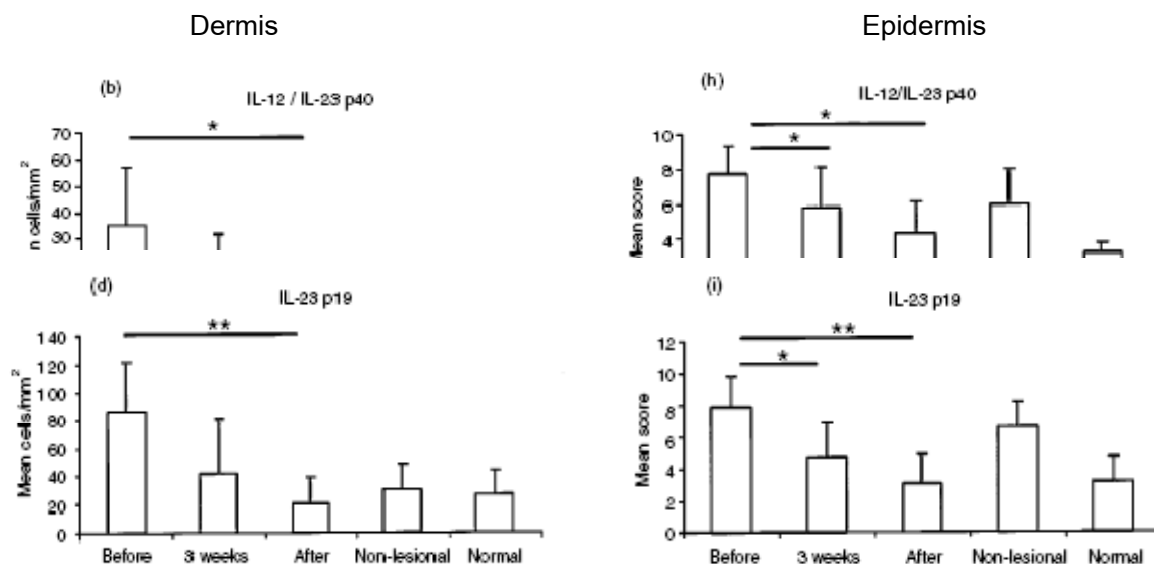
ผลการศึกษาพบว่า 9 ใน 10 ของผู้ป่วยมีอาการดีขึ้นหลังได้รับการรักษาด้วย narrow band UVB PASI score ของผู้ป่วยดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่สัปดาห์ที่สามหลังการรักษา

Expression ของ p40 common subunit ของ IL-12 และ IL-23 มีค่อนข้างมากในชั้นเนื้อของผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินก่อนได้รับการฉายแสง โดย express มากกว่าผิวหนังปกติถึง 2 เท่า โดยจะเห็นว่าการติดนั้นจะพบมากในชั้น epidermis ในขณะที่ชั้น dermis จะติดบริเวณรอบ ๆ เส้นเลือด หลังได้รับการฉายแสงพบว่าการ expression ลดลง 60% ในชั้น dermis และ 40% ในชั้น epidermis

Expression ของ IL-12 p70 subunit ส่วนใหญ่จะ express บริเวณ papillary dermis และลดลงอย่างมีนัยสำคัญหลังจากได้รับการฉายแสง

Expression ของ IL-23 p19 subunit นั้นเพิ่มขึ้นในทุกส่วนของผิวหนังในโรคสะเก็ดเงิน โดยเฉพาะการ express ของ IL-23p19 บริเวณ epidermis นั้นอาจเป็นไปได้ว่า keratinocyte

สามารถ express cytokine ตัวนี้ได้ และหลังการฉายด้วย NB-UVB พบว่าการ express ลดลงทั้งในชั้น dermis และ epidermis ดังแสดงตามกราฟ ดังนี้



ภาพที่ 2 แสดง expression ของ IL-12/IL-23p40 และ IL-23p19 ในชั้น epidermis และ dermis ก่อนและหลัง รักษาด้วย NB-UVB

เมื่อวิเคราะห์ในผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาจะพบว่าการลดลงของ Cytokine IL-12, IL-23 และ IL-15 เพียงเล็กน้อย แต่กลับพบว่าการเพิ่มขึ้นของ IFN- γ และ IL-18 หลังการรักษา ซึ่งแตกต่างจากผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาซึ่งมีการลดลงของ IFN- γ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินที่อาการทางผื่นดีขึ้นนั้นมีความสัมพันธ์กับการลดลงของ type I cytokine

ปี 2004 Francesca Chamian และคณะ (8) ได้ทำการศึกษาเรื่อง Alefacept reduces infiltrating T cells, activated dendritic cells, and inflammatory genes in psoriasis vulgaris

ทำการศึกษาในผู้ป่วย 22 คน ผู้ป่วยจะได้รับการรักษาด้วย alefacept ขนาด 7.5 mg weekly iv เป็นเวลา 12 สัปดาห์ และจะทำการตัดชิ้นเนื้อผู้ป่วย (lesional และ nonlesional) ที่ baseline, 2, 6 และ 13 สัปดาห์นำมาทำ immunohistochemistry และ RT-PCR

ผลการศึกษาพบว่า 55% ของผู้ป่วยพบ clear histological remission, 73% พบการลดลงของ lesional lymphocyte และ 79% พบมีการลดลงของ CD8 ใน lesion

กลุ่ม histological responder เท่านั้นที่มีการลดลงของ K16, IFN γ , STAT-1, MIG, iNOS, IL-8, IL-12/IL23p40 และ IL23p19 ในขณะที่กลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาไม่มีการลดลงของ modulates proinflammatory genes ดังกล่าว

ปี 2005 Alice B. Gottlieb และคณะ (9) ได้ทำการศึกษาในเรื่อง TNF inhibition rapidly down regulates multiple proinflammatory pathways in psoriasis plaques

ทำการศึกษาในผู้ป่วย moderate to severe plaque type psoriasis จำนวน 10 คน ที่ได้รับการรักษาด้วย etanercept monotherapy 25mg ฉีดใต้ชั้นไขมัน 2 ครั้งต่อสัปดาห์นาน 24 สัปดาห์ และทำการประเมิน PASI score ตัดชั้นเนื้อที่ผิวหนังปกติและบริเวณผื่นที่จะทำการศึกษาที่ baseline จากนั้นทำการตัดชั้นเนื้อบริเวณผื่นเดิมที่ 1,3,6 เดือนหลังจากได้รับการรักษาด้วยยา etanercept แล้วนำไปศึกษาโดยวิธีการ Immunohistochemistry, Tissue mRNA gene expression และ Immunofluorescence

ผลการศึกษาพบว่า mean PASI score ลดลง 29% ที่หนึ่งเดือนหลังการรักษา และ 57% ที่สามเดือนหลังการรักษา และที่สามเดือน 60% ของผู้ป่วยมี PASI ที่ลดลง 50% และที่หกเดือน 60% ของผู้ป่วยมี PASI ที่ลดลง 75%

ในการศึกษาพบว่า CD 11c ซึ่งเป็น marker ของ dendritic cells ซึ่งจะมีมากขึ้นในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน รวมถึง CD3+ T cells ซึ่งพบมากขึ้นในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินแม้ในบริเวณผิวหนังที่ไม่มีผื่น หลังการรักษาด้วย Etanercept พบมีการลดลงของเซลล์ดังกล่าวเป็นจำนวนมากซึ่งสัมพันธ์กับความหนาของ epidermis ที่ลดลงด้วย เป็นที่น่าสังเกตว่าเซลล์เหล่านี้ที่อยู่ในชั้น epidermis จะลดลงมากกว่าเซลล์เดียวกันที่อยู่ในชั้น dermis เป็นที่น่าทึ่งกันว่า dendritic cell เหล่านี้เป็นตัวสร้าง IL-23 นั้นเอง

จากตารางที่ 2 พบว่าภาวะสะเก็ดเงินที่ตัดชั้นสัมพันธ์กับ IL-1 และ type I pathway products (STAT1, IL-23, IL-8 และ iNOS)

นอกจากนี้ยังพบว่าหลังการรักษาด้วยยา etanercept มีการลดลงของระดับ mRNA IL-23p19 และ IL-12/il-23 P40 โดยมีนัยสำคัญตั้งแต่นั้นหนึ่งเดือนหลังได้รับการรักษา และที่หนึ่งเดือนพบว่า high correlation ระหว่าง response score และ combined expression ของ IL-1, STAT1 และ IL-23/IL-12 p40 mRNA

ตารางที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง gene expression และ response score ที่ 1 เดือน ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินที่ได้รับการรักษาด้วยยา Etanercept

Gene	Functional significance	Correlation
Early TNF-induced genes		
IL-1 β	Inflammatory cytokine	0.7
IL-8	Inflammatory cytokine for neutrophils	0.77
IL-6	Inflammatory cytokine	0.06
Type I pathway genes		
IL-23	Proximal type1 pathway gene, induce IFN γ	0.72
STAT1	Transcription factor induced by IFN γ	0.69
iNOS	Coregulated by TNF/ IFN γ , produces NO, inflammatory mediator	0.83
CXCL10		0.79
IL-8	Chemokine regulated by TNF/ IFN γ , T cell chemotaxis Type I pathway product, chemokine for neutrophils	0.77
Myeloid genes		
IL-19	Product of activated monocytes/myeloid cells	0.72
IL-23p19	Inducer IFN γ , inflammatory cytokine	0.72
IL-23p40	Inflammatory cytokine	0.14

ปี 2007 Y.Kageyama และคณะ (10) ได้ทำการศึกษาในเรื่อง Etanercept reduces the serum levels of IL-23 and macrophage inflammatory protein-3 alpha in patients with rheumatoid arthritis

ทำการศึกษาในผู้ป่วยโรค rheumatoid arthritis จำนวน 22 คน โดยได้รับยา Etanercept 25 mg ฉีดใต้ชั้นผิวหนังสัปดาห์ละหนึ่งถึงสองครั้ง โดยมีคนไข้ 16 คนที่ได้รับยา Methotrexate ร่วมด้วยในขนาด 4-10 mg/week อีก 6 คนที่เหลือได้รับยา Etanercept ตัวเดียว และทำการเก็บซีรัมผู้ป่วยก่อนได้รับการรักษาด้วยยา ที่สามเดือน และหกเดือนตามลำดับทำการวัดระดับ IL-16, IL-17, IL-23 และ MIP-3 α ทั้งในกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม

ตารางที่ 3 แสดงการลดลงของระดับ serum IL-23 ในผู้ป่วย rheumatoid arthritis หลังได้รับการรักษาด้วยยา Etanercept

	Etanercept group (N=22)			Control group (N=7)
	Baseline	3 M	6 M	
Serum IL-16	768 ±625	622± 403	787± 446	248 ±98
Serum IL-17	40± 55.5	18.8± 34.8	51.4 ±89.7	2.5 ±4.6
Serum IL-23	187± 228	65± 102 *	58± 87 *	3± 4
Serum MIP-3 α	585± 473	331± 271 *	191 ±219 **	134 ±72

** p<0.01 versus baseline

* p<0.05 versus baseline

ผลการศึกษาจากตารางด้านบนพบว่าระดับ serum IL-23 baseline ในผู้ป่วย RA มากกว่ากลุ่มควบคุม และระดับ IL-23 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่เดือนที่สามหลังได้รับการรักษาด้วยยา Etanercept

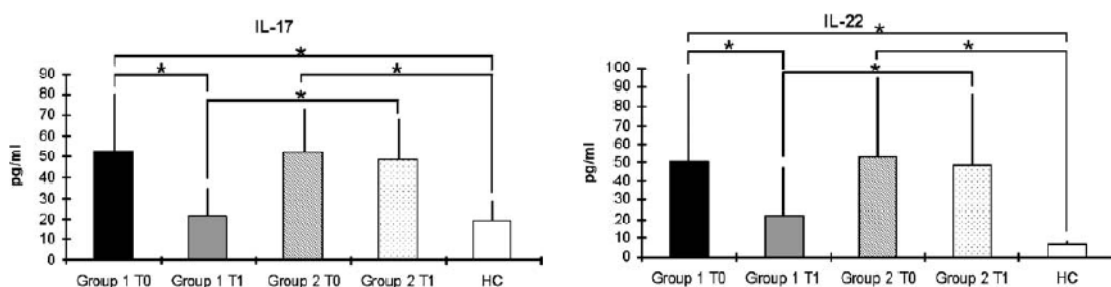
นอกจากนี้ยังพบว่าระดับ IL-23 มีความสัมพันธ์ระดับปานกลางกับ DAS28, Number of joint swelling and tender ในผู้ป่วยโรค Rheumatoid arthritis ซึ่งแสดงให้เห็นความสอดคล้องกันในแง่ความรุนแรงของอาการทางคลินิกกับระดับ IL-23 ในซีรัมผู้ป่วย

ปี 2008 M.Caproni และคณะ (11) ได้ทำการศึกษาเรื่อง Serum levels of IL-17 and IL-22 are reduced by Etanercept, but not by Acitretin in patients with psoriasis เนื่องจากปัจจุบันมีการศึกษามากขึ้นเกี่ยวกับ Th17 cytokines (IL-17, IL-22) ในแง่ของ pathogenesis ของโรคสะเก็ดเงินมากขึ้น และยังไม่มีการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของยาที่ปัจจุบันใช้กันอย่างกว้างขวางในโรคสะเก็ดเงิน เช่น Etanercept ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม biologic drug และ Acitretin ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม conventional drug การศึกษานี้ได้วัดระดับ IL-23 ด้วยเนื่องจากมีหลักฐานว่า upregulate ในชั้นเนื้อแต่ไม่มีงานวิจัยที่วัดในซีรัม

โดยศึกษาในผู้ป่วยสะเก็ดเงินที่มี PASI \geq 10 และ BSA \geq 10 ทั้งสิ้น 60 คน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 30 คน กลุ่มแรกได้รับยา Etanercept 50 mg เข้าได้ชั้นผิวหนัง 2 ครั้งต่อสัปดาห์ (high dose) กลุ่มที่สองได้รับยา Acitretin 0.4 mg/kg/day เป็นเวลา 12 สัปดาห์ และกลุ่มควบคุมจำนวน 10 คน เจาะเลือดเพื่อวัดระดับ IL-23, IL-17, IL-22 ที่เริ่มต้นและสิ้นสุดการศึกษาตามลำดับ

ผลการศึกษาพบว่า IL-23 ไม่พบในซีรัมของทั้งผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินและในกลุ่มควบคุมเลย ซึ่งเป็นไปได้ว่า IL-23 เป็น cytokine ต้นทางในการกระตุ้นการทำงานของ Th17 ดังนั้นในผู้ป่วยที่เป็น

สะกดเงินที่เป็นมานานอาจไม่พบการเพิ่มขึ้นของ cytokine ดังกล่าวในซีรัม และจากการศึกษาว่า IL-23 เพิ่มขึ้นในรอยโรคของสะกดเงินนั้น อาจเป็นไปได้ว่าหลังจากที่ไซโตไคน์ถูกสร้างขึ้นมาบริเวณผื่นรอยโรค ก็จะทำงานในลักษณะของ autocrine และ paracrine ในการกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ทันทีและรวดเร็วจนไม่สามารถซึมผ่านเข้ากระแสเลือดได้

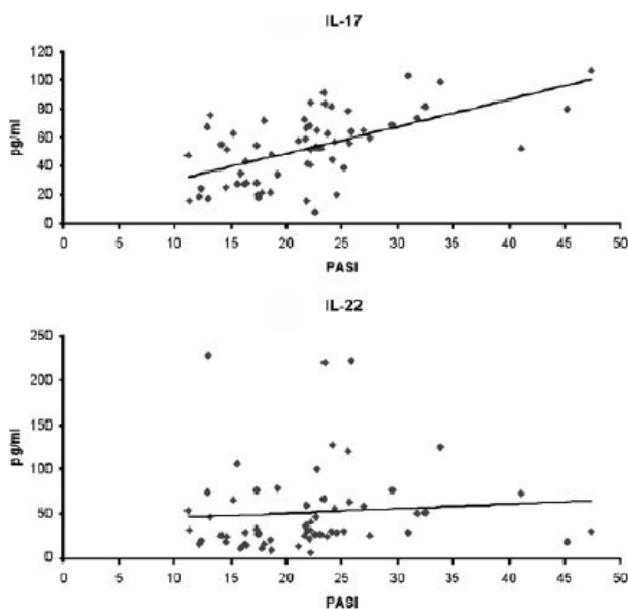


ภาพที่ 3 แสดงระดับ IL-17 และ IL-22 ในกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วย Etanercept (Gr1) และ Acitretin (gr2) เมื่อเทียบกับ control

ในแง่ Clinical improvement โดยวัดจาก PASI score นั้นพบว่ายา Etanercept ให้ผล PASI-75 response ได้ดีกว่า Acitretin ที่ 12 สัปดาห์

ส่วน IL-17 และ IL-22 พบได้ทั้งในกลุ่มควบคุมและผู้ป่วย โดยพบในซีรัมของผู้ป่วยมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ หลังการรักษาพบว่า ยา Etanercept นั้นสามารถลด IL-17 (52 ± 86 at baseline, 21.48 ± 14.01 เมื่อสิ้นสุดการรักษา) และ IL-22 (50.58 ± 46.15 at baseline, 22.02 ± 25.36 เมื่อสิ้นสุดการรักษา) ลงได้อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ Acitretin นั้นไม่พบการลดลงของระดับ IL-17 (52.01 ± 21.38 at baseline, 48.6 ± 19.86 หลังการรักษา) และ IL-22 (52.81 ± 42.49 at baseline, 48.69 ± 38.5 เมื่อสิ้นสุดการรักษา)

ในแง่ Clinical correlation พบว่า IL-17 นั้นมีความสอดคล้องกับความรุนแรงของโรคที่ ดีกว่า IL-22



ภาพที่ 4 แสดง correlation ระหว่าง IL-17 และ IL-22 กับ PASI score

จากการศึกษาวิจัยสรุปได้ว่า ยา acitretin นั้น สามารถทำให้ผื่นโรคสะเก็ดเงินดีขึ้นได้จากการลดการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนของ keratinocytes โดยไม่ผ่านกลไกการกดภูมิคุ้มกัน ในขณะที่ยากลุ่ม TNF- α blocker นั้นน่าจะเกิดจากการที่ยาไปกดการทำงานของ dendritic cells ที่สร้าง cytokines ในการกระตุ้นการทำงานของ Th17 cells ดังนั้นยากลุ่มดังกล่าวสามารถลดระดับ IL-17 และ IL-22 ในซีรัมผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินซึ่งแตกต่างจาก acitretin ที่ไม่สามารถลดระดับ cytokines ดังกล่าวได้

In aspect of immunosuppressive effects of methotrexate

ในปี ค.ศ.1995 Edward W B Jeffes III และคณะ(12) ได้ศึกษากลไกอื่นของยา methotrexate ต่อการเกิดโรคสะเก็ดเงินโดยดูผลต่อ T-cell ที่มา infiltrate บริเวณรอยโรค โดยตั้งสมมติฐานว่า เซลล์เม็ดเลือดขาวเป็นอีกเป้าหมายหนึ่งของยา methotrexate นอกเหนือไปจาก เซลล์ผิวหนังที่แบ่งตัวผิดปกติ โดยศึกษาการยับยั้งของยาต่อ THP-1 (Human Monocytic Cell line), MOLT-4 (Human T-cell line), HeLa and HaCat (Human Epithelial cells line) และ NHK (Normal Human Keratinocyte cell line) เป็นการศึกษาแบบ in vitro โดยเลียนแบบจุลศาสตร์ของยาเช่นเดียวกับการบริหารยาแบบสัปดาห์ละครั้ง พบว่ามีการยับยั้งการแบ่งตัวของ THP-1 และ MOLT-4 มากกว่า Epithelial cell 10-100 เท่า และ 1000 เท่าตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ NHK หากการบริหารยา methotrexate เพื่อใช้ในการรักษาโรคสะเก็ดเงินเป็นเช่นเดียวกับการทดลองนี้ มากกว่า 95% ของเซลล์เม็ดเลือดขาวจะถูกทำลาย ในทางตรงข้ามเพียง 10% ของเซลล์ผิวหนังที่แบ่งตัวผิดปกติจะถูกทำลายเช่นกัน จึงสรุปได้ว่าการที่ยา methotrexate ใช้ได้ผลดีในคนไข้โรคสะเก็ดเงินนั้น เป็นผลมาจากการที่เป้าหมายการออกฤทธิ์ของยาอยู่ที่ Lymphoid cells มากกว่า Epithelial cells

ในปี ค.ศ.1996 Han-Nan Liu และ Chu-Kwan Wong (13) ได้ทำการศึกษาในเรื่อง In vitro immunosuppressive effects of methotrexate and azathioprine on langerhans cells เนื่องจากการใช้ยากลุ่ม immunosuppressive เป็นระยะเวลานาน ส่งผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันต่อผิวหนัง ซึ่ง langerhan cells (LC) เป็นอีกหนึ่งเซลล์ที่น่าจะได้รับผลกระทบนี้ เป็นที่ถกเถียงกันมานานว่าการลดลงของ LC เกิดเนื่องมาจาก direct effect ของยาโดยตรงต่อเซลล์ หรือเกิดเนื่องจากการกดไขกระดูกของยาดังกล่าว การศึกษานี้ต้องการทราบถึงผลของยา AZA และ MTX ต่อประสิทธิภาพของ epidermal LC ในการกระตุ้น allogeneic T cells โดยให้ยาเป็น pulse ในขนาดความเข้มข้นต่าง ๆ

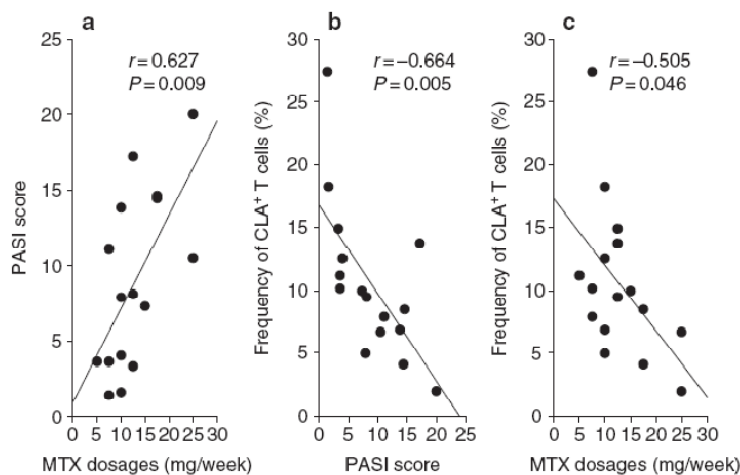
ผลการศึกษาพบว่า MTX ไม่ส่งผลต่อ viability ของ LC แม้ใช้ยาขนาดสูงถึง 1 mg/ml และพบว่าขนาดของยา 0.5, 0.05 µg/ml ไม่ก่อกำหนดการทำงานของ mixed LC-T lymphocyte reaction (ML-CLR) นอกจากนี้พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของ LC ไม่ขึ้นกับขนาดของยา และฤทธิ์ของยา MTX จะไม่เพิ่มขึ้นหากใช้ขนาดสูงกว่า 1 mg/ml

Methotrexate ไม่มีผลต่อ lymphoblastic transformation ของ T lymphocytes และจากการศึกษานี้เมื่อเทียบผลของยา MTX กับ AZA แล้วพบว่า AZA ที่ pharmacological levels สามารถยับยั้ง alloantigen-presenting capacity ของ LC และมีฤทธิ์ cytotoxic ต่อ LC มากกว่า MTX แต่อย่างไรก็ตามในขนาดยาที่ใช้ในการรักษา ทั้ง MTX และ AZA ไม่ได้มีฤทธิ์ยับยั้งต่อ LC โดยตรง ดังนั้นอาจสรุปได้ว่าการใช้ยากลุ่ม immunosuppressant เป็นระยะเวลาสั้น ทำให้ LC ลดลงจากการที่ยาดังกล่าวมีฤทธิ์กดไขกระดูก

ปี 2004 Sigmundsdottir H และคณะ (14) ได้ทำการศึกษาในเรื่อง Methotrexate markedly reduces the expression of vascular E-selectin, cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA) and the numbers of mononuclear leucocytes in psoriatic skin

เนื่องจากกว่า 80% ของ T cells ที่อยู่ในผิวหนังนั้นแสดง CLA เมื่อเทียบกับ 20% และ น้อยกว่า 5% ใน peripheral blood และ เนื้อเยื่ออื่น ๆ ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า CLA นั้นมีบทบาทสำคัญในการชักนำให้ T cell เข้ามาอยู่ในบริเวณผิวหนังที่เกิดรอยโรค และได้พบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับผิวหนังที่ปกติในคนไข้สะเก็ดเงินแล้ว บริเวณที่มีผื่นนั้นพบ CLA+ T cell มากกว่า ซึ่ง CLA+ T cell นี้จะจับกับ E-selectin ที่อยู่บนหลอดเลือด ในงานวิจัยชิ้นนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อดูผลของยา methotrexate ว่ามีผลต่อการ expression ของ CLA และ E-selectin หรือไม่

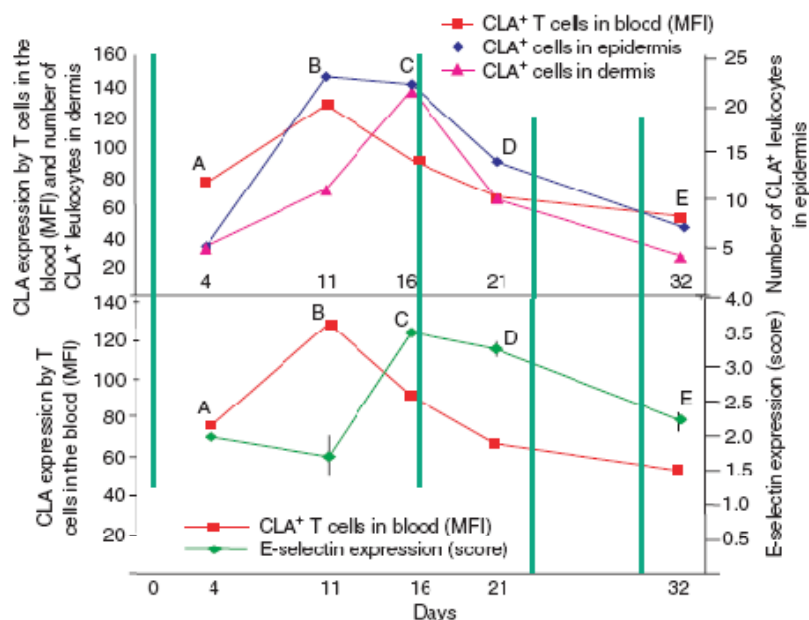
ทำการศึกษาในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน 16 คนที่ได้รับยา methotrexate ขนาด 5-25 mg/wk ร่วมกับผู้ป่วยสะเก็ดเงินที่ไม่ได้รับการรักษาอีก 44 คน และคนปกติ 12 คน ทำการประเมิน PASI score เจาะเลือดผู้ป่วยหลังจากได้รับยา 4 วัน นอกจากนี้ยังเจาะเลือดจากผู้ป่วยสะเก็ดเงิน 1 คนที่ได้รับยา methotrexate 25 mg/wk ทุกวันเป็นเวลา 5 สัปดาห์และหลังหยุดยาเป็นเวลา 16 วัน ทั้งนี้เพื่อการติดตามระดับ CLA และ E-selectin



ภาพที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างยา methotrexate และ CLA+ T-cell ในซีรัม

จากแผนภาพด้านบนว่ามี

- positive correlation ของ PASI score กับขนาดยา methotrexate ที่ใช้
- negative correlation ของ PASI score และ CLA+ T cell ในเลือดของผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาโดย methotrexate
- ระดับ CLA+ Tcell ที่ลดลงสัมพันธ์กับขนาดยา methotrexate ที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้ ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง methotrexate กับ T cell ที่ express VLA-4 α /CD49d หรือ late activation marker CD25



ภาพที่ 6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง CLA+ T-cell ในเลือดและในเนื้อเยื่อ ก่อนและหลังจากได้รับยา methotrexate

จากรูปแสดงให้เห็นว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงของ CLA+ ในเลือด และ CLA+ ในผิวหนังโดยความสัมพันธ์นี้พบมากกว่าในชั้นหนังกำพร้า ($r=0.802$) เมื่อเทียบกับหนังแท้ ($r=0.436$)

CLA+ จะเพิ่มมากที่สุดหลังจากหยุดยา Methotrexate 11 วัน (a-b) และจะพบว่าก่อนที่จะได้รับยา Methotrexate ในครั้งต่อไปนั้นมีการลดลงของ peripheral CLA+ T cell ร่วมกับมีการเพิ่มขึ้นของ E-selectin อธิบายได้ว่าเวลาที่ Peripheral CLA+ ลดลงนั้น เกิดเนื่องจาก CLA+ T cell

เข้าไป infiltrate บริเวณรอยโรค และหลังจากได้รับยาพบมีการลดลงของการแสดงออกของ E-selectin และ CLA+ ทั้งในเลือด และในรอยโรค (c-e)

จากงานวิจัยนี้ทำให้เราทราบว่ากลไกของยา methotrexate ในการยับยั้งกระบวนการอักเสบในร่างกายนั้นไม่ได้เกิดจากการทำให้เกิดการตายของเซลล์ (apoptosis) ดังจะเห็นได้จากการทดลองโดยใช้ยา methotrexate ทาที่บริเวณรอยโรคในขนาดที่ให้ tissue concentration เท่ากับใน systemic treatment กลับไม่ได้ผลเช่นเดียวกับการรับประทานยา (15;16)

ส่วนกลไกใดที่ทำให้ยา Methotrexate สามารถลดการสร้าง adhesion molecules ลงได้นั้นไม่ทราบแน่ชัด แต่อาจเป็นไปได้ว่ายาสสามารถยับยั้งการทำงานของ folate dependent enzyme และการเพิ่มขึ้นของ extracellular adenosine น่าจะส่งผลยับยั้งกระบวนการอักเสบอาจมาจากการที่ยาไปลดการ expression ของ adhesion molecules ดังกล่าว(17)

IL-12 เป็น cytokine ที่ทราบกันว่าสามารถ upregulate CLA ได้(18) เช่นเดียวกับ TNF- α ที่สามารถ upregulate adhesion molecules ได้เช่นกัน (19) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า Methotrexate อาจจะไปลดการสร้าง cytokines หรือ chemokines บางอย่างแล้วทำให้การ expression ของ CLA หรือ adhesion molecules ดังกล่าวลดลง

ปี 2006 B Torres-Álvarez และคณะ (20) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับ the effect of methotrexate on the expression of cell adhesion molecules and activation molecule CD69 in psoriasis เป็นที่ทราบกันว่ากระบวนการอักเสบในโรคสะเก็ดเงินเป็นไปอย่างกว้างขวาง และการที่พบเม็ดเลือดขาวชนิด T cell เข้ามามากมายบริเวณรอยโรคสะเก็ดเงินนั้นเชื่อว่าเกิดจากการ upregulation ของ adhesion โมเลกุลต่าง ๆ ได้แก่ VCAM-1, E-selectin, ICAM-1

CD 69 molecule เป็น activation-inducer molecule ซึ่งจะ express โดย activated lymphocytes ซึ่งมีบทบาทสำคัญใน activation, proliferation และ differentiation ของ T-cell และกระตุ้นการสร้าง TNF- α ซึ่งพบ CD 69 ได้เล็กน้อยใน T และ B cell ที่ peripheral tissue ในคนปกติ นอกจากนี้ CD 69 จะถูก express โดย CD8+ infiltrating cells ใน inflammatory disease ต่าง ๆ เช่น Chronic viral hepatitis, rheumatoid arthritis และ halo nevus

การศึกษานี้ได้ทำการศึกษาในผู้ป่วยทั้งสิ้น 16 คน ได้รับยา MTX ขนาด 12.5 mg per week fix dose เป็นเวลานาน 2 เดือน ประเมิน PASI score เพื่อดูระดับความรุนแรงของโรค และตัดชิ้นเนื้อก่อนได้รับยา MTX และ 4 วันหลังจากได้ยา dose สุดท้าย โดยทำการวัดระดับ VCAM-1, E-selectin, ICAM-1 และ CD69 โดยใช้ monoclonal Antibody

ผลการศึกษพบว่าผู้ป่วยทั้งหมดสามารถทนต่อยาได้ดี โดยมี PASI เหลือก่อนได้รับการรักษา 26 และ 13 เมื่อสิ้นสุดการศึกษา

ผลการศึกษาพบว่าก่อนได้รับการรักษานั้นมีการเพิ่มขึ้นของ ICAM-1 ซึ่ง express โดย keratinocytes มีการ expression ของ CD4 T-cell CD69 เพียงเล็กน้อย ร่วมกับมีการเพิ่มขึ้นของ VCAM-1 และ ICAM-1 อย่างมาก ส่วนหลอดเลือดนั้นมีการเพิ่มขึ้นของทั้ง ICAM-1, VCAM-1 และ E-selectin หลังได้รับการรักษาด้วยยา MTX พบว่าการ expression ของ cell adhesion molecules ดังกล่าวลดลง

CD4+ และ CD8+ ที่ epidermis และ dermis ลดลงหลังการรักษาแต่มีข้อสังเกตว่า CD8+ CD69+ ที่ epidermis กลับเพิ่มขึ้นหลังการรักษา

จึงสามารถสรุปได้ว่า MTX สามารถลดการกระตุ้นการแสดงออกของ adhesion molecules ซึ่งทำให้มีฤทธิ์เป็น anti-inflammatory ในโรคสะเก็ดเงิน และจากข้อสังเกตที่พบว่า CD8+ T cells ยังพบอยู่ในผิวหนังทั้ง ๆ ที่ผื่นสะเก็ดเงินไม่พบแล้ว ทำให้สนับสนุนสมมติฐานที่ว่า CD8+ อาจเป็น key role ในกลไกการเกิดพยาธิสภาพในโรคสะเก็ดเงิน และอาจสามารถอธิบายว่าทำไมถึงเกิดการกลับเป็นโรคซ้ำอย่างรวดเร็วหลังหยุดการรักษา หรือสามารถอธิบายในแง่ของ immune reactivity และอาจแสดงถึงภาวะ anergy state ในกลุ่ม chronic inflammatory disease

บทที่ 3

โรคสะเก็ดเงิน

โรคสะเก็ดเงินเป็นโรคที่พบได้ค่อนข้างบ่อยทั่วโลก โดยมีอัตราความชุกอยู่ที่ร้อยละ 0.1-11.8 โดยเฉลี่ยประมาณร้อยละ 2 พบบ่อยแถบอเมริกาและยุโรป และพบค่อนข้างน้อยในภูมิภาคเอเชียและแอฟริกา โดยเพศหญิงและเพศชายมีโอกาสเกิดโรคได้เท่าเทียมกัน

โรคสะเก็ดเงินสามารถเกิดได้ในทุกช่วงอายุ แต่จะพบได้น้อยในเด็กอายุต่ำกว่า 10 ปี และพบได้มากในช่วงอายุ 15-30 ปี โดยเชื่อว่า HLA class I โดยเฉพาะ HLA-CW6 มีส่วนที่ทำให้เกิดโรค ในคนอายุน้อยและมักพบในผู้ป่วยที่มีคนในครอบครัวเป็นโรคสะเก็ดเงินด้วย แนวความคิดดังกล่าวทำให้โรคสะเก็ดเงินสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท

1. Type I psoriasis หมายถึง ผู้ป่วยที่เป็นโรคสะเก็ดเงินครั้งแรกอายุน้อยกว่า 40 ปี และ HLA-associated
2. Type II psoriasis หมายถึง ผู้ป่วยที่เป็นโรคสะเก็ดเงินครั้งแรกเมื่ออายุมากกว่า 40 ปี Non HLA-associated

อาการแสดงทางคลินิก

1. ประวัติของผู้ป่วยถ้าผู้ป่วยเริ่มเป็นโรคเมื่ออายุน้อย และมีประวัติครอบครัว มักจะสัมพันธ์กับการเป็นโรคที่รุนแรงและเป็นซ้ำบ่อย ควรถามถึงการดำเนินโรคเพื่อประเมินว่าผู้ป่วยอยู่ในระยะเฉียบพลันหรือเรื้อรัง นอกจากนี้ประวัติการเป็นซ้ำซึ่งมักสัมพันธ์กับการดำเนินโรคที่รุนแรงสามารถช่วยให้เราวางแผนการรักษาอย่างเข้มงวด ควรซักประวัติโรคประจำตัว และยาที่ทานเป็นประจำ เนื่องจากยาบางชนิดสามารถทำให้อาการผื่นของโรคสะเก็ดเงินเป็นรุนแรงมากขึ้น และควรซักประวัติทางข้อด้วย

2. ลักษณะของผื่นผิวหนังในโรคสะเก็ดเงินลักษณะผื่นในโรคสะเก็ดเงินมักมีลักษณะเฉพาะตัว คือขอบชัด นูน และมีสะเก็ดหนาปกคลุม ขนาดของผื่นมีได้ตั้งแต่ขนาดเล็กเท่าหัวเข็มหมุดจนถึงขนาดใหญ่ที่สามารถปกคลุมได้ทั่วลำตัว เมื่อเราเอาสะเก็ดด้านบนออก เราจะพบผื่นด้านล่างแดงเรียบเสมอกัน และพบจุดเลือดออกเล็ก ๆ บนตัวผื่น ซึ่งเกิดจากการแตกของหลอดเลือดฝอย

ขนาดเล็กที่ขึ้นหนึ่งแฉับส่วนบน (Auspitz sign) การกระจายของผื่นโดยทั่วไปแล้วมักกระจายเท่า ๆ กันของสองข้างลำตัว

Koebner phenomenon [Isomorphic response] เป็นปรากฏการณ์ที่พบได้บ่อยแต่ไม่ได้เกิดขึ้นเฉพาะในโรคสะเก็ดเงิน พบผื่นสะเก็ดเงินเกิดขึ้น บริเวณผิวหนังที่ได้รับบาดเจ็บหรือถูกรบกวน และพบได้บ่อยในช่วงที่โรคกำเริบ และมีลักษณะ all or none phenomenon หมายความว่าถ้าเกิดแล้วจะเกิดทุก ๆ ที่ที่ได้รับบาดเจ็บ ซึ่งจะเกิดหลังได้รับบาดเจ็บ 7-14 วัน

ลักษณะของผื่นในโรคสะเก็ดเงิน

1. Chronic plaque-type psoriasis เป็นชนิดที่พบได้บ่อยที่สุด โดยพบได้ถึง 90% ของผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินทั้งหมด ผื่นมีลักษณะแดง มีสะเก็ดหนา และเป็นสองข้างของร่างกายเท่า ๆ กัน โดยพบบ่อยบริเวณ extensor surface ของร่างกาย บริเวณหนังศีรษะหรือไรผม ซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของสะเก็ดหรือการกระจายของผื่นน้อยมาก นอกจากนี้จะพบลักษณะของผื่นดังกล่าวข้างต้นลักษณะของผื่นยังมีรูปแบบต่าง ๆ ได้ดังนี้ geographic psoriasis เกิดจากผื่นที่มีขนาดเล็กมารวมตัวกันเป็นผื่นใหญ่ มองเห็นลักษณะคล้าย ๆ แผนที่ หรือ annular psoriasis ซึ่งผื่นตรงกลางจางไปจนเห็นบริเวณขอบชัดขึ้น ซึ่งถ้าเราพบลักษณะดังกล่าว มักจะสัมพันธ์กับการดำเนินโรคที่ดี



ภาพที่ 7 แสดงผื่นชนิด chronic plaque-type psoriasis [Fitzpatrick's 7th edition]

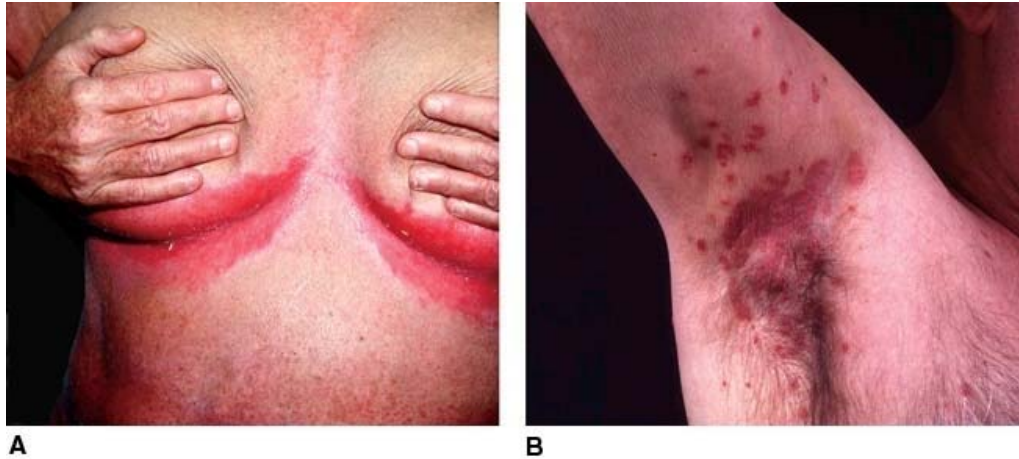
2. Guttate [Eruptive] psoriasis จะพบผื่นสะเก็ดเงินขนาดประมาณ 0.5-1.5 cm มากมายกระจายอยู่บริเวณลำตัวหรือต้นแขนต้นขา พบในกลุ่มผู้ป่วยอายุน้อยเป็นส่วนใหญ่ มักมีความเกี่ยวข้องกับ HLA-CW6 (21) และมักพบการติดเชื้อ Streptococcal throat infection นำมาก่อนหรือเกิดพร้อมกับผื่นด้วย (22) แต่อย่างไรก็ตามการให้ยาปฏิชีวนะมักไม่เปลี่ยนแปลงการดำเนินโรคหรือทำให้โรคที่เป็นอยู่แล้วดีขึ้น (23) สามารถพบผื่นชนิดนี้ร่วมกับผื่นชนิด chronic plaque type ได้



ภาพที่ 8 แสดงผื่นชนิด guttate psoriasis [Fitzpatrick's 7th edition]

3. Small plaque psoriasis ลักษณะของผื่นชนิดนี้ จะคล้ายกับ Guttate psoriasis โดยแยกกันที่อายุที่เริ่มเป็น พบว่าในกลุ่มนี้ผู้ป่วยจะมีอายุที่มากกว่า และการดำเนินโรคค่อนข้างเรื้อรัง ขนาดของผื่นมักจะใหญ่หนา มีสะเก็ดมากกว่า ซึ่งผื่นประเภทนี้มักพบใน Adult onset psoriasis ในประเทศแถบเอเชีย (24)

4. Inverse psoriasis ลักษณะของผื่นชนิดนี้จะไม่พบบริเวณ Extensor surface แต่จะพบในบริเวณข้อพับหรือตามซอกต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น รักแร้ ขาหนีบ ลำคอ มักจะไม่พบสะเก็ด



ภาพที่ 9 แสดงผื่นชนิด Psoriasis inversus [Fitzpatrick's 7th edition]

5. Erythrodermic psoriasis ลักษณะของผื่นชนิดนี้จะเป็นค่อนข้างรุนแรงและพบกระจายไปในทุกส่วนของร่างกายลักษณะของผื่นจะแดงมาก โดยจะพบสะเก็ดบาง ๆ ไม่หนาเหมือนกับ Chronic type ผู้ป่วยกลุ่มนี้จะมีการสูญเสียความร้อนค่อนข้างมาก สืบเนื่องมาจากหลอดเลือดขยายตัวทั่วร่างกาย และสามารถพบภาวะ hypothermia ได้บ่อย นอกจากนี้พบ hypohidrosis ร่วมกับภาวะ hyperthermia ได้ เนื่องจากท่อของต่อมเหงื่อบริเวณผิวหนังถูกอุดตัน จึงต้องระมัดระวังภาวะนี้ไว้เสมอในผู้ป่วยที่อยู่บริเวณประเทศที่มีภูมิอากาศค่อนข้างร้อน และพบอาการหัวใจวายและตับวายเฉียบพลันร่วมกับภาวะนี้ได้

สะเก็ดเงินชนิด Erythroderma สามารถเกิดขึ้นได้ 2 กรณีด้วยกัน คือ

- 5.1. เกิดในผู้ป่วยที่เป็น chronic plaque type psoriasis ที่มีอาการแฉลง ผื่นเริ่มลามไปทั่วร่างกาย แต่อย่างไรก็ดีผู้ป่วยในกลุ่มนี้มักจะยังตอบสนองต่อการรักษา
- 5.2. เกิดในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยการฉายแสง หรือการทายาที่ระคายเคืองมาก เช่น antralin แสดงถึงภาวะ generalized Koebner phenomenon ในกลุ่มนี้ผื่นมักจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ยังพบในกลุ่มผู้ป่วยที่เป็น generalized pustular psoriasis



ภาพที่ 10 แสดงผื่นชนิด erythrodermic psoriasis [Fitzpatrick's 7th edition]

6. Pustular psoriasis

6.1. Generalized pustular psoriasis [Von Zum busch] ผื่นชนิดนี้บ่งถึงการเกิดโรคในระยะเฉียบพลัน อาจพบว่าผู้ป่วยมีผื่นชนิดอื่น ๆ นำมาก่อน อาการจะประกอบด้วยไข้ซึ่งเป็นอยู่หลายวัน และจะพบตุ่มหนองขนาด 2-3 mm ขึ้นกระจายทั่วตัวรวมถึงเล็บ ฝ่ามือ ฝ่าเท้าได้ ตุ่มหนองมักขึ้นบน Erythematous patch ซึ่ง สามารถมารวมกันกลายเป็น Erythroderma ได้ ไม่ทราบพยาธิสภาพที่แน่นอน แต่พบสิ่งกระตุ้นที่ทำให้เกิดได้ เช่น การติดเชื้อ หรือการหยุดยากกลุ่ม สเตียรอยด์ ผื่นในกลุ่มนี้มักพบร่วมกับอาการไข้ รวมถึงอาการในระบบอื่น ๆ ของร่างกายซึ่งอาจรุนแรงถึงแก่ชีวิตได้ โดยภาวะแทรกซ้อนที่พบบ่อยได้แก่ การติดเชื้อแบคทีเรียหรือติดเชื้อในกระแสเลือด หรือภาวะขาดน้ำรุนแรง

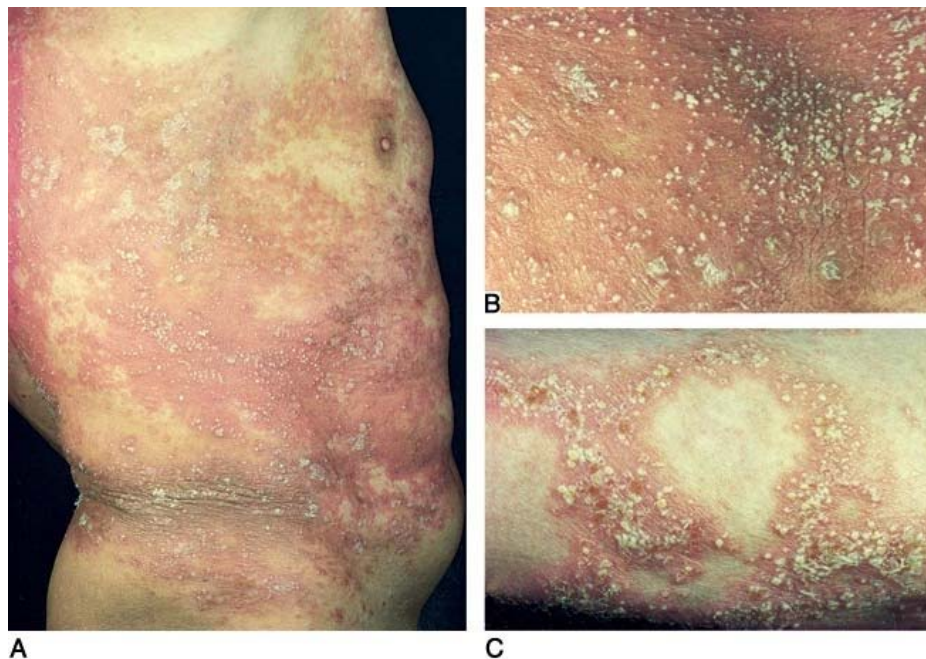
6.2. Exanthematic pustular psoriasis มักพบหลังการติดเชื้อไวรัส และพบตุ่มหนองกระจายได้ทั่วร่างกาย แต่ไม่พบอาการทางระบบอื่น ๆ ร่วมด้วยซึ่งเป็นข้อแตกต่างจากชนิดแรก

6.3. Annular pustular psoriasis พบได้ไม่บ่อย มีลักษณะเป็น Annular หรือ Circinate form โดยผื่นลักษณะเดียวกันสามารถพบได้ในคนท้องที่เป็นโรคสะเก็ดเงิน [Impetigo herpetiformis] ซึ่งมักจะเกิดในช่วงต้นของ 3rd trimester และคงอยู่จนกระทั่งคลอด มักพบภาวะ hypocalcemia ร่วมด้วย

6.4. Localized pustular psoriasis

6.4.1. Pustulosis palmaris et plantaris

6.4.2. Acrodermatitis continua



ภาพที่ 11 แสดงผื่นชนิด pustular psoriasis [Fitzpatrick's 7th edition]

7. Others

7.1. Sebopsoriasisพบลักษณะ Erythematous plaque with greasy scale บริเวณ seborrheic area ร่วมกับไม่พบหลักฐานของโรคสะเก็ดเงินในบริเวณอื่น ๆ ทำให้แยกกับโรค Seborrheic dermatitis ค่อนข้างยาก มักพบประวัติคนในครอบครัวผู้ป่วยเป็นโรคสะเก็ดเงิน และมักจะติดต่อการรักษา

7.2. Napkin psoriasis พบในเด็กอายุ 3-6 เดือน โดยเกิดผื่นครั้งแรกบริเวณ Napkin area อาจพบผื่นบริเวณลำตัวได้เพียงไม่กี่วันต่อมา ซึ่งลักษณะผื่นที่พบเป็นลักษณะ Typical ของผื่นสะเก็ดเงิน ผื่นชนิดนี้มักตอบสนองต่อการรักษาได้ดี และจะหายไปหลังจากอายุ 1 ขวบ

7.3. Linear psoriasis พบได้ไม่บ่อย ลักษณะผื่นเป็นเส้นตรง พบมากบริเวณแขนขา หรือตาม Dermatome ของร่างกาย ต้องแยกกับ ILVEN [Inflammatory Linear Verrucous Epidermal Nevus] ซึ่งมีลักษณะผื่นและพยาธิวิทยาคล้ายกับสะเก็ดเงิน

การเปลี่ยนแปลงของเล็บในโรคสะเก็ดเงิน

ตารางที่ 4 แสดงการเปลี่ยนแปลงของเล็บในโรคสะเก็ดเงิน

Nail segment involved	Clinical sign
Nail matrix	Pitting nail, Onychorrhexis, Beau's line, Leukonychia Focal onycholysis, Thin nail plate, red lunula
Nail bed	Salmon patch, Subungual hyperkeratosis, Onycholysis, Splinter hemorrhage
Hyponychium	Subungual hyperkeratosis
Nail plate	Crumbling or destruction of nail plate
Nail fold	Cutaneous psoriasis



ภาพที่ 12 แสดงการเปลี่ยนแปลงของเล็บในโรคสะเก็ดเงิน [Fitzpatrick's 7th edition]

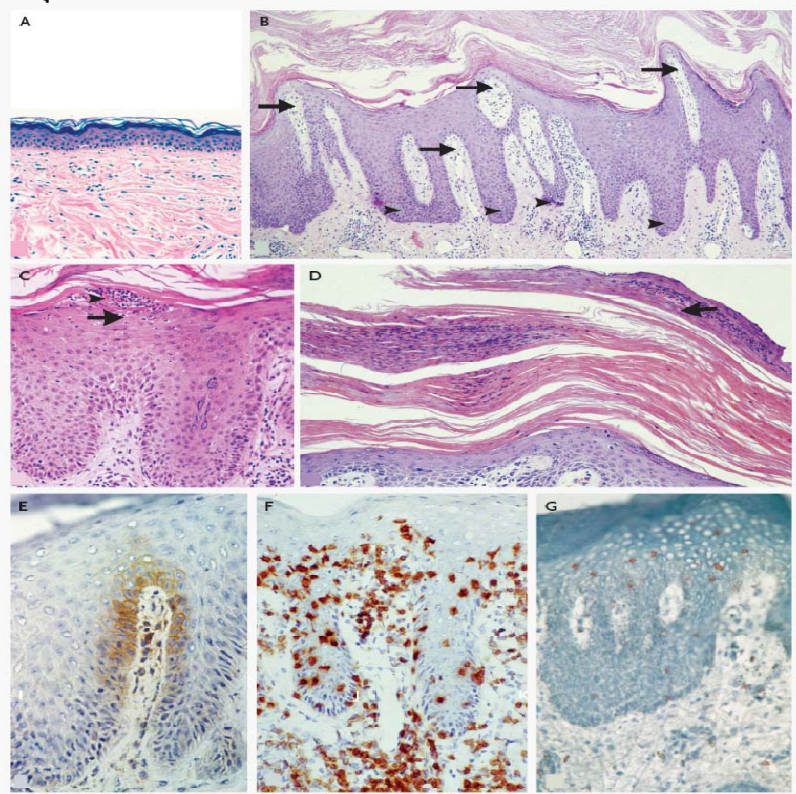
Geographic tongue

คือการอักเสบบริเวณลิ้นโดยไม่ทราบสาเหตุ พบมีการสูญเสียของ Filiform papillae ผู้ป่วยมักไม่มีอาการ ผื่นจะมีลักษณะ erythematous patch ขอบหยักคล้ายแผนที่ และมักจะมีการขยายของผื่น เชื่อว่า geographic tongue เป็น variant หนึ่งของสะเก็ดเงินที่เกิดบริเวณลิ้นโดยมีลักษณะทางพยาธิวิทยาคล้ายกับโรคสะเก็ดเงินที่ผิวหนัง และพบมากขึ้นในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน อย่างไรก็ตาม ภาวะดังกล่าวสามารถพบได้ในประชากรทั่วไปซึ่งไม่ได้เป็นโรคสะเก็ดเงิน ฉะนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาต่อถึงความสัมพันธ์ของภาวะดังกล่าวในโรคสะเก็ดเงิน

Psoriatic arthritis

พบได้มากถึง 10-15% ในผู้ป่วยที่เป็นโรคสะเก็ดเงิน โดยส่วนใหญ่กว่าครึ่งจะเกิดหลังจากที่เป็นโรคสะเก็ดเงินประมาณ 10 ปี มีความสัมพันธ์กับ HLA-CW6, HLA-B27 เป็นต้น

การเปลี่ยนแปลงทางจุลชีววิทยาในโรคสะเก็ดเงิน



ภาพที่ 13 แสดงการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาในโรคสะเก็ดเงิน [Fitzpatrick's 7th edition]

A-Normal skin

B-Acanthosis, Hyper-Parakeratosis, Elongation of rete ridges, Loss of granular layer, Dilate and tortuous of blood vessel

C-Spongiform pustules of Kogoj

D-Monro microabscesses

E-Focal expression of ICAM-1

F-Staining of CD3 positive

G-Expression of CD103 (integrin $\alpha\beta 7$) that bind to epidermal E-cadherin express in intraepidermal T-cells

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

1. Lipid profile พบว่าผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินมักมีภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ พบ HDL, Apolipoprotein A1 รวมถึงพบ Cholesterol: Triglyceride ในสัดส่วนที่สูงกว่าปกติ
2. Serum uric พบความผิดปกติถึง 50% ของผู้ป่วยมักมีความสัมพันธ์กับจำนวนผื่นและ activity ของโรค
3. Elevate ของ inflammatory marker เช่น CRP, $\alpha 2$ macroglobulin และ ESR พบการเพิ่มขึ้นของ IgA level รวมถึง secondary amyloidosis ซึ่งหากพบมักจะบ่งถึงการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี (25)

ภาวะแทรกซ้อน

1. Cardiovascular complication เช่น ภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตายเฉียบพลันมักพบในกลุ่มผู้ป่วยอายุน้อย ผู้ป่วยที่เป็นโรครุนแรงหรือเรื้อรังมานาน (26)
2. Lymphoma มักเกิดในผู้ป่วยที่เป็นโรครุนแรง(27)
3. ภาวะกังวลและซึมเศร้า ความคิดอยากฆ่าตัวตาย ซึ่งพบว่าผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินมีภาวะทางจิตใจ คุณภาพชีวิตที่ย่ำแย่ไม่ต่างไปจากผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็ง และผู้ป่วยมักมีเจตคติต่างๆ ในแง่ลบ (28)

ปัจจัยกระตุ้น

1. Obesity สัมพันธ์กับความรุนแรงของผื่น พบว่าผู้ป่วยที่มีภาวะอ้วนมักจะมีผื่นมากกว่า 20% ของ body surface area แต่ภาวะนี้ไม่สัมพันธ์กับ onset ของโรค (29)
2. Smoking พบว่าการสูบบุหรี่มากกว่า 20 มวนต่อวัน จะมีความเสี่ยงต่อการเป็นสะเก็ดเงินชนิดรุนแรงเพิ่มขึ้นสองเท่า การสูบบุหรี่มีส่วนสัมพันธ์กับ onset ของการเกิดโรค
3. Infection จากที่ได้กล่าวข้างต้นว่า streptococcal infection มีความสัมพันธ์กับการเกิด Guttate psoriasis นอกจากนี้ภาวะการติดเชื้อดังกล่าวยังทำให้โรคกำเริบขึ้นในผู้ป่วยที่เป็น chronic plaque type psoriasis ด้วย (30) พบการกำเริบของโรครุนแรงในผู้ป่วย HIV infection แต่อุบัติการณ์การเกิดโรคสะเก็ดเงินในผู้ป่วย HIV ไม่ต่างไปจากประชากรโดยทั่วไป (31) เช่นเดียวกับผู้ป่วยสะเก็ดเงินทั่วไป พบว่าผู้ป่วย HIV ที่เป็นโรคสะเก็ดเงินมีความสัมพันธ์กับ HLA-CW6 การเกิดโรคที่รุนแรงในผู้ป่วย HIV เนื่องมาจากว่าขาด regulatory T cell ในขณะที่เดียวกันกลับมีการเพิ่มขึ้นของ effector T cell CD8 subset ซึ่งการกำเริบของผื่นสะเก็ดเงินในกรณีดังกล่าวตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา antiretroviral ได้เป็นอย่างดี
4. Drug ยาหลายตัวสามารถทำให้ผื่นสะเก็ดเงินกำเริบได้ โดยที่เราไม่ทราบกลไกของยาในการทำให้เกิดภาวะดังกล่าวที่ชัดเจน เช่น Antimalarial drugs, β -blockers, Lithium, NSAIDs, IFN α , IFN γ , ACEI, Imiquimod, Gemfibrozil เป็นต้น

การดำเนินโรค

ตารางที่ 5 แสดงการพยากรณ์และการดำเนินโรค

TYPE	PROGNOSIS
Guttate	Self-limited lasting from 12-16 weeks without treatment 1/3 – 2/3 develop chronic plaque type
Chronic plaque	Life long, spontaneous remission and recurrence 71% persistent lesions 13% disease free 16% intermittent lesions
Erythroderma/pustular	Severe and persistent disease

บทที่ 4

กลไกการเกิดโรคสะเก็ดเงิน

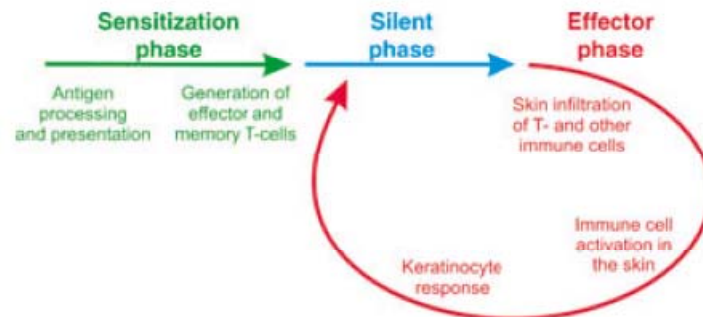
ภาวะผิดปกติของการแบ่งตัวของ keratinocyte เคยเชื่อว่าเป็นกลไกสำคัญในการเกิดโรคสะเก็ดเงิน ตั้งแต่ช่วงปี ค.ศ. 1980-1990 ความเชื่อนี้เปลี่ยนไป โดยมีความเชื่อเรื่องกลไกการเกิดโรคนั้นเกิดจากกระบวนการทางภูมิคุ้มกันชนิด T cell (32) ซึ่งมีหลักฐานดังต่อไปนี้

- พบว่าการรักษาด้วยยาที่ไปลดการแบ่งตัวของ T cell หรือการสร้าง cytokines เช่น cyclosporin ได้ผลดีในโรคสะเก็ดเงิน (33) นอกจากนี้ยังพบว่า T cell modulating drugs เช่น CD4 antibodies (34), fusion protein ของ IL-2 และ fragment ของ diphtheria toxin (35) สามารถใช้ได้ดีในโรคสะเก็ดเงินเช่นกัน
- ผื่นสะเก็ดเงินดีขึ้นในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่าย hematopoietic stem cell ซึ่งได้มาจาก donor ที่ไม่ได้เป็นโรคสะเก็ดเงิน ในทางตรงข้ามคนปกติที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกจากผู้ป่วยสะเก็ดเงิน สามารถชักนำให้เกิดโรคสะเก็ดเงินได้ (36;37)
- ใน severe combined immunodeficiency mouse ที่ได้รับการปลูกถ่ายผิวหนังปกติจากผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน สามารถชักนำให้เกิดโรคสะเก็ดเงินได้โดยการฉีด blood immune cell จากผู้ป่วยรายนั้น (38-40)

ในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมาความรู้ใหม่ ๆ เกี่ยวกับโรคสะเก็ดเงินได้เกิดขึ้นอย่างมากมาย เช่น

- พบว่าการใช้ยากลุ่ม TNF- α blocker นั้นสามารถนำมาใช้ในการรักษาโรคสะเก็ดเงินได้เป็นที่น่าพอใจ
- ความรู้เกี่ยวกับ immune cells ที่เข้ามามีบทบาทในโรคสะเก็ดเงิน ได้แก่ Dendritic cells (DCs), Th17, NK cells and regulatory T cells
- Signal transduction activation เช่น STAT3 หรือ new mediators เช่น IL-22, IL-23 และ IL-20

.ในที่นี้จะกล่าวถึงกลไกการเกิดโรคสะเก็ดเงินโดยแบ่งเป็น 3 ระยะ (116) ได้แก่



- Sensitization phase ซึ่งเป็นกรที่ DCs present Ag และเกิดการชักนำให้เกิดการสร้าง effector/memory Th17 และ Th1 โดยระยะนี้ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ผิวหนัง
- Silent phase ซึ่งกินเวลายาวนานแตกต่างกัน
- Effector phase ซึ่งประกอบไปด้วย 3 ขั้นตอน
 1. การที่ immune cells เข้าไปในชั้นผิวหนัง
 2. การที่ immune cells ถูกกระตุ้นภายในชั้นผิวหนัง
 3. เกิดการเปลี่ยนแปลงในชั้น epidermis

หลังจากได้รับการรักษาแล้ว ระยะ effector phase จะเปลี่ยนเป็น silent phase ในระยะต่าง ๆ ที่แตกต่างกัน cell แต่ละเซลล์ที่กล่าวมาข้างต้นมีบทบาทที่แตกต่างกันเช่นกัน เช่น ในระยะแรก T cell, macrophages และ DCs มีบทบาทสำคัญที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อ keratinocytes แต่เมื่อถึงระยะสุดท้ายที่เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อ epidermis แล้วนั้น T-cell จะมีบทบาทน้อยมาก

Sensitization phase- antigen processing and presentation

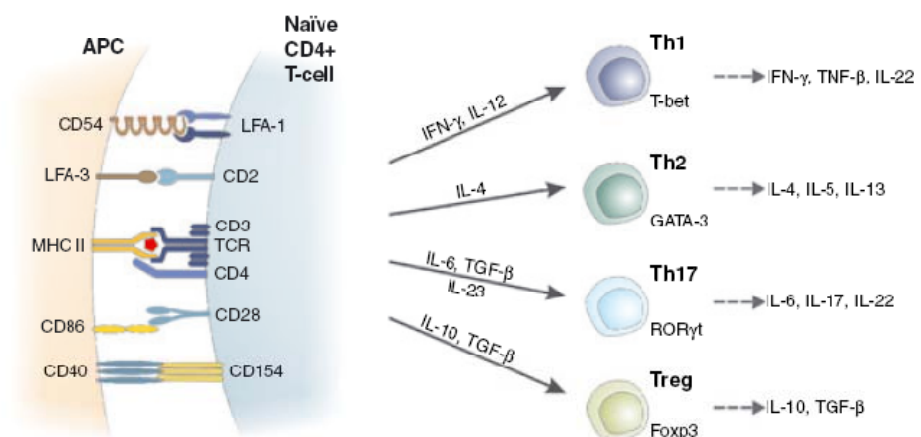
เป็นระยะแรกสุดที่ Antigen ถูก recognize โดย professional antigen presenting cell ได้แก่ DCs หรือ macrophage ซึ่งจัดเป็น immature DCs หลังจากจับกับ Ag แล้ว immature DCs จะกลายเป็น mature DC cells และจะแสดง CCR7 chemokine receptor เพื่อ migrate ไปยัง secondary lymphatic organs ซึ่งที่นี้ DCs จะ present Ag โดยผ่าน MHC class II ไปยัง T cells

ถึงแม้ว่าการ present peptides antigen ที่มาจากภายนอกร่างกายโดยผ่าน MHC class II แต่ DCs นั้นสามารถ present Ag ดังกล่าวผ่านทาง MHC class I ได้ ซึ่งหากผ่านทาง pathway ดังกล่าวจะกระตุ้น CD8+ T-cell (41)

จึงเกิดคำถามในโรคสะเก็ดเงินว่า ในช่วง sensitization phase นั้น Ag ใดเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการแบ่งตัวของ T cells ซึ่งวิธีที่จะทราบได้คือการกระตุ้น T cell ที่พบใน psoriatic lesion

Fry และคณะ (42;43) ได้แยก T cell มาจากฝิ่นสะเก็ดเงินของผู้ป่วยที่เป็น acute guttate และ chronic plaque type พบว่าเซลล์เหล่านี้สามารถถูกกระตุ้นได้ด้วย streptococci นอกจากนี้ยังพบว่า DCs สามารถ break tolerance ต่อ endogenous Ag ได้ด้วยเช่นกัน

Sensitization phase- generation of effector and memory T cells



ภาพที่ 14 แสดงการกระตุ้น naïve T-cell ไปเป็น T helper cell ประเภทต่าง ๆ (116)

การเกิดการเปลี่ยนแปลงจาก naïve T cell ไปเป็น effector และ memory T cell นั้นเกิดขึ้นใน secondary lymphatic organs โดยผ่านการกระตุ้นจาก DCs ทั้งนี้ต้องอาศัยสัญญาณ 3 ชนิดด้วยกัน ได้แก่

1. TCR (CD3) และ MHC II peptide complex
2. Co-stimulatory molecules ได้แก่ CD86 และ CD 80 บน DCs ซึ่งจะจับกับ CD 28 บน T cells และ adhesion molecules ได้แก่ ICAM-1 ซึ่งจะจับกับ LFA-1 และ LFA-3 ซึ่งจะจับกับ CD2
3. Soluble mediators

T cell สามารถถูกกระตุ้นและแบ่งได้ออกเป็น 4 ประเภท ได้แก่

1. Th 1 โดยจะเกิดเมื่อมีการแสดงของ IL-12 ระหว่างการกระตุ้นของ T cells โดยผ่านทาง STAT4 และ T-bet Th1 จะสร้าง IFN- γ , IL-22, IL-26, GM-CSF และ TNF- β โดยจะ express CCR5 และ CXCR3

2. Th 2 จะเกิดเมื่อมีการแสดงของ IL-4 เมื่อถูกกระตุ้นโดยผ่านทาง STAT-6 และ GATA-3 โดย Th 2 จะสร้าง IL-4, IL-5 และ IL-13 จะ express CCR3 และ CCR4

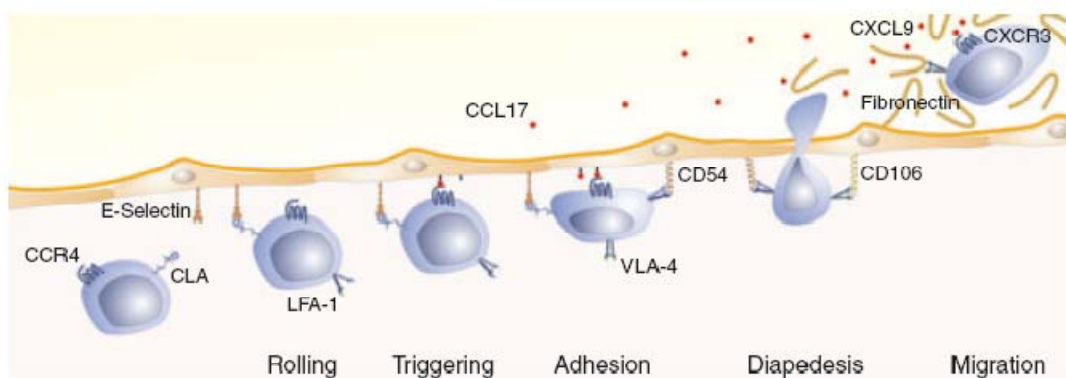
3. Th 17 จะเกิดเมื่อมีการแสดงของ IL-6 และ TGF- β ซึ่งจะไป upregulate ROR γ t สำหรับ IL-23 ซึ่งจะสร้าง IL-6, IL-17, IL-22 โดยผ่านทาง STAT-3 จะ express CCR4 การกระตุ้นทางใดทางหนึ่งจะเป็นการยับยั้งการเปลี่ยนแปลงในทางอื่น ๆ เช่น การกระตุ้น Th2 จะสร้าง IL-4 ซึ่ง IL-4 จะไปยับยั้งการสร้างของ Th1 และ Th17

4. Regulatory T cells เป็นตัวที่ช่วยในการควบคุมไม่ให้เกิดการแบ่งตัวของ T cell มากเกินไป โดยจะสร้าง Immunosuppressive cytokines เช่น IL-10 และ TGF β

นอกเหนือจากการ Polarization เป็น Th1, Th2 และ Th17 แล้ว naïve T cell สามารถเปลี่ยนเป็น effector T cell ซึ่งจะ infiltrate บริเวณผิวหนังที่อักเสบ มีบทบาทในกระบวนการอักเสบ และจะตายไป effector memory T cell จะ circulate ระหว่างเลือด และบริเวณรอยโรค สามารถผลิต cytokine ได้ทันทีหลังได้รับการกระตุ้นซ้ำแต่จะมีความสามารถในการแบ่งตัวได้ไม่ดี central memory T cell จะ circulate ระหว่างเลือดและต่อมน้ำเหลือง มี limited effector function แต่จะสามารถทำงานและแบ่งตัวได้ดีหลังได้รับการกระตุ้นซ้ำ

Effector phase- skin infiltration of T and other immune cells

จุลพยาธิวิทยาของโรคสะเก็ดเงินในระยะเริ่มแรกนั้นพบว่า มี Superficial perivascular infiltration ซึ่งประกอบด้วย lymphocytes และ monocytes พบการขยายตัวของหลอดเลือดบริเวณ dermal papillae ซึ่งกระบวนการที่พบเม็ดเลือดขาวเข้ามา infiltrate ในผิวหนังประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้



ภาพที่ 15 แสดงกลไกการเข้ามายังบริเวณผิวหนังของ CLA+ T-cell (116)

First step: Rolling of leucocytes โดยจะพบ interaction ระหว่าง P- และ E-selectin โดย endothelial cells จะจับกับ selectin ligand บนเม็ดเลือดขาว ได้แก่ PSGL-1, CLA-modified PSGL-1 และ CLA-modified CD43 ในคนปกตินั้นพบการ express ของ P-selectin ที่บริเวณ post capillary venules ในระดับต่ำ P- และ E-selectin จะพบมากขึ้นในผิวหนังปกติและบริเวณรอยโรคของผู้ป่วยสะเก็ดเงินตามลำดับ (44) พบว่า TNF- α มีบทบาทสำคัญในการหลั่ง P-selectin จาก Weibel-palade bodies นอกจากนี้ TNF- α ยังกระตุ้นการสร้างและการแสดงของ E-selectin

Second step: Activate leukocytes by chemokine trigger พบว่า CCL27 (ligand of CCL10) มีส่วนสำคัญในการชักนำ T cell ให้มาบริเวณผิวหนัง (45) เม็ดเลือดขาวใน allergic delayed-type hypersensitivity express CCR4 และมีเพียง 10% เท่านั้นที่ express CCR10 (46) ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินส่วนใหญ่ของ CD4+ T cell และครึ่งหนึ่งของ CD8+ T cells express CCR4 และ CCR6 (47) เป็นที่น่าสนใจว่า CCL17 ซึ่งเป็น ligand ของ CCR4 นั้นจะ express โดย dermal endothelial cells โดยการกระตุ้นของ TNF- α และ IFN γ แต่ไม่ถูก express โดย keratinocytes (48;49) ในขณะที่ CXCR3 มีส่วนสำคัญในกระบวนการที่ CD8+ T cell จะเคลื่อนที่ไปยังบริเวณ epidermis โดย CXCL9 และ CXCL10 ซึ่งเป็น ligand ของมันนั้นจะ express โดย keratinocyte โดยผ่านการกระตุ้นของ TNF- α และ IFN γ

Third step: Tight adhesion ระหว่าง immune cells และ endothelial cells โดย integrin มีบทบาทสำคัญในกระบวนการนี้ โดย CD11a/CD18 (LFA-1) จะจับกับ ICAM-1 และ ICAM-2 บน endothelial cells และมีบทบาทสำคัญที่สุด ส่วน integrin อื่น ๆ ที่มีบทบาทร่วมด้วยได้แก่ very late antigen (VLA-4) ซึ่งจะจับกับ VCAM-1 บนหลอดเลือด พบว่า TNF- α และ IFN- γ สามารถชักนำให้เกิดการ express ของ ICAM-1 มากขึ้น

Fourth step: Diapedesis ซึ่งอาศัยการทำงานของ integrin โดยเฉพาะ LFA-1 พบว่าการที่ dermal blood vessel express ICAM-1 (LFA-1 ligand) มากขึ้นนั้นสัมพันธ์กับกระบวนการอักเสบที่มากขึ้นด้วย (50) ในโรคสะเก็ดเงินนั้น CD8+ T cells จะอยู่บริเวณ epidermis ส่วน CD4+ T cells จะอยู่บริเวณ dermis (51;52) ซึ่งอธิบายได้จากการแสดงของ chemokine ที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น นอกจากนี้ยังพบว่า integrin เช่น CD103 ($\alpha\text{E}\beta\text{7}$) นั้น express โดย epidermal CD8+ T cells มากกว่า 80% ในขณะที่ dermal T cell express เพียง 5% และน้อยกว่า 1% ใน peripheral blood โดย CD103 จะจับกับ E-cadherin

เซลล์อื่น ๆ นอกเหนือจาก T cell มีกลไกในการเข้ามาบริเวณผิวหนังคล้ายคลึงกันกับ T cell

- NK cell จะ express high level ของ CXCR3 และ CCR5 นอกจากนี้ยังแสดง CXCR1, CCR6 และ CCR8 ด้วย

- C5a สามารถชักนำ myeloid DCs เข้ามายังบริเวณรอยโรค (53)
- Langerhan cell จะเคลื่อนเข้ามาในบริเวณผิวหนังโดยการชักนำของ CCL20
- Neutrophil โดยปฏิกิริยาระหว่าง MAC-1 และ CD90 (54)

T cell จาก lesional epidermis จะ express HLA-DR (86%), CD69 (59%), CD25 (55%) ซึ่งถือเป็น activation markers โดยพบ CD45RA negative (memory phenotype) 91%

T cell จาก lesional dermis นั้น express marker คล้ายกับ epidermis ยกเว้น CD69 ซึ่ง express เพียง 17% CD69 นั้นจะถูก express โดย T cell ระยะสั้น ๆ หลังจากถูก activation

T cell ในโรคสะเก็ดเงินนั้นจะสร้าง Th1 cytokines เช่น IL-2, TNF- α และ IFN γ เป็นต้น ข้อมูลล่าสุดจากการวัด mRNA expression ของ cytokine 20 ชนิด พบว่า IL-17 และ IL-22 นั้น express มากที่สุดในผื่นโรคสะเก็ดเงิน (55) โดยจะ express มากกว่า IFN- γ มากถึง 10 เท่า (56) และพบว่าสามารถตรวจพบ IL-22 ในเลือดผู้ป่วยซึ่งตรงข้ามกับ IFN- γ โดยพบว่าปริมาณของ IL-22 ในเลือดนั้นสัมพันธ์กับความรุนแรงของผื่น (57) IL-22 นั้นจะสร้างมาจาก activated NK และ T cell เท่านั้น (56;58) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า Th17 และ Th1 เป็นตัวหลักในการสร้าง IL-22 ในผื่นโรคสะเก็ดเงิน (59;60)

พบว่า CD4+ และ CD8+ T cell ที่บริเวณรอยโรค express IL-17 mRNA และพบระดับเท่า ๆ กับ IL-22 นอกจากนี้ยังพบว่าการที่พบ single nucleotide polymorphism ที่ IL-23 receptor gene มีความสัมพันธ์กับโรคสะเก็ดเงิน จึงเป็นหลักฐานสนับสนุนว่า Th17 มีบทบาทสำคัญในโรคสะเก็ดเงิน (61)

จำนวนของ Dendritic cells ในผื่นสะเก็ดเงินมีปริมาณเพียงครึ่งหนึ่งของ T cell โดยจะแบ่งออกเป็น Langerhan cell และ dermal dendritic cell โดยพบ inflammatory dendritic epidermal cells (CD11c+/CD1a+/Lin-/CD123-) และ plasmacytoid DCs (CD11c-/CD1a-/Lin-/CD123+) เพียงเล็กน้อย ซึ่งแตกต่างกับผิวหนังปกติ (62)

NK cell พบได้มากขึ้นในผื่นสะเก็ดเงินเมื่อเทียบกับผิวหนังปกติ (63) NK cell สามารถแสดง CD4+ หรือ CD4-/CD8 ประมาณ 5% ของเซลล์ที่ infiltrate ในผิวหนังในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินเป็น NK cell

Effector phase- immune cell activation in the skin

Immune cells ต่าง ๆ ที่เข้ามาอยู่ในบริเวณผิวหนังจะถูกกระตุ้นอีกครั้งโดย immune cells เช่น APCs สามารถกระตุ้นการแบ่งตัวของ T cells ในทางตรงข้าม T cells ก็กระตุ้นการทำงานของ APCs ได้เช่นกัน พบว่า DCs จากผิวหนังที่เกิดเงินนั้นสามารถกระตุ้นการแบ่งตัวของ T cells ได้มากกว่า DCs จาก peripheral blood หรือจากคนปกติ

Plasmacytoid DCs มีบทบาทสำคัญในโรคสะเก็ดเงิน การยับยั้ง IFN- α หรือการทำงานของ Plasmacytoid DCs นั้นสามารถยับยั้งการแบ่งตัวของ T cell และการเกิดโรคสะเก็ดเงินได้

บทบาทของ DCs ในการกระตุ้นการทำงานของ T cell นั้นผ่านทางสร้าง Cytokines โดยเฉพาะ IL-23 และ IL-6 พบว่า CD83+ (myeloid DCs) และ CD68+ (monocytes/macrophages) ที่ได้มาจากผิวหนังในโรคสะเก็ดเงินนั้นมีการ express IL-23 (Th-17 inducing cytokines) มากกว่าปกติ ในทางตรงข้าม IL-12 (Th-1 inducing cytokines) กลับไม่มีการเพิ่มขึ้น

Antigen มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการทำงานของ T cell ได้โดยตรงพบว่า reactivation ของ T cell ในโรคสะเก็ดเงินนั้นเกิดจาก Streptococcal Ag โดยมีหลักฐานสนับสนุน ได้แก่ การที่ผิวหนังดีขึ้นจากการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะหรือการตัดต่อมทอนซิล (64) อย่างไรก็ตาม antigen ดังกล่าวก็ไม่ได้อยู่ในผิวหนังตลอดเวลา การกระตุ้นของ T cells ในผิวหนังสะเก็ดเงินนั้นจึงน่าจะเกิดจากการ cross-reactivity ระหว่าง Streptococcal Ag และ auto-Ags

นอกจากนี้ยังมีหลักฐานสนับสนุนว่า Streptococcal M protein ซึ่งเป็น virulence factor นั้นมีโครงสร้างคล้ายคลึงกับ Type I keratin (65) มีการทดสอบโดยใช้ ALE-EAN motif ซึ่งเป็น structure ที่พบร่วมกันของ Streptococcal M6 และ K17 พบ ผู้ป่วยสะเก็ดเงิน 13 จาก 17 คน และกลุ่มควบคุม 4 จาก 17 คน มีการตอบสนองต่อ antigen ดังกล่าว โดยในกลุ่มผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินมีการตอบสนองที่มากกว่าอย่างเห็นได้ชัดเจน (66) ดังนั้น K17 น่าจะเป็นหนึ่งใน Auto Ag ซึ่งพบได้บริเวณที่เกิดโรคเช่นผิวหนังหรือข้อ (synovial compartment) แต่ไม่พบในเยื่อช่องปาก ในสภาวะปกติ K17 จะไม่ถูก express แต่สามารถพบได้บ้างที่ hair follicle, nail beds, sweat glands และ sebaceous glands ในโรคสะเก็ดเงินนั้นพบ K17 ได้ที่ suprabasilar layer (67) In vitro พบว่า K17 สามารถถูก up regulate ได้มากโดย IFN- γ และเพียงเล็กน้อยโดย TGF- α ในขณะที่ pro-inflammatory cytokines นั้นไม่สามารถ up regulate K17 ได้ (68) เราสามารถพบผิวหนังสะเก็ดเงินส่วนใหญ่นั้นจะเริ่มที่หนังศีรษะก่อนซึ่ง K17 สามารถพบได้ที่บริเวณดังกล่าวในสภาวะปกติ

