บทที่ 1

บทนำ

ประวัติความเป็นมา

โรคมะเร็งตับแม้ไม่ใช่โรคติดต่อ แต่ปัจจุบันเป็นสาเหตุหนึ่งของการตายที่สำคัญของประชากรไทย เนื่องจากยังไม่มีวิธีการวินิจฉัยโรคนี้ในระยะเริ่มเป็น ทำให้เมื่อตรวจพบว่าผู้ป่วยเป็นโรคดังกล่าวอาการมักอยู่ในระยะสุดท้ายแล้ว การรักษาจึงได้ผลไม่ดีผู้ป่วยจึงมีอัตราการตายสูง ดังนั้นการหาวิธีการวินิจฉัยโรคมะเร็งตับในระยะเริ่มเป็นจึงมีความสำคัญ เพื่อนำไปสู่การรักษาที่ได้ผลดียิ่งขึ้น

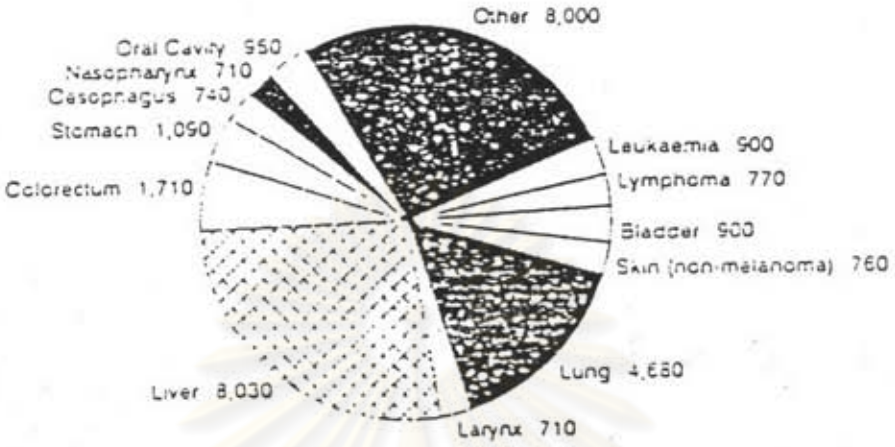
โรคมะเร็งตับพบมากในแถบทวีปอาฟริกาและเอเชีย(Robingon et al., 1984; Fu-Sun et al.,1986) พบอัตราการเกิดโรคนี้สูงสุดในประเทศโมแซมบิกทางตะวันตกเฉียงใต้ของทวีปอาฟริกา ซึ่งพบในอัตรา 98.2 ต่อประชากรแสนคน โดยเทียบได้เป็นร้อยละ 20-50ของสาเหตุการตายจากโรคมะเร็งทั้งหมด (Gibson et al.,1971) โรคมะเร็งตับมีทั้งชนิดที่ก่อตัวจากความผิดปกติที่เซลล์มะเร็งตับโดยตรง (hepatocellular carcinoma)และชนิดที่ก่อตัวจากความผิดปกติที่ท่อน้ำดีตับ (cholangiocarcinoma) โดยโรคมะเร็งตับชนิดแรกจะพบในเพศชายมากกว่าเพศหญิงถึงสี่เท่า ส่วนโรคมะเร็งตับชนิดหลังจะพบในทั้งสองเพศ(Antony et al., 1973)

การแพร่กระจายของโรคมะเร็งตับแต่ละชนิดไม่มีความสัมพันธ์กัน กล่าวคือ การแพร่กระจายของโรคมะเร็งตับชนิดcholangiocarcinoma พบว่ามีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อปรสิตบางชนิด คือ *Clonoechis sinensis* และพยาธิใบไม้ในตับ

