

Đánh giá mức độ biểu hiện miRNA-21-5p, miRNA 145-5p ở bệnh nhân ung thư gan và viêm gan mạn do nhiễm HBV

Evaluation of miRNA-21-5p and miRNA-145-5p expression in HBV-related hepatocellular carcinoma and chronic hepatitis patients

Ngô Diệu Hoa¹, Đặng Thị Ngọc Dung¹,
Mai Thanh Bình² và Nghiêm Xuân Hoàn^{2*}

¹Trường Đại học Y Hà Nội,
²Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Tóm tắt

Mục tiêu: Xác định mức độ biểu hiện của miRNA-21-5p và miRNA-145-5p và giá trị chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan (HCC), đặc biệt là HCC giai đoạn sớm viêm gan mạn tính do nhiễm HBV (CHB). **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu cắt ngang phân tích mức độ biểu hiện miRNA-21-5p và miRNA-145-5p bằng kỹ thuật qPCR trên mẫu huyết thanh của 100 bệnh nhân HCC và 100 bệnh nhân CHB. Lựa chọn miRNA-21-5p và miRNA-145-5p đưa vào nghiên cứu sau khi phân tích tổng hợp tài liệu và sàng lọc in-silico bằng phần mềm Mienturnet và dữ liệu UALCAN (The University of Alabama at Birmingham CANcer data analysis Portal). Tiêu chí lựa chọn các miRNA dựa trên mức độ biểu hiện của miRNA có sự khác biệt giữa nhóm HCC và nhóm CHB. **Kết quả:** Mức độ biểu hiện của miRNA-21-5p tăng cao có ý nghĩa trong nhóm HCC so với nhóm viêm gan B (fold-change = 3,9, $p < 0,001$). Ngược lại, mức độ biểu hiện của miRNA-145- giảm có ý nghĩa ở nhóm HCC so với nhóm CHB (fold-change = 2,06, $p < 0,001$). Diện tích dưới đường cong (AUC) và độ nhạy của các miRNA-21 và miRNA-145 khi kết hợp với AFP đều tăng đáng kể so với AUC của AFP đơn lẻ, kể cả trong nhóm HCC hoặc HCC giai đoạn sớm (BCLC-A) so với nhóm CHB. **Kết luận:** Mức độ biểu hiện của miRNA-21-5p tăng gấp 3,9 lần và miRNA-145-5p giảm 2,6 lần ở nhóm HCC so với nhóm CHB, sự khác biệt đều có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Vì vậy, miRNA-21-5p và miRNA-145-5p là những dấu ấn sinh học tiềm năng có ý nghĩa trong chẩn đoán HCC ở bệnh nhân viêm gan B mạn tính.

Từ khoá: miRNA, ung thư biểu mô tế bào gan, viêm gan B mạn tính, HBV.

Summary

Objective: This study aims to determine the expression levels of miRNA-21-5p and miRNA-145-5p and their diagnostic value in hepatocellular carcinoma (HCC) caused by HBV infection, especially in early-stage HCC in patients with chronic hepatitis B (CHB). **Subject and method:** This cross-sectional descriptive study included literature review, in silico screening using Mienturnet software and UALCAN database for bioinformatics analysis, and the selection of miRNA-21-5p and miRNA-145-5p, which showed differential expression levels between the HCC group and the CHB group. The study quantified miRNA-21-5p and miRNA-145-5p using qPCR on the serum of 200 patients, including 100 patients with hepatocellular carcinoma (HCC) due to chronic HBV infection and 100 patients with chronic hepatitis B (CHB). **Result:** The expression level of miRNA-21-5p was significantly upregulated in the HCC group compared to the CHB group (fold-change = 3.9, $p < 0.001$). In contrast, miRNA-145-5p expression was

Ngày nhận bài: 02/04/2025, ngày chấp nhận đăng: 12/5/2025

* Tác giả liên hệ: Nghiemxuanhoan@108-icid.com - Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

downregulated by 2.06-fold in the HCC group compared to CHB patients with HBV infection. The area under the curve (AUC) and sensitivity of miRNA-21-5p and miRNA-145-5p, when combined with AFP, increased significantly compared to the AUC of AFP alone, both in the HCC group and in early-stage HCC (BCLC-A) compared to the CHB group. *Conclusion:* miRNA-21-5p and miRNA-145-5p are significant for diagnosing HCC in patients with chronic hepatitis B. When combined with AFP, they may enhance the diagnostic significance of HCC.

