

PHÂN TÍCH ĐẶC ĐIỂM MỘT SỐ BIẾN ĐỔI DI TRUYỀN Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ BIỂU MÔ TUYẾN CỦA PHỔI

Nguyễn Ngọc Quang¹, Phạm Quang Long², Vương Diệu Linh³

TÓM TẮT

Mục tiêu: (1) Xác định tỷ lệ đột biến EGFR, ALK, ROS1, RET và MET ở bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến của phổi. (2) Phân tích mối liên quan giữa những đột biến gen và một số đặc điểm của bệnh trong nghiên cứu.

Đối tượng và Phương pháp nghiên cứu: 101 bệnh nhân được chẩn đoán ung thư biểu mô tuyến của phổi tại bệnh viện K từ năm 2020 đến năm 2022. Nghiên cứu mô tả cắt ngang sử dụng phương pháp nghiên cứu như: Tách chiết DNA/RNA tổng số từ mẫu FFPE; xác định đột biến gen bằng phương pháp Real-time PCR và Reverse Transcript Real-time PCR.

Kết quả: Tỷ lệ đột biến EGFR, ALK, ROS1, RET và MET lần lượt là 44.6%, 7.9%; 3%; 3% và 2%. Đột biến EGFR, ALK, ROS1 và RET có xu hướng xảy ra phổ biến hơn ở bệnh nhân nữ giới; những biến đổi ALK, ROS1 và RET có tỷ lệ cao hơn ở những bệnh nhân trẻ tuổi. Ngược lại, đột biến MET hay gặp ở bệnh nhân nam giới và lớn tuổi.

Kết luận: Bên cạnh đột biến EGFR xảy ra phổ biến ở bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến phổi, các biến đổi gen ALK, ROS1, RET và MET được phát hiện với tần suất 2 - 8%. Có sự khác biệt giữa tỷ lệ đột biến các gen này ở các nhóm bệnh nhân khác nhau về giới tính và độ tuổi.

Từ khóa: Ung thư biểu mô tuyến của phổi, EGFR/ALK/ROS1/RET/MET

SUMMARY

ANALYSIS CHARACTERISTICS OF GENETIC ALTERATIONS IN LUNG ADENOCARCINOMA

Objective: (1) To determine the rate of EGFR, ALK, ROS1, RET and MET mutations in lung adenocarcinoma. (2) To analyze the relationship between gene mutations and some characteristics of the disease in this study.

Materials and Methods: 101 patients were diagnosed with lung adenocarcinoma at National Cancer Hospital K from 2020 to 2022. This is a cross-sectional study using research methods such as: Genomic DNA/RNA extraction from FFPE samples; mutation analysis by Real-time PCR and Reverse Transcription Real-time PCR.

Results: EGFR, ALK, ROS1, RET and MET mutation rates were 44.6%; 7.9%; 3%; 3% and 2%, respectively. EGFR, ALK, ROS1 and RET mutations tended to be higher in female patients. Alterations of ALK, ROS and RET were more prevalent in younger patients. In contrast, MET mutation was more frequent in older and male patients.

¹Trung tâm giải phẫu bệnh và sinh học phân tử, Bệnh viện K

²Khoa công nghệ sinh học nông y dược, Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội

³Trung tâm giải phẫu bệnh và sinh học phân tử, Bệnh viện K

Tác giả liên hệ: Nguyễn Ngọc Quang

SĐT: 0971818588

Email: quangk8s@gmail.com

Ngày nộp bài: 20/07/2022

Ngày phản biện: 04/10/2022

Ngày phê duyệt: 10/10/2022

Conclusions: Besides EGFR mutation occurring commonly in lung adenocarcinoma, ALK, ROS1, RET and MET gene mutations were detected with a frequency of 2 to 8%. There were differences between the rates of mutations in these genes in different groups of patients in terms of gender and age.

Keywords: lung adenocarcinoma, EGFR/ALK/ROS1/RET/MET

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư phổi là nguyên nhân gây tử vong liên quan đến ung thư ở cả nam giới và nữ giới cao hàng đầu trên thế giới [1]. Theo thống kê của Globocan năm 2020, trên thế giới có 2.2 triệu ca mắc mới và 1.8 triệu người tử vong do ung thư phổi [2]. Tại Việt Nam, năm 2020 ghi nhận 26 262 trường hợp mắc mới và 23 797 ca tử vong do ung thư phổi [2]. Trong ung thư phổi không tế bào nhỏ (UTPKTBN) (chiếm 85% trường hợp mắc ung thư), Ung thư biểu mô tuyến (Adenocarcinoma - UTBMT) là phân típ chiếm tỷ lệ cao nhất với nhiều đặc điểm phân tử khác biệt so với các phân típ UTPKTBN khác [3]. Bên cạnh điều trị đích dựa trên đột biến EGFR, điều trị nhắm đích dựa vào các biến đổi RNA liên quan đến ALK, ROS1, RET, MET cũng đã được FDA phê duyệt và đem lại hiệu quả cho bệnh nhân [1].

