

Khảo sát sự bộc lộ của các dấu ấn CD10, BCL6, MUM1 ở các dưới típ mô bệnh học u lympho lan tỏa tế bào B lớn tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Immunohistochemical expression of CD10, BCL6, MUM1 in diffuse large B cell lymphoma subtypes at 108 Military Central Hospital

Lê Thị Trang, Ngô Thị Minh Hạnh, Lê Thị Thanh Xuân,
Nguyễn Văn Phú Thắng, Đào Anh Tuấn,
Nguyễn Duy Hoàng, Vũ Quang Đức, Bùi Thị Thái

Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Tóm tắt

Mục tiêu: Xác định tỉ lệ phần trăm u lympho lan tỏa (ULLT) tế bào B lớn típ tâm mầm và không tâm mầm. Đánh giá sự bộc lộ của các dấu ấn hóa mô CD10, BCL6, MUM1 trong ULLT tế bào B lớn. **Đối tượng và phương pháp:** 44 bệnh nhân được xác định là ULLT tế bào B lớn bằng sự bộc lộ của dấu ấn CD20 hoặc CD79a và được nhuộm đủ 03 dấu ấn CD10, BCL6, MUM1 tại Bệnh viện TWQĐ 108. **Kết quả:** Tuổi trung bình mắc bệnh là $58,9 \pm 12,4$ năm; hay gặp nhất là nhóm tuổi > 50 . Tỷ lệ ULLT tế bào B lớn típ tâm mầm là 31,8% và không tâm mầm là 68,2%. Tỷ lệ bộc lộ dương tính của các dấu ấn CD10, BCL6, MUM1 lần lượt là 4,5%; 90,9% và 38,2%. **Kết luận:** Sự bộc lộ của các dấu ấn CD10, BCL6, MUM1 có ý nghĩa trong việc phân típ mô bệnh học của ULLT tế bào B lớn để xác định chính xác típ mô bệnh học giúp cho các nhà lâm sàng lựa chọn chính xác phác đồ điều trị và tiên lượng cho bệnh nhân.

Từ khóa: CD10, BCL6, MUM1, U lympho lan tỏa tế bào B lớn.

Summary

Objective: To determine the ratio percentage of germinal central B cell and non- germinal central B cell types of diffuse large B cell lymphoma (DLBCL). To evaluate to the expression of markers CD10, BCL6, MUM1 in diffuse large B cell lymphoma. **Subject and method:** 44 DLBCL patients were determined by markers CD20 or CD79a and were stained with 03 markers CD10, BCL6, MUM1 at 108 Military Central Hospital. **Result:** The average age of the disease was 58.9 ± 12.4 years; the most of the patients were over 50 years of age. The rate of germinal central B cell type of DLBCL was 31.8% and non-germinal central B cell type of DLBCL was 68.2%. The rate positive expression of markers CD10, BCL6 and MUM1 were 4.5%; 90.9% and 38.2%, respectively. **Conclusion:** The manifestation of markers CD10, BCL6, MUM1 is significant in the histopathological subdivision of diffuse large B cell lymphoma to determine the exact histopathology types to help clinicians choose the correct treatment regimen and prognosis for the patient.

Keywords: CD10, BCL6, MUM1, diffuse large B cell lymphoma.

Ngày nhận bài: 22/12/2020, ngày chấp nhận đăng: 19/01/2021

Người phản hồi: Lê Thị Trang, Email: bell.trangle@gmail.com - Bệnh viện TWQĐ 108

1. Đặt vấn đề

U lympho ác tính là u của các tế bào ác tính có nguồn gốc từ hệ bạch huyết và được chia thành u lympho Hodgkin và u lympho không Hodgkin. U lympho chiếm khoảng 3,37% trong tất cả các bệnh lý ác tính trên thế giới. Tỷ lệ mắc u lympho ở Mỹ là 16,11/100000, ở Nhật là 5,48/100000 dân và ở Việt Nam là 5,2/100000 dân. Các yếu tố môi trường và xã hội cũng góp phần tạo nên cơ chế bệnh sinh như virus, rối loạn miễn dịch, thuốc lá, rượu, ánh nắng mặt trời và cân nặng cao. U lympho không Hodgkin được chia thành 2 nhóm chính là u lympho tế bào B và u lympho tế bào T. Trong đó tế bào B chiếm 80 - 85% và tế bào T chiếm 10 - 15% [10].

