

นั้น หรือใช้แอนติบอดีซึ่งจับจำเพาะกับโปรตีนนั้น เป็นต้น ดังนั้นกลยุทธ์หนึ่งของแผนงานนี้คือการสร้างโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่มีความจำเพาะกับโปรตีนของมะเร็งแต่ไม่จับกับโปรตีนของเซลล์ปกติ

วัตถุประสงค์โครงการ (ต่อเนื่อง 5 ปี)

1. ผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดีโดยใช้หนู Balb/c-gamp-Tg mice ซึ่งเป็นหนูที่พัฒนาให้มีความสามารถในการสร้างแอนติบอดีที่มีความจำเพาะสูง
2. คัดเลือกโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่มีความจำเพาะเฉพาะกับเนื้อเยื่อมะเร็งหรือซีสต์จากผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี
3. พัฒนาการตรวจวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีจากซีสต์ผู้ป่วยโดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีที่ผลิตได้ด้วยวิธี ELISA

7. ผลที่คาดว่าจะได้รับ

ผลการวิจัยและพัฒนาจากการศึกษาจะช่วยแก้ปัญหาของการขาดการตรวจวินิจฉัยที่มีความจำเพาะต่อมะเร็งท่อน้ำดีซึ่งจะเป็นประโยชน์ทั้งทางตรงและทางอ้อมดังนี้

1. ผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีที่ได้รับการตรวจวินิจฉัยที่ถูกต้องและทำให้ได้รับการรักษาที่ถูกต้องและรวดเร็ว รวมทั้งการใช้เป็นตัวบ่งชี้การเกิดซ้ำของมะเร็งท่อน้ำดี
2. แพทย์และบุคลากรด้านการแพทย์และสาธารณสุข ในโรงพยาบาลต่าง ๆ จะใช้ผลงานที่พัฒนาแล้วในการตรวจวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีและใช้ในการติดตามการรักษา
3. ประชาชนกลุ่มเสี่ยง ในการเฝ้าระวังต่อการเกิดมะเร็งท่อน้ำดี
4. ผลการวิจัยนี้สามารถนำสู่การผลิตเชิงพาณิชย์ โดยการพัฒนานิ่วทางการตรวจให้สะดวก ง่ายและราคาถูก ซึ่งสามารถจดสิทธิบัตรและผลิตเชิงพาณิชย์ได้

8. การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

มะเร็งท่อน้ำดีเป็นปัญหาสาธารณสุขที่จำเพาะและสำคัญของชาวอีสาน นับแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน เนื่องจากมะเร็งชนิดนี้พบน้อยมากในชาวตะวันตกจึงทำให้การวิจัยและรายงานการศึกษาโรคมะเร็งท่อน้ำดีในระดับสากลมีน้อยและมีผู้สนใจในวงจำกัด แม้ว่ารายงานระบาดวิทยาของผู้ป่วยที่เสียชีวิตด้วยมะเร็งท่อน้ำดีในประเทศตะวันตกเช่น สหรัฐอเมริกา อังกฤษ และออสเตรเลีย เพิ่มขึ้นหลายเท่าตัวในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา แต่มะเร็งท่อน้ำดีที่เกิดขึ้นในคนไทยมีสมมุติฐานของโรคที่แตกต่างจากคนในประเทศตะวันตกและประเทศในแถบเอเชียตะวันออก ดังนั้นข้อมูลและองค์ความรู้ที่ได้จากการศึกษาวิจัยในชนชาติอื่น จึงไม่สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีในประเทศไทยได้โดยตรง จึงเป็นความจำเป็นอย่างยิ่งที่นักวิจัยไทยต้องศึกษาข้อมูลพื้นฐานและองค์ความรู้เกี่ยวกับมะเร็งท่อน้ำดีในคนไทยเอง

