

A study of serum autoantibodies in patients with lupus nephritis

Patchalrin Janjumratsang MD,

Somchai Chajanakijskul MT,

Daraka Phainupong MT,

Paisal Roongphiboolsopit MT.

ABSTRACT:

JANJUMRATSANG P, CHAJANAKIJSKUL S, PHAINUPONG D, ROONGPHIBOOLSOPIT P. A STUDY OF SERUM AUTOANTIBODIES IN PATIENTS WITH LUPUS NEPHRITIS. THAI J DERMATOL 2004; 20: 163-170.

INSTITUTE OF DERMATOLOGY, BANGKOK, THAILAND.

A retrospective study of antinuclear antibody, anti Sm, anti DNA and anti RNP in patients with SLE and lupus nephritis was done in the Institute of Dermatology, Thailand from October 1997 to September 2002. A total of 462 SLE cases, 21 cases had lupus nephritis, 18 cases were female and 3 cases were male, ratio is 6:1. Age range is from 11 to 63 years (average 31.05 years) most of them in the range of 21 – 40 years. All cases were positive to ANA positive with a high titer, 12 cases (57.1%) were in the range of 640 – 2560 and mostly in 13 cases (61.9%) showed speckle pattern. The anti DNA showed positive in 6 cases from 20 cases (30%), anti Sm showed positive in 7 from 19 cases (36.87%) and anti RNP showed positive in 9 from 19 cases (47.36%). The result of this study was different from the former studies which ANA pattern homogeneous pattern, with higher percentage of anti dsDNA and anti Sm positive. In this study the SLE cases who had the chief complain of skin manifestation has a low incidence of lupus nephritis.

Key words: systemic lupus erythematosus, lupus nephritis, antinuclear antibody

บทคัดย่อ:

พัชรินทร์ จันทรจรัสแสง, สมชัย ชาญจนะกิจสกุล, ดารากา ไพนุพงศ์, ไพศาล รุ่งพิบูลโสภิษฐ์. การศึกษา AUTOANTIBODIES ในน้ำเหลืองของผู้ป่วยโรค LUPUS NEPHRITIS. วารสารโรคผิวหนัง 2547; 20: 163-170. สถาบันโรคผิวหนัง กรมการแพทย์

การศึกษาย้อนหลังเพื่อหา antinuclear antibody (ANA), anti Sm, anti DNA และ anti RNP ในผู้ป่วยโรค systemic lupus erythematosus (SLE) ซึ่งมีอาการ lupus nephritis ร่วมด้วย ผู้ป่วยจากสถาบันโรคผิวหนังตั้งแต่ตุลาคม พ.ศ.2540 ถึง กันยายน พ.ศ.2545 ผู้ป่วย SLE ทั้งหมด 462 ราย ผู้ป่วยเพียง 21 รายเท่านั้นที่มีอาการ lupus nephritis เป็นผู้ป่วยหญิง 18 ราย ผู้ป่วยชาย 3 ราย อัตราส่วนผู้ป่วยหญิง : ผู้ป่วยชาย 6 : 1 ผู้ป่วยอยู่ในช่วงอายุ 11 – 63 ปี และช่วงอายุที่พบมาก 21 – 40 ปี พบ 12 ราย ผู้ป่วยทุกรายให้ผลบวก ANA และ titer ค่อนข้างสูง titer ที่พบมากอยู่ในช่วง 640 – 2560 พบ 12 ราย คิดเป็นร้อยละ 57.1 รูปแบบของ ANA ที่พบมากเป็นแบบ speckle pattern พบทั้งหมด 13 ราย คิดเป็นร้อยละ 61.9 ผลบวกของ anti DNA พบ 6 ใน 20 ราย คิดเป็นร้อยละ 30 ผลบวกของ anti Sm พบ 7 ใน 19 ราย คิดเป็นร้อยละ 36.87 และ anti RNP ให้ผลบวก 9 ใน 19 ราย คิดเป็นร้อยละ 47.36 ในรายงานก่อนหน้านี้นี้รูปแบบ ANA มักจะพบ homogeneous pattern มากกว่า ส่วน anti dsDNA และ anti Sm ให้ผลบวกจำนวนมากกกว่า จากการศึกษาครั้งนี้สังเกตพบว่าผู้ป่วย SLE ที่มีอาการของ lupus nephritis ร่วมด้วยนั้นมีจำนวนน้อยกว่ารายงานอื่นๆ อาจเป็นเพราะว่าผู้ป่วยที่มีอาการของผิวหนังเป็นอาการนำมีโอกาสเกิด lupus nephritis น้อยกว่าผู้ป่วย SLE ที่มีอาการของระบบอื่นเป็นอาการนำ

