

NGHIÊN CỨU TỶ LỆ ĐỘT BIẾN GEN EGFR Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ PHỔI KHÔNG TẾ BÀO NHỎ BẰNG KỸ THUẬT SINH THIẾT LỎNG TẠI BỆNH VIỆN ĐẠI HỌC Y DƯỢC TP HCM

Đỗ Khánh Vy¹, Lâm Quốc Trung^{1,2}, Nguyễn Hữu Huy¹,
Mai Thị Bích Chi¹, Dương Hoài Nam¹, Dương Thị Thanh Hương¹,
Hoàng Ngọc Bảo Mi¹, Nguyễn Thị Băng Sương^{1,2}, Nguyễn Hoàng Bắc^{1,2}

TÓM TẮT

Bệnh ung thư phổi không tế bào nhỏ (UTPKTBN) là loại bệnh ung thư có tỷ lệ mắc và tử vong ngày càng cao tại Việt Nam. Xét nghiệm đột biến thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì (epidermal growth factor receptor - EGFR) huyết tương trong ung thư phổi không tế bào nhỏ gần đây được sử dụng rộng rãi nhằm đánh giá khả năng thích hợp sử dụng thuốc ức chế EGFR tyrosine kinase (TKIs) và theo dõi đáp ứng điều trị. Mục tiêu: Mô tả tỷ lệ đột biến gen EGFR ở mẫu sinh thiết lỏng và đánh giá khả năng phát hiện đột biến EGFR trong mẫu huyết tương so với phương pháp sử dụng mẫu mô. Đối tượng và phương pháp: DNA được tách chiết từ 96 mẫu huyết tương bằng kit Cobas® cfDNA Sample Preparation Kit và 20 mẫu mô bằng kit Cobas® DNA Sample Preparation Kit. Xác định đột biến gen EGFR trên mẫu mô và mẫu huyết tương bằng phương pháp realtime PCR với kit Cobas® EGFR Mutation Test v2 (Roche). Kết quả: Độ tuổi trung bình của bệnh nhân trong nghiên cứu là $65,4 \pm 9,8$ tuổi (33 – 87), với tỉ lệ nữ giới

nhiều hơn nam giới. Đa số các trường hợp được chẩn đoán carcinôm tuyến. 42/96 mẫu (43,8%) có đột biến EGFR; đột biến T790M chiếm 10,3%. Về mức độ tương đồng của xét nghiệm EGFR trên mẫu mô và huyết tương thì kết quả hệ số Cohen's Kappa bằng 0,9 và hệ số tương đồng cao (95%). Kết luận: Tỷ lệ đột biến EGFR trong mẫu huyết tương là 43,8% và xét nghiệm EGFR trên mẫu mô và huyết tương có mức độ tương đồng kết quả cao.

Từ khóa: ctDNA, đột biến gen EGFR, ung thư phổi không tế bào nhỏ.

SUMMARY

ANALYSIS OF EGFR MUTATION PREVALENCE IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER PATIENTS USING LIQUID BIOPSY TECHNIQUE AT UNIVERSITY MEDICAL CENTER HCMC

Non-small cell lung cancer (NSCLC) is a cancer with increasing morbidity and mortality in Vietnam. EGFR mutation plasma analysis on NSCLC has recently been widely used to assess the suitability of targeted therapy by TKIs and follow treatment responses. Objective: To describe the prevalence of EGFR gene mutations in liquid biopsy specimens and evaluate the detection rate of EGFR mutations in plasma samples compared to tissue samples. Subjects and methods: Genomic DNA was isolated from 96 plasma samples using the Cobas® cfDNA Sample Preparation Kit and from 20 tissue