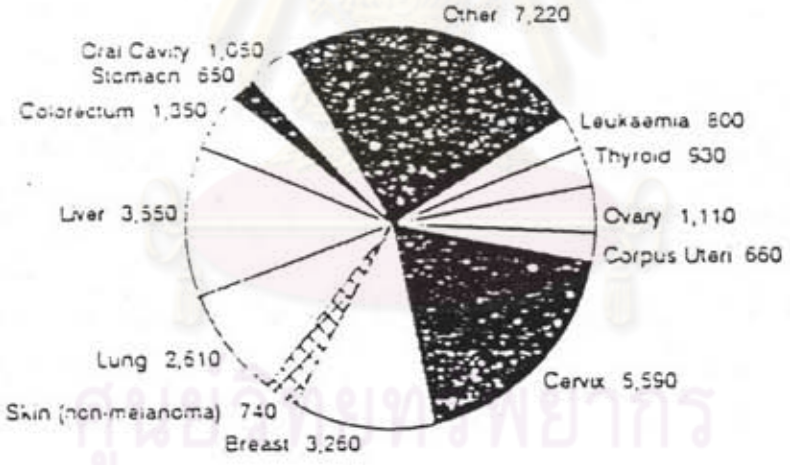
ส่วนการแพร่กระจายของโรคมะเร็งตับชนิด hepatocellular carcinoma พบว่ามีความแตกต่างกันในแต่ละส่วนของโลก เนื่องจากมีปัจจัยเสี่ยงหลายอย่างต่อการเกิดโรค ได้แก่ การบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของเชื้อราบางชนิด คือ*Aspergillus flavus* ซึ่งสามารถผลิตสารพิษชื่อ อะฟลาทอกซิน ที่พบว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคนี้ (Aithson et al.,1967;Linsell et al.,1972;Adamson et al., 1973) Worrellและคณะ(1981)พบว่าผู้ที่มีประวัติการเป็นโรคตับอักเสบจากการดื่มสุราจะมีอัตราเสี่ยงต่อการเป็นโรคนี้สูง นอกจากนี้ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปว่าการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญต่อการเป็นโรคมะเร็งตับ แม้ว่าการให้วัคซีนสามารถป้องกันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี แต่ขณะนี้มีประชากรของโลกมากกว่า 150 ล้านคนที่เป็นพาหะของไวรัสตับอักเสบบี (Prine et al.,1975) สำหรับในคนไทยมีมากกว่า 5 ล้านคนที่เป็นพาหะเรื้อรังของไวรัสชนิดนี้ (เพชรินทร์ ศรีวัฒนกุล และคนัย ทิวาเวช,2527) ซึ่งปัจจุบันยังไม่มีวิธีการใดที่สามารถทำการรักษาการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีอย่างเรื้อรังได้ และผู้ที่เป็นพาหะของโรคตับอักเสบที่เกิดจากเชื้อไวรัสตับอักเสบบี จะมีความเสี่ยงต่อการพัฒนาไปเป็นโรคตับแข็ง (cirrhosis) และเป็นโรคมะเร็งตับในที่สุด (Steiner et al.,1960)

สำหรับประเทศไทยพบว่ามะเร็งตับเป็นโรคมะเร็งที่พบมากที่สุดในผู้ชายไทย โดยพบในอัตรา 40.5 ต่อประชากรแสนคน และพบเป็นอันดับสามของมะเร็งทั้งหมดที่พบในเพศหญิงในอัตรา 16.3 ต่อประชากรแสนคน ดังแสดงในรูปที่ 1 (สถิติสถาบันมะเร็งแห่งชาติ,1990) โดยที่มะเร็งของเซลล์ตับพบในภาคกลางมากที่สุดและพบในผู้ป่วยตั้งแต่อายุน้อยกว่า 1 ปี ส่วนมะเร็งท่อน้ำดีตับพบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมากที่สุดและพบในผู้ป่วยตั้งแต่อายุมากกว่า 25ปีขึ้นไป แต่มะเร็งตับทั้งสองชนิดสำหรับทั้งสองเพศพบมากในระหว่างอายุ35-65ปี(เพชรินทร์ ศรีวัฒนกุลและศิณีนาฐ สนธิพงษ์ ,2525)

