

<b>Thesis Title</b>	Evaluation of the Potential Use of the Monoclonal Antibody Against Cholangiocarcinoma Associated Antigen to Detect Tumor Markers in Patient Sera by the ELISA Test	
<b>Author</b>	Ms. Wichuda Bamrungphon	
<b>Degree</b>	Master of Science (Microbiology)	
<b>Thesis Advisory Committee</b>	Dr. Nalinee Prempracha	Chairperson
	Assoc. Prof. Dr. Sopit Wongkham	Member

### ABSTRACT

The two monoclonal antibodies (mAbs) namely 21A2 and 22C5 were previously produced against antigen extracted from cholangiocarcinoma (CCA) tissues. Preliminary characterization indicated that the antigens were tumor specific and mucin associated. These two mAbs were shown to react with different epitopes. Three types of lectin, soybean agglutinin (SBA), *Saphora japonica* agglutinin (SJA), and peanut agglutinin (PNA) were reported to detect the mucin, MUC5AC in serum, which could be a tumor marker candidate for CCA. In this study, several sandwich ELISA systems were developed by various combinations of the two mAbs and three lectins and used to quantitate tumor markers from serum specimens. The system that used the mAb 22C5 combined with SBA gave the best result. Five groups of serum samples, including those from healthy persons, and patients with *Opisthorchis viverrini* infection, benign liver diseases, malignant tumor of the gastrointestinal tract (except CCA) and CCA were used for evaluating the efficiency of the method. Our results showed that a high level of antigen was detected only in sera from patients with CCA. This test gave 71% sensitivity and 90% specificity. CCA patients that gave a low O.D. value in serum were found to have a longer survival time than those

with a high O.D. value. The O.D. value of CCA serum correlated with the presence of MUC5AC in serum and tumor stage of the patients. It was suggested that the antigen detected by this test be used as a prognostic marker that will enable doctors to select an appropriate treatment.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

## ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การประเมินศักยภาพของการใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อโปรตีนของมะเร็งท่อน้ำดีเพื่อตรวจหาทูเมอร์มาร์คเกอร์ในซีรัมผู้ป่วยด้วยวิธี ELISA

## ผู้เขียน

นางสาววิษชุดา บำรุงผล

## ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา)

## คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

อ.ดร. นลินี เปรมประชา

ประธานกรรมการ

รศ. ดร. โสพิศ วงศ์คำ

กรรมการ

## บทคัดย่อ

โมโนโคลนอลแอนติบอดีสองโคลนคือ 21A2 และ 22C5 ที่จำเพาะต่อแอนติเจนที่สกัดจากเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดีได้ถูกผลิตขึ้นในการศึกษาก่อนหน้านี้ การทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นพบว่าแอนติเจนนี้มีลักษณะคล้ายมิวซินและโมโนโคลนอลแอนติบอดีสองโคลนนี้ทำปฏิกิริยากับอิพิโทปที่แตกต่างกัน มีรายงานว่าสามารถใช้เลือดคนสามชนิดคือ soybean agglutinin (SBA) *Saphora japonica* agglutinin (SJA) และ peanut agglutinin (PNA) ตรวจหามิวซินชนิด MUC5AC ในซีรัมได้ ซึ่ง MUC5AC นี้สามารถใช้เป็นทูเมอร์มาร์คเกอร์สำหรับโรคมะเร็งท่อน้ำดีได้ ในวิทยานิพนธ์นี้ได้พัฒนาวิธีการ sandwich ELISA หลายแบบโดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีสองโคลนร่วมกับเลือดคนสามชนิดเพื่อหาปริมาณของทูเมอร์มาร์คเกอร์จากตัวอย่างซีรัม พบว่าระบบที่ใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีโคลน 22C5 ร่วมกับ SBA ให้ผลดีที่สุด ตัวอย่างซีรัมห่ากลุ่มได้แก่ซีรัมจากคนปกติ และ ผู้ป่วยที่ติดเชื้อพยาธิ *Opisthorchis viverrini* โรคตับ โรคมะเร็งของทางเดินอาหารและโรคมะเร็งท่อน้ำดีถูกนำมาใช้ในการทดสอบศักยภาพของวิธีการนี้ ผลการทดลองพบว่าสามารถตรวจพบแอนติเจนปริมาณมากเฉพาะในซีรัมจากผู้ป่วยโรคมะเร็งท่อน้ำดีเท่านั้น วิธีการนี้ให้ค่าความไวเป็น 71% และค่าความจำเพาะเป็น 90% นอกจากนี้พบว่า จากผลการศึกษาทางสถิติผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงของซีรัมต่ำ มีระยะการรอดชีวิตนานกว่าผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงของซีรัมสูง ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างซีรัมผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีมี

ความสัมพันธ์กับการพบ MUC5AC ในซีรัม และลำดับชั้นของมะเร็ง แอนติเจนที่ถูกตรวจพบโดยวิธีนี้อาจมีประโยชน์สำหรับแพทย์ในการคาดเดาอาการของโรคและเลือกวิธีการรักษาที่เหมาะสม



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved