

PHÂN TÍCH ĐẶC ĐIỂM PHÂN TỬ BỆNH NHÂN UNG THƯ PHỔI KHÔNG TẾ BÀO NHỎ TẠI BỆNH VIỆN UNG BƯỚU NGHỆ AN

Nguyễn Quang Trung⁽¹⁾, Nguyễn Thị Thuỷ Lê⁽¹⁾

Trần Đức Hùng⁽¹⁾, Ngô Thị Tố Trinh⁽²⁾

Võ Thị Quỳnh Trang⁽²⁾, Nguyễn Thị Giang An⁽²⁾

¹ *Bệnh viện Ung bướu Nghệ An*

² *Trường Đại học Vinh*

Ngày nhận bài 04/12/2017, ngày nhận đăng 15/4/2018

Tóm tắt: Nghiên cứu 109 bệnh nhân điều trị ung thư phổi không tế bào nhỏ (UTPKTBN) tại Bệnh viện Ung bướu Nghệ An cho thấy, đột biến gen EGFR chiếm tỷ lệ 40,37%, các đột biến này đều được xác định bằng kỹ thuật Scorpion ARMS. Trong đó, tuổi trung bình mắc bệnh là $63,8 \pm 10,6$ và 96,33% bệnh nhân là ung thư biểu mô tuyến (UTBMT). Tỷ lệ bệnh nhân nam UTPKTBN chiếm 55,96%, trong đó có 27,87% bệnh nhân mang đột biến gen EGFR. Tỷ lệ bệnh nhân nữ chiếm 44,04%, trong đó, có 56,25% bệnh nhân mang đột biến gen. Những trường hợp bệnh nhân mang đột biến gen EGFR có 54,55% đột biến xóa đoạn LREA and L747-P753 delinsS ở exon 19; 29,55% đột biến L858R ở exon 21; đột biến kép trên exon 19 và 20, 18 và 20, 18 và 21 chiếm 9,09%; bệnh nhân mang gen đột biến kháng thuốc điều trị đích chiếm 15,91%.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư phổi (UTP) là loại ung thư thường gặp, gây tử vong hàng đầu trong các loại ung thư, với 1,6 triệu ca mắc mới mỗi năm. Theo Globocan, năm 2008 có 1.608.000 trường hợp mắc mới UTP (chiếm 12,7%); UTP có tỷ lệ tử vong cao nhất, chiếm 18,2% trong các loại ung thư. Ung thư phổi không tế bào nhỏ (UTPKTBN) chiếm tỷ lệ 75-80% trong các loại UTP, phổ biến là ung thư biểu mô tuyến. Theo số liệu thống kê, có khoảng 90% số ca được ghi nhận là UTP có liên quan đến thuốc lá, 10% còn lại là do bị nhiễm phóng xạ hay tiếp xúc với các tác nhân gây ung thư trong môi trường làm việc. Các nghiên cứu đã chỉ ra trong khói thuốc có chứa đến 40 hợp chất gây ung thư [1], [2], [9]. Khoảng 25% bệnh nhân UTP không có triệu chứng lâm sàng cụ thể và chỉ có thể được phát hiện qua khám sức khỏe định kỳ. Bệnh nhân thường có các triệu chứng như: khó thở, đau ngực, ho ra máu. Khi khối u di căn, thường xuất hiện các dấu hiệu như đau xương, giảm sức nhìn, đau đầu, đột quỵ và các triệu chứng không điển hình khác như suy nhược, giảm cân... [10]. Tuy nhiên, những triệu chứng này thường không đặc trưng cho UTPKTBN. Các xét nghiệm máu, tế bào học hay chẩn đoán bằng hình ảnh có thể xác định được UTPKTBN nhưng khả năng chẩn đoán thường ở giai đoạn phát triển thành khối u. UTPKTBN nếu được phát hiện và phẫu thuật sớm, kết hợp phác đồ điều trị hợp lý sẽ có 50% bệnh nhân sống thêm 5 năm [8].

Trong những năm gần đây, sự phát triển của các kỹ thuật y sinh đã giúp cho việc chẩn đoán và điều trị UTPKTBN có những bước cải thiện đáng kể. Nội bật hơn cả là phương pháp điều trị nhắm trúng đích thông qua việc phát hiện sự đột biến của gen EGFR. Vì vậy, việc nghiên cứu và xác định sự đột biến của gen EGFR là vô cùng quan trọng trong việc chẩn đoán và điều trị bệnh.

