

Đặc điểm mô bệnh học và phân tích biểu hiện gene BCL11A trong các phân nhóm phân tử của ung thư biểu mô tuyến vú

Nguyễn Phan Quỳnh Anh, Đặng Công Thuận, Nguyễn Phương Thảo Tiên, Nguyễn Trần Bảo Song
Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Ung thư vú (UTV) là nguyên nhân gây tử vong thường gặp nhất gây liên quan đến ung thư ở phụ nữ trên toàn thế giới. Phân nhóm phân tử và phân tích biểu hiện gen trong UTV đóng vai trò quan trọng trong việc quyết định liệu pháp điều trị. **Mục tiêu của nghiên cứu:** là xác định các phân nhóm phân tử của ung thư vú bằng hóa mô miễn dịch và kỹ thuật lai tại chỗ, phân tích biểu hiện gene BCL11A trong các phân nhóm phân tử bằng RT-PCR và đánh giá mối liên quan giữa các phân nhóm phân tử với đặc điểm mô bệnh học. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang, khối nén của 138 bệnh nhân UTV được nhuộm Hematoxylin và Eosin để chẩn đoán, phân loại mô bệnh học, nhuộm với các thụ thể hóa mô miễn dịch ER, PR, HER2, Ki67 và kỹ thuật lai tại chỗ gắn bạc hai màu (DISH) để phân nhóm phân tử. Trong đó, RNA của 20 mẫu được chiết xuất và biểu hiện bằng kỹ thuật RT-PCR. **Kết quả:** Có mối liên quan đáng kể giữa các phân nhóm phân tử ung thư biểu mô tuyến vú với loại mô học ($p = 0,022$) và độ mô học ($p = 0,021$). Gene BCL11A có mức biểu hiện thấp đáng kể trong tất cả các phân nhóm phân tử, đặc biệt là trong phân nhóm ba âm tính. **Kết luận:** Nghiên cứu này có thể giúp hiểu thêm các đặc điểm bệnh học và sự biểu hiện gene của các phân nhóm ung thư vú khác nhau, góp phần xác định thành công trong điều trị ung thư vú, đặc biệt là trong nhóm bộ ba âm tính.

Từ khóa: Ung thư biểu mô tuyến vú xâm nhập, phân nhóm phân tử, độ mô học, lai tại chỗ gắn bạc hai màu (DISH), qRT-PCR.

Abstract

Pathological characteristics and BCL11A gene analysis in molecular subtypes of breast cancer

Nguyen Phan Quynh Anh, Dang Cong Thuan, Nguyen Phuong Thao Tien, Nguyen Tran Bao Song
Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Background: Breast cancer is the most frequent cause of cancer-related deaths among women worldwide. Molecular classification and the analysis of gene expression have been playing a pivotal role in deciding treatment therapy. The aim of study was to identify molecular surrogate subtypes of breast cancer by immunohistochemistry and Dual In Situ Hybridization, analysis of BCL11A gene expression was performed in molecular subtypes by RT-PCR and assessed the correlation between molecular subtypes and clinic-pathological characteristics. **Materials and methods:** Cross-sectional description study, tumor specimens from 138 patients were stained with Hematoxylin and Eosin to diagnosis, histopathological classification, stained with immunohistochemical markers ER, PR, HER2, Ki67 and Dual In Situ Hybridization (DISH) to classify molecular subtypes breast cancer. In which, RNA of 20 samples were extraction and performed by RT-PCR. **Results:** A significant association between breast carcinoma subtypes with histologic type ($p=0.022$) and grade ($p=0.021$). BCL11A was significantly down regulated in all molecular breast cancer subtypes especially in triple negative group. **Conclusion:** This study may help to understand pathological characteristics and the gene expression of difference breast cancer subtypes, contributing to the successful identification of therapeutic targets for breast cancer, especially triple negative group.

Key words: Invasive breast carcinoma, molecular subtypes, histologic grade, Dual In Situ Hybridization (DISH), qRT-PCR

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư vú (UTV) là loại ung thư thường gặp nhất và là một trong những nguyên nhân chính gây tử vong do ung thư ở phụ nữ trên toàn thế giới [1]. Tại Việt Nam, tỷ lệ mắc UTV đã tăng hơn gấp đôi trong hai thập kỷ qua, từ 13,8 trên 100.000 phụ nữ năm 2000 lên 29,9 trên 100.000 phụ nữ trong năm 2010. Xu hướng tăng theo từng năm lên tới 12,533 trường hợp ung thư vú mới (được báo cáo) trên cả nước [2]. Trong những năm trở lại đây, với sự phát triển của sinh học phân tử, các phương pháp phân tử khác nhau, đặc biệt là phương pháp mô tả biểu hiện gene (gene expression profiling), được sử dụng ngày càng nhiều nhằm phân loại bệnh và dự đoán đáp ứng với các liệu pháp chữa trị một cách chính xác hơn [3].

