

ĐẶC ĐIỂM ĐỘT BIẾN GEN *EGFR* TRÊN BỆNH NHÂN UNG THƯ PHỔI KHÔNG TẾ BÀO NHỎ TẠI BỆNH VIỆN QUÂN Y 103

Phạm Văn Thịnh¹, Trương Đình Tiến¹, Đặng Thái Trà¹
Nguyễn Thùy Linh¹, Trần Ngọc Dũng¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định tỷ lệ các loại đột biến và một số biến thể phân tử của đột biến exon 19 gen *EGFR* trên bệnh nhân (BN) ung thư phổi không tế bào nhỏ (UTPKTBN) tại Bệnh viện Quân y 103 bằng phương pháp lai hoá đầu dò phân tử Strip Assay. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang mẫu mô vùi nền của 137 BN UTPKTBN được chỉ định xét nghiệm xác định đột biến gen bằng phương pháp Strip Assay. Nhận xét đặc điểm lâm sàng, phân tích các dữ liệu đột biến thu được. **Kết quả:** Tỷ lệ đột biến gen *EGFR* là 39,42%, hầu hết là 1 đột biến (98,15%), chỉ 1,85% BN đột biến kép, không ghi nhận loại đột biến khác. Trong đó, đột biến xoá đoạn exon 19 chiếm nhiều nhất (53,57%), với biến thể phân tử *LREA* chiếm chủ yếu (83,34%). Đột biến điểm *L858R* (exon 21) chiếm 39,29%. Duy nhất 1 BN ung thư biểu mô vảy có đột biến. **Kết luận:** Tỷ lệ đột biến gen *EGFR* ở BN UTPKTBN là 39,42%, hầu hết là 1 đột biến. Tỷ lệ đột biến xoá đoạn trên exon 19 và đột biến điểm trên exon 21 thường gặp nhất.

* Từ khoá: Ung thư phổi không tế bào nhỏ; Đột biến gen *EGFR*; Biến thể phân tử.

Characteristics of EGFR Mutation in Non-Small Cell Lung Cancer Patients at Military Hospital 103 in the period of 2019 - 2020

Summary

Objectives: To determine the rates of *EGFR* mutations and variant molecular subtypes of exon 19 mutation in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients at Military Hospital 103 by Strip Assay. **Subjects and methods:** Cross-sectional descriptive study in the histopathological samples of 137 NSCLC patients were tested for *EGFR* mutations using Strip Assay. **Results:** 39.42% of NSCLC patients had *EGFR* mutations. The majority of patients had single mutation (98.15%), and only 1.85% of patients had double mutation, no other types of mutations were noted. Among patients with *EGFR* mutations, exon 19 deletion mutation was the most common (53.57%), with the main subtype being the *LREA* motif (83.34%). The proportion of *L858R* exon 21 mutation was 39.29%. **Conclusion:** The rate of *EGFR* gene mutation in patients with NSCLC was 39.42%, most of which was 1 mutation. The rate of paragraph deletion mutations on exon 19 and point mutations on exon 21 were most common.

* Keywords: Non-small cell lung cancer (NSCLC); *EGFR* mutation; Variant molecular subtypes.

¹Bộ môn - Khoa Giải phẫu bệnh lý, Pháp y, Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y
Người phản hồi: Đặng Thái Trà (dangthaitra0502hvqy@gmail.com)