2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành trên 109 bệnh nhân đã được xác định UTPKTBN bằng xét nghiệm mô bệnh học. Các bệnh nhân này phải có các mẫu khối nên được lưu giữ và có hồ sơ bệnh án lưu tại Bệnh viện Ung bướu Nghệ An từ tháng 01/2015 đến tháng 6/2017. Nghiên cứu này loại trừ những bệnh nhân dưới 18 tuổi, có chỉ định sử dụng hoá chất điều trị, có dấu hiệu suy gan, suy thận, suy hô hấp và bệnh tiểu đường.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chọn mẫu

Nghiên cứu được tiến hành theo mô tả cắt ngang, hồi cứu hồ sơ bệnh án và có đủ tiêu chuẩn chọn mẫu.

2.2.2. Phương pháp hoá mô

Mẫu bệnh phẩm của bệnh nhân được xác định UTPKTBN bằng nhuộm HE thường qui bằng phương pháp hoá mô [11].

2.2.3. Phương pháp realtime PCR

Xác định đột biến gen EGFR bằng kỹ thuật Scorpions - Amplification Refractory Mutation System (Scorpions ARMS).

Mẫu mô được bác sỹ giải phẫu bệnh lựa chọn chính xác vùng tế bào ung thư, tiến hành tách chiết ADN tổng số bằng bộ kit ReliaPrep TM FFPE gDNA Miniprep System (Promega, Mỹ) theo sự hướng dẫn của nhà sản xuất. Theo đó, bệnh phẩm được loại bỏ parafin bằng xylen. ADN được tách chiết bằng phenol/chloroform; nồng độ tinh sạch của ADN được xác định bằng máy Nano-Drop; những mẫu ADN đạt giá trị OD $\geq 1,8$ được sử dụng để phân tích đột biến gen *EGFR* [10].

Số liệu được xử lý trên phần mềm SPSS 16.0.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1: Đặc điểm nhóm bệnh nhân trong nhóm nghiên cứu

Đặc điểm bệnh nhân		n	%	Đột biến EGFR		Không đột biến EGFR	
				n	%	n	%
Giới tính	Nam	61	55,96	17	27,87	44	72,13
	Nữ	48	44,04	27	56,25	21	43,75
		p > 0,05		p < 0,01; r = - 0,29			
Tuổi TB = 63,8 ± 10,6	< 50	9	8,26	7	77,78	2	22,22
	50-64	43	39,45	17	39,53	26	60,47
	≥ 65	57	52,29	20	35,09	37	64,91
				p < 0,01; r = - 0,15			

Đặc điểm bệnh nhân		n	%	Đột biến EGFR		Không đột biến EGFR	
				n	%	n	%
Giải phẫu bệnh	Biểu mô tuyến	105	96,33	61	58,10	44	41,90
	Biểu mô vảy	3	2,75	0	0,00	3	100,00
	Biểu mô tuyến - vảy	1	0,92	1	100,00	0	0,00
	Biểu mô tế bào lớn	1	0,92	0	0,00	1	100,00
		$p < 0,01; r = - 0,08$					

Kết quả phân tích bảng 1 cho thấy: tuổi trung bình mắc bệnh là $63,8 \pm 10,6$, trong đó, độ tuổi cao nhất là trên 65 (chiếm 52,29%). Tỷ lệ bệnh nhân mang đột biến EGFR là 40,37%, trong đó, tỷ lệ UTPKTBN ở nam là 55,96% (đột biến EGFR chiếm 27,87%), bệnh nhân nữ là 44,04% (đột biến EGFR chiếm 56,25%). Tỷ lệ ung thư biểu mô tuyến chiếm đến 96,33%, trong đó, có 58,1% bệnh nhân mang gen đột biến gen ở loại này. Tuổi mắc bệnh có mối tương quan thuận với tỷ lệ mắc bệnh nhưng lại tương quan nghịch với tỷ lệ bệnh nhân mang đột biến gen EGFR ($r = - 0,15$).