เพศชาย



เพศหญิง



รูปที่ 1 จำนวนผู้ป่วยโรคมะเร็งชนิดต่างๆในประเทศไทยปี 1990

ที่มา : สถิติสถาบันมะเร็งแห่งชาติ, 1990

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภูมิคุ้มกันมะเร็ง

เซลล์มะเร็งไม่ว่าจะเปลี่ยนแปลงมาจากเซลล์ชนิดใดของร่างกายจะมีสมบัติที่เหมือนกันหลายอย่าง คือ มีการเพิ่มจำนวนโดยที่ร่างกายไม่อาจควบคุมได้ สามารถแทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อข้างเคียง และสามารถแพร่กระจายโดยผ่านทางระบบน้ำเหลือง หรือระบบเลือดไปอยู่ในบริเวณที่ห่างไกลออกไปจากส่วนที่เป็นต้นกำเนิด สมบัติที่สำคัญอีกอย่างหนึ่ง คือ ก้อนมะเร็งจะมีกำเนิดมาจากเซลล์เพียงเซลล์เดียว แล้วแบ่งตัวเพิ่มจำนวนออกไป และพบว่าเซลล์ในก้อนมะเร็งหนึ่งก้อนจะมีลักษณะ "heterogeneous" คือจะประกอบไปด้วยเซลล์ที่มักจะมีความแตกต่างกันในทางยีนส์ (genotypic pattern)และทางรูปลักษณะ (phenotypic pattern)

มะเร็งอาจเกิดขึ้นได้จากสาเหตุต่างๆกัน เช่นเกิดจากการได้รับเชื้อไวรัส (virus-induced tumor) เกิดจากการได้รับสารเคมี(chemically -induced tumor) หรือเกิดขึ้นได้เอง(spontaneous tumor) แต่ไม่ว่าจะเกิดจากสาเหตุใดก็ตาม ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายจะถือว่ามะเร็งเป็นสิ่งแปลกปลอมและมีหน้าที่ต้องกำจัดไปให้หมด

1. การตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันเพื่อกำจัดเซลล์มะเร็ง

การตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันต่อเซลล์มะเร็งเป็นกลไกที่สลับซับซ้อนมาก โดยร่างกายมีการตอบสนองทางด้านเซลล์ เช่น cytotoxic T lymphocyte และ natural killer cell ซึ่งสามารถทำลายเซลล์มะเร็งได้โดยตรง นอกจากนี้ยังมีสารน้ำ เช่น ลิมโฟทอกซิน อินเตอร์เฟอรอน และที่สำคัญคือแอนติบอดี ซึ่งมีกลไกในการทำลายเซลล์มะเร็ง 2 วิธี ได้แก่ วิธี complement dependent cell mediated cytotoxicity(CDC)โดยกระตุ้นคอมพลีเมนท์สุดท้ายเกิดการสลายของเซลล์มะเร็ง และวิธี antibody dependent cell mediated cytotoxicity

(ADCC) โดยความร่วมมือของแอนติบอดีกับเซลล์ต่างๆที่มีที่รับส่วน Fc ของอิมมูโนโกลบลูลินจี เช่น natural killer cell T-lymphocyte และ macrophage (สุทธิพันธ์ สาระสมบัติและคณะ,2529)

2. <u>แอนติเจนบนผิวเซลล์มะเร็งในคน</u>

แอนติเจนที่เกิดขึ้นบนเซลล์มะเร็ง แบ่งออกเป็น

2.1 histocompatibility antigenเช่น แอนติเจน HLA ชนิดต่างๆ (Fukusato et al.,1986) แอนติเจนดังกล่าวที่พบบนเซลล์มะเร็งจะเป็นชนิดเดียวกันหรือต่างชนิดกับแอนติเจนบนผิวเซลล์ปกติในร่างกายผู้นั้น ถ้าเป็นต่างชนิด T lymphocyte จะเห็นเป็นแอนติเจนแปลกปลอมที่ต้องกำจัด

2.2 blood group antigen แอนติเจนที่พบบนเซลล์มะเร็งอาจเป็นแอนติเจนแบบที่พบบนเม็ดเลือดแดงหรือแอนติเจนต้นกำเนิดของเม็ดเลือดแดงก็ได้ เช่น พบแอนติเจน H type 1 และ Y type 2 ในผู้ป่วยโรคมะเร็งตับ (Imai et al.,1985)

2.3 differentiation antigen หมายถึงแอนติเจนที่ปกติจะพบอยู่บนเซลล์ในบางระยะของการเจริญเติบโตของเซลล์เท่านั้น แอนติเจนนี้บนเซลล์มะเร็งมีประโยชน์ในการจัดชนิดของมะเร็งนั้นและทำให้ทราบถึงกำเนิดของมะเร็งได้

2.4 oncofetal antigen ซึ่งตามปกติถูกผลิตโดยเซลล์ตัวอ่อนหรือทารกในครรภ์มารดาและไม่ผลิตโดยเซลล์ปกติของผู้ใหญ่ เพราะยีนส์ที่ควบคุมการสร้างถูกกดไว้ แต่ในคนที่เป็นมะเร็งบางชนิดยีนส์นี้อาจกลับมาทำงานใหม่ทำให้เกิดแอนติเจนชนิดนี้ขึ้นได้อีก เช่น carcinoembryonic antigen(CEA) (Melia et al.,1981), alpha-fetoprotein (AFP) (Nossal et al.,1971)

2.5 virus associated antigen เป็นแอนติเจนบนผิวเซลล์มะเร็งที่มีสาเหตุมาจากไวรัสเท่านั้น เช่น hepatitis B virus antigen (Nayak et al.,1977)

2.6 tumor specific antigen เป็นแอนติเจนที่พบเฉพาะบนผิวเซลล์มะเร็งเท่านั้น ไม่พบบนเซลล์ปกติอื่นๆ

การตรวจหาปริมาณของแอนติเจนบนผิวเซลล์เป็นสิ่งสำคัญสำหรับการวินิจฉัยและติดตามการรักษาคนไข้โรคมะเร็ง แต่การใช้ระดับแอนติเจนในซีรัมสำหรับการวินิจฉัยโรคมะเร็งยังมีข้อจำกัด เนื่องจากมะเร็งส่วนใหญ่ยังไม่พบแอนติเจนที่มีความจำเพาะต่อมะเร็งชนิดนั้นๆอย่างแท้จริงและบางครั้งระดับของแอนติเจนบางชนิดก็พบในสภาวะอื่นที่ไม่ใช่มะเร็ง สำหรับมะเร็งตับมีนักวิจัยหลายท่านพบแอนติเจนชนิดต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 1

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 แอนติเจนที่พบในโรคมะเร็งตับ

ชื่อเฉพาะ	จัดอยู่ในกลุ่ม	หนังสืออ้างอิง
1.alfa-fetoprotein (AFP)	oncofetal antigen	Nossal et al.,1971 Suzuki et al.,1987
2.carcinoembryonic antigen(CEA)	oncofetal antigen	Melia et al.,1981
3.hepatitis B virus antigen	virus associated antigen	Nayak et al.,1977 Turbitt et al.,1977
4.fibronectin	oncofetal antigen	Matsuura et al.,1988
5.des-gamma-carboxy protrombin	oncofetal antigen	Fujiyama et al.,1988
6.cytokeratin	differentiated antigen	Van et al.,1988
7.H (type 1) Y (type 2)	blood group antigen	Imai et al.,1985
8.HLA class 1	histocompatibility antigen	Fukusato et al.,1986
9.Lewis antigen Sialylated Lea antigen	blood group antigen	Okada et al.,1987

