

**DETECTION OF LARGE REARRANGEMENTS OF RB1 GENE
IN THAI RETINOBLASTOMA PATIENTS**



ONRAMPA THANAPANPANICH

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

2018

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

DETECTION OF LARGE REARRANGEMENTS OF RB1 GENE IN THAI
RETINOBLASTOMA PATIENTS

ONRAMPA THANAPANPANICH 5938703 RACP/M

M.Sc. (CLINICAL PATHOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: TAKOL CHAREONSIRISUTHIGUL, M.D., Ph.D.,
BUDSABA RERKAMNUAYCHOKE, D.M.Sc., ROSSUKON KAEWKHAW, Ph.D.

ABSTRACT

Retinoblastoma is the most common tumor of the retina that occurs in early childhood and one of the major causes of blindness and death. More than 97% of mutations in the *RB1* gene lead to retinoblastoma. Nevertheless, no previous studies of *RB1* gene large rearrangements have been reported in Thailand. For the objective of this study, large rearrangements of the *RB1* gene in the genomic DNA isolated from 56 blood and 3 tissue samples of 56 Thai retinoblastoma patients, including 28 unilateral and bilateral cases were investigated. The results showed that mutation detection rate of the *RB1* gene detected by multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) was 13% (7/56). There were 5 (9%) of 7 cases in which whole *RB1* gene deletions could be detected, and the partial gene deletions were detected in 2 cases (4%). In one of three cases, whole gene deletion was detected in both blood and tissue samples. The positive results from MLPA were validated by array-comparative genomic hybridization (aCGH), fluorescent *in situ* hybridization (FISH) or sequencing technique. MLPA is accurate, rapid and useful method to detect *RB1* gene large rearrangements. These findings will be useful for proposing an optimal genetic testing and providing an important tool for genetic counselors to assist retinoblastoma patients making decisions.

KEY WORDS: RETINOBLASTOMA/ RB1 GENE MUTATION/

LARGE REARRANGEMENTS/ MULTIPLEX LIGATION-DEPENDENT
PROBE AMPLIFICATION (MLPA)

47 pages

Copyright by Mahidol University

การตรวจหาการกลายของยีน RB1 รูปแบบ large rearrangements ในผู้ป่วยมะเร็งจอประสาทตา
ในประเทศไทย

DETECTION OF LARGE REARRANGEMENTS OF RB1 GENE IN THAI RETINOBLASTOMA
PATIENTS

อรรัมภา ชนพันธุ์พานิชย์ 5938703 RACP/M

วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิก)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ถกกล เจริญศิริสุทธีกุล, M.D., Ph.D., บุญบา ฤกษ์อำนวยโชค, D.M.Sc.,
รสสุคนธ์ แก้วขาว, Ph.D.

บทคัดย่อ

โรคมะเร็งจอประสาทตาเป็นโรคมะเร็งที่พบได้บ่อยซึ่งเกิดขึ้นในบริเวณของเรตินา มักจะพบ
ในวัยเด็กและเป็นหนึ่งของสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดตาบอดและเสียชีวิต การกลายของยีน *RB1* มากกว่าร้อยละ
97 ทำให้เกิดโรคมะเร็งจอประสาทตา ในประเทศไทยยังไม่มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับการกลาย
ของยีน *RB1* ที่เป็นการขาดหรือการเกินของดีเอ็นเอขนาดใหญ่ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ
ศึกษาการกลายชนิดนี้ในดีเอ็นเอที่สกัดได้จากตัวอย่างเลือด 56 รายและเนื้อเยื่อ 3 ราย ของผู้ป่วยมะเร็งจอ
ประสาทตาทไทยจำนวน 56 ราย ประกอบด้วยผู้ป่วย 28 ราย ที่เป็นมะเร็งจอประสาทตาเพียงข้างเดียวและ
มะเร็งจอประสาทตาทั้งสองข้าง โดยวิธี multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) ผล
การศึกษาแสดงให้เห็นว่าตรวจพบการกลายของยีน *RB1* เท่ากับร้อยละ 13 (พบ 7 ราย จาก 56 ราย) โดยมี
ผู้ป่วย 5 ราย พบการกลายที่ยีน *RB1* มีการขาดหายไปทั้งยีนคิดเป็นร้อยละ 9 และการกลายที่ยีน *RB1* มีการ
ขาดหายไปบางส่วนจำนวน 2 ราย คิดเป็นร้อยละ 4 ผู้ป่วย 1 ราย ตรวจพบการกลายทั้งจากตัวอย่างเลือดและ
เนื้อเยื่อ โดยผลการตรวจด้วยวิธี MLPA ที่ให้ผลบวก จะนำมายืนยันด้วยวิธี array-comparative genomic
hybridization (aCGH), fluorescent *in situ* hybridization (FISH) หรือ การหาลำดับเบส การศึกษานี้พบว่า
MLPA เป็นวิธีที่ดีสามารถใช้ในการตรวจการกลายที่เป็นการขาดหรือการเกินของดีเอ็นเอขนาดใหญ่ของ
ยีน *RB1* การศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ในการแนะนำการทดสอบทางพันธุกรรมและการให้คำปรึกษา
ทางพันธุกรรมซึ่งจะช่วยให้ผู้ป่วยมะเร็งจอประสาทตานำข้อมูลนี้ไปใช้ในการตัดสินใจต่อไป