

Đặc điểm hệ vi khuẩn tại mô ung thư đại trực tràng và mô gan, hạch di căn ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng

Characteristics of gut microbiota at colorectal cancer tissue, metastatic liver and lymph nodes tissue in colorectal cancer patients

Nguyễn Duy Trường, Ngô Tất Trung,
Trần Thị Thanh Huyền, Đào Thanh Quyên,
Đào Thị Huyền, Phạm Quang Trung, Lê Hữu Song

Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Tóm tắt

Mục tiêu: Mô tả thành phần và sự đa dạng của hệ vi khuẩn tại mô ung thư đại trực tràng (UTĐTT) và mô gan, hạch di căn ở bệnh nhân UTĐTT. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang 21 bệnh nhân được chẩn đoán UTĐTT giai đoạn IV điều trị tại Bệnh viện TƯQĐ 108 từ tháng 3/2015 đến tháng 8/2018. Thu thập thông tin lâm sàng và mẫu mô (gồm 21 mẫu mô UTĐTT, 21 mẫu mô gan di căn và 11 mẫu mô hạch di căn) từ các bệnh nhân UTĐTT. Tiến hành giải trình tự gen mã hoá *16S rRNA* vùng V3-V4 để phân tích thành phần và sự đa dạng của hệ vi khuẩn đường tiêu hoá trong các mẫu nghiên cứu. **Kết quả:** Các ngành chiếm tỷ lệ cao nhất ở cả ba loại mẫu mô nghiên cứu gồm: Proteobacteria, Actinobacteriota, Firmicutes, Bacteroidota, Deinococcota, và Fusobacteriota. Chỉ số đa dạng sinh học alpha tại mẫu mô UTĐTT cao hơn tại mẫu mô gan di căn ($p < 0,05$). Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về chỉ số đa dạng beta giữa các nhóm mẫu mô UTĐTT và gan di căn, và giữa mẫu mô UTĐTT và hạch di căn ($p < 0,05$). **Kết luận:** Bước đầu đã xác định được đặc điểm của hệ vi khuẩn tại mẫu mô UTĐTT và mô gan, hạch di căn bằng kỹ thuật giải trình tự gen *16S rRNA* metagenomic.

Từ khóa: Ung thư đại trực tràng, *16S rRNA* metagenomic.

Summary

Objective: To describe gut microbiota composition and diversity at colorectal cancer (CRC) tissue, metastatic liver and lymph nodes tissue in CRC patients. **Subject and method:** 21 patients with CRC at stage IV treated at 108 Military Central Hospital from March 2015 to August 2018 were recruited into the current cross-sectional study. Clinical information and tissue samples (include 21 CRC tissue samples, 21 metastatic liver tissue samples and 11 metastatic lymph nodes tissue samples) were collected from the CRC patients. Sequencing of the *16S rRNA* gene targeted V3-V4 region was used to access gut microbiota composition and diversity of the studied samples. **Result:** The phyla accounting for the highest proportion in the three types of tissue samples included Proteobacteria, Actinobacteriota, Firmicutes, Bacteroidota, Deinococcota, and Fusobacteriota. The alpha diversity in the CRC tissue samples was higher than in the metastatic liver tissue samples ($p < 0.05$). There was significant difference in beta diversity between the CRC tissue and the metastatic liver, and between the CRC tissue and the metastatic lymph nodes ($p < 0.05$). **Conclusion:** Preliminary analysis determined the characteristics of gut microbiota at CRC tissue, metastatic liver and lymph nodes tissue using *16S rRNA* metagenomics.

Keywords: Colorectal cancer, *16S rRNA* metagenomic.

Ngày nhận bài: 17/11/2023, ngày chấp nhận đăng: 21/11/2023

Người phản hồi: Nguyễn Duy Trường, Email: duytruong108@gmail.com - Bệnh viện Trung ương 108

1. Đặt vấn đề

Theo GLOBOCAN 2020, ước tính có khoảng 19,3 triệu ca mắc mới và 10 triệu ca tử vong do ung thư trên toàn thế giới, trong đó UTĐTT đóng góp khoảng 1,93 triệu (10%) số ca mắc mới và 0,94 triệu (9,4%) ca tử vong. Việt Nam có 16426 người mới được chẩn đoán UTĐTT, chiếm khoảng 9% trong các loại ung thư, đứng hàng thứ năm lần lượt sau ung thư gan, ung thư phổi, ung thư vú, và ung thư dạ dày [1]. Người ta đã xác định rằng, yếu tố di truyền và yếu tố môi trường góp phần vào sự phát triển của UTĐTT, bằng cách tích lũy các đột biến các gen sinh ung thư, gen ức chế ung thư và gen sửa chữa DNA, thông qua một số con đường biến đổi di truyền khác nhau dẫn đến hình thành khối u [2].