คำสำคัญ: โรคเอสแอลอี, โรคลูปัสเนฟไฟรติส, แอนตินิวเคลียแอนติบอดี

บทนำ (introduction)

โรค systemic lupus erythematosus (SLE) เป็นโรคที่จัดอยู่ในกลุ่ม autoimmune disease สามารถทำให้เกิดพยาธิสภาพขึ้นกับระบบต่างๆของร่างกาย เช่น ระบบผิวหนัง ระบบข้อ ระบบไต และระบบเลือด ฯลฯ เนื่องจากอาการแสดงอาจมีหลายรูปแบบ การวินิจฉัยจึงต้องอาศัย criteria อย่างน้อย 4 ข้อใน 11 ข้อ ของ American college of rheumatology ปี ค.ศ. 1982¹ (ตารางที่ 1) ผู้ป่วยที่มารักษาที่สถาบันโรคผิวหนังมักจะเป็นผู้ป่วยที่มีอาการแสดงทางผิวหนังเด่น และผู้ป่วยบางรายอาจมีเพียงอาการแสดงทางผิวหนัง (cutaneous LE)

เท่านั้น ในขณะที่ผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการหลายแบบ มี criteria ครบ 4 ข้อของโรค SLE ความคิดปกติของระบบภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยจะตรวจพบโดย autoantibody ซึ่งเป็น antibody ที่ร่างกายสร้างขึ้นมาเพื่อต่อต้านและส่วนประกอบของเซลล์แบ่งออกเป็น 3 ส่วนใหญ่ ดังนี้ 1) นิวเคลียส 2) ไซโตพลาสซึมและส่วนประกอบภายในไซโตพลาสซึมและ 3) เยื่อหุ้มเซลล์ antibody ที่ร่างกายสร้างขึ้นจะมีชื่อเรียกตามส่วนของเซลล์ที่ antibody ชนิดนั้นมีปฏิกิริยาต่อต้านเช่น anti DNA , anti nRNP ฯลฯ antibody เหล่านี้ส่วนมากจะพบในโรค autoimmune disorder แต่ในบางครั้งอาจพบในโรคอื่น

ดังนั้นการแปลผลในโรค autoimmune disease ต้องคำนึงถึง 1) ปริมาณของ antibody ซึ่งจะพบปริมาณสูง 2) ความจำเพาะเจาะจง (specificity) ของ autoantibody แต่ละชนิดในแต่ละสภาวะของโรคเช่น anti Sm และ anti dsDNA จะมีความจำเพาะต่อโรค SLE ก่อนข้างสูง ในขณะที่ anti ssDNA มีความจำเพาะต่อโรคต่ำกว่า

ตารางที่ 1 เกณฑ์การวินิจฉัย SLE The 1982 Revised Criteria for Classification of SLE

1. Malar rash
2. Discoid rash
3. Photosensitivity
4. Oral ulcers
5. Arthritis
6. Serositis: pleuritis หรือ pericarditis
7. Renal disorder: persistent proteinuria หรือ cellular casts
8. Neurologic disorder : seizures หรือ psychosis
9. Hematologic disorder : hemolytic anemia, leucopenia, lymphopenia หรือ thrombocytopenia
10. Immunologic disorder: anti DNA, anti Sm หรือ ตรวจพบ antiphospholipid antibody
11. Antinuclear antibody

รายงานนี้เป็นการศึกษาเกี่ยวกับ autoantibody ในผู้ป่วยโรค SLE ที่มารับการรักษาที่สถาบันโรคผิวหนัง โดยศึกษาเฉพาะในผู้ป่วยที่มีอาการของไตอักเสบ (Lupus nephritis) จากโรค SLE ร่วมด้วยเท่านั้น