Năm 2011, tại hội nghị quốc tế St Gallen về Ung thư vú, Hội đồng chuyên gia đã đưa ra khuyến cáo phân loại ung thư vú thành bốn phân nhóm lòng ống A, lòng ống B (được gọi là “Luminal” vì có biểu hiện gen tương tự như các tế bào lòng ống (luminal cells)), HER2+ (có nhiều biểu hiện của gene HER2), Basal-like (có biểu hiện gen tương tự như các tế bào đáy (basal cells), trong đó có 70-80% là âm tính bộ ba ER, PR và HER-2) với các định nghĩa về mặt bệnh học lâm sàng của từng loại phân nhóm và liệu pháp điều trị khác nhau [4]. Do đó, phân nhóm phân tử UTV là việc quan trọng để tiên lượng và áp dụng các phác đồ điều trị thích hợp [5].

Tuy nhiên, bệnh nhân UTV thể bộ ba âm tính không được hưởng lợi từ liệu pháp dựa trên hormone hoặc trastuzumab vì âm tính với ER, PR và HER-2. Do đó, phẫu thuật và hóa trị, riêng lẻ hoặc kết hợp, gần như là phương pháp điều trị duy nhất có sẵn đối với UTV thể bộ ba âm tính [6, 7]. Trong một vài nghiên cứu gần đây, các tác giả đã chỉ ra rằng yếu tố phiên mã BCL11A được biểu hiện quá mức ở nhóm UTV thể bộ ba âm tính, họ cho rằng BCL11A có thể là gene UTV mới và là một yếu tố điều hòa quan trọng trong sự phát triển của biểu mô tuyến vú bình thường [8,9].

Vì vậy, gene BCL11A có lẽ là một ứng cử viên tiềm năng cho liệu pháp điều trị đích ở những bệnh nhân UTV thể bộ ba âm tính.

Chúng tôi tiến hành đề tài này nhằm mục đích:

1. *Xác định phân nhóm phân tử của ung thư vú bằng kỹ thuật hóa mô miễn dịch với các thụ thể ER, PR, HER2, Ki-67 và kỹ thuật DISH xác định khuếch đại gene HER2.*

2. *Khảo sát mối liên quan giữa phân nhóm phân tử và các đặc điểm giải phẫu bệnh.*

3. *Phân tích biểu hiện gene BCL11A ở các phân nhóm phân tử bằng kỹ thuật qRT-PCR*

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu:

- Cỡ mẫu: 138 bệnh nhân ung thư vú.
- Tiêu chuẩn chọn bệnh: Có chẩn đoán mô bệnh học sau phẫu thuật là UTM tuyến vú xâm nhập.
- Tiêu chuẩn loại trừ: UTM tuyến vú tái phát hoặc đã điều trị trước đó.

2.2. Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang

2.3. Phương pháp nghiên cứu:

- *Xét nghiệm mô bệnh học và hóa mô miễn dịch:* Được thực hiện tại khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế.

+ Nhuộm mảnh mô bằng phương pháp nhuộm Hematoxylin-Eosin (HE). Phân loại mô học, giai đoạn bệnh theo Tổ chức Y tế Thế giới 2003. Phân độ mô học theo Scaff-Bloom-Richarson (SBR) cải biên.

+ Nhuộm hóa mô miễn dịch: 4 dấu ấn sinh học ER, PR, Ki-67 và HER2 thực hiện trên máy Bench Mark, Ventana dùng bộ kit phát hiện màu Ultra ViewDAB của hãng Roche. Đánh giá sự biểu lộ thụ thể estrogen, progesteron: dựa theo tiêu chuẩn của Allred và nhà sản xuất dựa trên 2 tiêu chuẩn là cường độ và tỷ lệ % tế bào u bắt màu nhuộm. Đánh giá Ki-67 dương tính theo tiêu chuẩn của Saint Gallen: < 14%: thấp, ≥ 14%: cao. Đánh giá biểu lộ HER2 theo tiêu chuẩn đánh giá ASCO/CAP 2013 như sau: 0 (âm tính): Không có phản ứng; 1+ (âm tính): Nhuộm màng nhạt màu/một phần < 10% tế bào u; 2+ (không rõ ràng): Nhuộm màng hoàn toàn từ yếu đến vừa > 10% tế bào u; 3+ (dương tính): Bắt màu đậm hoàn toàn màng tế bào >10% tế bào u. HER2 được xác định là dương tính khi IHC 3+. Trường hợp IHC (2+) thì cần phải xác định tình trạng khuếch đại gen HER2 bằng kỹ thuật lai tại chỗ.

+ Phân nhóm phân tử: Dựa vào kết quả HMMD 3 dấu ấn ER, PR, Ki67 và khuếch đại gen HER2 bằng DISH theo phân loại của Saint Gallen 2011 [10].

