

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

NGUYỄN QUANG TRUNG

MỐI LIÊN QUAN GIỮA ĐỘT BIẾN GEN PRE-S/S
CỦA HBV VÀ UNG THƯ BIỂU MÔ TẾ BÀO GAN

Ngành: BỆNH TRUYỀN NHIỄM VÀ CÁC

BỆNH NHIỆT ĐỐI

Mã số: 9720109

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

TP. HỒ CHÍ MINH, NĂM 2024

Công trình được hoàn thành tại:

Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS Phạm Thị Lệ Hoa

2. PGS.TS Hoàng Anh Vũ

Phản biện 1:

Phản biện 2

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp trường họp tại vào hồi giờ ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu Luận án tại thư viện:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam

- Thư viện Khoa học Tổng hợp

- Thư viện Đại học

TP. HỒ CHÍ MINH, NĂM 2024

1. GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

a. Lý do và tính cần thiết của nghiên cứu: Viêm gan vi rút B mạn tính hiện nay vẫn là vấn đề sức khỏe lớn của cộng đồng trên thế giới và tại Việt Nam. Theo Tổ chức Y tế Thế giới 2022, có hơn 257 triệu trường hợp nhiễm mạn tính và gần 1 triệu ca tử vong mỗi năm vì viêm gan và các biến chứng có liên quan. Ung thư biểu mô tế bào gan (HCC) là biến chứng xác định có liên quan với vi rút viêm gan B (HBV), là một trong những biến chứng thường gặp và có tỷ lệ tử vong cao nhất tại nước ta. Một số y văn trên thế giới cho thấy liên quan đột biến gen pre-S/S của HBV với HCC. Ở Việt Nam, chỉ mới bước đầu nghiên cứu đột biến của gen PC/ BCP của HBV với HCC, và chưa có báo cáo đầy đủ về đột biến gen pre-S/S của HBV với HCC. Câu hỏi nghiên cứu (NC) là loại đột biến nào của pre-S/S của HBV có thể xảy ra và loại nào dẫn đến HCC ở dân số người Việt Nam?

b. Mục tiêu nghiên cứu

1. Mô tả đặc điểm các loại đột biến trên vùng pre-S/S của vi rút viêm gan B ở những người nhiễm vi rút viêm gan B mạn tại Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.
2. Xác định liên quan giữa đột biến vùng pre-S/S của vi rút viêm gan B với ung thư biểu mô tế bào gan ở người nhiễm vi rút viêm gan B mạn tại Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

c. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

- Dân số mục tiêu: Người nhiễm HBV mạn tính.

- Dân số nghiên cứu: Người đã được chẩn đoán nhiễm HBV mạn tính theo dõi và điều trị tại phòng khám Viêm gan Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

- Phương pháp nghiên cứu: cắt ngang phân tích, thực hiện tiến cứu và hồi cứu.

- Giải trình tự tìm đột biến pre-S/S của HBV theo phương pháp giải trình tự trực tiếp tại trung tâm Y sinh học phân tử của Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

d. Những đóng góp mới của nghiên cứu về mặt lý luận và thực tiễn:

Đề tài trình bày các loại đột biến trên vùng pre-S/S của vi rút viêm gan B và mối liên quan giữa những đột biến này với ung thư biểu mô tế bào gan ở người nhiễm vi rút viêm gan B mạn tại bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

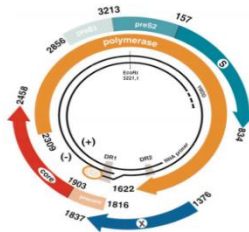
e. Bố cục của luận án

- Giới thiệu luận án
- Tổng quan tài liệu
- Đối tượng và phương pháp nghiên cứu
- Kết quả
- Bàn luận
- Kết luận và kiến nghị

2. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

2.1 Cấu trúc virion và bộ gen của vi rút viêm gan B

HBV thuộc gia đình Hepadnaviridae. Các virion hoàn chỉnh có kích thước lớn, đường kính 42- 44 nm, trước đây gọi là tiểu thể Dane.



Hình: Cấu trúc và tổ chức bộ gen của vi rút viêm gan B

(Nguồn: Hunt C.M., 2000)

+ **Sợi dài L** (sợi âm) nằm ngoài, gồm 3,2 kb, mang toàn bộ thông tin di truyền của HBV, gồm 4 khung đọc mở ORF: S, C, P và X nằm gói chồng lên nhau, với 6 codon bắt đầu, 4 promoter (preS1, preS2, core và X) và 2 thành phần enhancer. ORF-S mã hóa HBsAg; ORF-C mã hóa HBcAg và HBeAg; ORF-X mã hóa protein HBx và ORF-P mã hóa DNA polymerase. Đầu 5' của sợi âm liên kết đồng hóa trị với enzyme sao chép ngược của vi rút.

Vùng promoter và enhancer ở mỗi đầu các ORF. Vùng promoter là vị trí gắn bộ gen HBV với RNA polymerase của tế bào khi tổng hợp RNA từ khuôn mẫu DNA. Nằm kế cận vùng promoter là vùng enhancer. Tại vị trí này, protein của vi rút hoặc của tế bào gắn kết vào, kích hoạt để khởi động quá trình sao chép.