U lympho lan tỏa (ULLT) tế bào B lớn làтип u lympho phổ biến nhất chiếm khoảng 30 - 40% trong tất cả các chẩn đoán u lympho [8, 11]. ULLT tế bào B lớn có thể được chia thành 2 dưới nhóm: Típ tâm mầm và típ không tâm mầm (tế bào B hoạt động) dựa vào dấu ấn hóa mô miễn dịch (HMMD) [5]. Típ tâm mầm có tiên lượng tốt và tỷ lệ bệnh nhân sống thêm 3 năm cao hơn típ không tâm mầm. ULLT tế bào B lớn típ tâm mầm bộc lộ với dấu ấn HMMD CD10 và BCL6, ngược lại típ không tâm mầm bộc lộ với dấu ấn MUM1 [8]. CD10 là một metallo-endopeptidase phụ thuộc kẽm bộc lộ ở màng tế bào B [2]. BCL6 là một chuỗi kẽm có hình ngón tay- yếu tố phiên mã đặc biệt bộc lộ trên nhân của tế bào B ở tâm mầm [6]. MUM1 là yếu tố đa u tủy xương-1 hoặc yếu tố điều hòa interferon-4 của protein phiên mã, bộc lộ ở nhân của tế bào dạng lympho bào [13]. Phân loại u lympho thành các dưới típ mô bệnh học (MBH) cụ thể dựa vào các dấu ấn HMMD giúp cho các nhà lâm sàng tiên lượng được bệnh và có phương pháp điều trị tốt hơn cho bệnh nhân, Chính vì vậy chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm mục tiêu: *Xác định tỷ lệ phần trăm u lympho típ tâm mầm và típ không tâm mầm; Đánh giá sự bộc lộ của các dấu ấn CD10, BCL6, MUM1 trong u lympho lan tỏa tế bào B lớn.*

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

Nghiên cứu được thực hiện trên 44 bệnh nhân được chẩn đoán ULLT tế bào B lớn tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 từ 01/2019 đến 04/2020.

Tiêu chuẩn lựa chọn mẫu nghiên cứu

Bệnh nhân được chẩn đoán ULLT tế bào B lớn với sự bộc lộ của dấu ấn CD20, CD79a.

Mẫu bệnh phẩm được nhuộm đủ 03 marker CD10, BCL6, MUM1.

Tiêu chuẩn loại trừ

Bệnh nhân không được chẩn đoán ULLT tế bào B lớn.

Mẫu bệnh phẩm không còn đủ hoặc không thực hiện được nhuộm HMMD.

2.2. Phương pháp

Các mẫu bệnh phẩm được cắt nhuộm H&E (Hematoxylin & Eosin) sau đó được nhuộm HMMD xác định nguồn gốc tế bào B bằng sự bộc lộ dấu ấn CD20, CD79a.

44 mẫu nghiên cứu được lựa chọn và xác định là ULLT tế bào B lớn được nhuộm tiếp với 3 dấu ấn CD10, BCL6, MUM1.

Đánh giá sự bộc lộ của các dấu ấn CD10, BCL6, MUM1:

CD10 dương tính màng tế bào u bắt màu nâu.

BCL6 dương tính nhân tế bào bắt màu nâu.

MUM1 dương tính nhân tế bào bắt màu nâu.

Phân loại típ mô bệnh học theo thuật toán Hans

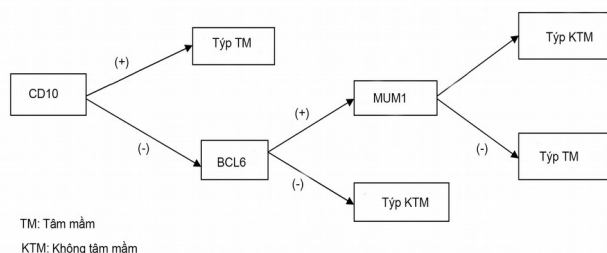
Dựa vào thuật toán Hans:

CD10 dương tính → Típ tâm mầm.

CD10 âm tính dựa vào dấu ấn BCL 6 đánh giá: nếu BCL6 dương tính → Típ Tâm mầm. Nếu BCL6 âm tính, đánh giá dựa vào dấu ấn MUM1:

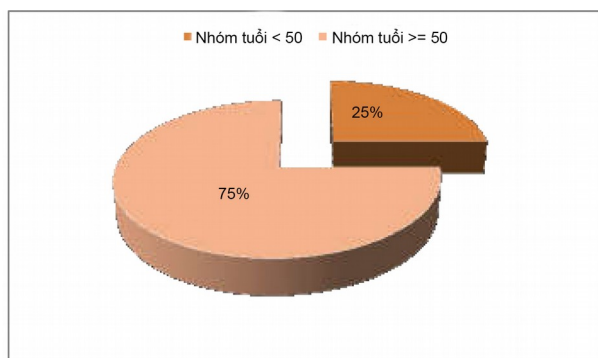
+ MUM 1 dương tính → Típ không tâm mầm.

+ MUM1 âm tính → Típ tâm mầm.



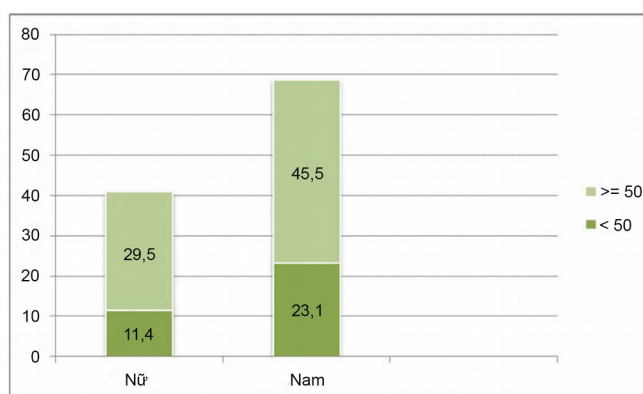
Hình 1. Sơ đồ thuật toán Hans

3. Kết quả



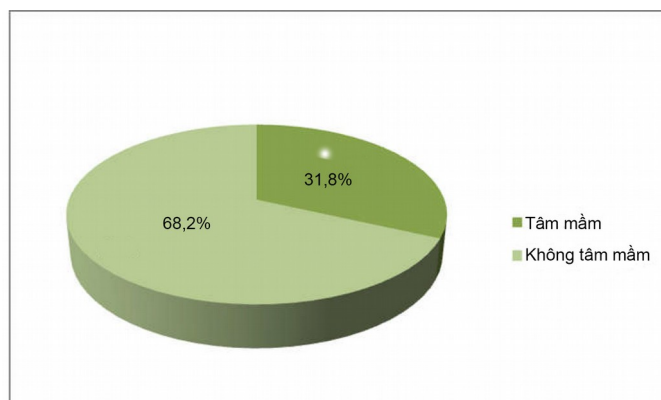
Biểu đồ 1. Phân bố ULLT tế bào B lớn theo nhóm tuổi

Nhận xét: Bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi có độ tuổi từ 26 đến 79, tuổi trung bình là $58,9 \pm 12,4$ năm. Trong đó nhóm tuổi > 50 hay gặp nhất, chiếm 75% (33 bệnh nhân).



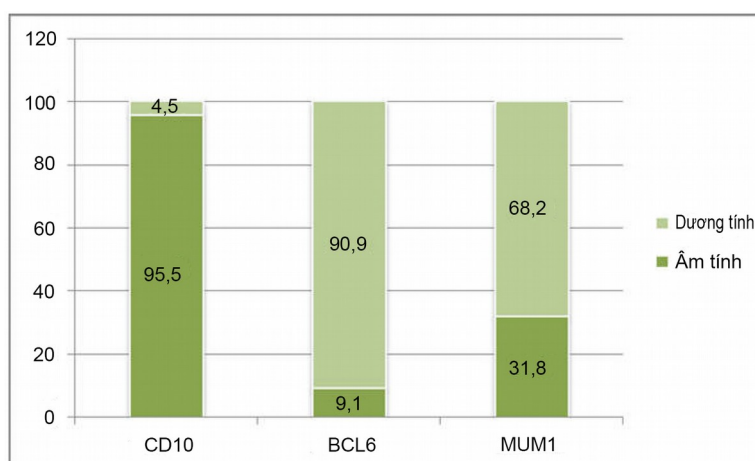
Biểu đồ 2. Phân bố ULLT tế bào B lớn theo giới và nhóm tuổi