¹Bệnh viện Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

²Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Băng Sương
SĐT: 0913281386

Email: suong.ntb@umc.edu.vn

Ngày nhận bài: 29.7.2024

Ngày phản biện khoa học: 9.8.2024

Ngày duyệt bài: 23.8.2024

Người phản biện: PGS.TS Phạm Thiện Ngọc

samples using the Cobas® DNA Sample Preparation Kit. EGFR gene mutations were identified in both tissue and plasma specimens via real-time PCR using the Cobas® EGFR Mutation Test v2 (Roche) assay. Results: The mean age of patients in the study was $65,4 \pm 9,8$ years (33 – 87), with a higher proportion of females than males. The majority of cases were diagnosed with adenocarcinoma. EGFR mutations were detected in 42/96 samples (43,8%); the T790M mutation accounted for 10.3%. The concordance between EGFR testing results on tissue and plasma samples was high, with a Cohen's Kappa of 0.9 indicating substantial agreement (95%). Conclusions: The prevalence of EGFR mutations in plasma samples was 43.8%, and the detection of EGFR mutations in both plasma and tissue samples showed a high degree of concordance.

Keywords: ctDNA, EGFR mutations, non-small cell lung cancer.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo số liệu từ Tổ chức Ung thư toàn cầu (GLOBOCAN), ung thư phổi là bệnh ung thư phổ biến đứng thứ 2 trên thế giới (chiếm 11,4%) với khoảng 2,2 triệu ca mắc mới năm 2020. Cũng theo GLOBOCAN, Việt Nam ghi nhận hơn 26.000 ca mắc ung thư phổi, gần 24.000 ca tử vong vào năm 2020. Ung thư phổi không tế bào nhỏ (non-small-cell carcinoma: NSCLC-UTPKTBN) chiếm khoảng 80-85% các trường hợp ung thư phổi. Nhờ sự phát triển của khoa học kỹ thuật, chúng ta có thể xác định các đột biến gen nhất định để sử dụng thuốc điều trị trúng đích đặc hiệu. Gen EGFR, nằm trên cánh ngắn nhiễm sắc thể số 7, tại locus 7p12, được xếp vào nhóm gen tiền sinh khối u (proto-oncogen), dài 110 kb và được chia thành 28 exon. Đột biến gen EGFR xảy ra ở giai đoạn

rất sớm và có tỷ lệ cao trong UTPKTBN. Tất cả các đột biến gây hoạt hóa EGFR đều thuộc vùng bám adenosine triphosphate (ATP) của thụ thể tyrosine kinase, cũng đồng thời là vị trí tương tác của các loại thuốc ức chế tyrosine kinase của EGFR (EGFR TKIs) 2. Hiện nay, kỹ thuật giải trình tự chuỗi DNA dựa trên mẫu mô ung thư được xem là tiêu chuẩn vàng trong phát hiện đột biến gen EGFR. Tuy nhiên, phương pháp này không khả thi trong một số trường hợp không đủ điều kiện cho phép sinh thiết, hoặc mẫu sinh thiết quá nhỏ, không đủ để giải trình tự gen, hoặc cần kiểm tra lại bằng mẫu huyết tương khi tín hiệu đột biến thấp. Phương pháp phát hiện đột biến gen EGFR bằng cách sử dụng cfDNA (circulating free DNA) có trong huyết tương BN NSCLC (mẫu “sinh thiết lỏng” - Liquid Biopsy) có nhiều ưu điểm vượt trội. Điều này cho phép BN có thêm cơ hội để làm xét nghiệm chẩn đoán, đồng thời có thể làm xét nghiệm lặp lại nhiều lần để theo dõi điều trị mà không cần can thiệp sâu như sinh thiết. Bên cạnh đó, phương pháp này khá đơn giản, dễ thực hiện, giảm được chi phí và thời gian cho BN, và không gây ra biến chứng 3. Xuất phát từ thực tế đó chúng tôi tiến hành nghiên cứu “Nghiên cứu tỷ lệ đột biến gen EGFR ở bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ bằng kỹ thuật sinh thiết lỏng tại bệnh viện Đại học Y Dược TPHCM” nhằm mục tiêu :1) mô tả tỷ lệ đột biến gen EGFR ở mẫu sinh thiết lỏng; 2) đánh giá khả năng phát hiện đột biến EGFR trong mẫu huyết tương so với phương pháp sử dụng mẫu mô.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu hồi cứu cắt ngang mô tả

Ước tính cỡ mẫu

Cỡ mẫu cho mục tiêu 1:

Áp dụng công thức ước tính cỡ mẫu cho 1 tỷ lệ $n =$

Theo nghiên cứu của Phan Thanh Thăng và cs (2017) ghi nhận tỉ lệ đột biến EGFR trong mẫu huyết tương là 40,5%7. Cỡ mẫu ước tính là cần có ít nhất là 93 ca bệnh.

