บทคัดย่อภาษาไทย

220707

โมเลกุลชีวภาพในซีรัมที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้การเป็นมะเร็งท่อน้ำดีที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน เช่น carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen (CA) 19-9 และมิวซิน มักให้ค่าความไวและความจำเพาะที่ไม่สูงมากนัก เนื่องจากไม่มีตัวบ่งชี้ใดที่มีความจำเพาะโดยตรงต่อมะเร็งชนิดนี้ ดังนั้นการศึกษานี้จึงมุ่งเน้นการสร้างโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่มีความจำเพาะสูงต่อมะเร็งท่อน้ำดีเพื่อพัฒนาเป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพของมะเร็งท่อน้ำดีต่อไป โดยเตรียมแอนติเจนจากเนื้อเยื่อมะเร็งของผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีชนิดต่าง ๆ (n=5) และผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีจาก myeloma clone ตามวิธีมาตรฐาน ซึ่งเกิดจากการรวมเซลล์ myeloma กับเซลล์ม้ามของหนู Ganp-Tg Balb/c (ได้รับการฉีดกระตุ้นด้วยแอนติเจนดังกล่าว การสนับสนุนจาก Prof. Sakaguchi, Kumamoto University)

ทำการคัดเลือก hybridoma clones โดยใช้เทคนิค ELISA, Soy Bean Agglutinin (SBA)-captured ELISA, และCell ELISA โคลนที่ให้แอนติบอดีที่จำเพาะกับแอนติเจนที่ตรวจพบได้ในซีรัมของผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีหรือเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีสูงกว่าซีรัมคนปกติหรือเซลล์ท่อน้ำดีปกติถูกคัดไว้เพื่อเพิ่มจำนวนและศึกษาคุณสมบัติที่ละเอียดต่อไป จากจำนวน 400 โคลน สามารถคัดไว้ 6 โคลนเพื่อศึกษาคุณสมบัติในการตรวจแอนติเจนในซีรัมผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีโดยวิธี ELISA, western blotting และตรวจแอนติเจนในชิ้นเนื้อผู้ป่วยโดยวิธี immunohistochemistry จากคุณสมบัติต่าง ๆดังกล่าวได้เลือกโคลนที่มีศักยภาพสูงสุด 2 โคลน คือ S27 (จากการผลิต hybridoma clones ชุดแรก) ซึ่งได้พิสูจน์ทราบว่าเป็นโคลนเดียวกับ K2C4 และ K4E4 (จากการผลิต hybridoma clones ชุดที่สอง) และ S121 (จากการผลิต hybridoma clones ชุดแรก) ทั้งสองโคลนผลิตแอนติบอดีชนิด IgM ที่จำเพาะกับ glycoproteins ที่มีน้ำหนักมากกว่า 500 KDa ซึ่งอยู่ในระหว่างการพัฒนาเป็นชุดตรวจมะเร็งท่อน้ำดีในปีต่อไป

220707

There are a number of serum markers used for diagnosis of cholangiocarcinoma (CCA), such as carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen (CA) 19-9, and serum mucin. However, none of these markers provide high specificity and sensitivity. It is the aim of this project to develop the high affinity monoclonal antibodies (mAbs) against CCA and investigate the possibility of using these mAbs for diagnosis of CCA. Crude extracted from various types of CCA tumor tissues (n=5) were used as antigens to immunize to the Ganp-Tg Balb/c mice provided by Prof. Sakaguchi, Kumamoto University. After complete immunization, the spleen cells were fused with myeloma cell lines according to the standard methods.

The hybridoma cells were screened by indirect ELISA, Soy Bean Agglutinin (SBA)-captured ELISA, and Cell ELISA. The clones which secreted monoclonal antibody against antigen in the pooled CCA patients' sera or CCA cell lines (M213) higher than those in the pooled healthy persons' sera or normal cholangiocyte (MMNK1) were selected. Isotype of the selected mAb were tested by ELISA Kit from BD Biosciences according to manufacture protocol. More than 400 hybridoma clones were screened. Six clones that distinguished sera of CCA patients from healthy subjects were selected and further screened using cell ELISA, western blotting and immunohistochemistry. Finally, two potential clones namely S27 (from the first set) or K2C4 and K4E4 from the second set and S121 (from the first set) which distinguish high molecular weight glycoproteins (>500KDa) were selected for further analysis.