Keywords: miRNA, hepatocellular carcinoma, chronic hepatitis B, hepatitis B virus.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trên thế giới, ung thư gan là loại ung thư có tỷ lệ chẩn đoán cao thứ sáu và đứng thứ ba trong các nguyên nhân gây tử vong do ung thư, với khoảng 906.000 ca mắc mới và 830.000 ca tử vong mỗi năm¹. Theo Globocan 2022, tại Việt Nam, ung thư gan đã vượt ung thư phổi, trở thành nguyên nhân hàng đầu gây tử vong do ung thư, trong đó 77% số ca mắc là nam giới.² Phần lớn bệnh nhân ung thư gan được chẩn đoán ở giai đoạn muộn, dẫn đến hiệu quả điều trị hạn chế và tiên lượng xấu. Nhiễm virus viêm gan B (HBV) mạn tính là yếu tố nguy cơ hàng đầu dẫn đến viêm gan mạn, xơ gan và cuối cùng là HCC³. Việc theo dõi và phát hiện sớm sự tiến triển từ viêm gan mạn tính do HBV đến HCC đóng vai trò quan trọng trong việc cải thiện kết quả điều trị và giảm tỷ lệ tử vong.

Alpha-fetoprotein (AFP) là biomarker huyết thanh được sử dụng phổ biến nhất trong chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan (HCC); tuy nhiên, giá trị lâm sàng của nó bị hạn chế do độ nhạy và độ đặc hiệu chưa tối ưu. Mặc dù AFP tăng cao ở nhiều bệnh nhân HCC, nhưng không phải tất cả các khối ung thư biểu mô tế bào gan đều sản xuất AFP, dẫn đến kết quả âm tính giả, đặc biệt trong giai đoạn đầu của bệnh. Ở ngưỡng 20ng/mL, AFP có độ nhạy từ 40-65% đối với các trường hợp HCC đã được chẩn đoán lâm sàng và chỉ 14-40% đối với bệnh lý tiền lâm sàng, làm giảm hiệu quả trong phát hiện sớm và giám sát bệnh. Ngoài ra, nồng độ AFP cũng có thể tăng trong các bệnh lý gan khác, chẳng hạn như viêm gan mạn tính và xơ gan, làm giảm độ đặc hiệu của xét nghiệm. Mặc dù có những hạn chế này, AFP vẫn là một công cụ hữu ích khi được kết hợp với các biomarker khác, như des-gamma-carboxy prothrombin (DCP) và AFP-L3, hoặc các phương

pháp chẩn đoán hình ảnh như siêu âm gan, giúp nâng cao độ chính xác trong chẩn đoán. Việc tìm kiếm các biomarker có độ nhạy và độ đặc hiệu cao hơn, bao gồm các miRNA tuần hoàn, là điều cần thiết để cải thiện khả năng phát hiện sớm HCC và tiên lượng bệnh nhân.

miRNAs là các RNA ngắn không mã hóa, tham gia điều hòa biểu hiện gen sau phiên mã và có liên quan đến nhiều quá trình sinh học, bao gồm quá trình sinh ung thư. Trong những năm gần đây, nhiều nghiên cứu đã nhấn mạnh vai trò của microRNA (miRNA) trong bệnh gan, đặc biệt là trong bệnh viêm gan B mạn tính, xơ gan và HCC do nhiễm vi rút viêm gan B. Tuy nhiên, tại Việt Nam, các nghiên cứu về chủ đề này còn rất hạn chế. Vì vậy, nhóm nghiên cứu tiến hành bước sàng lọc bằng cách tìm kiếm tài liệu, sàng lọc in silico bằng công cụ phân tích tin sinh qua phần mềm Mienturnet, xác nhận thực nghiệm để lựa chọn miRNA-21-5p và miRNA-145-5p, sau đó xác nhận lại bằng đánh giá mức độ biểu hiện của miRNA-21-5p và miRNA-145-5p ở bệnh nhân ung thư gan và viêm gan mạn do nhiễm HBV, xác định giá trị tiềm năng của hai miRNA này trong hỗ trợ chẩn đoán và theo dõi diễn tiến bệnh.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Đối tượng