- *Xét nghiệm lai tại chỗ gắn hai màu DISH:* Được thực hiện tại khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế dùng bộ kit INFORM HER2 Dual ISH của hãng Roche, đánh giá HER2 bằng DISH theo hướng dẫn của ASCO/CAP 2013: Tiêu bản được khảo sát trên kính hiển vi quang học, ở các vật kính 20, 40, 60. Các tiêu chuẩn bắt buộc khi khảo sát một tiêu bản DISH. 1. Các tín hiệu của gene HER2, CEN17 (trung thể của nhiễm sắc thể 17) phải hiện diện trên tế bào nội chứng (tế bào sợi, tế bào nội mô, lymphô bào). 2. Chỉ khảo sát tín hiệu bản sao gene HER2 và tín hiệu CEN17 trên vùng tế bào ung thư xâm lấn. 3. Nhuộm nền phải được phân biệt rõ với các tín hiệu. Xác định vùng tế bào ung thư xâm lấn và đếm số tín hiệu HER2, CEN17 của 20 tế bào u. Tín hiệu

HER2 có màu đen nằm trong nhân, có thể là từng tín hiệu riêng lẻ hoặc từng cụm. Để xác định mỗi cụm là bao nhiêu tín hiệu thường là do người khảo sát ước lượng khi so sánh kích thước các cụm với các tín hiệu riêng lẻ. Tín hiệu CEN17 có màu đỏ nằm trong nhân. Xác định tỉ lệ trung bình cộng của các tín hiệu HER2/CEN17 của mỗi trường hợp: Nếu tỉ lệ HER2/CEN17 < 1,8: Không khuếch đại gene HER2; Tỉ lệ HER2/CEN17 $\geq 2,2$: có khuếch đại gene HER2. Nếu $1,8 \leq \text{Tỉ lệ} \leq 2,2$: đếm thêm 20 tế bào và đánh giá tỷ lệ HER2/CEP17 của 20 tế bào này, nếu vẫn không thay đổi kết quả thì xem xét lặp lại kỹ thuật lai tại chỗ.

- Tách chiết RNA từ mẫu mô: 5 lát cắt dày 10 μ m được cắt từ khối u UTV (vùng tương ứng vùng được chẩn đoán ung thư trên tiêu bản HE) để có được tổng số ARN. Axit nucleic được chiết xuất với bộ chiết xuất thương mại (Rneasy FFPE Kit Tissue Kit, Qiagen, Hilden, Đức) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Chúng tôi đã đánh giá số lượng và chất lượng

axit nucleic bằng máy đo quang phổ (tỉ lệ 260nm, 260/280 và 260/230, phổ 220-320nm) bằng cách sử dụng Nano drop ND1000 (Euro Clone, Milan, Italy).

- Tổng hợp cDNA: 1,5 μ g tổng số RNA được sao chép ngược thành cDNA bằng cách sử dụng bộ kit High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystem, Foster City, CA, USA) tuân thủ theo các hướng dẫn của nhà sản xuất.

- Định lượng RT-PCR: Phát hiện cDNA được thực hiện bằng cách sử dụng SYBR Green Master Mix (Sigma, ABI) theo hướng dẫn của nhà cung cấp. Mỗi mẫu phản ứng PCR đã được thực hiện ba lần trong ABI Prism Sequence Detection System 7000 (Applied Biosystems) cùng với probe. Tất cả mỗi được mua từ Sigma-Aldrich.

- Phân tích số liệu: Phân tích thống kê được thực hiện bằng phần mềm thống kê SPSS, phiên bản 18.0. Giá trị p < 0,05 được coi là có ý nghĩa thống kê.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Các đặc điểm chung và đặc điểm giải phẫu bệnh trong UTBM tuyến vú

Bảng 1. Các đặc điểm chung và đặc điểm giải phẫu bệnh

Đặc điểm	n	%
Nhóm tuổi (n = 138)		
< 35	3	2,2
35 - 49	46	33,3
50 - 69	68	49,3
70+	21	15,2
Tình trạng kinh nguyệt (n = 138)		
Còn kinh	58	42,0
Mãn kinh	80	58,0
Vị trí u (n = 135)		
Trái	64	47,4
Phải	71	52,6
Kích thước u (n = 138)		
< 2 cm	20	14,5
≥ 2 cm	118	85,5
Loại mô học (n = 138)		
UTBM tiết rụng đầu	2	1,4
UTBM thể tủy	1	0,7
UTBM nhầy	12	8,8
UTBM tiểu thùy xâm nhập	15	10,9
UTBM dị sản	10	7,2
UTBM ống xâm nhập không có ghi chú đặc biệt	98	71,0

Độ mô học (n = 98)		
Độ 1	16	16,3
Độ 2	60	61,2
Độ 3	22	22,5
Di căn hạch nách (n = 138)		
Chưa di căn	59	42,8
Di căn 1-3 hạch	49	35,5
Di căn 4-9 hạch	22	15,9
Di căn > 9 hạch	8	5,8
Giai đoạn bệnh (n = 138)		
I	14	10,1
II	85	61,6
III	39	28,3

Độ tuổi mắc bệnh từ 25 đến 91 (trung bình $55 \pm 12,63$), cao nhất là 50 – 69 tuổi (49,3%). Đã mãn kinh chiếm tỷ lệ cao (58%). Vị trí tổn thương thường ở vú phải (52,6%). Kích thước u trung bình là $3,1 \pm 1,01$ cm. Ung thư biểu mô loại không có ghi chú đặc biệt chiếm đa số với 71,0% cùng với độ mô học II chiếm tỷ lệ cao nhất (61,2%). Chưa di căn hạch nách khá cao (42,8%) và giai đoạn II chiếm tỷ lệ cao nhất 61,6%.

