

Abstract

Objectives: To evaluate the technical feasibility and prognosticating role of Cytokeratin 20 and CEA RT-PCR in evaluating circulating tumor cells in patients with colorectal cancer.

Methods Ten milliliters of pre-operative blood samples from 133 cases of colorectal patients were collected for RNA extraction and one-step RT-PCR for Cytokeratin 20 and CEA genes.

Results were analyzed against tumor stage and surgical outcome.

Results: Cell spiking study using SW620 cell line showed that the one-step RT-PCR for Cytokeratin 20 and CEA gave a positive result when the cell density in a 10-ml sample was 10^3 and 10^4 cells/ml or greater, respectively. Of 133 cases studied, 99 (74.4%) were positive for Cytokeratin 20 RT-PCR and 88 (66.2%) were positive for CEA RT-PCR. Positive RT-PCR of both genes was significantly associated with lymph node metastasis and advanced tumor stage. Positive CEA RT-PCR was significantly associated with poorer overall survival (OS) and event free survival (EFS). Two-year OS in cases with positive CEA RT-PCR result was 80.3%, compared with 98.6% in cases with negative result. Two-year EFS in stage I-III cases with positive CEA RT-PCR result was 89.7 %, compared with 43.2% in cases with negative result. Multivariate analysis revealed that CEA was associated with the EFS, independently from tumor stage.

Conclusion: Detection of circulating tumor cells by RT-PCR using CEA as a marker is feasible and beneficial in identifying patients who are at-risk of recurrence or metastasis.

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ทางเทคนิคของการใช้ RT-PCR ในการตรวจวินิจฉัยการกระจายของมะเร็งตามกระแสเลือดและความสัมพันธ์ระหว่างผลตรวจกับผลการรักษา

วิธีการ ได้จัดเก็บเลือดก่อนผ่าตัด ปริมาณ 10 มิลลิลิตรจากผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรงซึ่งเข้ารับการรักษาดำเนินการผ่าตัดในช่วงระหว่างปีพุทธศักราช 2551 กระทั่งปี 2554 สกัด RNA จากตะกอนเลือดและทำปฏิกิริยาขยายส่วนของสารพันธุกรรมแบบ one-step reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างผลบวกของการศึกษากับการจัดระยะของโรคและผลการรักษาในเชิงอัตรารอดชีวิต

ผลการศึกษา การศึกษาตรวจพบผลบวกของ RT-PCR ของจีน Cytokeratin 20 ในผู้ป่วย 99/133 ราย (ร้อยละ 77.4) พบผลบวกเมื่อใช้ CEA เป็นเครื่องหมาย 88 ราย (ร้อยละ 66.2) ผลบวกของจีนทั้งสองแปรผันตรงกับระยะของโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value < 0.01) นอกจากนี้ ผลบวกของจีน CEA มีความสัมพันธ์กับการพบการกระจายของมะเร็งในต่อมน้ำเหลือง (p -value; 0.03)

ผลบวกของ RT-PCR ของจีน CEA มีความสัมพันธ์ต่ออัตรารอดชีวิตในภาพรวม (overall survival) และอัตรารอดชีวิตอย่างปราศจากโรค (event free survival) ในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ อัตรารอดชีวิตในภาพรวมในระยะ 2 ปีในผู้ป่วยซึ่งมีผลลบต่อ CEA อยู่ที่ร้อยละ 98.6 เทียบกับร้อยละ 80.3 ในผู้ที่พบผลบวก ในผู้ป่วยระยะที่ 1-3 ซึ่งมีผลบวกต่อ CEA มีอัตรารอดชีวิตอย่างปราศจากโรคร้อยละ 46.2 เทียบกับร้อยละ 87.4 ในรายซึ่งมีผลลบ

เมื่อศึกษาแบบพหุปัจจัย โดยใช้ Cox proportional hazard model พบว่า CEA เป็นตัวแปรซึ่งมีความสัมพันธ์ต่ออัตรารอดชีวิตอย่างปราศจากโรคอย่างเป็นอิสระจากระยะของโรคในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรงระยะที่ 1-3

สรุป การตรวจจับการกระจายของเซลล์มะเร็งไปตามกระแสเลือดโดยอาศัยวิธี RT-PCR เป็นเครื่องมือที่มีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้เป็นเครื่องหมายในการตรวจจับการกระจายของมะเร็งไปตามกระแสเลือด ซึ่งมีความสำคัญต่อการพยากรณ์โรคในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่