

**A MULTIPLEX RT-PCR ASSAY FOR THE DETECTION OF
CHIMERIC TRANSCRIPTS IN PEDIATRIC ACUTE
LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA**

MANTANA MATHARIT

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(CLINICAL PATHOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2003

ISBN 974-04-3662-5

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การจำแนกชนิดของยีนลูกผสมในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด acute lymphoblastic leukemia ในผู้ป่วยเด็ก โดยการใช้ปฏิกิริยา multiplex reverse transcription polymerase chain reaction (A MULTIPLEX RT-PCR ASSAY FOR THE DETECTION OF CHIMERIC TRANSCRIPTS IN PEDIATRIC ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA)

มัญชณา มาชฤทธิ 4336172 RACP/M

วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิก)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : บุษบา ฤกษ์อำนาจโชค, D.M.Sc., วสันต์ จันทราทิตย์, Ph.D., สุรเดช หงส์อิง, M.D., สุรพล วรพงษ์ไพบุลย์, M.D.

บทคัดย่อ

การจำแนกชนิดของยีนลูกผสมโดยการตรวจระดับโมเลกุลจะสามารถแยกประเภทของผู้ป่วยเด็กที่เป็นโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด acute lymphoblastic leukemia (ALL) ซึ่งมีประโยชน์ในการจำแนกความเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคซ้ำได้

วัตถุประสงค์ของวิทยานิพนธ์นี้คือ ตรวจกรองหา positive control ของแต่ละ translocation และวิเคราะห์หา translocation เหล่านั้นโดยวิธี single tube multiplex PCR ตลอดจนเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ที่จะใช้เทคนิคนี้ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างทางคลินิกในงานบริการ

การศึกษานี้ใช้ปฏิกิริยา multiplex reverse transcription polymerase chain reaction (multiplex RT-PCR) ในการตรวจสอบยีนลูกผสมที่พบได้บ่อยในผู้ป่วยเด็กที่เป็นโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด ALL จากตัวอย่างไขกระดูกหรือเลือดของผู้ป่วยจำนวน 37 ตัวอย่าง ทั้งหมดให้ผลสอดคล้องกับผลการตรวจโครโมโซม

ในผู้ป่วยหมายเลข 19 ซึ่งผลการตรวจโครโมโซมเป็น 50, XX, t(9;22)(q34;q11), der(3), der(4), der(6), der(7), +8, +der(10), -16, +?, +?, +? โดยพบ t(9;22) เพียง 5.5% และผู้ป่วยหมายเลข 31 พบ 46, XX, t(9;22)(q34;q11), i(17q), der(19), -20, +? โดยพบ t(9;22) เพียง 7.2% โดยปฏิกิริยา multiplex RT-PCR มีความไวมากพอที่จะตรวจพบยีนลูกผสมในปริมาณน้อยๆได้ และเมื่อศึกษาถึงความถี่ของความผิดปกติของโครโมโซมพบว่ามีความถี่สูงกว่ารายงานทั่วไป

เทคนิค multiplex RT-PCR ในการตรวจวิเคราะห์ยีนลูกผสมในผู้ป่วยเด็กที่เป็นโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด ALL เป็นวิธีที่ให้ผลรวดเร็ว มีความจำเพาะและสามารถตรวจความผิดปกติของโครโมโซมได้หลายชนิดพร้อมกัน นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถใช้ในการตรวจตัวอย่างทางคลินิกในงานบริการได้

A MULTIPLEX RT-PCR ASSAY FOR THE DETECTION OF CHIMERIC
TRANSCRIPTS IN PEDIATRIC ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA.

MANTANA MATHARIT 4336172 RACP/M

M.Sc. (CLINICAL PATHOLOGY)

THESIS ADVISORS : BUDSABA RERKAMNUAYCHOKE, D.M.Sc.,
WASAN CHANTRATITA, Ph.D., SURADEJ HONGENG, M.D.,
SURAPON WORAPONGPAIBOON, M.D.

ABSTRACT

Molecular methods allowed the detection of chimeric transcripts encoded by the risk-stratifying translocations. This study adapted the multiplex RT-PCR assay to detect the most frequent genetic lesions in acute lymphoblastic leukemia, such as the ALL-type BCR-ABL transcripts encoded by the t(9;22), the E2A-PBX1 transcripts encoded by the t(1;19), the MLL-AF4 transcripts encoded by the t(4;11) and the TEL-AML1 transcripts encoded by the t(12;21).

The objectives of the thesis are to establish the positive control for each translocation involved in pediatric ALL t(9;22), t(1;19), t(4;11) and t(12;21), to detect the specific translocation by using a single tube multiplex PCR technique and to test the feasibility of the assay for a routine diagnosis.

This study performed the multiplex RT-PCR assay to screen 35 pediatric ALL patients. PCR positivity was detected in 5 (14.28%) of them. All of the positive PCR products were confirmed for the presence of Philadelphia (Ph¹) chromosome diagnosed by karyotyping. In case No.19 whose carried 5.5% of Ph¹ chromosome, whereas, 77.8% was 46, XX and 16.7% was 50, XXX, del(22q)(q11;qter) and No. 31 whose carried 7.2% of 46, XX, t(9;22)(q34;q11), i(17q), der(19), -20, +?, the multiplex PCR was sensitive enough to detect such tiny amount of this chimeric transcript. The observed incidence of genetic lesions in ALL patients was higher than the frequency reported in childhood ALL.

For summary the multiplex RT-PCR systems allowed rapid, specific and simultaneous detection of the fusion transcripts in pediatric ALL patients. In addition, this study evaluated the feasibility of implementing this technique for routine service.

KEY WORDS : ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA / MULTIPLEX /
RT-PCR / CHIMERIC TRANSCRIPTS

98 P. ISBN 974-04-3662-5