Nghiên cứu được thực hiện trên 100 bệnh nhân HCC và 100 bệnh nhân CHB do nhiễm HBV mạn tính được thu thập từ Bệnh viện Trung ương Quân đội 108, Bệnh viện Nhiệt đới Trung ương từ năm 2022 đến 2024. Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân nhiễm viêm gan B mạn tính được thực hiện theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị viêm gan virus B của Bộ Y tế Việt Nam (Quyết định 3310/QĐ-BYT năm 2019),⁶ bao gồm: HBsAg và/hoặc HBV DNA dương tính trong

≥ 6 tháng, hoặc HBsAg dương tính kết hợp với anti-HBc IgM âm tính. Bệnh nhân HCC được chẩn đoán xác định theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị ung thư biểu mô tế bào gan (HCC) của Bộ Y tế (Quyết định 3129/QĐ-BYT năm 2020),⁷ dựa trên mô bệnh học, chụp cộng hưởng từ động (MRI) hoặc chụp cắt lớp vi tính ba pha (CT), có hoặc không có sự hiện diện của α -fetoprotein (AFP). Phân loại giai đoạn lâm sàng của HCC được thực hiện theo hệ thống phân loại Barcelona (BCLC). Tiêu chuẩn loại trừ bao gồm: Bệnh nhân xơ gan do rượu, nhiễm viêm gan C (HCV) hoặc HIV, tổn thương gan do thuốc...

2.2. Cách lựa chọn miRNA

Nghiên cứu tiến hành sàng lọc các miRNA tiềm năng liên quan đến bệnh lý gan mạn tính do nhiễm vi rút viêm gan B dựa trên các bài báo về lĩnh vực ung thư, truyền nhiễm, sinh học phân tử được công bố trên các tạp chí quốc tế uy tín, có chỉ số H-score > 100 thu thập từ các hệ thống dữ liệu mở như PubMed, Science Research và Google Scholar bằng các từ khóa "serum", "plasma", "microRNA", "miRNA", "HCC", "liver cancer", "hepatocellular carcinoma", "diagnostics", "diagnosis", "detection" and "HBV-related HCC". Các miRNA được lựa chọn có mức độ biểu hiện thay đổi với fold-change > 2 giữa nhóm HCC và nhóm viêm gan B mạn tính hoặc nhóm khỏe mạnh. Tiếp theo, phần mềm Mienturnet được sử dụng để phân tích, tích hợp dữ liệu thực nghiệm từ miRTarbase và dự đoán đích miRNA thông qua TargetScan, nhằm xác định các miRNA có giá trị tỷ lệ phát hiện sai FDR (False Discovery False) < 0,05.

Trong nghiên cứu này chúng tôi chọn lọc các miRNA liên quan đến gen đích của con đường tín hiệu nội bào liên quan đến ung thư biểu mô tế bào gan được phân tích trên hệ thống dữ liệu UALCAN (<https://ualcan.path.uab.edu/analysis-mir.html>). Tiến

hành phân tích mức độ biểu hiện của các miRNA tiềm năng trên 100 bệnh nhân mỗi nhóm.

2.3. Phương pháp phân tích miRNA

Tách chiết RNA và tổng hợp cDNA

RNA tổng số được chiết xuất từ 300µl huyết thanh bằng 600µl thuốc thử TRIzol và hòa tan trong 60µl nước xử lý diethylpyrocarbonate (DEPC). Chất lượng RNA được đánh giá bằng quang phổ NanoDrop (NanoDrop Technologies, Wilmington, USA) ở bước sóng 260 và 280nm (A260/280). Quá trình phiên mã ngược được thực hiện với 500ng RNA tổng số bằng bộ kit RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (ThermoFisher Scientific Inc, Singapore) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các mẫu tổng hợp cDNA được thiết kế dựa trên lý thuyết stem-loop⁸. Trình tự miRNA trưởng thành được lấy từ trang web miRBase (<http://www.mirbase.org/>). Thiết kế mỗi stem-loop RT-qPCR được thực hiện bằng công cụ trực tuyến miRNA primer design (<http://genomics.dote.hu:8080/mirnadestool/index.jsp>). Công cụ Oligo Analyzer được sử dụng để kiểm tra nhiệt độ nóng chảy của các mẫu đã chọn.

