

**THE mRNA EXPRESSION OF *SPRY1* AND *SPRY3* IN
HEPATOCELLULAR CARCINOMA**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOCHEMISTRY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2009**

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การแสดงออกระดับ mRNA ของยีน *SPRY1* และ *SPRY3* ในโรคมะเร็งตับ

THE mRNA EXPRESSION OF *SPRY1* AND *SPRY3* IN HEPATOCELLULAR CARCINOMA

อำนาจ คงฉวี 4937732 SIBC/M

วท.ม. (ชีวเคมี)

คณะกรรมการ ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: วรพรรณ ศิริวัฒนอักษร, MD., Ph.D, ชัชวาลย์ ศรีสวัสดิ์, MD., Ph.D

บทคัดย่อ

มะเร็งตับเป็นมะเร็งที่พบได้บ่อยในประเทศไทย อีกทั้งยังมีอัตราการตายและกลับมาเป็นซ้ำ หลังการรักษาค่อนข้างสูง แต่กลไกการเกิดโรคมะเร็งชนิดนี้ยังไม่เป็นที่เข้าใจนัก อย่างไรก็ตามมีการพบว่าวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ Ras/MAPK มีส่วนสำคัญเกี่ยวข้องในการเกิดโรคมะเร็งชนิดนี้ และไม่นานมานี้มีการค้นพบโปรตีนกลุ่มหนึ่งชื่อ Sprouty (*SPRY*) ซึ่งมีหน้าที่สำคัญในการควบคุมสัญญาณการเจริญเติบโตของเซลล์ ในช่วงการส่งสัญญาณจาก receptor tyrosine kinase ผ่านทางวิถี Ras/MAPK การศึกษาก่อนหน้านี้ของเราพบว่าการแสดงออกของยีน *SPRY2* และ *SPRY4* ลดต่ำลงในกลุ่มชิ้นเนื้อที่เป็นมะเร็งตับเมื่อเทียบกับชิ้นเนื้อบริเวณข้างเคียงที่ไม่เป็นมะเร็ง ดังนั้นในการศึกษากครั้งนี้จึงต้องการที่จะศึกษาต่อไปว่ายีนอื่นในกลุ่มนี้ อันได้แก่ยีน *SPRY1* และ *SPRY3* มีการแสดงออกอย่างไรในโรคมะเร็งตับ โดยนำชิ้นเนื้อที่เป็นมะเร็งตับและชิ้นเนื้อ ตับที่ไม่เป็นมะเร็งจากผู้ป่วย 31 ราย มาศึกษาการแสดงออกของยีน *SPRY1* และ *SPRY3* ด้วยวิธี real-time RT-PCR พบว่าการแสดงออกของยีน *SPRY1* ในส่วนของชิ้นเนื้อที่เป็นมะเร็งตับ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (20 จาก 31 ราย คิดเป็น 65%) เมื่อเทียบกับชิ้นเนื้อ ตับส่วนที่ไม่เป็นมะเร็ง ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่าง ของ การแสดงออกของยีน *SPRY3* ใน ชิ้นเนื้อทั้งสองส่วน นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกของ *SPRYs* กับปัจจัยทางด้านพยาธิกำเนิดของโรค พบว่ายีน *SPRY2* ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งตับที่มี angiolymphatic invasion มีการแสดงออกต่ำกว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มี angiolymphatic invasion อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) อีกทั้งยังพบว่าขนาดของก้อนมะเร็งใน กลุ่มผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของยีน *SPRYs* แบบ *SPRY1* เพิ่มขึ้น พร้อมกับ *SPRY2* และ *SPRY4* ลดลง จะมีขนาดใหญ่กว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของยีน *SPRYs* แบบอื่น ๆ จากผลการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบว่า รูปแบบการแสดงออกของยีน *SPRYs* น่าจะเป็นประโยชน์กา รพยากรณ์ โรคมะเร็งตับได้ต่อไปในอนาคต

80 หน้า

THE mRNA EXPRESSION OF *SPRY1* AND *SPRY3* IN HEPATOCELLULAR CARCINOMA

AMNART KHONGMANEE 4937732 SIBC/M

M.Sc. (BIOCHEMISTRY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: VORAPAN SIRIVATANAUKSORN, MD., Ph.D. (BIOCHEMISTRY), CHATCHAWAN SRISAWAT, MD., Ph.D. (BIOLOGICAL CHEMISTRY)

ABSTRACT

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the most common tumour in Thailand. It has a high rate of relapse and mortality rate since the molecular mechanisms underlying this cancer have been poorly understood. The important signalling pathway that has been implicated in HCC development is the Ras/MAPK pathway. Recently, Sprouty (*SPRY*) proteins have been found to be the potential modulators for numerous growth factors by modulating the signal from the receptor tyrosine kinase (RTK) via the Ras/MAPK pathway. In our previous study, we investigated the expression level of *SPRY2* and *SPRY4* in HCC and found a significant down-regulation of both genes in this cancer. Thus, in this study, we will further determine the mRNA expression of the other genes in this family, *SPRY1* and *SPRY3*. We analysed the expression level of *SPRY1* and *SPRY3* in 31 paired HCC and corresponding non-tumourous liver tissue using real-time RT-PCR. We observed the significant up-regulation of *SPRY1* (20 of 31 cases; 65%) in HCC tissue relative to corresponding non-tumourous liver tissue ($p < 0.05$) yet the difference in expression between the HCC and non-tumourous liver tissue of *SPRY3* could not be detected. Interestingly, the association between expression of all *SPRYs* and clinicopathological prognostic factors showed that the expression of *SPRY2* was significantly decreased ($p < 0.05$) in HCC with the presence of angiolymphatic invasion. Moreover, the cases with *SPRY1* up-regulation in conjunction with *SPRY2* and *SPRY4* down-regulation were significantly associated with a large tumour size. These results showed the potential prognostic value of *SPRYs* expression in patients with HCC.

KEY WORDS: SPROUTY / RELATIVE EXPRESSION / REAL-TIME PCR /
Ras/MAPK PATHWAY / HEPATOCELLULAR CARCINOMA

80 pages