Ngày nhận bài: 23/02/2021

Ngày bài báo được đăng: 26/4/2021

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư phổi là một trong những nguyên nhân chính gây tử vong do ung thư trên toàn thế giới. Trong hai thập kỷ 1980, 1990, hoá trị là phương pháp trị liệu chính duy nhất giúp điều trị giảm nhẹ cho BN ung thư giai đoạn muộn. Tuy nhiên, những năm gần đây, với việc đẩy mạnh nghiên cứu chuyên sâu về các đột biến gen có vai trò quan trọng đối với sự tăng sinh và tồn tại của tế bào u, các liệu pháp nhắm trúng đích phân tử đã mang lại triển vọng mới trong việc điều trị UTPKTBN (chiếm 85% tổng số ung thư phổi) [4, 5, 6]. Một trong những đích phân tử quan trọng là *EGFR* (Epidermal Growth Factor Receptor), mã hoá cho protein thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì. Nhiều nghiên cứu trước đây cho thấy BN UTPKTBN tiến triển chứa đột biến gen *EGFR* bao gồm đột biến xoá đoạn ở exon 19 (del 19) hoặc đột biến điểm *L858R* ở exon 21 có tỷ lệ đáp ứng cao và thời gian sống không tiến triển kéo dài sau khi điều trị bằng các thuốc đích nhóm TKIs (Tyrosine kinase inhibitors) như gefitinib hoặc erlotinib. Chính vì vậy, việc xác định đột biến gen *EGFR*, cũng như các biến thể về mặt phân tử của một số vị trí đột biến phổ biến, có ý nghĩa quan trọng giúp các bác sĩ lâm sàng tiên lượng và lựa chọn phác đồ điều trị đích thích hợp cho từng BN ung thư [7]. Từ năm 2019 đến nay, tại Labo Sinh học phân tử, Khoa Giải phẫu bệnh lý, Pháp y, Bệnh viện Quân y 103 đã triển khai xét nghiệm đột biến gen *EGFR* bằng kỹ thuật Strip Assay của Viennalab. Đây là kỹ thuật khuếch đại gen PCR kết hợp với phương pháp lai hoá ngược đầu dò đặc hiệu nhằm phát hiện

30 điểm đột biến khác nhau của gen *EGFR* với ngưỡng phát hiện 1% tế bào u. Chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm: *Xác định tỷ lệ đột biến và phân tích một số biến thể về mặt phân tử của đột biến exon 19 gen EGFR.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

137 BN được chẩn đoán xác định UTPKTBN dựa vào kết quả mô bệnh học và hoá mô miễn dịch tại Khoa Giải phẫu bệnh lý, Pháp y, Bệnh viện Quân y 103 từ 8/2019 - 12/2020.

2. Phương pháp nghiên cứu

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

* *Các bước tiến hành:*

- Lấy mẫu toàn bộ 78 BN hồi cứu và 59 BN tiến cứu. Thu thập các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của BN theo mẫu thống nhất.

- Xét nghiệm đột biến trên mẫu mô vùi nên thu được sau phẫu thuật cắt u, sinh thiết lõi kim tổ chức u, khối tế bào (cell-block) và sinh thiết hạch. Quy trình xét nghiệm đột biến gen *EGFR* gồm các bước:

+ Tách chiết ADN từ mẫu mô vùi nên (FFPE) bằng kit AmoyDx (CF IVD).

+ Khuếch đại đoạn gen *EGFR* và lai hoá sản phẩm khuếch đại với đoạn đầu dò đặc hiệu bằng bộ kit *EGFR* XL Strip Assay (Viennalab).

+ Phân tích kết quả.

* *Xử lý số liệu:* Bằng phần mềm SPSS 22.0.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1: Đặc điểm của nhóm BN nghiên cứu.

Đặc điểm	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Giới tính		
Nam	101	73,72
Nữ	36	26,27
Độ tuổi		
< 60	43	31,39
≥ 60	94	68,61
Mô bệnh học		
Ung thư biểu mô (UTBM) tuyến	125	91,24
UTBM vảy	12	8,76
Vị trí bệnh phẩm		
U nguyên phát	96	70,07
Tổ chức di căn	26	18,98
Dịch màng phổi	15	10,95
Tổng cộng	137	100,0