การใช้โมโนโคลนัลแอนติบอดีในการศึกษาเกี่ยวกับโรคมะเร็ง

การค้นพบการผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดี(Köhler and Milstein, 1975) ทำให้นักวิจัยหลายท่านได้นำโมโนโคลนัลแอนติบอดีที่ผลิตจากหนู มาใช้ในการตรวจสอบแอนติเจนในระบบเลือดของผู้ป่วยโรคมะเร็งบางชนิด เช่น มะเร็งเต้านม (Sytric et al.,1983) มะเร็งลำไส้(MacSween et al.,1975) และมะเร็ง melanoma(Barry et al.,1985) สำหรับมะเร็งตับมีนักวิจัยหลายท่านทำการผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดีต่อมะเร็งตับ เช่น Carlson และคณะ(1985)ได้ทำการผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดีสามชนิด คือ P21547,P4E9957 ที่จับกับแอนติเจนบนผิวเซลล์มะเร็งตับที่มีขนาดโมเลกุล 65,000 ดาลตัน และ P232524 ซึ่งจับกับแอนติเจนในไซโตปลาสซึมของเซลล์มะเร็งตับ โดยได้มีการนำแอนติบอดีทั้งสองชนิดไปใช้ในการทดสอบทางอิมมูโนวิทยาทั้งภายนอกและภายในกายหนูไมซ์ เพื่อหาตำแหน่งของมะเร็ง Markhamและคณะ (1986)ได้ผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดีที่จับกับแอนติเจนบนผิวเซลล์มะเร็งตับคน และศึกษาสมบัติของแอนติเจนพบว่ามีขนาดโมเลกุล 30,000 ดาลัตน จากนั้น Xieและคณะ (1989) ใช้เซลล์มะเร็งตับของผู้ป่วย hepatocellular carcinoma เป็นแอนติเจนในการผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดีได้ 25ชนิด ในปี 1990 Tanและคณะ ได้ผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดีโดยใช้เซลล์ PLC/PR/5เป็นแอนติเจน พบว่าโมโนโคลนัลแอนติบอดีที่ผลิตได้สามารถจับกับกับเซลล์มะเร็งตับสามชนิด ได้แก่ PLC/PR/5,SK-SF และMahlava นอกจากนี้ในปี1991 Peterและคณะ ได้ผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดีต่อเซลล์มะเร็งตับ พบว่าโมโนโคลนัลแอนติบอดีที่ผลิตได้จับกับแอนติเจนที่มีขนาดโมเลกุล 43,000 ดาลตัน จุดประสงค์ในการผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดีต่อเซลล์มะเร็งตับดังกล่าวก็เพื่อศึกษาสมบัติของแอนติเจนบนเซลล์มะเร็งตับ ศึกษาการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งตับ และหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง

ตับ เพื่อนำไปพัฒนาการวินิจฉัยและรักษาโรคมะเร็งตับต่อไป

ปัญหาสำคัญในการนำโมโนโคลนัลแอนติบอดีมาใช้ในการวินิจฉัยและรักษาโรคมะเร็งตับก็คือ การที่เซลล์มะเร็งตับมีความหลากหลายในการแสดงออกของแอนติเจน (heterogeneity of antigen) โดยที่เซลล์มะเร็งแม้จะมาจากคนไข้คนเดียวกันตำแหน่งเดียวกันหรือบริเวณใกล้เคียงกันพบว่ามีแอนติเจนแตกต่างกันได้ และเซลล์มะเร็งเซลล์เดียวอาจมีแอนติเจนแตกต่างกันกว่าร้อยชนิด นอกจากนี้เซลล์มะเร็งที่เป็นต้นกำเนิดของก้อนมะเร็ง(primary tumor)กับเซลล์มะเร็งที่แพร่กระจายไปยังส่วนอื่นของร่างกาย (metastasis tumor) ยังมีความหลากหลายในการแสดงออกของแอนติเจนและมีความหนาแน่นของแอนติเจนต่างกัน (Zdenko et al.,1985; Nowell et al.,1971) ซึ่งปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการแสดงออกของแอนติเจนดังกล่าวมีหลายอย่าง ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงระหว่างการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็ง ความสามารถในการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งทำให้มีสภาวะแวดล้อมในการเจริญที่ต่างกัน และธรรมชาติการเจริญของเซลล์มะเร็ง ทำให้การตรวจพบเซลล์มะเร็งด้วยโมโนโคลนัลแอนติบอดีเพียงชนิดเดียวเป็นไปได้ยาก การแก้ปัญหานี้อาจทำได้โดยการผสมโมโนโคลนัลแอนติบอดีที่จับกับเอพิโทปต่างกัน และไม่มีการรบกวนการทำปฏิกิริยากับเซลล์มะเร็งซึ่งกันและกัน ทำให้จับเอพิโทปได้มากขึ้น (Siegfried et al.,1988) สามารถเพิ่มการทำปฏิกิริยากับเซลล์มะเร็งได้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การคัดเลือกโมโนโคลนัลแอนติบอดีต่อเซลล์มะเร็งตับคน

เซลล์ไฮบริโดมาที่นำมาใช้ในการทำวิจัยนี้ผลิต โดย ผศ. พญ. กิ่งกาญจน์ เลาหทัย และคณะ โดยใช้เซลล์มะเร็งตับคนไทย (เซลล์ S102) เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (Laohathai and Bhamarapravarati,1985) ซึ่งโมโนโคลนัลแอนติบอดีได้ผ่านการคัดเลือกมาแล้ว ด้วยวิธี ELISA และimmunohistostaining โดยอาศัยการทำปฏิกิริยากับเซลล์มะเร็งตับคนไทยกว่า 10 คน เซลล์ตับปกติเด็กอ่อน เซลล์ตับปกติเด็กหลังคลอด และเซลล์มะเร็งชนิดอื่นกว่า 29 ชนิด ทั้งเซลล์สายพันธุ์และเซลล์เนื้อเยื่อจากคน ทำให้แบ่งโมโนโคลนัลแอนติบอดีต่อเซลล์มะเร็งตับที่ผลิตได้เป็น 5 กลุ่ม ดังนี้คือ

กลุ่มที่ 1 เลือกทำปฏิกิริยากับเซลล์มะเร็งตับคน โดยมีทั้งชนิดที่ทำปฏิกิริยากับเซลล์มะเร็งตับจากคนๆเดียว (hepatoma idio-specific) ทำปฏิกิริยากับเซลล์มะเร็งตับจาก 2 คนและทำปฏิกิริยากับเซลล์มะเร็งชนิดอื่น แต่ไม่ทำปฏิกิริยากับเซลล์ตับปกติ

กลุ่มที่ 2 เลือกทำปฏิกิริยากับเซลล์มะเร็งตับชนิดที่มี tetraploid chromosome และเซลล์มะเร็งชนิดอื่นรวมทั้ง Chang'liver

กลุ่มที่ 3 เลือกทำปฏิกิริยากับเซลล์มะเร็งตับที่มี complex abberrative chromosome อย่างมากและมะเร็งชนิดอื่นรวมทั้ง Chang's liver

กลุ่มที่ 4 เลือกทำปฏิกิริยากับเซลล์มะเร็งตับทุกชนิดและมะเร็งชนิดอื่น

กลุ่มที่ 5 เลือกทำปฏิกิริยากับเซลล์มะเร็งตับเหมือนกลุ่ม4 และalpha-feto protein

นอกจากนี้โมโนโคลนัลแอนติบอดีกลุ่มใดที่ทำปฏิกิริยากับสารต่อไปนี้ คือ เม็ดเลือดกลุ่ม ABO เม็ดเลือดแดงตัวอ่อน อัลบิวมินคน และตับผู้ใหญ่ปกติ จะถูกคัดออก