3.2. Sự bộc lộ của các thụ thể ER, PR, HER2, Ki-67

Bảng 2. Sự bộc lộ của các thụ thể

Các thụ thể	n = 138	%
ER		
Âm tính	71	51,4
Dương tính	67	48,6
PR		
Âm tính	74	53,6
Dương tính	64	46,4
HER2		
0, 1+	95	68,8
2+	20	14,5
3+	23	16,7
Ki-67		
< 14%	49	35,5
≥ 14%	89	64,5

Tỷ lệ ER, PR dương tính chiếm lần lượt 48,6% (67/138) và 46,4% (64/138).

Tỷ lệ HER2 (-), HER2 (2+), HER2 (3+) lần lượt là 68,8% (95/138), 14,5% (20/138) và 16,7% (23/138).

Ki-67 dương tính mức độ cao chiếm 64,5% (89/138)

Bảng 3. Kết quả khảo sát sự khuếch đại gene HER2 bằng kỹ thuật DISH

DISH	n = 100	%
Không khuếch đại	69	69,0%
Khuếch đại	31	31,0%

Tỷ lệ khối u có khuếch đại gene HER2 bằng kỹ thuật DISH là 31,0% trong khi không khuếch đại là 69,0%. Trong đó 8/20 trường hợp IHC 2+ và tất cả các trường hợp IHC 3+ được phát hiện có khuếch đại gene HER2 bằng kỹ thuật DISH.

Bảng 4. Phân nhóm phân tử

Phân nhóm phân tử		n = 138	%
Lòng ống A		40	29,0
Lòng ống B	HER2 âm tính	34	24,6
	HER2 dương tính	4	2,9
HER2		27	19,6
Bộ ba âm tính		33	23,9

Phân nhóm lòng ống A chiếm tỷ lệ cao nhất 29,0%.

3.3. Mối liên quan giữa phân nhóm phân tử và các đặc điểm giải phẫu bệnh

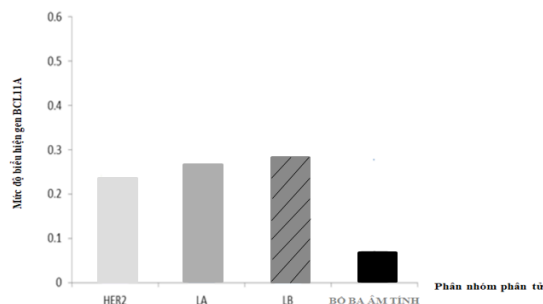
Bảng 5. Mối liên quan giữa phân nhóm phân tử và các đặc điểm giải phẫu bệnh

Các đặc điểm giải phẫu bệnh	Lòng ống A n = 40 n (%)	Lòng ống B n = 38 n (%)	HER2 n = 27 n (%)	Bộ ba âm tính n = 33 n (%)	P
Tuổi					
< 50	15 (37,5)	14 (37,8)	10 (37,0)	10 (29,4)	0,832
> 50	25 (62,5)	23 (62,2)	17 (63,0)	24 (70,6)	
Loại mô học					
UTBM ống xâm nhập	20 (57,5)	33 (89,2)	23 (71,5)	22 (68,8)	0,022
UTBM tiểu thùy xâm nhập	4 (10,0)	3 (8,1)	1 (3,7)	7 (20,6)	
Kích thước u					
< 2 cm	8 (20,5)	5 (13,5)	3 (11,1)	3 (8,8)	0,546
≥ 2 cm	31 (79,5)	32 (86,5)	24 (88,9)	31 (91,2)	
Độ mô học					
G1	3 (16,1)	7 (21,2)	5 (17,4)	1 (3,8)	0,021
G2	21 (74,2)	20 (66,7)	7 (43,5)	12 (57,7)	
G3	2 (9,7)	3 (12,1)	9 (39,1)	8 (38,5)	
Di căn hạch					
pN0	17 (42,5)	14 (37,8)	10 (37,0)	18 (52,9)	0,561
pN+	23 (57,5)	23 (62,2)	17 (63,0)	16 (47,1)	
Giai đoạn bệnh					
I	6 (15,0)	3 (8,1)	3 (11,1)	2 (5,9)	0,295
II	28 (70,0)	23 (62,2)	13 (48,1)	21 (61,8)	
III	6 (15,0)	11 (29,7)	11 (40,7)	11 (32,4)	

Trong nghiên cứu của chúng tôi, phân tích thống kê cho thấy có mối tương quan đáng kể giữa phân nhóm phân tử với loại mô học ($p = 0,022$) và độ mô học ($p = 0,021$).