Gen ALK (Anaplastic lymphoma kinase translocation) lần đầu tiên được phát hiện bởi Soda và cộng sự [4]. Crizotinib là chất ức chế ALK (ALK inhibitor – ALKi) đầu tiên chứng minh sự cải thiện trong mPFS, khả năng dung nạp và mOS qua hóa trị và nhận được sự chấp thuận trong cả hai UTPKTBN

di căn chưa từng điều trị và đã điều trị có chuyển đoạn ALK [5-6]. ROS1 (ROS Proto-Oncogene 1) là một thụ thể kinase có cấu trúc tương đồng với ALK. Sự dung hợp ROS1 kích hoạt RAS/RAF/MAPK, PI3K/AKT/mTOR và STAT-3 dẫn đến tế bào tăng sinh trưởng, phân chia và sống sót [7]. Dung hợp gen ROS1 được tìm thấy ở 1 - 2% bệnh nhân ung thư phổi dạng biểu mô tuyến với tỷ lệ cao hơn những người trẻ tuổi, không hút thuốc lá, phụ nữ và người Châu Á [8]. Thụ thể Tyrosine Kinase xuyên màng RET (Rearranged during transfection) có khả năng hoạt hóa of RAS/RAF/MAPK, PI3K/AKT/mTOR và PLC- γ n dẫn đến sự phân chia, di động và biệt hóa của tế bào [9]. Dung hợp RET được phát hiện ở 1 - 2% bệnh nhân UTPKTBN trẻ hơn 60 tuổi, không hút thuốc và cân bằng ở nam giới và nữ giới [10-11]. MET (Mesenchymal-epithelial transition factor) đóng vai trò trong sự tăng trưởng và phát triển của tế bào ung thư, thông qua kích hoạt các con đường truyền tín hiệu RAS/RAF/MAPK, PI3K/AKT/mTOR, WNT/ β -catenin và STAT. Đột biến MET xuất hiện ở 3 - 4% bệnh nhân UTPKTBN di căn với dạng phổ biến nhất là xóa đoạn ở Exon 14 (MET ex14 Skipping) [12].

Tuy nhiên, ở Việt Nam, Bệnh nhân UTPKTBN nói chung và UTBMT nói riêng phần lớn chỉ được thực hiện xét nghiệm phát hiện đột biến gen EGFR. Những nghiên cứu về thay đổi các gen ALK, ROS1, RET và MET đang rất hạn chế. Vì vậy trong nghiên cứu này chúng tôi thực hiện phân tích biến

đổi di truyền đồng thời các gen EGFR, ALK, ROS1, RET và MET với hai mục tiêu:

(1) *Xác định tỷ lệ đột biến các gen EGFR, ALK, ROS1, RET và MET trong bệnh nhân UTBMT của phổi.*

(2) *Phân tích sự liên quan giữa những đột biến gen phân tích và một số đặc điểm của bệnh nhân.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu:

Nghiên cứu được tiến hành trên 101 bệnh nhân được chẩn đoán UTBMT của phổi tại bệnh viện K trong giai đoạn từ năm 2020 đến năm 2022.

Tiêu chuẩn chọn mẫu:

Bệnh nhân UTBMT của phổi có tiến hành phẫu thuật hoặc sinh thiết để thu được bệnh phẩm đủ lớn cho các xét nghiệm sinh học phân tử. Loại trừ những bệnh nhân không thu được đủ bệnh phẩm hoặc đã trải qua các điều trị trước đó.

Phương pháp nghiên cứu:

Nghiên cứu cắt ngang mô tả sự dụng một số kỹ thuật sinh học phân tử và giải phẫu bệnh như:

Tách chiết DNA và RNA: DNA và RNA tổng số được tách chiết từ mẫu đút FFPE sử dụng bộ kit QIAamp DNA FFPE và QIAamp RNA FFPE (Qiagen, Valencia, CA, USA) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Nồng độ DNA và RNA được xác định bằng máy quang phổ Nanodrop 2000 9 Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA).

Xác định đột biến EGFR: Đột biến EGFR được phân tích sử dụng bộ kit theascreen

EGFR RGQ PCR (Qiagen, Valencia, CA, USA) xác định 29 đột biến trên 4 exon 18-21.