วัสดุและวิธีการ (material and method)

การศึกษานี้ เป็นแบบ descriptive retrospective study โดยเก็บรวบรวมข้อมูลผู้ป่วยที่เข้ามารับการรักษาที่สถาบันโรคผิวหนัง (ตั้งแต่ตุลาคม พ.ศ. 2540 ถึง กันยายน พ.ศ. 2545) โดยเลือกเฉพาะผู้ป่วยโรค SLE ที่มี criteria อย่างน้อย 4 ข้อใน 11 ข้อ ตาม American college

การตรวจทางห้องปฏิบัติการทางด้านอิมมูโนวิทยาจากน้ำเหลืองของผู้ป่วย จึงมีส่วนสำคัญในการช่วยวินิจฉัยโรคเพราะ anti DNA หรือ anti Sm หรือ anti phospholipid antibodies และ ANA เป็น criteria ในการวินิจฉัยโรคถึง สองข้อ (ตารางที่ 1)

of rheumatology ก.ศ. 1982 และมีอาการไตอักเสบร่วมด้วยโดยผลการตรวจปัสสาวะ 24 ชั่วโมงมีโปรตีนมากกว่า 500 มิลลิกรัม หรือการตรวจปัสสาวะด้วยกล้องจุลทรรศน์พบคาสท์ (cast) หรือพบไข่ขาวในปัสสาวะตั้งแต่ 3 ขึ้นไป

ขั้นตอนการตรวจทางห้องปฏิบัติการมีขั้นตอนดังนี้ antinuclear antibody (ANA) pattern, ANA titer, anti Sm, anti DNA, anti RNP ในน้ำเหลืองของผู้ป่วย

การทดสอบ Antinuclear antibody (ANA)²

เก็บเลือดของไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมงเป็น อย่างน้อยเพื่อให้เลือดแข็งตัวแล้วนำไปปั่นแยกซีรัมด้วย เครื่อง Centrifuge ธรรมดา (รุ่น Dynac II บริษัท Becton, Dickinson and Company, U.S.A) ปั่น 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที นำซีรัมมาตรวจหาระดับ ANA และ C₃ โดยใช้ slide substrate และหยดซีรัมที่เจือจางด้วย 0.01 M phosphate buffer saline pH 7.2 (PBS) ได้ไต่อเทอรั 1:80 ลงบน substrate (Hep-2 cell) ที่ไว้ใน moist chamber 30 นาที แล้วล้างด้วย PBS ครั้งละ 5 นาที 2 ครั้งแล้วหยด FITC - conjugate rabbit anti - human immunoglobulin (DakoCytomation, Denmark)เจือจาง 1:80 และทิ้งไว้ใน moist chamber 30 นาที แล้วล้างด้วย PBS ครั้งละ 5 นาที 2 ครั้ง แล้ว mount ด้วย buffered glycerine (PBS : Glycerine(Merck, Germany) = 1:9) และอ่านผลจากกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง (ยี่ห้อ OLYMPUS รุ่น BH2 - RFCA บริษัท E for L international co.,LTD.)ผลบวกจะเห็นการเรืองแสงที่ นิวเคลียส ของ Hep -2 cell ซีรัมที่ให้ผลบวกจะทำการ ทดสอบอีกครั้งโดยเจือจางซีรัมแบบ two - fold dilution เป็น 1:160, 1:320, 1:640 ฯลฯ หาระดับซีรัมที่เจือจาง สูงสุด และยังคงให้ผลบวก รายงานในรูปแบบของ ANA (ANA pattern) และปริมาณของ ANA titer การทดสอบหาแอนติบอดีจำเพาะ³

เตรียม rabbit thymus extract [RTE (Pel Freeze Biologicals Inc.,U.S.A)] ความเข้มข้น 75 - 90 มก./มล. ใน PBS กวนเบาๆ ที่ 4°C. 6 ชั่วโมงปั่นด้วยเครื่อง refrigerated centrifuge IEC centra 4R ปั่น 6,000 rpm 10 นาที ปรับความเข้มข้นของโปรตีนให้อยู่ที่ 15 มก./มล. แบ่งใส่ภาชนะเล็กเก็บที่ -70° ซ.

