

<b>Thesis Title</b>	Tissue Content of Survivin mRNA and Survivin Autoantibody in Cancer Diagnosis and Prognosis	
<b>Author</b>	Miss Tanyathip Jaimulwong	
<b>Degree</b>	Master of Science (Medical Technology)	
<b>Thesis Advisory Committee</b>		
	Assist. Prof. Dr. Roongsiri Chotpadiwetkul	Chairperson
	Assoc. Prof. Nirush Lertprasertsuke, M.D.	Member
	Assist. Prof. Dr. Chatchai Tayapiwatana	Member

### ABSTRACT

Deregulation of apoptosis pathway is one of the crucial mechanisms which causes tumourigenesis and drives its progression. Survivin is a member of the inhibitor of apoptosis (IAP) gene family that inhibits the activation of the terminal effector caspases. Survivin plays a dual role in both cell death suppression and cell cycle regulation at the G<sub>2</sub>/M phase. Its expression also contributes to tumor cell resistance to chemo- and radiotherapy. This study was aimed to determine survivin mRNA expression semiquantitatively in tumor tissues and survivin autoantibody in serum of cancer patients and evaluate the correlation between survivin mRNA,

survivin autoantibody and the pathological parameters. Total RNA was extracted from fifty-four fresh frozen tissues of 22 colorectal, 10 liver and 22 lung cancer patients and their corresponding normal tissues. The survivin cDNA and the internal control, GAPDH cDNA, were amplified by single step RT-PCR and detected by agarose gel electrophoresis and ethidium bromide staining. The amplified products of survivin cDNA and GAPDH cDNA were 431 and 306 bp, respectively. Survivin was abundantly expressed in all three types of cancer ( $p < 0.05$ ). Expression of survivin mRNA was observed in 13 of 22 (59.1%) colorectal cancer, 7 of 10 (70%) liver cancer and 14 of 22 (63.6%) lung cancer. Survivin mRNA expression was differentially expressed in tumor tissues. The ratio between survivin and GAPDH band intensity was varied from 0.007-0.804 in tumor tissues. However, there was no correlation between survivin mRNA and the pathological parameters in all three types of cancer ( $p > 0.05$ , Chi-square test).

The avidin capture ELISA system for survivin autoantibody detection in serum was optimized. Fifty-five sera from cancer patients and 50 normal individuals were examined for the presence of autoantibodies against survivin. Unfortunately, there was no significant difference of O.D. between serum of healthy individuals ( $\bar{X} \pm S.D$ ,  $0.695 \pm 0.153$ ) and cancer patients ( $0.723 \pm 0.182$ ) ( $p = 0.538$ , Mann-Whitney U test). Similar results were obtained by flow cytometry ( $p = 0.064$ , Mann-Whitney U test). The problems encountered in the survivin autoantibody detection may result from either the heterogeneity of survivin-BCCP containing bacterial lysate itself or the serum. Some of sera with high O.D. value and high fluorescence intensity were further tested for the presence of survivin autoantibody against recombinant denatured survivin-BCCP by Western immunoblotting. The results demonstrated an

immunoreactive bands at the molecular weight of ~30 kDa that represented survivin (16.5 kDa) fused to BCCP (14 kDa) recognized by a commercial survivin mAb (D8). In contrast, sera from both cancer patients and healthy individuals did not react with the survivin-BCCP and produced a few non-specific bands.

In summary, selective expression in tumor tissues make survivin a useful diagnostic marker. Larger sample size as well as other parameters i.e. clinical outcome, survival rate etc. may be required to establish it as a prognostic marker.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ปริมาณของเซอร์ไววิน เอ็มอาร์เอ็นเอในเนื้อเยื่อและเซอร์ไววิน  
ออโตแอนติบอดี ในการวินิจฉัยและพยากรณ์โรคมะเร็ง

ผู้เขียน นางสาวธัญญาทิพย์ ไจมูลวงศ์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร. รุ่งสิริ โชติปฎิเวชกุล	ประธานกรรมการ
รศ. แพทย์หญิงนิรพัทธ์ เลิศประเสริฐสุข	กรรมการ
ผศ. ดร. ชัชชัย ตะยาภิวัฒนา	กรรมการ

### บทคัดย่อ

ความผิดปกติของกลไกควบคุมการตายของเซลล์ (apoptosis) เป็นสาเหตุสำคัญอันหนึ่งในการก่อกำเนิดและดำเนินโรคของมะเร็ง Survivin จัดอยู่ในกลุ่มยีนส์ที่ยับยั้งกระบวนการตายของเซลล์ (inhibitor of apoptosis) โดยไปขัดขวางการกระตุ้น caspases Survivin มีสองบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งกระบวนการตาย และการควบคุมวัฏจักรของเซลล์ที่ระยะ G<sub>2</sub>/M อีกทั้งการแสดงออกของยีนส์ survivin ยังมีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดและรังสีรักษา การศึกษาวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาระดับของ survivin mRNA ในเนื้อเยื่อของผู้ป่วยมะเร็งชนิดต่างๆ และระดับ survivin autoantibody ในซีรัม และหาความสัมพันธ์ระหว่าง survivin mRNA และ survivin autoantibody กับค่าพารามิเตอร์ทางพยาธิวิทยา โดยเริ่มต้นจากการสกัด RNA ทั้งหมดจากเนื้อเยื่อมะเร็งและเนื้อเยื่อปกติ จำนวน 54 ราย ประกอบด้วย มะเร็งลำไส้ใหญ่ 22 ราย มะเร็งตับ 10 ราย และมะเร็งปอด 22 ราย จากนั้นเพิ่มปริมาณ survivin cDNA และ GAPDH cDNA ซึ่งใช้เป็น internal control ในหลอดเดียวกันโดยเทคนิค RT-PCR แบบขั้นตอนเดียว และแยก PCR products ที่ได้ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis และย้อมด้วย ethidium bromide ผลจากการเพิ่มปริมาณ survivin cDNA และ GAPDH cDNA มีขนาด 431 bp และ 306 bp ตามลำดับ survivin mRNA มีการแสดงออก