Định lượng miRNA bằng Real-Time PCR

Sau khi phiên mã ngược, cDNA được hòa tan trong 80µl nước không chứa DNase và RNase (DEPC-DW). Phản ứng qPCR bao gồm 10µl dung dịch chủ SensiFAST™ SYBR® No-ROX Kit (Bioline, London, UK), 4,6µl cDNA, 5pmol mỗi ngược chung của miRNA và 5pmol mỗi xuôi đặc hiệu cho từng miRNA. Các phản ứng được thực hiện trên hệ thống Real-Time PCR Roche LightCycler 480 II theo quy trình sau: giai đoạn ủ ở 95 °C trong 15 phút, biến tính ban đầu ở 95 °C trong 2 phút, sau đó thực hiện 45 chu kỳ gồm: biến tính ở 95 °C trong 5 giây, giai đoạn gắn mỗi ở nhiệt độ đặc hiệu cho từng miRNA trong 10 giây, và kéo dài ở 72 °C trong 10 giây. Giá trị Ct được ghi nhận và phân tích theo phương pháp Ct so sánh, với miRNA-16 được sử dụng làm gen nội chuẩn.

Trình tự mỗi:

miRNA-21-5p: F 5'-GCC CGC TAG CTT ATC AGA CTG ATG-3'

miRNA-145-5p: F 5'- GGTTTTTTGTCCAGTTTCCCAG-3'

miRNA-16: F 5'- CGC GCT AGC AGC ACG TAA ATA-3'

Mỗi ngược chung R 5'- GTG CAG GGT CCG AGG T-3'

Mức độ biểu hiện miRNA huyết tương tính bằng công thức của Livak KJ và cộng sự $miRNA = 2^{-\Delta Ct}$, Trong đó: $\Delta Ct = Ct (miRNA \text{ đích} - Ct (miRNA \text{ nội chuẩn}))$. Tỷ lệ fold change mức độ biểu hiện miRNA huyết tương giữa 2 nhóm nghiên cứu: $Fold \text{ change} = 2^{\Delta\Delta Ct}$. Trong đó: $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct (\text{nhóm đích}) - \Delta Ct (\text{nhóm chứng})$.

Phân tích số liệu

Sử dụng phần mềm phân tích SPSS 20.0 để phân tích thống kê. Với các biến định tính được biểu thị bằng tỷ lệ, với biến định lượng mô tả thông qua giá trị trung bình, trung vị. So sánh sự khác biệt giữa các quan sát bằng kiểm định "Independent – samples T test" hoặc "Mann Whitney" với độ tin cậy 95%. Phân tích đơn biến được tiến hành để đánh giá mối liên quan giữa mức độ biểu hiện của từng miRNA với sự hiện diện của HCC bằng cách so sánh bệnh nhân HCC với những bệnh nhân viêm gan B mạn tính (CHB). Hệ số tương quan Pearson được sử dụng để đánh giá mối tương quan giữa các biến. Giá trị AUC được sử dụng để đánh giá hiệu suất chẩn

đoán tổng thể của từng miRNA riêng lẻ cũng như sự kết hợp của chúng bằng phương pháp phân tích hồi quy logistic đa biến. Ngoài ra, phân tích hồi quy logistic nhị phân được áp dụng để đánh giá khả năng dự đoán của nhóm miRNA đối với phát hiện HCC. Mức ý nghĩa thống kê được thiết lập tại p-value hai phía < 0,05.

Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu đã được thông qua của Hội đồng đạo đức của Trường Đại học Y Hà Nội, với số chứng nhận: 894/GCN-HĐĐNC SYH-ĐHYHN. Nghiên cứu được hỗ trợ bởi Quỹ Đổi mới sáng tạo VINIF (VINIF) theo số VINIF.2021.DA00212.

III. KẾT QUẢ

3.1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của các nhóm đối tượng nghiên cứu trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Đặc điểm của nhóm nghiên cứu