เตรียม 0.4% agarose (Sigma chemical co.,St. Louis,Co. U.S.A) ใน PBS เทลงใน Ouchterony plates ในแนวระนาบรอให้แข็งตัวเจาะรูให้ได้หลุมกว้าง 5 มม. ห่าง 4 มม. โดยมี 1 หลุมตรงกลางและรอบๆ 6 หลุม ตรงกลางใส่ RTE ที่เตรียมไว้ หลุมรอบๆใส่ซีรัม เลือก ซีรัมที่เกิด precipitation line ไปทดสอบอีกครั้งกับ prototype anti Sm และ anti n RNP [commercial standard,(Immco) บริษัท MRI, Ltd, Buffalo, New York, U.S.A] ซึ่งเป็นซีรัมมาตรฐานสำหรับเทียบเคียง โดยผลบวกจะดูจากซีรัมที่ให้ identity line กับ ซีรัม มาตรฐานที่เฉพาะกับ Sm antigen และ n RNP antigen ผลการศึกษา (Results)

ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรค SLE ที่สถาบัน โรคผิวหนังในช่วงเวลาดังแต่ตุลาคม พ.ศ. 2540 ถึง กันยายน พ.ศ. 2545 มีจำนวนทั้งหมด 462 ราย และมี ผู้ป่วยเพียง 21 รายเท่านั้นที่พบว่ามีอาการอักเสบของไต จากโรค LE เป็นเพศหญิงจำนวน 18 ราย และเพศชาย จำนวน 3 ราย อัตราส่วนผู้ป่วยหญิง : ผู้ป่วยชาย 6 : 1 ผู้ป่วยมีอายุตั้งแต่ 11 ปีถึง 63 ปี อายุเฉลี่ย 31.05 ปี ช่วง อายุที่พบมากที่สุดคือ ช่วงอายุ 21-40 ปี (ตารางที่ 2) พบ 12 ราย (คิดเป็นร้อยละ 57) เป็นเพศหญิง 11 ราย เพศชาย 1 ราย ส่วนช่วงอายุ 1-20 ปี และ 41-60 ปี พบผู้ป่วยจำนวน 4 รายเท่ากันและเป็นเพศหญิงมากกว่าเพศชาย ผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่า 60 ปีพบเพียง 1 รายเป็นเพศหญิง

จากการศึกษา ANA ในน้ำเหลืองของผู้ป่วยพบว่าให้ ผลบวก 100 เปอร์เซ็นต์ทั้งในเพศชายและเพศหญิง รูปแบบของ ANA ที่พบส่วนมากเป็นแบบ speckle pattern พบ 13 ใน 21 รายคิดเป็นร้อยละ 61.9 อันดับ สองเป็น homogeneous pattern พบ 3 ใน 21 รายคิดเป็น ร้อยละ 14.3 พบรูปแบบ speckle และ homogeneous

ร่วมกัน 2 ใน 21 รายคิดเป็นร้อยละ 9.5 รูปแบบ speckle ร่วมกับ nucleolar 2 รายคิดเป็นร้อยละ 9.5 รูปแบบ peripheral และ speckle ร่วมกัน 1 รายคิดเป็นร้อยละ 4.8 (ตารางที่ 3) ระดับtiter ของ ANA ของผู้ป่วยค่อนข้างสูง (ตารางที่ 4) กล่าวคือผู้ป่วยทุกรายมี titer สูงกว่า 1:80 และระดับtiter 640-2650 พบในผู้ป่วยส่วนใหญ่คือ 12 ใน 21 รายคิดเป็นร้อยละ 57.1 ระดับtiter 80-320 พบใน

ผู้ป่วย 6 ใน 21 รายคิดเป็นร้อยละ 28.6 ส่วนtiter ที่มากกว่า 2560 พบในผู้ป่วย 3 ใน 21 รายคิดเป็นร้อยละ 14.3 anti ds DNA ให้ผลบวก 6 ใน 20 รายคิดเป็นร้อยละ 30 (ตารางที่ 5) anti Sm ให้ผลบวก 7 ใน 19 รายคิดเป็นร้อยละ 36.9 และ anti RNP ให้ผลบวกทั้งหมด 9 ใน 19 รายคิดเป็นร้อยละ 47.3