Xác định biến đổi di truyền ở các gen ALK, ROS1, RET, và MET: Bộ kit EasyPGX® ready ALK, ROS1, RET, MET được sử dụng để phát hiện đồng thời các biến đổi trên 4 gen ALK, ROS1, RET và MET bằng kỹ thuật Revered Transcription Realtime PCR với khuôn là các phân tử RNA thu từ các mẫu FFPE.

Vấn đề y đức: Nghiên cứu tuân theo và được thông qua Hội đồng Y đức Bệnh viện K.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Đặc điểm bệnh nhân trong nghiên cứu

Bệnh nhân UTBMT của phổi được thu thập cho nghiên cứu được chia làm các nhóm đặc điểm dựa trên độ tuổi, giới tính và vị trí u. Trong đó 43.6% bệnh nhân thấp hơn 60 tuổi (tuổi trung bình là 60), 59.6% là nam giới và 76.2% mẫu bệnh phẩm được thu từ khối u nguyên phát ở phổi và phế quản, 23.8% mẫu được thu từ những vị trí di căn như: hạch thượng đòn, hạch cổ, não... (Bảng 1).

Bảng 1: Đặc điểm bệnh nhân nghiên cứu

Đặc điểm			
N		101	%
Tuổi			
	≤ 60	44	43.6
	> 60	57	56.4
Giới tính			
	Nam	60	59.4

	Nữ	41	40.6
Vị trí u			
	Phổi nguyên phát	77	76.2
	Di căn	24	23.8

Đặc điểm đột biến gen EGFR, ALK, ROS1, RET và MET

Kết quả phân tích 29 đột biến trên 4 exon từ 18-21 gen EGFR sử dụng bộ kit theascreen EGFR RGQ PCR cho thấy có 44.6% bệnh nhân mang đột biến. Tỷ lệ biến đổi các gen liên quan đến chuyển đoạn ở vị trí 3P gen ALK, chuyển đoạn ở các vị trí exon 32, 34, 35-36 gen ROS1, trao đổi đoạn tại các vị trí exon 8-11, exon 12 gen RET và đột biến xóa đoạn exon 14 (exon 14 kipping) tại gen MET lần lượt là: 7.9%; 3%; 3% và 2% (Bảng 2). Các đột biến có xu hướng loại trừ nhau, không có trường hợp bệnh nhân nào mang đồng thời đột biến ở trên hai hoặc nhiều gen.

Bảng 2: Tỷ lệ đột biến các gen EGFR, ALK, ROS1, RET và MET

Gen		Đột biến	
		Có	Không
EGFR	N	45	56
	%	44.6	55.4
AKL	N	8	93
	%	7.9	92.1
ROS1	N	3	98
	%	3.0	97.0
RET	N	3	98

	%	3.0	97.0
MET	N	2	99
	%	2.0	98.0

Sự liên quan giữa biến đổi EGFR, ALK, ROS1, RET và MET với đặc điểm bệnh nhân

Sự liên quan giữa những biến đổi di truyền liên quan đến các gen EGFR, ALK, ROS1, RET và MET và một số đặc điểm của bệnh nhân trong nghiên cứu bao gồm: độ tuổi, giới tính và vị trí khối u được trình bày trong Bảng 3. Kết quả cho thấy, những bệnh nhân dưới 60 tuổi có tỷ lệ mang chuyển đoạn gen ALK cao hơn nhóm bệnh nhân trên 60 tuổi ($p < 0.05$). Kết quả tương tự cũng được phát hiện ở những bệnh nhân mang đột biến gen ROS1 và RET (4.5% so với 1.8%). Ngoài ra, những bệnh nhân là nữ giới có tỷ lệ đột biến gen EGFR cao hơn bệnh nhân nam giới ($p < 0.01$). Trong khi đó, đột biến xóa đoạn exon 14 gen MET lại có xu hướng xảy ra phổ biến hơn ở những bệnh nhân nam giới, lớn tuổi (3.5% và 3.3% so với 0%). Không có sự khác biệt về những biến đổi di truyền của 5 gen giữa nhóm bệnh phẩm nguyên phát từ phổi và nhóm bệnh phẩm thu thập từ các vị trí di căn như: não, hạch cổ, hạch thượng đòn (Bảng 3). Tuy nhiên, số lượng bệnh nhân trong nghiên cứu còn khá ít, cần thu thập thêm bệnh nhân để có những đánh giá chính xác hơn.