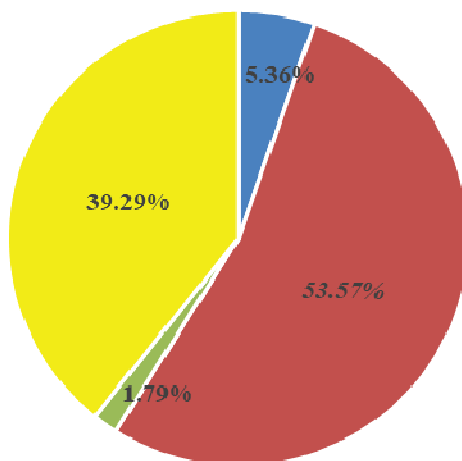
Tỷ lệ nam/nữ: 2,8/1. Tuổi trung bình $64,1 \pm 11,7$, độ tuổi hay gặp ≥ 60 (68,61%). Mô bệnh học chủ yếu là UTBM tuyến (91,24%), vị trí lấy bệnh phẩm phần lớn từ u nguyên phát (70,07%).

Bảng 2: Tỷ lệ đột biến gen EGFR.

Đặc điểm	Đột biến gen				Số lượng đột biến	
	Có		Không		1 đột biến	2 đột biến
	UTBM tuyến	UTBM vảy	UTBM tuyến	UTBM vảy	52	2
	53	1	72	11		
Tổng	54 (39,42%)		83 (60,58%)		98,15%	1,85%

Tỷ lệ BN có đột biến gen *EGFR* là 39,42%, hầu hết có 1 đột biến gen (98,15%), chỉ 2 BN (1,85%) có 2 đột biến. Tỷ lệ đột biến gen *EGFR* ở nhóm UTBM tuyến là 42,4% (53/125 BN), duy nhất 1 BN UTBM vảy có đột biến.

Tỷ lệ đột biến (n = 56)



■ Exon 18 (G719X) ■ Exon 19 (Deletion) ■ Exon 20 (T790M) ■ Exon 21 (L858R)

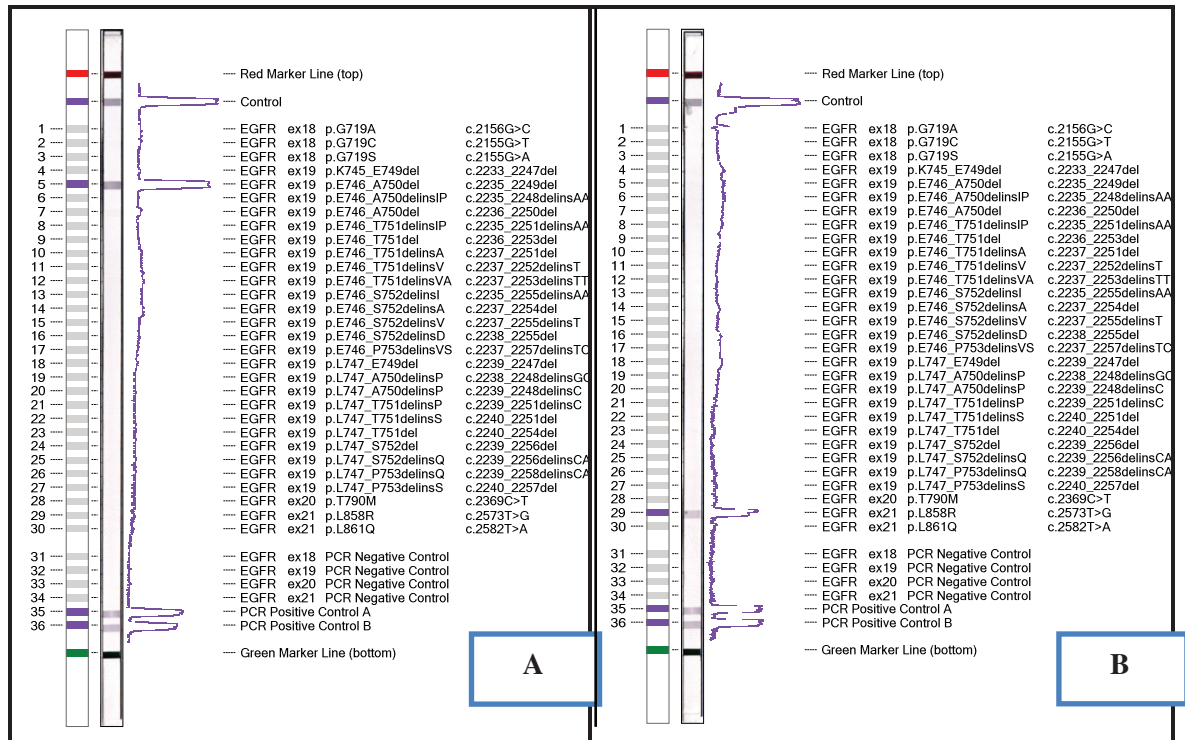
Biểu đồ 1: Vị trí đột biến gen *EGFR*.