Keratinocyte สามารถกระตุ้นการทำงานของ T cell ได้เช่นกัน keratinocytes สามารถ express MHC class II และ CD54 หลังจากถูกกระตุ้นโดย IFN- γ Keratinocytes สามารถกระตุ้น

NK T cells ผ่าน CD1d พบว่าในผื่นสะเก็ดเงินมีการ express CD1d มากกว่าปกติ CD1d สามารถถูก up regulate โดย keratinocytes ในคนปกติโดย physical trauma

T cells จะถูกยับยั้งโดย 2 subpopulation ของ T cell คือ

1. Gamma-delta T cells การศึกษาล่าสุดพบว่าเซลล์มีหน้าที่ในการ maintenance epidermal barrier, ควบคุมกระบวนการอักเสบของผิวหนัง และป้องกันการเกิดมะเร็งของผิวหนัง (69) รวมถึงสามารถยับยั้งการทำงานของ $\alpha\beta$ -T cells ด้วย ซึ่งสามารถป้องกันการเกิดผิวหนังอักเสบ (70) ในโรคสะเก็ดเงิน gamma-delta T cell เกิดกระบวนการ exhausted ขึ้นทำให้ไม่สามารถยับยั้ง $\alpha\beta$ -T cells ได้
2. Regulatory T cell ซึ่งสามารถยับยั้งการทำงานของ Th17 และ Th1 พบว่า T reg ในเลือดของผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินมีการทำงานที่บกพร่อง (71) อัตราส่วนของ T reg และ T effector cells ในผื่นโรคสะเก็ดเงินนั้นพบว่าลดลง ทำให้ไม่สามารถยับยั้งการทำงานของ T effector cells ได้

Monocytes/Macrophages และ Dendritic cells ถูกกระตุ้นได้โดย IFN- γ ที่สร้างขึ้นจาก T, NK T และ NK cells หรือ Heat shock protein ที่สร้างมาจาก keratinocytes

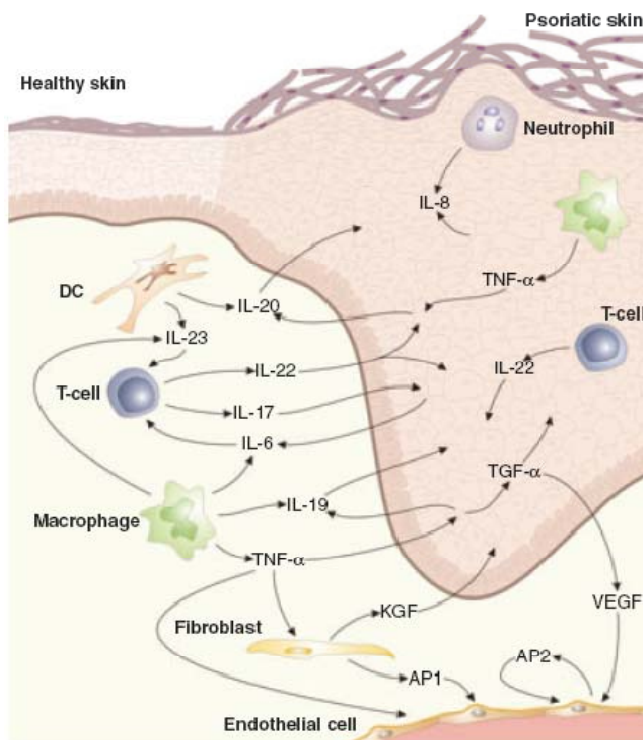
Keratinocytes เป็น main source ของ TNF- α ในผื่นสะเก็ดเงิน นอกจากนี้ TNF- α ยังพบได้ที่ Langerhan cells, CD11+ APCs แต่ไม่พบที่ endothelial cells หรือ mast cells

Effector phase- keratinocyte response

Keratinocytes สามารถถูกกระตุ้นได้ตั้งแต่วะยะแรกของการเกิดโรคโดย Th1 cytokines เช่น IFN- γ และ IL-22 เมื่อการดำเนินโรคเกิดต่อไป mediators อื่น ๆ เช่น IL-6, IL-17 และ IL-22 จาก Th17 หรือ TNF- α , IL-6, IL-18, IL-19 และ IL-20 จาก DCs สามารถกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์ผิวหนังได้เช่นกัน และทำยาสู่สารที่สร้างจาก keratinocytes เองเช่น TGF- α , NGF, IL-19, IL-20 หรือสารที่สร้างจาก stromal cells เช่น keratinocyte growth factor (KGF), insulin-like growth factor 1 และ fibroblast growth factor 10 มีการเพิ่มขึ้นจากมาก ซึ่งน่าจะส่งผลกระทบต่อ การเปลี่ยนแปลงของ keratinocytes

การกระตุ้นการทำงานของ keratinocytes ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลง ดังต่อไปนี้

1. เพิ่มกระบวนการ proliferation ของเซลล์
2. ทำให้กระบวนการเจริญของเซลล์ maturation ผิดปกติ
3. การกระตุ้น angiogenesis



ภาพที่ 16 แสดง cytokines ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ keratinocytes (116)

การแบ่งตัวของ keratinocytes ในโรคสะเก็ดเงินนั้นมากกว่าปกติถึง 50 เท่า และในปัจจุบัน ยังไม่สามารถพบปัจจัยที่มีผลกระทบโดยตรงต่อการแบ่งตัวของเซลล์ผิวหนังในโรคสะเก็ดเงินอย่าง ชัดเจน โดย Immune cells เป็นเพียงหนึ่งในปัจจัยที่น่าจะมีผลกระทบต่อ การแบ่งตัวของ keratinocytes เท่านั้น

T cell mediators เช่น $IFN-\gamma$ และ $TGF-\beta$ นั้นมีผลยับยั้งการแบ่งตัวของ keratinocytes มากกว่าการไปกระตุ้นการทำงาน ส่วน cytokines ตัวอื่น ๆ นั้นไม่มีผลกระทบต่อ การแบ่งตัวของ keratinocytes จะมีเพียง IL-6 และ IL-8 ที่อาจมีผลเมื่อมีความเข้มข้นในปริมาณมาก (72)

$IFN-\gamma$ ซึ่งมีมากในโรคสะเก็ดเงินนั้นยับยั้งการทำงานของ keratinocytes แต่ในโรคสะเก็ด เงินนั้นกลับมีการแบ่งตัวของ keratinocytes อย่างมากอธิบายได้ว่า

1. อัตราการเพิ่มขึ้นของ $IFN-\gamma$ นั้นน้อยเมื่อเทียบกับ cytokines อื่นๆ
2. Keratinocytes ในโรคสะเก็ดเงินนั้นมีการตอบสนองที่ผิดปกติต่อ $IFN-\gamma$

$IFN-\gamma$ มีบทบาทใน early effector phase ดังนี้

1. ชักนำให้ keratinocytes หลั่งสารต่าง ๆ เช่น CCL2, CXCL2, CXCL10 เพื่อกระตุ้นใน immune cells เข้ามาบริเวณรอยโรค

2. กระตุ้นการทำงานของ monocytes, macrophages, DCs และ endothelial cells
3. Upregulate MHC I, MHC II, CD1d และ CD 54 บน keratinocytes

Neutrophils เป็นอีกหนึ่งเซลล์ที่น่าจะมีบทบาทต่อการแบ่งตัวของ keratinocytes พบว่า leucocyte elastase ในปริมาณที่พบในผิวหนังผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินสามารถทำให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์ผิวหนังในสัตว์ทดลองได้ (73) การตรวจทางพยาธิวิทยาจะพบการขยายตัวของหลอดเลือด แต่ไม่พบ immune cells มา infiltrate อย่างไรก็ตามเมื่อใช้ anti CXCL8 ในการรักษาผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินพบว่า neutrophil ลดลงอย่างเห็นได้ชัด แต่กลับไม่พบการเปลี่ยนแปลงของผิวหนังในโรคสะเก็ดเงิน (74)

การตอบสนองต่อการรักษาสะเก็ดเงินโดยใช้ Anti-TNF α นั้น อาจทำให้เราสันนิษฐานได้ว่า TNF- α อาจจะมีบทบาททางอ้อมต่อการแบ่งตัวที่ผิดปกติต่อ keratinocyte เป็นที่ทราบกันว่า TNF- α นั้นถูกสร้างมาจาก macrophages ในบริเวณ papillary dermis เป็นส่วนใหญ่ และตัวมันสามารถทำให้เกิดการสร้าง TGF- α โดย keratinocytes ซึ่ง TGF- α สามารถจับกับ epidermal growth factor receptor ทำให้เกิดการกระตุ้นการแบ่งตัวของ keratinocytes เร่ง epidermal regeneration (75) TGF- α พบมากขึ้นในรอยโรคสะเก็ดเงิน ตรงข้ามกับ TGF- β 1 ซึ่งยับยั้งการแบ่งตัวของ epithelial cell ไม่พบมากขึ้นในรอยโรค (76)

Nerve growth factors เป็น neuropeptide ซึ่งจับกับ NGF receptor (trk) เป็นอีกตัวหนึ่งที่สามารถกระตุ้นการแบ่งตัวของ keratinocytes แม้จะพบว่า receptor ดังกล่าวจะพบลดลงบน keratinocytes ทั้งบริเวณที่เป็นรอยโรคและไม่ใช่อรอยโรคในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน แต่สามารถอธิบายได้ว่า การที่ NGF เองพบมากขึ้นทั้งในบริเวณที่เป็นรอยโรคและไม่ใช่อรอยโรคในผู้ป่วยสะเก็ดเงิน รวมถึงพบว่า NGF receptor blocker สามารถทำให้ผื่นสะเก็ดเงินดีขึ้นใน SCID mouse-human skin model (77) จึงเชื่อได้ว่า NGF มีบทบาทต่อการเพิ่มจำนวนขึ้นของ keratinocytes นอกเหนือจากนี้ NGF ยังทำให้เกิด angiogenesis, T cell activation รวมถึง การเพิ่มขึ้นของ cutaneous nerve cells ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินด้วย

ในผิวหนังปกตินั้นกระบวนการ proliferation และ maturation ของ keratinocytes กินเวลาประมาณ 28 วัน ในโรคสะเก็ดเงินนั้นระยะเวลาดังกล่าวเหลือเพียง 5 วัน ซึ่งทำให้กระบวนการเปลี่ยนแปลงและเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังเกิดความผิดปกติอย่างมาก ดังจะเห็นได้จากการพบ parakeratosis และไม่พบ granular layer การ express ของ involucrin และ transglutaminase ที่บริเวณ spinous layer ไม่พบ filaggrin ในบริเวณดังกล่าวแต่อาจพบได้ที่ parakeratotic scales จะเห็นได้ว่าเกิดการรบกวนในกระบวนการ maturation ของ keratinocytes อย่างกว้างขวาง พบการ

express ของ corneodesmosin บริเวณ spinous layer ซึ่งปกติจะพบได้บริเวณ cornified layer รวมถึงมีพบ expression ของ K1 และ K10 ลดลงด้วย นอกจากนี้โปรตีนที่ผิดปกติแล้วยังพบการลดลงของ extracellular lipid อีกด้วย

IL-22 ซึ่งสร้างมาจาก Th17/Th1 cells เป็นอีกหนึ่งตัวที่มีผลต่อการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของ keratinocytes โดยพบว่า IL-22 จะมีผลต่อ tissue cells โดยไม่มีผลต่อการทำงานของ immune cells (56;78) Keratinocytes เองเป็น target ที่สำคัญของ cytokines ดังกล่าว โดยมี IL-22R1 และ IL-10R2 เป็น receptor complex

Effect of IL-22 on keratinocytes (56;79)

1. Production of antimicrobial proteins
2. Differentiation
3. Migration

ในปี 2004 พบว่า IL-22 สามารถเพิ่มการสร้างของ β -defensin 2 และ β -defensin 3 ซึ่งเป็นการค้นพบผลของ IL-22 ต่อการทำงานของ keratinocytes เป็นครั้งแรกและล่าสุดค้นพบว่า IL-22 สามารถชักนำให้เกิดการแสดงของ S100A7, S100A8 รวมถึง S100A9 การทำงานของสารทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกัน โดย S100A ทำให้เกิด Zinc sequestration ในขณะที่ β -defensin จะ destabilize microbial membrane (80)

นอกเหนือจากนี้ IL-22 ยังควบคุม terminal differentiation ของ keratinocytes โดยพบว่า IL-22 ลดการ expression ของ profilaggrin, K1, K10, calmodulin-like 5 (CALML5), keratinocyte differentiation-associated protein (KDAP) และ kallikrein (KJK7)

IL-22 เพิ่มการสร้างของ MMP1 และ MMP3 ลดการแสดงของ DSC1 เป็นที่ทราบว่ามี MMP นั้นเป็นตัวที่ย่อย extracellular matrix พบว่า MMP-1 และ MMP-3 upregulate ในผื่นสะเก็ดเงิน MMP-1 ย่อย type1 collagen เป็นจุดเริ่มต้นของการเคลื่อนที่ของ keratinocytes MMP-3 สามารถย่อย substrate ได้มากมายเช่น multicellular actin networks นอกเหนือจากบทบาทในเรื่องของ wound contraction แล้ว ยังสามารถทำให้เกิด immune cell infiltrate ในผิวหนังด้วย

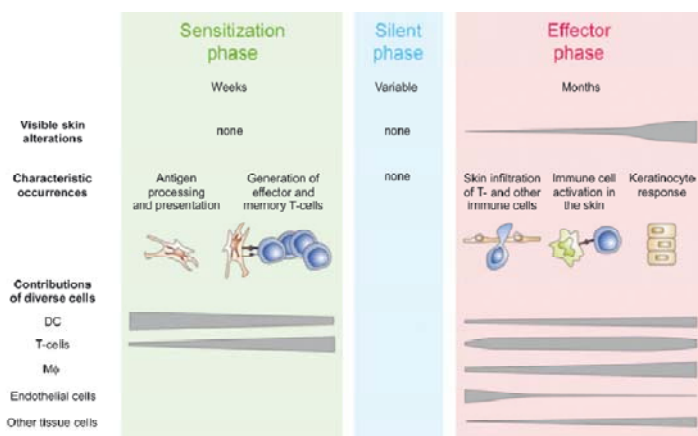
การใช้ IL-23 apply skin ในหนูพบว่าสามารถกระตุ้นให้เกิด epidermal hyperplasia ร่วมกับ parakeratosis (81) ซึ่งอาจจะเป็นผลของ IL-22 มากกว่า IL-23

IL-20 รวมถึง IL-19 เป็น cytokines ที่ออกฤทธิ์เช่นเดียวกับ IL-22 อาจเกิดเนื่องมาจากจับกับ receptor ตัวเดียวกัน นอกจาก keratinocytes แล้ว IL-20 สามารถ express ได้โดย monocytes และจะพบมากขึ้นในรอยโรคสะเก็ดเงิน IL-20 และ IL-22 กระตุ้น STAT3 ใน keratinocytes การ

ทดลองในหนูพบว่าหากมีการเพิ่มขึ้นของ STAT-3 จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงผิวหนังในคล้าย ๆ กับโรคสะเก็ดเงิน (82) ในขณะที่เดียวกันหากมีการ deletion ของ STAT-3 gene จะไม่พบการเปลี่ยนแปลงของผิวหนังหรือ hair follicles แต่จะส่งผลกระทบต่อ hair cycle และ wound healing

นอกจากนี้กระบวนการ Angiogenesis ในโรคสะเก็ดเงินนั้น TNF- α และ complement products ต่าง ๆ มีบทบาทในกระบวนการนี้ โดยอาศัยการทำงานของ VEGF และ angiopoietin 2 TGF- α สามารถชักนำ VEGF mRNA expression ใน keratinocytes พบว่าบริเวณ hyperplastic epidermis นั้นมีการเพิ่มขึ้นของ VEGF และพบ receptors ได้แก่ kdr, flt1 มากขึ้นบริเวณ dermal endothelial cells

Ang-1, Ang-2 รวมถึง Tie2 ก็พบมากขึ้นในบริเวณรอยโรคเมื่อเทียบกับผิวหนังปกติ เมื่อ Ang-1 จับกับ Tie-2 จะทำให้ maintain หลอดเลือดที่สร้างใหม่ ในขณะที่หาก Ang-2 จับกับ Tie-2 โดยมีการ express ของ VEGF ร่วมด้วยจะทำให้การสร้างหลอดเลือดใหม่เกิดขึ้น นอกเหนือจาก keratinocytes และ stromal cells ใน dermis จะมีส่วนทำให้เกิดการสร้างหลอดเลือดใหม่แล้ว proteases, growth factors (basic fibroblast growth factors, GM-CSF, TGF- α , IGF-I, PDGF และ VEGF) ที่สร้างโดย macrophages ก็สามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้างหลอดเลือดใหม่ได้เช่นกัน



ภาพที่ 17 สรุปกลไกการเกิดโรคสะเก็ดเงิน (116)

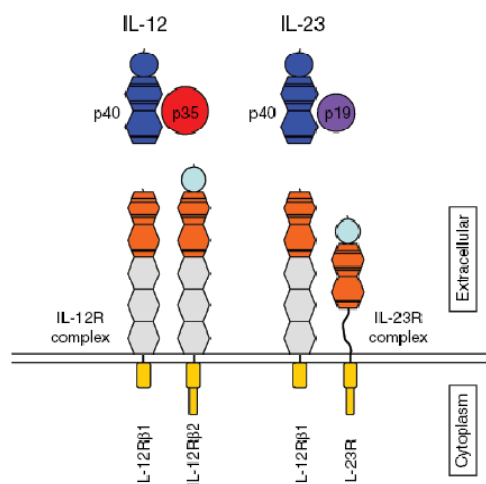
Interleukin-12, Interleukin-23 and psoriasis

เนื่องจากพยาธิสภาพในโรคสะเก็ดเงินเกิดจากภาวะผิดปกติทางภูมิคุ้มกัน โดยจะพบว่ามีเม็ดเลือดขาวชนิด T lymphocyte เข้าไปในชั้นผิวหนังมากมาย รวมถึงมีการเพิ่มขึ้นของ inflammatory cytokines, immune cells, endothelial cells และ keratinocytes

IL-12 รวมถึง IL-23 ซึ่งเป็น cytokine ตัวใหม่ที่เชื่อว่าเป็นตัวสำคัญในการทำให้เกิดพยาธิสภาพของโรคสะเก็ดเงิน และในปัจจุบันได้มีการวิจัยค้นคว้าทดลองยารักษาโรคสะเก็ดเงินโดยยับยั้งการทำงานของ cytokine ดังกล่าว

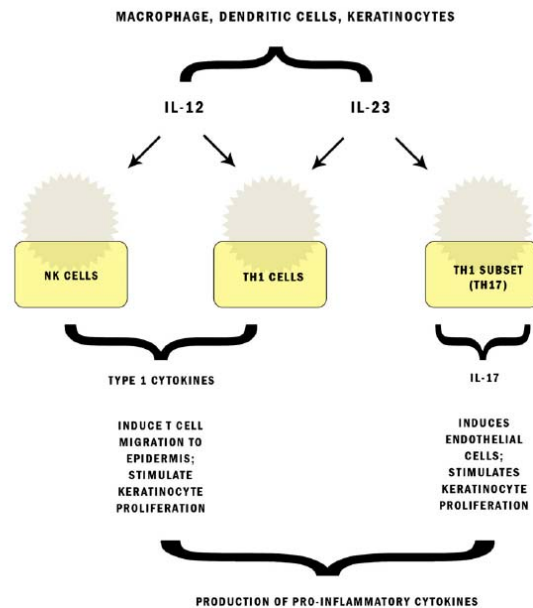
IL-12 ถูกค้นพบเมื่อปี 1989 สร้างจาก dendritic cells และ macrophages มีบทบาทสำคัญเกี่ยวกับ cell-mediated immune response ซึ่งเป็น heterodimeric cytokine ประกอบด้วย heavy chain (IL-12 p40) และ light chain (IL-12 p35) โดยจะจับกับ transmembrane receptor ได้แก่ IL-12R β 1 และ IL-12R β 2 (83) IL-12 จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ CD4 naïve T cells ไปเป็น Th1 และ activated NK cells (84) ซึ่งเซลล์ดังกล่าวจะสร้าง IFN γ และ Th1 cytokines อื่น ๆ ได้แก่ IL-2 รวมถึง TNF α .

IL-23 ซึ่งถูกค้นพบเมื่อไม่นานมานี้ มีโครงสร้างคล้ายกับ IL-12 โดยมีโครงสร้างเป็น heterodimeric ประกอบด้วย IL-23p19 subunit โดย share IL-12p40 ซึ่งเป็น common subunit ร่วมกัน และ จะจับกับ IL-12R β 1 เช่นเดียวกับ IL-12p40 subunit



ภาพที่ 18 แสดงโครงสร้างของ IL-12 และ IL-23 (116)

ในแง่ของบทบาท IL-23 นั้นแต่เดิมเชื่อกันว่ามีการทำงานคล้าย ๆ กับ IL-12 แต่ในปัจจุบันนั้นเชื่อว่า IL-23 ทำงานโดยกระตุ้น Th17 ซึ่งจัดเป็น Th1 subset ทำให้เกิดการสร้าง IL-17 ขึ้นมา IL-17 นั้นเชื่อว่ามีบทบาทสำคัญที่ทำให้เกิด autoimmune inflammation (85) IL-17 สามารถสร้าง pro-inflammatory cytokines โดยกระตุ้น endothelial cells และ macrophages และเสริมฤทธิ์ของ IFN γ ในการทำให้กระบวนการอักเสบเกิดขึ้นอย่างกว้างขวาง



ภาพที่ 19 แสดงการทำงานของ IL-12/IL-23 ผ่าน inflammatory cells (116)

Species	Evidence	Reference
Mouse	<ul style="list-style-type: none"> Experimentally induced psoriatic lesions abolished by anti-12 antibody Over expression of IL-12p40 results in inflammatory skin disease Injection of IL-23 results in inflammatory skin disease 	(86) (87) (88)
Human	<ul style="list-style-type: none"> IL-12p40 mRNA/IL-23p19 mRNA and protein is increased in psoriatic lesions A genetic polymorphism in IL-12p40 is linked to increased susceptibility to psoriasis 	(89;90)

ตารางที่ 6 แสดงหลักฐานในคนและหนูที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคสะเก็ดเงินโดยผ่านทาง IL12/IL23 model

Murine models ช่วยให้เราเข้าใจในพยาธิสภาพการเกิดโรคสะเก็ดเงินได้ดียิ่งขึ้น เช่น ได้มีการนำ CD4+CD45Rb T cells ฉีดเข้าไปใน SCID mice พบว่า IL-12 สามารถชักนำให้เกิดพยาธิสภาพคล้ายสะเก็ดเงินขึ้นได้ในหนู และการให้ anti-IL-12p40 antibody พบว่าสามารถทำให้พยาธิสภาพดังกล่าวหายไป (91) นอกจากนี้ยังพบว่า transgenic mice ซึ่งมีการแสดงของ IL-12p40 subunit มากเกินไปทำให้เกิดผื่นที่มีลักษณะเป็น eczematous, hyperkeratosis, spongiosis และพบ inflammatory cells infiltrate ใน keratinocytes (92) เนื่องจาก IL-12p40 เป็น common subunit ร่วมกันทั้ง IL-12 และ IL-23 ดังนั้น cytokines ตัวใดตัวหนึ่งหรือทั้งสองตัวนี้น่าจะมีส่วนทำให้เกิดพยาธิสภาพที่ผิวหนังขึ้นในหนูทดลอง อย่างไรก็ตามมีการพบว่า p40 transgenic mice ที่ไม่สามารถสร้าง IL-12 ได้ แต่ยังสามารถสร้าง IL-23 ได้อยู่นั้น สามารถทำให้เกิดพยาธิสภาพเช่นเดียวกับการขาด IL-12 ทำให้เกิดข้อสังเกตที่ว่าจริง ๆ แล้วนั้นพยาธิสภาพดังกล่าว เกิดจากการทำงานของ IL-23 เป็นหลักหรือไม่ (93)

Human models หลายการศึกษาวิจัยในคนพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ IL-12p40 และ IFN γ mRNA ในผื่นโรคสะเก็ดเงิน (94;95) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และยังพบว่าไม่มีความแตกต่างกันของระดับการ express mRNA ดังกล่าวในชนิดของโรคสะเก็ดเงินที่แตกต่างกัน เนื่องจากไม่พบว่ามี การสอดคล้องกันของ PASI score และระดับของ IL-12p40 ในผิวหนัง ทำให้คิดได้ว่าจริง ๆ แล้ว บทบาทของ IL-12p40 นั้นน่าจะเป็นตัวที่ทำให้เกิดโรคขึ้นมา มากกว่าที่จะบอกถึงระดับความรุนแรงของโรค (96)

พบการเพิ่มขึ้นของ IL-12p40 subunit mRNA และ protein ในบริเวณ lesion > non lesion > control ถึง 11 เท่า ในทางตรงข้ามกลับไม่พบความแตกต่างของ IL-12p35 subunit ใน lesion, non lesion รวมถึง control เลย (97)

พบว่ามี การเพิ่มขึ้นของ IL-12p40 subunit mRNA ใน psoriatic plaques 11.6 เท่า โดยไม่พบมีการเพิ่มขึ้นของ IL-12p35 mRNA แต่กลับพบว่ามี การเพิ่มขึ้นของ IL-23p19 mRNA ถึง 22.3 เท่า และยังพบว่า monocytes และ dendritic cells สามารถ up-regulate p19 และ p40 subunit ได้ด้วย

ในการย้อม Immunohistochemistry พบว่า มีการเพิ่มขึ้นของ IL-23p19 ใน lesional skin มากกว่า non lesional และ normal skin และพบว่า epidermis สามารถ express p19 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า keratinocyte เองนั้นสามารถสร้าง IL-23 ได้ด้วย

นอกเหนือจากการ Express cytokine ดังกล่าวในผื่นโรคสะเก็ดเงินแล้ว มีการศึกษาถึงระดับ cytokines ดังกล่าวใน serum ผู้ป่วย พบว่า IL-12 ในผู้ป่วยสะเก็ดเงินและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกัน (98) และมีการใช้วิธี ELISA ประเมินระดับ IL-12 ร่วมกับ PASI score พบว่า ระดับ

Serum IL-12 ต่ำลงในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน (99) อย่างไรก็ตามพบว่า IFN γ กลับเพิ่มขึ้นและสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรค

จากหลักฐานดังกล่าวข้างต้นแสดงให้เห็นบทบาทที่สำคัญของ IL-23 ที่เหนือกว่า IL-12 ในการเกิดพยาธิสภาพของโรคสะเก็ดเงิน

บทที่ 5

การรักษาโรคสะเก็ดเงิน

Phototherapy

1. Broadband and narrowband UVB

แสงจากธรรมชาติถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคสะเก็ดเงินมาเป็นเวลานาน โดยช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสมคือ 311-313 nm โดยได้ถูกนำมาใช้ร่วมกับยาทาเฉพาะที่ต่าง ๆ เช่น tazarotene, vitamin D3 analogue หรืออาจจะใช้ร่วมกับ systemic treatment

กลไกของแสงในการรักษาโรคสะเก็ดเงิน คือ การกดการทำงานของภูมิคุ้มกัน (Immunosuppression) เช่น สามารถกระตุ้น keratinocytes ให้สร้าง IL-10 และ TNF α โดย cytokine ดังกล่าวนั้นสามารถลดปริมาณของ Langerhan cells ที่บริเวณ epidermis โดยกระตุ้นให้เซลล์ดังกล่าวเคลื่อนที่ไปยังบริเวณต่อมน้ำเหลืองมากขึ้น และแสงในปริมาณเข้มข้นระดับหนึ่งสามารถทำให้เซลล์ดังกล่าวตายได้ ส่วน IL-10 นั้นสามารถ shift Th1 ซึ่ง mediate CMI รวมทั้ง tumor surveillance ให้กลายเป็น Th2 รวมถึงการกระตุ้นการทำงานของ regulatory T-cells ซึ่งจะเห็นได้จากการกระตุ้นด้วย UVB นั้นสามารถทำให้เกิด UVB-induced carcinogenesis รวมทั้ง กดการตอบสนองของ Delayed-type hypersensitivity รวมถึง contact hypersensitivity

2. PUVA photochemotherapy

เป็นการรักษาโรคสะเก็ดเงินโดยใช้ Photo sensitizer ต่าง ๆ เช่น 8 MOP หรือ 5 MOP (Methoxypsoralen) ร่วมกับฉายแสง UVA ซึ่งประสิทธิภาพการรักษาค่อนข้างดีและมีระยะเวลาที่ปลอดภัยจากโรคภายหลังการรักษาที่ยาว ผลข้างเคียงที่อาจจะเกิดขึ้นได้หลังจากกิน 8 MOP หรือ 5 MOP คือ คลื่นไส้ ปวดศีรษะ อาจจะทำให้เกิดผิวหนังไหม้ได้ง่ายขึ้นหรือไวต่อแสง การที่เกิดภาวะแก่ก่อนวัย และเพิ่มโอกาสการเป็นมะเร็งผิวหนังเป็นสิ่งที่ต้องคำนึงถึงในการฉายแสงด้วย UVA

Systemic treatments

1. Traditional systemic agents

1.1 Methotrexate เป็นยาตัวแรกที่ยังคงการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาอนุมัติให้

ใช้ในการรักษาโรคสะเก็ดเงิน ตั้งแต่ปี 1971 และยังคงใช้เรื่อยมาจนถึงปัจจุบันในกลุ่มผู้ป่วยที่เป็นโรคสะเก็ดเงินระดับปานกลางขึ้นไป หรือในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาทาเฉพาะที่ หรือการฉายแสง หรือในกลุ่มที่มีข้ออักเสบร่วมด้วย หรือมีคุณภาพชีวิตที่ย่ำแย่จากโรคอย่างชัดเจน และมีผลต่อการยับยั้งการทำงานของ folic acid ซึ่งมีผลให้เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์ purine มีผลขัดขวางการสร้าง DNA ในเซลล์ยับยั้งกระบวนการแบ่งตัวของเซลล์ รวมถึงการยับยั้งการแบ่งตัวของ T cell ซึ่งถือเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพต่าง ๆ ในโรคสะเก็ดเงิน แม้ว่าจะมีการรักษาใหม่ ๆ เกิดขึ้นมาอย่างมากมายแต่ Methotrexate ยังคงเป็นยาที่เป็น gold standard ในการรักษาโรคสะเก็ดเงินที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาโดยวิธีต่าง ๆ รวมถึง โรคข้ออักเสบจากโรคสะเก็ดเงิน อีกทั้งยังเป็นยาที่ใช้ได้ง่ายโดยที่ราคาไม่แพงจนเกินไป

แม้ว่าจะมีการใช้ยา Methotrexate กันอย่างกว้างขวางในการรักษา moderate to severe psoriasis แต่พบการศึกษาในแง่ประสิทธิผลของการรักษาเปรียบเทียบกับ Ciclosporin เท่านั้นโดย Sandhu และคณะ (117) พบว่า Methotrexate ให้ผลการรักษาและ complete clearance ที่รวดเร็วกว่า Ciclosporin เพียงเล็กน้อยที่ 12 สัปดาห์

Heydendael และคณะ (118) ไม่พบความแตกต่างระหว่างประสิทธิผลของการรักษาระยะเวลาของการหาย อัตราของการหายของโรค รวมถึงคุณภาพชีวิต ระหว่างการรักษาด้วย Methotrexate และ Ciclosporin ที่ 16 สัปดาห์ อย่างไรก็ตามทั้ง สองตัวสามารถทำให้ระดับ PASI score ลดลงมากกว่า 75% ได้มากกว่า 60% ของผู้ป่วยทั้งหมด

Methotrexate เป็นยาที่ให้โดยการรับประทานขนาด 7.5-22.5 mg ต่อสัปดาห์โดยอาจให้รับประทานในครั้งเดียวหรือแบ่งให้ 2-3 ครั้งภายใน 24 ชั่วโมง การปรับยาขึ้นหรือลงขึ้นกับการตอบสนองของผู้ป่วยโดยประเมินจากอาการแสดงทางคลินิก การให้ยาควบคู่กับ folic acid 1-5 mg/day จะช่วยป้องกัน stomatitis, macrocytic anemia รวมถึงลดอาการคลื่นไส้ อาเจียน เบื่ออาหาร อย่างไรก็ตามการให้ methotrexate ควบคู่ไปกับ folic acid นั้นจะทำให้ประสิทธิผลของยา methotrexate ลดลงเมื่ออาการทางคลินิกลดลงจนถึงระดับที่เราต้องการ ควรลดขนาดของยาลงอย่างช้า ๆ เช่น 2.5 mg ต่อเดือน เพื่อใช้ขนาดยาที่น้อยที่สุดที่จะควบคุมอาการแสดงของโรคได้

Methotrexate เป็นยาที่มีผลข้างเคียงรุนแรง เกิดขึ้นได้บ่อย ดังนั้นการตรวจเพื่อค้นหาภาวะที่มีข้อห้ามต่อการให้ยา รวมถึงการตรวจติดตามอย่างใกล้ชิดจึงเป็นสิ่งที่จะต้องทำก่อน ระหว่าง และหลังได้รับยา ผลข้างเคียงที่สำคัญได้แก่ Teratogenicity จึงเป็นข้อห้ามในการให้ยาในผู้ป่วยตั้งครรภ์ หรือผู้ป่วยวัยเจริญพันธุ์ที่ไม่สามารถคุมกำเนิดได้ด้วยวิธีที่เหมาะสม หลังจากหยุดยาจะต้องคุมกำเนิดต่อไปเป็นเวลา 3 เดือน นอกจากนี้ยังทำให้เกิดภาวะกดไขกระดูกซึ่งทำให้เกิดอัตราตาย

สูงสุด ดังนั้นควรเจาะเลือดทุก ๆ 1-3 เดือนเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง การได้รับยาบางอย่างควบคู่กันเช่น กลุ่มยา Sulfonamide สามารถเพิ่มอัตราเสี่ยงของการเกิดภาวะนี้มากขึ้น

ผลข้างเคียงที่พบได้น้อยเช่น Pulmonary fibrosis สามารถพบได้เช่นกันแต่อุบัติการณ์จะน้อยกว่าที่พบในผู้ป่วยกลุ่ม Rheumatoid arthritis มาก การได้รับยา methotrexate เป็นเวลานาน อาจจะทำให้เกิดภาวะ liver fibrosis และ cirrhosis ในที่สุดซึ่งการเกิดภาวะดังกล่าวไม่สามารถที่จะตรวจได้จากการตรวจระดับเอนไซม์ของตับในกระแสเลือด หรือตรวจโดยใช้วิธี imaging ดังนั้นหากผู้ป่วยได้รับยาสะสมจนถึงปริมาณหนึ่ง (1.5 g) ต้องทำ liver biopsy ทุกๆราย และทำต่อเนื่องเมื่อได้รับยาในปริมาณสะสมทุก ๆ 1.5 g ในปัจจุบันสามารถตรวจหาภาวะดังกล่าว โดยตรวจระดับ serum procollagen III ซึ่งลดความเสี่ยงต่อการตัดชิ้นเนื้อตับลง

Methotrexate สามารถใช้ควบคู่กับ ciclosporin ในการรักษา Rheumatoid arthritis โดยไม่ได้เพิ่มผลข้างเคียงเมื่อเทียบกับการให้ยาแบบ single therapy การให้ยาแบบดังกล่าวมีการใช้กว้างขวางขึ้นในผู้ป่วยโรคข้ออักเสบเกิดเงิน ประสิทธิภาพของ Methotrexate ในการรักษา ร่วมกับ ยากลุ่ม TNF α (Tumor necrosis factor α) blocking agents' นั้นได้มีการนำมาใช้ในการรักษาโรค Rheumatoid arthritis และ Psoriatic arthritis และปัจจุบันได้มีการนำมาใช้ในการรักษาโรคสะเก็ดเงินเช่นกัน

1.2 Retinoids เป็นยากลุ่มอนุพันธ์ของวิตามิน A ได้นำมาใช้ในการรักษาโรคสะเก็ดเงิน ในช่วงยี่สิบปีที่ผ่านมา โดยยาตัวนี้จะไปจับกับ nuclear retinoid receptors ทำให้เกิดการขัดขวาง การแบ่งตัวและการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนัง โดยจะเริ่มให้ยาในขนาด 10-25 mg ของ Acitretin โดยการปรับขนาดยาขึ้นกับการตอบสนองต่อการรักษาและผลข้างเคียงที่เกิดขึ้น ในส่วนของ Isotretinoin ที่ใช้ในการรักษาสิวนั้นกลับไม่ได้ผลในการรักษาโรคสะเก็ดเงิน

Retinoid มีประสิทธิภาพดีในการรักษาโรคสะเก็ดเงินในกลุ่ม erythrodermic และ pustular psoriasis เนื่องจากยาในกลุ่มนี้ไม่ได้ไปกีดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันจึงสามารถใช้ได้ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินที่เป็นเด็ก ผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่องเช่นผู้ป่วย HIV infection รวมถึงผู้ป่วยที่มีภาวะเสี่ยงต่อโรคมะเร็ง ยากลุ่มนี้จะมีประสิทธิภาพดีเมื่อให้ร่วมกับ UVB หรือ PUVA รวมทั้งสามารถลดทั้งขนาดยาและลดจำนวนครั้งของการฉายแสงลงทำให้โอกาสเสี่ยงที่จะเกิดมะเร็งผิวหนังลดลง นอกจากนี้ Retinoids สามารถใช้ร่วมกับยา Systemics ในกลุ่มอื่น ๆ รวมถึงยากลุ่ม Biologics ที่จะกล่าวต่อไป

ยาในกลุ่มนี้จะต้องใช้อย่างระมัดระวังในหญิงวัยเจริญพันธุ์ เนื่องจากเกิด Teratogenic ได้มากโดยจะต้องมีการคุมกำเนิดที่เหมาะสมระหว่างการได้ยา และหลังจากหยุดยาไปอีกประมาณ 2-3 ปี แอลกอฮอล์สามารถที่จะเปลี่ยน acitretin ไปเป็น etretinate ซึ่งเป็น potent teratogenicity

Systemic retinoid toxicity ให้อาการแสดงคล้ายคลึงกับ hypervitaminosis A ได้แก่อาการทาง mucocutaneous side effects เช่น chelitis, skin dryness, conjunctivitis และผมร่วงซึ่งเป็นผลข้างเคียงที่พบบ่อย ผลข้างเคียงอื่น ๆ ที่พบบ่อย เช่น hyperlipidemia, osteoporosis, ligament calcification และ skeletal abnormality, hepatitis และ Pseudotumor cerebri เป็นต้น

1.3 Ciclosporin ออกฤทธิ์โดยไปจับกับ immunophilin และ ยับยั้งการกระตุ้น T cell โดยผ่านทาง calcineurin phosphate รวมทั้งสามารถยับยั้งเซลล์ผิวหนังได้โดยตรง การนำมาใช้ในการรักษาโรคสะเก็ดเงินสามารถใช้ได้ในระยะเวลาด้าน ๆ ในผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงปานกลางถึงรุนแรงมาก โดยใช้ขนาด 2.5 mg/kg/d การปรับขนาดยาให้ปรับทุก ๆ 2-4 สัปดาห์ โดยขนาดยาสูงสุดไม่เกิน 5 mg/kg/d โดยให้ในระยะเวลาไม่เกิน 12 สัปดาห์ ciclosporin มีประสิทธิภาพที่จะชักนำให้เกิดการ remission ของโรคได้อย่างรวดเร็ว

Ciclosporin ไม่ก่อให้เกิด teratogenicity หรือ myelosuppression ดังเช่น methotrexate แต่สามารถทำให้เกิด nephrotoxicity และ hypertension ได้ดังนั้นจะต้องตรวจติดตามภาวะดังกล่าวเสมอ นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มโอกาสเกิด non-melanoma skin cancer โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วย PUVA มาก่อน ทำให้เกิด hyperlipidemia, hypomagnesemia, hyperkalemia, hypertrichosis, gum hyperplasia รวมถึง ทำให้เกิดความผิดปกติในระบบทางเดินอาหารและระบบประสาท