Bảng 3: Liên quan giữa đột biến EGFR, ALK, ROS1, RET và MET với đặc điểm bệnh nhân

man

		EGFR		p	ALK		p	ROS1		p	RET		p	MET		p
		Đột biến			Đột biến			Đột biến			Đột biến			Đột biến		
		Có	%		Có	%		Có	%		Có	%		Có	%	
N	101	45	44.6		8	7.9		3	3.0		3	3.0		2	2.0	
Tuổi				0.146						0.579			0.579			0.503
≤ 60		16	36.4		7	15.9	0.020	2	4.5		2	4.5		0	0.0	
> 60		29	50.9		1	1.8		1	1.8		1	1.8		2	3.5	
Giới tính				0.001			0.853			0.064			0.796			0.240
Nam		16	26.7		5	8.3		0	0.0		2	3.3		2	3.3	
Nữ		29	70.7		3	7.3		3	7.3		1	2.4		0	0	
Vị trí u				0.082			0.071			0.694			0.329			0.427
Phổi		38	49.4		4	5.2		2	2.6		3	3.9		2	2.6	
Di căn		7	29.2		4	16.7		1	4.3		0	0.0		0	0	

IV. BÀN LUẬN**Tỷ lệ đột biến EGFR, ALK, ROS1, RET và MET**

Đột biến EGFR có vai trò quan trọng trong điều trị UTPKTBN nói chung và UTBMT của phổi nói riêng. Đã có nhiều nghiên cứu phân tích những biến đổi di truyền và vai trò của đột biến EGFR trong điều trị đích cho bệnh nhân UTPKTBN được thực hiện cả trong nước và thế giới. Tỷ lệ đột biến EGFR có sự khác nhau giữa các chủng người trên thế giới, ở người Châu Á khoảng 30-50% bệnh nhân UTPKTBN mang đột biến gen EGFR và có xu hướng cao hơn ở những bệnh nhân UTBMT [14-15]. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ đột biến EGFR ở 101 bệnh nhân UTBMT trong nghiên cứu là 44.6%.

Bên cạnh điều trị đích liên quan đến đột biến EGFR, điều trị đích dựa trên những biến đổi của ALK, ROS1, RET và MET đang đem lại những lợi ích tích cực cho bệnh nhân UTPKTBN. Tuy nhiên, những công bố về biến đổi di truyền liên quan đến những biến đổi các gen này ở Việt Nam hiện đang rất hạn chế. Các công bố trước đây trên thế giới tỷ lệ đột biến các gen ALK, ROS1, RET và MET lần lượt là: 2 - 8%; 0.7 - 1.7%; 1 -2% và 2 - 4% [6, 7, 9, 12]. Tỷ lệ đột biến ALK, ROS1, RET và MET trong nghiên cứu là 7.9%; 3%; 3% và 2%. Kết quả cho thấy tỷ lệ đột biến ROS1 và RET trong nghiên cứu cao hơn một chút (3% so với 0.7 - 1.7% và 3% so với 1 - 2%) tuy nhiên cỡ mẫu trong nghiên

cứ khá nhỏ cần phải có những đánh giá tiếp theo.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, những biến đổi gen trong nghiên cứu có xu hướng loại trừ lẫn nhau, trong 61 bệnh nhân mang đột biến, không có bệnh nhân nào mang đồng thời hai đột biến. Hầu hết các báo cáo trước đây cũng cho kết quả tương tự, tuy nhiên trong một số trường hợp, bệnh nhân có thể mang đồng thời hai hoặc nhiều hơn những biến đổi gen này như trong nghiên cứu trên 15 bệnh nhân UTPKTBN mang đồng thời 2 trong số 4 đột biến ALK, ROS1, RET và MET của Zhenya Tang [13].

Liên quan giữa đột biến EGFR, ALK, ROS1, RET và MET với đặc điểm bệnh nhân

Tương tự như các nghiên cứu trước đây, đột biến EGFR xảy ra với tỷ lệ cao ở những bệnh nhân nữ giới nhưng không có sự khác biệt giữa các nhóm bệnh nhân khác nhau về giới tính và vị trí u [14-15]. Kết quả thu được trong nghiên cứu cho kết quả tương tự với 70.7% bệnh nhân nữ giới mang đột biến so với 26.7% ở nam giới và không có sự khác biệt ở các đặc điểm khác của bệnh nhân (Bảng 3).