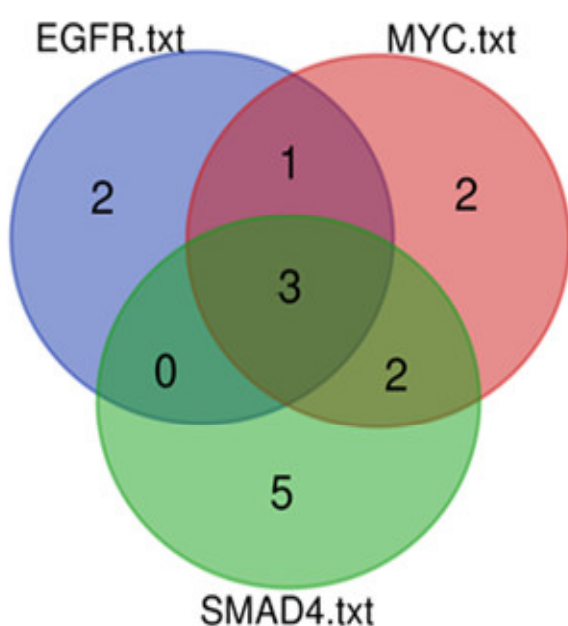
Nhóm \ Đặc điểm	HCC (n = 100)	Viêm gan B mạn (n = 100)	p
Tuổi: Mean $\pm$ SD	56,91 $\pm$ 12,85	41,25 $\pm$ 12,17	<0,001
Giới tính Nữ Nam	6 (6%) 94 (94%)	40 (40%) 60 (60%)	<0,001
BCLC A (n (%)) B C D	35 (35%) 24 (24%) 36 (36%) 5 (5%)		
AFP (ng/ml)	15156,7 $\pm$ 60099	5,13 $\pm$ 13,95	0,013
HBV DNA	1348485,7 $\pm$ 10545460	263608778 $\pm$ 579900346	<0,001
AST	112,07 $\pm$ 137,36	109,94 $\pm$ 244,27	0,942
ALT	85,82 $\pm$ 114,24	170,78 $\pm$ 366,57	0,03
Bilirubin toàn phần	23,31 $\pm$ 44	16,42 $\pm$ 35,86	0,248
Albumin	32,55 $\pm$ 15,02	42,68 $\pm$ 4,05	<0,001

BCLC, Phân loại giai đoạn ung thư gan Barcenola.

Nhận xét: Phần lớn các bệnh nhân là nam giới, chiếm 70%, trong đó tập trung nhiều nhất ở nhóm HCC. Độ tuổi trung bình của nhóm viêm gan B mạn thấp hơn so với nhóm tuổi của HCC. Nồng độ AFP có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm viêm gan B mạn và nhóm HCC ($p < 0,05$). Ngược lại, nồng độ HBV-DNA cao hơn có ý nghĩa trên nhóm bệnh nhân viêm gan B mạn. Chỉ số ALT cao hơn có ý nghĩa ở nhóm viêm gan B mạn ($p < 0,03$). Chỉ số albumin thấp hơn có ý nghĩa ở nhóm HCC ($p < 0,001$).