Cỡ mẫu cho mục tiêu 2:

Theo hướng dẫn Quyết định 2429 được Bộ Y tế ban hành năm 2017: Thực hiện xét nghiệm EGFR mẫu huyết tương cho 20 bệnh nhân EGFR có kết quả trên mẫu mô sinh thiết (10 mẫu dương tính và 10 mẫu âm tính) sau đó đánh giá sự tương đồng bằng tỷ lệ tương đồng và hệ số Cohen's Kappa

Đối tượng nghiên cứu

96 bệnh nhân được chẩn đoán mắc UTPKTBN tại Bệnh viện Đại học Y Dược TP.HCM từ tháng 01/2019 – 07/2024. Bệnh nhân được chẩn đoán xác định UTPKTBN bằng kết quả giải phẫu bệnh.

Tiêu chuẩn chọn vào

Bệnh nhân trên 18 tuổi.

Được chẩn đoán ung thư phổi không tế bào nhỏ dựa trên kết quả mô bệnh học từ Khoa Giải phẫu bệnh Bệnh viện Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh.

Theo dõi điều trị tại khoa Hóa trị ung thư hoặc Khoa hô hấp Bệnh viện Đại học Y

Dược TP. Hồ Chí Minh từ 1/2019-07/2024.

Hồ sơ bệnh án đầy đủ các thông tin thu thập.

Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân không đủ hồ sơ bệnh án (thiếu 1 trong các thông tin: tuổi, giới tính, thể trạng, tiền sử bệnh, thuốc điều trị, tình trạng đột biến EGFR, kết quả mô bệnh học)

- Bệnh nhân có chất lượng mẫu không đạt làm xét nghiệm

Thiết kế và phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu hồi cứu cắt ngang mô tả.

Xác định đột biến gen EGFR mẫu huyết tương bằng phương pháp realtime PCR với kit Cobas® EGFR Mutation Test v2 (Roche).

Xử lý và phân tích số liệu

Dữ liệu từ nghiên cứu được xử lý bằng phần mềm thống kê SPSS 20.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trong khoảng thời gian tháng 01/2019 – 07/2024, chúng tôi thu thập số liệu của 96 bệnh nhân thỏa tiêu chuẩn chọn bệnh và không có tiêu chuẩn loại trừ điều trị tại Bệnh viện Đại học Y Dược TP.HCM

Đặc điểm chung của nhóm bệnh nhân UTPKTBN tham gia nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm chung bệnh nhân

Đặc điểm	N=96 (%)
Tuổi	
Trung bình	65,4 ± 9,8
Giới tính	
Nam	46 (48,0%)
Nữ	50 (52,0%)
Đặc điểm giải phẫu bệnh	
Carcinôm tế bào tuyến	94 (98,0%)
Carcinôm tế bào gai	2 (2,0%)

Giai đoạn bệnh	
IIIB	10 (10,4%)
IV	86 (89,6%)
Điều trị	
Erlotinib	4 (4,0%)
Gefitinib	10 (10,0%)
Afatinib	1 (1,0%)
Osimertinib	16 (17,0%)
Hóa trị	13 (14,0%)
Chăm sóc giảm nhẹ	52 (54,0%)

Nhận xét: Chúng tôi ghi nhận nhóm nghiên cứu có độ tuổi trung bình là $65,4 \pm 9,8$ tuổi; nữ giới chiếm tỷ lệ cao hơn. Đa số bệnh nhân trong nhóm nghiên cứu là ung thư biểu mô tuyến ở giai đoạn tiến xa.

