T.162265

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อตรวจหาระดับ IgA antibody ต่อ EBV-VCA และ DNA ของเชื้อ EBV จากพลาสมาและ Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) ในผู้ป่วยมะเร็งหลังโพรงจมูกเพื่อช่วยในการตรวจคัดกรองมะเร็งหลังโพรงจมูกในระยะเริ่มแรก

ความสำคัญ มะเร็งหลังโพรงจมูก เป็นโรคที่มีความเสี่ยงในการเสียชีวิตได้สูงหากตรวจพบในระยะสุดท้าย ดังนั้นในการตรวจเพื่อคัดกรองโรคดังกล่าวได้อย่างรวดเร็ว ถูกต้อง จะเป็นประโยชน์กับแพทย์ในการตรวจเพื่อวินิจฉัยโรค

วัสดุและวิธีการ นำเลือดของผู้ป่วยมะเร็งหลังโพรงจมูก จำนวน 40 ราย และคนสุขภาพดี จำนวน 40 ราย มาแยกพลาสมาเพื่อตรวจหา IgA anti- EBV - VCA ด้วยวิธี Indirect Immunofluorescent assay โดยใช้ B95-8 cell lines เป็นแอนติเจน ตรวจหาระดับ IgA anti-EBV VCA ที่ระดับ titer 10, 20, 40, 80, 160, 320 และ 640 ปั่นแยก PBMCs ด้วยวิธี Ficoll Hypaque แล้วสกัด DNA ด้วยวิธีตกตะกอน DNA ด้วยแอลกอฮอล์ และสกัด DNA ของเชื้อ EBV จากพลาสมาด้วยชุดน้ำยาสกัดสำเร็จรูป (QIAGEN) ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ใช้ DNA ที่สกัดจาก B95-8 cell lines ด้วยวิธี Chloroform extraction เป็น Positive Control และนำ DNA ที่สกัดได้จากตัวอย่างเพิ่มปริมาณด้วยการทำปฏิกริยาลูกโซ่ และตรวจหา DNA ของเชื้อด้วยวิธี Gel electrophoresis

ผลการทดลอง ในการตรวจหาระดับ IgA antibody ต่อ EBV-VCA ของผู้ป่วยมะเร็งหลังโพรงจมูกที่มาตรวจสุขภาพที่โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ ได้ระดับ IgA antibody

T.162265

titer 40, 80, 160, 320, 640 และ 1,280 ได้ร้อยละ 20, 20, 30, 17.5, 10.0 และ 2.5 ตามลำดับ ในคนสุขภาพดี ได้ระดับ IgA antibody titer < 10, 10 และ 20 คิดเป็นร้อยละ 80, 12.5 และ 7.5 ตามลำดับ และผลการตรวจ DNA ของเชื้อ EBV ของผู้ป่วยมะเร็งหลังโพรงจมูกใน PBMCs ให้ผลบวก 1 ราย และตรวจไม่พบในพลาสมา ส่วนคนสุขภาพดีทั้ง 40 ราย ตรวจไม่พบ DNA ของเชื้อ EBV ใน PBMCs เมื่อเทียบกับ Positive control

สรุป การตรวจหาระดับ IgA antibody ต่อ EBV-VCA ในพลาสมาด้วยวิธี Indirect Immunofluorescent assay แสดงให้เห็นถึงการสูงขึ้นของระดับ IgA antibody ต่อ EBV-VCA ในผู้ป่วยมะเร็งหลังโพรงจมูก และพบระดับ IgA antibody ต่ำในคนสุขภาพดี การตรวจหา DNA ของเชื้อ EBV ในพลาสมาและ PBMCs ไม่มีความสัมพันธ์กับอาการแสดงทางคลินิกของผู้ป่วยโรคมะเร็งหลังโพรงจมูก ดังนั้น การตรวจหาระดับ IgA antibody ต่อ EBV-VCA สามารถใช้เป็นวิธีการตรวจคัดกรองผู้ป่วยมะเร็งหลังโพรงจมูกได้

Abstract TE 162265

Objective To detect IgA antibody to EBV VCA level and DNA of EBV from plasma and PBMCs in nasopharynxgeal carcinoma patients for screening of nasopharynxgeal carcinoma in early stage.

Rational Nasopharynxgeal carcinoma is a high rate mortality disease, a rapid accuracy screening of this disease will be advantage for diagnosis by physician.

Methods Samples are EDTA bloods which collected from forty nasopharyngeal carcinoma patients (NPC) from Maharaj Nakorn Chiang Mai hospital and forty healthy people. Plasma IgA-antiEBV-VCA at titer of 10, 20, 40, 80, 160, 320, and 640 was detected by using indirect immunofluorescent assay, B95-8 cell lines were used as antigen. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were separated by Ficoll hypaque gradient, and then alcohol precipitation was used for DNA extraction. In addition, commercial kits (QIAGEN) were used to extract DNA from plasma. DNA extracted from EBV latently infected B95-8 cell line by chloroform extraction method were used as positive control. All DNAs were amplified by PCR and detected by gel electrophoresis.

Results: IgA-antiEBV-VCA levels of NPC titer 40, 80, 160, 320, 640, and 1,280 are 20%, 20%, 30%, 17.5%, 10.0% and 2.5%, respectively. For healthy people, IgA antibody levels titer <10,10 and 20 are 80%,12.5% and

7.5%, respectively. The detections of EBV DNA in plasma and PBMCs of NCP showed one positive of EBV DNA detection in PBMCs and not found in plasma. Beside, all forty samples from healthy people are negative which compared with positive control.

Conclusion Indirect immunofluorescent assay can detect the increasing of IgA-antiEBV-VCA in plasma of NPC and low titer level of IgA-anti EBV-VCA in healthy people. The detections of DNA in plasma and PBMCs of NPC are not related with clinical diagnostic. The detection of IgA antibody by using indirect immmunofluorescent assay was able to use for screening of NPC.