Bảng 2: Dấu hiệu biểu hiện của bệnh UTPKTBN

Dấu hiệu biểu hiện	n	Tỷ lệ (%)
Ho khan, đau tức ngực	90	82,57
Ho máu	5	4,59
Sụt cân, da xanh, ăn ngủ kém	10	9,17
Đau ngực, nổi hạch	2	1,83
Khó thở	2	1,83

Các bệnh nhân UTPKTBN khi mắc bệnh có dấu hiệu thường gặp nhất là ho khan, đau tức ngực, chiếm 82,57%; sụt cân, da xanh xao và kém ăn, chiếm 9,17%.

Bảng 3: Phân loại các dạng đột biến gen EGFR

Vị trí đột biến	Dạng đột biến	n	Tỷ lệ (%)
n = 109	Đột biến gen EGFR	44	40,37
	Không đột biến gen EGFR	65	59,63
19	LREA, L747-P753 delinsS	23	54,55
	L477-P753 delinsS	1	
21	L858R	13	29,55

Vị trí đột biến	Dạng đột biến	n	Tỷ lệ (%)
20	INS	3	6,82
18 + 20	G179X (exon 18) + S768I (exon 20)	1	2,27
19 + 20	LREA (exon 19) + INS (exon 20)	2	4,55
18 + 21	T790M (exon 18) + L858R (exon 21)	1	2,27
Tổng số		44	100

Trong 109 bệnh nhân được xét nghiệm gen EGFR, có 44 bệnh nhân mang đột biến gen EGFR, chiếm tỷ lệ 40,37%. Trong đó, đột biến tại exon 19 và 21 chiếm đa số với tỷ lệ lần lượt là 54,55% và 29,55%; đột biến tại exon 20 chiếm 6,82%, trong đó, có 1 trường hợp đột biến kép G179X (exon 18) + S768I (exon 20), 1 trường hợp đột biến kép T790M (exon 20) + L858R exon 21 và 2 trường hợp đột biến kép xóa đoạn LREA (exon 19) + INS (exon 20) chiếm 9,09%.

Trong các trường hợp phát hiện đột biến gen EGFR, có 7 trường hợp đột biến kháng thuốc điều trị đích chiếm (15,91%), bao gồm đột biến INS ở exon 20, G179S (exon 18) + S768I (exon 20), LREA (exon 19) + INS (exon 20), T790M (exon 18) + L858R (exon 21).

BÀN LUẬN

Kết quả nghiên cứu 109 trường hợp UTPKTBN cho thấy tuổi trung bình của các bệnh nhân là $63,8 \pm 10,6$ tuổi. Trong đó, tỷ lệ bệnh nhân UTPKTBN tăng dần theo độ tuổi, nhưng đột biến gen *EGFR* tỷ lệ nghịch với độ tuổi ($r = -0,15$). Kết quả này cũng hoàn toàn phù hợp cơ chế sinh bệnh, bởi UTPKTBN phụ thuộc vào sự thay đổi trong cấu trúc di truyền và độ ổn định trong quá trình phân bào. Ở những bệnh nhân trẻ, sự tiếp xúc với các yếu tố nguy cơ dẫn đến đột biến gen *EGFR* từ bố mẹ và môi trường rất cao. Trong khi đó, ở những bệnh nhân lớn tuổi, các yếu tố hình thành khối u là sự già hóa của tế bào, dẫn đến lỗi trong quá trình phân bào, kèm theo sự suy giảm hệ miễn dịch, tạo ra kẽ hở cho các tế bào ung thư phát triển. Kết quả này tương đương với các công trình nghiên cứu trong nước như của Phạm Văn Luận và CS [7], Nguyễn Minh Hải và CS [6], Shi, Y [10].

Phân tích bệnh nhân mắc UTPKTBN theo giới tính cho thấy, tỷ lệ bệnh nhân nam chiếm 55,96% cao hơn ở nữ (44,04%), song ở nữ có 56,25% mang gen đột biến, cao gấp 2,01 lần ở nam (27,87%). Kết quả nghiên cứu này tương tự kết quả nghiên cứu trước đây của Mai Trọng Khoa và cộng sự, theo đó, tỷ lệ đột biến gen *EGFR* ở nữ là 55,2% [5]. Nghiên cứu của Phạm Văn Luận cũng cho tỷ lệ đột biến gen *EGFR* ở nữ là 55,2% [7]. Nghiên cứu của Shi Y (2014) trên bệnh nhân UTP Châu Á cũng cho thấy đột biến gen *EGFR* thường gặp ở bệnh nhân nữ nhiều hơn bệnh nhân nam (64,9%) [10].