Ciclosporin มักจะใช้ร่วมกับยากกลุ่มอื่นในการรักษาโรคสะเก็ดเงิน เช่น ใช้ร่วมกับ methotrexate, acitretin, mycophenolate mofetil, fumarates, sulfasalazine และยาในกลุ่ม biologics

1.4 Second line systemic agents

ยาในกลุ่มนี้ใช้ค่อนข้างน้อยในการรักษาโรคสะเก็ดเงินรวมถึงโรคข้อจากโรคสะเก็ดเงิน ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ hydroxycarbamide, mycophenolate mofetil, 6-thioguanine, sulphasalazine, azathioprine และ leflunomide ยาในกลุ่มนี้มีหลักฐานยืนยันถึงประสิทธิภาพในการรักษาโรคสะเก็ดเงินค่อนข้างน้อย

2. **Biologic agents** จากความรู้ถึงบทบาทของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายต่อพยาธิสภาพในโรคสะเก็ดเงิน ทำให้เกิดการพัฒนายาในกลุ่มนี้เพื่อไปยับยั้งพยาธิสภาพในขั้นตอนที่สำคัญต่าง ๆ โดยกลุ่มยานี้ได้สร้างมาจาก Recombinant molecules จากรหัสทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ เพื่อให้ได้สารโปรตีนที่คล้ายคลึงกับที่ร่างกายมนุษย์สร้างขึ้น โดยประกอบไปด้วย fusion protein, recombinant protein (cytokine, selective receptor) และ monoclonal antibody ซึ่งยาในกลุ่มนี้ใช้ในการรักษาโรคในกลุ่ม autoimmune เป็นส่วนใหญ่ เช่น rheumatoid arthritis และ Crohn's disease

ตารางที่ 7 แสดงยาในกลุ่ม biologic drugs ที่ใช้ในโรคสะเก็ดเงิน

	Trade name	Type of agent	Method of administration / dose
Adalimumab	Humira	Human monoclonal antibody to TNF α	40 mg sc every other week
Alefacept	Amevive	LFA-3/IgG fusion protein	15 mg im weekly
Efalizumab	Raptiva	Humanised monoclonal antibody to CD11a (LFA1)	1 mg/kg sc weekly
Etanercept	Enbrel	Fusion protein of 2 ligand binding portions of p75 TNF receptor and igG; binds TNF α	25-50 mg sc twice weekly
Infliximab	Remicade	Chimeric monoclonal antibody to TNF α	5 mg/kg iv weeks 0,2,6 then 8 weekly

2.1 T-cell agents

2.1.1 Alefacept: Biologic agent ตัวแรกที่ FDA สหรัฐอเมริการับรองให้ใช้ได้

โรคสะเก็ดเงิน โดยตัวยาคือ human leucocyte function associated antigen-3/IgG1 fusion (recombinant) protein ซึ่งจับกับ CD2 บน memory effector T-cell ตัวยาคือจำเพาะเจาะจงขัดขวางการทำงานของ antigen presenting cell ซึ่งส่งผลรบกวน T-cell activation กลไกของยาที่สำคัญอีกกลไกหนึ่งคือทำให้เกิด apoptosis ของ memory effector CD45RO positive T-cell ที่อาศัยอยู่ในผิวหนัง

20% ของผู้ป่วยมี PASI score ลดลง 75% ภายหลังจากได้รับยาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ป่วยส่วนน้อยเท่านั้นที่สามารถตอบสนองต่อการรักษาหลังจากหยุดยาโดยมีระยะเวลาเฉลี่ย 241 วัน

การตอบสนองต่อการรักษามีความสอดคล้องกับการลดลงของ Memory-effector CD45RO positive T-cell ในเลือด ไม่พบผลข้างเคียงที่รุนแรงดังเช่นที่พบได้ใน Methotrexate, ciclosporin หรือ retinoid

2.1.2 Efalizumab: Humanized monoclonal antibody ที่จับกับ α subunit (CD11a of leucocyte function associated antigen-1) ซึ่งจะยับยั้งการกระตุ้น T-cell รวมถึง adhesion ระหว่าง T-cell และ endothelial cell ซึ่งจะป้องกัน circulating T-cell เข้ามาบริเวณผิวหนัง

25% ของผู้ป่วยมี PASI score ที่ดีขึ้น 75% ที่ 12 สัปดาห์ และ 47% มี PASI score ที่ดีขึ้น 75% ที่ 24 สัปดาห์

ผลข้างเคียงในระยะสั้นที่สำคัญ คือ Flu-like symptom จะเกิดขึ้นในช่วง 2 สัปดาห์หลังจากการรักษา ส่วน toxic effect ที่เกิดขึ้นได้แต่น้อยมากก็คือ thrombocytopenia และ hemolytic anemia

20% ของผู้ป่วยสามารถเกิดการ flare up ของโรคได้ซึ่งจะเกิดมากบริเวณลำตัวและข้อพับ สามารถให้ยา topical ทาได้ อย่างไรก็ตามอาจจะพบการ flare up ที่เกิดขึ้นทั้งตัวได้โดยพบได้น้อยกว่า 5% โดยมากจะพบในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาเมื่อรักษาไปแล้ว 6-10 สัปดาห์ซึ่งจะต้องหยุดการรักษาด้วย Efalizumab ทันที และให้ยาในกลุ่ม systemic ตัวอื่น ๆ เช่น Methotrexate หรือ ciclosporin

2.2 TNF- α inhibitor

2.2.1 Etanercept: Human recombinant TNF receptor p75 protein ซึ่งจับกับ TNF α และ TNF β ผู้ป่วยสามารถบริหารยาได้ด้วยตัวเองโดยฉีดเข้าใต้ชั้นไขมันหนึ่งถึงสองครั้งต่อสัปดาห์

34% ของผู้ป่วยมี PASI score ที่ดีขึ้น 75% หลังจากได้รับยา 12 สัปดาห์ เมื่อใช้ยาขนาด 25 mg สองครั้งต่อสัปดาห์ และเมื่อใช้ขนาด 50 mg สองครั้งต่อสัปดาห์ 49% ของผู้ป่วยจะมี PASI score ดีขึ้น 75% ที่สำคัญยาตัวนี้สามารถบรรเทาอาการเหนื่อยล้าอ่อนแรงและลดอาการซึมเศร้าในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

Etanercept สามารถใช้ได้ดีในผู้ป่วยที่เป็นข้อจากโรคสะเก็ดเงิน โดยลดอาการทางข้อลงใน 73-87% ของผู้ป่วยที่ 12 สัปดาห์ของการรักษา

2.2.2 Infliximab: Chimeric monoclonal antibody ที่จับกับ TNF α การให้ยาโดยการฉีดเข้าในเส้นเลือด ที่ 0,2,6 สัปดาห์ ทำให้ประสิทธิภาพของการรักษาเพิ่มขึ้นมาก โดยที่ 82% ของผู้ป่วย achieve 75% PASI score ที่ 10 สัปดาห์หลังจากได้ยาเปรียบเทียบกับ 18% ในกลุ่มคนไข้ที่ได้รับ placebo ในการศึกษา phase III ของ European และ North America พบว่า 61% และ 45% ของผู้ป่วยมี PASI score ดีขึ้น 75% และ 90% ตามลำดับหลังจากได้ยาครบหนึ่งปี ประสิทธิภาพของยาจะลดลงเมื่อใช้ยานานขึ้น เนื่องจากร่างกายสามารถสร้าง antibody ต่อยาได้ทำให้ระดับยาในเลือดลดลง

2.2.3 Adalimumab: Human anti-TNF α monoclonal antibody ประสิทธิภาพของการรักษาอยู่ระหว่าง Etanercept และ Infliximab โดยพบ 54% มี PASI score ที่ดีขึ้น 75% ในการศึกษา phase II study พบว่า ผู้ป่วย 58% achieve PASI 75% ที่ 60 สัปดาห์ เช่นเดียวกับยาในกลุ่ม TNF α ตัวอื่น ๆ พบว่าให้ผลดีในการป้องกันและการเกิดความพิการจากอาการทางข้อ

Clinical trials targeting IL-12 and IL-23

การค้นคว้าทดลองยากกลุ่มใหม่ ๆ ในการรักษาโรคสะเก็ดเงินในปัจจุบันนั้นได้พัฒนายาเพื่อไปยับยั้งการทำงานที่เฉพาะเจาะจงมากขึ้น โดยเฉพาะในปัจจุบันมี Clinical trials ซึ่งเป็น monoclonal antibody ต่อ IL-12 และ IL-23 เป็นจำนวนมาก

Centocor ® (100) [anti IL-12p40 antibody]

Clinical trial phase I ทดลองในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน 18 คน โดยมีผื่นอย่างน้อย 3% BSA โดยให้ขนาดยา 0.1, 0.3, 1 และ 5 mg/kg iv single dose

ได้ทำการวัด CD4 count พบว่าสามารถลดลงต่ำกว่า 400 cell/mm³ ภายใน 5 วัน และยังพบว่า CD16/CD56 [NK cell] ลดลงด้วย โดยที่ไม่พบอาการข้างเคียงที่รุนแรง

ในแง่ clinical improvement โดยวัดจาก PASI score นั้นพบว่า 83% ของผู้ป่วยมี PASI ลดลง 50% และ 67% ของผู้ป่วยมี PASI ลดลง 75% ที่ 12 สัปดาห์ โดยที่จะเริ่มเห็นผื่นดีขึ้นภายใน 2 สัปดาห์แรก

CNTO 1275® (101) [anti IL-12p40 antibody]

Double-blind placebo-controlled phase II study ศึกษาในผู้ป่วยทั้งสิ้น 320 คน แบ่งผู้ป่วยเป็นสี่กลุ่มละ 64 คน ใช้ขนาดยา 45, 90 mg single dose และ 45, 90 mg 4 ครั้งต่อสัปดาห์ วัดผลที่ 12 และ 24 สัปดาห์

ที่ 12 สัปดาห์ พบว่ามีผู้ป่วย 52%, 59%, 67% และ 81% ที่มี PASI score ดีขึ้นกว่า 75% ตามลำดับในแต่ละกลุ่ม เทียบกับ 2% ในกลุ่มควบคุม (p=0.001) และผลของการรักษาสามารถคงระดับถึงสัปดาห์ที่ 24 ผลข้างเคียงเกิดขึ้นน้อยมากและไม่ได้แตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

PHOENIX 1: double-blind, placebo-controlled trial phase II study (102) ในผู้ป่วย 766 คน เพื่อศึกษาถึงผลระยะยาวหลังจากให้ยา 45 หรือ 90 mg 4 สัปดาห์ จากนั้นให้ต่ออีกทุก ๆ 12 สัปดาห์ จนถึงสัปดาห์ที่ 40 จากนั้นจะ randomized เป็น 2 กลุ่มคือ ได้รับยาต่อไปหรือเปลี่ยนไปได้รับยาหลอกแทน วัดผลที่ 52 สัปดาห์ พบว่าในกลุ่มที่ได้รับยาอยู่นั้นคงมี PASI ลดลง 75% ที่ 40 และ 52 สัปดาห์เป็น 87 และ 91% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ switch ไปรับ placebo ซึ่งยังคงมี PASI ดีขึ้น 75% ประมาณ 63%

PHOENIX 2: multicentre, placebo-controlled trial phase III study (103) ศึกษาในผู้ป่วย moderate to severe plaque type psoriasis ทั้งสิ้น 1230 คน

โดยให้ยา 45 หรือ 90 mg ที่ 0 และ 4 สัปดาห์ จากนั้นให้ทุก ๆ 12 สัปดาห์ หรือทุก 8 สัปดาห์ในกรณีที่ต้องการให้อาการดีขึ้นเร็ว

พบ 66.7%, 75.7% และ 3.7% มี PASI ลดลง 75% ในกลุ่มที่ได้รับยา 45, 90 mg และ placebo ตามลำดับ

ABT-874 [Human monoclonal antibody target IL-12] (104)

Clinical trial phase II double-blind placebo-controlled trial ศึกษาในผู้ป่วย moderate to severe plaque type psoriasis 180 คน ได้ randomized เป็น 6 กลุ่มและวัดผล PASI ที่ 12 สัปดาห์ได้ผลดังนี้

ตารางที่ 8 แสดง dose-response ของ ABT-874 phase II clinical trial

Dose	75% reduction in PASI score
100 mg every other week/12 weeks	93%
200 mg single dose	63%
200 mg every week/4 weeks	90%
200 mg every other week/12 weeks	93%
200 mg every week/12 weeks	90%
Placebo	3%

Adverse reaction ในผู้ป่วยที่ได้รับ monoclonal antibody มากกว่า placebo อย่างมีนัยสำคัญ โดยพบ common adverse effect ได้แก่ injection site reaction, nasopharyngitis และ URI แต่ไม่พบ serious infection adverse effect

บทที่ 6

METHOTREXATE

Methotrexate จัดเป็นยา systemic drug สำหรับใช้ในการรักษาโรคสะเก็ดเงินซึ่งได้ประสิทธิผลที่ดี และยังคงเป็นยาตัวแรกที่ใช้ในการรักษาโรคสะเก็ดเงินมาจนถึงปัจจุบัน

การนำยากลุ่ม antimetabolic drug ที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง มาใช้ในการรักษาโรคสะเก็ดเงินนั้นถือเป็นผู้คิดค้นใหม่ในการรักษาโรคสะเก็ดเงิน ในปี 1951 Gubner (105) ได้รายงานผื่นโรคสะเก็ดเงินในที่ดีขึ้นจากการใช้ยา Aminopterin จากการใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรคข้อจากสะเก็ดเงิน และจากความรู้ที่ได้ปัจจุบันจึงได้มีการนำ Methotrexate ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ aminopterin มาใช้

ถึงแม้ว่า Methotrexate จะใช้ในการรักษาโรคสะเก็ดเงินมาตั้งแต่ปี 1960 แต่ guideline ซึ่งออกมาสำหรับการใช้รักษาโรคสะเก็ดเงินนั้นเริ่มมาตั้งแต่ปี 1972 ซึ่งเกิดหลังจาก FDA approve การให้ยา methotrexate ในการรักษาโรคสะเก็ดเงิน(106;107)

Indication

Moderate to severe psoriasis ซึ่งอาจจะมีคำจำกัดความต่างๆ เช่น

1. มีผื่นซึ่งกระจายมากกว่าหรือเท่ากับ 20% ของพื้นที่ผิวร่างกาย
2. ผู้ป่วยซึ่งไม่ตอบสนองต่อการรักษาเฉพาะที่ หรือ การรักษาโดยวิธีอื่นเช่นการฉายแสง NB-UVB หรือ retinoids
3. หรือมี PASI score มากกว่า 10

การใช้ยา Methotrexate นั้นขึ้นกับผู้ป่วยแต่ละคน โดยแพทย์ผู้ทำการรักษาจะต้องมีการประเมินถึงความรุนแรงของโรค ผลข้างเคียง โรคประจำตัวอื่น ๆ ยาที่ผู้ป่วยใช้อยู่เป็นประจำ สภาพจิตใจของผู้ป่วย ซึ่งโดยส่วนใหญ่ผู้ป่วยที่มีความจำเป็นที่จะต้องให้ยามักจะมีอาการของโรคที่รุนแรง ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยวิธีอื่น ๆ ตัวโรคที่เป็นมากได้ส่งผลกระทบต่อสภาวะจิตใจ สังคมและเศรษฐกิจของผู้ป่วย

ยกตัวอย่างกลุ่มผู้ป่วยที่สามารถใช้ยา Methotrexate ในการรักษาโรคสะเก็ดเงิน ได้แก่

- 1.Psoriatic erythroderma
- 2.Psoriatic arthritis, moderate to severe
- 3.Acute generalized pustular psoriasis
- 4.More than 20% body surface involvement
- 5.Localized pustular psoriasis
- 6.Psoriasis that effects certain areas of body so that normal function and employment are prevented
- 7.Lack of response to phototherapy, PUVA and retinoids

Contraindication

Absolute contraindication

- Pregnancy and nursing

Relative contraindications

- Any abnormalities in renal function
- Significant abnormalities in liver function
- Male or female fertility (Conception must be avoided during methotrexate therapy and afterward for at least 3 months in the male or one ovulatory cycle in the female)
- Hepatitis (Active or recent)
- Cirrhosis
- Severe anemia, leucopenia, thrombocytopenia
- Excessive alcohol consumption
- Active infectious disease (Tuberculosis, Pyelonephritis)
- Unreliability patient

Premethotrexate evaluations

1. ชักประวัติ
2. ตรวจร่างกาย
3. ตรวจทางห้องปฏิบัติการ
 - 3.1 CBC
 - 3.2 BUN, Cr
 - 3.3 UA
 - 3.4 Liver function test: SGOT, SGPT, ALK, Bilirubin, Albumin
 - 3.5 Hepatitis A,B,C serology test
 - 3.6 Anti-HIV

Risk factors for liver disease

ในผู้ป่วยที่มีลักษณะดังต่อไปนี้ การพิจารณาทำ Liver biopsy ควรพิจารณาทำในช่วงแรก ๆ ของการใช้ยา Methotrexate

- History of or current excessive alcohol assumption (Methotrexate toxicity is associated with a history of total lifetime alcohol intake before methotrexate therapy. The exact amount of alcohol that confers risk is unknown and differs among persons)
- Persistent abnormal liver chemistry studies
- History of liver disease including chronic hepatitis B or C
- Family history of inheritable liver disease
- Diabetes mellitus
- Obesity
- History of significant exposure to hepatotoxic drugs or chemicals.

Liver biopsy recommendation

ในผู้ป่วยที่ไม่มีปัจจัยเสี่ยง

โอกาสที่จะเกิด Hepatotoxic ในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีปัจจัยเสี่ยงนั้นมีโอกาสน้อยมาก ดังนั้น หากผู้ป่วยไม่มีปัจจัยเสี่ยงดังกล่าวข้างต้น แนะนำให้ทำ liver biopsy เมื่อได้ยา methotrexate จนถึง 1 หรือ 1.5 กรัม

ในผู้ป่วยที่มีปัจจัยเสี่ยง

ในผู้ป่วยที่มีปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิด Hepatotoxic การตัดสินใจขึ้นเนื่อบัฒแนะนำให้ทำเมื่อแพทย์ผู้ทำการรักษาเห็นสมควรหรือ หลังจากการให้ยาเพียงไม่นาน ในกลุ่มนี้จะมีผู้ป่วยจำนวนหนึ่งซึ่งเป็นส่วนน้อยที่ไม่สามารถให้ยา methotrexate ต่อไปได้หลังจากทำการรักษาไป 2-4 เดือน เนื่องจากผลข้างเคียงของยา หรือ ผลของการรักษาไม่ดีตามที่คาดไว้ ดังนั้นการตัดสินใจขึ้นเนื่อบัฒอาจจะรออนผ่านช่วงเวลานี้ไปก่อนก็ได้ ไม่มีข้อมูลว่าการตัดสินใจขึ้นเนื่อบัฒเวลาไหนถึงจะพบการเปลี่ยนแปลงของตับในผู้ป่วยกลุ่มนี้ แต่อย่างไรก็ตามไม่ควรทำการ biopsy ในผู้ป่วยดังต่อไปนี้

- ในผู้ป่วยสูงอายุ
- ในผู้ป่วยที่มีภาวะ acute illness
- ในผู้ป่วยที่มี contraindication ต่อการทำ liver biopsy ได้แก่ Cardiac instability, prolonged bleeding times หรือ Prothrombin time
- ในผู้ป่วยที่ limited life expectancy

Laboratory studies

การตรวจทางห้องปฏิบัติการควรทำตลอดเวลาหากผู้ป่วยยังคงได้รับยา Methotrexate

- CBC ให้ทำทุกสัปดาห์ในสองสัปดาห์แรก จากนั้นสองสัปดาห์ในเดือนถัดมา และทุกเดือนซึ่งการติดตามจะถี่หรือห่างให้พิจารณาความเปลี่ยนแปลงของระดับเม็ดเลือดขาว และ สภาวะของผู้ป่วยเป็นสำคัญ
- Renal function studies แนะนำให้เจาะ BUN และ Cr ทุก ๆ สามถึงสี่เดือน
- Liver function test แนะนำให้เจาะ SGOT, SGPT, ALK และ Serum albumin ทุก ๆ 4-8 สัปดาห์

การเจาะตรวจเลือดดังกล่าวแพทย์ผู้ทำการรักษาสามารถเพิ่มความถี่ได้ในกรณีดังต่อไปนี้

- ในช่วงแรกหลังการรักษา

- เมื่อเพิ่มขนาดยา
- ในกรณีที่ผู้ป่วยมีภาวะของการเพิ่มระดับ Methotrexate ในเลือด ได้แก่ ภาวะการขาดน้ำ, ภาวะการทำงานของไตบกพร่อง, มีการใช้ยาบางตัวควบคู่ไปด้วยกันเช่นยาในกลุ่ม NSAIDs

Interpretation of laboratory studies

- ระดับเม็ดเลือดขาวและเกร็ดเลือดจะลดลงสูงสุดหลังการให้ยาในช่วง 7-10 วัน หากมีภาวะดังกล่าว Leucopenia ($WBC < 3500/mm^3$) แนะนำให้หยุดการให้ยาเป็นเวลา 2-3 สัปดาห์ Thrombocytopenia ($Platelet < 100,000/mm^3$) แนะนำให้หยุดการให้ยาเช่นเดียวกัน หากมีภาวะ severe leucopenia หรือ thrombocytopenia แนะนำทาน folic acid 20 mg ทันที
- Progressive increase MCV เกิดขึ้นได้ในผู้ป่วยที่ได้รับ Methotrexate ซึ่งเป็นสัญญาณบ่งบอกถึงการเกิดภาวะ Megaloblastic anemia แนะนำให้ใช้ Folic acid 1-5 mg สามารถลดผลข้างเคียงดังกล่าวได้
- ในแง่ของ liver function test นั้น แนะนำให้ทำหลังจาก dose สุดท้ายของการให้ยา ด้วยเนื่องจาก หลังการให้ยา 1-2 วันผู้ป่วยอาจจะมีภาวะเอนไซม์ตับผิดปกติได้ จึงแนะนำให้ทำหลังจากยา dose สุดท้ายหนึ่งสัปดาห์ ในกรณีที่มีความผิดปกติของ liver enzyme ระหว่างการให้ยา แนะนำให้หยุดยาเป็นเวลาหนึ่งถึงสองสัปดาห์ แล้วตรวจการทำงานของตับซ้ำซึ่งโดยส่วนใหญ่แล้วระดับเอนไซม์จะกลับสู่ภาวะปกติภายในหนึ่งถึงสองสัปดาห์ หากพบว่ามีความผิดปกติยาวนานถึง 2-3 เดือนแนะนำให้ทำการตัดชิ้นเนื้อตับ

Liver biopsy

ในผู้ป่วยสะเก็ดเงินที่ได้รับยา Methotrexate นั้นมีโอกาสที่จะเกิดความผิดปกติของตับมากกว่าผู้ป่วยอื่น ๆ ที่ได้รับยา Methotrexate

จากการศึกษาของ Whiting-O'Keefe QE et al. ซึ่งเป็นการศึกษาแบบ meta-analysis พบว่าผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินมีภาวะการเปลี่ยนแปลงของตับ 2.5-5 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยโรค Rheumatoid arthritis (108)

ตารางที่ 9 แสดงข้อแนะนำในการทำ liver biopsy ในผู้ป่วยที่ทาน methotrexate

Liver biopsy	cumulative methotrexate doses (gm)
In patients without risk factors	
First	1-1.5
Repeat	3
Repeat	4
In patients with risk factors	
First	2-4 mo therapy
Repeat	1-1.5
Next repeat	3
Following repeat	4

ตารางที่ 10 แสดงข้อแนะนำการบริหารยา Methotrexate

Commonly used dosage schedules

- Single weekly oral, intravenous, intramuscular or subcutaneous administration
- Intermittent oral schedule of three divided doses over a 24-hour period each week (every 12 hours three times in 1 week)

Specific dosage recommendation

1. The weekly single oral dosage ordinarily is 7.5 to 30 mg/wk.

- The weekly dose may be increased gradually (2.5 to 5.0 mg) with appropriate monitoring of blood cell counts. Occasional patients will need a maximum of 50 mg/wk.

- The range of intramuscular, subcutaneous, or rapid (“push”) intravenous dosage usually is 7.5 to 50 mg/wk with occasional patients needing titration to a maximum of 75 mg/wk.

Intravenous drips of methotrexate should not be used.

2. Divided oral dose schedule

- 2.5 to 5.0 mg at 12-hour intervals for three doses each week
- Gradual increase by 2.5 mg/wk
- Total dose ordinarily not to exceed 30 mg/wk

Folic acid supplement

การใช้ Folic acid ควบคู่ไปกับการให้ยา Methotrexate นั้นมีรายงานว่าช่วยลดผลอาการอาเจียนและภาวะ Megaloblastic anemia ซึ่งเป็นผลข้างเคียงของยา Methotrexate โดยที่ไม่มีผลไปลดประสิทธิภาพของยา

Duhra P. (109) ได้รายงานว่าการใช้ Folic acid ต่อเนื่องในวันที่ผู้ป่วยไม่ได้รับยา Methotrexate สามารถลดผลข้างเคียงของยา Methotrexate ได้เช่นกัน โดยไม่ได้ไปลดประสิทธิภาพของยา

Rotational therapy

ในการรักษาโรคสะเก็ดเงินนั้น ไม่ว่าจะเป็นการรักษาในรูปแบบใด มักจะมีผลข้างเคียงในระยะยาวหากจะใช้เป็น Monotherapy treatment วิธีหนึ่งที่จะลดผลข้างเคียงดังกล่าวคือการหมุนเวียนเปลี่ยนวิธีการรักษาจากแบบหนึ่งเป็นอีกแบบหนึ่ง ซึ่ง Rotational therapy ถือเป็นแนวความคิดหนึ่งที่จะใช้ในการรักษาโรคสะเก็ดเงินในการสลับสับเปลี่ยนก่อนที่จะเกิดผลข้างเคียงสะสมของการรักษาหนึ่ง ๆ เช่น เมื่อขนาดของยา Methotrexate ถึงระดับ 1-1.5 gm การหยุดให้ยาที่เรียกว่า rest period เป็นเวลาหลาย ๆ ปี จะทำให้ผลข้างเคียงต่อดับลดลงได้ แม้ในปัจจุบันยังไม่มีหลักฐานทางวิชาการแน่นอนว่าการหยุดให้ยา Methotrexate ในช่วงเวลาหนึ่งนั้นจะสามารถลดผลแทรกซ้อนต่อดับลงได้ แต่อย่างน้อยผลที่ได้คือการลด total lifetime dosage ของยาซึ่งเป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยอย่างแน่นอน

Combination therapy

ถึงแม้ว่าการให้ยา Methotrexate ร่วมกับยาบางอย่างจะส่งผลให้ผลข้างเคียงของยา Methotrexate มีมากขึ้นนั้น การใช้ยาอีกบางตัวดูเหมือนว่าจะส่งผลดีต่อการรักษาโรคสะเก็ดเงินเมื่อให้ควบคู่กับยา Methotrexate เพราะนอกเหนือจากจะลดผลข้างเคียงของยาแล้วยังช่วยเสริมประสิทธิภาพของยา Methotrexate อีกด้วย

Topical therapy ไม่ว่าจะ เป็น Steroids, Tars, VitD analogues เมื่อให้ร่วมกับยา Methotrexate ก็จะทำให้สามารถลดขนาดยา Methotrexate ลงได้

Methotrexate ให้ร่วมกับ PUVA สามารถช่วยลดขนาดของ UVA ที่ฉายลงเมื่อเทียบกับการให้ PUVA เพียงอย่างเดียว(110)

Methotrexate สามารถให้ร่วมกับ Retinoid เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา Severe generalized pustular psoriasis แต่เนื่องจากยาทั้งสองตัวมีผลต่อดับด้วยกันทั้งคู่ ดังนั้นการใช้ยา ร่วมกันควรใช้เป็นระยะเวลาสั้น ๆ เท่านั้น

Over dosage

สาเหตุที่ทำให้เกิดภาวะ Acute methotrexate toxicity ได้บ่อย คือ

- Impaired renal function
- การให้ยา Methotrexate ร่วมกับ Bactrim

Leucovorin calcium (Cytovorom factor or folinic acid) เป็น antidote เพียงตัวเดียวของ ยา Methotrexate ในการลด Hematologic side effect ของยา ในกรณีที่สูงสัยว่าจะมีภาวะ over dose ของยาไม่ว่าจะเป็นการที่ผู้ป่วยมีภาวะ minimal renal compromised ควรจะให้ยา Leucovorin ในขนาด 20 mg ทันทีจากนั้นให้ทุก 6 ชั่วโมง จากนั้นควรเจาะติดตามระดับ Serum Methotrexate ทันทีและเจาะทุก ๆ 12-24 ชั่วโมง การให้ยา leucovorin ควรให้ต่อไปเรื่อย ๆ จน ระดับ serum Methotrexate ต่ำกว่า 10^{-8} mol/L เนื่องจาก oral absorption ของยาจะสูงสุดที่ 25-50 mg หากจะให้ยาในปริมาณมากกว่านี้แนะนำว่าให้ยาทาง parenteral

Adverse reactions

ตารางที่ 11 แสดงผลข้างเคียงจากยา Methotrexate ต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกาย

General	fatigue: Headaches, chills and fever, dizziness
Skin	Pruritus, pain, urticaria, mild reversible alopecia, ecchymosis, acute ulcerations of psoriatic lesions, reactivation of phototoxic responses. Methotrexate, when given within a few days after UV irradiation, may reactivate an acute sunburn response
Blood	Bone marrow depression, leading to decreased resistance to infection, anemia, thrombocytopenia, bleeding, and megaloblastic anemia
Gastrointestinal system	Ulcerative stomatitis, nausea and anorexia; less frequently, hepatotoxicity, pharyngitis, diarrhea, vomiting, enteritis
Urogenital system	Azotemia, microscopic hematuria, cystitis, transient oligospermia, defective spermatogenesis, defective oogenesis, teratogenesis, menstrual dysfunction, nephropathy
Nervous system	Headaches, dizziness, drowsiness, blurred vision, acute depression

Drug interaction

การใช้ยาตัวอื่น ๆ ร่วมกับยา Methotrexate ควรจะใช้อย่างระมัดระวังทุกตัว โดย drug interaction จะพบมากขึ้นในผู้ป่วยที่มีภาวะการทำงานของไตบกพร่อง ยาในกลุ่ม NSAIDs สามารถเกิด drug interaction ได้แม้ว่าให้ยา Methotrexate ในขนาดต่ำ (7.5 mg/week)

ในกรณีที่ผู้ป่วยได้รับยา Theophylline ร่วมกับยา Methotrexate จะต้องมีการ monitor ระดับ Theophylline ในเลือดด้วยเสมอ ในกรณีที่ได้รับยา Warfarin ร่วมกับ Methotrexate ควรจะมีการตรวจระดับ plasma prothrombin time ร่วมกับ platelet count

เนื่องจาก Additive pharmacologic effect ผู้ป่วยที่ได้รับยา Methotrexate ไม่ควรใช้ยากลุ่ม Trimethoprim หรือ Trimethoprim-sulfamethoxazole เนื่องจากยากลุ่มนี้สามารถลดการทำงานของไตกระดูก

ตารางที่ 12 แสดง Drug interaction ระหว่างยา Methotrexate และตัวยาอื่น ๆ

Mechanism	Drugs
<ul style="list-style-type: none"> Decreased renal elimination of methotrexate 	Nephrotoxins (e.g., aminoglycosides, cyclosporine) Salicylates, Phenylbutazone Sulfonamides, Probenecid Cephalothin, Penicillins, Colchicine Many nonsteroidal anti-inflammatory drugs (e.g., naproxen, ibuprofen, etc.) Trimethoprim-sulfamethoxazole†
<ul style="list-style-type: none"> Additive or synergistic toxicity Displacement of methotrexate from protein binding	Ethanol, Pyrimethamine, Triamethamine Salicylates Probenecid, Barbiturates, Phenytoin Retinoids, Sulfonamides† Sulfonylureas Tetracycline
<ul style="list-style-type: none"> Intracellular accumulation of methotrexate 	Dipyridamole
<ul style="list-style-type: none"> Hepatotoxicity 	Retinoids Ethanol

บทที่ 7

วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากรศึกษาและตัวอย่าง (Population and Sample)

ประชากรเป้าหมาย (Population) คือ ผู้ป่วยไทยที่อายุมากกว่าหรือเท่ากับ 18 ปีที่เป็นโรคสะเก็ดเงินชนิด moderate to severe chronic plaque type

ประชากรที่จะทำการเก็บตัวอย่าง (Population to be sampled) และกลุ่มตัวอย่าง (Sample) คือ ผู้ป่วยไทยที่มีอายุมากกว่าหรือเท่ากับ 18 ปีที่เป็นโรคสะเก็ดเงินชนิด moderate to severe chronic plaque type ที่มารับการตรวจรักษาที่คลินิกโรคผิวหนังโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ตั้งแต่กันยายน 2550 ถึง ธันวาคม 2551

การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample size determination)

เนื่องจากไม่เคยมีการศึกษาว่าระดับซีรัม IL-22 ในโรคสะเก็ดเงินในช่วงเวลาที่เริ่มทำการวิจัย ผู้วิจัยจึงได้อ้างอิงจากการศึกษาของ Francesca Chamian และคณะ (111) ในปี 2004 โดยได้ทำการศึกษาเรื่อง Alefacept reduces infiltrating T cells, activated dendritic cells, and inflammatory genes in psoriasis vulgaris และมีการวัดปริมาณของ IL-23 โดยวิธี RT-PCR ก่อนและหลังได้รับการรักษาโดยใช้ยา Alefacept

เนื่องจากวัตถุประสงค์หลักของการศึกษานี้จะทำการเปรียบเทียบระดับซีรัม IL-17 และ IL-22 ก่อนและหลังได้รับยา Methotrexate ซึ่งจะทดสอบสมมติฐานโดยวิธี Paired t-test ในกรณีนี้ที่ข้อมูลที่ได้เป็นการแจกแจงแบบปกติ โดยสูตรที่ใช้ในการคำนวณขนาดตัวอย่าง คือ

$$N (\text{Pair}) = \frac{[Z\alpha + Z\beta]^2 \sigma^2}{d^2}$$

แทนค่าในสูตรดังนี้

$\alpha=0.05$ $Z\alpha=1.96$

$\beta=0.1$ Power=0.9

$d = \text{mean difference} = 220$

σ = SD of the within pair difference = 281.8

N (Pair) = 17 คน

Drop out rate 10% = 19 คน

ดังนั้นจำนวนตัวอย่างที่น้อยที่สุดในการศึกษาครั้งนี้คือ 19 คน

กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามาศึกษา (Inclusion criteria)

1. ผู้หญิงหรือผู้ชายที่มีอายุมากกว่าหรือเท่ากับ 18 ปี
2. ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคสะเก็ดเงินชนิด moderate to severe chronic plaque type

กฎเกณฑ์ในการตัดออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

1. ผู้ป่วยที่ไม่สมัครใจยินยอมเข้าร่วมงานวิจัย
2. ผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินที่ได้รับยาทาเฉพาะที่อยู่มากกว่า 2 สัปดาห์ หรือ ยารับประทานรักษาโรคสะเก็ดเงินภายใน 4 สัปดาห์ก่อนเข้าร่วมการวิจัย
3. ผู้ป่วยที่มีข้อห้ามต่อการให้ยา methotrexate ได้แก่
 - 3.1. ผู้ป่วยทั้งหญิงและชายที่อยู่ในวัยเจริญพันธุ์ที่ไม่สามารถคุมกำเนิดได้ด้วยวิธีที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ
 - 3.2. ผู้ป่วยที่ตั้งครรภ์และให้นมบุตร
 - 3.3. ผู้ป่วยที่มีภาวะการทำงานของไตบกพร่อง (Serum creatinine > 2) มีการทำงานของตับที่ผิดปกติ (Liver enzymes > 3 เท่าของ baseline) เช่นตับอักเสบหรือเคยมีประวัติตับอักเสบมาก่อน หรือผู้ป่วยที่มีภาวะตับแข็ง ผู้ป่วยที่มีภาวะซีดรุนแรง (Hct < 25) เม็ดเลือดขาวต่ำ (WBC < 3,500) หรือเกล็ดเลือดต่ำ (Plt < 100,000) หรือมีภาวะติดเชื้อ (Active infection)
 - 3.4. ประวัติการแพ้ยา methotrexate
 - 3.5. ผู้ป่วยได้รับยา bactrim และไม่สามารถหยุดยาดังกล่าวขณะทำการศึกษาได้เนื่องจากยาดังกล่าวจะมีผลไปเพิ่มระดับของยา Methotrexate ในเลือด
4. ผู้ป่วยที่เป็นโรค Rheumatoid arthritis, Multiple sclerosis และ Inflammatory bowel disease

5. ผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องและผู้ป่วยที่ได้รับยากลุ่ม Corticosteroid รวมถึงยากดภูมิคุ้มกัน
อื่น ๆ ขณะทำการศึกษา หรือผู้ป่วยที่มีภาวะ Autoimmune disease
6. ผู้ป่วย unreliable และ poor compliance

การสุ่มตัวอย่าง

เนื่องจากจำนวนตัวอย่างโรคสะเก็ดเงิน Chronic plaque-type psoriasis ที่มีระดับ PASI>10 นั้นมีจำนวนจำกัด วิธีการเลือกตัวอย่างจึงเป็นลักษณะของ consecutive case โดยพิจารณาทุก case ที่เข้ารับการรักษาที่คลินิกผิวหนังโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์โดยอยู่ในเกณฑ์ของ inclusion criteria และตัดออกในกรณีที่มีข้อบ่งห้ามหรือมีเกณฑ์เข้าได้กับ exclusion criteria

เลือกกลุ่มควบคุมจากผู้ที่มาปรึกษาโลหิตสภากาชาดไทยโดยมีสัดส่วนสอดคล้องกับเพศและอายุของกลุ่มตัวอย่างจำนวน 19 คน โดยกลุ่มควบคุมต้องไม่มีโรคประจำตัวและไม่มียาที่กินเป็นประจำ

รูปแบบการวิจัย

Experimental before-after study

กลุ่มควบคุม

กลุ่มควบคุม คือ คนปกติที่มาปรึกษาเลือดที่ศูนย์ปรึกษาโลหิตสภากาชาดไทย โดยมีเพศและอายุเทียบเคียงได้กับกลุ่มผู้ป่วย จะต้องไม่มีโรคประจำตัว โรคผิวหนัง หรือมียาที่ใช้เป็นประจำ ทำการเก็บเลือดปริมาณ 3 cc เพื่อนำมาเปรียบเทียบระดับซีรัม IL-17 และ IL-22 กับกลุ่มผู้ป่วยที่ baseline เท่านั้น

วิธีดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนชี้แจงแก่ผู้เข้าร่วมวิจัย

1. ผู้วิจัยชี้แจงวัตถุประสงค์ วิธีการ ประโยชน์ ผลข้างเคียงที่อาจจะได้รับแก่ผู้ป่วยที่มีความประสงค์จะเข้าร่วมการศึกษา และผู้เข้าร่วมวิจัยลงนามในเอกสารยินยอมให้ทำการวิจัย

ขั้นตอนการซักประวัติและตรวจร่างกาย

2. ผู้วิจัยจะทำการซักประวัติผู้ป่วยในแง่

- a. ข้อมูลทั่วไป อายุ อาชีพ โรคประจำตัว ยาที่ได้รับเป็นประจำ ประวัติครอบครัว สังคม ประวัติเจ็บป่วยอื่น ๆ
 - b. ข้อมูลเกี่ยวกับโรคสะเก็ดเงินของผู้ป่วย เช่น อายุที่เริ่มเป็นโรค ระยะเวลาที่เป็นโรค การรักษาที่ได้รับตลอดระยะเวลาที่เป็นโรค การตอบสนองต่อการรักษา อาการทางข้อ
 - c. ข้อมูลที่อาจจะเป็นข้อห้ามต่อการเข้าร่วมวิจัย เช่น ตั้งครรภ์หรือให้นมบุตร มีภาวะติดสุราเรื้อรัง ไม่สามารถคุมกำเนิดได้อย่างเหมาะสม เป็นต้น
3. ตรวจร่างกายของผู้เข้าร่วมการวิจัยดังนี้
- a. ชั่งน้ำหนักและวัดส่วนสูง
 - b. ประเมินความรุนแรงของผื่นโดยให้คะแนนเป็น PASI score [ภาคผนวก ก]

PASI score สามารถประเมินได้ดังนี้ ให้คะแนนระดับความรุนแรงของผื่นโดยพิจารณาจาก ความแดง (Erythema) ความนูน (Induration) และสะเก็ด (Scaling) โดยคะแนนจะเรียงลำดับจาก 0-4 คือ none-severe โดยจะแยกพิจารณา 4 ตำแหน่งได้แก่ หน้าและศีรษะ บริเวณแขน บริเวณลำตัว และบริเวณขา เมื่อได้คะแนนแล้วให้นำมาบวกกันเช่นผื่นที่ลำตัวได้คะแนนความแดง = 3 ความนูน = 3 สะเก็ด = 4 รวมเป็น 10 จากนั้นนำมาคูณกับคะแนนที่ได้มาจากการเปลี่ยนพื้นที่ที่มีผื่นเป็นคะแนน เช่น ถ้าผื่นคิดเป็น 50% ของลำตัวจะได้คะแนนเท่ากับ 4 นำ $4 \times 10 = 40$ จากนั้นนำมาคูณกับค่าคงที่ซึ่งแต่ละตำแหน่งมีค่าคงที่ต่างกัน ศีรษะ แขน ลำตัว ขา จะมีค่าเท่ากับ 0.1 0.2 0.3 และ 0.4 ตามลำดับ ดังนั้นที่ลำตัวจะต้องนำ $40 \times 0.3 = 12$ คิ่ดลักษณะเดียวกันนี้จนครบทั้ง 4 ตำแหน่งแล้วนำมาบวกกันจะได้ค่า PASI score

- c. ตรวจร่างกายทั่วไปทุกระบบ

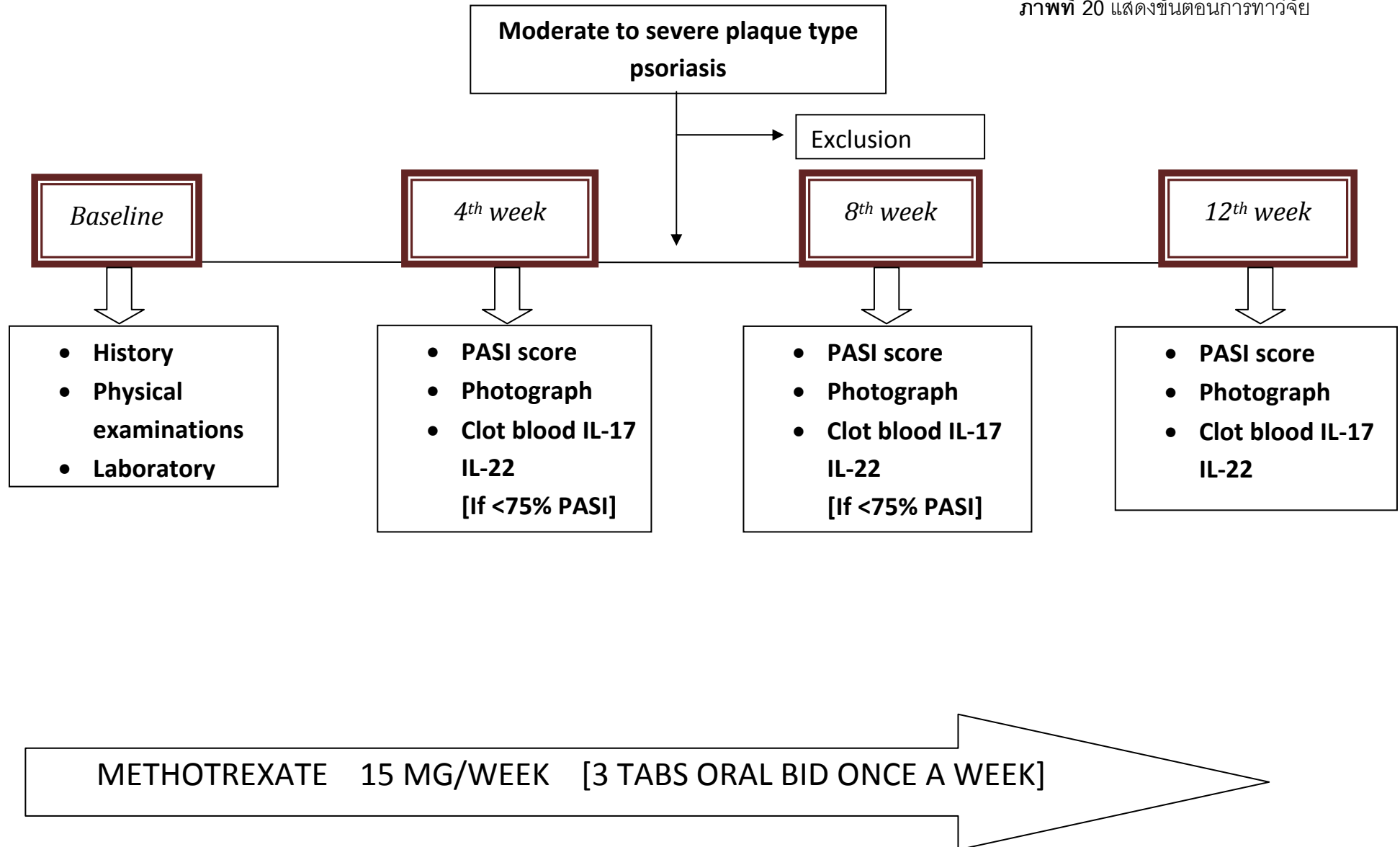
ขั้นตอนการเจาะเลือด

4. เจาะ clot blood ผู้ป่วยปริมาณ 3 cc เพื่อตรวจวัดระดับ IL-17 และ IL-22
5. CBC และ LFT เพื่อเป็น baseline ก่อนได้รับยา methotrexate
6. Anti-HIV
7. เจาะเลือดกลุ่มควบคุมปริมาณ 3 cc เพื่อตรวจวัดระดับ baseline IL-17 และ IL-22

ขั้นตอนการให้ยาและตรวจติดตาม

8. เริ่มให้ยาโดยจะให้ในขนาด 7.5 mg (3 เม็ดสัปดาห์ละครั้ง) และเพิ่มขนาดสัปดาห์ละ 2.5 mg จนถึง 15 mg (0.3 mg/kg/wk) ภายใน 3 สัปดาห์ เมื่อยาถึงระดับที่กำหนดจะแบ่งให้ผู้ป่วยรับประทาน 3 เม็ด 2 เวลาหลังอาหาร ระหว่างการเพิ่มขนาดยา จะทำการเจาะ CBC ด้วยทุกครั้ง
9. นัดติดตามผู้ป่วยทุก 4 สัปดาห์ เพื่อประเมินผลข้างเคียงของยา ประสิทธิภาพของยา ความร่วมมือของผู้ป่วย PASI score และถ่ายรูปทุกครั้งที่น่าตรวจติดตาม
10. เมื่อผู้ป่วยมีระดับ PASI score ที่ลดมากกว่าเดิมเกิน 75% จะทำการเจาะเลือดเพื่อตรวจระดับ IL-17, IL-22 และถือเป็นการสิ้นสุดการศึกษา หากลดลงไม่ถึง 75% จะเจาะเลือดเพื่อตรวจวัดระดับ IL-17, IL-22 ที่ 12 สัปดาห์และถือว่าสิ้นสุดการศึกษา
11. ระหว่างการตรวจติดตามในระยะเวลา 12 สัปดาห์ หากผู้ป่วยมีอาการที่เข้าด้วยกฎเกณฑ์ข้อใดข้อหนึ่งใน Exclusion criteria ถือว่าสิ้นสุดการศึกษาทันที

ภาพที่ 20 แสดงขั้นตอนการทำวิจัย



การเก็บรวบรวมข้อมูล

การเก็บข้อมูลครั้งแรกผู้วิจัยจะทำการซักประวัติและตรวจร่างกายผู้ป่วยด้วยตนเอง ในส่วนของ อายุ เพศ วันเกิด ประวัติการป่วย ระยะเวลาที่เป็นโรค ประวัติการรักษา ประวัติครอบครัว ชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง ประเมิน PASI score ไว้ในแบบบันทึกข้อมูล Baseline หากไม่ได้ข้อมูลที่ถูกต้อง ในบางส่วนผู้วิจัยจะทำการศึกษาจากเวชระเบียนผู้ป่วยรวมถึงติดต่อไปยังสถานพยาบาลที่ผู้ป่วยเคยได้รับการรักษามาก่อน ผู้วิจัยทำการบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกข้อมูลด้วยตนเอง [แบบบันทึกข้อมูล ดังภาคผนวก ข]

การเก็บข้อมูลที่ 4,8 และ 12 สัปดาห์จะทำการบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ PASI score ผลข้างเคียงของยา และบันทึกภาพ [ดังแสดงในภาคผนวก ค]

การเก็บตัวอย่างเลือดจะทำการเก็บที่ Baseline และที่สิ้นสุดการศึกษาโดยเจาะเลือดครั้งละ 1.5 cc ใส่ tube clot blood เก็บในอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส และจะนำมาวิเคราะห์ ELISA พร้อมกันเมื่อได้ตัวอย่างครบ

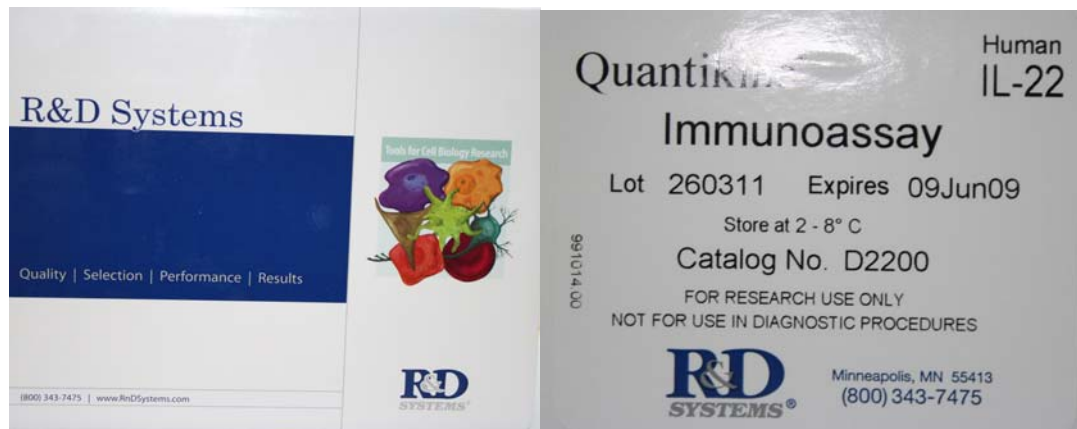
การวิเคราะห์ซีรัมด้วยวิธี ELISA

1. การเตรียมซีรัม

- 1.1 เจาะเลือดของ donor ปริมาตร 3 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดเก็บเลือด
- 1.2 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เลือด clot
- 1.3 ปั่นตกตะกอนเป็นเวลา 10 นาที แล้วใช้ปิเปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วดูดเก็บส่วนของซีรัม โดยนำซีรัมดังกล่าวไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

2. อุปกรณ์ และ สารเคมี

- 2.1 ชุดตรวจวัดปริมาณโปรตีน Human IL-17 และ IL-22 ด้วยเทคนิค ELISA (R&D,Catalog Number D2200)
- 2.2 ปิเปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
- 2.3 เครื่อง ELISA plate reader



ภาพที่ 21 แสดงชุดตรวจ ELISA IL-22 [R&D systems, Minneapolis, MN, USA]



ภาพที่ 22 แสดงเครื่อง ELISA PLATE READER

3. วิธีการทำ ELISA

3.1 นำซีรัมของคนปกติและผู้ป่วยมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนละลาย



ภาพที่ 23 แสดงซีรัมของผู้ป่วยและ control

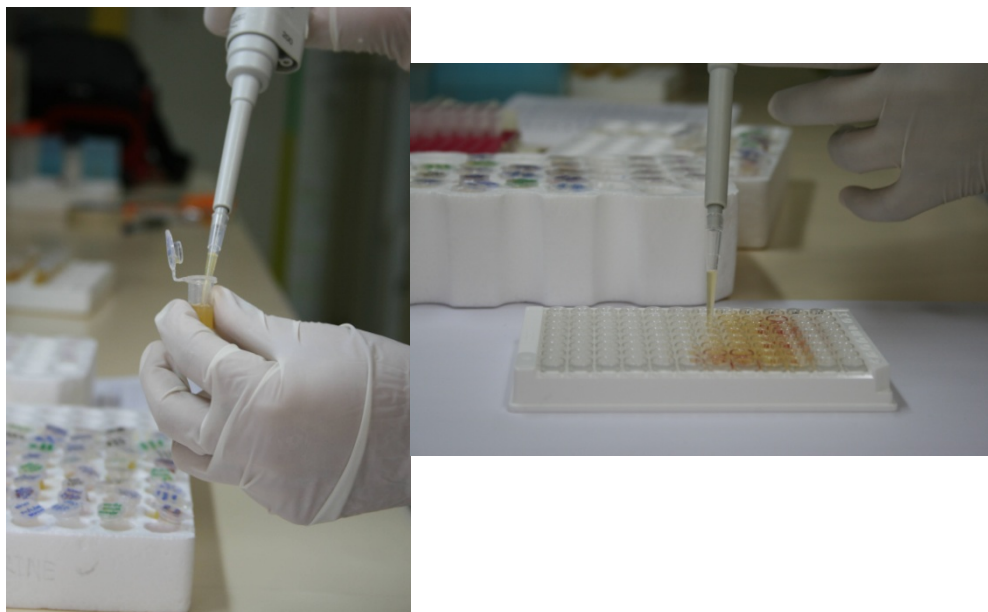
3.2 เตรียมสารเคมี และ working standard ที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน

3.3 เติม Assay Diluents RD1-88 ลงใน 96 well micro plate ทุก well



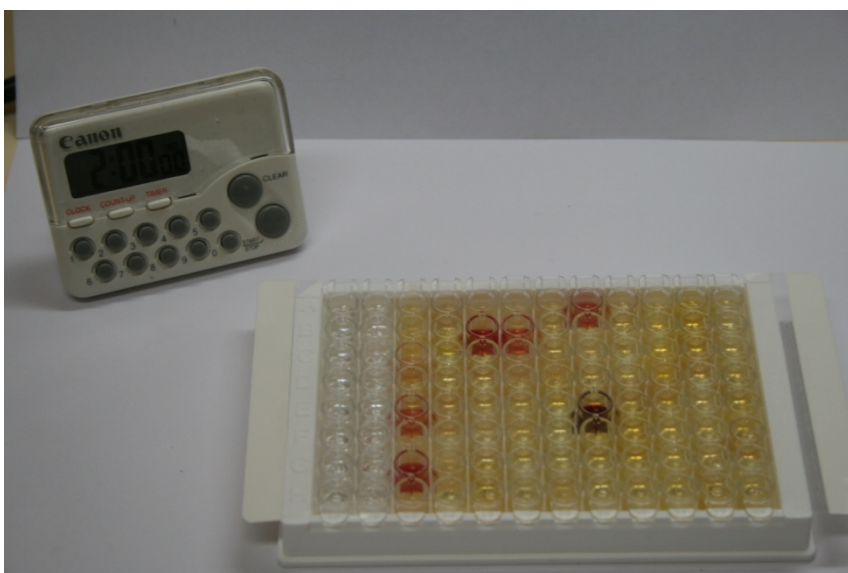
ภาพที่ 24 แสดงขั้นตอนการใส่ assay diluents ลงใน well

3.4 เติม working standard, serum samples และ control (Blank)



ภาพที่ 25 แสดงการเติม Serum ของผู้ป่วยและ control ลงใน well

3.5 Incubate ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง



ภาพที่ 26 แสดงการ Incubate serum ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

3.6 ดูดสารในแต่ละ Well ออกให้หมด

3.7 ล้าง well ทุก well ด้วย wash buffer ครั้งละ 400 ไมโครลิตร 4 ครั้ง



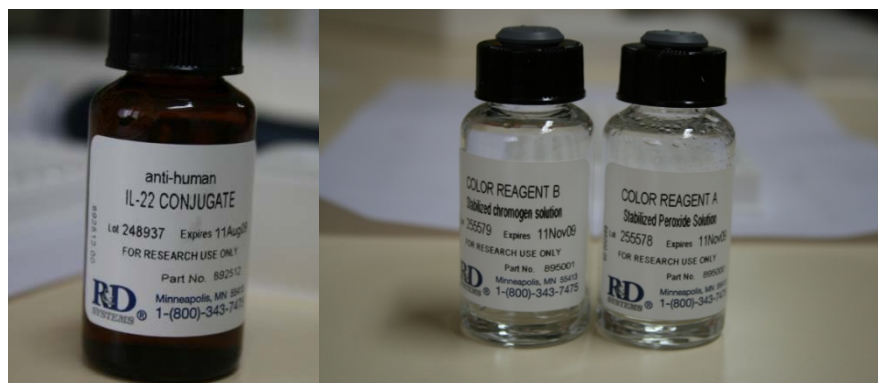
ภาพที่ 27 แสดงการล้าง well ด้วย wash buffer

3.8 เติม enzyme-linked IL-22 monoclonal antibody ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในแต่ละ well

3.9 บ่ม (Incubate) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

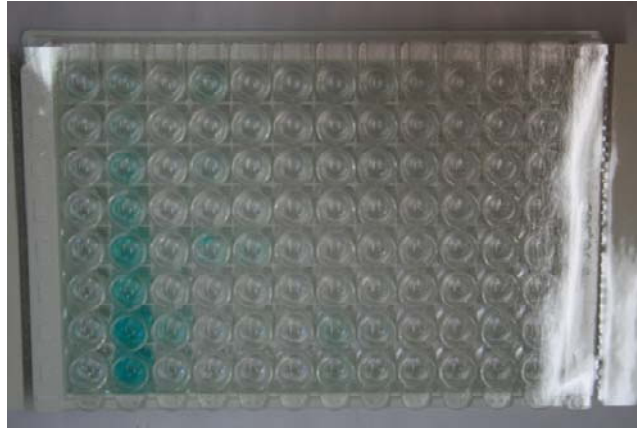
3.10 ล้าง well ทุก well ด้วย wash buffer ครั้งละ 400 ไมโครลิตร 4 ครั้ง

3.11 เติม substrate ปริมาตร 200 ไมโครลิตร



ภาพที่ 28 แสดง enzyme-linked IL-22 monoclonal antibody และ substrate

3.12 บ่ม (Incubate) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที (ห้ามโดนแสง) หากพบ IL-22 อยู่ในซีรัมละลายก็จะปรากฏเป็นสีฟ้า



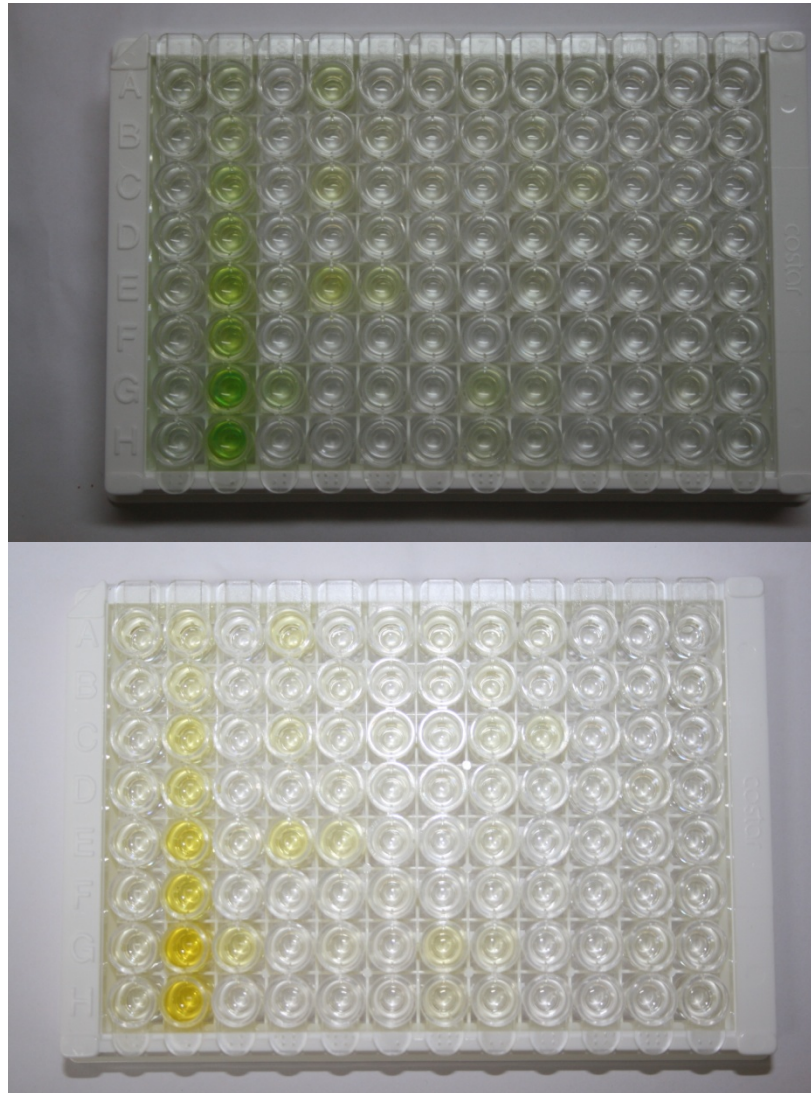
ภาพที่ 29 แสดงการเปลี่ยนแปลงหลังใส่ substrate ลงใน well

3.13 เติม stop solution ปริมาตร 50 ไมโครลิตรลงในแต่ละ well



ภาพที่ 30 แสดงการหยุดปฏิกิริยาด้วย stop solution

3.13 หลังจากที่เติม Stop solution สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง นำ 96 wells micro plate ไปวัดปริมาณ IL22 ภายใน 15 นาที ด้วยเครื่อง ELISA plate reader โดยการวัดค่า Optical Density ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร อ่านค่าทันทีเนื่องจากทิ้งไว้อาจเกิดตะกอนซึ่งจะลดค่าการดูดกลืนแสงได้



ภาพที่ 31 แสดงการเปลี่ยนแปลงของสีสารละลายหลังเติม stop solution

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. การควบคุมและตรวจสอบคุณภาพของข้อมูลทำโดย Double checking data ก่อนนำข้อมูลเข้าวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS
2. วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล
 - 2.1. ข้อมูลทั่วไปของตัวอย่างที่นำมาศึกษาที่เป็นข้อมูลเชิงคุณภาพ เช่น เพศ อาชีพ การรักษาที่ได้รับก่อนหน้าที่เข้าร่วมวิจัย จะแสดงในรูปของร้อยละ
 - 2.2. ข้อมูลของตัวอย่างที่นำมาศึกษาที่เป็นข้อมูลเชิงปริมาณ เช่น อายุ BMI อายุที่เริ่มเป็นโรค ระยะเวลาที่เป็นโรค ระดับ PASI และระดับซีรั่มอินเตอร์ลิวคินก่อนการรักษาจะแสดงอยู่ในรูปของค่าเฉลี่ย [mean] และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน [standard deviation]
 - 2.3. เปรียบเทียบระดับซีรั่มอินเตอร์ลิวคินก่อนการรักษาของกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม โดยใช้ Mann-Whitney test ที่ระดับ $\alpha=0.05$
 - 2.4. เปรียบเทียบระดับซีรั่ม IL-17 และ IL-22 ก่อนและหลังการรักษาด้วยยา โดยวิธี Wilcoxon signed rank test ที่ระดับ $\alpha=0.05$
 - 2.5. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของระดับซีรั่มอินเตอร์ลิวคินและค่า PASI score โดยใช้ spearman correlation test ที่ระดับ $\alpha=0.05$
 - 2.6. วิเคราะห์ความแตกต่างของระดับซีรั่มอินเตอร์ลิวคินก่อนการรักษา กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น เพศ อายุที่เกิดโรคสะเก็ดเงิน การสูบบุหรี่ การถูกแสงแดด BMI โดยวิธี Mann-Whitney test ในกรณีกลุ่มย่อยที่ใช้ในการวิเคราะห์มากกว่า 2 กลุ่ม วิเคราะห์โดย Kruskal-Wallis ที่ระดับ $\alpha=0.05$

ตารางที่ 13 แสดงวิธีการสรุปและวิเคราะห์ข้อมูลในงานวิจัย

	Categorical data	Continuous data
Data summarization	Proportion Percent	Mean Standard deviation Median Interquartiles
Test for difference		Wilcoxon signed rank Mann-Whitney test Kruskal-Wallis test
Test for association		Spearman correlation

3. การนำเสนอข้อมูล

3.1. ข้อมูลเชิงคุณภาพ นำเสนอในรูปแบบแผนภูมิ หรือ ตาราง

3.2. ข้อมูลเชิงปริมาณ นำเสนอในรูปแบบฮิสโตแกรม หรือ BOX-AND-WHISKER PLOT

บทที่ 8

รายงานผลการวิจัย

คุณลักษณะทั่วไปของตัวอย่างในการศึกษา (Baseline characteristics)

ผู้ป่วยโรคสะกดเงิน Moderate to severe chronic plaque-type ที่มารับการรักษายังคลินิกผู้ป่วยนอก แผนกผิวหนังโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ตั้งแต่ กันยายน 2550 ถึง ธันวาคม 2551 มีทั้งสิ้น 21 คน โดยเป็นผู้ป่วยเก่าทั้งสิ้น 15 คน ผู้ป่วยรายใหม่ 6 คน ผู้ป่วยทั้งสิ้น 19 คน ที่เข้าร่วมจนสิ้นสุดงานวิจัย มีเพียง 2 คนที่ไม่ได้เลือกเข้ามาในการวิจัยเนื่องจากประเมินแล้วคิดว่าผู้ป่วยอาจจะไม่มี compliance ที่ดี

ตารางที่ 14 เปรียบเทียบ baseline characteristic ระหว่างกลุ่มที่เลือกและไม่ถูกเลือกเข้ามาศึกษา

	INCLUDE	EXCLUDE
จำนวน	19	2
M:F	2.8:1	1:1
Mean age (yr)	44.16	24.5
Mean PASI score	20.09	19.5

จากผู้ป่วยทั้งสิ้น 19 คนนั้น เป็นเพศชาย 14 คน (73.68%) เพศหญิง 5 คน (26.32%) อายุเฉลี่ย 44 ปี โดยส่วนใหญ่ประกอบอาชีพรับจ้างเป็นหลักคิดเป็น 42% มีผู้ป่วยจำนวน 5 คนที่มีโรคประจำตัวอื่น ๆ ร่วมด้วย พบผู้ป่วยหนึ่งคนมีภาวะเอนไซม์ในตับขึ้นโดยไม่พบภาวะตับอักเสบหรือสุราเรื้อรังร่วมด้วย ทั้งนี้เอนไซม์ที่ขึ้นมากกว่าระดับปกติประมาณ 1.5 เท่า พบผู้ป่วยที่มีภาวะหอบหืดจำนวนหนึ่งคน และพบภาวะไขมันในเลือดสูงจำนวน 3 คน คิดเป็นร้อยละ 15.79 ในจำนวนนี้หนึ่งคนมีอาการของหลอดเลือดสมองผิดปกติ

ตารางที่ 15 แสดงข้อมูลทั่วไป (Baseline characteristics) ของตัวอย่างที่ศึกษา

ข้อมูลทั่วไป	จำนวน (คน) N=19	ร้อยละ
1. เพศ		
เพศชาย	14	73.68
เพศหญิง	5	26.32
2. อายุ		
20-39 ปี	6	31.58
40-59 ปี	13	68.42
3. อาชีพ		
เกษตรกรรวม	4	21.05
ธุรกิจส่วนตัว	4	21.05
รับจ้าง	8	42.10
อื่น ๆ	3	15.79
4. ประวัติโรคประจำตัว		
ไม่มี	14	73.68
มี.....ระบุ	5	26.32
หอบหืด	1	5.26
ไขมันในเลือดสูง	3	15.79
ตับผิดปกติ	1	5.26

เมื่อพิจารณาอายุของผู้เข้าร่วมวิจัยแยกเป็นเพศชายและหญิงพบว่าอายุเฉลี่ยอยู่ที่ 44.16 ± 9.7 ปี ผู้ป่วยส่วนใหญ่มี BMI ระดับปกติ โดยค่าเฉลี่ย BMI อยู่ที่ 23.32 ± 3 เพศหญิงและเพศชายมีระดับ BMI ไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 16 แสดงอายุและ BMI ของกลุ่มตัวอย่างเป็น Mean และ SD โดยแยกตามเพศ

	Female (N=5)	Male (N=4)	Total (N=19)
Age (mean±SD)	44±6.89	44.2±10.73	44.2±9.68
BMI (mean±SD)	23.1±3.11	23.4±3.05	23.3±2.98

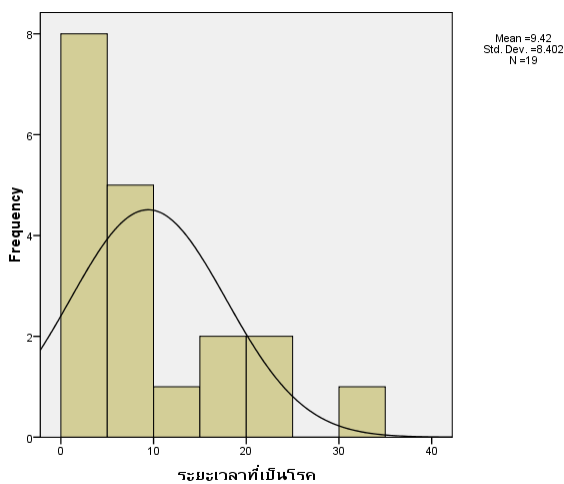
ข้อมูลเกี่ยวกับโรคสะกดเงินของกลุ่มตัวอย่าง

1. อายุที่เริ่มเป็นโรคพบว่า 12 ใน 19 คน (63.16%) เป็นโรคก่อนอายุ 40 ปี และ 7 คนเป็นโรคหลังอายุ 40 ปี โดยหากแยกเป็นเพศชายและเพศหญิงแล้วจะพบว่า เพศชายจะเกิดโรคก่อนอายุ 40 ปี 10 คน จากจำนวนผู้ป่วยที่เกิดโรคก่อนอายุ 40 ปีทั้งสิ้น 12 คน ดังตาราง

ตารางที่ 17 แสดงกลุ่มอายุที่เริ่มเป็นโรคสะกดเงินโดยแยกตามเพศ

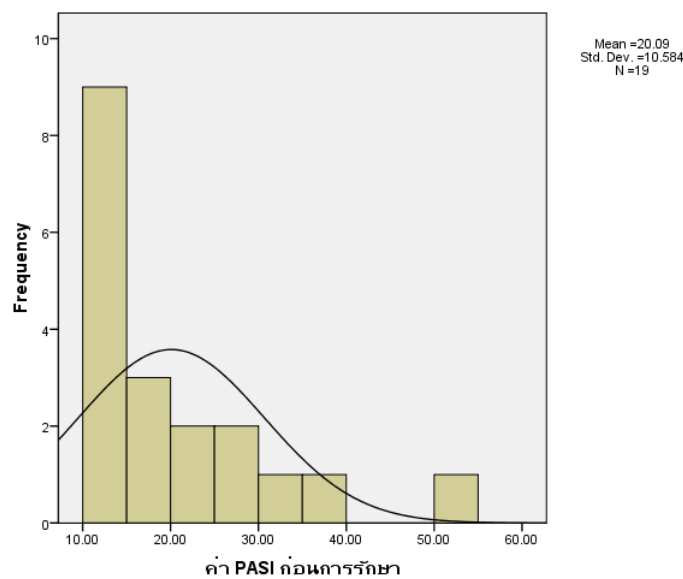
		เพศ		Total
		F	M	
กลุ่มของอายุที่เริ่มเป็นโรค	<40	2(10.53%)	10(52.63%)	12(63.16%)
	≥40	3(15.79%)	4(21.05%)	7(36.84%)
Total		5(26.32%)	14(73.68%)	19(100%)

2. ระยะเวลาที่เป็นโรคพบว่ากลุ่มตัวอย่งมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 9.42 ± 8.4 ปี โดยมีระยะเวลาที่เป็นโรคต่ำสุดที่ 2 ปี และสูงสุดที่ 32 ปี



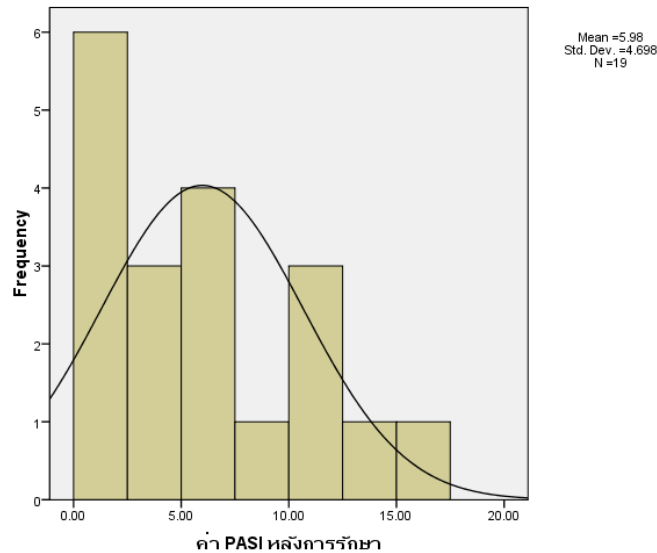
แผนภูมิที่ 1 ฮิสโตแกรมแสดงระยะเวลาที่เป็นโรคสะกดเงินในกลุ่มตัวอย่าง

3. ระยะเวลาที่เกิดผื่นขึ้นใหม่ก่อนหน้าที่จะมาเข้าร่วมโครงการวิจัยค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 6 ± 10.8 เดือน โดยมีค่าต่ำสุดและสูงสุด คือ 7 วันและ 3 ปี ตามลำดับ
4. ในจำนวน 19 คน มี 2 คน (10.53%) ที่มีประวัติสมาชิกในครอบครัว first degree เป็นโรค สะเก็ดเงิน
5. ในจำนวน 19 คน มี 8 คน (42.1%) ที่เคยได้รับการรักษาด้วยการใช้ Methotrexate (7.5-22.5 mg) และ NB-UVB 7 คนตอบสนองต่อการรักษาดี มีเพียงหนึ่งคนที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วย methotrexate แต่ตอบสนองดีต่อการรักษาด้วย PUVA และ Acitretin
6. ผู้ป่วยมีระดับค่า PASI score เฉลี่ยก่อนการรักษา 20.09 ± 10.58 ค่าสูงสุดอยู่ที่ 25.20 ค่าต่ำสุดอยู่ที่ 14.99 และพบว่าข้อมูลเบ้ขวา



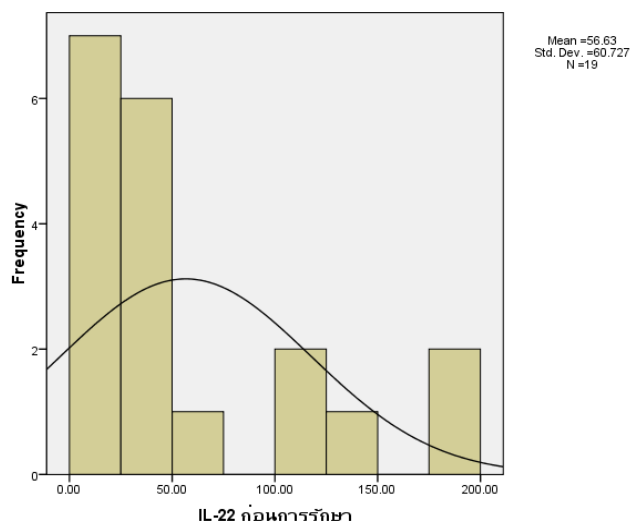
แผนภูมิที่ 2 ฮิสโตแกรมแสดง PASI baseline ของกลุ่มตัวอย่าง

7. ระดับ PASI score หลังการรักษาอยู่ที่ 5.98 ± 4.7 ค่าสูงสุดและต่ำสุด คือ 8.24 และ 3.71 ตามลำดับ และมีการแจกแจงข้อมูลแบบเบ้ขวา

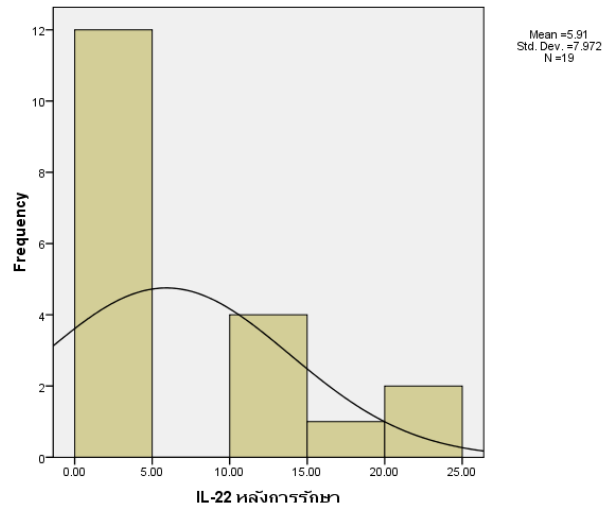


แผนภูมิที่ 3 ฮิสโตแกรมแสดง PASI score หลังการรักษา

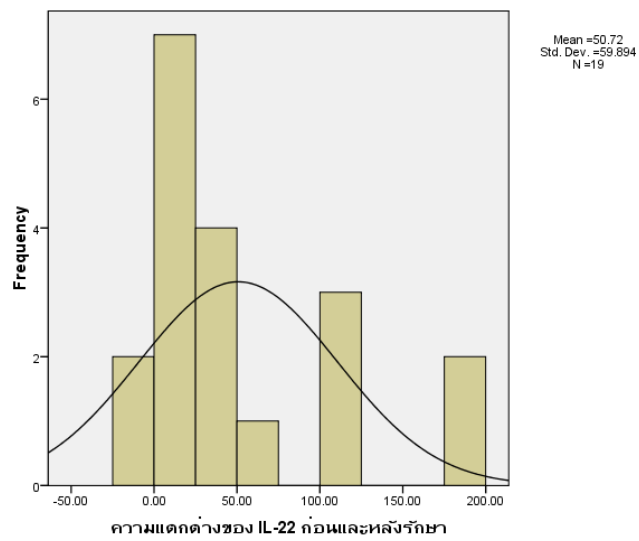
8. การกระจายของ IL-22 พบว่าทั้งก่อนและหลังการรักษา รวมทั้งค่าความแตกต่างมีการกระจายของข้อมูลเป็นแบบเบ้ขวา ซึ่งส่งผลให้ในขั้นตอนการวิเคราะห์ข้อมูล จะทำการวิเคราะห์โดยใช้ non-parametric test



แผนภูมิที่ 4 ฮิสโตแกรมแสดงการกระจายของ IL-22 ก่อนการรักษา



แผนภูมิที่ 5 ฮิสโตแกรมแสดงการกระจายของ IL-22 หลังการรักษา



แผนภูมิที่ 6 ฮิสโตแกรมแสดงการกระจายของค่าความแตกต่างของ IL-22 ก่อนและหลังการรักษา

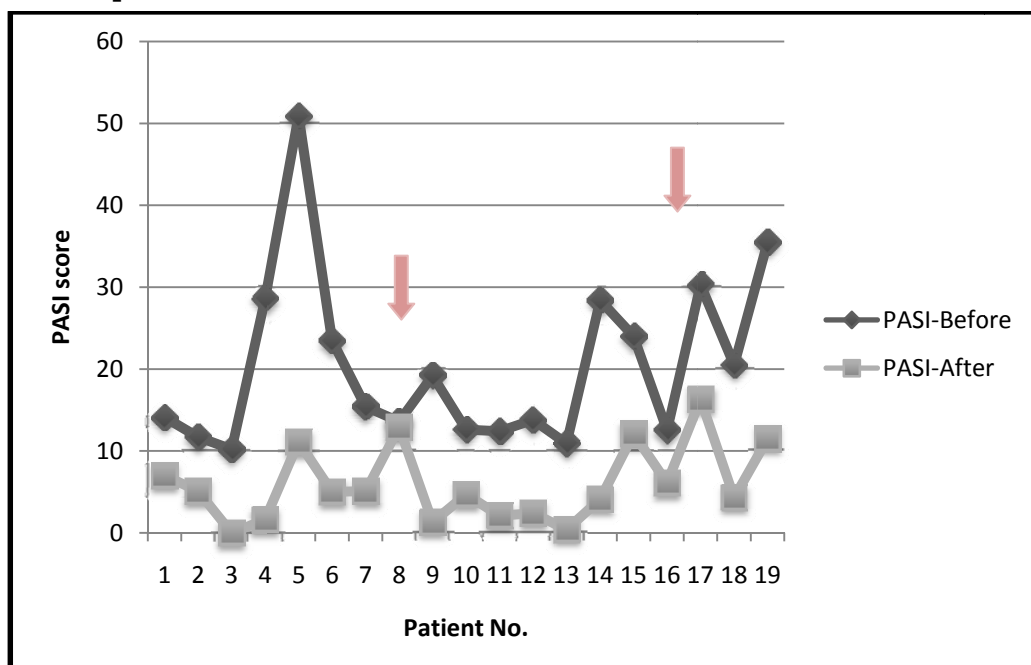
ตารางที่ 18 แสดงค่า Median และ Interquartiles ของ PASI score และ IL-22