เพื่อป้องกันปัญหาที่จะเกิดขึ้น เมื่อนำไปใช้กับคนในทางคลีนิค (ผศ.พญ. กิ่งกาญจน์ เลาหทัย , 2530)

โมโนโคลนัลแอนติบอดีต่อมะเร็งตับที่นำมาใช้ในการทำวิจัยนี้เป็นโมโนโคลนัลแอนติบอดีใน 2 กลุ่ม ดังนี้คือ

ในกลุ่ม 2 ได้แก่ โมโนโคลนัลแอนติบอดี 36, 40, 51,52 ซึ่งจัดเป็นกลุ่มที่ทำปฏิกิริยากับแอนติเจนที่มีมากในมะเร็ง (tumor associated antigen) เนื่องจากไม่ทำปฏิกริยากับตับปกติ และโมโนโคลนัลแอนติบอดี 43,44,54,75 ซึ่งจัดเป็นกลุ่มที่ทำปฏิกิริยากับ oncofetal antigen เนื่องจากทำปฏิกิริยากับตับเด็กปกติระยะตัวอ่อน

ในกลุ่ม 4 ได้แก่ โมโนโคลนัลแอนติบอดี 16,20,27,57,58 และ 74 ซึ่งจัดเป็นกลุ่มที่ทำปฏิกิริยากับoncofetal antigen เนื่องจากทำปฏิกิริยากับตับเด็กปกติก่อนและหลังคลอด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>หลักการติดฉลากสารรังสีโดยวิธีคลอรามีนที</u>

คลอรามีนทีมีคุณสมบัติเป็นเกลือโซเดียมของ N-monochloro p-toluene sulphonamide ซึ่งมีสูตรทางเคมีคือ $(Na)^+ [CH_3-C_6H_4-SO_2-N^-CL]^-$

เมื่ออยู่ในสารละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบจะเกิดปฏิกิริยาให้กรดไฮโปคลอรัส (hypochlorous acid) ออกมา และสามารถทำปฏิกิริยากับโซเดียมไอโอไดด์ (NaI)ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มี pH เป็นด่างเล็กน้อยซึ่งจะทำให้เกิดไอโอดีนประจุบวก(iodonium ion) จากนั้นไอโอดีนประจุบวกจะเข้าทำปฏิกิริยากับไทโรซีนกรุฟในสารประกอบในตำแหน่งออโธ (ortho position) ปฏิกิริยาที่เกิดในแต่ละขั้นแสดงได้ดังนี้

$$(Na)^+ [CH_3-C_6H_4-SO_2-N^-CL]^- + H_2O \longrightarrow CH_3-C_6H_4-SO_2-NH_4 + NaOCl$$

$$NaOCl + NaI^{125} \xrightarrow{\text{basic pH}} H_2OI^{+125}$$

$$H_2OI^{+125} + \text{Protein-}CH_2\text{-}C_6H_3(OH)\text{-} \rightleftharpoons \text{Protein-}CH_2\text{-}C_6H_2(I^{125})(O^-)(I^{125}) + H^+ + H_2O$$

หลังจากปฏิกิริยาเกิดขึ้นแล้ว จะหยุดปฏิกิริยามิให้เกิดการออกซิไดซ์สารอื่นต่อไป โดยการเติมสารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์(Kobat and Elvin,1968)