Kết quả phân tích đột biến EGFR bằng sinh thiết lỏng

Bảng 2. Kết quả phân tích đột biến EGFR bằng sinh thiết lỏng (n=96)

Kết quả phân tích đột biến EGFR trên mẫu huyết tương		n	%
Âm tính		54	56,3
Đột biến nguyên phát	LREA (exon 19)	20	20,8
	LREA (exon 19), S768I	1	1,0
	L858R (exon 21)	9	9,4
	G719X (exon 18)	1	1,0
	Insertions (exon 20)	1	1,0
Đột biến thứ phát	T790M (exon 20)	1	1,0
	LREA (exon 19), T790M (exon 20)	8	8,3
	L858R (exon 21), T790M (exon 20)	1	1,0

Nhận xét: Trong 96 bệnh nhân nghiên cứu, 42/96 bệnh nhân mang đột biến gen EGFR mẫu huyết tương (43,8%). Đột biến LREA (exon 19) chiếm tỷ lệ cao nhất, sau đó là L858R (exon 21). Trong nhóm nghiên cứu ghi nhận 10 bệnh nhân mang đột biến thứ phát T790M (10,3%).

So sánh kết quả xét nghiệm EGFR trên mẫu mô và huyết tương

Bảng 3. So sánh kết quả xét nghiệm EGFR trên mẫu mô và huyết tương

Mẫu mô \ Huyết tương	Dương tính	Âm tính	Tổng số
Dương tính	9	0	9
Âm tính	1	10	11
Tổng cộng	10	10	20
Tỷ lệ tương đồng	95%		
Cohen's Kappa	0,9		

Hệ số Cohen's Kappa bằng 0,9 và hệ số tương đồng cao (95%) cho thấy mức độ đồng thuận của 2 phương pháp rất tốt.

IV. BÀN LUẬN

Đặc điểm chung của nhóm bệnh nhân UTPKTBN tham gia nghiên cứu

Nghiên cứu trên 92 bệnh nhân UTPKTBN, chúng tôi ghi nhận nhóm nghiên cứu có độ tuổi dao động từ 33 - 87 tuổi, trung bình là $65,4 \pm 9,8$ tuổi; nữ giới chiếm tỷ lệ cao hơn. Đa số bệnh nhân trong nhóm nghiên cứu là ung thư biểu mô tuyến. Kết quả này tương đương với nghiên cứu Lê Hoàn và cs (2023) ghi nhận độ tuổi dao động từ 32 - 81 tuổi, trung bình là $61,6 \pm 10,8$ tuổi; nữ giới chiếm tỷ lệ cao hơn, 100% bệnh nhân có kết quả giải phẫu bệnh ung thư biểu mô tuyến⁵. Nghiên cứu của Xu Q và cs (2019) tại Trung Quốc trên 206 bệnh nhân UTP không tế bào nhỏ kháng EGFR-TKIs ghi nhận tuổi trung bình mắc bệnh là 58 tuổi, dao động từ 28 đến 83 tuổi⁶.

Kết quả phân tích đột biến EGFR bằng sinh thiết lỏng

Tỉ lệ đột biến EGFR trong mẫu huyết tương trong nghiên cứu là 43,8%. Tỷ lệ này tương đương với nghiên cứu của Phan Thanh Thăng và cs (2017) ghi nhận tỉ lệ đột biến EGFR trong mẫu huyết tương là 40,5%⁷. Theo nghiên cứu của Phạm Cẩm Phương và cs (2019) phân tích đột biến gen EGFR huyết tương cho thấy 56/136 (41,2%) bệnh nhân có đột biến⁸. Tỷ lệ đột biến xóa đoạn trên exon 19 và đột biến L858R trên exon 21 chiếm đa số tương tự như các nghiên cứu khác. Tỷ lệ đột biến thứ phát T790M chúng tôi ghi nhận tương đối thấp (10,3%) so với nghiên cứu của nghiên cứu của Phạm Cẩm Phương và cs

(2019) ghi nhận tỷ lệ đột biến T790M chiếm 24,0%⁸. Sự xuất hiện tỷ lệ thấp của đột biến kháng thuốc T790M có thể được lý giải bằng việc trong đối tượng nghiên cứu của chúng tôi có ít bệnh nhân đã được điều trị bằng TKIs trước đó, dẫn đến tỷ lệ kháng thuốc thứ phát không cao.