3.4. Mức độ biểu hiện gene BCL11A

Mức độ biểu hiện gene BCL11A được đánh giá trong 20 mẫu (5 Lumina A, 5 Luminal B, 5 HER2 và 5 bộ ba âm tính). Kết quả RT-PCR cho thấy mức độ biểu hiện đều thấp trong tất cả các phân nhóm, đặc biệt là trong phân nhóm bộ ba âm tính.



Hình 1. Mức độ biểu hiện gene BCL11A trong các phân nhóm phân tử của UTBM tuyến vú

4. BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm giải phẫu bệnh

Tuổi phát hiện

Kết quả nghiên cứu cho thấy bệnh nhân trẻ nhất 25 tuổi. bệnh nhân lớn tuổi nhất là 91 tuổi. Độ tuổi trung bình trong chẩn đoán UTV là 55. So với các nghiên cứu khác, chúng tôi thấy tuổi phát hiện trung bình cao hơn so với nghiên cứu của Hage (36,8), Vũ Hồng Thắng (47,5), Nguyễn Hoàng Lan (50,0) [11, 12]. Sự khác biệt có thể là do một số yếu tố như lối sống, điều kiện kinh tế, môi trường sống, số lượng mẫu nghiên cứu, thời gian và nơi nghiên cứu cũng như các đặc điểm sinh học hoặc một số cơ chế chưa được giải thích rõ ràng. Tuy nhiên, UTV ở phụ nữ dưới 35 đến 40 tuổi có nhiều đặc điểm ác tính hơn, có xu hướng được chẩn đoán ở giai đoạn muộn hơn và tiên lượng xấu hơn [13].

Kích thước u

Kích thước khối u trung bình $3,1 \pm 1,01$ cm. Kết quả này tương tự như kết quả của Engstrom, Vũ Hồng Thắng và nhỏ hơn kích thước khối u của một số kết quả của Jarrett Rosenberg [12] [14, 15]. Kích thước khối u lớn hơn đã được tìm thấy có ảnh hưởng đến sự sống còn và liên quan tới sự tăng tỷ lệ tái phát. Bệnh nhân có khối u < 2 cm có tỷ lệ sống sau 5 năm gần 91,3% so với 79,8% đối với khối u từ 2 cm đến 5 cm và 62,7% đối với các khối u > 5 cm. Ngoài ra, gia tăng kích thước khối u dẫn đến gia tăng sự di căn [15]. Đồng thời, báo cáo cũng đã được ghi lại sự liên quan đến giữa tăng kích thước u và tăng tỷ lệ tử vong trong mỗi phân nhóm có thụ thể estrogen (ER) và progesterone (PR). Với việc chẩn đoán ung thư ở những khối u có thước nhỏ của nghiên cứu này đã cho thấy rằng hiệu quả của chương trình tầm soát UTV sớm.

Loại mô học

UTBM ống loại không có ghi chú đặc biệt chiếm tỷ lệ 73,9%, sau đó là ung thư thể tiểu thùy xâm nhập chiếm 10,9%. Kết quả cho thấy UTBM ống xâm

lấn có tỷ lệ cao nhất trong các loại UTBM tuyến vú, tương tự như hầu hết nghiên cứu ở trong nước và nước ngoài [12, 14, 16]

Độ mô học

Trong số 98 UTBM ống xâm nhập loại không có ghi chú đặc biệt được nghiên cứu trong nghiên cứu này, độ II chiếm tỷ lệ cao nhất (61,9%). Kết quả này không thống nhất với một số nghiên cứu trong và ngoài nước [14, 16]. Điều này có thể được giải thích bởi sự khác biệt về đặc điểm sinh học của nhóm bệnh nhân và một phần dựa trên đánh giá chủ quan của nhà giải phẫu bệnh học. Mặc dù có sự khác biệt trong phân loại hoặc đối tượng nghiên cứu giữa các nghiên cứu của các tác giả nhưng tất cả kết quả đều thống nhất rằng độ mô học khi được sử dụng kết hợp trạng thái hạch, có thể cung cấp thông tin về tiên lượng bệnh và cải thiện dự đoán kết quả cho từng bệnh nhân.

Di căn hạch

Trong nghiên cứu, tỷ lệ không di căn hạch nách là 42,8%. Tỷ lệ phần trăm tương tự với một số nghiên cứu của các tác giả trong và ngoài nước [12, 14, 16]. Điều này đã chứng minh rằng khả năng sàng lọc ung thư có hiệu quả và nhận thức về ung thư của người dân đã được nâng cao. Đánh giá đúng tình trạng di căn hạch bạch huyết là một trong những tiêu chí quan trọng nhất, nó là một yếu tố tiên lượng liên quan đến tỷ lệ tái phát, tỷ lệ sống và quyết định lựa chọn phương pháp điều trị.