ตารางที่ 2 แสดงเพศ อายุ ที่พบในผู้ป่วย Lupus nephritis

อายุ (ปี)	ชาย	หญิง	รวม
1-20	1	3	4
21-40	1	11	12
41-60	1	3	4
มากกว่า60	0	1	1
รวม	3	18	21

ตารางที่ 3 รูปแบบของ antinuclear antibody ในผู้ป่วย lupus nephritis

รูปแบบ ANA ที่พบ	จำนวน(ราย) (%)
Speckled	13 (61.9 %)
Speckled และ Nucleolar	2 (9.5 %)
Homogeneous	3 (14.3 %)
Homogeneous และ Speckled	2 (9.5 %)
Peripheral และ Speckled	1 (4.8 %)
รวม	21 (100 %)

ตารางที่ 4 แสดง ระดับ titer ของ ANA ในผู้ป่วย Lupus nephritis จำแนกตามเพศชายและหญิง

ระดับ titer	ชาย (%)	หญิง (%)	รวม (%)
80-320	0	6 (28.6)	6 (28.6)
640-2560	2 (9.5)	10 (47.6)	12 (57.1)
มากกว่า 2560	1 (4.8)	2 (9.5)	3 (14.3)
รวม	3 (14.3)	18 (85.7)	21 (100)

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบ antinuclear antibody(ANA) ในผู้ป่วย Lupus nephritis

	ANA ราย	Anti dsDNA*ราย	Anti Sm**ราย	Anti U ₁ RNP**ราย
ชาย ผลบวก	3/21	0	1/19	2/19
ชาย ผลลบ	0	3/20	2/19	1/19
หญิง ผลบวก	18/21	6/20	6/19	7/19
หญิง ผลลบ	0	11/20	10/19	9/19

*ไม่ได้ทำการทดสอบ จำนวน 1 ราย

** ไม่ได้ทำการทดสอบ จำนวน 2 ราย

วิจารณ์

จากการศึกษาพบว่าผู้ป่วยโรค SLE ที่สถาบันโรคผิวหนังซึ่งมักจะมีอาการทางผิวหนังเป็นอาการจะมี lupus nephritis ร่วมด้วยน้อยมาก จากการค้นหาผู้ป่วยเป็นระยะเวลา 5 ปีตั้งแต่ ตุลาคม พ.ศ. 2540 ถึงกันยายน พ.ศ. 2545 พบเพียง 21 รายจากผู้ป่วย SLE ทั้งหมด 462 รายคิดเป็นเพียงร้อยละ 4.54 ซึ่งต่ำมากเมื่อเทียบกับการรายงานอื่นๆ ที่พบโรคไตในผู้ป่วย SLE ประมาณร้อยละ 40-80^{4,5,6,7} ดังนั้นจากการศึกษานี้พบข้อสังเกตว่าผู้ป่วยโรค SLE ที่มีอาการทางผิวหนังเด่น โอกาสที่จะพบ lupus nephritis ร่วมด้วยอาจน้อยกว่าผู้ป่วย SLE ที่มีอาการของระบบอื่นๆเป็นอาการนำ ในแง่ของเพศและอายุของผู้ป่วยพบว่าผู้ป่วยเพศหญิงมากกว่าเพศชายเป็น