เนื่องจากผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีส่วนใหญ่ไม่มีอาการแสดงในระยะเริ่มแรก และยังไม่มีการวินิจฉัยหรือการตรวจกรองที่จำเพาะต่อโรคในระยะเริ่มแรก ผู้ป่วยจึงมักมาพบแพทย์เมื่ออาการหรือโรคได้ดำเนินถึงระยะท้ายแล้ว ซึ่งในระยะดังกล่าวมักมีการกระจายของมะเร็งลุกลามไปยังอวัยวะอื่นทั้งที่ใกล้เคียงหรือห่างไกล และเป็นเหตุสำคัญที่ทำให้การบำบัดรักษาและพยากรณ์โรคในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีไม่ได้ผลดี และทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิต ดังนั้นการการวินิจฉัยโรคให้ได้อย่างจำเพาะในระยะเริ่มแรกและการป้องกันการแพร่ลุกลามของมะเร็ง จึงเป็นแนวทางที่มีความเป็นไปได้สูงในการลดความรุนแรงและความสูญเสียที่เกิดจากมะเร็งท่อน้ำดีในภูมิภาคนี้

ปัจจุบัน ยังไม่มีการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการที่มีความจำเพาะต่อมะเร็งท่อน้ำดีในระยะเริ่มแรกและ/หรือระยะแพร่ลุกลาม คณะผู้วิจัยได้พัฒนาวิธีตรวจหามิวซิน MUC5AC ซึ่งเป็นชีวโมเลกุลที่สร้างและหลังจากเนื้อเยื่อมะเร็งและตรวจพบได้ในซีรัมผู้ป่วยด้วยวิธี Electrophoresis ร่วมกับ immunoblotting วิธีดังกล่าวสามารถใช้เป็นวิธีตรวจวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีได้ เนื่องจากสามารถจำแนกผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีออกจากมะเร็งตับและมะเร็งในระบบทางเดินอาหารได้สูงถึง 97% แต่วิธีดังกล่าวต้องใช้แอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อมิวซิน MUC5AC ทำให้มีต้นทุนการตรวจวิเคราะห์สูง ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อมิวซิน MUC5AC และ/หรือแอนติเจนอื่นที่จำเพาะต่อมะเร็งท่อน้ำดี ซึ่งคาดว่าจะได้โมโนโคลนอลแอนติบอดีมากกว่าหนึ่งชนิด ซึ่งสามารถพัฒนาเป็นเครื่องมือในการตรวจวินิจฉัยและรักษามะเร็งท่อน้ำดีอย่างจำเพาะในอนาคต

Tumor marker หรือตัวบ่งชี้ชีวภาพของภาวะมะเร็งมีประโยชน์ในการตรวจคัดกรอง (screening) ผู้ที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งหรือผู้ที่สงสัยว่าเป็นมะเร็ง และใช้เป็นตัวสนับสนุนหรือเสริมการวินิจฉัย ช่วยทำนายหรือพยากรณ์การดำเนินโรค รวมทั้งช่วยในการตัดสินใจเลือกวิธีการรักษาที่เหมาะสมกับการดำเนินโรคของผู้ป่วย แม้ว่าปัจจุบันการศึกษาวิจัยเพื่อค้นหา tumor marker จะก้าวรุดหน้าอย่างมาก แต่ tumor marker ส่วนใหญ่ยังไม่สามารถใช้ในการตรวจคัดกรองหรือบ่งชี้การเป็นมะเร็งในระยะแรกได้ อย่างไรก็ตาม tumor marker ก็ยังมีประโยชน์อย่างมากทางคลินิก โดยเฉพาะในการเฝ้าระวังการเกิดซ้ำและบ่งชี้การแพร่กระจายของมะเร็ง รวมทั้งใช้เป็นข้อมูลประกอบสำหรับแพทย์ในการเลือกการรักษาเฉพาะราย