Ở BN có đột biến *EGFR*, hay gặp đột biến xóa đoạn trên exon 19 (53,57%), tiếp theo là đột biến điểm *L858R* trên exon 21 (39,29%).

Bảng 3: Tỷ lệ các biến thể về mặt phân tử của đột biến mất đoạn trên exon 19.

Vị trí		Số lượng	Tỷ lệ (%)
5: c.2235_2249 del	LREA	20	66,67
7: c.2236_2250 del		5	16,67
15: c.2237_2255delinsT		1	3,33
17: c.2237_2257 delins TCT		1	3,33
21: c.2239_2251 delins C		1	3,33
23: c.2240_2254 del		1	3,33
27: c.2240_2257 del		1	3,33
Tổng cộng		30	100,0

Biến thể phân tử *LREA* của đột biến xóa đoạn trên exon 19 chiếm chủ yếu (83,34%), nằm trên 2 vị trí đột biến c.2235_2249del và c.2236_2250del. Ngoài ra, còn gặp một số biến thể phân tử khác, nhưng số lượng rất ít.



Hình 1: Kết quả đột biến gen *EGFR* bằng kỹ thuật Strip Assay.

(A) Hình ảnh đột biến xóa đoạn exon 19 (*LREA*) (BN MS210544); (B) Hình ảnh đột biến điểm *L858R* tại exon 21 (BN MS210433).

BÀN LUẬN

Độ tuổi trung bình của BN là $64,1 \pm 11,7$, lớn nhất 90 tuổi, nhỏ nhất 25 tuổi, độ tuổi ≥ 60 chiếm đa số (68,61%). Tỷ lệ BN nam cao hơn nữ (2,8/1). Đặc điểm mô bệnh học chủ yếu là UTBM tuyến (91,24%) với một số phân tý mô bệnh như UTBM tuyến tý đặc, UTBM tuyến nhú và UTBM tuyến nhày. Đây cũng là tý mô bệnh được khuyến cáo chỉ định xét nghiệm đột biến vì có tỷ lệ đột biến và tiên lượng điều trị hiệu quả khác biệt so với những phân nhóm khác. Kết quả này tương đương nghiên cứu của Mai Trọng Khoa và CS: UTBM tuyến chiếm 93,9% [1].

Tỷ lệ đột biến gen *EGFR* là 39,42%, đa phần là 1 đột biến (98,15%), phù hợp với một số nghiên cứu tại Việt Nam: Mai Trọng Khoa và CS là 40,5% ($n = 479$) [1], Dương Thanh Hiền và CS là 38,2% ($n = 351$) [2], Nguyễn Quang Trung và CS là 40,37% ($n = 109$) [3]. Nhưng thấp hơn nhiều so với một số nghiên cứu tại châu Á. Trong một nghiên cứu tiền cứu, đa quốc gia và dịch tễ học về đột biến gen *EGFR* trên BN UTPKTBN người châu Á (nghiên cứu PIONEER) cho thấy tỷ lệ đột biến gen *EGFR* chung ở 7 quốc gia châu Á là 51,3% ($n = 1.450$), tại Việt Nam là 64,2% ($n = 120$). Có sự khác biệt này do tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng của nghiên cứu PIONEER là BN UTBM tuyến giai đoạn III, IV [8]. Ngoài ra, phương pháp xét nghiệm đột biến và mẫu bệnh phẩm khác nhau cũng là những yếu tố ảnh hưởng đến kết quả phân tích.

