

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การพิสูจน์เซลล์เบโซฟิลิกเมตอะโครมาติก และ
ความสัมพันธ์ระหว่างเซลล์นี้ แบบที่เรียกในโพรงจมูก
และอิมมูโนโกลบูลินอีที่จำเพาะต่อไรฝุ่นบ้าน กับ
ความรุนแรงของอาการโรคเยื่อบุจมูกอักเสบภูมิแพ้

ผู้เขียน

นางสาวยุริศา แสงรัตน์

ปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ดร. วรลักษณ์ สัจจาตุระ

ประธานกรรมการ

ผศ. ดร. สุมาลี พฤกษากร

กรรมการ

รศ. สุปราณี พูนันต์

กรรมการ

บทคัดย่อ

Mast cell (MC) เป็นเซลล์ที่มีแกรนูลภายในมากมาย และมีความสำคัญในภูมิคุ้มกันไว
เกินชนิดที่ 1 การศึกษาเซลล์วิทยาของเยื่อบุจมูกพบเซลล์ชนิดหนึ่งที่ติดสีน้ำเงินม่วงจากการย้อม
ด้วยสี Wright-Giemsa เซลล์นี้จึงถูกเรียกว่า Basophilic Metachromatic Cell (BMC) ตาม
คุณสมบัติการติดสีของเซลล์ จำนวนของ BMC สัมพันธ์กับความรุนแรงของอาการโรคเยื่อบุจมูก
อักเสบภูมิแพ้ การศึกษานี้ได้ใช้วิธีการย้อมด้วยสี Toluidine blue และ Alcian blue/Safranin
ซึ่งเป็นสีย้อมที่จำเพาะต่อ MC มาย้อมตัวอย่างตรวจที่ได้จากเยื่อบุจมูกของผู้ป่วยโรคเยื่อบุจมูก
อักเสบภูมิแพ้ (Allergic rhinitis, AR) พบว่า BMC ในตัวอย่างตรวจย้อมติดสีน้ำเงินม่วงเข้มของ
สี Toluidine blue และติดสีฟ้าและส้มแดงของสี Alcian blue/Safranin เช่นเดียวกับ MC จาก
ขนาดและรูปร่างของเซลล์ที่ประกอบด้วยแกรนูลจำนวนมากภายในไซโตพลาสซึม และคุณสมบัติ
การติดสีที่จำเพาะนี้ สรุปได้ว่า BMC นี้ น่าจะเป็น MC นอกจากนี้เป็นที่ทราบกันแล้วว่า MC มี 2
ชนิด ได้แก่ MC ที่อยู่ในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (CTMC) และ MC ที่อยู่ในชั้นเยื่อบุผิว (MMC)
การศึกษานี้พบ MC ที่ติดทั้งสีฟ้าของ Alcian blue และสีแดงของ Safranin ซึ่งเป็นสีย้อมที่
จำเพาะต่อ MC ชนิด CTMC จึงแสดงให้เห็นว่ามีการเคลื่อนที่ของ CTMC จากชั้นเนื้อเยื่อ

เกี่ยวพันออกมายังชั้นเยื่อบุผิว จากการศึกษาดูอย่างตรวจที่ได้จากเยื่อจมูกของผู้ป่วย AR 69 ราย และของคนปกติที่ไม่มีประวัติโรคภูมิแพ้ 26 ราย พบว่าจำนวน MC ทั้งหมดและจำนวน CTMC ต่อ 50 พื้นที่ตรวจ (กำลังขยาย 1000 เท่า) เพิ่มขึ้นตามความรุนแรงของอาการ โดยในผู้ป่วยที่มีอาการน้อยพบ 0.5 ± 1.0 และ 0.15 ± 0.4 เซลล์, ในผู้ป่วยที่มีอาการปานกลาง พบ 2.0 ± 4.0 และ 2.0 ± 4.0 เซลล์ และในผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรง พบ 8.5 ± 7.5 และ 7.0 ± 5.0 เซลล์ ในทำนองเดียวกันร้อยละของ MC ที่แกรนูลมีการแตกตัวมาก (+++) ก็พบในผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงมากกว่าผู้ป่วยที่มีอาการปานกลาง หรือน้อยกว่า ในขณะที่ผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงน้อย และปานกลางจะพบ MC ที่มีการแตกตัวของแกรนูลน้อย (+) ถึงปานกลาง (++) ในสัดส่วนที่มากกว่า แสดงว่า CTMC ที่พบนั้นนอกจากจะเคลื่อนที่มาแล้วยังทำหน้าที่ได้โดยพบมีการแตกตัวของแกรนูล ส่วนตัวอย่างตรวจที่ได้จากเยื่อจมูกของคนปกติที่ไม่มีประวัติภูมิแพ้ตรวจไม่พบ BMC หรือ MC ถึงแม้ว่าจะยังไม่ทราบว่าทำไมจึงมี CTMC จำนวนมากเคลื่อนที่จากชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมาขึ้นชั้นเยื่อบุผิว การระคายเคืองหรือการที่เยื่อบุผิวถูกทำลายอาจทำให้ตัวกระตุ้นที่อยู่ในโพรงจมูกซึมแทรกลงไปกระตุ้นและเหนี่ยวนำให้มีการเคลื่อนที่ของ CTMC จากชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันได้ และเนื่องจากในแกรนูลของ CTMC มีสารหลายอย่าง โดยเฉพาะฮีสตามีนที่มากกว่า MMC จึงทำให้ผู้ป่วยที่พบ CTMC ในชั้นเยื่อบุผิวมากมีอาการรุนแรงมากกว่าผู้ป่วยที่พบ CTMC น้อยกว่าหรือที่มีแต่เฉพาะ MMC