Giai đoạn bệnh

Giai đoạn II chiếm 61,6%, trong đó giai đoạn IIA có 43 trường hợp (31,2%), giai đoạn IIB có 42 trường hợp (30,4%). Điều này phù hợp với một số nghiên cứu như kết quả nghiên cứu trong nước và ngoài nước như của Engstrom, Vũ Hồng Thắng, Nguyễn Hoàng Lan [11, 12, 14]. Tất cả kết quả của nghiên cứu khác nhau đều cho thấy giai đoạn II có tỷ lệ cao nhất, tiếp theo trong giai đoạn IIIA. Điều này chỉ ra rằng hiệu quả chăm sóc y tế tăng hơn trước. Thời

gian sống thêm của bệnh nhân với giai đoạn II dài hơn nhiều so với bệnh nhân giai đoạn III. Ngoài ra, khả năng tái phát bệnh nhân có giai đoạn II cũng thấp hơn ít hơn giai đoạn III. Do đó, xác định giai đoạn bệnh và loại mô học có ý nghĩa trong tiên lượng bệnh.

4.2. Sự bộc lộ các thụ thể

Sự bộc lộ của các thụ thể ER, PR, HER2, Ki-67 không những đóng vai trò quan trọng trong phân nhóm phân tử mà còn là các yếu tố cần thiết trong tiên lượng bệnh cũng như trong việc chọn lựa liệu pháp điều trị thích hợp. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ ER và PR thấp hơn trong các nghiên cứu khác, tuy nhiên vẫn tương đồng tỷ lệ dương ER cao hơn PR. Trong khi đó, tỷ lệ 31,1% khối u có HER biểu hiện quá mức bởi IHC cao hơn tỷ lệ chung giữa các nghiên cứu khác (HER2 dương tính là khoảng 20% đến 30%). Những sự khác biệt này có thể là do thụ thể HER2 là protein màng tế bào rất dễ biến tính trong suốt quá trình thực hiện kỹ thuật từ việc xử lý sau khi cắt bỏ khối u cho đến dung dịch cố định mẫu, thời gian cố định.

Tỷ lệ Ki-67 dương tính trong nghiên cứu này là 63,8%. Tỷ lệ này là khá cao và đánh giá phụ thuộc vào chất lượng mẫu và sự chủ quan của người đánh giá. Mutapha và cộng sự đã cho thấy sự tương quan giữa mức độ cao của chỉ số Ki-67 với nguy cơ tái phát cao hơn và tỷ lệ sống sót tồi tệ hơn [17]. Những dữ liệu này phù hợp với tỉ lệ cao chỉ số Ki67 có liên quan mật thiết đến tăng sinh tế bào và tương quan thuận với tất cả đặc điểm bệnh học lâm sàng.

4.3. Mối liên quan giữa phân nhóm phân tử và các đặc điểm giải phẫu bệnh

Phân tích của chúng tôi cho thấy mối liên quan đáng kể giữa phân nhóm phân tử ung thư biểu mô tuyến vú với loại mô học ($p = 0,022$) và độ mô học ($p = 0,021$).

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy một sự khác biệt đáng kể của loại mô học đặc biệt trong các phân nhóm phân tử của ung thư vú xâm lấn ($p = 0,022$). Phân tích này chỉ ra UTBM ống thường gặp hơn ở phân nhóm lòng ống B (89,2%), trong khi UTBM tiểu thùy có nhiều ở phân nhóm bộ ba âm tính và các loại UTBM tuyến vú thể đặc biệt khác lại xuất hiện ở phân nhóm lòng ống A. Tuy nhiên, dữ liệu từ nhiều nghiên cứu khác lại chứng minh UTBM tiểu thùy, hỗn hợp và UTBM nhầy lại có nhiều khả năng biểu hiện thụ thể nội tiết tố hơn so với UTBM ống [18, 19]. Sự khác nhau này có thể là do giữa các nghiên cứu thiếu thông tin liên quan đến một số các yếu tố gây nhiễu tiềm ẩn, bao gồm các yếu tố nội tiết tố, sinh sản, nhân trắc học và lối sống. Bởi những yếu tố này có thể liên quan đến sự khác nhau trong các loại

mô học của ung thư vú cũng như sự khác nhau trong đặc điểm lâm sàng và đặc điểm giải phẫu bệnh của khối u cần đánh giá.

Các nghiên cứu gần đây về ung thư vú đã nhấn mạnh sự liên quan của sinh học khối u trong điều trị ung thư vú và qua đó cho thấy tầm quan trọng của độ mô học. Khối u với độ mô học khác nhau sẽ có cấu hình phân tử khác biệt ở bộ gen, mức độ transcriptomic và hóa mô miễn dịch.