Nhận xét: Trong 44 bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi có 26 bệnh nhân nam giới chiếm 59,1%; nữ giới có 18 bệnh nhân chiếm 40,9%. Tỷ lệ nam:nữ là 1,4:1. Số bệnh nhân ở độ tuổi >= 50 chiếm ưu thế ở cả hai giới.



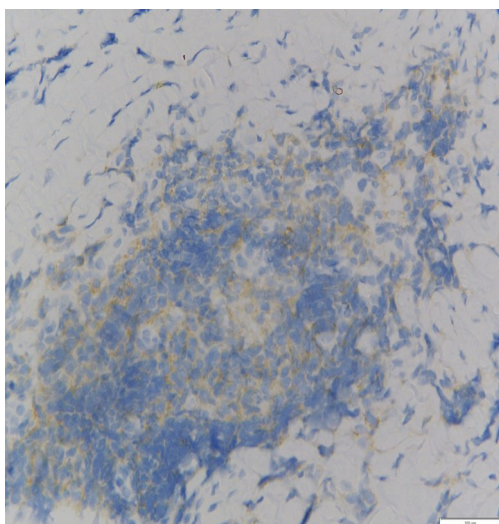
Biểu đồ 3. Tỷ lệ típ mô bệnh học của ULLT tế bào B lớn

Nhận xét: Trong số 44 bệnh nhân ULLT tế bào B lớn được nghiên cứu, típ không tâm mầm chiếm tỷ lệ cao nhất 68,2% (30 bệnh nhân) so với típ tâm mầm 31,8% (14 bệnh nhân).

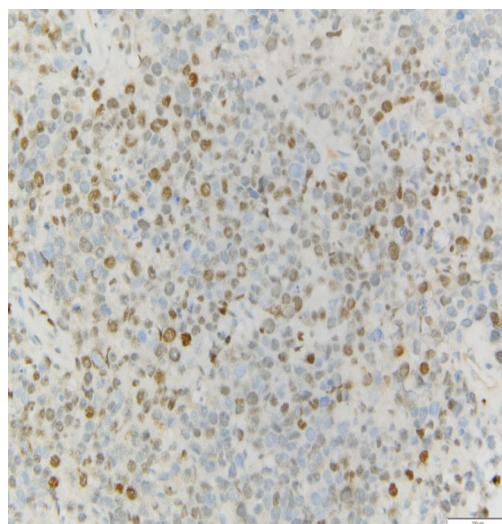


Biểu đồ 4. Tỷ lệ bộc lộ của các dấu ấn CD10, BCL6, MUM1

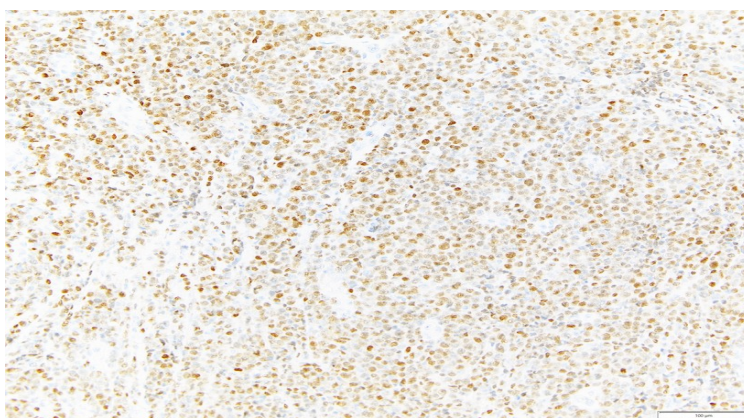
Nhận xét: Trong số 44 bệnh nhân nghiên cứu của chúng tôi, dấu ấn CD10 dương tính chỉ có 2 bệnh nhân (4,5%), BCL6 dương tính ở 40 bệnh nhân (90,9%) và MUM1 dương tính ở 30 bệnh nhân (68,2%).