อัตราส่วน 6 : 1 ผู้ป่วยที่อายุน้อยที่สุดอายุ 11 ปี และอายุมากที่สุดอายุ 63 ปี อายุที่พบมากที่สุดอยู่ในช่วง 21 - 40 ปีซึ่งเป็นวัยเจริญพันธุ์ ผู้ป่วยเพศชายมีจำนวนน้อยและพบกระจายในทุกช่วงอายุ ยกเว้นในกลุ่มที่อายุมากกว่า 60 ปีไม่พบผู้ป่วยเพศชายเลย จากการรายงานของ Alba และคณะ⁴ พบว่าผู้ป่วยที่มีอาการของไตอักเสบร่วมด้วยจะพบมากในผู้ป่วยมีอายุน้อยกว่า 50 ปี ซึ่งเข้าได้กับผลที่ได้จากการศึกษารังนี้ สาเหตุที่เป็นเช่นนี้ยังไม่ทราบแน่ชัดแต่อาจเป็นเพราะการตอบสนองของระบบของภูมิคุ้มกันในคนสูงอายุลดลง ความเป็นอยู่ที่ต่างกันและในคนอายุน้อยอาจมีปัจจัยของกรรมพันธุ์เข้ามาเกี่ยวข้อง ทำให้มีความแตกต่างกันของปัจจัยการเกิด lupus nephritis นอกจากนี้ Alba และคณะ⁴ ไม่พบว่ามีความ

แตกต่างของการเกิดโรคในผู้ป่วย⁴ เพศหญิงและเพศชาย แต่การศึกษาส่วนของเราพบว่ามีเพศหญิงมากกว่าเพศชายคล้ายกับในผู้ป่วย LE อื่นๆ

ส่วนการศึกษาหา ANA ในผู้ป่วย lupus nephritis ครั้งนี้ให้ผลบวกร้อยละ 100 ซึ่งต่างจากการศึกษาในผู้ป่วย SLE ก่อนหน้านี้ที่รวบรวมทั้งผู้ป่วยที่มีและไม่มี lupus nephritis และพบว่า ANA ให้ผลบวก ร้อยละ 79.0-81.1^{10,11} รูปแบบของ ANA ในผู้ป่วย lupus nephritis ที่พบมากที่สุดของเราคือ speckle pattern อันดับสองที่พบมากรองลงมาคือรูปแบบ homogenous pattern ผลการศึกษาครั้งนี้ต่างจากการศึกษาของ Ilic และคณะ⁸ พบว่า homogeneous pattern พบมากที่สุดถึงร้อยละ 70 และรูปแบบ speckle pattern พบมากเป็นอันดับ 2 คือประมาณร้อยละ 16.66 ANA รูปแบบ homogeneous pattern สัมพันธ์กับแอนติเจนชนิด dsDNA และ histone แต่ ANA รูปแบบ speckle pattern จะสัมพันธ์กับแอนติเจนชนิด ribonucleoprotein จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่าง anti dsDNA และความรุนแรงของโรค SLE¹²⁻¹⁷ โดยเฉพาะ lupus nephritis อย่างมากจนตั้งสมมุติฐานว่า anti dsDNA น่าจะมีบทบาทสำคัญในขบวนการเกิดพยาธิสภาพใน lupus nephritis และพบว่า anti dsDNA titer มักจะแปรตามความรุนแรงของโรค¹³ จากการศึกษาของเราพบว่าผู้ป่วยที่มี anti dsDNA ให้ผลบวกค่อนข้างน้อยคือเพียง 6 รายใน 20 ราย คิดเป็นร้อยละ 30 อย่างไรก็ดีตามยังพบมากกว่าการศึกษาในผู้ป่วย SLE ของสถาบันโรคผิวหนังก่อนหน้านี้ซึ่งพบเพียงร้อยละ 13¹¹ เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Ilic และคณะ⁸ แล้วพบว่าผู้ป่วยของเรามี anti RNP และ anti Sm ให้ผลบวกจำนวนน้อยกว่า คือคิดเป็นร้อยละ 47.3 และ 36.9

ตามลำดับ Ilic และคณะ⁸ พบว่า anti Sm มีความสัมพันธ์กับ lupus nephritis ที่มีอาการรุนแรงมากซึ่งเป็นชนิดที่พบบ่อยแต่ anti U₁RNP พบว่ามีความสัมพันธ์กับ lupus nephritis ชนิดที่รุนแรงน้อยกว่าและเป็นชนิดที่พบน้อย ดังนั้นผู้ป่วยที่ให้ผลบวกทั้ง anti dsDNA และ anti Sm น่าจะมีความเสี่ยงที่จะเป็น Lupus nephritis ที่มีอาการรุนแรงได้สูง แต่เนื่องจากการศึกษาของเราไม่ได้จัดระดับความรุนแรงของอาการทางไตจึงยังไม่สามารถสรุปได้ถึงความสัมพันธ์ระหว่าง ANA ชนิดต่างๆ กับความรุนแรงของโรคได้

