

คำนำและกิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง “การผลิตและพัฒนาโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อมะเร็งท่อน้ำดีเพื่อการวินิจฉัยและรักษา” เป็นโครงการย่อยภายใต้แผนงานวิจัย การพัฒนาชุดวินิจฉัยมะเร็งตับในอีสาน เป็นโครงการต่อเนื่อง 5 ปี (ปี 2550-2554) และปีงบประมาณ 2554 เป็นปีที่ 5 ดังนั้นผลงานวิจัยบรรลุตามแผนที่วางไว้ในปีที่ 5 มีผลงานสมบูรณ์พอที่จะสรุปตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการนานาชาติได้ 1 เรื่อง โดยได้จัดทำ draft manuscript เรื่อง CA-S27: A novel Lewis A associated carbohydrate epitope is diagnostic and prognostic for cholangiocarcinoma เพื่อส่งตีพิมพ์ในวารสาร Journal of Hepatology ที่มีค่า Impact factor เท่ากับ 9.26

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่สนับสนุนทุนวิจัยของโครงการนี้ ศูนย์วิจัยพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดีที่สนับสนุนตัวอย่างเนื้อเยื่อและซีรัมผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีที่ใช้ในการศึกษานี้ และ Prof. Nobuo Sakaguchi และ Prof. Norie Araki จาก Kumamoto University ประเทศญี่ปุ่น ที่ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในการวิจัยบางส่วน

รองศาสตราจารย์โสพิศ วงศ์คำ
หัวหน้าโครงการวิจัย
กรกฎาคม 2555

บทคัดย่อภาษาไทย

ตัวบ่งชี้ที่จำเพาะและสามารถบ่งชี้ภาวะมะเร็งระยะต้นได้เป็นปัจจัยสำคัญในการส่งเสริมการรักษา มะเร็ง การศึกษาครั้งนี้ได้ผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดี-S27 ซึ่งจำเพาะต่อส่วนประกอบของ Lewis-a (Le^a) ที่ต่อกับมิวซิน MUC5AC ในซีรัม โดยให้ชื่อองค์ประกอบคาร์โบไฮเดรตชนิดใหม่นี้ว่า carbohydrate antigen-S27 หรือ CA-S27 และได้พัฒนาระบบการตรวจวัดปริมาณ CA-S27 ในซีรัมโดยใช้ SBA-S27 mAb sandwich ELISA พบว่าผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีมีระดับ CA-S27 ในซีรัมสูงและสามารถใช้แยกกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีออกจากผู้ป่วยมะเร็งในระบบทางเดินอาหาร มะเร็งตับ ผู้ป่วยที่มีพยาธิสภาพของระบบท่อน้ำดีและตับ รวมทั้งคนปกติ โดยให้ค่าความไว 87.5% และค่าทำนายผลลบสูง 90.4% CA-S27 ที่พบในซีรัมมีต้นกำเนิดจากเนื้อเยื่อมะเร็ง พบว่าระดับ CA-S27 ในซีรัมลดลงอย่างมีนัยสำคัญหลังผ่าตัดก้อนมะเร็งออก และสามารถใช้เป็นตัวพยากรณ์ภาวะโรคได้ โดยพบว่าผู้ป่วยที่มีระดับ CA-S27 ในซีรัมสูงจะมีระยะรอดชีพต่ำกว่าผู้ป่วยที่มีระดับ CA-S27 ในซีรัมต่ำโดยไม่สัมพันธ์กับระดับซีรัม MUC5AC ของผู้ป่วย นอกจากนี้ยังพบว่าการลดปริมาณเอนไซม์ Fucosyltransferase-III (FUT3) ซึ่งเป็นเอนไซม์หลักที่ควบคุมปริมาณ CA-S27 โดยใช้ siRNA หรือใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี-S27 ลดการแสดงออกของ CA-S27 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต การยึดเกาะ การเคลื่อนที่และการแพร่ลุกลามของเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้การทดสอบดังกล่าวไม่มีผลต่อเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดีที่มีระดับการแสดงออกของ FUT3 ต่ำ โดยสรุป การศึกษาชิ้นนี้เป็นการศึกษาแรกที่รายงานเกี่ยวกับ CA-S27 และศักยภาพของการใช้ซีรัม CA-S27 เป็นตัวตรวจวินิจฉัยและพยากรณ์โรคของมะเร็งท่อน้ำดี รวมทั้งบทบาทของ CA-S27 ต่อการเจริญเติบโต การยึดเกาะ การเคลื่อนที่และการแพร่ลุกลามของเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดี

คำสำคัญ (keywords): cholangiocarcinoma, monoclonal antibody, tumor marker, MUC5AC

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ (Abstract)

Early and specific diagnosis is critical for treatment of malignant cancers. Increased expression of tumor-associated markers has been shown to be highly predictive for cholangiocarcinoma (CCA). In this study, a S27 monoclonal antibody (mAb) which recognizes a cancer-associated modification of serum MUC5AC with Lewis-a (Le^a) associated epitopes was established. The carbohydrate antigen was designated as carbohydrate antigen-S27 (CA-S27). A SBA-S27 mAb sandwich ELISA to determine CA-S27 in serum was successfully developed. High level of CA-S27 was detected in serum of CCA patients and could differentiate the patients of CCA from those of gastro-intestinal cancers, hepatomas, benign hepatobiliary diseases and healthy subjects with high sensitivity (87.5%) and high negative predictive value (90.4%). CA-S27 detected in serum of CCA patients was of tumor origin as CA-S27 was detected in CCA tissues and the level of CA-S27 in serum was dramatically reduced after the tumor removal. A prognostic value for serum CA-S27 was revealed, because patients with high serum CA-S27 had significantly shorter survival periods than those with low serum CA-S27 regardless of serum MUC5AC levels. Fucosyltransferase-III (FUT3) was shown to be a regulator of CA-S27 expression. Suppression of CA-S27 expression with siRNA-FUT3 or CA-S27 neutralization with S27 mAb significantly reduced growth, adhesion, invasion and migration potentials of CCA cells *in vitro*. A similar treatment had no effect on the CCA cell line without FUT3 expression. **Conclusion:** This study is the first to demonstrate that serum CA-S27, a novel carbohydrate antigen, has potential as diagnostic and prognostic markers for CCA patients. CA-S27 has a functional role in promoting cell growth, adhesion, migration and invasion of CCA cells.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญภาพ	จ
สารบัญตาราง	ฉ
คำสำคัญ สัญลักษณ์และคำย่อ	ฉ
คณะผู้วิจัย แหล่งทุน	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
เป้าหมายเชิงยุทธศาสตร์ของแผนงานวิจัย	2
วัตถุประสงค์หลักของแผนงานวิจัย	3
วัตถุประสงค์โครงการ	4
ผลที่คาดว่าจะได้รับ	5
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	5
ขอบเขตของโครงการวิจัย	9
ระยะเวลาทำการวิจัยและแผนการดำเนินงานตลอดโครงการวิจัย	9
ทฤษฎี สมมุติฐาน หรือกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	10
วัตถุประสงค์ของโครงการในปีงบประมาณ 2554	10
วิธีการดำเนินการวิจัยและผลการวิจัย	10
อภิปรายผล/วิจารณ์	15
เอกสารอ้างอิง	16
การเผยแพร่ผลงาน	17

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
1	แสดงการย้อมขึ้นเนื้อมะเร็งท่อน้ำดีด้วยโมโนโคลนอลแอนติบอดี S27 ที่ผลิตได้	11
2	แสดงระดับ S27 ในซีรัมผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีจำนวน 96 ราย	12
3	การแสดงออกของแอนติเจนจำเพาะต่อโมโนโคลนอลแอนติบอดี S27 มีความสัมพันธ์กับการแสดงของ เอ็นไซม์ FUT3 ในเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดี	15

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	Correlation of tissue S27 antigen staining pattern with patient's clinical data	11
2	Correlation of serum S27 and clinical data of CCA patients	13
3	Multivariate analysis of serum S27 antigen in CCA patients	14

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

คำย่อ	คำเต็ม
°C	Degree Celsius
CCA	Cholangiocarcinoma
CEA	Carcinoembryonic antigen
CA 19-9	Carbohydrate antigen 19-9
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
KDa	Kilo Dalton
L	Litre
β-ME	β -Mercaptoethanol
mAb	Monoclonal antibody
mmol	Milli molar
PBS	Phosphate buffer saline
SAGE	Serial Analysis of Gene Expression
SBA	Soybean agglutinin
SDS	Sodium dodecyl sulphate
μL	microlitre