	N	Mean	Median	Interquartiles
PASI-score	19			
ก่อนการรักษา		20.09	15.4	12.5-28.4
หลังการรักษา		5.98	5	2.1-11.1
IL-22	19			
ก่อนการรักษา		56.63	30.1	11.39-113.92
หลังการรักษา		9.33	2.41	0-21.12

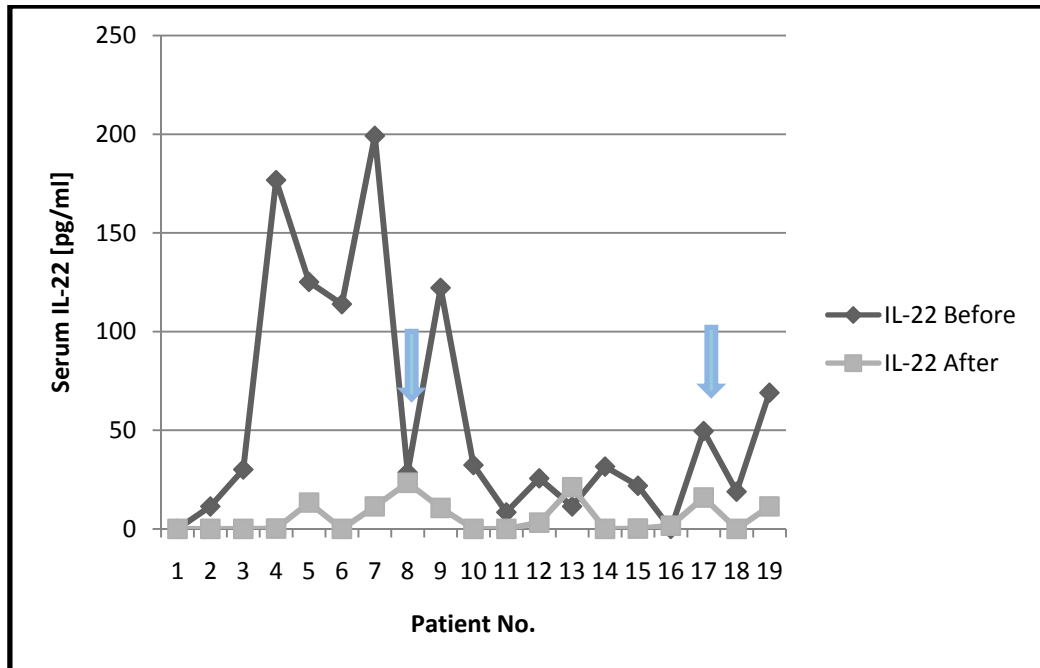
ที่ 12 สัปดาห์ ผู้ป่วยจำนวน 10 (52.63%) คนมีระดับ PASI score ที่ดีขึ้น 75% ผู้ป่วยจำนวน 15 คนมีระดับ PASI ที่ดีขึ้น 50% (78.95%)

ผู้ป่วยทั้งสิ้น 2 คนไม่ตอบสนองต่อการรักษา (10.52%) ดังแสดงตามลูกศรในแผนภูมิที่ 7

แผนภูมิที่ 7 แสดง PASI score ก่อนและหลังการรักษา



แผนภูมิที่ 8 แสดงระดับ Serum IL-22 ก่อนและหลังการรักษา



เมื่อพิจารณาผู้ป่วยในกลุ่ม Non-responder แล้วจะพบว่า ระดับ IL-22 ในซีรัมของผู้ป่วยกลุ่มดังกล่าวไม่ลดลงหรือลดลงเพียงเล็กน้อยจาก baseline ในขณะที่ผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา ระดับซีรัม IL-22 ลดลงสอดคล้องกับระดับ PASI score

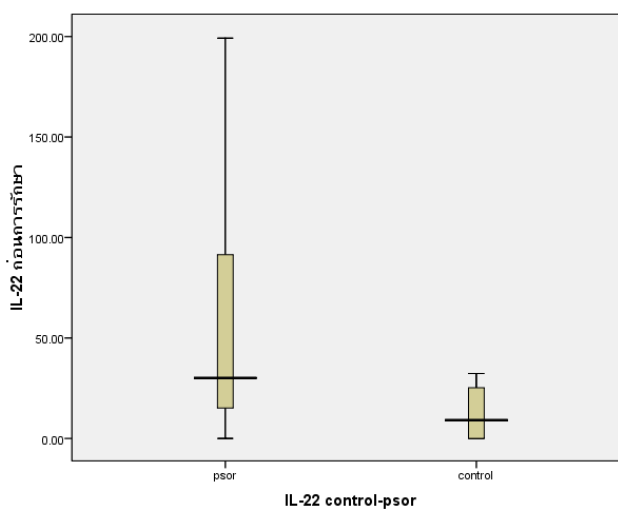
ขั้นวิเคราะห์ผลของระดับ IL-22 และตรวจสอบสมมติฐาน

- วิเคราะห์ระดับซีรัม IL-22 ก่อนการรักษาในกลุ่มตัวอย่าง เทียบกับ ระดับซีรัม IL-22 ในคนปกติ จำนวน 20 คน โดยใช้ Mann-Whitney Test ($\alpha=0.05$)

ตารางที่ 19 แสดงการทดสอบสมมติฐานของ IL-22 ก่อนการรักษาในกลุ่มผู้ป่วยเทียบกับกลุ่มควบคุม

IL-22 control-psoriasis		N	Mean	Median	Interquartiles	p-value
IL-22 ก่อนการรักษา	psoriasis	19	56.63	30.1	11.39-113.92	0.005*
	control	20	12.58	9.15	0-25.42	

ระดับ IL-22 ในซีรัมของผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมก่อนการรักษาด้วยยาแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



แผนภูมิที่ 9 Boxplot แสดง IL-22 baseline ในกลุ่มผู้ป่วยเทียบกับกลุ่มควบคุม

2. ระดับซีรัม IL-22 ในกลุ่มผู้ป่วยหลังการรักษาลดลงเมื่อเทียบกับก่อนการรักษาอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่

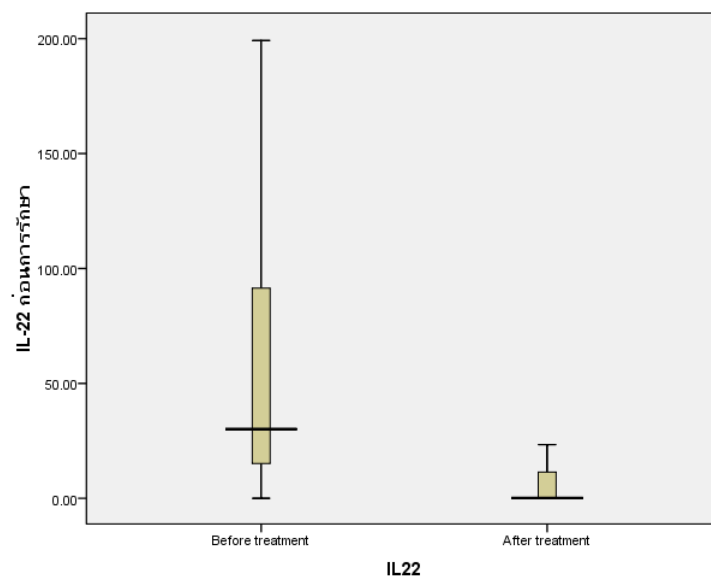
Ho: ระดับซีรัม IL-22 หลังการรักษามากกว่าหรือเท่ากับก่อนการรักษา

Ha: ระดับซีรัม IL-22 หลังการรักษาน้อยกว่าก่อนการรักษา

ทดสอบด้วยวิธี Wilcoxon signed rank test ($\alpha=0.05$)

ตารางที่ 20 แสดงผลการทดสอบสมมติฐาน: ระดับ IL-22 ก่อนและหลังรักษา

IL-22	Mean	Median	Interquartiles	p-value
Before	56.63	30.1	11.39-113.92	<0.001*
After	9.33	2.41	0-21.12	



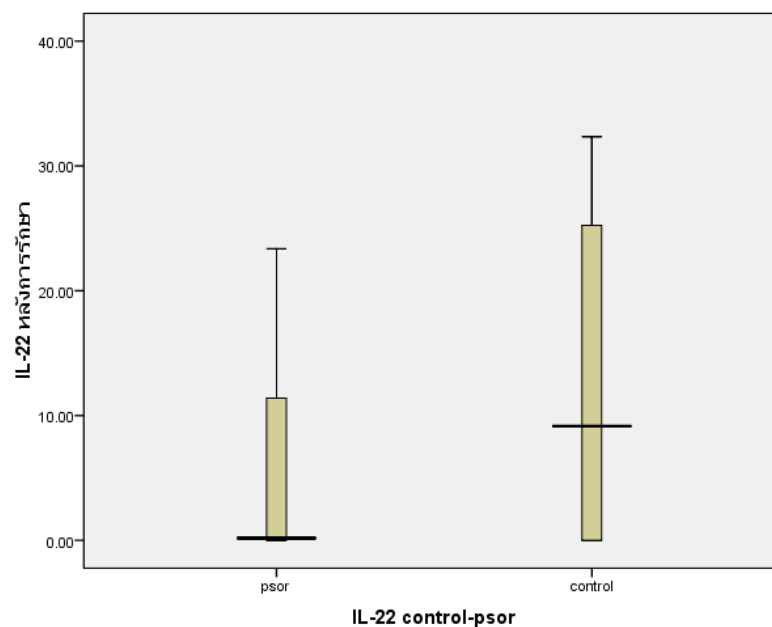
แผนภูมิที่ 10 Boxplot แสดง IL-22 ก่อนและหลังการรักษา

สรุปได้ว่าระดับซีรัม IL-22 ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินลดลงหลังการรักษาเมื่อเทียบกับก่อนรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3. ระดับซีรัม IL-22 หลังการรักษามีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมหรือไม่
ทดสอบสมมติฐานโดยใช้ Mann-Whitney test ที่ระดับ $\alpha=0.05$

ตารางที่ 21 แสดงการทดสอบสมมติฐานระดับ IL-22 หลังการรักษาของผู้ป่วยเทียบกับกลุ่มควบคุม

IL-22 control-psoriasis		N	Mean	Median	Interquartiles	p-value
IL-22 หลังการรักษา	psoriasis	19	5.91	2.41	0-21.12	0.084
	control	20	12.58	9.15	0-25.42	



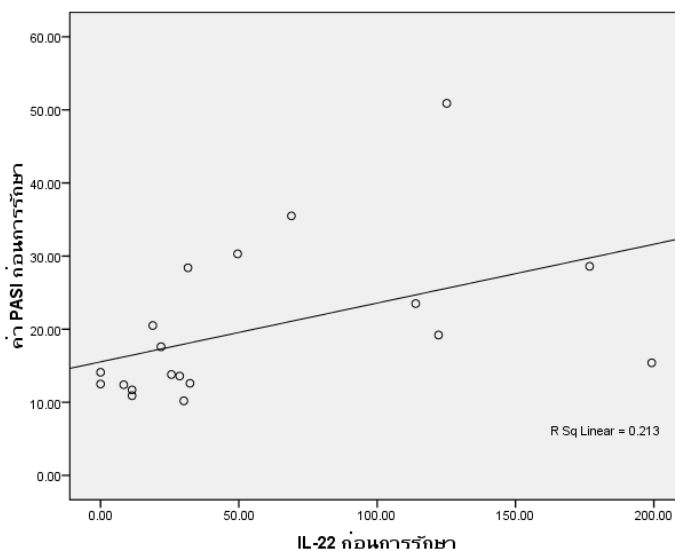
แผนภูมิที่ 11 Boxplot แสดง IL-22 หลังการรักษาของกลุ่มผู้ป่วยเทียบกับกลุ่มควบคุม

ระดับ IL-22 ในซีรัมของผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมหลังการรักษาด้วยยาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4. ระดับ PASI score และ IL-22 ก่อนการรักษาจะมีความสัมพันธ์ [correlation] หรือไม่
 Ho: PASI score และ IL-22 ก่อนการรักษาไม่มีความสัมพันธ์กัน [$p=0$]
 Ha: PASI score และ IL-22 ก่อนการรักษามีความสัมพันธ์กัน [$p\neq 0$]
 ทดสอบสมมติฐานโดยใช้ Spearman's rank correlation ($\alpha=0.05$)

ตารางที่ 22 Spearman's correlation: ระหว่าง IL-22 และ PASI score ก่อนการรักษา

		IL-22 ก่อนการ รักษา	ค่า PASI ก่อน การรักษา
Spearman's rho	IL-22 ก่อนการรักษา	Correlation Coefficient	1.000
		Sig. (2-tailed)	.004
**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).			



แผนภูมิที่ 12 Linear correlation: IL-22 และ PASI score ก่อนการรักษา

ระดับ PASI score และ IL-22 มีความสัมพันธ์ปานกลาง [fair correlation] = 0.63 โดยมีระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p=0.004$ และการเปลี่ยนแปลงของ PASI score อธิบายได้ด้วยการเปลี่ยนแปลงของ IL-22 เพียง 21.3

5. ระดับ PASI score และ IL-22 หลังการรักษาจะมีความสัมพันธ์ [correlation] หรือไม่

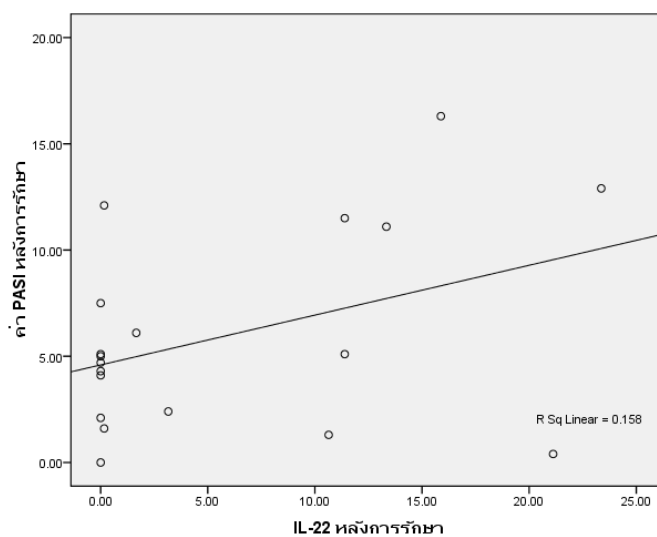
Ho: PASI score และ IL-22 หลังการรักษาไม่มีความสัมพันธ์กัน [$\rho=0$]

Ha: PASI score และ IL-22 หลังการรักษามีความสัมพันธ์กัน [$\rho \neq 0$]

ทดสอบสมมติฐานโดยใช้ Spearman's rank correlation ($\alpha=0.05$)

ตารางที่ 23 Spearman's correlation: ระหว่าง IL-22 และ PASI score หลังการรักษา

		IL-22 ก่อนการ รักษา	ค่า PASI ก่อน การรักษา
Spearman's rho	IL-22 หลังการรักษา	Correlation Coefficient	1.000
		Sig. (2-tailed)	.015



แผนภูมิที่ 13 Linear correlation: IL-22 และ PASI score หลังการรักษา

ระดับ PASI score และ IL-22 หลังการรักษาไม่มีความสัมพันธ์กันในเชิงเส้นตรง

6. ระดับ IL-22 ที่แตกต่างกันส่งผลต่อการตอบสนองต่อการรักษาที่แตกต่างกันหรือไม่
- ทำการเปรียบเทียบผู้ป่วยที่มีระดับ IL-22 < 50 pg/ml และ \geq 50 pg/ml ว่ามีการตอบสนองต่อการรักษาแตกต่างกันหรือไม่ (Mean IL-22 baseline = 50 pg/ml)
 - การตอบสนองต่อการรักษาประเมินจากค่าความแตกต่างของ PASI score ก่อนหลังการรักษา [PASI diff]

ทดสอบสมมติฐานโดยใช้ Mann-Whitney test ที่ระดับ $\alpha=0.05$

ตารางที่ 24 แสดงการทดสอบสมมติฐานความสัมพันธ์ระหว่าง IL-22 และการตอบสนองต่อการรักษา

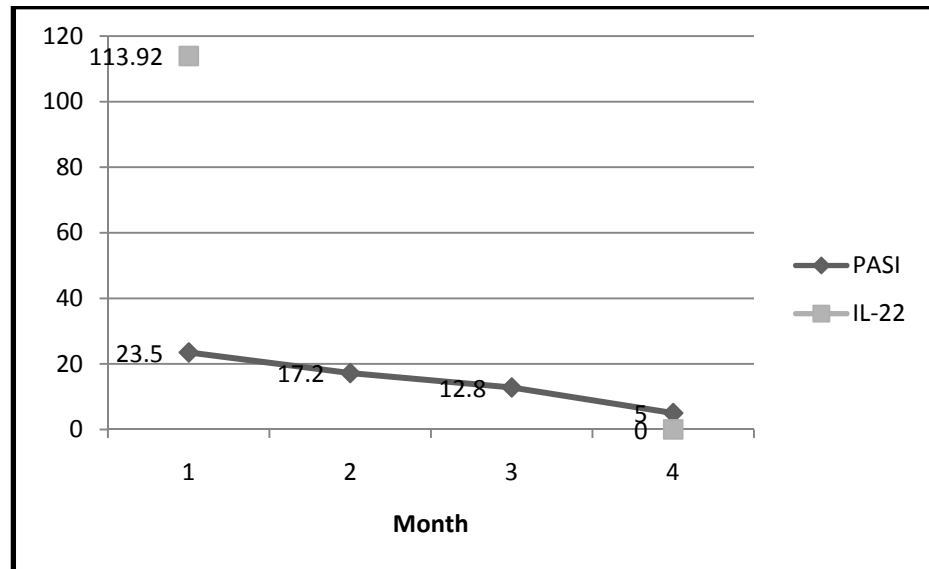
Group	N	Mean \pm SD [PASI diff]	Z	p-value
IL-22 < 50	13	10.05 \pm 5.83	2.68	0.007*
IL-22 \geq 50	6	22.92 \pm 10.67		

จากตารางด้านบนสรุปผลได้ว่า ผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินที่มีระดับซีรั่ม IL-22 ก่อนการรักษาที่มากกว่าหรือเท่ากับ 50 pg/ml ตอบสนองต่อการรักษาได้ดีกว่าผู้ป่วยที่มีระดับซีรั่ม IL-22 ต่ำกว่า 50 pg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

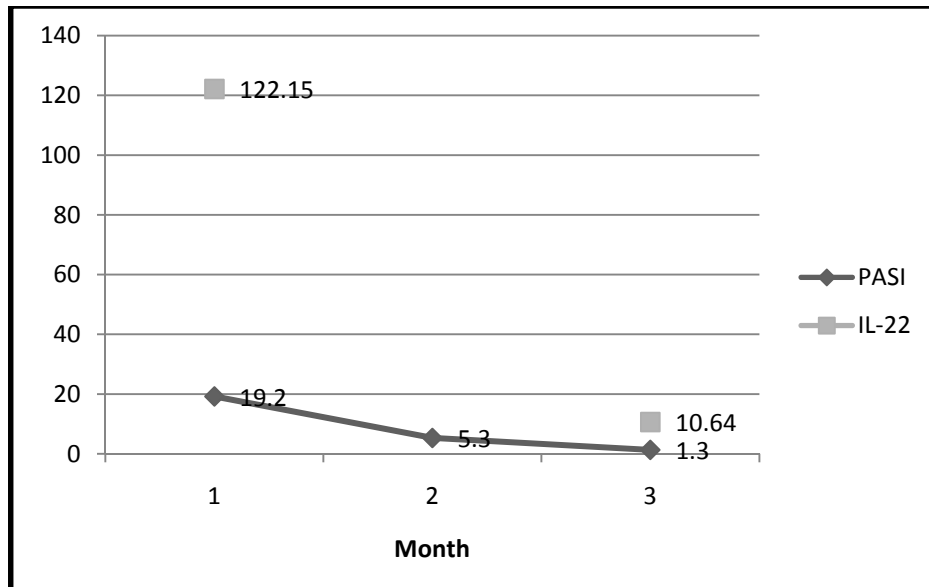
การตั้งสมมติฐานดังกล่าวเนื่องจากว่าผู้วิจัยได้สังเกตเห็นระดับ IL-22 baseline ที่แตกต่างกันในกลุ่มที่ตอบสนองต่อการรักษาได้ดีและไม่ตอบสนองต่อการรักษา เช่น

ในกลุ่มผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา (PASI score ลดลงมากกว่า 75% ที่ 12 สัปดาห์)

ผู้ป่วยหมายเลข 6

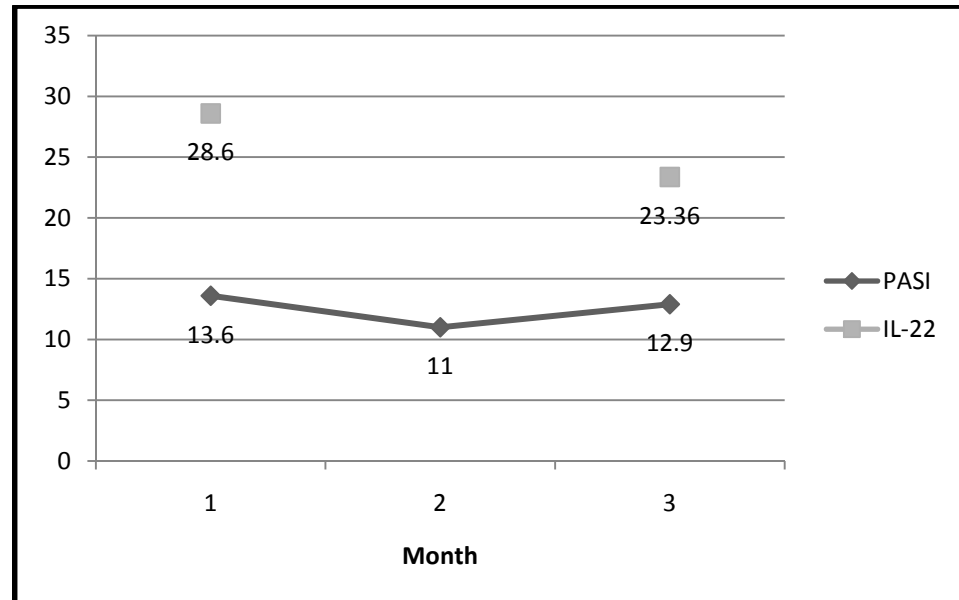


ผู้ป่วยหมายเลข 9

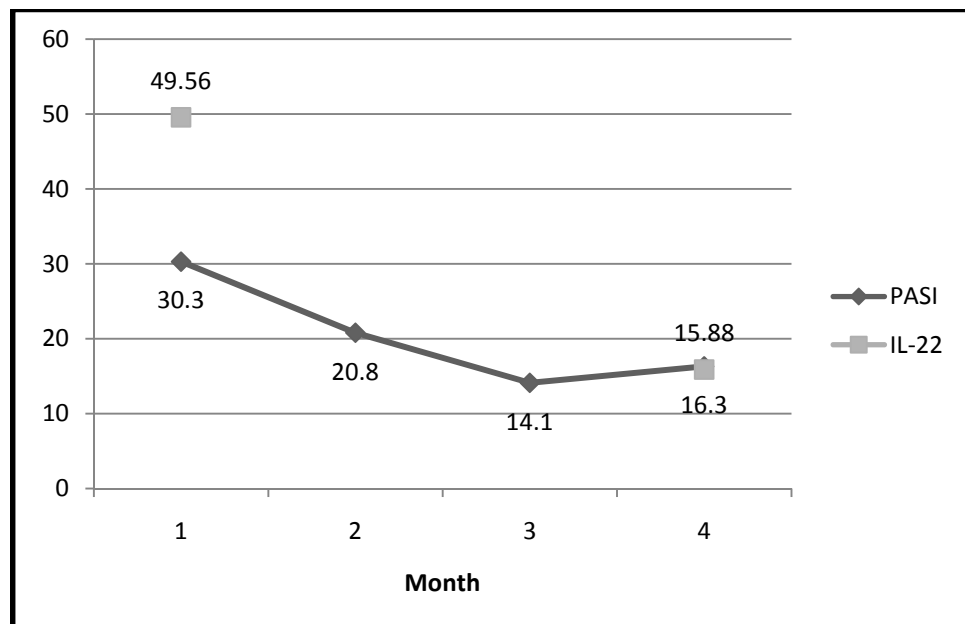


ในผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา (PASI score ลดลงไม่ถึง 50% ที่ 12 สัปดาห์)

ผู้ป่วยหมายเลข 8



ผู้ป่วยหมายเลข 17



จากกราฟด้านบน ผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาได้ดีมักมีระดับ IL-22 baseline ที่ค่อนข้างสูง เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา

วิเคราะห์ปัจจัยต่าง ๆ ที่อาจส่งผลต่อระดับ IL-22

1. ปัจจัยด้านความรุนแรงของโรคแยกเป็นโรคสะเก็ดเงินที่มีความรุนแรงปานกลาง (PASI score น้อยกว่า 15) แตกต่างกับโรคสะเก็ดเงินที่มีความรุนแรงมาก (PASI score มากกว่าหรือเท่ากับ 15) ทดสอบโดยใช้ Mann-Whitney test ที่ระดับ $\alpha=0.05$
2. ปัจจัยด้าน onset ของการเกิดโรคสะเก็ดเงิน โดยแยกเป็นการเกิดโรคก่อนอายุ 40 ปี [early onset] เทียบกับเกิดโรคลังอายุ 40 ปี [late onset] ทำการทดสอบโดยใช้ Mann-Whitney test ที่ระดับ $\alpha=0.05$
3. ปัจจัยจากเพศ โดยใช้ Mann-Whitney Test ที่ระดับ $\alpha=0.05$
4. ปัจจัยด้านสูบบุหรี่ วิเคราะห์กลุ่มผู้ป่วยที่กำลังสูบบุหรี่และผู้ป่วยไม่เคยสูบบุหรี่หรือเคยสูบบุหรี่แต่หยุดมานานมากกว่า 10 ปี โดยใช้ Mann-Whitney Test ที่ระดับ $\alpha=0.05$
5. ปัจจัยด้าน BMI วิเคราะห์กลุ่มผู้ป่วยที่มี BMI ในเกณฑ์ปกติ และ BMI ที่มากกว่าปกติ โดยใช้ Mann-Whitney Test ที่ระดับ $\alpha=0.05$
6. วิเคราะห์ปัจจัยจากแสงแดดโดยแยกเป็นกลุ่มที่ถูกแดดมากกว่าอยู่ในร่ม กลุ่มที่อยู่ในร่มมากกว่าถูกแดด และกลุ่มที่ถูกแดดและอยู่ในร่มเท่า ๆ กัน ว่าแตกต่างกันหรือไม่ วิเคราะห์โดยใช้ Kruskal-Wallis test ที่ระดับ $\alpha=0.05$

ตารางที่ 25 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่าง ๆ ต่อระดับ IL-22

ปัจจัยที่อาจส่งผลต่อระดับ IL-22		Mean±SD	Test	p-value
Severity	PASI <15	16.4±12.88	Z=2.94	0.003*
	PASI ≥ 15	92.8±64.47		
Onset	Early	62.7±65.93	Z=0.72	0.472
	Late	46.2±53.79		
Sex	Male	65.5±62.98	Z=1.71	0.086
	Female	31.8±51.58		
Smoking	None/Used to	60.12±69.86	Z=0.26	0.792
	Current smoking	49±38.22		
BMI	Normal	59.7±63.73	Z=0.2	0.841
	Over weight	45.1±54.29		
Sun-exposed	Indoor>Outdoor	28.9±36.5	$\chi^2 = 3.465$	0.18
	Outdoor>Indoor	81±69.14		
	Outdoor=Indoor	71.7±74.7		

จากตารางด้านบนแสดงให้เห็นว่า ความรุนแรงของโรคสะเก็ดเงินส่งผลต่อระดับ IL-22 ในซีรัมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยไม่พบว่า อายุที่เริ่มเป็นโรค เพศ การสูบบุหรี่ BMI หรือ การถูกแสงแดดมีผลต่อระดับ IL-22 ของผู้ป่วย

รายงานการศึกษาซีรัม IL-17 และวิเคราะห์ผล

ระดับซีรัม IL-17 พบในผู้ป่วยทั้งสิ้น 2 คนจาก 19 คน (10.53%)

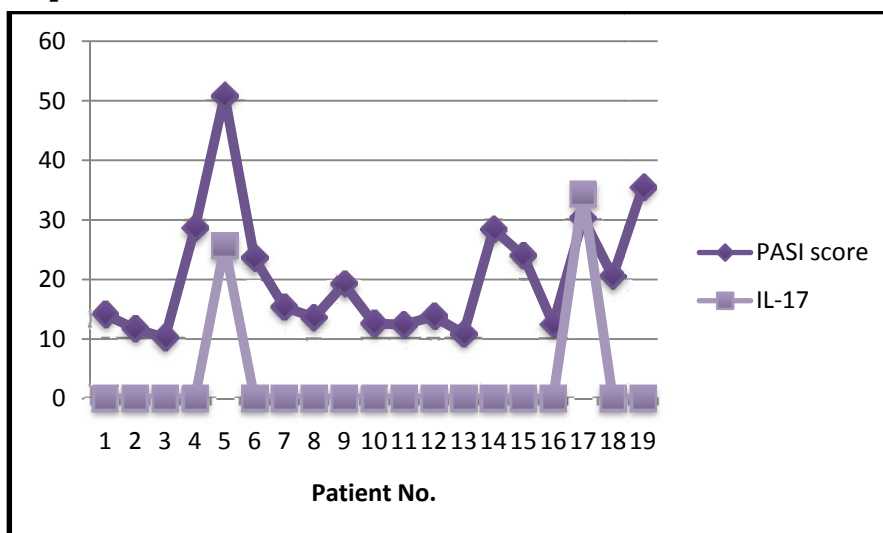
ตารางที่ 26 แสดงระดับซีรัม IL-17 ในกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม

Serum IL-17 [pg/ml]	Control (N=20)	Psoriasis (N=19)
Baseline	0	1.54 ± 6.78
p-value เทียบกับ control		0.142
At 12 week		0
p-value เทียบก่อนและ หลังการรักษา		1.34

จากตารางที่ 26 แสดงให้เห็นว่า ระดับซีรัม IL-17 ที่ baseline ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ [$p=0.142$] และที่ 12 สัปดาห์ระดับซีรัม IL-17 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญก่อนและหลังการรักษา [$p=1.34$]

พบว่าผู้ป่วยที่ตรวจพบ IL-17 ในซีรัมนั้นมีระดับ PASI score ที่สูงมาก [$PASI \geq 30$] ดังแสดงตามแผนภูมิที่ 14

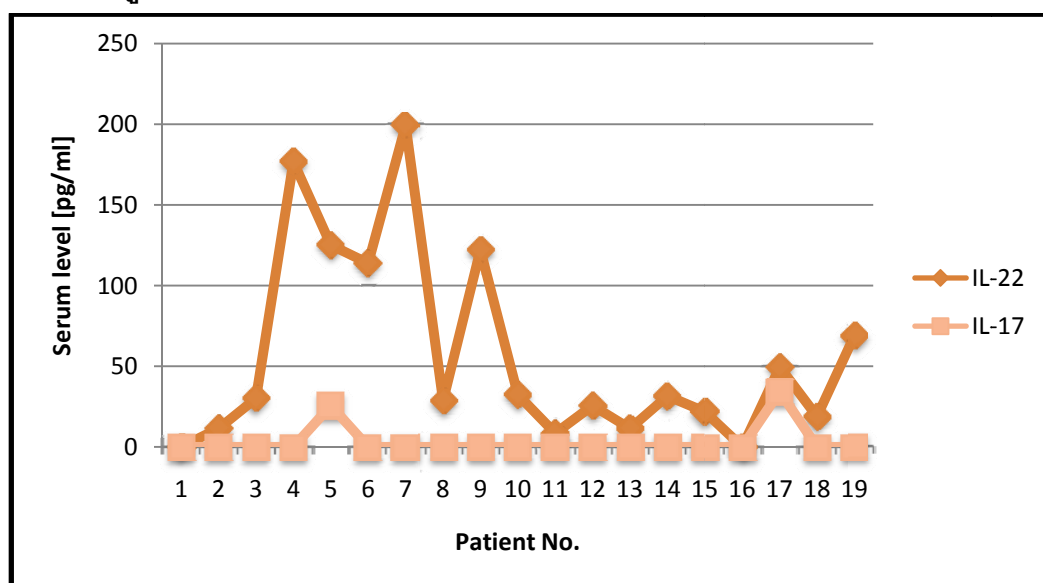
แผนภูมิที่ 14 กราฟแสดงระดับซีรัม IL-17 และ PASI score



วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างซีรัม IL-17 และ PASI score พบว่ามีค่าความสัมพันธ์ $r=0.5$ ซึ่งอยู่ในระดับปานกลางโดยมีความเชื่อมั่นที่ $p=0.03$

วิเคราะห์ความสัมพันธ์เป็น Multivariate analysis โดยดูปัจจัยอิสระ 2 ตัวคือ IL-22 และ IL-17 ที่ส่งผลกระทบต่อ PASI score วิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวจะช่วยลดปัจจัยกวน (confounding factors) อื่น ๆ ที่ไม่เกี่ยวข้อง ก่อนจะทำการวิเคราะห์ต้องพิสูจน์ให้ได้ว่า IL-22 และ IL-17 ไม่มีความเกี่ยวข้องกัน

แผนภูมิที่ 15 กราฟแสดงระดับซีรัม IL-22 และ IL-17 ก่อนการรักษา



จากกราฟด้านบนแสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยที่พบ IL-17 ในซีรัมนั้นมีระดับ IL-22 ที่ค่อนข้างสูง แต่ถ้าเทียบกับผู้ป่วยรายอื่นที่มีระดับ IL-22 สูงกว่า จะพบว่าผู้ป่วยหลายคนที่มีระดับ IL-22 ที่สูงเกิน 100 pg/ml ตรวจไม่พบระดับ IL-17 ในซีรัม นอกจากนี้พบว่า IL-22 และ IL-17 ไม่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง [$r=0.31$, $p=0.202$]

วิเคราะห์โดย Multivariate analysis โดยใช้วิธี Stepwise method

IL-17 มีค่าสหสัมพันธ์กับ PASI score มากที่สุด $r=0.626$ จึงถูกนำไปคิดในสมการก่อน โดย IL-17 ตัวแปรเดียวสามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงของ PASI score ได้ 35.6% [Adjusted R-square= 0.356] เมื่อนำ IL-22 เข้าไปคิดด้วยจะเพิ่มค่า Adjusted R-square เป็น 0.474 พุดได้ว่า เมื่อนำระดับซีรั่ม IL-17 และ IL-22 มาอธิบายการเปลี่ยนแปลงของ PASI score เพียง 2 ตัวนี้จะสามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงของ PASI score ได้ประมาณ 50% อีก 50% ที่เหลือเป็นจากปัจจัยอื่น ๆ

ตารางที่ 27 แสดงการวิเคราะห์สหสัมพันธ์

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.626 ^a	.392	.356	8.49374
2	.730 ^b	.532	.474	7.67730

a. Predictors: (Constant), IL17 ก่อนการรักษา

b. Predictors: (Constant), IL17 ก่อนการรักษา, IL-22 ก่อนการรักษา

ตารางที่ 28 แสดงการวิเคราะห์สหสัมพันธ์

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
2	Regression	1073.244	2	536.622	9.104	.002 ^a
	Residual	943.054	16	58.941		
	Total	2016.298	18			

ตารางที่ 29 แสดงการวิเคราะห์สหสัมพันธ์

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
2	(Constant)	14.356	2.465		5.823	.000
	IL17B	.631	.191	.571	3.305	.004
	IL-22 ก่อนการรักษา	.066	.030	.379	2.193	.043

จากตารางที่ 27 และ 28 สรุปได้ว่าสมการความสัมพันธ์ดังกล่าวเป็นสมการเส้นตรงจริง และสามารถสร้างสมการได้ดังนี้

$$\text{PASI score} = 14.356 + 0.631 [\text{Serum IL-17}] + 0.066 [\text{Serum IL-22}]$$

วิเคราะห์เปรียบเทียบกับการศึกษาอื่น ๆ

ตารางที่ 30 แสดง mean \pm SD ของระดับ IL-22 ในซีรัมก่อนและหลังการรักษาด้วยยา Methotrexate, Etanercept และ Acitretin

Serum IL-22 (pg/ml)	Methotrexate (Our study) N=19	M.Caproni et al (11)	
		Etanercept N=30	Acitretin N=30
Before	56.63 \pm 60.73	50.58 \pm 46.15	52.81 \pm 42.49
p- value		0.669	0.79
After	5.91 \pm 7.97	22.02 \pm 25.36	48.69 \pm 38.5
p- value		<0.001	<0.001

p-value เปรียบเทียบระดับ IL-22 ของ Etanercept และ Acitretin กับ Methotrexate

เปรียบเทียบระดับ IL-22 ก่อนการศึกษาโดยใช้วิธี one sample t-test พบว่าไม่มีความแตกต่างกันของระดับ IL-22 ก่อนการศึกษาตามตาราง

หลังการรักษาพบว่ามีความแตกต่างกันของระดับซีรัม IL-22 โดยพบว่ายา methotrexate สามารถลดระดับ IL-22 เมื่อสิ้นสุดการศึกษาได้มากกว่า etanercept และ acitretin อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลข้างเคียงที่พบได้แก่ คลื่นไส้ แน่นท้องซึ่งพบในผู้ป่วย 2 คน(10.53%) เปรียบเทียบกับผลข้างเคียงที่พบในรายงานก่อนหน้านี้ (112) ที่ใช้ขนาดยา 15 mg/wk เท่ากันพบผลข้างเคียงทางระบบทางเดินอาหารที่น้อยกว่าและไม่พบผลข้างเคียงที่รุนแรง

บทที่ 9

การอภิปรายผลการวิจัย

1. งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า methotrexate สามารถลดระดับ IL-22 หลังการรักษาเมื่อเทียบกับก่อนการรักษาอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่านอกจากการออกฤทธิ์ของยาซึ่งจัดเป็น anti-metabolite drug ทำให้เกิดการยับยั้งการสร้าง DNA ส่งผลให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์ต่าง ๆ ซึ่งเคยเชื่อว่าเป็นกลไกสำคัญของยา methotrexate ในการยับยั้งการแบ่งตัวของ keratinocyte ในโรคสะเก็ดเงิน ปัจจุบันจากความรู้ที่ว่า IL-22 เป็น key cytokine ที่สำคัญในการทำให้การแบ่งตัวและการเจริญของ keratinocyte ที่ผิดปกติ ดังนั้นการที่เราสามารถพิสูจน์ได้ว่ายา methotrexate สามารถลดระดับ IL-22 ในซีรัม กลไกนี้อาจเป็นกลไกหนึ่งของยา methotrexate ในการรักษาโรคสะเก็ดเงิน

จากความรู้ที่เราทราบว่า IL-22 นั้นสร้างมาจาก Th1 และ Th17 cells หลักฐานดังกล่าวข้างต้นอาจเป็นหลักฐานทางอ้อมที่บ่งว่ายา methotrexate นั้นสามารถยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ดังกล่าวในร่างกายได้ด้วย

2. ระดับ IL-22 ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของ cytokine ดังกล่าวในโรคสะเก็ดเงิน การพบ IL-22 ระดับต่ำ ๆ ในซีรัมของผู้ป่วยปกติได้นั้น อาจบ่งได้ว่า cytokine ดังกล่าวอาจมีบทบาทอื่น ๆ นอกเหนือจากการชักนำให้เกิดการแบ่งตัวที่ผิดปกติของเซลล์ผิวหนัง ซึ่งจากความรู้ที่เราทราบว่า IL-22 ยังเป็น cytokine สำคัญในการชักนำให้เกิดการสร้าง anti-microbial peptides ซึ่งจะถูกสร้างขึ้นในช่วงที่มีการติดเชื้อ กระบวนการสร้างหลอดเลือด หรือการหายของแผล กระบวนการดังกล่าวอาจเป็นปัจจัยกวนที่ควบคุมได้ยาก อาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เราตรวจพบระดับ IL-22 ระดับต่ำ ๆ ในกลุ่มควบคุมได้

3. ไม่พบ IL-22 ในซีรัมของผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินชนิด guttate psoriasis ซึ่งทางผู้วิจัยได้เก็บซีรัมก่อนและหลังการรักษาของผู้ป่วย guttate psoriasis จำนวน 3 คน ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า guttate psoriasis นั้นมีการดำเนินโรคค่อนข้างเฉียบพลันกว่า และความรุนแรงที่น้อยกว่า ดังนั้นระดับ IL-22 อาจจะหลังในปริมาณที่น้อยไม่สามารถตรวจพบในซีรัมผู้ป่วยได้ รวมถึงเซลล์อักเสบที่เข้ามาบริเวณรอยโรคก็แตกต่างกับชนิด chronic plaque type เช่น พบ polyclonal T-cells แทนที่