+ **Sợi ngắn S** (sợi dương) nằm trong, chiều dài thay đổi từ 50% đến 100% chiều dài bộ gen do khi được tổng hợp tiếp thêm ở phía đầu 3'. Đầu 5' của sợi dương liên kết với các oligonucleotid.

2.2 Các nghiên cứu về đột biến gen của vi rút viêm gan B liên quan với ung thư biểu mô tế bào gan

Đột biến gen vùng pre-S và S

Đột biến mất đoạn vùng pre-S, đột biến điểm vùng pre-S, đột biến nối pre-S1, đột biến điểm đầu cuối C và đột biến vô nghĩa pre-S/S là năm loại đột biến khác nhau trong vùng S. Các đột biến T53C, mất đoạn pre-S1, đột biến codon bắt đầu pre-S2, C7A, A2962G, C2964A và C3116T trong khu vực pre-S có liên quan đáng kể đến việc tăng nguy cơ HCC. Hầu hết các báo cáo đều chỉ ra rằng mất đoạn ở vùng pre-S1 hoặc pre-S2 có liên quan đến sự phát triển HCC ở người lớn.

Chen và cs đã so sánh tình trạng đột biến gen của HBV giữa nhóm bệnh nhân HCC với nhóm đối chứng, BN HCC có tỷ lệ đột biến vùng pre-S cao hơn và cụ thể là thay thế axit amin ở codon 4 (W4P/R), 7 (K7T/N) và 81 (A81T) ở vùng pre-S1 và codon bắt đầu (M1V/I/A) ở vùng pre-S2. Ngược lại, tần suất thay thế axit amin codon 2 (Q2K/R) ở vùng pre-S2 thấp hơn so với nhóm BN đối chứng.

Zhang và cs thấy đột biến điểm C2964A, A2962G và C3116T trong vùng pre-S1; C7A và T53C trong vùng pre-S2 có liên quan đến tăng nguy cơ HCC và đột biến mới C105T trong vùng pre-S2 có liên quan nghịch với nguy cơ HCC.

Mun và cs đã chứng minh rằng sự thay thế axit amin F141L trong vùng pre-S2 làm tăng nguy cơ HCC ở những đối tượng nhiễm HBV kiểu gen C và đột biến F141L-LHBs có thể gây ra sự tiến triển chu kỳ tế bào bằng cách điều chỉnh giảm chức năng p53 và p21, đồng thời điều hòa tăng kinase 4 và cyclin A.

Các nghiên cứu tại Việt Nam

Tại Thành phố Hồ Chí Minh, Nguyễn Thị Cẩm Hương khảo sát đột biến vùng PC và BCP của HBV ở 515 BN nhiễm vi rút mạn kết luận: tỷ lệ 2 đột biến A1762T/G1764A trong toàn dân số nghiên cứu là 36,7%, thấp nhất ở nhóm dung nạp miễn dịch (11,1%) và nhóm mang HBV không hoạt tính (25,2%); và cao nhất ở nhóm HCC (64,7%). Tỷ lệ đột biến G1896A toàn dân số nghiên cứu là 38,6%, tỷ lệ G1896A thấp nhất ở nhóm dung nạp miễn dịch (9,7%); cao hơn có ý nghĩa ở nhóm viêm gan B mạn HBeAg dương (39,7%), nhóm viêm gan B mạn HBeAg âm (52,6%), nhóm mang HBV không hoạt tính (IC) (42,3%), nhóm xơ gan (43,5%) và nhóm HCC (41,2%). Nhóm tuổi ≥ 40 (OR=2,6, KTC 95% 1,67-4,1) và genotype C (OR= 8,3, KTC 95% 5,2-13,4) liên quan có ý nghĩa với đột biến A1762T/G1764A. HBeAg âm (OR=2,2, KTC 95% 1,7-3,8) và genotype B (OR=4, KTC 95% 2,5-6,6) liên quan có ý nghĩa với đột biến G1896A. Đột biến bộ ba vùng BCP T1753V/A1762T/G1764A liên quan có ý nghĩa với HCC (OR=4,5, KTC 95% 1,9-11,1).

3. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1 Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu cắt ngang phân tích.

3.2 Đối tượng nghiên cứu

3.2.1 Dân số nghiên cứu

Người đã được chẩn đoán nhiễm HBV mạn tính theo dõi và điều trị tại phòng khám Viêm gan Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

3.2.2 Tiêu chuẩn chọn bệnh và loại trừ

Tiêu chuẩn chọn vào

- Người nhiễm HBV mạn >18 tuổi đang khám Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh trong thời gian thực hiện nghiên cứu.
- Bệnh nhân có hồ sơ dữ liệu đầy đủ thông tin về hành chính, tiền căn, lâm sàng, cận lâm sàng và mẫu huyết thanh được lưu trữ tại Trung tâm Y sinh học phân tử Đại Học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh từ nghiên cứu “Khảo sát đột biến gen pre-S/S của siêu vi viêm gan B ở bệnh nhân nhiễm HBV mạn”.
- Có HBV DNA > 10^4 copies/mL, nhóm bệnh nhân có xơ gan hay HCC cần có HBV DNA > 300 copies/mL.