Các nghiên cứu về hệ vi khuẩn đường tiêu hoá đã chỉ ra rằng có mối liên quan giữa hệ vi khuẩn đường tiêu hoá với UTĐTT [3]. Garrett và cộng sự cho rằng hệ vi khuẩn đường tiêu hoá tham gia vào quá trình hình thành và phát triển UTĐTT thông qua ba cơ chế chính. Một là làm mất cân bằng giữa quá trình tăng sinh tế bào và chết tế bào theo chương trình. Hai là làm biến đổi đáp ứng của hệ thống miễn dịch của vật chủ. Ba là ảnh hưởng đến sự chuyển hoá của các chất trong cơ thể vật chủ cũng như thức ăn và các thuốc đưa vào cơ thể [4].

Vi môi trường khối u (tumor microenvironment) đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển, tồn tại, xâm lấn và di căn của tế bào ung thư nói chung, và tế bào ung thư đại trực tràng nói riêng. Vi môi trường khối u gồm tăng sinh mạch khối u, các tế bào xâm nhập khối u, ma trận ngoại bào và các phân tử khác liên quan [5]. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, hệ vi khuẩn đường tiêu hoá là cần thiết cho quá trình điều hoà đáp ứng miễn dịch của vật chủ. Hệ vi khuẩn tại khối u (intratumoral microbiota) có vai trò quan trọng hình thành đáp ứng miễn dịch tại chỗ của vi môi trường khối u và ảnh hưởng đến tiến triển của UTĐTT. Hệ vi khuẩn tại khối u có vai trò khác nhau trong miễn dịch chống lại khối u, có thể là tăng hoặc giảm đáp ứng miễn dịch kháng khối u [6, 7]. Tại Việt Nam, chưa có nghiên cứu nào tìm hiểu về đặc điểm hệ vi khuẩn tại khối UTĐTT, mô gan và hạch di căn ở bệnh nhân UTĐTT. Vì vậy, chúng tôi thực hiện đề tài với 2 mục tiêu: 1) *Mô tả thành phần của hệ vi khuẩn tại khối UTĐTT, mô gan và hạch di căn ở bệnh nhân UTĐTT*; 2) *Đánh giá sự đa dạng của hệ vi*

khẩn tại khối UTĐTT, mô gan và hạch di căn ở bệnh nhân UTĐTT.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Gồm 21 BN được chẩn đoán UTĐTT di căn gan và hạch điều trị tại Bệnh viện TƯQĐ 108 từ tháng 03/2015 đến tháng 08/2018.

Tiêu chuẩn lựa chọn: Bệnh nhân (BN) được chẩn đoán UTĐTT di căn gan và hạch được xác định bằng xét nghiệm mô bệnh học. BN đồng ý tham gia vào nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ: BN có kèm theo ung thư khác. BN không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

2.2.2. Phương pháp lấy mẫu

Chọn mẫu theo phương pháp chọn mẫu thuận tiện.

2.2.3. Nội dung nghiên cứu và các chỉ tiêu đánh giá

Thành phần hệ vi khuẩn đường tiêu hoá ở các mức ngành, chi và loài. Chỉ số đa dạng sinh học alpha và beta ở các nhóm mẫu mô UTĐTT, mô gan và mô hạch di căn.

2.2.4. Kỹ thuật giải trình tự gen 16S rRNA metagenomics từ các mẫu mô ung thư đại trực tràng, mô gan và hạch di căn từ UTĐTT

Bệnh phẩm: Là các mẫu mô UTĐTT, mô gan và hạch di căn dạng khối nén.

Quy trình kỹ thuật: Gồm có một số bước chính sau, nhận mẫu, tách chiết DNA, chuẩn bị thư viện, giải trình tự, phân tích dữ liệu, và cuối cùng là trả kết quả.

Tách chiết DNA từ mẫu sinh thiết: Mẫu mô UTĐTT, mô gan và hạch di căn dạng khối nén được thu thập từ kho lưu trữ sinh thiết bệnh lý, Khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện TƯQĐ 108. Mẫu mô được tách chiết DNA tổng số bằng bộ kit GeneJET FFPE DNA Purification Kit (Thermo) theo quy trình của nhà sản xuất.

Kết quả đánh giá xây dựng quy trình: Quy trình chuẩn bị thư viện và phân tích dữ liệu được đánh giá dựa trên thí nghiệm 2 mẫu mock đã biết trước.

Chuẩn bị thư viện và giải trình tự: Quy trình giải trình tự được thực hiện theo như nghiên cứu của Emery và cộng sự (2020) [8]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành giải trình tự vùng V3-V4 của 16S rRNA để phân tích thành phần hệ vi khuẩn đường tiêu hoá từ các mẫu mô đại trực tràng, mô gan và hạch di căn. Lý do chọn vùng V3-V4 là vì đoạn giải có kích thước phù hợp trên hệ thống máy Illumina MiSeq. Vùng V3-V4 gen 16S rRNA được khuếch đại trong phản ứng PCR với cặp mồi có trình tự mỗi xuôi (5'-CCT ACG GGNGGC WGC AG) và mỗi ngược (5'-GAC TAC HVGGG TAT CTA ATC C) [9]. Các adapters được gắn vào sản phẩm PCR theo quy trình chuẩn bị thư viện 16S metagenomics cung cấp bởi Illumina. Chất lượng và số lượng của các sản phẩm khuếch đại được đo bằng Agilent 4200 TapeStation, Picogreen và Nanodrop. Các mẫu đạt chất lượng được tiến hành bước PCR thứ hai trong quy trình chuẩn thư viện. Chất lượng thư viện được đo bằng Agilent 4200 TapeStation, picogreen và qPCR. Các đoạn trình tự nhân bản 16S rRNA sẽ được sử dụng để chuẩn bị thư viện sử dụng dual Index và giải trình tự sử dụng công cụ Illumina MiSeq, đoạn giải 2x250bps.