Những biến đổi gen liên quan đến ALK, ROS1 và RET có xu hướng xảy ra ở những bệnh nhân ung UTBMT của phổi trẻ tuổi và không hút thuốc lá [6, 8, 10]. Ngược lại, đột biến dẫn đến xóa đoạn exon 14 của gen MET phổ biến hơn ở những bệnh nhân lớn tuổi và có tiền sử hút thuốc lá [1, 12]. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ đột biến ALK, ROS1 và RET ở nhóm bệnh nhân nhỏ hơn 60 tuổi lần lượt

là 15.9%; 4.5% và 4.5% cao hơn so với 1.8% ở những bệnh nhân trên 60 tuổi ở cả 3 gen. Trong khi đó, biến đổi gen MET chỉ xảy ra ở những bệnh nhân trên 60 tuổi (3.3% so với 0%). Ngoài ra, nghiên cứu cũng cho thấy, chuyển đoạn gen ROS1 có xu hướng phổ biến hơn ở bệnh nhân nữ giới (7.3% so với 0%), đột biến MET lại chỉ xảy ra ở bệnh nhân nam giới (3.3% so với 0%) (Bảng 3).

Tuy nhiên trong nghiên cứu này, các phân tích biến đổi di truyền trong bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến của phổi chỉ được thực hiện trên 101 bệnh nhân. Vì vậy, để có những đánh giá chính xác hơn về tỷ lệ đột biến cũng như sự liên quan giữa đột biến với các đặc điểm bệnh nhân trong nghiên cứu chúng tôi cần mở rộng phạm vi tăng số lượng bệnh nhân tham gia nghiên cứu.

V. KẾT LUẬN

(1) Tỷ lệ đột biến các gen EGFR, ALK, ROS1, RET và MET trong bệnh nhân UTBMT của phổi lần lượt là 44.6%, 7.9%; 3%; 3% và 2%.

(2) Có sự khác biệt giữa tỷ lệ đột biến các gen EGFR, ALK, ROS1, RET và MET ở các nhóm bệnh nhân khác nhau về giới tính và độ tuổi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. David K, Spasenija S, and Sacha I 2021. Targeted Therapy in Advanced and Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer. An Update on Treatment of the Most Important Actionable Oncogenic Driver Alterations. Cancers; 13, 804.

2. **Hyuna S, Jacques F, Rebecca S, et al. 2021.** Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*; 71(3):209-249.
3. **Freddie Bray, Andrew G, Ming S, Mary B, et al. 2021** WHO Classification of Lung Tumors. *Journal of Thoracic Oncology* Vol. 17 No. 3: 362–387.
4. **Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. 2007.** Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature*; 448: 561–566.
5. **Solomon BJ, Kim DW, Wu YL, et al. 2018.** Final overall survival analysis from a study comparing first-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-mutation-positive non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*; 36: 2251–2258.
6. **Shaw AT, Kim TM, Crinò L, et al. 2017.** Ceritinib versus chemotherapy in patients with ALK-rearranged non-small-cell lung cancer previously given chemotherapy and crizotinib (ASCEND-5): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*; 18: 874–886.
7. **Stumpfova M and Jänne PA 2012.** Zeroing in on ROS1 rearrangements in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*; 18: 4222–4224.
8. **Zhang S, Yan B, Zheng J, et al. 2016.** Gene status and clinicopathologic characteristics of lung adenocarcinomas with mediastinal lymph node metastasis. *Oncotarget*; 7: 63758–63766.
9. **Gainor JF and Shaw AT 2013.** The new kid on the block: RET in lung cancer. *Cancer Discov*; 3: 604–606.
10. **Wang R, Hu H, Pan Y, et al. 2012.** RET fusions define a unique molecular and clinicopathologic subtype of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*; 30: 4352–4359.
11. **Subbiah V, Gainor JF, Rahal R, et al. 2018.** Precision targeted therapy with BLU-667 for RET-driven cancers. *Cancer Discov*; 8: 836–849.
12. **Lee GD, Lee SE, Oh DY, et al. 2017.** MET exon 14 skipping mutations in lung adenocarcinoma: clinicopathologic implications and prognostic values. *J Thorac Oncol*; 12: 1233–1246.
13. **Zhenya T, Jianjun Z, Xinyan L, et al. 2018.** Coexistent genetic alterations involving ALK, RET, ROS1 or MET in 15 cases of lung adenocarcinoma. *Modern Pathology*; 31: 307–312.
14. **Quang N, Linh V, Van-Long T 2019.** Genetic and epigenetic alterations of the EGFR and mutually independent association with BRCA1, MGMT, and RASSF1A methylations in Vietnamese lung adenocarcinomas. *Pathology - Research and Practice*; 215: 885–892.
15. **Shi Y, Li J, Zhang S, et al. 2015.** Molecular Epidemiology of EGFR Mutations in Asian Patients with Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer of Adenocarcinoma Histology – Mainland China Subset Analysis of the PIONEER study. *PLoS One*; 10: e0143515.