การวิจัย tumor marker ในระยะหลังจากทราปรายละเอียดของจีโนมมนุษย์ (post-genome era) มีความก้าวหน้าอย่างมาก โดยเฉพาะการใช้เทคนิค high throughput ซึ่งสามารถให้ข้อมูลจำนวนมากในหลักพันถึงหมื่นในการศึกษาแต่ละครั้ง มีรายงานการศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของจีนในมะเร็งท่อน้ำดีโดยใช้เทคนิค Serial Analysis of Gene Expression (SAGE) (<http://cgap.nci.nih.gov/SAGE>) และ cDNA Microarray¹ เพื่อค้นหาจีนที่เกี่ยวข้องหรือมีบทบาทสำคัญในการก่อมะเร็ง หรือมีความจำเพาะต่อมะเร็งท่อน้ำดีเพื่อนำมาใช้เป็น tumor marker ต่อไป แม้ว่ามะเร็งท่อน้ำดีจะมีอุบัติการณ์สูงในประเทศแถบเอเชียและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และพบน้อยมากในประเทศตะวันตก แต่ในระยะสิบปีที่ผ่านมาพบว่าอุบัติการณ์ของมะเร็งท่อน้ำดีในประเทศต่าง ๆ ทั่วโลกมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเป็นลำดับยกเว้นประเทศญี่ปุ่น² และรายงานการศึกษามะเร็งท่อน้ำดีในวารสารนานาชาติก็เพิ่มมากขึ้นเช่นกัน อย่างไรก็ตามจากการทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับ tumor marker ของมะเร็งท่อน้ำดีพบว่ามีข้อมูลใหม่น้อยมาก ดังนั้นข้อมูลส่วนใหญ่ในรายงานนี้จึงมาจากการศึกษาผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีในประเทศไทยและเน้นเฉพาะ tumor marker ที่ตรวจพบได้ในซีรัมเท่านั้น

Carcinoembryonic antigen (CEA) และ carbohydrate antigen (CA) 19-9 เป็น tumor marker ที่ใช้มากในการเสริมการวินิจฉัย ติดตาม และพยากรณ์การดำเนินโรคของมะเร็งหลายชนิดรวมทั้งมะเร็งท่อน้ำดี แต่ tumor marker ทั้งสองไม่ใช่ marker ที่จำเพาะต่อมะเร็งท่อน้ำดี เพราะนอกจากสามารถตรวจพบได้ในซีรัมของผู้ป่วยมะเร็งชนิดอื่นแล้ว ยังพบมากในผู้ป่วยอื่นที่มีภาวะอักเสบหรือพยาธิสภาพของระบบท่อน้ำดี ท่อน้ำดีและตับอ่อน

CEA เป็นไกลโคโปรตีนขนาด 200 กิโลดาลตัน ตรวจพบได้ในซีรัมของผู้ป่วยที่มีการอักเสบของท่อน้ำดี ผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งตับอ่อนและมะเร็งท่อน้ำดี ส่วน CA19-9 เป็น Lewis blood group epitope ของ glycosphingolipid ในเนื้อเยื่อ โดยเฉพาะเซลล์เยื่อบุของระบบทางเดินอาหาร แต่ในซีรัมพบ epitope นี้ในโมเลกุลของมิวซินซึ่งเป็นไกลโคโปรตีนของเยื่อเมือก CA19-9 ไม่ใช่แอนติเจนของมะเร็งแต่เป็นแอนติเจนที่สัมพันธ์กับการเกิด

มะเร็ง เนื่องจากพบได้ในเซลล์ปกติของเซลล์เยื่อบุหลายชนิด เช่น กระเพาะอาหาร ลำไส้ใหญ่ ท่อน้ำดี ตับอ่อนและต่อมน้ำลาย เนื้อเยื่อเหล่านี้มีการสร้าง epitope นี้มากขึ้นเมื่อเป็นมะเร็ง จึงนิยมใช้ CA19-9 เป็น marker ของมะเร็งกระเพาะอาหาร-ลำไส้ มะเร็งท่อน้ำดีและมะเร็งตับอ่อน

สำหรับมะเร็งท่อน้ำดี CEA และ CA19-9 เป็น tumor marker ที่มีการศึกษามากที่สุด การใช้ระดับซีรัม CA19-9 ในการวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดี ให้ค่าความไวแตกต่างกันในแต่ละรายงานตั้งแต่ 57.1%³, 73%⁴, และ 86%⁵ เนื่องจากระดับ CA19-9 ในเลือดจะสูงขึ้นในผู้ป่วยที่มีพยาธิสภาพของตับอ่อน ตับและท่อน้ำดี เช่น นิ่วในท่อน้ำดี (CA1), ท่อน้ำดีอักเสบ⁶ และภาวะท่อน้ำดีอักเสบเฉียบพลัน⁷ ดังนั้นการใช้ CA19-9 เป็นตัวบ่งชี้ภาวะมะเร็งท่อน้ำดีจึงมีความจำเพาะค่อนข้างต่ำ อย่างไรก็ตามในรายที่ผู้ป่วยมีระดับ CA19-9 ในซีรัมสูงมากและเป็นระยะเวลานาน ร่วมกับประวัติและลักษณะทางคลินิกที่บ่งชี้การเป็นมะเร็งท่อน้ำดี CA19-9 ก็ยังคงเป็น marker ที่ดีในการสนับสนุนการวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีได้