Quy trình phân tích dữ liệu gồm các bước: Tinh sạch read chất lượng thấp từ các tập tin fatq bằng

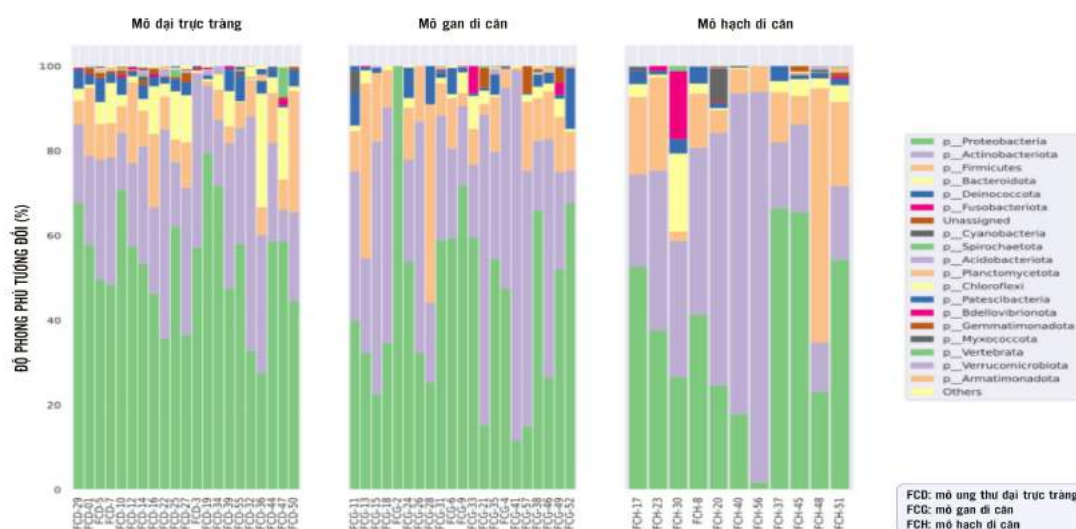
công cụ Trimomatic, sau đó loại bỏ trình tự primer, nối 2 read overlap, loại bỏ nhiễu và các trình tự chimera bằng các công cụ chuyên dụng, từ đó sẽ phân tích phân loại taxonomy các trình tự để đánh giá thành phần các chỉ số đa dạng Alpha và Beta, cũng như tìm ra các Biomarker đặc trưng cho từng mẫu nghiên cứu.

Phân tích tin sinh và thống kê: Các trình tự 16S rRNA sau khi giải trình tự hoàn tất, sẽ được tinh sạch về chất lượng giải trình tự, kích thước đoạn giải trình tự (read). Các đoạn trình tự 16S rRNA sẽ được định danh dựa trên cơ sở dữ liệu SILVA để phân loại vi khuẩn. Dữ liệu giải trình tự (định dạng FASTQ) được chia theo từng mẫu và được lọc chất lượng bằng QIIME2 [10]. Các trình tự có độ tương đồng > 97% được nhóm chung lại thành các đơn vị phân loại loài (OTU) bằng UPARSE [11]. Các phân tích thống kê, so sánh và biểu diễn dữ liệu sẽ được thực hiện trên phần mềm thống kê R. Sự khác nhau có ý nghĩa thống kê cho đa dạng beta (chỉ số giống nhau Bray-curtis) giữa các nhóm mẫu được tính toán với kiểm định PERMANOVA và được biểu thị với phương pháp phân tích thành phần chính (Principal Component Analysis, PCA).