So sánh kết quả xét nghiệm EGFR trên mẫu mô và huyết tương

Về kết quả đánh giá mức độ tương đồng của xét nghiệm EGFR trên mẫu mô và huyết tương thì trong nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận kết quả hệ số Cohen's Kappa bằng 0,9 và hệ số tương đồng cao (95%). Theo nghiên cứu của tác giả Adam Szpechcinski và cs (2021) đã ghi nhận kết quả mức độ tương đồng của xét nghiệm EGFR trên mẫu mô và huyết tương bằng kit cobas EGFR Mutation Test trên mẫu mô và huyết tương có kết quả hệ số Cohen's Kappa bằng 0,8 và hệ số tương đồng cao (90%)³. Nghiên cứu chúng tôi ghi nhận có sự khác biệt về mức độ tương đồng so với nghiên cứu trước đó do số lượng mẫu của chúng tôi nhỏ hơn (20 mẫu so với 30 mẫu). Tuy nhiên cả 2 nghiên cứu đều cho thấy xét nghiệm EGFR trên mẫu mô và huyết tương có mức độ tương đồng kết quả cao.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu trên 96 bệnh nhân được thực hiện xét nghiệm đột biến EGFR trên mẫu huyết tương, chúng tôi ghi nhận tỉ lệ đột biến EGFR trong mẫu huyết tương là 43,8% và xét nghiệm EGFR trên mẫu mô và huyết tương có mức độ tương đồng kết quả cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN

- estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2021;71(3):209-249.
2. **McIntire MG, Santagata S, Ligon K, Chirieac LR.** Epidermal growth factor receptor gene amplification in atypical adenomatous hyperplasia of the lung. *American Journal of Translational Research*. 2010;2(3):309.
 3. **Szpechcinski, Adam, Maciej Bryl, Piotr Wojcik, Grzegorz Czyzewicz, Emil Wojda, Piotr Rudzinski, Katarzyna Duk et al.** "Detection of EGFR mutations in liquid biopsy samples using allele-specific quantitative PCR: A comparative real-world evaluation of two popular diagnostic systems." *Advances in Medical Sciences* 66, no. 2 (2021): 336-342.
 4. **Hà HHK, Lê H, Trần KC.** Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và xác định tình trạng đột biến EGFR-T790M gây kháng EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất ở người bệnh ung thư phổi không tế bào nhỏ bằng kỹ thuật sinh thiết lỏng. 2023; *Tạp chí Y học Việt Nam*, tập 522 số 2, 108-111.
 5. **Lê H, Trần VK, Trần KC.** Vai trò của sinh thiết lỏng xác định đột biến EGFR-T790M thứ phát gây kháng thuốc ức chế tyrosine kinase ở bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ. 2023; *Tạp chí Y học Việt Nam*, tập 529 số chuyên đề, 12-16.
 6. **Xu Q, Liu H, Meng S, et al.** First-line continual EGFR-TKI plus local ablative therapy demonstrated survival benefit in EGFR-mutant NSCLC patients with oligoprogressive disease. *Journal of Cancer*. 2019;10(2):522.
 7. **Phan Thanh Thăng, Nguyễn Thị Lan Hương và cs** (2017). Phát hiện đột biến gen egfr trong mẫu huyết tương bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ tại bệnh viện Chợ Rẫy. *Thời sự Y học*, 82-88.
 8. **Phạm CP, Nguyễn TL, Nguyễn HT, Lê TL.** Đặc điểm đột biến EGFR phát hiện trong huyết tương ở bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ điều trị tại Bệnh viện Bạch Mai năm 2017-2018. *Bản B của Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*. 2019;61(7)