

รัตนา ธาตุอาภรณ์. 2543. การเพาะเลี้ยงและการศึกษาคุณลักษณะพื้นฐานของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี.

วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบัณฑิต สาขาวิชากายวิภาคศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

[ISBN 974-678-254-1]

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : รศ. ชาญณรงค์ อริญารณ, ผศ. ดร. บรรจบ ศรีภา,

นายพิพัฒน์พงษ์ แคนลา

บทคัดย่อ

มะเร็งท่อน้ำดีมีอุบัติการณ์สูงในประเทศไทยแต่การศึกษาด้านชีววิทยาของมะเร็งชนิดนี้มีน้อยมาก โดยการศึกษาในด้านนี้ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในเซลล์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง ซึ่งปัจจุบันมีเพียง 13 ราย และเป็นรายงานของผู้วิจัยไทยเพียง 1 ราย ผู้วิจัยจึงมีความประสงค์ที่จะเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีที่ได้จากผู้ป่วยในท้องถิ่นที่มีการระบาดของพยาธิใบไม้ตับ ซึ่งน่าจะมีคุณสมบัติต่างๆ ในด้านชีววิทยามะเร็งใกล้เคียงกับมะเร็งท่อน้ำดีในภูมิภาคนี้มากกว่าเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีจากภูมิภาคอื่น ซึ่งคาดว่าจะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อการศึกษชีววิทยาของมะเร็งชนิดนี้ในด้านต่าง ๆ ในอนาคต อาทิ ชีววิทยาในระดับโมเลกุล, tumor markers, การเจริญเติบโต และ differentiation, การแพร่กระจายของมะเร็ง ตลอดจนการตอบสนองต่อยาชนิดต่างๆ รวมทั้งสมุนไพรอีกด้วย

รายงานนี้ผู้วิจัยได้ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีส่วนที่อยู่ในตับ ที่ได้จากผู้ป่วยในภาคอีสาน โดยรายแรกได้เนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดีจากผู้ป่วยหญิงอายุ 53 ปี และผลทางพยาธิวิทยาพบว่าเป็นมะเร็งท่อน้ำดีชนิด adenosquamous carcinoma รายที่สองได้จากผู้ป่วยชายอายุ 68 ปี ที่ผลทางพยาธิวิทยาพบว่าเป็นมะเร็งท่อน้ำดีชนิด adenocarcinoma โดยการนำเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดีผู้ป่วยทั้งสองรายมาเพาะเลี้ยงในอาหารพิเศษที่ประกอบด้วย Ham-F12, 10% FBS (Fetal bovine serum) และ ยาปฏิชีวนะ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการศึกษาค้นคว้าคุณลักษณะพื้นฐานในด้านต่างๆ ดังนี้ 1) รูปร่างลักษณะทั้งในระดับกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา และจุลทรรศน์อิเล็กตรอน 2) การเจริญเติบโต 3) immunocytochemistry 4) โครโมโซม ด้วยวิธีมาตรฐาน หลังจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะเร็งทั้งสองรายประมาณ 4 เดือน ก็ได้เซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดีและกำหนดชื่อของเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดีตั้งกล่าวเป็น KKU-M139 และ KKU-M156 ตามลำดับ เซลล์เพาะเลี้ยงนี้มีระยะเวลาเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า ที่ 7 วันเท่ากัน จากการศึกษาคุณลักษณะพื้นฐาน พบว่าเซลล์เพาะเลี้ยง สามารถคงคุณลักษณะส่วนใหญ่ของเนื้อเยื่อต้นกำเนิดไว้ได้ โดยผลการศึกษาทางด้าน immunocytochemistry พบว่าเซลล์เพาะเลี้ยงทั้งสอง สามารถสร้าง cytokeratin, CD44 (Cluster differentiation 44), EMA (Epithelium membrane antigen) ไม่สร้าง desmin แสดงออก CEA (Carcinoembryonic antigen) แต่ไม่แสดงออก AFP (Alphafetoprotein) เหมือนกันทั้งสอง cell line และ KKU-M156 เท่านั้นที่แสดงออก CA19-9 (Carbohydrate antigen 19-9), CA125 (Carbohydrate antigen 125), p53 ซึ่งผลที่ได้เหมือนกันระหว่างเซลล์เพาะเลี้ยงและเนื้อเยื่อต้นกำเนิด เมื่อศึกษาทางด้านรูปร่างลักษณะด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบทรานสมิสชัน พบลักษณะที่สำคัญคือ มี tonofilament ใน cytoplasm ของเซลล์ส่วนหนึ่งของ KKU-M139 และอีกส่วนหนึ่งพบ secretory granules เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบสแกนพบเซลล์ส่วนใหญ่ microvilli เล็กน้อยบนผิวเซลล์ และมีเซลล์ส่วนน้อยที่มี microvilli ที่ยาวและหนาแน่นกว่า ส่วน KKU-M156 นั้นพบ secretory granules จำนวนมากใน cytoplasm พบ junctional

complex เชื่อมกันระหว่างเซลล์ และพบ microvilli หนาแน่นบนผิวเซลล์ เซลล์เพาะเลี้ยงทั้งสองมีรูปร่าง เป็น polygonal เจริญเรียงตัวกันเป็น monolayer อาจมีการซ้อนทับกันบ้าง การศึกษาทางเซลล์พันธุศาสตร์พบว่า เซลล์เพาะเลี้ยงทั้งสองมีความผิดปกติของโครโมโซมทั้งทางด้านโครงสร้าง และจำนวนโครโมโซม โดยมีจำนวนโครโมโซมเฉลี่ย 74 และ 124 แห่งใน KKU-M139 และ KKU-M156 ตามลำดับ เซลล์เพาะเลี้ยงทั้งสองได้ทำการเพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่องมากกว่า 6 เดือนจากนั้นได้เก็บรักษาไว้ในไนโตรเจนเหลว

จากผลการศึกษาครั้งนี้ สามารถเพาะเลี้ยงและศึกษาคุณลักษณะพื้นฐานเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีได้ จำนวน 2 cell line คือ KKU-M139 ที่แสดงคุณลักษณะของ adenosquamous carcinoma ซึ่งจัดเป็นรายชื่อ 2 ของโลกที่เป็นเซลล์เพาะเลี้ยงของมะเร็งตับที่แสดงออกในลักษณะ adenosquamous carcinoma ส่วน KKU-M156 แสดงคุณลักษณะของ adenocarcinoma. เช่นเดียวกับเซลล์เพาะเลี้ยงของมะเร็งท่อน้ำดีส่วนใหญ่ที่มีรายงาน