บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: การแพ้ยาแบบไม่เฉียบพลันชนิดรุนแรงเป็นปัญหาการแพ้ยาที่พบได้บ่อยในประเทศไทยและอาจถึงแก่ชีวิตได้ ในปัจจุบันยังไม่มีกรรมวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการสำหรับใช้ในการวินิจฉัยชนิดของยาที่เป็นสาเหตุในผู้ที่แพ้ยาหลังจากได้รับยาหลายชนิด การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีทางห้องปฏิบัติการเพื่อใช้วินิจฉัยยืนยันชนิดของยาที่เป็นสาเหตุของผื่นแพ้ยาแบบไม่เฉียบพลันชนิดรุนแรง

วิธีทดลอง: เม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยผื่นแพ้ยาแบบไม่เฉียบพลัน 3 ประเภท ได้แก่ acute generalized exanthematous pustulosis (AGEP), drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS), และ Stevens-Johnson syndrome (SJS)/toxic epidermal necrolysis (TEN) ถูกกระตุ้นด้วยยาที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุเพื่อตรวจวัดระดับของไซโตไคน์ที่สูงขึ้นในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ และเลือกไซโตไคน์ชนิดดังกล่าวมาตรวจหาปริมาณของเซลล์ที่หลั่งไซโตไคน์ชนิดนั้นๆออกมาหลังการกระตุ้นด้วยยาที่แพ้ด้วยวิธี enzyme-linked Immunospot (ELISpot) และเติมสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในหลอดทดลองเพื่อเพิ่มความไวในการวินิจฉัยสาเหตุของผื่นแพ้ยาชนิดรุนแรงประเภทต่างๆ

ผลการทดลอง: ไซโตไคน์ 22 ชนิดได้รับการตรวจวัดในน้ำยาเพาะเลี้ยงเซลล์หลังกระตุ้นเม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยที่แพ้ยาด้วยยาที่เป็นสาเหตุโดยการใช้ multiplex immunoassay technique และพบว่าระดับของ interferon-gamma (IFN-γ), interleukin (IL)-12p70, granzyme B, perforin, granulysin, และIL-27 เพิ่มสูงขึ้นหลังกระตุ้นเม็ดเลือดขาวในผื่นแพ้ยาชนิดต่างๆกัน ผลการตรวจ ELISpot พบว่าเซลล์ที่หลั่ง granzyme-B, IFN-γ, และ IL-22 ตรวจพบได้บ่อยใน DRESS, SJS และ AGEP ตามลำดับ การเติม adjuvants สามารถเพิ่มความไวของการตรวจพบเซลล์ที่หลั่งไซโตไคน์ชนิดต่าง ๆ หลังกระตุ้นด้วยยาในผู้ป่วยผื่นแพ้ยารุนแรง การตรวจวัดระดับของเซลล์ที่หลั่ง granzyme-B และ IFN-γ หลังกระตุ้นด้วยยาพร้อมด้วยการเติม anti-TIM3 อาจช่วยในการวินิจฉัยยาที่เป็นสาเหตุของ DRESS และ SJS/TEN ในขณะที่การตรวจวัดระดับของเซลล์ที่หลั่ง IL-22 หลังกระตุ้นด้วยยาอาจช่วยในการวินิจฉัยยาที่เป็นสาเหตุของ AGEP

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง: ไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับผื่นแพ้ยาชนิดรุนแรงแตกต่างกันตามประเภทของการแพ้ยา การตรวจวัดปริมาณของเซลล์ที่หลั่ง granzyme-B, interferon-gamma, และ interleukin-22 หลังการกระตุ้นด้วยยามีประโยชน์ในการวินิจฉัยชนิดของยาที่เป็นสาเหตุของผื่นแพ้ยาชนิดรุนแรงประเภทต่าง ๆกัน

ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต: ต้องการการศึกษาในผู้ป่วยจำนวนมากเพื่อยืนยันคุณค่าทางคลินิกในการวินิจฉัยยืนยันชนิดของยาที่เป็นสาเหตุของผื่นแพ้ยาชนิดรุนแรง

Abstract

Objectives: Drug-induced severe cutaneous adverse reactions (SCARs) are common in Thailand and potential life-threatening. At present, the standard in vitro test to identify the culprit drug in patients who develop SCAR after taking multiple drugs is not yet available. This study was to explore the potential in vitro tests to identify the culprit drug in different phenotypes of SCARs.

Methods: SCAR patient's peripheral blood mononuclear cells (PMBCs) were stimulated with the suspected culprit drug and screened for heightened levels of multiple cytokines in culture media. The potential cytokines involved in 3 SCAR phenotypes; acute generalized exanthematous pustulosis (AGEP), drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS), and Stevens-Johnson syndrome (SJS)/toxic epidermal necrolysis (TEN) were then measured by using enzyme-linked Immunospot (ELISpot) assay. The frequencies of culprit drug-induced cytokines of interested were further enhanced by the supplementation of different adjuvants to maximize test sensitivity for culprit drug confirmation in various phenotypes of SCARs.

Results: Twenty-two cytokines were screened in supernatants after incubating PBMCs with the suspected culprit drugs by using multiplex immunoassay technique. Levels of interferon-gamma (IFN-γ), interleukin (IL)-12p70, granzyme B, perforin, granulysin, and IL-27 were increased upon PBMC stimulation in different phenotypes of SCARs. According to ELISpot results, drug-induced granzyme-B, IFN-γ, and IL-22 releasing cells were predominantly detectable in DRESS, SJS, and AGEP, respectively. The supplementation of various adjuvants could enhance the detection of drug-induced cytokine releasing cells in SCARs. The measurement of drug-induced granzyme-B and IFN-γ releasing cells in the presence of anti-TIM3 supplementation could be helpful to confirm the diagnosis of drug-induced DRESS and SJS/TEN while the detection of drug-induced IL-22 releasing cells could identify the culprit drug in AGEP subjects.

Conclusions & Discussion: Predominant cytokines in various SCAR phenotypes are different. The measurement of drug-induced granzyme-B, interferon-gamma, and interleukin-22 releasing cells are beneficial to identify the culprit drugs in different phenotypes of drug-induced SCARs.

Further suggestions: Large-scale studies are required to determine the clinical diagnostic values for culprit drug identification in SCARs.