Tiêu chuẩn loại trừ

- Có các bệnh lý về gan do thuốc
- Đồng nhiễm HIV và HCV
- Bệnh nhân đang mang thai

3.3 Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu từ tháng 5/2019 đến tháng 6/2021.

Địa điểm nghiên cứu tại phòng khám Viêm gan, Khoa Khám bệnh Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

3.4 Cỡ mẫu của nghiên cứu

Mục tiêu 1: cỡ mẫu tối thiểu là 268

Mục tiêu 2: 22 ở nhóm HCC và 88 ở nhóm không HCC

3.5 Phương pháp chọn mẫu

Trong thời gian thực hiện nghiên cứu từ 5/2019 đến 6/2021, chúng tôi tiến hành lấy mẫu tiến cứu và hồi cứu như sau:

Tiến cứu: Lấy mẫu thuận tiện tất cả bệnh nhân đến khám tại phòng khám Viêm gan, Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh trong thời gian thực hiện nghiên cứu thỏa các tiêu chí chọn mẫu.

Hồi cứu: Lấy mẫu thuận tiện bệnh nhân từ hồ sơ nghiên cứu của nghiên cứu “Khảo sát đột biến gen pre-S/S của siêu vi viêm gan B ở bệnh nhân nhiễm HBV mạn” từ năm 2013 đến năm 2016 thỏa các tiêu chí chọn mẫu, cùng với mẫu huyết thanh còn lưu trữ tại Trung tâm Y sinh học phân tử Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh và đủ sử dụng để giải trình tự gen pre-S/S.

3.6. Phương pháp phân tích số liệu

Sử dụng phần mềm SPSS 25 để nhập và phân tích số liệu.

3.7 Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu đã thông qua Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học.

4. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Từ tháng 5/2019 đến tháng 6/2021, có 300 bệnh nhân đủ tiêu chuẩn vào nghiên cứu: hồi cứu 212 và tiền cứu 88.

4.1. Đặc điểm chung của dân số nghiên cứu

Bảng 4.1: Đặc điểm dân số xã hội (n=300)

Đặc điểm	Tần số (n)	Tỷ lệ (%)
Giới tính		
Nam	210	70
Nữ	90	30
Nhóm tuổi		
<40	127	42,3
≥40	173	57,7
Hút thuốc lá		
Có	53	17,7
Không	247	82,3
Thời gian biết nhiễm viêm gan vi rút B mạn tính	Trung bình ± độ lệch chuẩn	
	10,9 ± 3,67	

Tuổi trung vị là 42 (32-53). Phần lớn bệnh nhân không hút thuốc lá chiếm tỷ lệ 82,3%.

4.2 Đặc điểm lâm sàng

Bảng 4.2: Đặc điểm lâm sàng (n=300)

Đặc điểm	Tần số (n)	Tỷ lệ (%)
Đợt bùng phát viêm gan vi rút B		
Có	95	31,7
Không	205	68,3

HCC

Có	62	20,7
Không	238	79,3
Xơ gan		
Có	69	23
Không	231	77

4.3 Đặc điểm cận lâm sàng

Bảng 4.3: Đặc điểm liên quan với HBV (n=300)

Đặc điểm của HBV		n	%
HBeAg	âm	139	46,3
	dương	161	53,7
HBV DNA (log copies/mL)	< 5	63	21
Trung vị (IQR)= 6,63 (5,17-7,81)	5-8	168	56
	> 8	69	23
Kiểu gen	B	169	56,3
	C	122	40,7
	B và C	9	3,0
Nồng độ HBsAg (log IU/mL) (n=261)	< 3	74	24,7
	≥ 3	187	62,3
Trung vị (IQR): 3,39 (2,96-4,06)			
Đồng hiện diện HBsAg và anti-HBs (n=267)	Có	48	18
	Không	219	82

4.4. Mô tả các đặc điểm đột biến trên gen pre-S/S

4.4.1. Đặc điểm đột biến trên vùng pre-S

Bảng 4.4: Đặc điểm phân bố đột biến vùng pre-S1 và pre-S2

<i>pre-S1 (aa 1-119)</i> (n= 286)	Tần số (%)	<i>pre-S2 (aa 120-174)</i> (n= 284)	Tần số (%)
Đột biến điểm			
G2R	1 (0,3)	M120V/I	30 (10,6)
W4P/R/Y	13 (4,5)	Q121R/K	15 (5,3)
S5L/T	7 (2,4)	W122R	3 (1,1)
S6A	3 (1,0)	N123T/K	3 (1,1)
K7N	1 (0,3)	S124T	10 (3,5)
P8T	1 (0,3)	T125S/N/P	82 (28,9)
Q10K/H/R	46 (16,1)	T126N/I/A	4 (1,4)
T14I	1 (0,3)	H128L	4 (1,4)
S17F/A	4 (1,4)	Q129K	1 (0,4)
P19S	1 (0,3)	A130T/N	12 (4,2)
F25L	1 (0,3)	L/Q132I/H	6 (2,1)
D27G/S	38 (13,3)	D133N	1 (0,4)
I31T	1 (0,3)	P134H/T	2 (0,7)
P32L	3 (1,0)	R135K	2 (0,7)
A33F/L	2 (0,7)	V136A	1 (0,4)
F34Y	1 (0,3)	R137K/Q	5 (1,8)
G35R/K	24 (8,4)	A138D	2 (0,7)
S38T	2 (0,7)	L139Q/P	2 (0,7)
N/E39K/G/D	12 (4,2)	Y140S/N/H/F	9 (3,2)
N40Y/T	2 (0,7)	F141V/L/I	33 (11,6)
P41Q	1 (0,3)	A143V	1 (0,4)
D42N	1 (0,3)	S146F	2 (0,7)
D44H/N	3 (1,0)	S147G	2 (0,7)
L45R/F	10 (3,5)	S148L	4 (1,4)