Hình 1. CD10 (100x)- Phạm Thị T. 20B400



Hình 2. BCL6(200x)- Nguyễn Tường M. 20A348



Hình 3. Dấu ấn MUM1 (100x)- Vũ Tiến G. 20B1662

Bảng 1. Tỷ lệ bộc lộ các dấu ấn CD10, BCL6, MUM1 theo típ MBH

		Âm tính	Dương tính	Tổng	p
CD10	Tâm mầm	12 BN (27,3%)	2 BN (4,5%)	14 BN (31,8%)	0,034
	Không tâm mầm	30 BN (68,2%)	0	30 BN (68,2%)	
BCL6	Tâm mầm	0	14 BN (31,8%)	14 BN (31,8%)	0,152
	Không tâm mầm	4 BN (9,1%)	26 BN (59,1%)	30 BN (68,2%)	
MUM 1	Tâm mầm	14 BN (31,8%)	0	14 BN (31,8%)	0,00
	Không tâm mầm	0	30 BN (68,2%)	30 BN (68,2%)	

Nhận xét: Dựa vào thuật toán Hans, nghiên cứu của chúng tôi thấy rằng trong 14 bệnh nhân thuộc típ tâm mầm chỉ có 2 trường hợp CD10 dương tính (4,5%) được kết luận luôn là típ tâm mầm ở bước 1. 30 bệnh nhân thuộc típ không tâm mầm thì dấu ấn CD10 âm tính 100% được nhuộm ở bước 2 với BCL6 thì 4 BN âm tính với BCL6 được kết luận ở bước 2 là típ không tâm mầm và 26 BN được xác định khi nhuộm bước 3 với MUM1. 100% bệnh nhân típ không tâm mầm đều bộc lộ với MUM1. Sự bộc lộ dấu ấn CD10 và MUM1 trong 2 tip mô bệnh học có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (với $p=0,034$ và $0,00 < 0,05$).

4. Bàn luận

Sự phân bố của u lympho cho thấy sự không đồng nhất rõ rệt liên quan đến chủng tộc, khu vực địa lý, và đặc điểm khác nhau ở các khu vực khác nhau trên thế giới. Nghiên cứu của tác giả Chen Y và cộng sự (2010), trong 124 trường hợp ULLT tế bào B lớn thì có 22,1% típ tâm mầm và 78,2% típ không tâm mầm khi sử dụng thuật toán Hans [4]. Tương tự nghiên cứu của tác giả Ali Bajjwa A và cộng sự (2017) cho thấy típ không tâm mầm chiếm 62,5% và típ tâm mầm chiếm 37,5% [1]. Trái lại một nghiên cứu ở Nhật Bản của tác giả Habara T và cộng sự (2012) thì có 46% là típ tâm mầm và 54% là típ không tâm mầm [7].

Chẩn đoán u lympho và chẩn đoán MBH có sự tương quan giữa đặc điểm lâm sàng, hình thái học và sự bộc lộ HMMMD của u lympho để đưa ra chẩn đoán chính xác. Không có một dấu ấn HMMMD riêng biệt nào đặc hiệu cho bất kỳ khối u nào. Do đó, đặc biệt trong u lympho, chẩn đoán được dựa vào các dấu ấn HMMMD, diễn biến lâm sàng và đột biến gen.

Phân loại u lympho của WHO sử dụng tất cả các thông tin có sẵn và thông tin được cung cấp để chẩn đoán các dưới típ của u lympho bao gồm đặc điểm mô học, kiểu hình miễn dịch, di truyền và tiền sử bệnh. Các quyết định điều trị thường phụ thuộc vào diễn biến lâm sàng và giai đoạn bệnh, nhưng quyết định chính lại dựa trên phân loại MBH của u lympho. Vì thế bước quan trọng nhất trong việc quyết định phác đồ điều trị và dự đoán tiên lượng bệnh là chẩn đoán típ MBH chính xác. Phần lớn các típ u lympho sử dụng phác đồ phối hợp nhiều loại hóa chất để điều trị. Tuy nhiên, điều trị chính ULLT tế bào B lớn chủ yếu là hóa trị phối hợp cùng các thuốc ức chế thụ thể tại tế bào u (CD20).

Thuật toán Hans đã sử dụng 3 dấu ấn để phân biệt u lympho típ tâm mầm và không tâm mầm: CD10, BCL6, MUM1. Bộ ba dấu ấn này hữu ích trong việc xác định các típ mô bệnh học của ULLT tế bào B lớn, từ đó giúp các nhà lâm sàng dự đoán tiên lượng bệnh cho bệnh nhân [12].

Nghiên cứu của chúng tôi thấy rằng tuổi trung bình mắc bệnh là $58,9 \pm 12,4$ năm, nhóm tuổi > 50 chiếm ưu thế. Trong nghiên cứu của chúng tôi thì tỷ lệ típ không tâm mầm chiếm ưu thế (68,2%) hơn típ tâm mầm (31,8%). Nghiên cứu của chúng tôi cũng tương đồng với các nghiên cứu của tác giả Batle-Lospez A (Tây Ban Nha) cũng như một nghiên cứu của tác giả Hwang ở Hàn Quốc với típ tâm mầm lần lượt là 37,75% và 42,27% [3, 9]. Ngược lại, nghiên cứu của tác giả Visco và cộng sự cho thấy hai típ tâm mầm và không tâm mầm có tỷ lệ sắp xỉ nhau (46,4% và 52%) [14].

Dựa vào thuật toán Hans, chúng tôi thấy rằng trong 44 bệnh nhân ULLT tế bào B lớn chỉ có 2 bệnh

nhân (4,5%) dương tính với CD10 trong 14 bệnh nhân tít tâm mầm. Dấu ấn BCL6 dương tính ở 40 bệnh nhân (90,9%), MUM1 dương tính ở 30 bệnh nhân (62,8%) đều thuộc tít không tâm mầm. Nghiên cứu của tác giả Ali Bajjwa A và cộng sự (2017), tỉ lệ bộc lộ CD10, BCL6 đều là 37,5% và MUM1 là 62,5% [1]. Nghiên cứu của chúng tôi có sự khác nhau với các tác giả trên về tỉ lệ bộc lộ CD10 và BCL6 có thể do cỡ mẫu nghiên cứu của chúng tôi bé hơn, và do phân bố địa lý, sự bộc lộ kiểu hình, kiểu gen khác nhau. Sự bộc lộ của hai dấu ấn CD10 và MUM1 ở hai tít tâm mầm và không tâm mầm cho thấy sự đặc trưng của hai dấu ấn này với các tít MBH học giúp các nhà Giải phẫu bệnh phân loại chính xác dưới tít ULLT tế bào B lớn.

Gần đây, các nghiên cứu sử dụng phép lai tại chỗ đã chứng minh rằng bệnh nhân bộc lộ kiểu hình tâm mầm biểu hiện số lượng bất thường nhiễm sắc thể riêng biệt cao hơn so với những bệnh nhân có kiểu hình không tâm mầm. Do đó, nhưng dưới tít mô bệnh học này sẽ có những đặc điểm, triệu chứng lâm sàng khác nhau. Theo phân loại mới nhất của WHO về ULLT tế bào B lớn (2016) đã nêu rõ các đặc điểm của các tít MBH này.

Với ULLT tế bào B lớn cần được nhuộm đủ 3 dấu ấn CD10, BCL6, MUM1 để xác định dưới tít MBH, giúp cho các nhà lâm sàng lựa chọn được pháp đồ điều trị và tiên lượng chính xác hơn cho bệnh nhân.

5. Kết luận

Qua nghiên cứu 44 bệnh nhân u lympho lan tủa tế bào B lớn tại Bệnh viện TWQĐ 108, chúng tôi thấy rằng:

U lympho lan tủa tế bào B lớn có độ tuổi trung bình là $58,9 \pm 12,4$ tuổi, hay gặp nhất ở nhóm tuổi > 50 tuổi.