References

1. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 1271-7.
2. Roongphiboonlsopt P, Himmungnan P, Piamphonngsant T. Improvement of antinuclear antibody (ANA) detection by using Hep-2 cell substrates. *Bull Dept Med Sci* 1990; 15: 164-170.
3. Wilson MR, Sanders RD. Immunodiffusion assays for antibodies to small nuclear ribonucleoproteins and other cellular antigens. In: Rose NR, Macario EC, Fahey JL, Friedman H, Penn GM. *Manual of clinical laboratory immunology*, fourth edition, American Society for Microbiology Publisher, Washington, D.C. 1992: 741-6.
4. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. *Ann of the Rheumatic Diseases* 2003; 62: 556-560.
5. Boumpas DT, Austin HA, Fessler BJ, et al. Systemic lupus erythematosus: emerging concepts. Part 1 : renal, neuropsychiatric, cardiovascular, pulmonary, and hematologic disease. *Ann Intern Med*. 1995; 14: 427-441.
6. Peutz-Koostra CJ, de Heer E, Hoedemaeker PJ, et al. Lupus nephritis: lessons from experimental animal models. *J Lab Clin Med*. 2001; 137: 224-260.
7. Ruiz-Irastorza G, Khamashta MA, Castellino G, Hughes GR. Systemic lupus erythematosus. *Lancet* 2001; 357: 1027-32.
8. Ilic T, Curic S, Vodopivec S, et al. Anti-U1RNP antibodies and lupus nephritis. *Med Pregl* 2000; 53: 589-94.

9. Savitri K, Sehgal S, Datta BN, Chugh KS. Class specific antinuclear antibodies in systemic lupus erythematosus. *Indian J Med Res* 1993; 98: 27-9.
10. สมชัย ชาญจนกิจสกุล, กนกวลัย กุลทนนท์. Antinuclear antibodies ของผู้มารับบริการจากสถาบันโรคผิวหนัง กระทรวงสาธารณสุข. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2538; 7: 147-53.
11. สมชัย ชาญจนกิจสกุล, รังสรรค์ ตั้งตรงจิตร, ประณีต ผ่องแผ้ว. ลักษณะของ autoantibodies ชนิดต่างๆ ในผู้ป่วย systemic lupus erythematosus (SLE) ที่สถาบันโรคผิวหนัง กระทรวงสาธารณสุข. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2541; 10: 78-86.
12. Chuan MT, Wu YC, Ang ET, Wang JH, In KL, Lu YC. Clinical significance of anti-nDNA antibodies in ANA-positive systemic lupus erythematosus: comparison of the Farr radioimmunoassay and the *Criethidia luciliae* immunofluorescent technique. *Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Ji Mian Yi Xue Za Zhi* 1985; 18: 15-24.
13. อรวรรณ วีระเสริฐนิคม, มนต์จันทร์ วณิชพันธ์, สุชีลา จันทร์วิทยานุกิต, มงคล วัฒนสุข. การตรวจวิเคราะห์ anti-double stranded-DNA antibody: ศึกษาเปรียบเทียบวิธีตรวจวิเคราะห์ 4 วิธี. *วารสารเทคนิคการแพทย์* 2539; 24: 148-55.
14. Swaak AJG, Aarden LA, Statius Van eps LW, Feltkamp TEW. Anti-dsDNA and complement profiles as prognostic guides in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheu* 1979; 22: 226-35.
15. Ballau SP, Kushner I. Anti-native DNA detection by the *Criethidia luciliae* method. An improved guide to diagnosis and clinical management of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheu*. 1979; 22:321-7.
16. Chubick A, Sontheimer RD, Gilliam JN. An appraisal of tests for native DNA antibodies in connective tissue diseases. Clinical usefulness of *Criethidia luciliae* assay. *Ann Intern Med* 1978; 89:186-92.
17. Lightfoot RS, Redecha PD, Levesanos N. Longitudinal studies of anti-DNA antibody level in SLE. *Scand J Rheumatol*. 1975; 11: 52-8.