H48Y/N	39 (13,6)	G149E/K	10 (3,5)
D50N/E	2 (0,7)	I150T	124 (43,7)
N/H51Y/T/S/Q	83 (29,0)	V151A	5 (1,8)
E/D54A/N	68 (23,1)	S152N	1 (0,4)
A55S	1 (0,3)	P153L	1 (0,4)
I/N56H/W	71 (24,8)	Q155P/H	3 (1,1)
K57Q/K	69 (24,1)	N156T/I/S	8 (2,8)
G59A	1 (0,3)	T157S	2 (0,7)
A60V	70 (24,5)	V158A	97 (34,2)
D/A62S/T	69 (24,1)	A160T/P	5 (1,8)
P65T	2 (0,7)	I161T/L	4 (1,4)
F67V/L	2 (0,7)	T164I/D/S	18 (6,3)
V68T/S/I	132 (46,2)	F165S/L	19 (6,7)
P70S	2 (0,7)	S166A/L	6 (2,1)
G73S/N	65 (22,7)	K167T	14 (4,9)
L74M/V	7 (2,4)	T168I	4 (1,4)
L75V/M	5 (1,7)	V172A	3 (1,1)
W77R/G	5 (1,7)	P173Q/L	9 (3,2)
S78N	3 (1,0)	N174S/K	2 (0,7)
Q80L/H	3 (1,0)		
A81T	6 (2,1)		
Q82L	1 (0,3)		
I84V/M/L	24 (8,4)		
L85I/H/F	4 (1,4)		
T86A/S	8 (2,8)		
T/N87S/P	136 (47,6)		
V88I/M/L	6 (2,1)		
P89R	1 (0,3)		
A90T/S/G	6 (2,1)		
A91T/P	8 (2,8)		
P92L	1 (0,3)		

P94T/S	5 (1,7)		
V95A	67 (23,4)		
T97I/A	4 (1,4)		
N98T/K/I	4 (1,4)		
S101T/L	2 (0,7)		
G102R/K	3 (1,0)		
R103T	1 (0,3)		
Q104R/K	4 (1,4)		
L108V/I	5 (1,7)		
S109T	14 (4,9)		
R113T	1 (0,3)		
D114E	2 (0,7)		
T115S/C	7 (2,4)		
Q118L	1 (0,3)		
A119V	1 (0,3)		
Mất đoạn <i>pre-S1</i>	61 (21,3)	Mất đoạn <i>pre-S2</i>	43 (15,1)
Đột biến vùng chức năng (≥ 1 điểm đột biến)			
NTCP (aa2-48)	136 (47,6)		
Hsc70 (aa74-118)	201 (70,3)		
S promoter (aa 66-111)	205 (71,7)		
NBS (aa 103-127)	130 (45,5)		
T cell epitope (aa 21-30, 52-67)	90 (31,5)		
B cell epitope (aa12-47, 72-78, 94-117)	121 (42,3)		

4.4.2. Đặc điểm đột biến trên vùng gen S

Bảng 4.5: Đặc điểm phân bố đột biến vùng gen S

<i>S (aa 1-227) (n=297)</i>	Tần số (%)		Tần số (%)
Đột biến điểm			
E2G	1 (0,3)	L109I/P/Q	6 (2,0)
N3S	1 (0,3)	I110L/Q	12 (4,0)
T4I	1 (0,3)	R112K	1 (0,3)
A5T/S	15 (5,1)	T113N	1 (0,3)
G7K	2 (0,7)	S114T/P/A	8 (2,7)
F8P	1 (0,3)	T115N	1 (0,3)
L9P	3 (1,0)	T116N	1 (0,3)
G10R	3 (1,0)	T118M	1 (0,3)
P11H	1 (0,3)	P120S/T	22 (7,4)
L12R	1 (0,3)	R122K	27 (9,1)
L13P/V	2 (0,7)	T123A/N	4 (1,3)
V14A/G/Q	28 (9,4)	I126T/N/S	60 (20,2)
L15S	4 (1,3)	P127T/A/S	15 (5,1)
Q16P	2 (0,7)	A128V	2 (0,7)
A17E	2 (0,7)	Q129R/N/L	5 (1,7)
G18R	2 (0,7)	G130R	1 (0,3)
F19S	1 (0,3)	T131N/S	12 (4,0)
F20S	7 (2,4)	S132P	2 (0,7)
L21S	86 (29,0)	M133T/S/L/I	23 (7,7)
L22W	1 (0,3)	F134Y/V/L/I	6 (2,0)
R24K	4 (1,3)	S136F	1 (0,3)
I25V/A	5 (1,7)	T140I	8 (2,7)
L26P	1 (0,3)	T143M	3 (1,0)
T27I	2 (0,7)	D144E/A	2 (0,7)
I28T	1 (0,3)	G145R/A	6 (2,0)
P29L	3 (1,0)	N147S	1 (0,3)