Lựa chọn miRNA

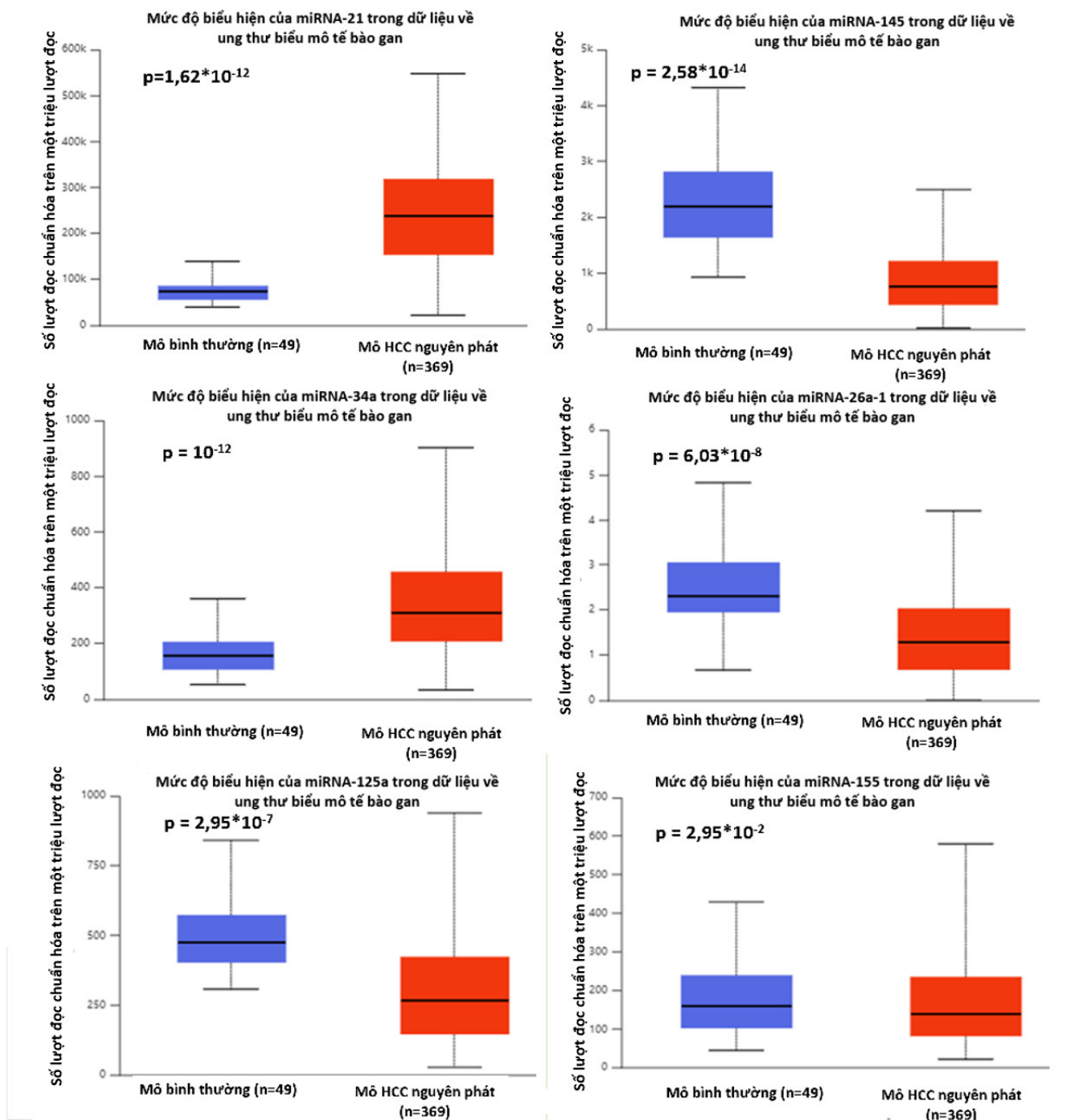
Pha sàng lọc miRNA: Lựa chọn các miRNA bằng phần mềm Mienturnet, phân tích tổng hợp các gen đích có liên quan đến ung thư biểu mô tế bào gan như EGFR tham gia vào con đường TGF α và PI3K-Akt, gen MYC tham gia vào con đường Wnt, gen SMAD4 tham gia con đường TGF- β . Sử dụng biểu đồ Venn để xác định các miRNA chung.



Tên gen đích	Tổng số	Thành phần miRNA
EGFR+MYC+SMAD4	3	miR-125a-5p, miR-145-5p, miR-155-5p
EGFR+MYC	1	miR-21-5p
MYC+SMAD4	2	miR-34a-5p miR-26a-5p
EGFR	2	miR-27a-5p miR-122-5p
MYC	2	miR-25-5p miR-455-3p
SMAD4	4	miR-513a-5p miR-199a-5p miR-224-5p miR-183-5p

Hình 1. Biểu đồ Venn phân tích các miRNA chung cho các gen đích liên quan đến cơ chế hình thành HCC

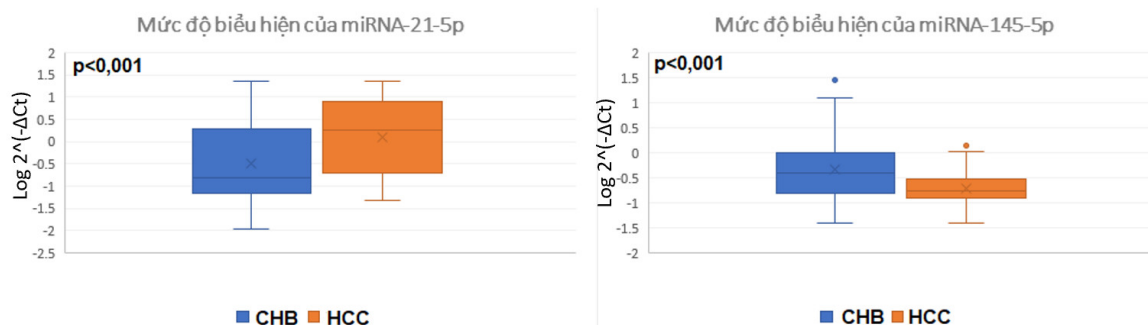
Dựa trên biểu đồ Venn ở trên chúng tôi lựa chọn phân tích 6 miRNA có chung ít nhất 2 gen trong 3 gen đích liên quan đến con đường tín hiệu phát sinh ung thư gan bằng dữ liệu trên UALCAN so sánh mức độ biểu hiện miRNA trên mô ung thư gan và mô lành (Hình 2), chúng tôi tiếp tục lựa chọn 2 miRNA có sự khác biệt lớn nhất giữa nhóm HCC và nhóm chứng là miRNA-145-5p ($p = 2,57 \cdot 10^{-14}$) và miRNA-21-5p ($p = 1,62 \cdot 10^{-12}$).