Theo y văn, tần suất đột biến *EGFR* ở BN UTBM tuyến là 10 - 40%. Nghiên cứu của Yeen và CS trên 484 BN UTPKTB, kết quả đột biến gen *EGFR* cao hơn đáng kể ở BN nữ (60,6%) và phân tủy mô bệnh học UTBM tuyến (47,1%). Nghiên cứu của Dương Thanh Hiền và CS, đột biến gen *EGFR* ở BN UTBM tuyến là 38,9% [2], của Nguyễn Quang Trung và CS là 58,1% [3]. Nghiên cứu của chúng tôi là 42,4%. Hầu hết các nghiên cứu đều cho thấy đột biến gen *EGFR* có liên quan đến giới tính nữ, tình trạng không hút thuốc và phân tủy UTBM tuyến, trong khi giai đoạn TNM được đánh giá không liên quan. So với BN bị UTBM tuyến ở phổi, BN UTBM vảy có tiên lượng xấu do tần suất đột biến thấp, bên cạnh hạn chế trong lựa chọn phác đồ điều trị. Một số nghiên cứu cũng cho thấy đáp ứng lâm sàng của BN UTBM vảy có đột biến *EGFR* ít nhạy cảm với các thuốc dòng *EGFR*-TKIs thế hệ thứ nhất như gefitinib so với BN UTBM tuyến mang đột biến *EGFR*. Vì vậy, việc xác định tình trạng đột biến gen *EGFR* thường quy ở BN UTBM vảy không được khuyến cáo. Nghiên cứu của Han và CS (2017): Tỷ lệ đột biến gen *EGFR* trong nhóm UTBM vảy là 9,9% (40/403 BN) với người châu Á - Thái Bình Dương và 3,7% (13/349 BN) với người Liên bang Nga [9]. Nghiên cứu của Dương Thanh Hiền và CS: Tỷ lệ đột biến trong nhóm UTBM vảy là 18,2% (2/11 BN) [2]. Chúng tôi ghi nhận duy nhất 1 BN (8,33%) UTBM vảy có đột biến gen *EGFR* ở exon 19, vị trí c.2237_2255delinsT.

Trong số BN có đột biến gen, tỷ lệ đột biến gặp chủ yếu ở exon 19 (53,57%) và exon 21 (39,29%). Ở exon 18 và exon 20, tỷ lệ tương đối thấp (lần lượt 5,36% và 1,79%). Trong đó, đột biến *T790M* ở exon 20 gặp 1 BN, là đột biến thứ phát trong quá trình điều trị. Chỉ duy nhất 1 BN (1,8%) có đột biến kép ngay từ đầu, là đột biến *LREA* ở exon 19 kết hợp với đột biến *G719A* ở exon 18. Kết quả này phù hợp với đa số nghiên cứu trên thế giới cũng như tại Việt Nam, với đột biến xóa đoạn trên exon 19 và đột biến điểm (*L858R*) trên exon 21 là 2 đột biến hay gặp nhất và cũng thuộc nhóm đột biến gây tăng tính nhạy cảm của khối u đối với thuốc TKIs [1, 2, 3, 8].