Q30R/K	6 (2,0)	I150T	2 (0,7)
S31R	1 (0,3)	P151H	1 (0,3)
L32P	1 (0,3)	W156L	3 (1,0)
D33G	2 (0,7)	A159V	11 (3,7)
S34L	1 (0,3)	R160K	7 (2,4)
W35STOP	1 (0,3)	Y161F/S	28 (9,4)
N40S/K	26 (8,8)	F162Y	1 (0,3)
F41S	3 (1,0)	Y163F	2 (0,7)
L42P/R	10 (3,4)	E164G	2 (0,7)
G43K	1 (0,3)	A166V/G	6 (2,0)
G44E/V	49 (16,5)	S167L	2 (0,7)
A45T/G/V	8 (2,7)	V168A	2 (0,7)
P46H/L	4 (1,3)	F170S	1 (0,3)
T47A/E/V/K	26 (8,8)	W172C	1 (0,3)
C48S	2 (0,7)	L173P	3 (1,0)
P/L49R/H	16 (5,4)	S174N	4 (1,3)
Q51L	2 (0,7)	L175S	1 (0,3)
S53L	100 (33,7)	V177L	2 (0,7)
Q56P	3 (1,0)	F179S	1 (0,3)
I57T	1 (0,3)	V180A	2 (0,7)
S59N	1 (0,3)	W182STOP	1 (0,3)
S61L	10 (3,4)	A184V/G	112 (37,7)
P62Q/L	25 (8,4)	L186H	2 (0,7)
C64Y	2 (0,7)	T189I	16 (5,4)
P67Q	7 (2,4)	V190A	4 (1,3)
I68T	11 (3,7)	S193L	5 (1,7)
Y72C	1 (0,3)	I195T	1 (0,3)
R73H	1 (0,3)	M198I	53 (17,8)
W74S/L	7 (2,4)	W199L/STOP	4 (1,3)
M75T	1 (0,3)	Y200F/W	19 (6,4)
C76Y/T/W	31 (10,9)	P203R	10 (3,5)

L77R	9 (3,0)	S204R/N	28 (9,8)
R79H	3 (1,0)	L205V	1 (0,4)
F80S	1 (0,3)	Y206H/F/C	6 (2,1)
F83S/C	3 (1,0)	N207S	3 (1,1)
C85Y/F	3 (1,0)	I208T/S	15 (5,3)
L88P	3 (1,0)	L209V/S/G	5 (1,8)
L89P	1 (0,3)	S210K/N/R	105 (35,4)
I92T	4 (1,3)	P211R	1 (0,4)
F93S/C	7 (2,4)	F212Y/L/C	5 (1,8)
L95W	7 (2,4)	L213I/M	21 (7,4)
V96G	2 (0,7)	L215P	1 (0,4)
L98V	4 (1,3)	L216STOP/Y	5 (1,8)
Y100C/F	13 (4,4)	P217S/L	2 (0,7)
Q101K/H/R	18 (6,1)	I218L	1 (0,4)
Q102R	1 (0,3)	F220Y/L/C	8 (2,8)
M103T	2 (0,7)	C221Y/R	14 (4,7)
L104W	1 (0,3)	L222P	1 (0,3)
P108H	1 (0,3)	V224A	30 (10,1)
Có đột biến vùng (≥ 1 điểm đột biến)			
MHR (aa 100-169)	184 (62,0)		
Pre a (aa100-119)	59 (19,9)		
Vùng a (aa 124-148)	112 (37,7)		
Post a (aa 149-169)	60 (20,2)		
HLA-I (aa 87-98, 186-197, 215-223)	50 (16,8)		
HLA-II (aa97-106, 171-179, 206-215)	148 (49,8)		

4.5. Phân bố đột biến gen pre-S1/pre-S2 theo HCC

Bảng 4.6: Đột biến mất đoạn

ĐB mất đoạn	HCC (n=62)	Không HCC (n=238)	p
Có	10 (16,1%)	51 (21,5%)	0,36
Không	52 (83,9%)	187 (78,5%)	

Bảng 4.7: Liên quan giữa đột biến vùng pre-S1 và HCC (n=286)

aa	Đột biến vùng pre-S1	HCC (n=58)	Không HCC (n=228)	p
		Tần số - Tỷ lệ		
4	W4P/R/V/Y	7 (12,1)	6 (2,6)	0,006
5	S5L/T	3 (5,2%)	4 (1,7%)	0,16
48	H48N/Y/K/R	3 (5,2%)	36 (15,8%)	0,03
62	A/D62S/T	18 (31,0%)	51 (22,3%)	0,2 ^a
68	V68I/S/T	18 (31,0%)	114 (50,0%)	0,008 ^a
87	N/T87P/S	20 (34,5)	116 (50,9)	0,026 ^a
90	A90S/G/T	3 (5,2%)	3 (1,3%)	0,12
104	Q104K/R	2 (3,4%)	2 (0,8%)	0,19
108	I108L/V	3 (5,2)	2 (0,9)	0,048

Kiểm định Fisher, ^a: Kiểm định chi bình phương

Bảng 4.8: Liên quan giữa đột biến vùng pre-S2 và HCC (n=284)

aa	Đột biến	HCC	Không HCC	p
		(n=58)	(n=226)	
Tần số - Tỷ lệ				
141	F141V/L/I	11 (19)	22 (9,7)	0,043 ^a
150	I150T	17 (29,3)	107 (47,1)	0,018 ^a

^a: Kiểm định chi bình phương

4.6 Đột biến gen vùng S và ung thư biểu mô tế bào gan

Bảng 4.9: Liên quan giữa đột biến gen vùng S và HCC (n=297)

aa	Đột biến vùng S	HCC	Không HCC	p
		(n=59)	(n=238)	
Tần số - Tỷ lệ				
20	F20S	4 (6,7%)	3 (1,3%)	0,03
21	L21S/P/W	14 (23,7%)	72 (30,3)	0,2 ^a
30	Q30K/R/STOP	3 (5,1%)	3 (1,3%)	0,1
44	G44V/E	14 (23,8%)	35 (14,7%)	0,14 ^a
47	T47A/E/K/V	10 (16,9%)	16 (6,7%)	0,019 ^a
53	S53L	26 (44,1%)	79 (33,2%)	0,2 ^a
85	C85F/Y	2 (3,4%)	1 (0,4%)	0,11
98	L98V	3 (5,1%)	1 (0,4%)	0,029
109	L109I/P/Q	3 (5,1%)	3 (1,3%)	0,1
120	P120S/T	8 (12,6%)	14 (5,9%)	0,059 ^a
126	I126N/T/S	16 (27,1%)	44 (18,5%)	0,2 ^a
145	G145A/K/R	3 (5,1%)	3 (1,3%)	0,1
156	W156L	2 (3,4%)	1 (0,4%)	0,11
173	L173P	2 (3,4%)	1 (0,4%)	0,11
174	S174N	3 (5,1%)	1 (0,4%)	0,029
184	A184V/G	29 (49,1%)	83 (34,9%)	0,08 ^a
190	V190A	3 (5,1%)	1 (0,4%)	0,029
203	P203R	6 (10,2%)	6 (2,5%)	0,02
209	L209G/S/V	3 (5,1%)	2 (0,8%)	0,03
210	S210K/T/N/R	28 (47,5%)	80 (33,6%)	0,09 ^a
212	F212C/L/Y	4 (6,7%)	1 (0,4%)	0,007

Kiểm định Fisher, ^a: Kiểm định chi bình phương

4.7 Phân tích các yếu tố liên quan đến HCC

Bảng 3.10: Liên quan giữa đặc điểm chung và HCC (n=300)

Đặc điểm	HCC (n=62)		Không HCC (n=238)		P
	Tần số - Tỷ lệ				
Giới tính					
Nam	52	24,8	158	75,2	0,07*
Nữ	10	11,1	80	88,9	
Nhóm tuổi					
<40	15	12	110	88	<0,001*
≥40	47	26,9	128	73,1	
Hút thuốc lá					
Có	18	29	35	14,7	0,008*
Không	44	71,0	203	85,3	

*: Kiểm định chi bình phương

Bảng 4.11: Liên quan giữa đặc điểm lâm sàng và HCC (n=300)

Đặc điểm	HCC (n=62)		Không HCC (n=238)		P
	Tần số - Tỷ lệ				
Xơ gan					
Có	23	33,3	46	66,7	0,003*
Không	39	16,9	192	83,1	
Người bệnh đang trong đợt bùng phát viêm gan B					
Có	4	4,2	91	95,8	<0,001*
Không	58	24,7	177	75,3	
Thời gian biết nhiễm VGB					
Trung bình ± độ lệch chuẩn	9,11 ± 3,29		11,36 ± 4,18		<0,001**

*: Kiểm định chi bình phương, **: Kiểm định hồi quy logistic

Bảng 4.12: Phân tích đa biến các yếu tố liên quan đến ung thư biểu mô tế bào gan (n=284)

Đặc điểm	OR (95%CI)	P
Giới nam	3,68 (1,56-8,68)	0,003
Tuổi ≥ 40	6,97 (2,79-17,41)	<0,001
W4P/R/Y (pre-S1)	6,52 (1,49-18,65)	0,013
T47A/E/V/K (S)	3,02 (1,03-8,84)	0,044
P120S/T (S)	3,41 (1,19-9,80)	0,022
S174N (S)	20,60 (1,64-258,39)	0,019
P203R (S)	4,71 (1,08-20,55)	0,039

Hồi quy logistic

Các đột biến điểm có phân bố khác nhau giữa 2 nhóm HCC và không HCC với $p < 0,2$ được đưa vào phân tích đa biến với các yếu tố ngoài đột biến. Kết quả ghi nhận giới nam, nhóm tuổi ≥ 40 , đột biến điểm W4P/R/Y vùng pre-S1, 4 đột biến điểm gen S gồm có T47A/E/V/K, P120S/T, S174N, P203R là những yếu tố có liên quan đến HCC.