Nghiên cứu biểu hiện gen đã chứng minh rằng độ mô học phản ánh tốt hơn cấu trúc phân tử của ung thư vú hơn tình trạng hạch và kích thước khối u [20]. Trong nghiên cứu của chúng tôi đã chỉ ra mối liên quan giữa các phân nhóm phân tử và độ mô học ($p = 0,021$). Độ mô học cao (độ III) chiếm tỷ lệ cao trong phân nhóm HER2, những độ thấp hơn (độ I và độ II) nằm ở phân nhóm Lòng ống. Kết quả này tương đồng với kết quả của nhiều tác giả khác trong và ngoài nước.

Một số tác giả trước đây đã mô tả độc lập vai trò tiên lượng của độ mô học ở bệnh nhân ung thư vú. Họ đều cho thấy bệnh nhân mang khối u có độ mô học loại I có tiên lượng tốt. Do đó, việc xác định đúng độ mô học góp phần giúp nhận định tiên lượng và có phác đồ điều trị phù hợp.

Tuy nhiên, không có mối liên quan giữa phân nhóm phân tử UTBM tuyến vú với kích thước khối u, giai đoạn bệnh, tình trạng di căn hạch ở trong nghiên cứu của chúng tôi. Trong khi các nghiên cứu khác đã báo cáo rằng những đặc điểm giải phẫu bệnh như kích thước T1 và T2, giai đoạn I và II, không di căn hạch nách thường liên quan đến phân nhóm lòng ống A. Những đặc điểm chỉ ra tiên lượng tốt hơn phân nhóm lòng ống A, trái ngược với phân nhóm HER2 và bộ ba âm tính có đặc điểm giai đoạn III, kích thước T3, hạch di căn và có tiên lượng kém hơn rất nhiều.

4.4. Mức độ biểu hiện gene BCL11A

Trong vài nghiên cứu nước ngoài gần đây, bằng cách phân tích dữ liệu gen từ hơn 3000 bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến vú, gene BCL11A biểu hiện mức cao đáng kể ở cả cấp độ RNA và protein, đặc biệt cao trong phân nhóm bộ ba âm tính của bệnh nhân UTV. Việc biểu hiện quá mức của gene BCL11A ảnh hưởng đến chương trình chết theo lập trình của tế bào (apoptosis) thông qua trung gian p53 (gen áp chế khối u). Do đó, các nghiên cứu này nhận định rằng gene BCL11A cùng với một số gene khác như HMGA1, FOXC1 đã được nghiên cứu được xem như là các dấu ấn sinh học để chẩn đoán và một số đã được coi là mục tiêu điều trị tiềm năng của bệnh nhân UTV thể bộ ba âm tính [8, 9]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của chúng tôi mức biểu hiện gene

BCL11A đều rất thấp trong tất cả các phân nhóm phân tử của bệnh nhân UTBM tuyến vú, đặc biệt là trong phân nhóm bộ ba âm tính, không giống như những gì được báo cáo trong các tài liệu trước đó. Điều này có thể giải thích do mẫu khối u được cố định bằng dung dịch formol và nhúng trong paraffin dẫn đến giảm chất lượng của axit nucleic làm ảnh hưởng đến kết quả PCR.

Tuy vậy, với kết quả của nghiên cứu này cũng đã góp phần giúp chúng ta hiểu hơn về đặc điểm của gene trong các phân nhóm phân tử của bệnh nhân UTV. Các thử nghiệm truy tìm nguồn gốc trong tương lai sẽ xác định xem gene BCL11A có biểu hiện trong tế bào tổ tiên của phân nhóm lòng ống (luminal) và phân nhóm basal hoặc trong các bipotent MaSCs (mammary stem cell) hay không?

Nếu đưa ra được bằng chứng gene BCL11A điều hòa trong việc phát triển các tế bào tiền thân phân nhóm basal-like, điều này sẽ rất quan trọng và là một trong những bước đầu tiên trong phát triển liệu pháp điều trị đích cho những bệnh nhân ung thư vú thể bộ ba âm tính.

5. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu, chúng tôi đã chứng minh mối liên quan đáng kể giữa phân nhóm phân tử ung thư biểu mô tuyến vú với loại mô học ($p = 0,022$) và độ mô học ($p = 0,021$).

- UTBM ống thường gặp hơn ở phân nhóm lòng ống B (89,2%), trong khi đó UTBM thể thùy xâm nhập thường gặp ở phân nhóm bộ ba âm tính (20,6%).

- Độ mô học chủ yếu trong phân nhóm lòng ống B là độ I. Trong khi ở phân nhóm HER2 và bộ ba âm tính thì độ III chiếm chủ yếu (39,1% và 38,5%).

Mặc dù, mức biểu hiện gene BCL11A ở mức thấp trong các phân nhóm phân tử của ung thư biểu mô tuyến vú đặc biệt thấp trong phân nhóm bộ ba âm tính, nhưng nghiên cứu này cũng góp phần hiểu thêm về đặc điểm giải phẫu bệnh cũng như vai trò yếu tố tiên lượng của gene trong UTV và cần được nghiên cứu nhiều hơn trong tương lai.