มีรายงานพบว่าจำนวนแบคทีเรียในพยาธิสภาพที่ผิวหนังสัมพันธ์กับอาการและอาการแสดงของผู้ป่วยโรคผิวหนังอักเสบภูมิแพ้ (Atopic dermatitis, AD) ซึ่ง AR และ AD เป็นโรคภูมิแพ้กลุ่มเดียวกัน จึงได้ศึกษาความสัมพันธ์ของชนิดและจำนวนเชื้อแบคทีเรียในโพรงจมูกกับอาการของ AR ด้วย ผลการเพาะเลี้ยงและพิสูจน์เชื้อแบคทีเรียในตัวอย่างตรวจที่ได้จากเยื่อจมูกพบว่าเชื้อแบคทีเรียที่พบเด่นในกลุ่มผู้ป่วยได้แก่ *S. aureus* และ *K. pneumoniae* นอกจากนี้จำนวนเชื้อเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของอาการและแตกต่างจากคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) จึงเป็นไปได้ว่า ชนิดและจำนวนของเชื้อแบคทีเรียในโพรงจมูกของผู้ป่วย AR มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิสภาพของโรค โดยตัวเชื้อแบคทีเรียหรือสารจากตัวเชื้อ เป็นตัวกระตุ้นให้มีการเคลื่อนที่เข้ามาของ MC ที่บริเวณนั้น และผลของการทำงานของ MC ทำให้เกิดปฏิกิริยาภูมิแพ้ และ/หรือ มีการอักเสบเกิดขึ้น

การตรวจหาอิมมูโนโกลบูลินอี (Immunoglobulin E, IgE) ที่จำเพาะต่อไรฝุ่นบ้านในผู้ป่วย AR จำนวน 55 ราย พบว่า ผู้ป่วย 45.45, 25.45 และ 5.45 เปอร์เซ็นต์ตรวจพบ IgE ต่อ

สารก่อภูมิแพ้จากไรฝุ่นบ้านชนิด Der p 1, Der f 1 และ Blo t 1 ตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ย (mean \pm SD) ของปริมาณ IgE แต่ละชนิดประมาณ 214.94 ± 398.95 , 301.48 ± 503.94 และ 9.45 ± 11.88 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และปริมาณ IgE ต่อ Der p 1 และ Der f 1 แตกต่างจากกลุ่มคนปกติ (29 ราย) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามเนื่องจากอาการและอาการแสดงที่สังเกตเห็นได้ของผู้ป่วยเป็นผลรวมของปฏิกิริยาที่เกิดจากสารก่อภูมิแพ้ซึ่งอาจมากกว่า 1 ชนิด และเกิดได้ทั้งจากขบวนการกระตุ้นแบบ IgE และ non-IgE dependent ดังนั้นจึงพบว่าปริมาณ IgE ที่จำเพาะต่อไรฝุ่นบ้านที่ตรวจพบนี้ไม่สัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคเยื่อจมูกอักเสบภูมิแพ้

ผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปอธิบายพยาธิกำเนิดของปฏิกิริยาการอักเสบในโพรงจมูกของผู้ป่วยโรคเยื่อจมูกอักเสบภูมิแพ้ได้ และข้อมูลที่ได้มีประโยชน์ในการพัฒนาแนวทางการรักษา การใช้สารที่ยับยั้งการเคลื่อนที่ของ MC และการใช้ยาปฏิชีวนะร่วมกับการรักษาที่ใช้ในปัจจุบัน น่าจะช่วยลดความรุนแรงของโรคได้ นอกจากนี้ ยังพบว่า ไรฝุ่นบ้านชนิด *Blomia tropicalis* ไม่เป็นสารก่อภูมิแพ้ที่เป็นปัญหาในผู้ป่วยโรคเยื่อจมูกอักเสบภูมิแพ้

Thesis Title	Identification of Basophilic Metachromatic Cells (BMCs) and Relationships Between BMCs, Bacteria in Nasal Cavity and Specific Immunoglobulin E Against House Dust Mites with the Severity of Allergic Rhinitis	
Author	Ms. Yuwatida Sangrat	
Degree	Master of Science (Microbiology)	
Thesis Advisory Committee	Dr. Volaluck Supajatura	Chairperson
	Assist. Prof. Dr. Sumalee Pruksakorn	Member
	Assoc. Prof. Supranee Fooanant	Member

ABSTRACT

Mast cells mediate immediate (type I) hypersensitivity reaction and are identified by their numerous cytoplasmic granules. Cytology of nasal scraping show Basophilic Metachromatic Cell (BMC), namely by their granules stained purple-blue with Wright-Giemsa staining. The number of BMC correlates with the severity of Allergic rhinitis (AR). This study had clearly shown that BMC in nasal scraping of AR was a mast cell by using specific stainings of mast cells, Toluidine blue and Alcian blue/Safranin. The BMC was stained deep purple blue with Toluidine blue and blue-and orange-red with Alcian blue/Safranin, the same as well known mast cells. According to size, cytoplasm contains numerous granules and specific staining property of granules suggesting that BMC was MC. Two types of human mast cells, the connective tissue mast cell (CTMC) and mucosal mast cell (MMC) types, predominate in submucosa and mucosa layer, respectively. This study demonstrated that some mast cells were both Alcian blue and Safranin positive suggesting they