Đột biến ở exon 19 chứa số lượng lớn các biến thể liên quan đến đột biến xóa đoạn, đột biến dịch khung, hoặc hỗn hợp đột biến chèn, thay thế. Các biến thể này gây ra sự nhạy cảm khác nhau giữa BN có đột biến ở exon 19 với các thuốc dòng TKIs [10]. Chúng tôi gặp chủ yếu biến thể xóa đoạn 15 cặp nucleotide *LREA* ở 2 vị trí c.2235_2249 del và c.2236_2250 del (83,33%). Các biến thể phân tử khác của đột biến exon 19 cũng gặp, nhưng rất ít. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trong và ngoài nước. Nghiên cứu của Dương Thanh Hiền và CS là 72,46% [2], Nahomi Tokudome và CS là 65,4% [10]. Kích thước mẫu của chúng tôi hạn chế, vì vậy cần tích lũy thêm dữ liệu và phân tích chi tiết các biến thể phân tử để hiểu đầy đủ hơn về sự khác biệt thực tế của các biến thể với độ nhạy đối với các chất TKIs. Vấn đề này rất hữu ích cho y học cá thể hóa trong điều trị ung thư phổi.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu xác định đột biến gen *EGFR* ở 137 BN UTPKTBN dựa vào kết quả mô bệnh học và hoá mô miễn dịch tại Khoa Giải phẫu bệnh lý, Pháp y, Bệnh viện Quân y 103, chúng tôi rút ra một số kết luận:

- Tỷ lệ đột biến gen *EGFR* ở BN UTPKTBN là 39,42%, hầu hết là 1 đột biến (52 BN = 98,15%), chỉ 2 BN (1,85%) có đột biến kép.

- Tỷ lệ đột biến xóa đoạn trên exon 19 và đột biến điểm trên exon 21 gặp nhiều nhất. Trong đó, biến thể phân tử *LREA* của đột biến xóa đoạn trên exon 19 chiếm chủ yếu (83,34%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Mai Trọng Khoa, Trần Đình Hà, Phạm Cẩm Phương và CS. 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 2016; 3:271-277.
2. Dương Thanh Hiền, Phạm Cẩm Phương, Nguyễn Thuận Lợi, Lê Thị Luyến. Phân tích đột biến *EGFR* trong mẫu mô phủ paraffin và một số yếu tố liên quan ở bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ trên 60 tuổi. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam 2020; 62(7):1-5.
3. Nguyễn Quang Trung, Nguyễn Thị Thuỷ Lê, Trần Đức Hùng, Ngô Thị Tố Trinh, Võ Thị Quỳnh Trang, Nguyễn Thị Giang An. Phân tích đặc điểm phân tử bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ tại Bệnh viện Ung bướu Nghệ An. Tạp chí Khoa học 2018; 47(1A):56-61.
4. Pfister DG, Johnson DH, Azzoli CG, et al. American Society of Clinical Oncology treatment of unresectable non-small-cell lung cancer guideline: Update 2003. Journal of Clinical Oncology 2004; 22(2):330-353.
5. Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. New England Journal of Medicine 2010; 362(25):2380-2388.
6. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E. Global cancer statistics. CA: A cancer Journal for Clinicians 2011; 61(2):69-90.
7. Pao W, Miller VA. Epidermal growth factor receptor mutations, small-molecule kinase inhibitors, and non-small-cell lung cancer: Current knowledge and future directions. Journal of Clinical Oncology 2005; 23(11): 2556-2568.
8. Shi Y, Au JSK, Thongprasert S, Srinivasan S, Tsai CM, et al. A prospective, molecular epidemiology study of EGFR mutations in Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer of adenocarcinoma histology (PIONEER). Journal of Thoracic Oncology 2014; 9(2):154-162.
9. Han B, Tjulandin S, Hagiwara K, Normanno N, et al. EGFR mutation prevalence in Asia-Pacific and Russian patients with advanced NSCLC of adenocarcinoma and non-adenocarcinoma histology: The IGNITE study. Lung Cancer 2017; 113:37-44.
10. Tokudome N, Koh Y, Akamatsu H, Fujimoto D, et al. Differential significance of molecular subtypes which were classified into EGFR exon 19 deletion on the first line afatinib monotherapy. BMC Cancer 2020; 20(1):103.