3. Kết quả

3.1. Thành phần hệ vi khuẩn (taxonomic profiling)

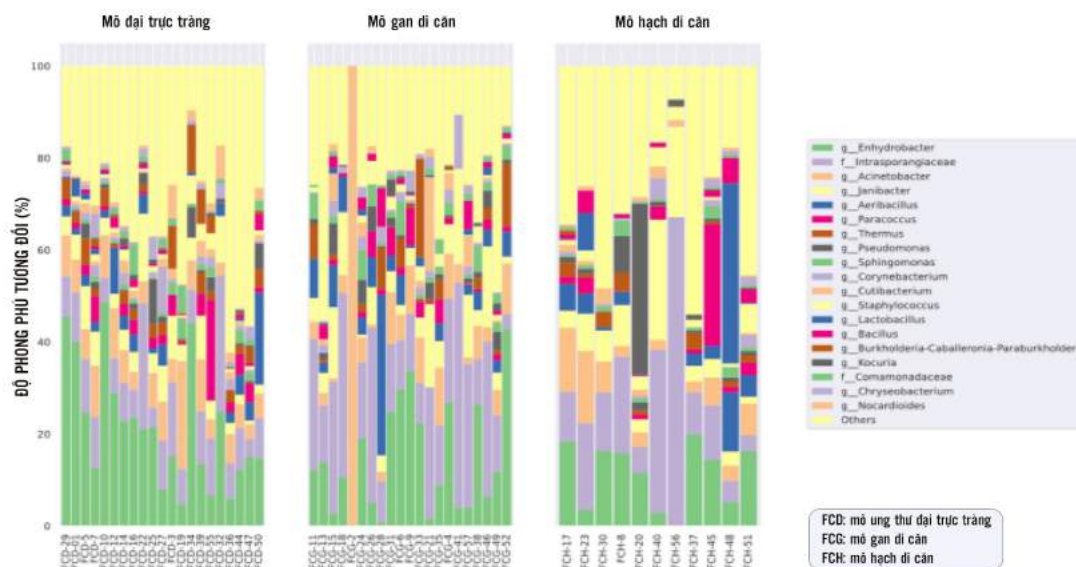
3.1.1. Thành phần hệ vi khuẩn tại mô u đại trực tràng, hạch và gan di căn ở mức phân loại ngành (Phylum)



Biểu đồ 1. Biểu đồ stacked barplot thể hiện thành phần hệ vi khuẩn tại các mẫu mô ở mức phân loại ngành (phylum).

Nhận xét: Ở mức phân loại ngành, thành phần hệ vi khuẩn tại các mẫu mô ung thư đại trực tràng nguyên phát, mẫu mô gan, hạch di căn là khá tương đồng nhau. Các ngành chiếm tỷ lệ cao nhất ở cả ba loại mẫu mô đại trực tràng, gan, hạch gồm: *Proteobacteria*, *Actinobacteriota*, *Firmicutes*, *Bacteroidota*, *Deinococcota*, và *Fusobacteriota*.

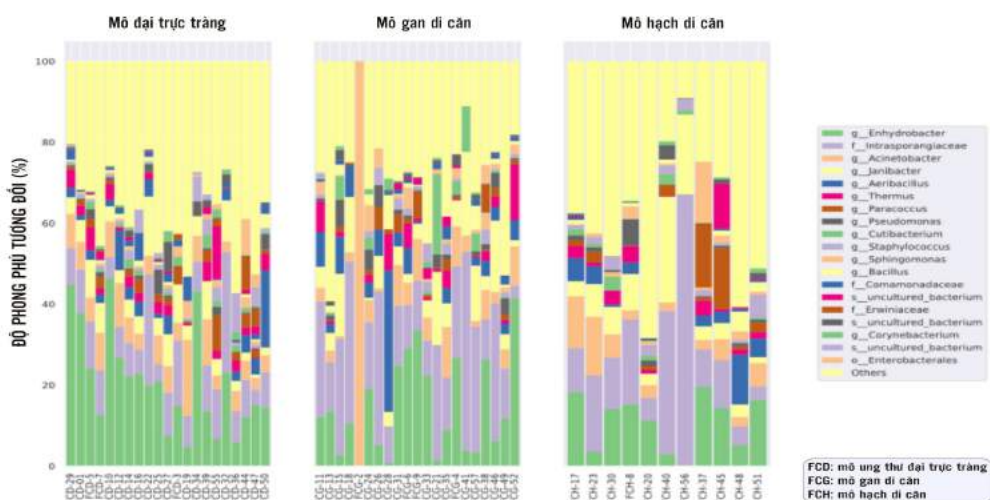
3.1.2. Thành phần hệ vi khuẩn tại mô u đại trực tràng, hạch và gan di căn ở mức phân loại chi (Genus)



Biểu đồ 2. Biểu đồ stacked barplot thể hiện thành phần hệ vi khuẩn tại các mẫu mô ở mức phân loại chi (Genus)

Nhận xét: Ở mức phân loại chi, thành phần hệ vi khuẩn tại các mẫu mô ung thư đại trực tràng nguyên phát, mẫu mô gan, hạch di căn là khá tương đồng nhau. Các chi chiếm tỷ lệ cao nhất ở cả ba loại mẫu mô đại trực tràng, gan, hạch gồm: *Enhydrobacter*, *Acinetobacter*, *Janibacter*, *Aeribacillus*, *paracoccus*, *Thermus*, và *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Corynebacterium*, *Cutibacterium*, *Staphylococcus*.

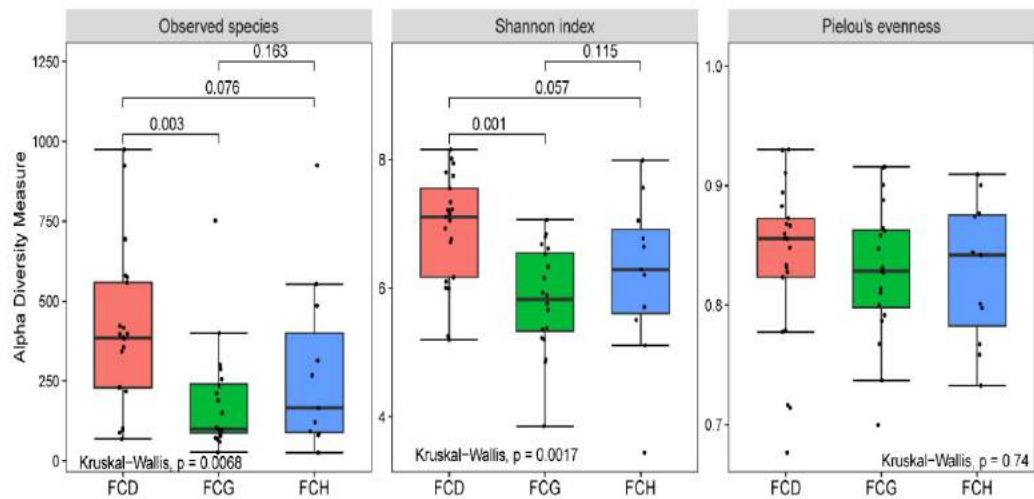
3.1.3. Thành phần hệ vi khuẩn tại mô u đại trực tràng, hạch và gan di căn ở mức phân loại loài (Species)



Biểu đồ 3. Biểu đồ stacked barplot thể hiện thành phần hệ vi khuẩn tại các mẫu mô ở mức phân loại loài (Species)

Nhận xét: Ở mức phân loại loài, thành phần hệ vi khuẩn tại các mẫu mô ung thư đại trực tràng nguyên phát, mẫu mô gan, hạch di căn là không tương đồng nhau. Các loài chiếm tỷ lệ cao nhất ở cả ba loại mẫu mô đại trực tràng, gan, hạch gồm: *Kocuria palustris*, *Burkholderia multivorans*, *Moraxella osloensis*, *Acinetobacter baumannii*, *Fusobacterium necrophorum*, *Pseudomonas stutzeri*, và *Bacteroides fragilis*.

3.2. So sánh chỉ số alpha giữa các nhóm mẫu



Biểu đồ 4. So sánh các chỉ số alpha ở các nhóm mẫu

Nhận xét: Chỉ số đa dạng sinh học alpha (Observed species và Shannon index) tại nhóm mô đại trực tràng cao hơn tại nhóm mô gan di căn ($p < 0,05$). Chỉ số đa dạng Pielou's eveness giữa 3 nhóm mô là không có sự khác biệt.

3.3. So sánh chỉ số beta giữa các nhóm mẫu

Bảng 1. Kết quả kiểm định Permanova so sánh chỉ số beta giữa các nhóm mẫu (A) dựa trên Bray-Curtis dissimilarity, (B) dựa trên Jaccard distance

(A) Bray-Curtis		Sample size	Permutations	Pseudo-F	p-value	q-value
Group 1	Group 2					
FCD	FCG	42	999	2,79	0,001	0,003
FCD	FCH	32	999	1,65	0,031	0,0465
FCG	FCH	32	999	0,75	0,84	0,84
(B) Jaccard		Sample size	Permutations	pseudo-F	p-value	q-value
Group 1	Group 2					
FCD	FCG	42	999	1,59	0,002	0,006
FCD	FCH	32	999	1,27	0,005	0,0075
FCG	FCH	32	999	0,92	0,887	0,887

Nhận xét: Chỉ số đa dạng sinh học beta giữa các nhóm mẫu đại trực tràng và gan di căn, đại trực tràng và hạch di căn dựa trên Bray-Curtis dissimilarity và Jaccard distance là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt về chỉ số đa dạng sinh học beta giữa nhóm mẫu gan di căn và hạch di căn ($p > 0,05$).

4. Bàn luận

4.1. Thành phần hệ vi khuẩn (taxonomic profiling)

Thành phần hệ vi khuẩn tại mô ung thư đại trực tràng, hạch và gan di căn ở mức phân loại ngành (Phylum). Ở mức phân loại ngành, thành phần hệ vi khuẩn tại các mẫu mô ung thư đại trực tràng nguyên phát, mẫu mô gan, hạch di căn là khá tương đồng nhau. Các ngành chiếm tỷ lệ cao nhất ở cả ba loại mẫu mô đại trực tràng, gan, hạch gồm: *Proteobacteria*, *Actinobacteriota*, *Firmicutes*, *Bacteroidota*, *Deinococcota* và *Fusobacteriota*.

Nghiên cứu của Nakatsu và cộng sự (2015), ứng dụng kỹ thuật 16S rRNA metagenomic mô tả đặc điểm hệ vi khuẩn tại mô ung thư, mô lành cạnh ung thư của 52 bệnh nhân UTĐTT, 47 bệnh nhân u tuyến và 61 người khỏe mạnh. Kết quả phân tích cho thấy, tại niêm mạc đại tràng ở người khỏe mạnh có 4 ngành vi khuẩn chính cư trú là *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* và *Fusobacteria*. Tại mô u tuyến có sự xuất hiện không nhất quán của các đơn vị phân loại. Tại mô lành cạnh khối u, chủ yếu gặp 2 ngành chính là *Bacteroides* và *Firmicutes*. Tại mô ung thư, 2 ngành chiếm tỷ lệ cao nhất là *Fusobacteria* và *Firmicutes* [12].

Thành phần hệ vi khuẩn tại mô u đại trực tràng, hạch và gan di căn ở mức phân loại chi (Genus). Ở mức phân loại chi, thành phần hệ vi khuẩn tại các mẫu mô ung thư đại trực tràng nguyên phát, mẫu mô gan, hạch di căn là khá tương đồng nhau. Các chi chiếm tỷ lệ cao nhất ở cả ba loại mẫu mô đại trực tràng, gan, hạch gồm: *Enhydrobacter*, *Acinetobacter*, *Janibacter*, *Aeribacillus*, *paracoccus*, *Thermus* và *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Corynebacterium*, *Cutibacterium*, *Staphylococcus*.

Acar và cộng sự (2023) tiến hành nghiên cứu hệ vi khuẩn tại mẫu mô từ 20 bệnh nhân UTĐTT và mẫu mô đại tràng ở 10 bệnh nhân viêm ruột, có so sánh với nhóm chứng là 18 người khỏe mạnh bằng kỹ thuật 16S rRNA metagenomics cho thấy. Ở mức chi, trong mẫu mô UTĐTT gặp chủ yếu các chi *Fusobacterium* (16%), *Escherichia-Shigella* (12,5%) và *Streptococcus* (7,7%), trong khi đó ở người khỏe mạnh gặp chủ yếu các chi

Faecalibacterium (11,5%), *Bacteroides* (10,1%), và *Prevotella* (7,4%). Ở mức chi, thành phần hệ vi khuẩn khác nhau giữa mô tươi và mô khối nén. Ở mẫu mô tươi, gặp chủ yếu các chi *Fusobacterium* (16%), *Escherichia-Shigella* (12,5%) và *Streptococcus* (7,7%), trong khi đó tại mẫu mô khối nén gặp chủ yếu các chi *Arthrobacter* (18%), *Bacteroides* (9,5%) và *Faecalibacterium* (9,4%) [13].

Thành phần hệ vi khuẩn tại mô u đại trực tràng, hạch và gan di căn ở mức phân loại loài (Species). Ở mức phân loại loài, thành phần hệ vi khuẩn tại các mẫu mô ung thư đại trực tràng nguyên phát, mẫu mô gan, hạch di căn là không tương đồng nhau. Các loài chiếm tỷ lệ cao nhất ở cả ba loại mẫu mô đại trực tràng, gan, hạch gồm: *Kocuria palustris*, *Burkholderia multivorans*, *Moraxella osloensis*, *Acinetobacter baumannii*, *Fusobacterium necrophorum*, *Pseudomonas stutzeri* và *Bacteroides fragilis*. Đáng chú ý, trong mẫu hạch di căn (FCH-30) xuất hiện 2 chủng *F. necrophorum* và *B. fragilis* chiếm tỷ lệ rất cao so với các chủng còn tại (khoảng 22%).

Nghiên cứu của Nakatsu và cộng sự (2015), ứng dụng kỹ thuật 16S rRNA metagenomic mô tả đặc điểm hệ vi khuẩn tại mô ung thư, mô lành cạnh ung thư của 52 bệnh nhân UTĐTT, 47 bệnh nhân u tuyến và 61 người khỏe mạnh. Khi đánh giá sự biến đổi thành phần vi khuẩn theo giai đoạn bệnh, ở UTĐTT giai đoạn sớm có sự xuất hiện của đa số các chủng vi khuẩn *Fusobacterium*, *Parvimonas*, *Gemella* và *Leptotrichia*. Tại mô UTĐTT, có 5 chủng vi khuẩn chiếm tỷ lệ cao nhất là *Fusobacterium*, *B. fragilis*, *Gemella*, *Peptostreptococcus* và *Parvimonas* [12]. Shen và cộng sự (2021), thực hiện kỹ thuật 16S rRNA metagenomics trên 24 mẫu mô đại tràng từ 8 bệnh nhân UTĐTT, 11 bệnh nhân u tuyến và 5 người khỏe mạnh, chủng vi khuẩn hiện diện chủ yếu trong mẫu mô UTĐTT và u tuyến là *B. fragilis* và *Streptococcus* [14].

4.2. Chỉ số đa dạng sinh học alpha (Alpha diversity)

Chỉ số đa dạng alpha (alpha diversity) thể hiện cấu trúc quần thể sinh vật tại môi trường nhất định, thể hiện qua độ phong phú (richness, số lượng loài),

độ đa dạng (evenness, sự phân bố tỷ lệ các loài) hoặc cả hai. Chỉ số đa dạng sinh học alpha (Observed species và Shannon index) tại nhóm mô đại trực tràng cao hơn tại nhóm mô gan di căn ($p < 0,05$). Chỉ số đa dạng Pielou's evenness giữa 3 nhóm mô là không có sự khác biệt. Cho đến nay thì chưa có nghiên cứu nào so sánh chỉ số đa dạng alpha giữa các mô UTĐTT nguyên phát và mô ung thư gan và hạch di căn từ đại trực tràng, các nghiên cứu chủ yếu so sánh chỉ số đa dạng alpha giữa các mẫu mô ung thư với mô lành cạnh ung thư và mô u tuyến.

Một nghiên cứu ở Đan Mạch do Bundgaard - Nielsen và cộng sự (2019) trên 10 mẫu mô UTĐTT, 6 mẫu mô lành cạnh ung thư và 9 mẫu mô u tuyến bằng kỹ thuật 16S rRNA metagenomics. Chỉ số đa dạng sinh học Shannon và số lượng observed OTUs cao nhất ở nhóm mô ung thư, tiếp theo là nhóm mô lành cạnh ung thư, và thấp nhất là ở nhóm u tuyến, cho thấy độ đa dạng vi sinh ở nhóm mô ung thư là cao nhất, thấp nhất là nhóm mô u tuyến, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) [15]. Zhou và cộng sự (2023), nghiên cứu trên mẫu mô ung thư và mô lành cạnh ung thư từ 48 bệnh nhân UTĐTT có di căn và nhóm 44 bệnh UTĐTT chưa có di căn. Sau khi thực hiện kỹ thuật 16S rRNA metagenomics trên các mẫu mô UTĐTT từ 2 nhóm, chỉ số đa dạng sinh học alpha (chỉ số Shannon và Chao) giữa hai nhóm UTĐTT di căn và UTĐTT chưa có di căn là không có sự khác biệt. Điều này cho thấy mức độ đa dạng và phong phú của các loài vi khuẩn tại các mẫu mô UTĐTT di căn và không di căn là tương đương nhau [16].

4.3. Chỉ số đa dạng sinh học beta (Beta diversity)

Chỉ số đa dạng sinh học beta thể hiện sự khác biệt quần thể sinh vật giữa các môi trường khác nhau, tập trung chủ yếu vào sự khác biệt về thành phần và phân bố vi sinh vật giữa các mẫu khác nhau. Thực hiện phân tích "principle coordinate analysis - PCoA" dựa trên so sánh khoảng cách "Bray-Curtis dissimilarity" và "Jaccard distance". Trong nghiên cứu của chúng tôi, sự khác biệt về chỉ số đa dạng sinh học beta giữa các nhóm mẫu đại trực tràng và gan di căn, đại trực tràng và hạch di căn dựa trên Bray-Curtis dissimilarity và Jaccard distance là có ý nghĩa

thống kê ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt về chỉ số đa dạng sinh học beta giữa nhóm mẫu gan di căn và hạch di căn ($p > 0,05$). Cho đến nay thì chưa có nghiên cứu nào so sánh chỉ số đa dạng beta giữa các mô UTĐTT nguyên phát và mô ung thư gan và hạch di căn từ đại trực tràng, các nghiên cứu chủ yếu so sánh chỉ số đa dạng beta giữa các mẫu mô ung thư với mô lành cạnh ung thư và mô u tuyến.

Bundgaard-Nielsen và cộng sự (2019) nghiên cứu trên 10 mẫu mô UTĐTT, 6 mẫu mô lành cạnh ung thư, và 9 mẫu mô u tuyến bằng kỹ thuật 16S rRNA metagenomics. Không có sự khác biệt về chỉ số đa dạng sinh học beta giữa nhóm mẫu UTĐTT, mô lành cạnh ung thư và mô u tuyến ($p > 0,05$) [15]. Zhou và cộng sự (2023), nghiên cứu trên mẫu mô ung thư và mô lành cạnh ung thư từ 48 bệnh nhân UTĐTT có di căn và nhóm 44 bệnh UTĐTT chưa có di căn. Sau khi thực hiện kỹ thuật 16S rRNA metagenomics trên các mẫu mô UTĐTT từ 2 nhóm, chỉ số đa dạng sinh học beta giữa 2 nhóm mẫu mô UTĐTT có di căn và không di căn là không có sự khác biệt [16].

Acar và cộng sự (2023) tiến hành nghiên cứu hệ vi khuẩn tại mẫu mô từ 20 bệnh nhân UTĐTT và mẫu mô đại tràng ở 10 bệnh nhân viêm ruột (bệnh Crohn và viêm loét đại trực tràng), có so sánh với nhóm chứng là 18 người khỏe mạnh bằng kỹ thuật 16S rRNA metagenomics. Chỉ số đa dạng sinh học beta khác nhau giữa các nhóm UTĐTT, nhóm viêm đại trực tràng và người khỏe mạnh (PERMANOVA test, $p = 0,001$). Không có sự khác biệt về chỉ số đa dạng sinh học beta giữa các nhóm viêm loét đại trực tràng và bệnh Crohn [13]. Như vậy, chỉ số đa dạng sinh học beta là khác nhau ở các mẫu mô, điều này là do sự khác biệt về thành phần và phân bố vi sinh vật giữa các mẫu khác nhau.