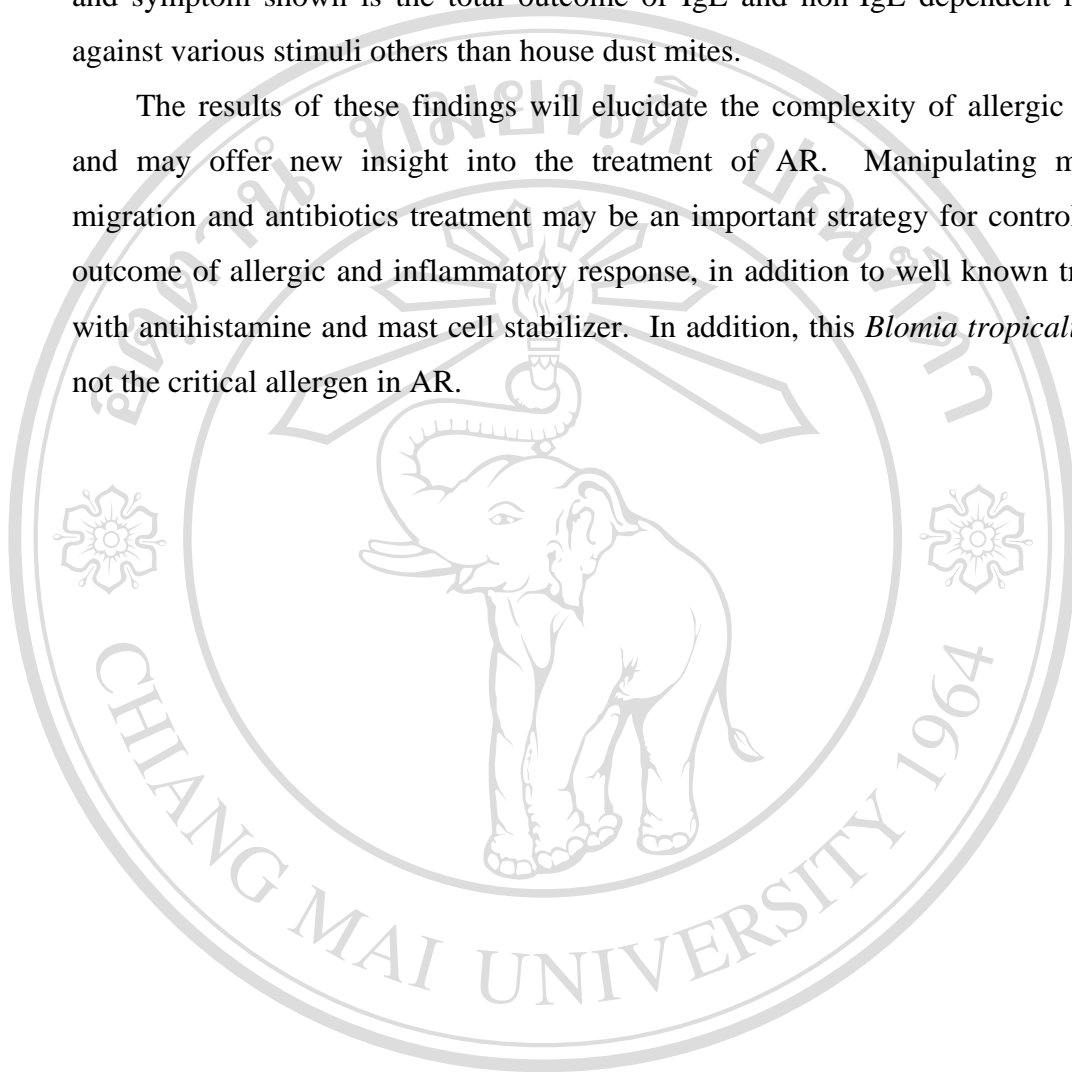
were CTMC. The nasal mucosal scraping of 69 AR and 26 nonallergic subjects were investigated. The numbers of total mast cell and CTMC per 50 oil immersion fields were marked correlated with severity, 0.5 ± 1.0 and 0.15 ± 0.4 in mild AR, 2.0 ± 4.0 and 2.0 ± 4.0 in moderate AR and 8.5 ± 7.5 and 7.0 ± 5.0 in severe AR. Moreover, the percentage of extensively degranulated (+++) mast cells was marked in severe AR more than moderate and mild AR. In mild and moderate AR, the proportion of intact and slightly (+) to moderately (++) degranulated type of MC is predominate, respectively. These indicated that CTMC not only do recruit but also do function. In contrast, nasal scraping of nonallergic subjects had shown no any mast cell. Although we do not known why so many CTMC directional migrated from submucosa layer to the mucosa, the abrasion of mucosa may increase the penetration of stimuli and the chance to chemotaxis of CTMC from lamina propria. In addition, the resident MMC, together with CTMC, could accelerate the pathogenesis of allergic reaction, infact that CTMC contained substantially more histamine than MMC.

The number of bacteria colonization in the skin lesion is correlated with the severity of atopic dermatitis (AD). This study also demonstrated the correlation of type and number of bacteria in nasal scraping with the severity of AR symptom. The predominant bacteria in AR were *S. aureus* and *K. pneumoniae*. The number of these bacteria was well correlated with the severity and significantly different from the nonallergic group ($p < 0.01$). This indicated that some types of bacteria were involved in pathogenesis of disease. Bacteria and/or their products might act as stimuli, stimulate the mast cell migration and finally generate the allergic and/or inflammatory reaction.

The anti-house dust mite IgE in 55 AR and 29 nonallergic groups were investigated. Anti-Der p 1 was detected in 45.45%, anti-Der f 1 of 25.45% and anti-Blo t 1 of 5.45%. The average (mean \pm SD) quantity of each specific IgE was 214.94 ± 398.95 , 301.48 ± 503.94 and 9.45 ± 11.88 ng/ml, respectively, and anti-Der p 1 and anti-Der f 1 significant different from nonallergic group ($p < 0.05$). However, the amount of any specific IgE was not correlated with the severity of AR, since the sign

and symptom shown is the total outcome of IgE and non-IgE dependent reactions against various stimuli others than house dust mites.

The results of these findings will elucidate the complexity of allergic reaction and may offer new insight into the treatment of AR. Manipulating mast cell migration and antibiotics treatment may be an important strategy for controlling the outcome of allergic and inflammatory response, in addition to well known treatment with antihistamine and mast cell stabilizer. In addition, this *Blomia tropicalis* is still not the critical allergen in AR.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved