

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO**

**BỘ Y TẾ**

**ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH**

-----

**TIỀN THANH LIÊM**

**NGHIÊN CỨU**

**BIỂU HIỆN DẤU ÁN TẾ BÀO GỐC UNG THƯ  
TRONG UNG THƯ BIỂU MÔ TẾ BÀO GAN**

Ngành: Giải phẫu bệnh-pháp Y

Mã số: **62 72 01 05**

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC**

TP. Hồ Chí Minh, năm 2022

Công trình được hoàn thành tại:

Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Người hướng dẫn khoa học: GS.TS. HỨA THỊ NGỌC HÀ

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 Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

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 TP. HCM
- Thư viện Đại học Y Dược TP. HCM

## **1. Giới thiệu luận án**

### **a. Lý do và tính cần thiết của nghiên cứu**

Theo Tổ chức Y tế thế giới (TCYTTG) ung thư gan là ung thư thường xảy ra và là nguyên nhân tử vong hàng đầu ở các nước kém phát triển. Trong ung thư gan thì ung thư biểu mô tế bào gan (UTBMTBG) chiếm đa số (khoảng 90%), khoảng 70-90% UTBMTBG có liên quan đến viêm gan siêu vi B, C mạn tính; xơ gan; bệnh lý gan do rượu; bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu,...ngoài ra còn có các yếu tố nguy cơ khác như nhiễm độc, hút thuốc lá,... Do có liên quan đến nhiều yếu tố nguy cơ và tính đa dạng của tế bào mà tiên lượng của UTBMTBG rất khác nhau. Các nhà khoa học nghiên cứu về sự đột biến của tế bào ung thư gan và phát hiện quần thể tế bào có đặc tính tương tự tế bào gốc bình thường.

Lý thuyết tế bào gốc ung thư đã chứng minh tế bào gốc ung thư có những đặc điểm: (i) tự làm mới, (ii) biệt hóa, (iii) hình thành u, và (iv) kháng hóa/xạ trị liệu. Những đặc tính độc đáo này có thể ứng dụng vào lâm sàng để hỗ trợ chẩn đoán, dự đoán tiên lượng và định hướng phát triển điều trị nhắm trúng đích là các tế bào gốc ung thư. Trên thế giới có nhiều nghiên cứu sử dụng các dấu ấn khác nhau: EpCAM, CK19, CD133, CD90, CD44, CD24 và CD13, như là các dấu ấn bề mặt tế bào đặc hiệu để bộc lộ tế bào gốc ung thư trong UTBMTBG. Tuy nhiên, do đặc tính không đồng nhất của UTBMTBG nên tính đặc hiệu riêng của mỗi dấu ấn tế bào gốc ung thư của gan là có giới hạn. Vì vậy, các nhà nghiên cứu thường phối hợp nhiều dấu ấn tế bào gốc ung thư kết hợp với các đặc điểm lâm sàng-giải phẫu bệnh để chẩn đoán và tiên lượng bệnh UTBMTBG.

Tại Việt Nam, chưa tìm thấy công trình nghiên cứu nào về kiểu biểu hiện, đồng biểu hiện của các dấu ấn tế bào gốc ung thư trong UTBMTBG được công bố. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp nhuộm hóa mô miễn dịch đối với 3 dấu ấn: CK19, CD44, EpCAM nhằm xác định kiểu biểu hiện, đồng biểu hiện tế bào gốc ung thư trong UTBMTBG vì những lý do sau:

- CK19 là dấu ấn biểu hiện đặc tính biệt hóa kém, xâm lấn, di căn của tế bào gốc ung thư của gan. UTBMTBG có tế u dương tính với CK19 thì tiên lượng xấu và kháng với các phương pháp điều trị tại chỗ như TACE, RFA,....

- CD44 là dấu ấn quan trọng được dùng để kết hợp với những dấu ấn khác làm tăng khả năng hiện diện của TBGUT của gan và mức độ biểu hiện của CD44 là một yếu tố tiên lượng xấu của UTBMTBG.

- EpCAM là dấu ấn không biểu hiện trong tế bào gan bình thường nhưng biểu hiện rõ trong mô gan tiền ung thư vì vậy EpCAM được xem là dấu ấn phát hiện sớm và giữ vai trò quan trọng trong sự khởi phát và tiên lượng của UTBMTBG.

Cho dù có nhiều tiến bộ trong điều trị ung thư gan, nhưng kết quả điều trị vẫn còn hạn chế, cho nên trong chiến lược điều trị ung thư cần phải có những nghiên cứu ở mức độ phân tử, xác định nguồn gốc tế bào ung thư của gan để nâng cao hiệu quả điều trị. Đây chính là lý do và sự cần thiết của đề tài nghiên cứu này.

#### **b. Mục tiêu nghiên cứu**

- Xác định kiểu biểu hiện và đồng biểu hiện của các dấu ấn CK19, CD44, EpCAM bằng phương pháp nhuộm hóa mô miễn dịch trong UTBMTBG.

- Xác định mối liên quan giữa kiểu biểu hiện và đồng biểu hiện của các dấu ấn CK19, CD44, EpCAM với các đặc điểm giải phẫu bệnh UTBMTBG.

### **c. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu**

- Bệnh nhân đã được phẫu thuật với chẩn đoán UTBMTBG từ năm 2010 đến 2012, được lưu tiêu bản, khối vùi nén tại Bộ môn Mô phôi-Giải phẫu bệnh, Đại Học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

- Phương pháp nghiên cứu: cắt ngang mô tả.

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

- Về lý luận: xác định dấu ấn tế bào gốc ung thư trong UTBMTBG bằng phương pháp hóa mô miễn dịch là hướng nghiên cứu mới để tìm hiểu về nguồn gốc của tế bào ung thư, quá trình sinh ung thư và phát triển của ung thư.

- Về thực tiễn: trên lâm sàng có thể dựa vào biểu hiện của tế bào gốc ung thư trong UTBMTBG để dự đoán tiên lượng bệnh, đánh giá kết quả điều trị và tìm hiểu nguyên nhân thất bại trong điều trị. Bên cạnh đó, việc xác định tế bào gốc ung thư giúp cho việc nghiên cứu mục tiêu phân tử, gen có liên quan tế bào gốc ung thư trong chiến lược điều trị trúng đích để cải thiện kết quả điều trị.

### **e. Bố cục của luận án**

Luận án có 95 trang (không kể tài liệu tham khảo và các phụ lục) gồm: phần mở đầu, 4 chương, 4 biểu đồ, 29 hình, 17 bảng; tài liệu tham khảo: 119 (06 tiếng Việt và 113 tiếng Anh), được bố cục như sau:

Mở đầu: 2 trang

Chương I Tổng quan: 29 trang

Chương II Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: 12 trang

Chương III Kết quả nghiên cứu: 29 Trang

Chương IV Bàn luận: 21 trang

Kết luận và kiến nghị 2 trang

## **2. Tổng quan tài liệu**

### **2.1. Tế bào gốc ung thư của gan**

- Tế bào gốc bình thường: tế bào gốc trưởng thành bình thường trải qua các giai đoạn phân chia tế bào làm tăng số lượng tế bào gốc và tế bào biệt hóa của các mô. Tế bào gốc bình thường có hai đặc tính: (1) *tự làm mới*, là khả năng tự tạo ra các tế bào gốc có tiềm năng tăng sinh vượt bậc, đặc tính này được xem là khả năng quan trọng nhất của một tế bào gốc, (2) *Biệt hóa* là chức năng thứ hai của tế bào gốc, có liên quan đến hệ thống phân tầng tế bào chuyển các thể hệ tế bào biệt hóa thành tế bào của mô chuyên biệt, thể hiện tiềm năng phát triển của các tế bào tiền thân và tế bào gốc.

- Tế bào gốc ung thư (TBGUT): là những tế bào ung thư sở hữu khả năng tự làm mới và tạo ra những dòng tế bào ung thư không đồng nhất trong u. TBGUT có các tính chất của tế bào gốc bình thường, có khả năng tăng sản quá mức, tự làm mới và khả năng biệt hóa thành những tế bào ung thư không sinh u. Vai trò của TBGUT đã được chứng minh trong một số bệnh ung thư nhưng nguồn gốc của TBGUT vẫn còn chưa rõ ràng.

### **2.2. Lý thuyết tế bào gốc ung thư**

TBGUT sở hữu những đặc tính của tế bào gốc bình thường: (i) tự làm mới, (ii) biệt hóa, (iii) sự hình thành u, (iv) kháng hóa/xạ trị liệu và (v) khả năng tăng sinh tạo ra khối u mới với kiểu hình chuyên dạng có tế bào u khác tế bào ban đầu. Như vậy, khi xác định TBGUT

trong khối u thì có thể dự đoán được sự di căn, sự tái phát tại chỗ, di căn xa và khả năng kháng hóa trị của tế bào u. Ứng dụng những đặc tính độc đáo này vào lâm sàng để hỗ trợ chẩn đoán, dự đoán tiên lượng và định hướng phát triển mục tiêu điều trị là TBGUT.

### **2.3. Tế bào gốc ung thư của gan**

Ung thư gan thường phát triển trên nền bệnh gan mạn tính, so với tế bào gốc của các loại u khác, thì tế bào gốc của gan trong bệnh gan mạn tính thường tăng cao hơn đáng kể và khả năng tăng sinh có thể là vô hạn.

Tùy theo mức độ tổn thương và tái tạo mô gan, có 3 loại tế bào tương ứng: (i) tế bào gan trưởng thành, là “tế bào gốc đơn năng”, tăng sinh sau khi tái tạo mô gan bình thường và đáp ứng nhanh với tổn thương gan; (ii) các tế bào hình bầu dục, như là các “tế bào gốc lưỡng năng”, được kích hoạt tăng sinh khi tổn thương gan mạn tính và lan rộng hoặc nếu sự tăng sinh tế bào gan bị ức chế; và (iii) các tế bào gốc tủy xương, như là các “tế bào gốc đa năng” của gan, có tiềm năng tăng sinh kéo dài. Có hai giả thuyết về nguồn gốc tế bào ung thư của gan còn đang tranh luận: hoặc từ sự trưởng thành tế bào gốc của gan bị kìm hãm hoặc từ sự hội biệt hóa của tế bào gan trưởng thành.

### **2.4. Dấu ấn tế bào gốc ung thư của gan**

*\* Cách phát hiện và phân lập tế bào gốc ung thư*

Dựa vào những đặc tính độc đáo của TBGUT, nhiều kỹ thuật và phương pháp phân tích khác nhau thường được dùng để phát hiện và phân lập TBGUT, như: bộc lộ dấu ấn bề mặt TBGUT; định kiểu hình bằng loại trừ Hoechst 33342; thử nghiệm tạo dòng; khảo sát khả năng tạo khối cầu trôi nổi trên đĩa cây; hiệu giá hoạt động men

aldehyde dehydrogenase (ALDH); phân tích dân số phụ và thử nghiệm kháng trị liệu thường quy để phân biệt TBGUT với tế bào gốc không ung thư dựa vào đặc tính chức năng của chúng; phương pháp chọn lọc tế bào như tế bào dòng chảy và chọn lọc tế bào hoạt hóa từ trường phân biệt TBGUT và tế bào gốc không ung thư; RT-PCR ghép và RT-PCR ghép định lượng độ nhạy cao; các kỹ thuật như hóa tế bào miễn dịch, miễn dịch huỳnh quang và HMMD được dùng để xác định TBGUT dựa vào mức độ và vị trí biểu hiện của dấu ấn protein. Ngoài ra, thử nghiệm chức năng tiêu chuẩn vàng để phát hiện và phân lập TBGUT là dị ghép vào động vật giảm miễn dịch. Những phương pháp này có ưu điểm và nhược điểm phụ thuộc vào quy trình của thử nghiệm. Tuy nhiên không có phương pháp nào có độ nhạy và độ đặc hiệu nổi trội hơn, vì thế sự kết hợp các phương pháp này giúp cho việc phát hiện và phân lập TBGUT có độ tin cậy cao hơn. Trong những năm gần đây, có nhiều nghiên cứu sử dụng phương pháp nhuộm HMMD bộc lộ các dấu ấn bề mặt TBGUT, như: EpCAM, CD113, CD90, CD44, CD24, CD13, CK19 và OV6,... để xác định TBGUT của gan và tăng khả năng phát hiện TBGUT trong UTBM TBG đã có nhiều tác giả tiến hành nghiên cứu kết hợp các dấu ấn bề mặt TBGUT của gan.

*\* Một số dấu ấn tế bào gốc ung thư của gan*

- Dấu ấn EpCAM

EpCAM là dấu ấn bề mặt tế bào biểu hiện trong hầu hết tế bào gốc ung thư biểu mô. Trong mô gan không u, dấu ấn EpCAM biểu hiện trong gan phôi thai, biểu mô ống mật và những tiểu ống mật tăng sinh trong xơ gan; dấu ấn EpCAM không biểu hiện trong tế bào gan bình thường ở người trưởng thành. Trong mô gan tiền ung thư,

dấu ấn EpCAM biểu hiện dương tính rõ nên được xem là dấu ấn phát hiện UTBMTBG giai đoạn sớm. Tế bào u dương tính với EpCAM giữ vai trò quan trọng trong sự khởi phát của UTBMTBG và EpCAM có thể là mục tiêu điều trị đầy hứa hẹn của UTBMTBG.

- Dấu ấn CK19

CK19 là một dấu ấn của tế bào đường mật, tế bào tiền thân của gan, và nguyên bào gan giai đoạn sớm; biểu hiện trong các tế bào ống mật ở gan bình thường và rải rác ở nhu mô gan trong bệnh lý xơ gan và UTBMTBG. CK19 là một dấu ấn tế bào gốc có mối liên quan chặt chẽ với sự xâm lấn, sự gia tăng kích thước u, giảm khả năng biệt hóa, sự di căn và xâm nhập mạch máu vi thể của UTBMTBG; CK19 là một yếu tố dự báo quan trọng đối với tiên lượng bệnh, khả năng sống còn của bệnh nhân, và sự tái phát u.

- Dấu ấn CD44

CD44 là glycoprotein bề mặt tế bào, hoạt động chủ yếu như là một thụ thể đối với axit hyaluronic, là dấu ấn TBGUT của vú, tụy, đại trực tràng và dạ dày. CD44 liên quan đến sự kết dính tế bào và biểu hiện của CD44 có liên quan đến sự xâm nhập và sự di căn của UTBMTBG. CD44 là dấu ấn quan trọng được dùng để kết hợp với những dấu ấn TBGUT khác làm tăng khả năng hiện diện của TBGUT của gan, bằng phương pháp nhuộm với hóa mô miễn dịch có thể xác định dấu ấn này. Tế bào UTBMTBG dương tính với CD44 có tiên lượng xấu và kháng hóa trị cao hơn tế bào âm tính với CD44.

*\* Ứng dụng lâm sàng của tế bào gốc ung thư*

- Ứng dụng đầu tiên của TBGUT là chẩn đoán ung thư giai đoạn sớm.

- Có thể tiên đoán được tình trạng kháng hóa/ xạ trị và lựa chọn phương pháp trị liệu thích hợp.
- Xây dựng chiến lược điều trị trúng đích TBGUT.
- TBGUT còn giữ vai trò quan trọng trong việc sản xuất các vaccine chống ung thư.

## **2.6. Tình hình nghiên cứu về các dấu ấn EpCAM, CK19, CD44**

Trên thế giới, có khá nhiều nghiên cứu đánh giá sự biểu hiện của EpCAM, CK19, CD44 bằng phương pháp HMMD trên mẫu mô UTBMTBG được công bố.

Tỉ lệ biểu hiện EpCAM trong UTBMTBG có sự khác nhau khá lớn giữa các nghiên cứu. Tùy theo nghiên cứu tỉ lệ biểu hiện thay đổi từ 8,5% đến 56%.

Tỉ lệ biểu hiện của CK19 trong UTBMTBG cũng có sự khác nhau đáng kể giữa các nghiên cứu, thay đổi từ 6% đến 24,5%.

Tỉ lệ biểu hiện của CD44 trong UTBMTBG dao động 30-70%.

Đã có một số nghiên cứu về mối liên quan của biểu hiện dấu ấn EpCAM, CK19, CD44 đặc điểm giải phẫu bệnh-lâm sàng và thời gian sống còn trong UTBMTBG để khẳng định vai trò tiên lượng, là mục tiêu điều trị trúng đích trong UTBMTBG. Có nghiên cứu đồng biểu hiện của CK19/EpCAM với tỉ lệ là 6,58%.

## **2.7. Tình hình ung thư gan**

Theo GLOBOCAN năm 2020, ung thư gan là loại ung thư được chẩn đoán phổ biến đứng hàng thứ 6 và là nguyên nhân tử vong đứng hàng thứ 4 do ung thư trên thế giới; chủ yếu ở các nước kém phát triển. Tỉ lệ mắc mới và tử vong do ung thư gan ở nam giới cao gấp 2 đến 3 lần so với nữ giới, đứng thứ năm về tỉ lệ mắc mới và thứ hai về

tử vong ở 13 quốc gia khu vực Bắc Phi, Tây Phi (Ai Cập, Gambia, Guinea), khu vực Đông Á và Đông Nam Á (Mông Cổ, Campuchia và Việt Nam).

Ở Việt Nam, tần suất mắc mới ung thư gan đứng hàng thứ 1, chiếm 15,4%; và ung thư gan cũng là nguyên nhân đứng hàng đầu gây tử vong do ung thư, chiếm 22,1%. Ở nam giới, ung thư gan đứng hàng thứ 1, chiếm 21,5% tất cả các trường hợp ung thư ở nam giới; ở nữ giới, ung thư gan đứng hàng thứ 5, chiếm 7,8% tất cả các trường hợp ung thư ở nữ giới.

Trong ung thư gan thì UTBMTBG chiếm đa số, khoảng 90%, trong đó khoảng 70-90% là hậu quả của bệnh lý viêm gan mạn tính do vi rút B, vi rút C; xơ gan; bệnh lý gan do rượu; bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu,...ngoài ra còn có các yếu tố nguy cơ khác như nhiễm độc, hút thuốc lá,... Một ghi nhận đáng lưu ý của Marilena và cộng sự là có bằng chứng cả phê không chỉ làm giảm tần suất mắc bệnh ung thư gan mà còn giảm tỉ lệ tử vong đi kèm bệnh lý gan mạn tính (mặc dù liều dùng chưa được xác định rõ).

UTBMTBG cũng không thống nhất trong thuật ngữ biểu hiện sinh học và sự đáp ứng với điều trị của chúng. Kết hợp phân tích gen và sự chuyển dạng đã xác định 6 phân nhóm chính của UTBMTBG có sự khác biệt về sinh học và ý nghĩa điều trị. Các tác giả cũng tìm thấy một phân nhóm của UTBMTBG có kiểu gen liên quan tế bào gốc và biểu hiện của những đặc tính của tế bào gốc ung thư.

## **2.8. Bệnh học ung thư biểu mô tế bào gan**

Hầu hết các trường hợp UTBMTBG tiến triển thường làm gan to (3000 gam), có mật độ mềm hơn mô gan xung quanh, ngoại trừ loại UTBMTBG dạng sợi mảnh hay loại xơ hóa có mật độ chắc hoặc có

thể cứng; u thường có những vùng hoại tử; màu sắc thay đổi từ xanh lá đến vàng hoặc nâu nhạt tùy thuộc vào tình trạng nhiễm mỡ và tiết mật của u.

UTBMTBG kinh điển gồm tế bào u biệt hóa tương tự tế bào gan kinh điển, nhưng tế bào tăng sinh và không điển hình từ ít đến rõ ràng; u mất cấu trúc khoảng cửa và giảm khung sợi reticulín; tăng sinh tiểu động mạch bất thường trong nhu mô và mao mạch dạng xoang.

Hiện nay với sự tiến bộ của các phương pháp xét nghiệm sinh học phân tử đã được ứng dụng vào phân tích sâu hơn nguồn gốc tế bào, phân tử của UTTBMTBG vì thế việc phân chia các cấu trúc đại thể, vi thể cũng có nhiều điểm mới. Tuy nhiên, để thống nhất trong việc thu thập dữ liệu, số liệu theo mục tiêu nghiên cứu, chúng tôi tham khảo bảng phân loại về ung thư gan nguyên phát của Hiệp hội ung thư gan Hàn Quốc năm 2017 và phân loại UTBMTBG theo phân loại u đường tiêu hóa của TCYTTG năm 2019.

#### \* Đại thể UTBMTBG

Theo bảng phân loại về ung thư gan nguyên phát của Hiệp hội ung thư gan Hàn Quốc năm 2017 và tham khảo bổ sung thêm một số chi tiết theo phân loại u đường tiêu hóa của TCYTTG năm 2019, đại thể của UTBMTBG gồm những cấu trúc đại thể, như: *Dạng “nốt mờ hồ”* là một nốt sần giới hạn không rõ ràng, thường gặp trong UTBMTBG giai đoạn đầu. *Dạng “nốt lan rộng”* là một nốt hình tròn có giới hạn rõ, xu hướng xâm lấn vỏ bao ra mô lân cận. *Dạng “nhiều nốt”* gồm tập hợp các nốt nhỏ. *Dạng này*, các nốt u tách biệt rõ ràng với nhau, khác với dạng một nốt kèm nhiều nốt u vệ tinh hoặc dạng lan tỏa. *Dạng “nốt kèm nhiều nốt vệ tinh”* gồm một nốt tương tự như

dạng nốt lan rộng kèm thêm các nốt vệ tinh, chiếm dưới 50% chu vi khối u. *Dạng “lan tỏa”* là dạng thâm nhiễm nhiều nốt nhỏ, (từ hàng chục đến hàng trăm) kích thước và hình dạng gần giống như các nốt tái tạo xơ gan, rải rác ở một thùy gan hoặc khắp toàn bộ gan.

Ngoài ra, TCYTTG và nhóm đồng thuận quốc tế về UTBMTBG chia UTBMTBG giai đoạn sớm thành 2 nhóm: (1) *UTBMTBG sớm* (biệt hóa tốt, kích thước <2 cm và dạng nốt giới hạn không rõ ràng – ranh giới khó xác định với mô gan xung quanh) và (2) *UTBMTBG nhỏ tiến triển* (kích thước <2 cm, nhưng biệt hóa vừa, dạng nốt rõ ràng – có vỏ bao rõ).

Một dạng hiếm gặp khác là UTBMTBG phát triển có cuống hoặc lồi ra ngoài bề mặt gan, gọi là *UTBMTBG có cuống*, nếu không có cuống thì dùng thuật ngữ *UTBMTBG “lồi ra”*, UTBMTBG dạng này hầu hết có tiên lượng tốt, nhưng cũng có một số ít có tiên lượng xấu hơn. Một số tác giả khác phân loại UTBMTBG theo 2 loại chính: *UTBMTBG “trong vỏ bao”* (giai đoạn ung thư sớm) và *UTBMTBG giai đoạn tiến xa* (đã phá vỡ vỏ bao). UTBMTBG “trong vỏ bao” là một dấu hiệu tiên lượng tốt.

*\* Ví thể UTBMTBG*

Theo phân loại u đường tiêu hóa của TCYTTG phiên bản thứ năm, xuất bản năm 2019, UTBMTBG có 04 cấu trúc mô học chủ yếu: dạng bè, dạng đặc, dạng giả tuyến và dạng bè to. Khoảng 50% UTBMTBG có cấu trúc hỗn hợp, thường gồm cấu trúc dạng bè và 1 hoặc 2 cấu trúc khác. Cấu trúc dạng bè to có tiên lượng xấu, tuy nhiên không có mối liên quan giữa các yếu tố lâm sàng với cấu trúc mô học. Bất kỳ cấu trúc mô học nào trong 04 cấu trúc này đều có thể hiện diện trong các UTBMTBG biến thể đặc hiệu.

Ngoài 04 dạng cấu trúc mô học thường gặp của UTBMTBG nêu trên, theo phân loại của TCYTTG năm 2019 còn ghi nhận các UTBMTBG dạng cấu trúc biến thể sau: *Dạng viêm gan nhiễm mỡ*, chiếm 5-20% UTBMTBG, có tình trạng viêm gan nhiễm mỡ chiếm hơn 5% khối u. Tiên lượng của UTBMTBG dạng viêm gan nhiễm mỡ tương tự như UTBMTBG dạng kinh điển. *Dạng sợi mảnh (phiến sợi)* chiếm 1% UTBMTBG, thường gặp ở tuổi trẻ, nguyên nhân và các yếu tố nguy cơ chưa rõ, tiên lượng như các UTBMTBG khác ở người không xơ gan, tốt hơn UTBMTBG kinh điển. *Dạng xơ hóa* chiếm 4% UTBMTBG, có tiên lượng tốt, cho dù có một số tác giả chưa đồng thuận. *Dạng giàu tế bào lymphô* là loại UTBMTBG ít gặp (<1%), do hiếm gặp nên có rất ít thông tin về đặc điểm lâm sàng, mô học và tiên lượng. *Dạng giàu bạch cầu trung tính* là loại UTBMTBG ít gặp (<1%), nhiều bạch cầu đa nhân trung tính tràn lan trong mô u, có thể có những vùng dạng sarcôm. *Dạng kỵ sắc*, tế bào u hầu hết có bào tương sáng (kỵ sắc), chủ yếu nhân mịn nhưng cũng có những vùng với nhân biến đổi nổi bật, chiếm 3% UTBMTBG.

UTBMTBG biến thể tế bào đặc trưng bao gồm: tiết mật, ứ đọng lipofuscin, tích tụ glycogen làm tế bào sáng, tế bào biến đổi mỡ. Tế bào u có thể chứa thể vùi: thể hyaline, thể Mallory-Denk, thể mờ. Ngoài ra còn có UTBMTBG đa dạng tế bào với nhiều tế bào khổng lồ nổi bật. Đôi khi UTBMTBG có 02 hoặc nhiều dạng khác nhau về cấu trúc, biến thể hình thái, và/ hoặc độ biệt hóa. Hầu hết các dạng này hiện diện trong UTBMTBG tiến triển với nốt tế bào u biệt hóa kém hơn tồn tại trong UTBMTBG – cấu trúc này được gọi là UTBMTBG *dạng nốt trong nốt*.

Cấu trúc mô học khác nhau và các biến thể tế bào thường thay đổi, xảy ra trên cùng một bệnh nhân tùy thuộc vào các giai đoạn biệt hóa khác nhau.

*\* Độ biệt hóa*

Theo bảng phân loại u đường tiêu hóa của TCYTTG (2019) với UTBMTBG, gồm 3 mức độ: *Biệt hoá tốt*: thường gặp ở giai đoạn sớm, kích thước u <2 cm. Tế bào u tương tự tế bào gan bình thường, kích thước tế bào và nhân ít thay đổi, tỉ lệ nhân/bào tương tăng, hạt nhân có thể không rõ; thường xếp thành dạng bè nhỏ, đôi khi dạng giả tuyến hay thoái hóa mỡ. Đối với những khối u có kích thước lớn hơn 3 cm, tế bào u biệt hóa tốt chỉ nằm ở vùng ngoại vi của khối u. *Biệt hoá vừa*: thường gặp u có kích thước >3 cm. Tế bào u dị dạng hơn loại biệt hoá tốt nhưng không quá dị dạng như loại biệt hoá kém, tế bào u có bào tương nhiều, bắt màu hồng, nhân tròn, hạt nhân rõ. Cấu trúc dạng bè (> 3 lớp tế bào), đôi khi dạng giả tuyến chứa dịch mật hay dịch protein. *Biệt hoá kém*: tế bào u đa dạng, nhân quá dị dạng rõ, tăng sắc, nhiều phân bào bất thường, các tế bào u tăng sinh dạng đặc xen lẫn với những vùng mô hoại tử. Loại này rất hiếm khi thấy ở các u nhỏ, giai đoạn đầu ung thư.

Một số UTBMTBG có nhiều hơn 1 độ biệt hóa, trong trường hợp này sẽ ghi nhận độ biệt hóa kém nhất (nếu chiếm số lượng ít) hoặc độ biệt hóa chiếm ưu thế hơn vì có liên quan đến tiên lượng.

### **3. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu**

Tiêu chuẩn chọn mẫu

+ Tất cả các mẫu bệnh phẩm phẫu thuật đã được xử lý và vùi nén, được chẩn đoán xác định UTBMTBG bằng phương pháp nhuộm HE thường quy.

+ Khối vùi nên đạt yêu cầu để nhuộm hóa mô miễn dịch: còn nguyên vẹn, không bị nứt, vỡ và đủ mô cắt mỏng.

Tiêu chuẩn loại trừ

+ Bệnh phẩm của bệnh nhân ung thư của cơ quan khác di căn đến gan hoặc ung thư gan đã có di căn đến cơ quan khác, di căn hạch.

+ Bệnh phẩm của bệnh nhân ung thư gan đã được điều trị bằng các phương pháp khác trước khi phẫu thuật.

+ Khối mô vùi nên bị hư hỏng do bảo quản hoặc không còn u để đánh giá.

Cỡ mẫu nghiên cứu được tính theo công thức:

$$n = \left( \frac{Z_{1-\alpha/2}^2 \times p \times (1 - p)}{d^2} \right)$$

Trong đó:

-  $Z_{1-\alpha/2}$ : phân vị của phân phối chuẩn bình thường

-  $Z_{1-\alpha/2} = 1,96$  tương ứng với mức độ tin cậy của ước lượng là 95% thì  $\alpha = 0,05$ .

- d: độ chính xác mong muốn (sai số biên, cho phép đến 0,1)

- p: tỉ lệ ước đoán tham số chưa biết của quần thể nghiên cứu. Ở đây p là tỉ lệ biểu hiện của các dấu ấn CK19, CD44 và EpCAM trên bệnh nhân UTBMTBG trong các nghiên cứu trước.

Chọn tỉ lệ biểu hiện của dấu ấn EpCAM là  $p_1 = 56\%$ ; tỉ lệ biểu hiện của dấu ấn CK19 là  $p_2 = 50\%$ ; và tỉ lệ biểu hiện của dấu ấn CD44 là  $p_3 = 48\%$ ; và xác định cỡ mẫu tối thiểu đối với dấu ấn EpCAM, dấu ấn CK19, dấu ấn CD44 cho nghiên cứu này là 95 trường hợp.

Như vậy, nghiên cứu này được thực hiện trên 100 trường hợp, nhiều hơn số mẫu có ý nghĩa thống kê.

Phương pháp chọn mẫu

Các đối tượng được chọn vào mẫu nghiên cứu theo phương pháp chọn mẫu có chủ đích.

Tiến hành nghiên cứu

Ghi nhận các thông tin lâm sàng và mô bệnh học

Tiến hành nhuộm hóa mô miễn dịch các dấu ấn CK19, CD44, EpCAM trên các tiêu bản nghiên cứu bằng máy nhuộm tự động.

Phương pháp đánh giá kết quả và xử lý số liệu

- Đánh giá đặc điểm đại thể của khối u

- Đánh giá đặc điểm vi thể của khối u

- Đánh giá kết quả nhuộm HMMD

+ Mức độ biểu hiện (TIS) dựa vào cường độ bắt màu (IS) và tỷ lệ bắt màu (PS) ở màng bào tương của tế bào u, đối với dấu ấn CK19, CD44: TIS = PS+IS; dấu ấn EpCAM: TIS=PSxIS

\* Cường độ bắt màu (IS) màng bào tương hoặc bào tương:

+ 0 điểm: không bắt màu      + 1 điểm: bắt màu yếu

+ 2 điểm: bắt màu mạnh

\* Tỷ lệ tế bào bắt màu (PS) màng bào tương hoặc bào tương:

+ 0 điểm: 0 – 5%

+ 2 điểm: 25% - 50%

+ 1 điểm: 5 - 25%

+ 3 điểm: > 50%

TIS= 0: không biểu hiện (-)

TIS= 3-4: biểu hiện vừa (2+)

TIS=1-2: biểu hiện yếu (+)

TIS=5-6: biểu hiện mạnh (3+)

Thống kê, xử lý số liệu

- Thu thập số liệu theo phiếu thu thập, phân tích và tổng hợp số liệu. Số liệu nghiên cứu trong các phiếu thu thập dữ liệu được mã

hoá thành các biến số để quản lý và phân tích bằng phần mềm thống kê SPSS 22.0.

*\* Khía cạnh y đức trong nghiên cứu*

Đã được Hội đồng Đạo đức trong NCYSH của Đại học Y được cấp Giấy xác nhận số 450/HĐĐĐ-ĐHYD, ngày 17 tháng 7 năm 2020.

#### 4. Kết quả

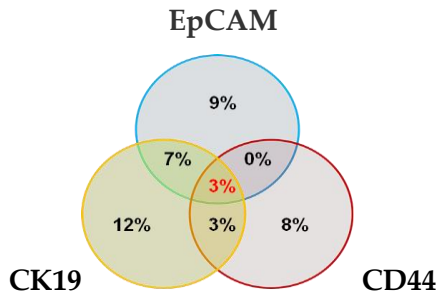
##### 4.1. Kết quả biểu hiện, đồng biểu hiện của các dấu ấn tế bào gốc ung thư

- Biểu hiện dấu ấn EpCAM dương tính chiếm tỉ lệ 19%, trong đó dương tính 1(+) có 13/19 trường hợp (chiếm 68,4%), dương tính 2(+) có 5/19 trường hợp (chiếm 26,3%), dương tính 3(+) có 1/19 trường hợp (chiếm 5,3%)

- Biểu hiện dấu ấn CK19 dương tính chiếm tỉ lệ 25%, trong đó dương tính 1(+) có 9/25 trường hợp (chiếm 36 %), dương tính 2(+) và dương tính 3(+) đều có 8/25 trường hợp (chiếm 32%)

- Biểu hiện dấu ấn CD44 dương tính chiếm tỉ lệ 14%, trong đó dương tính 1(+) có 6/14 trường hợp (chiếm 42,8%), dương tính 2(+) và dương tính 3(+) đều có 4/14 trường hợp (chiếm 28,6 %)

- Đồng biểu hiện dương tính của 3 dấu ấn CK19/EpCAM/CD44



**Biểu đồ 3.1.** Đồng biểu hiện của 3 dấu ấn CK19/EpCAM/CD44

**Bảng 3.4.** Đồng biểu hiện của dấu ấn EpCAM/CK19 trong UTBMTBG

<b>BHCK19</b> <b>BHEpCAM</b>	<b>Âm tính</b> <b>(n)</b>	<b>Dương tính</b> <b>(n)</b>	<b>Tổng</b> <b>cộng</b>	<b>Giá trị</b> <b>p</b>
Âm tính (n)	66	15	<b>81</b>	<b>0,002</b>
Dương tính (n)	9	<b>10</b>	<b>19</b>	
Tổng cộng	75	25	<b>100</b>	

*Giá trị  $p^* < 0,05$  có ý nghĩa thống kê*

**Bảng 3.5.** Đồng biểu hiện của dấu ấn EpCAM /CD44 trong UTBMTBG

<b>BHCD44</b> <b>BHEpCAM</b>	<b>Âm tính</b> <b>(n)</b>	<b>Dương tính</b> <b>(n)</b>	<b>Tổng</b> <b>cộng</b>	<b>Giá trị</b> <b>p</b>
Âm tính (n)	70	11	<b>81</b>	<b>0,803</b>
Dương tính (n)	16	<b>3</b>	<b>19</b>	
Tổng cộng	86	14	<b>100</b>	

**Bảng 3.6.** Đồng biểu hiện của dấu ấn CK19/CD44 trong UTBMTBG

<b>BHCD44</b> <b>BHCK19</b>	<b>Âm tính</b> <b>(n)</b>	<b>Dương tính</b> <b>(n)</b>	<b>Tổng</b> <b>cộng</b>	<b>Giá trị</b> <b>p</b>
Âm tính (n)	67	8	<b>75</b>	<b>0,096</b>
Dương tính (n)	19	<b>6</b>	<b>25</b>	
Tổng cộng	86	14	<b>100</b>	

Đồng biểu hiện EpCAM+/CK19+/CD44+ là 3%

#### **4.2. Kết quả khảo sát mối liên quan giữa biểu hiện và đồng biểu hiện của các dấu ấn EpCAM, CD44, CK19 với đặc điểm giải phẫu bệnh**

##### *\* Đặc điểm giải phẫu bệnh*

Giới: 86 nam, 14 nữ, tỉ lệ: 6:1

Tuổi: lớn nhất 79, nhỏ nhất 16, trung bình:  $54,3 \pm 11,4$ . Tuổi trung bình của nam giới là:  $54,5 \pm 11,1$ ; của nữ giới là  $52,8 \pm 13,1$ .

Tình trạng nhiễm siêu vi B, C: HBV 73% (nam 66%, nữ 07%); HCV 17% (nam 15%, nữ 02%); không VGVR: 10% chia đều cả hai giới.

Kích thước u: lớn nhất: 190 mm, nhỏ nhất: 10 mm, trung bình:  $45,3 \pm 31,8$  mm. Số lượng u: một u 80%, nhiều u 13%, lan tỏa 7%

Cấu trúc mô học: dạng giả tuyến 7%, dạng bè 36%, dạng đặc 33%, dạng hỗn hợp 24%.

Độ biệt hóa: tốt 15%, vừa 60%, kém 25%

Loại tế bào u: kinh điển 54%, sáng 13%, phòng bào 2%, khổng lồ 16%, hỗn hợp 15%. Phân bào: mức độ thấp 87%, mức độ cao 13%

Hoại tử u: có 35%, không có 65%. Xâm nhập mạch máu vi thể: có 18%, không có 82%

##### **\* Mối liên quan giữa biểu hiện và đồng biểu hiện của dấu ấn EpCAM, CK19, CD44 với đặc điểm giải phẫu bệnh UTBMTBG**

- Có mối liên quan có ý nghĩa thống kê theo phép kiểm  $\chi^2$  giữa biểu hiện dấu ấn CK19 với loại tế bào u,  $p=0,033$ ; và tình trạng thâm nhập tế bào viêm,  $p=0,034$ .

- Có mối liên quan có ý nghĩa thống kê theo phép kiểm  $\chi^2$  giữa đồng biểu hiện cặp dấu ấn EpCAM/CK19 với loại tế bào u,  $p=0,025$ ; và mức độ phân bào,  $p=0,032$ .

- Có mối liên quan có ý nghĩa thống kê theo phép kiểm  $\chi^2$  giữa đồng biểu hiện 3 dấu ấn EpCAM/CK19/CD44 với loại tế bào u,  $p=0,047$ .

- Mối liên quan giữa đồng biểu hiện EpCAM/CK19 có ý nghĩa thống kê theo phép kiểm  $\chi^2=9,55$ ,  $p=0,002$  ( $p<0,05$ ).

- Ghi nhận UTBMTBG không biểu hiện từng cặp hoặc cả ba dấu ấn EpCAM/CK19/CD44 có tuổi trung bình cao hơn UTBMTBG có biểu hiện dương tính 1 hoặc 2 hoặc cả 3 dấu ấn EpCAM/CK19/CD44.

## **5. Kết luận và kiến nghị**

### **5.1. Biểu hiện, đồng biểu hiện của các dấu ấn EpCAM, CK19, CD44 trên UTBMTBG**

- Tỷ lệ dấu ấn EpCAM dương tính là 19%; dấu ấn CK19 dương tính là 25%; dấu ấn CD44 dương tính là 14%.

- Tỷ lệ đồng biểu hiện dấu ấn EpCAM+/CK19+ là 10%, dấu ấn EpCAM+/CD44+ là 3%, dấu ấn CK19+/CD44+ là 6%, tỷ lệ dấu ấn EpCAM+/CK19+/CD44+ là 3%.

- Có mối liên quan giữa biểu hiện của dấu ấn EpCAM với biểu hiện của dấu ấn CK19.

- Không có sự khác biệt giữa các nhóm biểu hiện và đồng biểu hiện của các dấu ấn EpCAM/CK19/CD44.

### **5.2. Mối liên quan biểu hiện, đồng biểu hiện 3 dấu ấn EpCAM, CK19, CD44 với các đặc điểm giải phẫu bệnh UTBMTBG**

- Biểu hiện dấu ấn CK19 có mối liên quan với loại tế bào u, tình trạng thâm nhập viêm của UTBMTBG.

- Đồng biểu hiện EpCAM/CK19 có mối liên quan đến loại tế bào u và mức độ phân bào của UTBMTBG.

- Đồng biểu hiện của EpCAM/CK19/CD44 có mối liên quan đến loại tế bào u của UTBMTBG.

### **Kiến nghị**

- Các trường hợp mẫu bệnh phẩm được chẩn đoán là UTBMTBG cần nhuộm HMMD để đánh giá biểu hiện các dấu ấn EpCAM, CK19 nhằm xác định các mối liên quan và dự đoán tiên lượng cho bệnh nhân.

- Cần tiếp tục nghiên cứu khảo sát biểu hiện, đồng biểu hiện của các dấu ấn EpCAM, CK19, CD44 trên UTBMTBG bằng phương pháp nhuộm HMMD, đồng thời kết hợp các nghiên cứu khảo sát sinh học phân tử về các con đường tín hiệu phân tử có liên quan đến tế bào gốc ung thư và các dấu ấn tế bào gốc ung thư để góp phần định hướng chiến lược điều trị trúng đích tế bào gốc ung thư trong UTBMTBG.

- Cần tiếp tục thực hiện nghiên cứu theo cơ chế sinh ung của lý thuyết tế bào gốc ung thư với số liệu lớn hơn tại nhiều trung tâm, cơ sở y tế ở Việt Nam để phối hợp đánh giá theo dõi và ứng dụng vào lâm sàng đối với bệnh lý UTBMTBG.

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

1. Tiền Thanh Liêm, Lê Minh Huy, Trần Công Duy Long, Hứa Thị Ngọc Hà (2018) “Biểu hiện dấu ấn CD44 trong Carcinôm tế bào gan”, Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh, tập 22(2), tr. 76-81.
2. Tiền Thanh Liêm, Lê Minh Huy, Trần Công Duy Long, Hứa Thị Ngọc Hà (2018) “Biểu hiện dấu ấn CK19 trong Carcinôm tế bào gan”, Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh, tập 22(2), tr. 82-87.
3. Tiền Thanh Liêm, Lê Minh Huy, Trần Công Duy Long, Hứa Thị Ngọc Hà (2018) “Khảo sát đồng biểu hiện dấu ấn tế bào gốc và thời gian sống còn trong Carcinom tế bào gan”, Tạp chí Y học Việt Nam, tập 471, số chuyên đề, tr .37-44.
4. Tiền Thanh Liêm, Bùi Huỳnh Quang Minh, Lê Minh Huy, Hứa Thị Ngọc Hà (2018) “Mối liên quan giữa thời gian sống còn và biểu hiện, đồng biểu hiện của các dấu ấn tế bào gốc ung thư với đặc điểm giải phẫu bệnh của ung thư tế bào gan”, Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh, tập 23(5), tr .185-195.