5. Kết luận

Bước đầu đã xác định được đặc điểm của hệ vi khuẩn tại mẫu mô UTĐTT và mô gan, hạch di căn bằng kỹ thuật giải trình tự gen 16S rRNA metagenomic. Các ngành chiếm tỷ lệ cao nhất ở cả ba loại mẫu mô nghiên cứu gồm: *Proteobacteria*, *Actinobacteriota*, *Firmicutes*, *Bacteroidota*, *Deinococcota* và *Fusobacteriota*. Chỉ số đa dạng sinh

học alpha tại mẫu mô UTĐTT cao hơn tại mẫu mô gan di căn ($p < 0,05$). Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về chỉ số đa dạng beta giữa các nhóm mẫu mô UTĐTT và gan di căn, và giữa mẫu mô UTĐTT và hạch di căn ($p < 0,05$).

Tài liệu tham khảo

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F (2021) *Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*. CA Cancer J Clin 71(3): 209-249.
2. RA S (2018) *Molecular Biology of Colorectal Cancer*. DeVita, Hellman, and Rosenberg's Cancer: Principles & Practice of Oncology. Vol. 11th edition ed, Philadelphia: Wolters Kluwer 1634-1651.
3. Azevedo MM, Pina-Vaz C, and Baltazar F (2020) *Microbes and cancer: Friends or faux?* Int J Mol Sci. 21(9).
4. Garrett WS (2015) *Cancer and the microbiota*. Science 348(6230): 80-86.
5. Peddareddigari VG, Wang D, and Dubois RN (2010) *The tumor microenvironment in colorectal carcinogenesis*. Cancer Microenviron 3(1): 149-66.
6. Siegel RL, Miller KD, and Jemal A (2020) *Cancer statistics, 2020*. CA Cancer J Clin 70(1): 7-30.
7. Nejman D, Livyatan I, Fuks G, Gavert N, Zwing Y, Geller LT, Rotter-Maskowitz A, Weiser R, Mallel G, Gigi E, Meltser A, Douglas GM, Kamer I, Gopalakrishnan V, Dadosh T, Levin-Zaidman S, Avnet S, Atlan T, Cooper ZA, Arora R, Cogdill AP, Khan MAW, Ologun G, Bussi Y, Weinberger A, Lotan-Pompan M, Golani O, Perry G, Rokah M, Bahar-Shany K, Rozeman EA, Blank CU, Ronai A, Shaoul R, Amit A, Dorfman T, Kremer R, Cohen ZR, Harnof S, Siegal T, Yehuda-Shnaidman E, Gal-Yam EN, Shapira H, Baldini N, Langille MGI, Ben-Nun A, Kaufman B, Nissan A, Golan T, Dadiani M, Levanon K, Bar J, Yust-Katz S, Barshack I, Peeper DS, Raz DJ, Segal E, Wargo JA, Sandbank J, Shental N, Straussman R (2020) The human tumor microbiome is composed of tumor type-specific intracellular bacteria. Science 368(6494): 973-980.
8. Emery DC, Cerajewska TL, Seong J, Davies M, Paterson A, Allen-Birt SJ, West NX (2020) *Comparison of blood bacterial communities in periodontal health and periodontal disease*. Front Cell Infect Microbiol 10: 577485.
9. Yuan J, Zhao J, Wen T, Zhao M, Li R, Goossens P, Huang Q, Bai Y, Vivanco JM, Kowalchuk GA, Berendsen RL, Shen Q (2018) *Root exudates drive the soil-borne legacy of aboveground pathogen infection*. Microbiome 6(1): 156.
10. Hall M and Beiko RG (2018) *16S rRNA Gene Analysis with QIIME2*. Methods Mol Biol 1849: 113-129.
11. Edgar RC (2013) UPARSE: Highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. Nat Methods 10(10): 996-998.
12. Nakatsu G, Li X, Zhou H, Sheng J, Wong SH, Wu WK, Ng SC, Tsoi H, Dong Y, Zhang N, He Y, Kang Q, Cao L, Wang K, Zhang J, Liang Q, Yu J, Sung JJ (2015) *Gut mucosal microbiome across stages of colorectal carcinogenesis*. Nat Commun 6: 8727.
13. Acar C, Celik SK, Ozdemirel HO, Tuncdemir BE, Alan S, Mergen H (2023) *Composition of the colon microbiota in the individuals with inflammatory bowel disease and colon cancer*. Folia Microbiol (Praha).
14. Shen X, Li J, Li J, Zhang Y, Li X, Cui Y, Gao Q, Chen X, Chen Y, Fang JY (2021) *Fecal Enterotoxigenic Bacteroides fragilis-Peptostreptococcus stomatis-parvimonas micra biomarker for noninvasive diagnosis and prognosis of colorectal laterally spreading tumor*. Front Oncol 11: 661048.
15. Bundgaard-Nielsen C, Baandrup UT, Nielsen LP, Sørensen S (2019) *The presence of bacteria varies between colorectal adenocarcinomas, precursor lesions and non-malignant tissue*. BMC Cancer 19(1): 399.
16. Zhou P, Dai Z, Xie Y, Li T, Xu Z, Huang Y, Sun D, Zhou Y (2023) *Differences in tissue-associated bacteria between metastatic and non-metastatic colorectal cancer*. Front Microbiol 14: 1133607.