จะเป็น oligoclonal T-cells บ่งว่า antigen ที่กระตุ้น guttate psoriasis เป็น superantigen ในขณะที่ chronic plaque type เป็น specific antigen หรือ self antigen IL-22 นั้นจะกระตุ้นการแบ่งตัวของ keratinocytes ในช่วงที่เป็น chronic phase ไม่ใช่ acute phase

4. เมื่อพิจารณา correlation ระหว่าง PASI score และ serum IL-22 ก่อนการรักษาด้วยยา methotrexate พบว่ามีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงโดย มีค่าความสัมพันธ์กับระดับปานกลาง (fair, $r=0.63$) IL-22 มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของ PASI score เพียง 21% เท่านั้น ส่วนที่เหลือขึ้นกับปัจจัยอื่น ($r^2 = 0.213$) เนื่องจาก keratinocyte proliferation ในระยะที่ผื่นเป็นมาเรื่อยๆ เกิดจาก cytokines, chemokines และ growth factors ต่าง ๆ หลายชนิด เช่น TNF- α , TGF- α , nerve growth factor (NGF), keratinocyte growth factor (KGF), insulin-like growth factor 1, fibroblast growth factor 10, IL-19 อย่างไรก็ตามปัจจุบันเชื่อว่า IL-22 เป็น key mediators ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ terminal differentiation of psoriatic keratinocytes

5. วิเคราะห์เกี่ยวกับปัจจัยต่าง ๆ ที่กระตุ้นให้โรคสะเก็ดเงินเป็นมากขึ้น (Aggravating factors) ต่อระดับซีรัม IL-22 ได้แก่ Age of onset, sex, smoking, sun-exposure รวมถึงภาวะ obesity ไม่พบหลักฐานว่าความเกี่ยวข้องกัน เช่น sun-exposure นั้นเป็นที่ทราบกันว่า NB-UVB สามารถกดภาวะภูมิคุ้มกันและลดระดับ IL-23 ซึ่งเป็น cytokines ที่กระตุ้นการสร้าง IL-22 แต่จากการวิจัยพบว่าแสงแดดที่เราได้รับในชีวิตประจำวัน ไม่ส่งผลกระทบต่อ IL-22 expression ในซีรัม เพราะความเข้มของแสงแดดที่ได้รับไม่เท่ากับปริมาณแสงที่ใช้ในการรักษาซึ่งจะมีความเข้มสูงกว่าปัจจัยเดียวที่พบว่าส่งผลต่อการสร้าง IL-22 คือ ความรุนแรงของโรค โดยพบว่าในกลุ่มที่เป็นโรคสะเก็ดเงินรุนแรง (PASI score ≥ 15) มีระดับ IL-22 มากกว่าผู้ป่วยที่เป็นโรคสะเก็ดเงินรุนแรงปานกลาง (PASI score < 15) 92.81 ± 64.47 pg/ml เทียบกับ 16.43 ± 12.88 pg/ml ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า IL-22 ในซีรัมนั้นมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคสะเก็ดเงิน ผู้ป่วยที่เกิดโรคตั้งแต่อายุยังน้อย มีระดับ IL-22 มากกว่า ผู้ป่วยที่เกิดโรคเมื่ออายุมากแต่ไม่พบว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้ง ๆ ที่ผู้ป่วยที่เกิดโรคตั้งแต่อายุยังน้อยก็มีความรุนแรงของโรคมากกว่าทั้งนี้อาจเกิดเนื่องจากจำนวนผู้ป่วยในแต่ละกลุ่มมีน้อย หากเพิ่มจำนวนมากขึ้นปัจจัยดังกล่าวน่าจะเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อระดับ IL-22

6. เมื่อพิจารณาผู้ป่วยแต่ละรายพบว่า ผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วย methotrexate (PASI score ลดลงมากกว่า 75% ที่ 12 สัปดาห์) นั้นมักจะมีระดับ baseline IL-22 ที่สูง (มากกว่า 50 pg/ml ซึ่งเป็น mean IL-22 baseline) และระดับซีรัม IL-22 จะลดลงเป็น 0 หรือใกล้เคียงเมื่อสิ้นสุดการศึกษาที่ 12 สัปดาห์ ในขณะที่ผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษามักจะมี baseline IL-22 อยู่ในระดับต่ำคือน้อยกว่า 50 pg/ml และจะคงอยู่ใกล้เคียงกับ baseline เมื่อสิ้นสุดการรักษา แต่ทั้งนี้ทั้งนั้นมิได้หมายความว่าผู้ป่วยที่มีระดับ baseline IL-22 ต่ำจะไม่ตอบสนองต่อการรักษาเลย จากการศึกษาพบว่าผู้ป่วยหลายคนที่มีความระดับ cytokine ดังกล่าวว่ามี 75% PASI improvement ได้ที่ 12 สัปดาห์ แต่การทำนายผลของการรักษาด้วยยา methotrexate ด้วยระดับ baseline IL-22 จะมีประโยชน์ในกรณีที่ baseline IL-22 สูง เนื่องจากผู้ป่วยที่มีระดับ IL-22 ที่สูงทุกคนตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา methotrexate ได้ดีและเร็วเนื่องจากผู้ป่วยกลุ่มดังกล่าวสามารถมี 75% PASI improvement ที่ 8 หรือ 12 สัปดาห์

7. เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ M.Caproni et al (11) กับการศึกษาของเราซึ่งเป็น การศึกษาประสิทธิภาพของยาต่อระดับ IL-22 ในซีรัมผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินเป็นเวลา 3 เดือน ในผู้ป่วย ซึ่งเป็น moderate to severe plaque type psoriasis

Acitretin ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของวิตามินเอ นั้นไม่ส่งผลต่อระดับ IL-22 ในซีรัมมากนัก เนื่องจาก กลไกหลักของมัน Acitretin ออกฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวของ keratinocyte โดยไม่ก่การทำงานของ immune cells ซึ่งน่าจะอธิบายได้ว่าเพราะเหตุใด acitretin ใช้รักษาโรคสะเก็ดเงินได้แต่ไม่นิยมใช้ เป็น monotherapy มักจะต้อง ใช้ร่วมกับ immunosuppressive drugs ตัวอื่น

ส่วน etanercept ซึ่งเป็น TNF α inhibitor นั้นสามารถลด IL-22 ได้เนื่องจากมีการพบ ว่า นอกเหนือจากการยับยั้ง TNF- α ซึ่งเป็น proinflammatory และ effector cytokines ที่สำคัญในโรค สะเก็ดเงินแล้วยาสามารถทำให้เกิด apoptosis ของ dermal dendritic cells ที่ 1 เดือนหลังได้รับยา ได้อีกด้วย (11) ทำให้ยาดังกล่าวสามารถลดระดับของซีรัม IL-22 ได้ส่วนหนึ่ง

เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของเราพบว่า methotrexate สามารถลดระดับ IL-22 ได้ มากกว่า etanercept สอดคล้องกับประสิทธิภาพของยาในการรักษาโรคสะเก็ดเงิน ซึ่งพบว่ายา methotrexate สามารถทำให้ผู้ป่วยมีระดับ PASI ที่ลดลง 75% ประมาณ 60-70% ในขณะที่ etanercept นั้น ทำให้ระดับ PASI score ลดลง 75% เมื่อได้ยาขนาด moderate dose (25 mg BIW) โดยประมาณ 50-60% ของผู้ป่วยซึ่งผลดังกล่าวอธิบายได้ว่า methotrexate นั้นออกฤทธิ์กด

ภูมิคุ้มกันได้มากกว่า (broad spectrum) เนื่องจากยาสามารถกดการทำงานได้ทั้ง DCs, T cell และ keratinocytes รวมถึงสามารถลด adhesion molecules expression และ down regulate cytokines มากกว่า etanercept ในขณะที่ etanercept ออกฤทธิ์โดยเป็น immunosuppression ไม่มีผลต่อ keratinocytes และ Acitretin มีผลต่อ keratinocytes แต่ไม่มีผลต่อ immune cells จึงทำให้ประสิทธิภาพของ methotrexate ในการรักษาโรคสะเก็ดเงินเหนือกว่า etanercept และ acitretin

8. ในการศึกษาครั้งนี้ทำในผู้ป่วยสะเก็ดเงินจำนวน 19 รายที่มีระดับ PASI score 20.09 ± 10.58 ซีรัม IL-17 นั้นพบในผู้ป่วยสะเก็ดเงินเพียง 2 คนจาก 19 คน (10.53%) IL-17 ตรวจไม่พบในกลุ่มควบคุม IL-17 ในซีรัมไม่มีความแตกต่างกันระหว่างผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม ($Z=1.47$, $p=0.142$) โดยผู้ป่วยสะเก็ดเงินที่สามารถตรวจพบ IL-17 ดังกล่าวในซีรัมนั้นมีระดับ PASI score ค่อนข้างมากอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเทียบกับผู้ป่วยสะเก็ดเงินคนอื่น ๆ ($PASI \geq 30$) หลังการรักษาด้วยยา methotrexate ไม่พบ IL-17 ในผู้ป่วยทั้งสองคน เมื่อนำมาคิด correlation กับระดับ PASI score พบว่ามีความสัมพันธ์ระดับปานกลาง (fair correlation, $r=0.5$) และมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อคิด multivariate analysis โดยศึกษา IL-22 และ IL-17 ต่อระดับ disease severity พบว่า

- a. IL-17 มีความสัมพันธ์กับ severity มากกว่า IL-22
- b. การเปลี่ยนแปลงของระดับ PASI score อธิบายได้ด้วยการเปลี่ยนแปลงของ IL-17 และ IL-22 ได้ 50% ที่เหลืออาจจะมาจากปัจจัยอื่น ๆ

จะเห็นได้ว่าแม้ IL-17 จะตรวจพบในผู้ป่วยเพียง 2 คน แต่กลับมีผลกระทบต่อความรุนแรงของโรคสะเก็ดเงินค่อนข้างชัดเจน หากเราสามารถคัดเลือกผู้ป่วยที่มีระดับ PASI score ที่มาก น่าจะเห็นผลการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ได้ชัดเจนขึ้น

ปัจจุบันเชื่อว่า T helper 17 มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดโรคสะเก็ดเงิน(113) โดยจะสร้าง IL-17 pro-inflammatory cytokines ที่สำคัญของ Th17 pathway การศึกษาในชิ้นเนื้อผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินพบ CD4+ CD8+ IL17+ T cell ในรอยโรคสะเก็ดเงินมากกว่าผิวหนังของคนปกติ โดยพบ CD8+ IL17+ ที่ epidermis CD4+IL17+ ที่ dermis(114) มีสองการศึกษาเกี่ยวกับ IL-17 ในโรคสะเก็ดเงินซึ่งผลที่ได้มีความแตกต่างกัน Arican O. et al รายงานครั้งแรกเมื่อปี 2005(115) ไม่พบความแตกต่างของซีรัม IL-17 ในผู้ป่วยสะเก็ดเงินเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม การศึกษาดังกล่าวทำในผู้ป่วยสะเก็ดเงินจำนวน 30 คน ที่ระดับ PASI score 9.3 ± 8.15 เทียบกับกลุ่มควบคุม 23 คน พบระดับ IL-17 เท่ากับ 8.3 ± 3.8 , 7.4 ± 3.76 ตามลำดับ แม้จะไม่มี ความแตกต่างกันในผู้ป่วยที่เป็นโรค

และผู้ป่วยปกติ แต่ระดับ cytokine ดังกล่าวมีความสอดคล้องกับความรุนแรงของโรค การศึกษาที่สอง M. Caproni et al รายงานเมื่อปี 2008 (11) พบระดับ IL-17 แตกต่างกันระหว่างผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยศึกษาในผู้ป่วยสะเก็ดเงินทั้งสิ้น 60 คน ระดับ PASI score 21.54 ± 9.09 เทียบกับกลุ่มควบคุม 10 คน โดยในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินมีระดับซีรัม IL-17 สูงถึง 52.86 ± 27.63 pg/ml การศึกษาค้างนี้มีความสอดคล้องกับการศึกษาแรกที่ระดับซีรัม IL-17 ในผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกัน

ทั้งนี้สามารถอธิบายได้ด้วยสาเหตุต่าง ๆ ดังนี้

1. Severity ของโรค หากโรคมีความรุนแรงมากพอจะต้องสามารถตรวจระดับ cytokine ดังกล่าวในซีรัมได้ การประเมินความรุนแรงใช้ PASI score แม้ PASI score ของการศึกษาค้างนี้จะใกล้เคียงกับการศึกษาของ M. Caproni แต่ PASI score ประเมินโดยแพทย์คนละกลุ่มกัน เป็นไปได้ว่าจริง ๆ แล้วระดับความรุนแรงของโรคในผู้ป่วยสะเก็ดเงินของเรามีความรุนแรงน้อยกว่า
2. T helper 17 ซึ่งสร้าง IL-17 นั้นเท่าที่เคยมีรายงานมา พบในรอยโรคของผู้ป่วยสะเก็ดเงิน ไม่มีการศึกษา Th17 ในซีรัมของผู้ป่วย การที่พบในรอยโรคโดยที่ไม่พบในซีรัมนั้น ทำให้ cytokine ที่สร้างไม่มากพอที่จะตรวจพบได้ในกระแสเลือด นอกจากนี้พบว่า myeloid dendritic cells ที่สกัดมาจากรอยโรคของผู้ป่วยสะเก็ดเงินสามารถกระตุ้น Th17 ให้สร้าง IL-17 ได้มากกว่า myeloid dendritic cells ที่สกัดมาจากเลือดของผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินอีกด้วย(114)
3. ความไวของเครื่องมือที่ใช้ และวิธีการทำ ELISA ไม่น่าจะเป็นสาเหตุที่ไม่สามารถตรวจพบ IL-17 เนื่องจาก ELISA ชุด kit ที่ใช้เป็นของ R&D มีความไวสูง สามารถตรวจระดับ IL-17 ที่ต่ำกว่า 15 pg/ml ได้ และ standard curve ที่ได้มีค่า $r^2 = 1$ และยังเป็นชุดเดียวกับที่ใช้ในการศึกษาของ M.Caproni

อภิปรายผลเกี่ยวกับ Research design, Methodology

- งานวิจัยที่เป็น Experimental study ที่ไม่มี control group มาเปรียบเทียบทำให้การสรุปผลไม่สามารถบอกโดยตรงได้ว่า IL-22 หรือ IL-17 ที่ลดลงเป็นผลจากยาจริง เพราะโรคสะเก็ดเงินชนิด moderate to severe plaque-type นั้น สามารถดีขึ้นได้เองประมาณ 2-3% แต่อย่างไรก็ตาม จำนวนผู้ป่วยที่ดีขึ้นได้เองเพียงเล็กน้อยนั้นไม่ส่งผลกระทบต่อการศึกษาครั้งนี้
- ข้อจำกัดที่สำคัญในการศึกษาผู้ป่วยที่เป็นโรคผิวหนังในโรงเรียนแพทย์ คือ selection bias ผู้ป่วยส่วนใหญ่มักเป็นผู้ป่วยที่เป็นมานาน ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยใหม่มีน้อย มักไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วย topical medications ระยะเวลาที่เป็นมานานไม่ได้ส่งผลต่อการวิเคราะห์และตอบคำถามในการวิจัยครั้งนี้ การไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา topical กลับเป็นผลดีต่อการศึกษาเพราะผู้ป่วยดังกล่าวมักมีการดำเนินโรคที่รุนแรง
- Confounding factors ที่อาจส่งผลกระทบต่อระดับ IL-22 ในซีรัม ในการศึกษาครั้งนี้ได้กำจัด confounders ต่าง ๆ ดังนี้
 - ออกแบบการศึกษาโดยให้มีหนึ่งกลุ่มควบคุม เจาะเลือดตรวจระดับ IL-22 เทียบกับผู้ป่วย พบว่าสามารถตรวจพบ IL-22 ได้จริงแต่ผู้ป่วยพบ IL-22 ได้มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ
 - ปัจจัยที่อาจกระตุ้นให้โรคสะเก็ดเงินกำเริบ เช่น แสงแดด การสูบบุหรี่ ความอ้วน ได้นำมาวิเคราะห์ พบว่าไม่ส่งผลต่อระดับ IL-22 ในซีรัม
- Compliance ของผู้ป่วย ได้ทำการอธิบาย ข้อดี ข้อเสีย ผลข้างเคียงที่สำคัญของ Methotrexate รวมถึงการปฏิบัติตัวตามที่แพทย์สั่ง พิจารณา compliance ของผู้ป่วยจากประวัติการรักษาเดิม ก่อนคัดเลือกเข้ามาศึกษา ผู้ป่วยบางคนจำเป็นที่จะต้องมีญาติที่เชื่อถือใจได้มาด้วยเสมอเป็นผู้ที่จัดยาให้ผู้ป่วยรับประทาน ให้ผู้ป่วยนำซองยามาด้วยทุกครั้งที่แพทย์นัดตรวจติดตาม

บทที่ 10

ข้อสรุป และข้อเสนอแนะ

ข้อสรุป

วิทยานิพนธ์นี้เป็นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับซีรัมอินเทอร์ลิวคิน 17 และ 22 ในผู้ป่วยสะเก็ดเงินชนิด moderate to severe plaque type psoriasis จำนวนทั้งสิ้น 19 คน เป็นการศึกษาชนิด experimental before and after study โดย intervention ที่ให้เป็นยา methotrexate ขนาด 15 mg สัปดาห์ละครั้ง ทำการวัดระดับซีรัมอินเทอร์ลิวคิน 17 และ 22 ในซีรัมผู้ป่วยด้วยวิธี ELISA ที่เริ่มต้นการศึกษา และเก็บซีรัมครั้งสุดท้ายเมื่อผู้ป่วยมีระดับ PASI score ดีขึ้น 75% จาก baseline หากไม่ดีขึ้นถึง 75% จะทำการเก็บซีรัมครั้งสุดท้ายที่ 3 เดือนถือว่าสิ้นสุดการศึกษา ผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยสะเก็ดเงินส่วนใหญ่มีระดับซีรัมอินเทอร์ลิวคิน 22 มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อสิ้นสุดการศึกษา ในขณะที่ IL-17 นั้นพบในซีรัมของผู้ป่วยสะเก็ดเงินบางคนโดยไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ หลังจากรักษาด้วยยา methotrexate แล้วไม่สามารถตรวจพบ IL-17 ในซีรัมผู้ป่วย จึงอาจสรุปได้ว่า กลไกหนึ่งของยา Methotrexate ในการรักษาโรคสะเก็ดเงินนั้นน่าจะมาจากการที่ยาดังกล่าวลด การสร้าง T helper 17 cytokines

ข้อจำกัดในการวิจัย

1. จำนวนตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย ยังค่อนข้างน้อย หากสามารถเพิ่มตัวอย่างมากกว่านี้จะสามารถเพิ่ม Power ของงานวิจัยได้มากขึ้น และตอบคำถามต่างๆ ได้ดีขึ้น
2. งบประมาณที่ใช้ในการวิจัยค่อนข้างจำกัด

ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในครั้งต่อไป

1. ศึกษาแยกในกลุ่ม Methotrexate responder และ non-responder วัดระดับ Th-17 cytokines เทียบกัน ว่าในกลุ่ม responder นั้นมีระดับ cytokines ดังกล่าวลดลงมากกว่ากลุ่ม non-responder หรือไม่ ซึ่งทำให้เราสามารถสรุปกลไกการเกิดโรคได้ชัดเจนมากขึ้น เพราะถ้า

หากว่ากลุ่ม non-responder ไม่พบการลดลงของ cytokines ดังกล่าวแปลว่า methotrexate สามารถรักษาโรคสะเก็ดเงินได้โดย down regulate ของ Th-17 cytokines

2. ศึกษาการตอบสนองต่อยา Methotrexate โดยศึกษา pathways ทั้งหมดของ Th17 โดยวัดก่อนและหลังการรักษา ดังนี้
 - a. จำนวน Th 17 cells ทั้งในชั้นเนื้อที่เป็นรอยโรค ชั้นเนื้อปกติ และในเลือด
 - b. ซีรัม IL-6, IL-17 และ IL-22 [Th17 effector cytokines]
3. การศึกษาดังกล่าวหากเป็นไปได้ควรเก็บตัวอย่างเพื่อไปวิเคราะห์ตั้งแต่ 2 สัปดาห์แรกและจากนั้นทุก 2 หรือ 4 สัปดาห์จนถึงสิ้นสุดการศึกษา และหลังจากการศึกษาหรือช่วงที่หยุดยา เพื่อศึกษาแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของ mRNA หรือ cytokines ต่าง ๆ ข้างต้นในช่วง active phase, therapeutic phase และ silent phase
4. ศึกษา Head to head study เกี่ยวกับประสิทธิภาพในการ down regulate Th17 cytokines ระหว่าง conventional therapy แบบต่าง ๆ เทียบกับ biologic drugs

ประโยชน์ในการประยุกต์ผลการวิจัยที่ได้

1. Methotrexate ยังคงเป็น first-line drug ที่มีประสิทธิภาพสูงในการรักษาผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินไม่แพ้ยา biologics กลุ่มใหม่ ๆ
2. ทราบถึงกลไกการออกฤทธิ์ด้าน anti-inflammatory ของ Methotrexate ที่กุดการสร้าง cytokines นอกเหนือจาก antiproliferative ของยา
3. IL-22 สามารถเป็น biomarker ที่ดีตัวหนึ่งสำหรับติดตามการรักษาและการตอบสนองต่อยาในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินต่อไปในอนาคต
4. ประยุกต์ใช้ยา Methotrexate ในการรักษาโรคต่าง ๆ ที่มีกลไกการเกิดโรคผ่านทาง Th17 เช่น กลุ่ม autoimmune disease เช่น Rheumatoid arthritis, SLE, Multiple sclerosis กลุ่ม asthma และ allergic diseases เช่น atopic dermatitis และ contact hypersensitivity ในกลุ่มหลังอาจจะเป็นยาในรูปแบบทา ซึ่งจะส่งผลดีต่อการรักษาเนื่องจากเป็น steroid sparing drug

รายการอ้างอิง

- (1) Lee E, Trepicchio WL, Oestreicher JL, Pittman D, Wang F, Chamian F, et al.
Increased expression of interleukin 23 p19 and p40 in lesional skin of patients with psoriasis vulgaris. J Exp Med 2004 Jan 5;199(1):125-30.
- (2) Lew W, Lee E, Krueger JG. Psoriasis genomics: analysis of proinflammatory (type 1) gene expression in large plaque (Western) and small plaque (Asian) psoriasis vulgaris. Br J Dermatol 2004 Apr;150(4):668-76.
- (3) Shaker OG, Moustafa W, Essmat S, Abdel-Halim M, El Komy M. The role of interleukin-12 in the pathogenesis of psoriasis. Clin Biochem 2006 Feb;39(2):119-25.
- (4) Kauffman CL, Aria N, Toichi E, McCormick TS, Cooper KD, Gottlieb AB, et al. A phase I study evaluating the safety, pharmacokinetics, and clinical response of a human IL-12 p40 antibody in subjects with plaque psoriasis. J Invest Dermatol 2004 Dec;123(6):1037-44.
- (5) Jeffes EW, III, McCullough JL, Pittelkow MR, McCormick A, Almanzor J, Liu G, et al. Methotrexate therapy of psoriasis: differential sensitivity of proliferating lymphoid and epithelial cells to the cytotoxic and growth-inhibitory effects of methotrexate. J Invest Dermatol 1995 Feb;104(2):183-8.
- (6) Sigmundsdottir H, Johnston A, Gudjonsson JE, Bjarnason B, Valdimarsson H. Methotrexate markedly reduces the expression of vascular E-selectin, cutaneous lymphocyte-associated antigen and the numbers of mononuclear leucocytes in psoriatic skin. Exp Dermatol 2004 Jul;13(7):426-34.
- (7) Piskin G, Tursen U, Sylva-Steenland RM, Bos JD, Teunissen MB. Clinical improvement in chronic plaque-type psoriasis lesions after narrow-band UVB therapy is accompanied by a decrease in the expression of IFN-gamma inducer IL-12, IL-18 and IL-23. Exp Dermatol 2004 Dec;13(12):764-72.

- (8) Chamian F, Lowes MA, Lin SL, Lee E, Kikuchi T, Gilleaudeau P, et al. Alefacept reduces infiltrating T cells, activated dendritic cells, and inflammatory genes in psoriasis vulgaris. Proc Natl Acad Sci U S A 2005 Feb 8;102(6):2075-80.
- (9) Gottlieb AB, Chamian F, Masud S, Cardinale I, Abello MV, Lowes MA, et al. TNF inhibition rapidly down-regulates multiple proinflammatory pathways in psoriasis plaques. J Immunol 2005 Aug 15;175(4):2721-9.
- (10) Kageyama Y, Ichikawa T, Nagafusa T, Torikai E, Shimazu M, Nagano A. Etanercept reduces the serum levels of interleukin-23 and macrophage inflammatory protein-3 alpha in patients with rheumatoid arthritis. Rheumatol Int 2007 Dec;28(2):137-43.
- (11) Caproni M, Antiga E, Melani L, Volpi W, Del BE, Fabbri P. Serum Levels of IL-17 and IL-22 Are Reduced by Etanercept, but not by Acitretin, in Patients with Psoriasis: a Randomized-Controlled Trial. J Clin Immunol 2008 Sep 2.
- (12) Jeffes EW, III, McCullough JL, Pittelkow MR, McCormick A, Almanzor J, Liu G, et al. Methotrexate therapy of psoriasis: differential sensitivity of proliferating lymphoid and epithelial cells to the cytotoxic and growth-inhibitory effects of methotrexate. J Invest Dermatol 1995 Feb;104(2):183-8.
- (13) Liu HN, Wong CK. In vitro immunosuppressive effects of methotrexate and azathioprine on Langerhans cells. Arch Dermatol Res 1997 Jan;289(2):94-7.
- (14) Sigmundsdottir H, Johnston A, Gudjonsson JE, Bjarnason B, Valdimarsson H. Methotrexate markedly reduces the expression of vascular E-selectin, cutaneous lymphocyte-associated antigen and the numbers of mononuclear leucocytes in psoriatic skin. Exp Dermatol 2004 Jul;13(7):426-34.
- (15) Bjerring P, Beck HI, Zachariae H, Sogaard H. Topical treatment of psoriatic skin with methotrexate cream: a clinical, pharmacokinetic, and histological study. Acta Derm Venereol 1986;66(6):515-9.

- (16) Stewart WD, Wallace SM, Runikis JO. Absorption and local action of methotrexate in human and mouse skin. Arch Dermatol 1972 Sep;106(3):357-61.
- (17) Cronstein BN, Naime D, Ostad E. The antiinflammatory mechanism of methotrexate. Increased adenosine release at inflamed sites diminishes leukocyte accumulation in an in vivo model of inflammation. J Clin Invest 1993 Dec;92(6):2675-82.
- (18) Leung DY, Gately M, Trumble A, Ferguson-Darnell B, Schlievert PM, Picker LJ. Bacterial superantigens induce T cell expression of the skin-selective homing receptor, the cutaneous lymphocyte-associated antigen, via stimulation of interleukin 12 production. J Exp Med 1995 Feb 1;181(2):747-53.
- (19) Raab M, Daxecker H, Markovic S, Karimi A, Griesmacher A, Mueller MM. Variation of adhesion molecule expression on human umbilical vein endothelial cells upon multiple cytokine application. Clin Chim Acta 2002 Jul;321(1-2):11-6.
- (20) Torres-Alvarez B, Castanedo-Cazares JP, Fuentes-Ahumada C, Moncada B. The effect of methotrexate on the expression of cell adhesion molecules and activation molecule CD69 in psoriasis. J Eur Acad Dermatol Venereol 2007 Mar;21(3):334-9.
- (21) Mallon E, Bunce M, Savoie H, Rowe A, Newson R, Gotch F, et al. HLA-C and guttate psoriasis. Br J Dermatol 2000 Dec;143(6):1177-82.
- (22) Telfer NR, Chalmers RJ, Whale K, Colman G. The role of streptococcal infection in the initiation of guttate psoriasis. Arch Dermatol 1992 Jan;128(1):39-42.
- (23) Chalmers RJ, O'Sullivan T, Owen CM, Griffiths CE. A systematic review of treatments for guttate psoriasis. Br J Dermatol 2001 Dec;145(6):891-4.
- (24) Lew W, Bowcock AM, Krueger JG. Psoriasis vulgaris: cutaneous lymphoid tissue supports T-cell activation and "Type 1" inflammatory gene expression. Trends Immunol 2004 Jun;25(6):295-305.
- (25) Wittenberg GP, Oursler JR, Peters MS. Secondary amyloidosis complicating psoriasis. J Am Acad Dermatol 1995 Mar;32(3):465-8.

- (26) Gelfand JM, Neimann AL, Shin DB, Wang X, Margolis DJ, Troxel AB. Risk of Myocardial infarction in patients with psoriasis. JAMA 2006 Oct 11;296(14):1735-41.
- (27) Gelfand JM, Shin DB, Neimann AL, Wang X, Margolis DJ, Troxel AB. The risk of lymphoma in patients with psoriasis. J Invest Dermatol 2006 Oct;126(10):2194-201.
- (28) Rapp SR, Feldman SR, Exum ML, Fleischer AB, Jr., Reboussin DM. Psoriasis causes as much disability as other major medical diseases. J Am Acad Dermatol 1999 Sep;41(3 Pt 1):401-7.
- (29) Herron MD, Hinckley M, Hoffman MS, Papenfuss J, Hansen CB, Callis KP, et al. Impact of obesity and smoking on psoriasis presentation and management. Arch Dermatol 2005 Dec;141(12):1527-34.
- (30) Gudjonsson JE, Thorarinsson AM, Sigurgeirsson B, Kristinsson KG, Valdimarsson H. Streptococcal throat infections and exacerbation of chronic plaque psoriasis: a prospective study. Br J Dermatol 2003 Sep;149(3):530-4.
- (31) Duvic M, Johnson TM, Rapini RP, Freese T, Brewton G, Rios A. Acquired immunodeficiency syndrome-associated psoriasis and Reiter's syndrome. Arch Dermatol 1987 Dec;123(12):1622-32.
- (32) Voorhees JJ. Pathophysiology of psoriasis. Annu Rev Med 1977;28:467-73.
- (33) Mueller W, Herrmann B. Cyclosporin A for psoriasis. N Engl J Med 1979 Sep 6;301(10):555.
- (34) Nicolas JF, Chamchick N, Thivolet J, Wijdenes J, Morel P, Revillard JP. CD4 antibody treatment of severe psoriasis. Lancet 1991 Aug 3;338(8762):321.
- (35) Gottlieb SL, Gilleaudeau P, Johnson R, Estes L, Woodworth TG, Gottlieb AB, et al. Response of psoriasis to a lymphocyte-selective toxin (DAB389IL-2) suggests a primary immune, but not keratinocyte, pathogenic basis. Nat Med 1995 May;1(5):442-7.
- (36) Eedy DJ, Burrows D, Bridges JM, Jones FG. Clearance of severe psoriasis after allogenic bone marrow transplantation. BMJ 1990 Apr 7;300(6729):908.

- (37) Gardembas-Pain M, Ifrah N, Foussard C, Boasson M, Saint Andre JP, Verret JL. Psoriasis after allogeneic bone marrow transplantation. Arch Dermatol 1990 Nov;126(11):1523.
- (38) Boehncke WH, Dressel D, Zollner TM, Kaufmann R. Pulling the trigger on psoriasis. Nature 1996 Feb 29;379(6568):777.
- (39) Nickoloff BJ, Kunkel SL, Burdick M, Strieter RM. Severe combined immunodeficiency mouse and human psoriatic skin chimeras. Validation of a new animal model. Am J Pathol 1995 Mar;146(3):580-8.
- (40) Wrone-Smith T, Nickoloff BJ. Dermal injection of immunocytes induces psoriasis. J Clin Invest 1996 Oct 15;98(8):1878-87.
- (41) Cresswell P, Ackerman AL, Giodini A, Peaper DR, Wearsch PA. Mechanisms of MHC class I-restricted antigen processing and cross-presentation. Immunol Rev 2005 Oct;207:145-57.
- (42) Baker BS, Bokth S, Powles A, Garioch JJ, Lewis H, Valdimarsson H, et al. Group A streptococcal antigen-specific T lymphocytes in guttate psoriatic lesions. Br J Dermatol 1993 May;128(5):493-9.
- (43) Brown DW, Baker BS, Ovigne JM, Hardman C, Powles AV, Fry L. Skin CD4+ T cells produce interferon-gamma in vitro in response to streptococcal antigens in chronic plaque psoriasis. J Invest Dermatol 2000 Mar;114(3):576-80.
- (44) Terajima S, Higaki M, Igarashi Y, Nogita T, Kawashima M. An important role of tumor necrosis factor-alpha in the induction of adhesion molecules in psoriasis. Arch Dermatol Res 1998 May;290(5):246-52.
- (45) Homey B, Alenius H, Muller A, Soto H, Bowman EP, Yuan W, et al. CCL27-CCR10 interactions regulate T cell-mediated skin inflammation. Nat Med 2002 Feb;8(2):157-65.
- (46) Soler D, Humphreys TL, Spinola SM, Campbell JJ. CCR4 versus CCR10 in human cutaneous TH lymphocyte trafficking. Blood 2003 Mar 1;101(5):1677-82.

- (47) Teraki Y, Miyake A, Takebayashi R, Shiohara T. Homing receptor and chemokine receptor on intraepidermal T cells in psoriasis vulgaris. Clin Exp Dermatol 2004 Nov;29(6):658-63.
- (48) Rottman JB, Smith TL, Ganley KG, Kikuchi T, Krueger JG. Potential role of the chemokine receptors CXCR3, CCR4, and the integrin alphaEbeta7 in the pathogenesis of psoriasis vulgaris. Lab Invest 2001 Mar;81(3):335-47.
- (49) Teraki Y, Miyake A, Takebayashi R, Shiohara T. Homing receptor and chemokine receptor on intraepidermal T cells in psoriasis vulgaris. Clin Exp Dermatol 2004 Nov;29(6):658-63.
- (50) Griffiths CE, Voorhees JJ, Nickoloff BJ. Characterization of intercellular adhesion molecule-1 and HLA-DR expression in normal and inflamed skin: modulation by recombinant gamma interferon and tumor necrosis factor. J Am Acad Dermatol 1989 Apr;20(4):617-29.
- (51) Bos JD, Hagenaars C, Das PK, Krieg SR, Voorn WJ, Kapsenberg ML. Predominance of "memory" T cells (CD4+, CDw29+) over "naive" T cells (CD4+, CD45R+) in both normal and diseased human skin. Arch Dermatol Res 1989;281(1):24-30.
- (52) Bovenschen HJ, Seyger MM, Van de Kerkhof PC. Plaque psoriasis vs. atopic dermatitis and lichen planus: a comparison for lesional T-cell subsets, epidermal proliferation and differentiation. Br J Dermatol 2005 Jul;153(1):72-8.
- (53) Mrowietz U, Koch WA, Zhu K, Wiedow O, Bartels J, Christophers E, et al. Psoriasis scales contain C5a as the predominant chemotaxin for monocyte-derived dendritic cells. Exp Dermatol 2001 Aug;10(4):238-45.
- (54) Wetzal A, Wetzig T, Haustein UF, Sticherling M, Andereg U, Simon JC, et al. Increased neutrophil adherence in psoriasis: role of the human endothelial cell receptor Thy-1 (CD90). J Invest Dermatol 2006 Feb;126(2):441-52.
- (55) Kunz S, Wolk K, Witte E, Witte K, Doecke WD, Volk HD, et al. Interleukin (IL)-19, IL-20 and IL-24 are produced by and act on keratinocytes and are distinct from classical ILs. Exp Dermatol 2006 Dec;15(12):991-1004.

- (56) Wolk K, Kunz S, Witte E, Friedrich M, Asadullah K, Sabat R. IL-22 increases the innate immunity of tissues. Immunity 2004 Aug;21(2):241-54.
- (57) Wolk K, Witte E, Wallace E, Docke WD, Kunz S, Asadullah K, et al. IL-22 regulates the expression of genes responsible for antimicrobial defense, cellular differentiation, and mobility in keratinocytes: a potential role in psoriasis. Eur J Immunol 2006 May;36(5):1309-23.
- (58) Wolk K, Kunz S, Asadullah K, Sabat R. Cutting edge: immune cells as sources and targets of the IL-10 family members? J Immunol 2002 Jun 1;168(11):5397-402.
- (59) Liang SC, Tan XY, Luxenberg DP, Karim R, Dunussi-Joannopoulos K, Collins M, et al. Interleukin (IL)-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides. J Exp Med 2006 Oct 2;203(10):2271-9.
- (60) Wolk K, Kunz S, Asadullah K, Sabat R. Cutting edge: immune cells as sources and targets of the IL-10 family members? J Immunol 2002 Jun 1;168(11):5397-402.
- (61) Cargill M, Schrodi SJ, Chang M, Garcia VE, Brandon R, Callis KP, et al. A large-scale genetic association study confirms IL12B and leads to the identification of IL23R as psoriasis-risk genes. Am J Hum Genet 2007 Feb;80(2):273-90.
- (62) Wollenberg A, Wagner M, Gunther S, Towarowski A, Tuma E, Moderer M, et al. Plasmacytoid dendritic cells: a new cutaneous dendritic cell subset with distinct role in inflammatory skin diseases. J Invest Dermatol 2002 Nov;119(5):1096-102.
- (63) Cameron AL, Kirby B, Fei W, Griffiths CE. Natural killer and natural killer-T cells in psoriasis. Arch Dermatol Res 2002 Nov;294(8):363-9.
- (64) Owen CM, Chalmers RJ, O'Sullivan T, Griffiths CE. A systematic review of antistreptococcal interventions for guttate and chronic plaque psoriasis. Br J Dermatol 2001 Dec;145(6):886-90.

- (65) McFadden J, Valdimarsson H, Fry L. Cross-reactivity between streptococcal M surface antigen and human skin. Br J Dermatol 1991 Nov;125(5):443-7.
- (66) Gudmundsdottir AS, Sigmundsdottir H, Sigurgeirsson B, Good MF, Valdimarsson H, Jonsdottir I. Is an epitope on keratin 17 a major target for autoreactive T lymphocytes in psoriasis? Clin Exp Immunol 1999 Sep;117(3):580-6.
- (67) de Jong EM, van V, I, van Erp PE, Ramaekers FC, Troyanovski SM, van de Kerkhof PC. Keratin 17: a useful marker in anti-psoriatic therapies. Arch Dermatol Res 1991;283(7):480-2.
- (68) Bockelmann R, Horn T, Gollnick H, Bonnekoh B. Interferon-gamma-dependent in vitro model for the putative keratin 17 autoimmune loop in psoriasis: exploration of pharmaco- and gene-therapeutic effects. Skin Pharmacol Physiol 2005 Jan;18(1):42-54.
- (69) Girardi M. Cutaneous biology of gammadelta T cells. Adv Dermatol 2004;20:203-15.
- (70) Girardi M, Lewis J, Glusac E, Filler RB, Geng L, Hayday AC, et al. Resident skin-specific gammadelta T cells provide local, nonredundant regulation of cutaneous inflammation. J Exp Med 2002 Apr 1;195(7):855-67.
- (71) Sugiyama H, Gyulai R, Toichi E, Garaczi E, Shimada S, Stevens SR, et al. Dysfunctional blood and target tissue CD4+CD25high regulatory T cells in psoriasis: mechanism underlying unrestrained pathogenic effector T cell proliferation. J Immunol 2005 Jan 1;174(1):164-73.
- (72) Hancock GE, Kaplan G, Cohn ZA. Keratinocyte growth regulation by the products of immune cells. J Exp Med 1988 Oct 1;168(4):1395-402.
- (73) Rogalski C, Meyer-Hoffert U, Proksch E, Wiedow O. Human leukocyte elastase induces keratinocyte proliferation in vitro and in vivo. J Invest Dermatol 2002 Jan;118(1):49-54.
- (74) Numerof RP, Asadullah K. Cytokine and anti-cytokine therapies for psoriasis and atopic dermatitis. BioDrugs 2006;20(2):93-103.