5. BÀN LUẬN

Đột biến vùng pre-S và vùng chức năng của pre-S

Tỷ lệ đột biến vùng chức năng trên S promoter, T cell epitope và B cell epitope ở nhóm HBV mạn có HCC trong NC là 60,3%, 29,3% và 37,9% thấp hơn so với nhóm không HCC là 74,6%, 32% và 43,4%. Đột biến mất đoạn vùng S promoter thấp hơn có ý nghĩa ở nhóm HCC (với $p=0,32$).

Đột biến vùng pre-S1 với tỷ lệ cao ở cả hai nhóm HBV mạn có và không có HCC là T/N87S/P (34,5% và 50,9%), V68I (31,0% và 50,0%), A/D62S (31,0% và 22,3%). Các đột biến có liên quan tới HCC qua NC này là W4P/R/V/Y, H48N/Y/K/R, V68I/S/T, N/T87P/S, I108L/V nằm trên vùng pre-S1; F141V/L/I, I150T nằm trên vùng pre-S2. Trong số này, các đột biến chiếm tỷ lệ cao trong số bệnh nhân HCC là N/T87P/S 34,5% (20/58), V68I/S/T 31,0% (18/58), I150T 29,3% (17/58), các đột biến khác chiếm tỷ lệ thấp hơn là W4P/R/V/Y 12,1% (7/58), H48N/Y/K/R 5,2% (3/58) và I108L/V 5,2% (3/58).

Đột biến W4P/R/V/Y vùng pre-S1 có tỷ lệ cao hơn có ý nghĩa ở nhóm HCC là 12,1% so với 2,6% ở nhóm không HCC ($p=0,006$). Phân tích đa biến cho thấy số chênh mắc HCC ở nhóm có đột biến này là 6,52 (OR=6,52; KTC:1,49-18,65) với $p=0,013$ và không phụ thuộc vào giới tính, tuổi hay các đặc tính nền của đối tượng NC. Mối liên quan của đột biến này tương tự của tác giả

Chen C.H. (2008). Các đột biến khác có mối liên quan với HCC là H48N/Y/K/R và I108L/V chiếm tỷ lệ rất thấp (5,2% tổng số bệnh nhân HCC) và chưa được ghi nhận là có liên quan tới HCC trong các NC trước đây. Mối liên quan tìm thấy trong NC này có thể do kiểu gen của HBV.

Đột biến điểm vùng S và vùng chức năng của S

Đột biến điểm vùng S phổ biến ở nhóm BN HCC là S53L (44,1%), A184V/G (49,1%), S210K/N/R/S (47,5%), G44V/E (23,8%), tại vị trí L21 (23,7%), T47A (16,9%). Tỷ lệ đột biến S53L, A184V/G và vị trí S210 cao hơn ở nhóm HCC, nhưng không có mối liên quan giữa nhóm nhiễm HBV mạn có HCC và không HCC với p lần lượt là 0,2; 0,08 và 0,09.

Đột biến có mối liên quan có ý nghĩa ($p < 0,05$) với nguy cơ HCC là T47A/E/K/V chiếm 16,9%. Các đột biến tỷ lệ thấp hơn như F20S 6,7%; L98V 5,1%; S174N 5,1%; V190A 5,1%; P203R 10,2%; L209G/S/V 5,1%; F212C/L/Y 6,7%, có liên quan tới HCC ở các nghiên cứu trước đây.

Đột biến P203R của chúng tôi là 10,2% thấp hơn so với Salpini là 17,4% nhưng đều liên quan với nguy cơ HCC. Đột biến S210R đầu tận C liên quan tới nguy cơ mắc HCC. Tỷ lệ đột biến S210K/T/N/R (47,5%) của chúng tôi cao hơn Salpini là 34,8%.

Đột biến vùng S có tỷ lệ cao hơn có ý nghĩa ở nhóm HCC như F20S, L98V, V190A, L209G/S/V, F212C/L/Y đều chiếm tỷ

lệ thấp dưới 10%. Tỷ lệ đột biến vùng S là 86,4% ở nhóm bệnh nhân HCC so với nhóm không HCC là 71,8%; vùng MHR ở nhóm HCC là 79,7% cao hơn có ý nghĩa so với nhóm không HCC là 57,6% với $p=0,002$, vùng a là 49,1% ở nhóm HCC so với 34,9% ở nhóm không HCC ($p=0,043$). Tỷ lệ này cao hơn so với tỷ lệ trong NC của Bui TTT năm 2017 với tỷ lệ đột biến vùng a chỉ là 8,1%, và nghiên cứu của Lazarevic I. (2019) ở 187 bệnh nhân nhiễm HBV là 31,0%. Tỷ lệ đột biến vùng HLA-II cao hơn có ý nghĩa ở nhóm HCC với tỷ lệ là 66,1% so với 45,8% ở nhóm không HCC.