Tỉ lệ u lympho lan tủa tế bào B lớn tít tâm mầm là 31,8% và tít không tâm mầm là 68,2%

Sự bộc lộ dương tính của các tế bào u với các dấu ấn CD10, BCL6, MUM1 lần lượt là: 4,5%, 90,9% và 38,2%

Sự bộc lộ khác biệt của CD10 và MUM1 ở hai tít tâm mầm và không tâm mầm với $p < 0,05$ cho thấy sự đặc trưng của hai dấu ấn với hai tít mô bệnh học của u lympho lan tủa tế bào B lớn.

Tài liệu tham khảo

1. Akhter AB, Muhammad TK, Hafeez UD, Syed SA, Unaiza J and Umair ASK (2017) *Immunohistochemical expression of CD10, BCL6 and MUM1 in differentiating diffuse large B cell lymphoma subtypes*. Journal of College of Physicians And Surgeons Pakistan 27(10): 621-624.
2. Bahadir B, Behzatoglu K, Bektas S, Bozkurt ER, Ozdamar SO (2009) *CD10 expression in urothelial carcinoma of the bladder*. Diagn Pathol 4: 38.
3. Batlle-López A, González DV, Mazorra F, Malatxeberria S, Sáez A, Montalban C et al (2016) *Stratifying diffuse large B-cell lymphoma patients treated with chemoimmunotherapy: GCB/non-GCB by immunohistochemistry is still a robust and feasible marker*. Oncotarget 5(7): 18036-18049.
4. Chen Y, Han T, Iqbal J, Irons R, Chan WC, Zhu X et al (2010) *Diffuse large B-cell lymphoma in Chinese patients immuno-phenotypic and cytogenetic analysis of 124 cases*. Am J Clin Pathol 133: 305-313.
5. Gualco G, Weiss LM, Harrington WJ Jr, Bacchi CE (2009) *Nodal diffuse large B-cell lymphomas in children and adolescents: immunohistochemical expression patterns and c-MYC translocation in relation to clinical outcome*. Am J Surg Pathol 33: 1815-1822.
6. Guo Y, Takeuchi I, Karnan S, Miyata T, Oshima K, Seto M (2014) *Array-comparative genomic hybridization profiling of immunohistochemical subgroups of diffuse large B-cell lymphoma shows genomic alterations*. Cancer Sci 105: 481-489.
7. Habara T, Sato Y, Takata K, Iwaki N, Okumura H, Sanobe H et al (2012) *Germinal center B-cell-like versus non-germinal center B-cell-like as important prognostic factor for localized nodal DLBCL*. J Clin Exp Hematopathol 52: 91-99.
8. Hernandez-Ilizaliturri FJ, Deeb G, Zinzani PL, Pileri SA, Malik F, Macon WR et al (2011) *Higher response to lenalidomide in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma in nongerminal*

- center B-cell-like than in germinal center B-celllike phenotype. Cancer* 117: 5058-5066.
9. Huang Y, Ye S, Cao Y, Li Z, Huang J, Huang H, Cai M, Luo R, Lin T (2012) *Outcome of R-CHOP or CHOP regimen for germinal center and nongerminal center subtypes of diffuse large B-cell lymphoma of Chinese patients. Sci World J:* 8971-8978.
 10. Huh J (2012) *Epidemiologic overview of malignant lymphoma. Korean J Hematol* 47: 92-104.
 11. Menon MP, Pittaluga S, Jaffe ES (2012) *The histological and biological spectrum of diffuse large B-cell lymphoma in the WHO classification. Cancer J* 18: 411-420.
 12. Nyman H, Jerkeman M, Karjalainen-Lindsberg M, Banham AH, Leppa S (2009) *Prognostic impact of activated B-cell focused classification in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP. Mod Pathol* 22: 1094-1101.
 13. Shaffer AL, Emre NCT, Romesser PB, Staudt LM (2009) *IRF4: Immunity. Malignancy! Therapy?. Clin Cancer Res* 15: 2954-2961.
 14. Visco C, Li Y, Xu-Monette ZY, Miranda RN, Green TM, Li Y et al (2012) *Comprehensive gene expression profiling and immunohistochemical studies support application of immunophenotypic algorithm for molecular subtype classification in diffuse large B-cell lymphoma: A report from the International DLBCL rituximab-CHOP consortium program study. Leukemia* 26: 2103-2113.