รายงานวิจัยการใช้ CEA และ CA19-9 ในการวินิจฉัยผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีในประเทศจีนจำนวน 35 ราย เปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่มีพยาธิสภาพของท่อน้ำดี 92 รายและคนปกติ 15 ราย พบว่าระดับซีรัม CEA และ CA19-9 สามารถใช้จำแนกผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีโดยให้ค่าความไว 68% และ 66% ค่าความจำเพาะ 81% และ 88% ตามลำดับ และถ้าใช้ marker ทั้งสองรวมกันจะให้ค่าความไว 62% และความจำเพาะ 86%⁸

Pungpak และคณะ[3] รายงานการใช้ซีรัม CA19-9 ในการวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีในผู้ป่วยไทย พบว่า 57% ของผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีมีระดับซีรัม CA19-9 สูงกว่า 3SD ของค่าปกติ การศึกษา CA19-9 ในเนื้อเยื่อมะเร็งโดยวิธี immunohistochemistry พบว่า 60% ของผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีมี CA19-9 เพิ่มขึ้นและสัมพันธ์กับการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งทางหลอดเลือดและสามารถใช้พยากรณ์โรคได้⁹

คณะผู้วิจัยจากคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ได้วิจัยเพื่อหา tumor marker ในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีในคนไทย โดยใช้หลักการที่แตกต่างกัน ดังนี้

Soybean agglutinin specific biliary glycoprotein (SBG) เป็นไกลโคโปรตีนที่ตรวจพบได้ในซีรัม มีน้ำหนักโมเลกุล 57 กิโลดาลตัน มีหมู่น้ำตาล galactose และ N-acetylgalactosamine เป็นองค์ประกอบ ทำให้สามารถจับจำเพาะกับ soybean agglutinin (SBA) ได้ การใช้วิธี western blotting ร่วมกับ SBA ในตรวจสอบ SBG ในซีรัมผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีเปรียบเทียบกับซีรัมคนปกติและกลุ่มควบคุมอื่น ๆ พบว่าการใช้ SBG เป็น marker ให้ค่าความจำเพาะต่อการเกิดพยาธิสภาพของท่อน้ำดีถึง 100%¹⁰ โดยให้ค่าความไวในการบ่งชี้มะเร็งท่อน้ำดีสูงถึง 93% อย่างไรก็ตาม SBG ไม่ใช่ marker ที่ดีของมะเร็งท่อน้ำดีเพราะสามารถตรวจพบในซีรัมผู้ป่วยที่มีการอักเสบของท่อน้ำดีถึง 84% ดังนั้นจึงอาจพิจารณาการใช้ marker นี้ในการคัดกรองเพื่อหาผู้ป่วยที่มีพยาธิสภาพของท่อน้ำดีซึ่งเป็นกลุ่มเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งท่อน้ำดีได้

Total sialic acid sialic acid เป็นหมู่น้ำตาลที่พบในส่วนปลายของสายโมเลกุล มีรายงานการเพิ่มสูงขึ้นของระดับ sialic acid ในซีรัมของผู้ป่วยมะเร็งหลายชนิด การวัดปริมาณ sialic acid โดยวิธีเคมีในซีรัมผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีเปรียบเทียบกับซีรัมคนปกติและกลุ่มควบคุมอื่น ๆ โดยใช้ค่า cut-off ที่ 2.33 mmol/L สามารถจำแนกผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีออกจากคนปกติและผู้ป่วยที่มีพยาธิสภาพของท่อน้ำดีได้ด้วยค่าความไว 71.9% และค่าทำนายผลบวกสูงถึง 89%¹¹ ค่าระดับ Total sialic acid ในซีรัมมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระดับมิวซินชนิด MUC5AC, alkaline phosphatase และ CA19-9 ในซีรัมของผู้ป่วย¹² Kongtawelert และคณะ¹³ ใช้ระดับ total sialic acid ในซีรัม