- (75) Schultz GS, White M, Mitchell R, Brown G, Lynch J, Twardzik DR, et al. Epithelial wound healing enhanced by transforming growth factor-alpha and vaccinia growth factor. Science 1987 Jan 16;235(4786):350-2.
- (76) Elder JT, Fisher GJ, Lindquist PB, Bennett GL, Pittelkow MR, Coffey RJ, Jr., et al. Overexpression of transforming growth factor alpha in psoriatic epidermis. Science 1989 Feb 10;243(4892):811-4.
- (77) Raychaudhuri SP, Sanyal M, Weltman H, Kundu-Raychaudhuri S. K252a, a high-affinity nerve growth factor receptor blocker, improves psoriasis: an in vivo study using the severe combined immunodeficient mouse-human skin model. J Invest Dermatol 2004 Mar;122(3):812-9.
- (78) Wolk K, Kunz S, Asadullah K, Sabat R. Cutting edge: immune cells as sources and targets of the IL-10 family members? J Immunol 2002 Jun 1;168(11):5397-402.
- (79) Wolk K, Witte E, Wallace E, Docke WD, Kunz S, Asadullah K, et al. IL-22 regulates the expression of genes responsible for antimicrobial defense, cellular differentiation, and mobility in keratinocytes: a potential role in psoriasis. Eur J Immunol 2006 May;36(5):1309-23.
- (80) Harder J, Schroder JM. Psoriatic scales: a promising source for the isolation of human skin-derived antimicrobial proteins. J Leukoc Biol 2005 Apr;77(4):476-86.
- (81) Chan JR, Blumenschein W, Murphy E, Diveu C, Wiekowski M, Abbondanzo S, et al. IL-23 stimulates epidermal hyperplasia via TNF and IL-20R2-dependent mechanisms with implications for psoriasis pathogenesis. J Exp Med 2006 Nov 27;203(12):2577-87.
- (82) Sano S, Chan KS, Carbajal S, Clifford J, Peavey M, Kiguchi K, et al. Stat3 links activated keratinocytes and immunocytes required for development of psoriasis in a novel transgenic mouse model. Nat Med 2005 Jan;11(1):43-9.
- (83) Hunter CA. New IL-12-family members: IL-23 and IL-27, cytokines with divergent functions. Nat Rev Immunol 2005 Jul;5(7):521-31.

- (84) Robertson MJ, Ritz J. Interleukin 12: Basic Biology and Potential Applications in Cancer Treatment. Oncologist 1996;1(1 & 2):88-97.
- (85) Hunter CA. New IL-12-family members: IL-23 and IL-27, cytokines with divergent functions. Nat Rev Immunol 2005 Jul;5(7):521-31.
- (86) Hong K, Chu A, Ludviksson BR, Berg EL, Ehrhardt RO. IL-12, independently of IFN-gamma, plays a crucial role in the pathogenesis of a murine psoriasis-like skin disorder. J Immunol 1999 Jun 15;162(12):7480-91.
- (87) Kopp T, Kieffer JD, Rot A, Strommer S, Stingl G, Kupper TS. Inflammatory skin disease in K14/p40 transgenic mice: evidence for interleukin-12-like activities of p40. J Invest Dermatol 2001 Sep;117(3):618-26.
- (88) Kopp T, Lenz P, Bello-Fernandez C, Kastelein RA, Kupper TS, Stingl G. IL-23 production by cosecretion of endogenous p19 and transgenic p40 in keratin 14/p40 transgenic mice: evidence for enhanced cutaneous immunity. J Immunol 2003 Jun 1;170(11):5438-44.
- (89) Lew W, Lee E, Krueger JG. Psoriasis genomics: analysis of proinflammatory (type 1) gene expression in large plaque (Western) and small plaque (Asian) psoriasis vulgaris. Br J Dermatol 2004 Apr;150(4):668-76.
- (90) Shaker OG, Moustafa W, Essmat S, Abdel-Halim M, El Komy M. The role of interleukin-12 in the pathogenesis of psoriasis. Clin Biochem 2006 Feb;39(2):119-25.
- (91) Hong K, Chu A, Ludviksson BR, Berg EL, Ehrhardt RO. IL-12, independently of IFN-gamma, plays a crucial role in the pathogenesis of a murine psoriasis-like skin disorder. J Immunol 1999 Jun 15;162(12):7480-91.
- (92) Kopp T, Kieffer JD, Rot A, Strommer S, Stingl G, Kupper TS. Inflammatory skin disease in K14/p40 transgenic mice: evidence for interleukin-12-like activities of p40. J Invest Dermatol 2001 Sep;117(3):618-26.
- (93) Kopp T, Lenz P, Bello-Fernandez C, Kastelein RA, Kupper TS, Stingl G. IL-23 production by cosecretion of endogenous p19 and transgenic p40 in keratin 14/p40 transgenic mice: evidence for enhanced cutaneous immunity. J Immunol 2003 Jun 1;170(11):5438-44.

- (94) Lew W, Lee E, Krueger JG. Psoriasis genomics: analysis of proinflammatory (type 1) gene expression in large plaque (Western) and small plaque (Asian) psoriasis vulgaris. Br J Dermatol 2004 Apr;150(4):668-76.
- (95) Shaker OG, Moustafa W, Essmat S, Abdel-Halim M, El Komy M. The role of interleukin-12 in the pathogenesis of psoriasis. Clin Biochem 2006 Feb;39(2):119-25.
- (96) Shaker OG, Moustafa W, Essmat S, Abdel-Halim M, El Komy M. The role of interleukin-12 in the pathogenesis of psoriasis. Clin Biochem 2006 Feb;39(2):119-25.
- (97) Yawalkar N, Karlen S, Hunger R, Brand CU, Braathen LR. Expression of interleukin-12 is increased in psoriatic skin. J Invest Dermatol 1998 Dec;111(6):1053-7.
- (98) Economidou J, Barkis J, Demetriou Z, Avgerinou G, Psarra K, Degiannis D, et al. Effects of cyclosporin A on immune activation markers in patients with active psoriasis1. Dermatology 1999;199(2):144-8.
- (99) Jacob SE, Nassiri M, Kerdel FA, Vincek V. Simultaneous measurement of multiple Th1 and Th2 serum cytokines in psoriasis and correlation with disease severity. Mediators Inflamm 2003 Oct;12(5):309-13.
- (100) Kauffman CL, Aria N, Toichi E, McCormick TS, Cooper KD, Gottlieb AB, et al. A phase I study evaluating the safety, pharmacokinetics, and clinical response of a human IL-12 p40 antibody in subjects with plaque psoriasis. J Invest Dermatol 2004 Dec;123(6):1037-44.
- (101) Krueger GG, Langley RG, Leonardi C, Yeilding N, Guzzo C, Wang Y, et al. A human interleukin-12/23 monoclonal antibody for the treatment of psoriasis. N Engl J Med 2007 Feb 8;356(6):580-92.
- (102) Leonardi CL, Kimball AB, Papp KA, Yeilding N, Guzzo C, Wang Y, et al. Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 76-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 1). Lancet 2008 May 17;371(9625):1665-74.

- (103) Papp KA, Langley RG, Lebwohl M, Krueger GG, Szapary P, Yeilding N, et al. Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 52-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 2). Lancet 2008 May 17;371(9625):1675-84.
- (104) Kimball AB, Gordon KB, Langley RG, Menter A, Chartash EK, Valdes J. Safety and efficacy of ABT-874, a fully human interleukin 12/23 monoclonal antibody, in the treatment of moderate to severe chronic plaque psoriasis: results of a randomized, placebo-controlled, phase 2 trial. Arch Dermatol 2008 Feb;144(2):200-7.
- (105) GUBNER R, AUGUST S, GINSBERG V. Therapeutic suppression of tissue reactivity. II. Effect of aminopterin in rheumatoid arthritis and psoriasis. Am J Med Sci 1951 Feb;221(2):176-82.
- (106) Roenigk HH, Jr., Maibach HI, Weinstein GP. Methotrexate therapy for psoriasis. Guideline revisions. Arch Dermatol 1973 Jul;108(1):35.
- (107) Roenigk HH, Jr., Auerbach R, Maibach HI, Weinstein GD. Methotrexate guidelines-revised. J Am Acad Dermatol 1982 Feb;6(2):145-55.
- (108) Whiting-O'Keefe QE, Fye KH, Sack KD. Methotrexate and histologic hepatic abnormalities:a meta-analysis2. Am J Med 1991 Jun;90(6):711-6.
- (109) Duhra P. Treatment of gastrointestinal symptoms associated with methotrexate therapy for psoriasis1. J Am Acad Dermatol 1993 Mar;28(3):466-9.
- (110) Morison WL, Momtaz K, Parrish JA, Fitzpatrick TB. Combined methotrexate-PUVA therapy in the treatment of psoriasis. J Am Acad Dermatol 1982 Jan;6(1):46-51.
- (111) Chamian F, Lowes MA, Lin SL, Lee E, Kikuchi T, Gilleaudeau P, et al. Alefacept reduces infiltrating T cells, activated dendritic cells, and inflammatory genes in psoriasis vulgaris. Proc Natl Acad Sci U S A 2005 Feb 8;102(6):2075-80.
- (112) Duhra P. Treatment of gastrointestinal symptoms associated with methotrexate therapy for psoriasis. J Am Acad Dermatol 1993 Mar;28(3):466-9.

- (113) Wilson NJ, Boniface K, Chan JR, McKenzie BS, Blumenschein WM, Mattson JD, et al. Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells. Nat Immunol 2007 Sep;8(9):950-7.
- (114) Kryczek I, Bruce AT, Gudjonsson JE, Johnston A, Aphale A, Vatan L, et al. Induction of IL-17+ T cell trafficking and development by IFN-gamma: mechanism and pathological relevance in psoriasis. J Immunol 2008 Oct 1;181(7):4733-41.
- (115) Arican O, Aral M, Sasmaz S, Ciragil P. Serum levels of TNF-alpha, IFN-gamma, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, and IL-18 in patients with active psoriasis and correlation with disease severity. Mediators Inflamm 2005 Oct 24;2005(5):273-9.
- (116) Sabat R, Philipp S, Hoflich C, Kreutzer S, Wallace E, Asadullah K, et al. Immunopathogenesis of psoriasis. Exp Dermatol 2007 Oct;16(10):779-98.
- (117) Sandhu K, Kaur I, Kumar B, Saraswat A. Efficacy and safety of cyclosporine versus methotrexate in severe psoriasis: a study from north India. J Dermatol 2003 Jun;30(6):458-63.
- (118) Heydendael VM, Spuls PI, Opmeer BC, de Borgie CA, Reitsma JB, Goldschmidt WF, et al. Methotrexate versus cyclosporine in moderate-to-severe chronic plaque psoriasis. N Engl J Med 2003 Aug 14;349(7):658-65.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

Formula for calculation of PASI score

Score	0	1	2	3	4	5	6
Erythema							
Induration	none	slight	moderate	severe	Very		
Scaling					severe		
Area%	0	1-9	10-29	30-49	50-69	70-89	90-100

Head =0.1

Upper limbs =0.2

Trunk =0.3

Lower limbs =0.4

PASI score = Total (H) + Total (UL) + Total (T) + Total (LL)

Total (H) = [E(H)+I(H)+S(H)] x area x 0.1

Total (UL) = [E(UL)+I(UL)+S(UL)] x area x 0.2

Total (T) = [E(T)+I(T)+S(T)] x area x 0.3

Total (LL) = [E(LL)+I(LL)+S(LL)] x area x 0.4

ภาคผนวก ข

แบบบันทึกข้อมูล

ID.....

Personal data	
1. เพศ	
2. อายุ	
3. น้ำหนัก/ส่วนสูง	
4. อาชีพรุ่มมากกว่าแดดแดดมากกว่ารุ่มรุ่มเท่ากับแดด
5. โรคประจำตัว	
6. ยาที่รับประทานปัจจุบัน	
7. สูบบุหรี่ไม่เคยสูบบุหรี่เลิกมานานกว่า 10 ปีสูบบุหรี่.....
8. อายุที่เริ่มเป็นโรค/ ระยะเวลาที่เป็นโรค	
9. เป็นโรคครั้งแรกใช่หรือไม่/ ครั้งนี้เป็นมานาน	
10. มีคนในครอบครัวเป็นโรคหรือไม่/ จำนวนกี่คน	

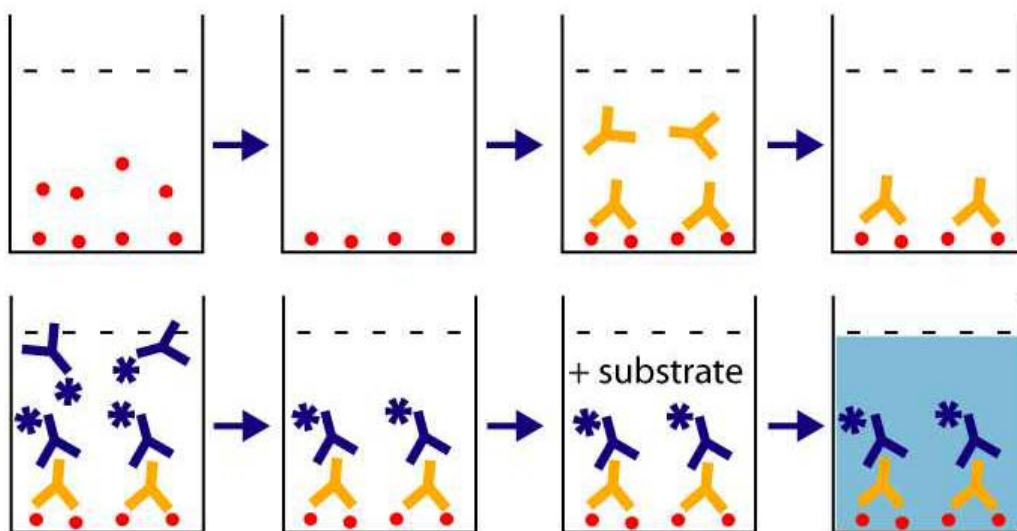
PHYSICAL EXAMINATION		
อาการทางข้อสะเก็ดเงิน	NO	YES
รอยโรคที่เล็บ	NO	YES
รอยโรคที่หน้า	NO	YES
พบความผิดปกติของการตรวจร่างกายระบบอื่น ๆ	NO	YES
ระบุ		

HISTORY OF TREATMENT		
MEDICATION	ใช้อยู่มานาน	หยุดมานาน
● Topical steroid		
● Topical LCD		
● Topical VitD3		
● Methotrexate		
● Retinoid		
● Phototherapy		
● Biologic treatment		
● Others		

PASI and SERUM INTERLEUKIN			
	PASI	IL-17	IL-22
Baseline Date...../...../.....			
T1 Date...../...../.....			
T2 Date...../...../.....			
Final Date...../...../.....			

ภาคผนวก ค

หลักการ ELISA [Quantikine®]



ภาพที่ 32 แสดงหลักการ ELISA

หลักการของ ELISA เป็นการหาปริมาณของ IL-22 ในซีรัมผู้ป่วยด้วยวิธี Sandwich enzyme immunoassay technique โดย specific IL-22 antibody จะถูกเคลือบอยู่บนบริเวณ microplate เมื่อใส่ Standard solution หรือ serum samples ที่มี IL-22 อยู่ก็จะจับกับ antibody จากนั้นก็จะล้างเอาสารอื่น ๆ ที่ไม่ได้จับกับ antibody ออก แล้วเติม monoclonal antibody ต่อ IL-22 ที่ติดอยู่กับเอนไซม์ (enzyme-linked monoclonal antibody) ล้างเอาส่วนอื่นที่ไม่จับกับ IL-22 ออก ขั้นตอนสุดท้ายจะเติม substrate ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับ substrate โดยจะเห็นการเปลี่ยนแปลงคือมีสีเกิดขึ้น ซึ่งความเข้มของสีจะขึ้นอยู่กับปริมาณ IL-22 เมื่อเราใส่สารที่หยุดปฏิกิริยาเรียบร้อยแล้ว จะนำสารละลายที่ได้ไปอ่านซึ่งค่าที่ได้จะเป็นค่า optical density และจะถูกเปลี่ยนเป็นค่าความเข้มข้นของปริมาณ IL-22 (pg/ml)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	49.556	92.961	<0	125.14		8.3967	31.596		18.874	<0	<0	
B	21.867	143.1	<0	13.635		<0	<0		<0	<0	6.1516	
C	20.37	250.12	11.390	113.92	28.602	25.609	21.867		69.014	1.6615	<0	
D	37.583	253.11	<0	<0	23.364	3.1582	0.1648		11.390	2.4099	12.139	
E	28.602	515.78	30.099	199.23	122.15	11.390	<0		21.867	32.344	<0	
F	40.576	496.33	<0	11.390	10.642	21.119	1.6615		25.609	31.596	25.609	
G	54.047	991.74	176.78		32.344			49.556	26.357	24.861	24.112	
H	39.828	1004.5	0.1648		<0			15.880	15.880	<0	0.9131	

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	blank	Std 125	P1_B 14.1	P5_B 50.9		P11_B 12.4	P14_B 28.4		P18_B 20.5	M5	F2	
B	blank	Std 125	P1_A 7	P5_A 11.1		P11_A 2.1	P14_A 4.1		P18_A 4.3	M6	F3	
C	Std 15.6	Std 250	P2_B 11.7	P6_B 23.5	P8_B 13.6	P12_B 13.8	P15_B 24		P19_B 35.5	M7	F4	
D	Std 15.6	Std 250	P2_A 5.1	P6_A 5	P8_A 12.9	P12_A 2.4	P15_A 12		P19_A 11.5	M8	F5	
E	Std 31.2	Std 500	P3_B 10.2	P7_B 15.4	P9_B 19.2	P13_B 10.9	P16_B 12.5		M1	M9	F6	
F	Std 31.2	Std 500	P3_A 0	P7_A 5	P9_A 1.3	P13_A 2.4	P16_A 6.1		M2	M10	F7	
G	Std 62.5	Std 1000	P4_B 28.6		P10_B 12.6			P17_B 30.3	M3	M11	F8	
H	Std 62.5	Std 1000	P4_A 1.6		P10_A 4.7			P17_A 16.3	M4	F1	F9	

ตารางที่ 27 แสดงค่า Concentration ของ IL-22 ใน serum ของกลุ่มตัวอย่าง

Std = standard

M1= Control เพศชาย

P1_B = Patient No1 Before

F1= Control เพศหญิง

P4_A = Patient No4 After

* PASI score

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	<0	267.532	<0	25.655		<0	<0		<0	<0	<0	
B	<0	253.611	<0	<0		<0	<0		<0	<0	<0	
C	23.045	485.047	<0	<0	<0	<0	<0		<0	<0	<0	
D	23.045	495.488	<0	<0	<0	<0	<0		<0	<0	<0	
E	63.067	1040.146	<0	<0	<0	<0	<0		<0	<0	<0	
F	56.977	999.253	<0	<0	<0	<0	<0		<0	<0	<0	
G	120.491	1983.292	<0		<0			34.555	<0	<0	<0	
H	126.582	>max	<0		<0			<0	<0	<0	<0	

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	blank	Std 125	P1_B 14.1	P5_B 50.9		P11_B 12.4	P14_B 28.4		P18_B 20.5	M5	F2	
B	blank	Std 125	P1_A 7.5	P5_A 11.1		P11_A 2.1	P14_A 4.1		P18_A 4.3	M6	F3	
C	Std 15.6	Std 250	P2_B 11.7	P6_B 23.5	P8_B 13.6	P12_B 13.8	P15_B 24		P19_B 35.5	M7	F4	
D	Std 15.6	Std 250	P2_A 5.1	P6_A 5	P8_A 12.9	P12_A 2.4	P15_A 12		P19_A 11.5	M8	F5	
E	Std 31.2	Std 500	P3_B 10.2	P7_B 15.4	P9_B 19.2	P13_B 10.9	P16_B 12.5		M1	M9	F6	
F	Std 31.2	Std 500	P3_A 0	P7_A 5	P9_A 1.3	P13_A 2.4	P16_A 6.1		M2	M10	F7	
G	Std 62.5	Std 1000	P4_B 28.6		P10_B 12.6			P17_B 30.3	M3	M11	F8	
H	Std 62.5	Std 1000	P4_A 1.6		P10_A 4.7			P17_A 16.3	M4	F1	F9	

ตารางที่ 28 แสดงค่า Concentration ของ IL-17 ใน serum ของกลุ่มตัวอย่าง

Std = standard

M1= Control เพศชาย

P1_B = Patient No1 Before

F1= Control เพศหญิง

P4_A = Patient No4 After

* PASI score

ภาคผนวก ง

ภาพที่ 33 ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 5



BASELINE



1st MONTH

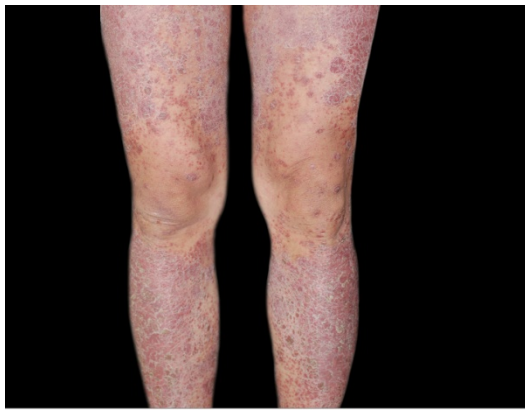


2nd MONTH

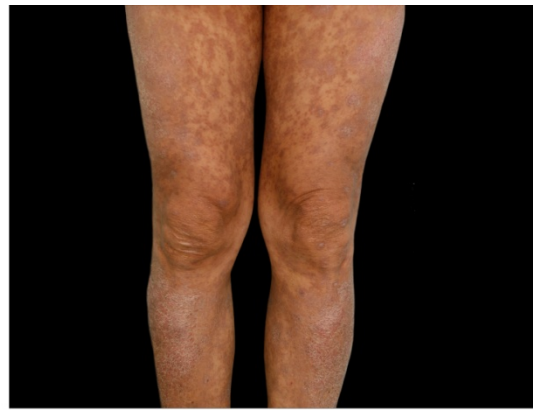


3rd MONTH

ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 5



BASELINE



1st MONTH



2nd MONTH



3rd MONTH

ภาพที่ 34 ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 6



BASELINE



1st MONTH



2nd MONTH



3rd MONTH

ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 6



BASELINE



1st MONTH



2nd MONTH

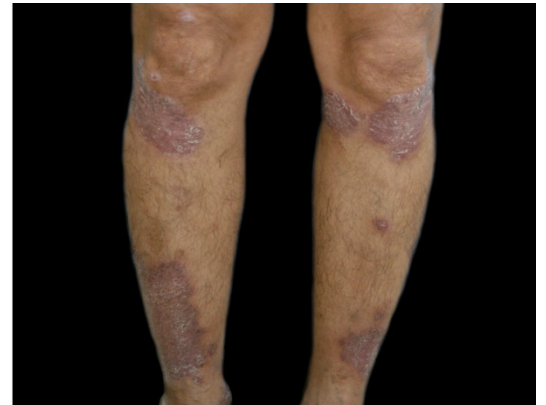


3rd MONTH

ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 6



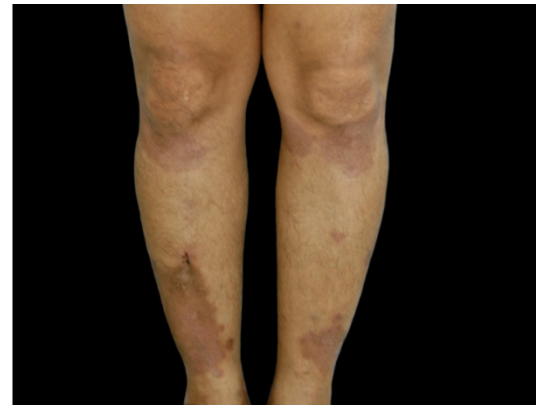
BASELINE



1st MONTH

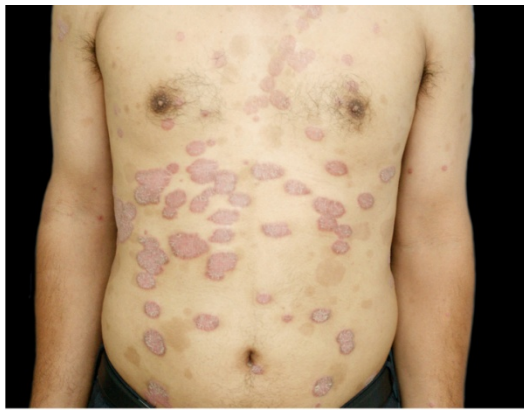


2nd MONTH



3rd MONTH

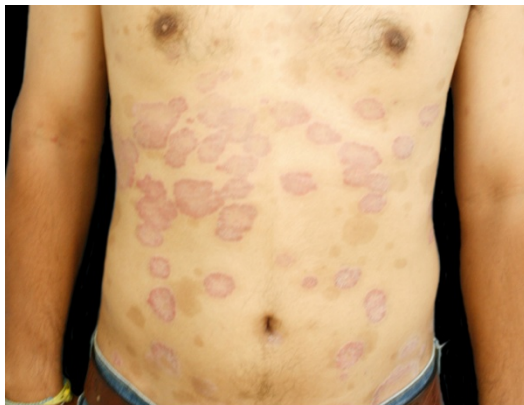
ภาพที่ 35 ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 7



BASELINE



1st MONTH



2nd MONTH



3rd MONTH

ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 7



BASELINE



1st MONTH

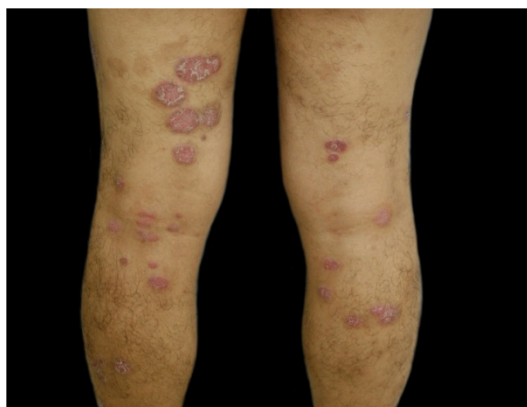


2nd MONTH

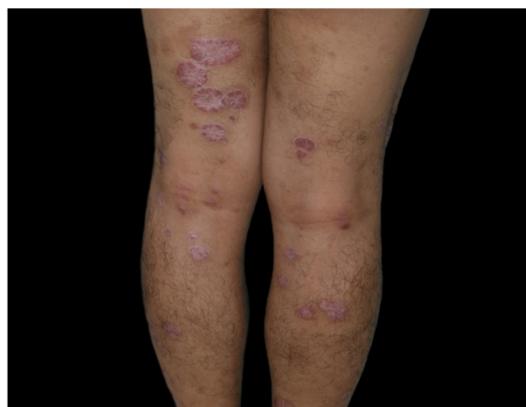


3rd MONTH

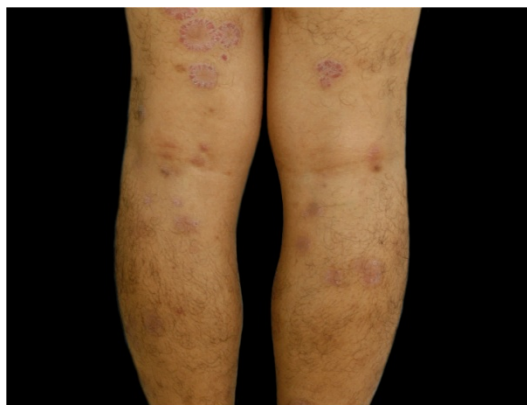
ภาพผู้ป่วยหมายเลข 7



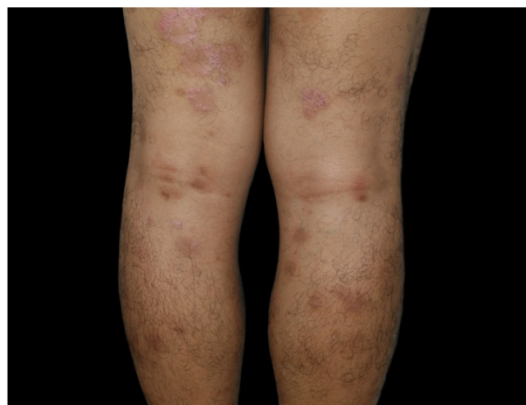
BASELINE



1st MONTH



2nd MONTH



3rd MONTH

ภาพที่ 36 ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 8



3rd MONTH



2nd MONTH



BASELINE

ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 8



3rd MONTH



2nd MONTH



BASELINE

ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 8



3rd MONTH



2nd MONTH



BASELINE

ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 8



3rd MONTH



2nd MONTH



BASELINE

ภาพที่ 37 ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 9



BASELINE



1st MONTH

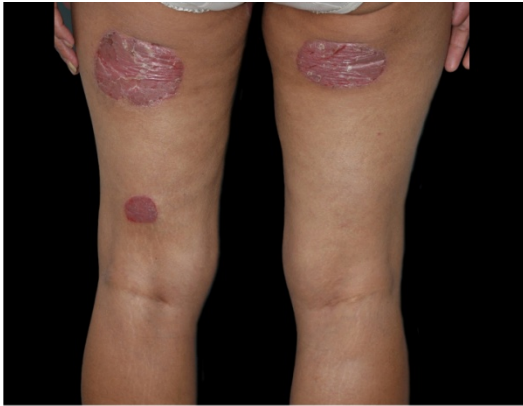


2nd MONTH

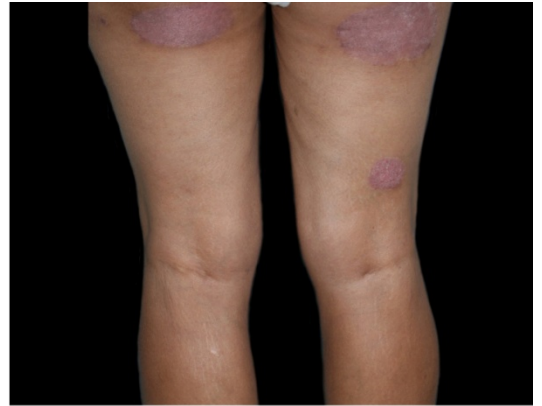


3rd MONTH

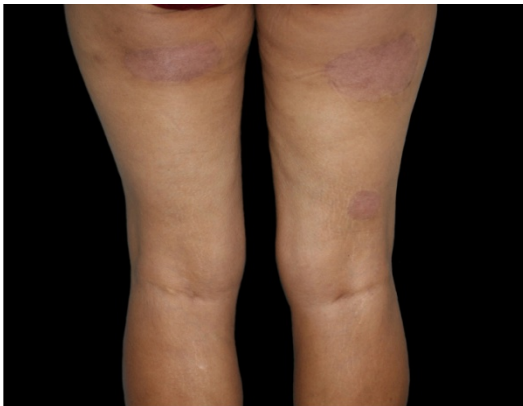
ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 9



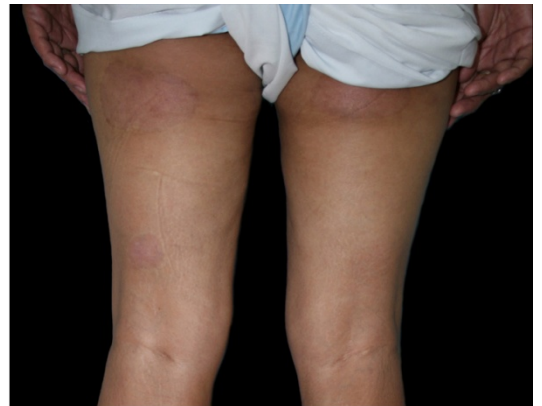
BASELINE



1st MONTH



2nd MONTH

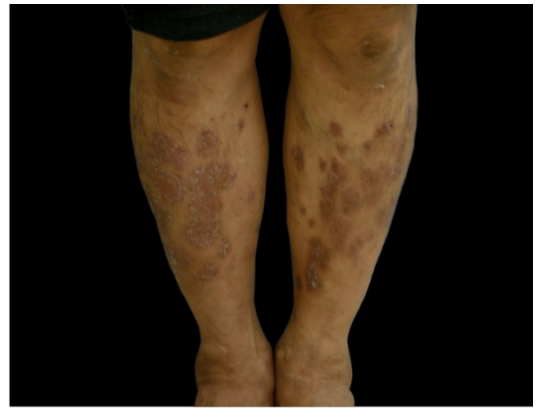


3rd MONTH

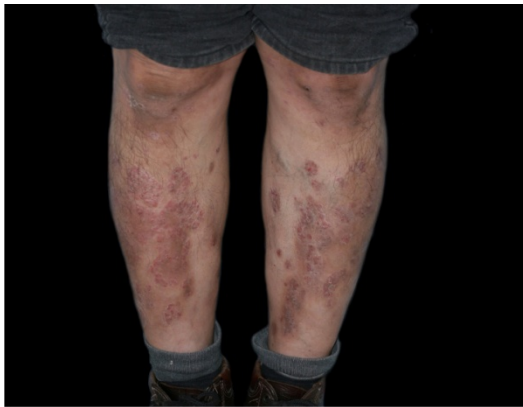
ภาพที่ 38 ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 10



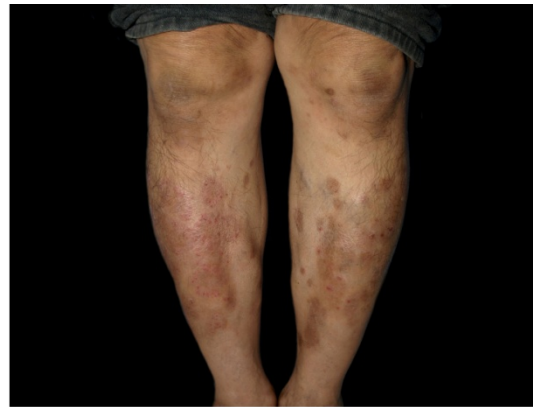
BASELINE



1st MONTH



2nd MONTH

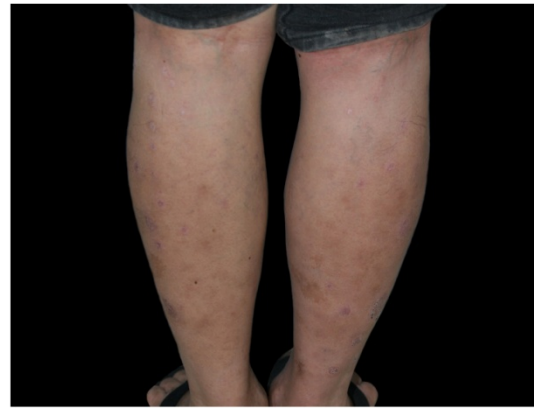


3rd MONTH

ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 10



BASELINE



1st MONTH



2nd MONTH



3rd MONTH

ภาพที่ 39 ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 11



2nd MONTH



1st MONTH



BASELINE

ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 11



2nd MONTH



1st MONTH



BASELINE

ภาพที่ 40 ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 14



BASELINE



1st MONTH



2nd MONTH



3rd MONTH

ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 14



BASELINE



1st MONTH

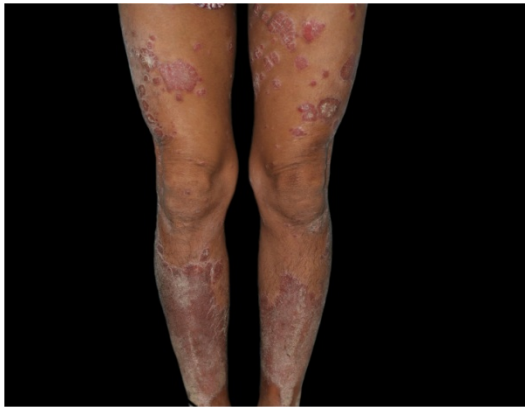


2nd MONTH

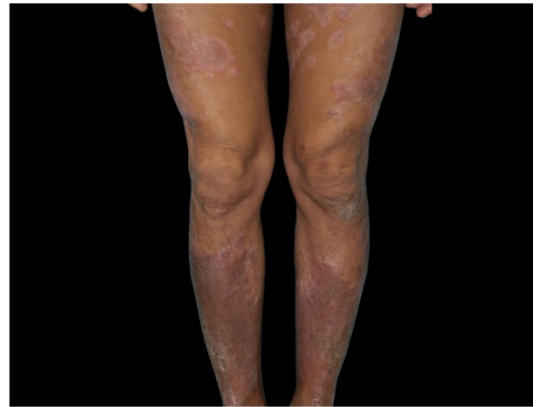


3rd MONTH

ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 14



BASELINE



1st MONTH

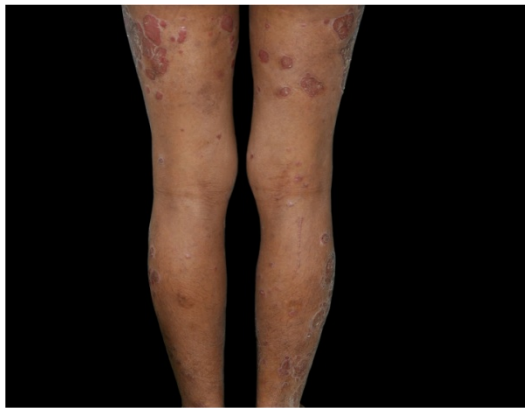


2nd MONTH



3rd MONTH

ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 14



BASELINE



1st MONTH



2nd MONTH



3rd MONTH

ภาพที่ 41 ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 17



BASELINE



1st MONTH



2nd MONTH



3rd MONTH

ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 17



BASELINE



1st MONTH

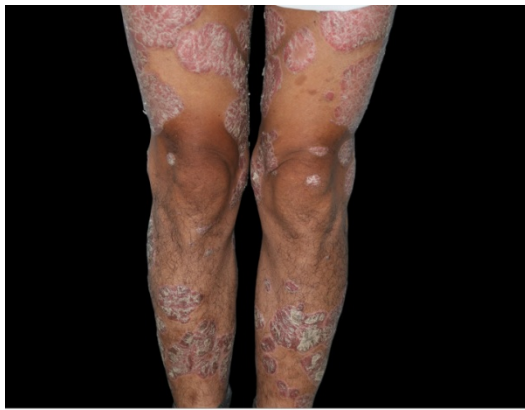


2nd MONTH



3rd MONTH

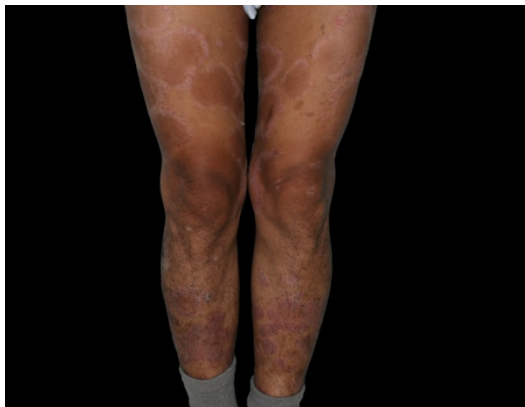
ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 17



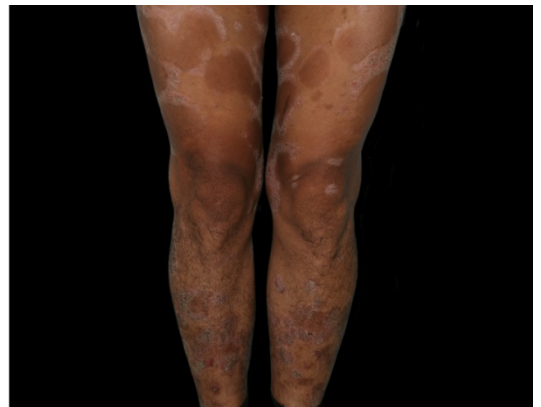
BASELINE



1st MONTH



2nd MONTH

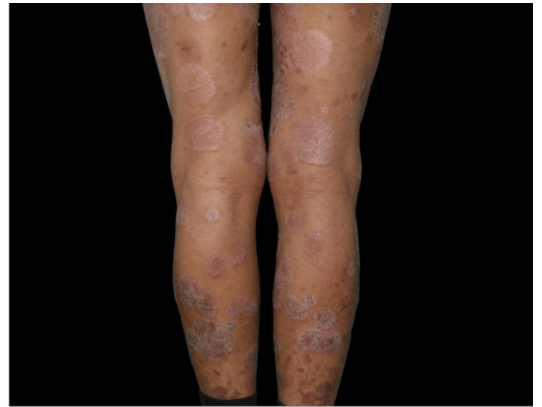


3rd MONTH

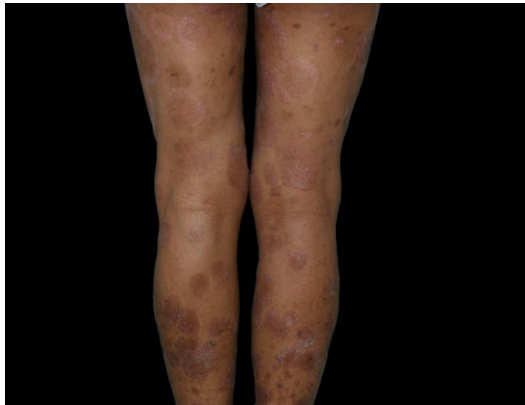
ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 17



BASELINE



1st MONTH



2nd MONTH



3rd MONTH

ภาพที่ 42 ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 18



2nd MONTH



1st MONTH



BASELINE

ภาพถ่ายผู้ป่วยหมายเลข 18



2nd MONTH



1st MONTH



BASELINE

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ-นามสกุล

นางสาวจิตรลดา มีพันแสน

ประวัติส่วนตัว

เกิดวันที่ 16 เมษายน 2525 ที่จังหวัดสงขลา

ประวัติการศึกษา

นิสิตคณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2542-2548

สำเร็จการศึกษาแพทยศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับ 1)

จากคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2548

ประวัติการทำงาน

แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลปทุมธานี 2548-2549

ปัจจุบัน

นิสิตแพทย์ปริญาโท หน่วยตจวิทยา ภาควิชาอายุศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2549-2551