Đặc điểm mô bệnh học là yếu tố quan trọng trong chỉ định điều trị và tiên lượng của bệnh ung thư phổi. Các nghiên cứu trước đây cũng ghi nhận ung thư biểu mô tuyến chiếm tỷ lệ cao nhất trong các loại ung thư phổi [3], [10]. Trong nghiên cứu này, UTPKTBN chủ yếu ở thể ung thư biểu mô tuyến chiếm 96,33%, tỷ lệ đột biến gen *EGFR* ở nhóm này chiếm 58,1%, các loại ung thư khác chiếm tỷ lệ rất thấp. Điều đặc biệt, 100% bệnh nhân ung thư biểu mô vảy đều mang đột biến gen *EGFR*, kết quả này đã

được đề cập đến trong nghiên cứu trước đây. Theo y văn thế giới, UTBMTBN là hình thức phổ biến ở nữ và những nam giới trẻ không hút thuốc lá [9].

Phân tích kết quả đột biến gen EGFR rất đa dạng, phân bố cả 4 exon, gồm tất cả các dạng đột biến điểm, xóa đoạn và thêm đoạn. Trong 44 mẫu đột biến EGFR được xác định, đột biến mất đoạn ở exon 19 chiếm tỷ lệ cao nhất (54,55%), gấp 1,8 lần đột biến ở exon 21 (chiếm 29,55%). Trên exon 20, đột biến điểm T790M, S768I và đột biến chèn đoạn là chủ yếu. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Mai Trọng Khoa và cộng sự [5], Phạm Văn Luận và cộng sự [7]. Nhưng khác với một số nghiên cứu trên thế giới, tỷ lệ đột biến xóa đoạn exon 19 và L858R exon 21 khoảng 1,1 [10].

Trong điều trị bệnh nhân UTPKTBN, đột biến EGFR được chia thành 2 nhóm, là nhóm liên quan đến tính nhạy thuốc và nhóm kháng thuốc TKI. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ bệnh nhân mắc đột biến kháng thuốc TKI là 15,9%. Kết quả này cao hơn so với kết quả nghiên cứu của Inukai và cộng sự với tỷ lệ kháng thuốc là 3,6%; Theo nghiên cứu của POINEER, tỷ lệ đột biến gen kháng thuốc là 2,9%, trong đó, các tác giả đã đề cập đến sự kết hợp giữa đột biến tăng nhạy và kháng thuốc là 2,3% [8], [9]. Theo nghiên cứu của Mai Trọng Khoa và cộng sự, tỷ lệ kháng thuốc là 1,9% [5]. Theo nghiên cứu của Hoàng Anh Vũ, tỷ lệ kháng thuốc là 1,3% [3]. Ở các nghiên cứu trước đây, đột biến kháng thuốc thường gặp là đột biến thay đoạn T790M trên exon 20. Trong nghiên cứu này, đột biến kháng thuốc điều trị đích là đột biến thêm đoạn INS exon 20. Đặc biệt, có một số trường hợp vừa mang đột biến kháng thuốc vừa mang đột biến đáp ứng thuốc như T790M exon 18 + L858R exon 21 (T790M là đột biến kháng thuốc); một trường hợp khác là đột biến G719X exon 18 + S768I exon 20 (S768I là đột biến kháng thuốc).

Phân tích đột biến trên các exon của gen EGFR liên quan đến đáp ứng hoặc kháng thuốc là những kết quả rất quan trọng giúp cho bác sĩ định hướng điều trị. Từ đó đưa ra quyết định lựa chọn thuốc điều trị đích như gefitinib và erlotinib cho bệnh nhân UTPKTBN.

KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, tỷ lệ bệnh nhân UTPKTBN có tuổi trung bình mắc bệnh là $63,8 \pm 10,6$ (chiếm 52,29%), trong đó có 35,09% mang gen đột biến. Tỷ lệ bệnh nhân nam UTPKTBN cao hơn nữ, song tỷ lệ nữ mang gen đột biến cao hơn nam. Hầu hết các bệnh nhân mắc bệnh là ung thư biểu mô tuyến, chiếm 96,33%.