มูลเหตุจูงใจในการทำวิจัย

โรคมะเร็งตับเป็นโรคมะเร็งที่พบมากที่สุดในผู้ชายไทย (Parkin et al., 1990)โดยทั่วไปการวินิจฉัยโรคนี้ทำได้เมื่อผู้ป่วยมีอาการของโรคมากแล้ว เนื่องจากในระยะที่ก้อนมะเร็งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเล็กกว่า 3 เซนติเมตร จะไม่สามารถตรวจพบเซลล์มะเร็งได้โดยวิธีอัลตราซาวน์ และตรวจไม่พบ alpha-fetoprotein ในซีรัม(Hiroshi et al.,1989) จึงไม่สามารถทำการวินิจฉัยได้ในระยะเริ่มแรก ทำให้การรักษาได้ผลไม่ดี ผู้ป่วยจึงมีอัตราการตายร้อยละ 100 อัตราการมีชีวิตรอดหลังการวินิจฉัยเฉลี่ยเป็นเวลา 3 เดือน (ระหว่าง 3 วันถึง 20เดือน) (เพชรินทร์ ศรีวัฒนกุล และ ดนัย ทิวาเวช,2527) ดังนั้นการวินิจฉัยโรคมะเร็งตับได้ในระยะเริ่มเป็นจึงมีความสำคัญในการนำไปสู่ความสำเร็จในการรักษาผู้ป่วยโรคนี้

งานวิจัยนี้ได้นำโมโนโคลนัลแอนติบอดีต่อเซลล์มะเร็งตับ 14 กลุ่ม ที่ผลิตจากเซลล์ไฮบริโดมาที่ได้จากการนำเซลล์ม้ามของหนูไมซ์ซึ่งได้จากการกระตุ้นด้วยเซลล์มะเร็งตับผู้ป่วยมาผสมกับเซลล์ไมอิโลมา มาหาความแตกต่างในการจับกับเอพิโทปบนเซลล์มะเร็งตับ โดยวิธีทางเรดิโออิมมิวโนแอสเสย์ จากนั้นนำโมโนโคลนัลแอนติบอดีที่พบว่าจับกับเอพิโทปต่างกันและไม่มีการรบกวนการทำปฏิกิริยากับเซลล์มะเร็งตับซึ่งกันและกันมาผสม เพื่อศึกษาการทำปฏิกิริยากับแอนติเจนบนเซลล์มะเร็งตับ และเป็นแนวทางในการนำไปพัฒนาการวินิจฉัยและรักษาโรคมะเร็งตับต่อไป

ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

1. เตรียมแอนติเจน โดยเลี้ยงเซลล์มะเร็งตับคน ได้แก่ เซลล์ S102 และเซลล์ HepG-2 ในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม

2. เตรียมแอนติบอดี

2.1 เลี้ยงเซลล์ไฮบริโดมาที่ผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดีต่อเซลล์มะเร็งตับ

2.2 ผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดีในน้ำในช่องท้องหนู

2.3 ทำโมโนโคลนัลแอนติบอดีให้บริสุทธิ์ ด้วยวิธี affinity chromatography

3. หาปริมาณสูงสุดของโมโนโคลนัลแอนติบอดีที่ทำปฏิกิริยากับเซลล์มะเร็งตับจำนวนคงที่

4. จัดกลุ่มโมโนโคลนัลแอนติบอดี โดยอาศัยความแตกต่างในการจับกับเอพิโทปบนเซลล์มะเร็งตับ

4.1 ติดฉลากโมโนโคลนัลแอนติบอดีด้วยไอโอดีน-125

4.2 หาความแตกต่างของโมโนโคลนัลแอนติบอดี ในการจับกับเอพิโทปบนเซลล์มะเร็งตับ โดยใช้หลักการยับยั้ง(inhibition binding assay) และหลักการแข่งขันการทำปฏิกิริยา (competitive binding assay) กับเซลล์มะเร็งตับ

5. นำโมโนโคลนัลแอนติบอดีที่จับเอพิโทปต่างกันโดยไม่มีการหักล้างฤทธิ์มาผสมกัน และทดสอบการทำปฏิกิริยากับเซลล์มะเร็งตับ เพื่อเพิ่มการทำปฏิกิริยากับเซลล์มะเร็งตับ