Lời cảm ơn: Bài báo này có sử dụng kết quả đề tài khoa học và công nghệ cấp Tỉnh mã số TTH-2016-KC.12 được ngân sách nhà nước tỉnh Thừa Thiên Huế đầu tư.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 68(6):394-424.
2. Trieu PD, Mello-Thoms C, Brennan PC. (2015). Female breast cancer in Vietnam: a comparison across Asian specific regions. *Cancer Biol Med.* 12(3):238-45.
3. Fertig EJ, Lee E, Pandey NB, Popel AS. (2015). Analysis of gene expression of secreted factors associated with breast cancer metastases in breast cancer subtypes. *Sci Rep.* 5:12133.
4. Untch M, Gerber B, Harbeck N, Jackisch C, Marschner N, Mobus V, et al. (2013). 13th st. Gallen international breast cancer conference 2013: primary therapy of early breast cancer evidence, controversies, consensus - opinion of a german team of experts (zurich 2013). *Breast Care (Basel).* 8(3):221-9.
5. Fallahpour S, Navaneelan T, De P, Borgo A. (2017). Breast cancer survival by molecular subtype: a population-based analysis of cancer registry data. *CMAJ Open.* 5(3):E734-E9.
6. Ali SM, Watson J, Wang K, Chung JH, McMahon C, Ross JS, et al. (2016). A Combination of Targeted Therapy with Chemotherapy Backbone Induces Response in a Treatment-Resistant Triple-Negative MCL1-Amplified Metastatic Breast Cancer Patient. *Case Rep Oncol.* 9(1):112-8.
7. Chalukur-Ramireddy NKR, Pakala SB. (2018).

Combined drug therapeutic strategies for the effective treatment of Triple Negative Breast Cancer. *Biosci Rep.* 38(1).

8. Khaled WT, Choon Lee S, Stingl J, Chen X, Raza Ali H, Rueda OM, et al. (2015). BCL11A is a triple-negative breast cancer gene with critical functions in stem and progenitor cells. *Nat Commun.* 6:5987.

9. Santuario-Facio SK, Cardona-Huerta S, Perez-Paramo YX, Trevino V, Hernandez-Cabrera F, Rojas-Martinez A, et al. (2017). A New Gene Expression Signature for Triple Negative Breast Cancer Using Frozen Fresh Tissue before Neoadjuvant Chemotherapy. *Mol Med.* 23:101-11.

10. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thurlimann B, et al. (2013). Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol.* 24(9):2206-23.

11. Lan NH, Laohasiriwong W, Stewart JF. (2013). Survival probability and prognostic factors for breast cancer patients in Vietnam. *Glob Health Action.* 6:1-9.

12. Thang VH, Tani E, Johansson H, Adolfsson J, Krawiec K, Van TT, et al. (2011). Difference in hormone receptor content in breast cancers from Vietnamese and Swedish women. *Acta Oncol.* 50(3):353-9.

13. Van der Sangen MJ, Poortmans PM, Scheepers SW, Lemaire BM, van Berlo CL, Tjan-Heijnen VC, et al. (2013). Prognosis following local recurrence after breast

conserving treatment in young women with early breast cancer. *Eur J Surg Oncol.* 39(8):892-8.

14. Engstrom MJ, Opdahl S, Hagen AI, Romundstad PR, Akslen LA, Haugen OA, et al. (2013). Molecular subtypes, histopathological grade and survival in a historic cohort of breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 140(3):463-73.

15. Rosenberg J, Chia YL, Plevritis S. (2005). The effect of age, race, tumor size, tumor grade, and disease stage on invasive ductal breast cancer survival in the U.S. SEER database. *Breast Cancer Res Treat.* 89(1):47-54.

16. Van der Hage JA, Mieog JS, van de Velde CJ, Putter H, Bartelink H, van de Vijver MJ. (2011). Impact of established prognostic factors and molecular subtype in very young breast cancer patients: pooled analysis of four EORTC randomized controlled trials. *Breast Cancer Res.*

2011;13(3):R68.

17. Abubakar M, Orr N, Daley F, Coulson P, Ali HR, Blows F, et al. (2016). Prognostic value of automated KI67 scoring in breast cancer: a centralised evaluation of 8088 patients from 10 study groups. *Breast Cancer Res.* 18(1):104.

18. Li CI, Uribe DJ, Daling JR. (2005). Clinical characteristics of different histologic types of breast cancer. *Br J Cancer.* 93(9):1046-52.

19. Korhonen T, Huhtala H, Holli K. (2004). A comparison of the biological and clinical features of invasive lobular and ductal carcinomas of the breast. *Breast Cancer Res Treat.* 85(1):23-9.

20. Yu K, Lee CH, Tan PH, Hong GS, Wee SB, Wong CY, et al. (2004). A molecular signature of the Nottingham prognostic index in breast cancer. *Cancer Res.* 64(9):2962-8.