Kết quả phân tích đa biến cho thấy các yếu tố nền như giới nam, tuổi ≥ 40 và sự hiện diện các đột biến điểm W4P/R/Y vùng pre-S1, T47A/E/V/K, P120S/T, S174N, P203R vùng S là những yếu tố nguy cơ độc lập của HCC.

Hạn chế của đề tài

NC thực hiện tại 1 địa điểm nên kết quả không đại diện được cho dân số nhiễm HBV mạn tính.

Kỹ thuật giải trình tự gen trực tiếp, chỉ phát hiện được đột biến khi tỷ lệ đột biến chiếm ít nhất 20% trong quần thể vi rút và tải lượng HBV DNA > 300 copies/mL.

Thiết kế nghiên cứu cắt ngang, nên chưa thể đưa ra được kết luận mối quan hệ nhân quả.

6. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Đặc điểm đột biến gen pre-S/S của vi rút viêm gan B

Tỷ lệ đột biến xảy ra trên vùng pre-S1 là 58,8%, vùng pre-S2 là 78,1% và vùng S là 66,9%. Các vị trí axit amin bị đột biến nhiều nhất của pre-S1 là V68 và T87, chiếm hơn 45%. Các vị trí axit amin bị thay thế nhiều nhất của pre-S2 là T125 chiếm 43,7% và I150 chiếm 28,9%.

Đột biến xóa đoạn vùng pre-S1 chiếm 21,3% và vùng pre-S2 chiếm 15,1%.

Xét theo các vùng chức năng: đột biến pre-S1 và pre-S2 tập trung nhiều nhất ở vùng S promoter (71,7%) và HSP70 (70,3%), sau đó NTCP (47,6%), NBS (45,5%), epitope tế bào B (42,3%) và epitope tế bào T (31,5%).

Các vị trí axit amin bị thay thế trong vùng S tập trung nhiều nhất tại vùng MHR (62%), tiếp đến là vùng HLA-II (49,8%) và vùng HLA-I (16,8%). Các vị trí axit amin thường bị thay thế trong vùng gen S gồm A184 (37,7%), S210 (35,4%) và S53 (33,7%).

2. Liên quan giữa đột biến gen pre-S/S của vi rút viêm gan B và ung thư biểu mô tế bào gan

Đột biến tại hai vị trí W4 và I108 của vùng pre-S1 có tỷ lệ cao hơn có ý nghĩa ở nhóm bệnh nhân viêm gan vi rút B mạn có HCC so với nhiễm HBV mạn không HCC ($p < 0,05$).

Các đột biến tại vị trí axit amin F20, T47, L98, S174, V190, P203, L209 và F212 của vùng chức năng MHR và HLA-II

trên gen S có tỷ lệ cao hơn có ý nghĩa ở nhóm bệnh nhân viêm gan vi rút B mạn có HCC so với nhiễm HBV mạn không HCC ($p < 0,05$).

Phân tích đa biến xác nhận có 7 yếu tố liên quan đến ung thư biểu mô tế bào gan gồm: giới nam, tuổi ≥ 40 , đột biến tại axit amin W4P/R/Y trên vùng pre-S1 và 4 đột biến tại các axit amin T47A/E/V/K, P120S/T, S174N và P203R trên vùng gen S của HBV.

KIẾN NGHỊ

1. Cần thực hiện nghiên cứu với kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới với khả năng phát hiện đột biến tới 0,1%, điều này giúp phát hiện các đột biến có tỷ lệ thấp như W4P/R/Y (pre-S1), S174N (S) nhưng có liên quan đến HCC và kỹ thuật này cũng đồng thời phát hiện đột biến ở những người bệnh có tải lượng HBV DNA thấp hơn 300 copies/mL.

2. Mở rộng nghiên cứu tại nhiều trung tâm điều trị viêm gan ở thành phố Hồ Chí Minh hay khu vực khác để kết quả nghiên cứu mang tính đại diện cho dân số nhiễm HBV mạn.

3. Ngoài ra, phân tích thêm ảnh hưởng của phối hợp các đột biến trên vùng pre-S/S với các đột biến trên gen PC/BCP, gen X của vi rút viêm gan B với HCC ở bệnh nhân Việt Nam, do đặc tính bộ gen vi rút xếp chồng lấp lên nhau và bản tính khiếm khuyết khả năng sửa lỗi của nó trong quá trình sao chép.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Nguyễn Thị Cẩm Hương, Lương Bắc An, Nguyễn Quang Trung, Hoàng Anh Vũ, Phạm Thị Lệ Hoa (2021), “Đặc điểm đột biến gen PreS/ S ở bệnh nhân nhiễm HBV mạn”, *Tạp chí Y Học Thành phố Hồ Chí Minh*, phụ bản tập 25, số 1- 2021: 109- 114.

2. Nguyễn Thị Cẩm Hương, Nguyễn Quang Trung, Lương Bắc An, Dương Bích Trâm, Hoàng Anh Vũ, Bùi Hữu Hoàng, Phạm Thị Lệ Hoa (2022), “Mutations in the HBV PreS/S gene related to hepatocellular carcinoma in Vietnamese chronic HBV- infected patients”, *PLOS One*, 7 April 2022.