Trong số các bệnh nhân được phát hiện đột biến gen EGFR, đột biến xóa đoạn LREA exon 19 và đột biến L858R exon 21 chiếm đa số với tỷ lệ lần lượt là 52,27% và 29,55%. Có 4 trường hợp mang đột biến kép, chiếm tỷ lệ 9,09%. Đột biến kháng thuốc điều trị trúng đích EGFR TKI chiếm 15,91%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Ciardiello F., Tortora G., *EGFR antagonists in cancer treatment*, N. Engl. J. Med., 358, 2008, 1160-1174.
- [2] Ferlay J., Shin H. R., Bray F., Forman D., Mathers C., Parkin D. M., *GLOBOCAN 2008 v2.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase*, No. 10, 2010, International Agency for Research on Cancer.

- [3] Hoàng Anh Vũ, Ngô Thị Tuyết Hạnh, *Đặc điểm đột biến gen trên 332 bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ*, Tạp chí Y dược học lâm sàng 108, 4, 2014, tr. 58-64.
- [4] Hoàng Anh Vũ, Cao Văn Động, Ngô Thị Tuyết Hạnh, Phan Thị Xinh, Hứa Thị Ngọc Hà, *Đột biến gen EGFR và KRAS trên bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ*, Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh - Chuyên đề Điều dưỡng Kỹ thuật Y học, tập 14, phụ bản số 4, 2011, tr. 166-172.
- [5] Mai Trọng Khoa, Trần Đình Hà, Phạm Cẩm Phương, Hoàng Thị Hà, *Xác định đột biến gen EGFR trên bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ tại Bệnh viện Bạch Mai*, Tạp chí Ung thư học Việt Nam, Số 4/2016, tr. 274-277.
- [6] Nguyễn Minh Hải, *Nghiên cứu giá trị định hướng chẩn đoán của TPS trong ung thư phổi không tế bào nhỏ*, Tạp chí Y dược lâm sàng 108, Tập 8, 2013, tr. 141-145.
- [7] Phạm Văn Luận, Nguyễn Đình Tiến, Nguyễn Minh Hải, *Đánh giá tỉ lệ đột biến gen EGFR ở bệnh ung thư phổi không tế bào nhỏ điều trị tại Bệnh viện trung ương quân đội 108*, Tạp chí Ung thư học Việt Nam, Số 4/2016, tr. 178-182.
- [8] Selvaggi G, Novello S, Torri V., et al, *Epidermal growth factor receptor overexpression correlates with a poor prognosis in completely resected non-small-cell lung cancer*, Annals of Oncology 15, 2004, 28-32.
- [9] Sharma S. V., Bell D. W., Settleman J., Haber D. A., *Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer*, Nat. Rev. Cancer., 7(3), 2007, 169-81.
- [10] Shi Y, Joseph Siu-Kie A, Sumitra T. et al, *A Prospective, Molecular Epidemiology Study of EGFR Mutations in Asian Patients with Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer of Adenocarcinoma Histology (PIONEER)*, J. Thor. Oncol., 9(2), 2014, 154-162.
- [11] Sheehan D. C., Hrapchak B. B., *Theory and practice of histotechnology*, The C. V. Mosly Company, St. Louis, MO., 2nd Edition, 1980.

SUMMARY

MOLECULAR CHARACTERISTIC ANALYSIS OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER PATIENTS AT NGHE AN ONCOLOGY HOSPITAL

By conducting the study on 109 non-small cell lung cancer (NSCLC) patients at the Nghe An Oncology Hospital, we found that EGFR gene mutation is a cause of NSCLC. The average age of patients is 63.8 ± 10.6 . 96.33% of all the patients have Adenocarcinoma. Using Scorpion ARMS technique for EGFR mutation identification, we found the rate of patients carrying the gene mutation was 40.37%. 55.96% of the patients are male (27.87% of those have gene mutation), 44.04% are female (56.25% of those have gene mutation). In all patients with gene mutations, 54.55% of patients carry LREA and L747-P753 delinsS mutation at exon 19. The rate of patients with the L858R gene mutation at exon 21 is 29.55%; the rate of double mutation at exon 19 and 20, 18 and 20, 18 and 21 is 9.09%. 15.91% of patients have targeted-drug-resistant gene mutation.