Hình 2. Phân tích sự khác biệt các miRNA trên dữ liệu UALCAN

Mức độ biểu hiện miRNA-145-5p và miRNA-21-5p ở bệnh nhân HCC và CHB

Kết quả phân tích mức độ biểu hiện của miRNA-145-5p và miRNA-21-5p trên 200 bệnh nhân được phân thành hai nhóm: viêm gan B mạn (n = 100) và HCC (n = 100) cho thấy: Mức độ biểu hiện của miRNA-21-5p cao gấp 3,9 lần, ngược lại, miRNA-145-5p thấp hơn ở nhóm HCC so với nhóm viêm gan B mạn tính, sự khác biệt này đều có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.



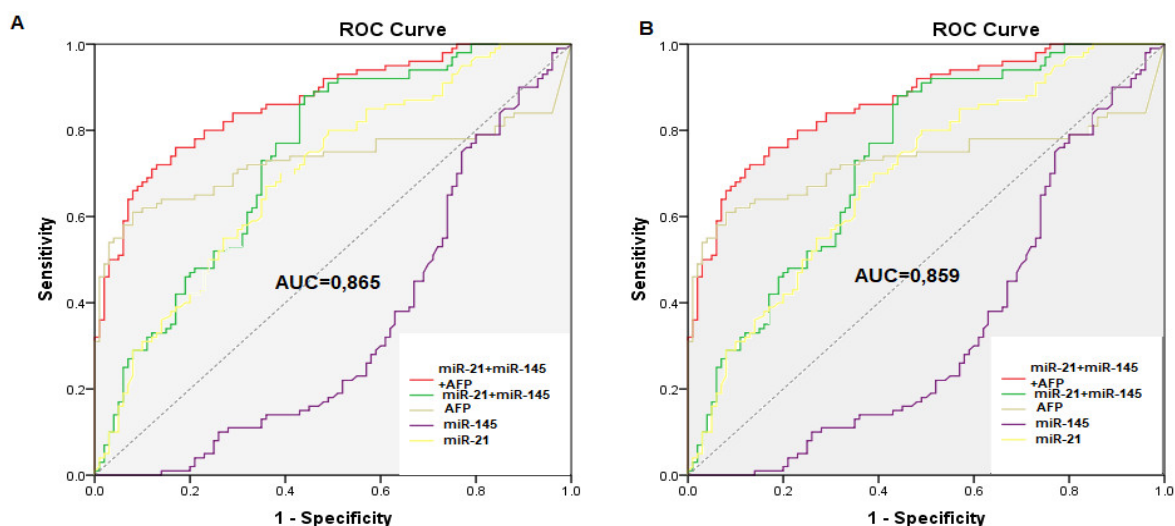
Hình 3. Mức độ biểu hiện của miRNA-21-5p và miRNA-145-5p ở HCC và CHB

Bảng 2. Tỷ lệ fold change mức độ biểu hiện hai miRNA huyết tương giữa 2 nhóm nghiên cứu HCC và CHB

MiRNA	$\Delta\Delta Ct$ (Mean ΔCt)	Fold-change
miR-21-5p	$-0,35 - 1,61 = -1,96$	3,9 lần
miR-145-5p	$2,39 - 1,35 = 1,04$	-2,06 lần

Giá trị chẩn đoán HCC của miRNA-21 và miRNA-145

Mặc dù, diện tích dưới đường cong của miRNA-21 và miRNA-145 thấp hơn của AFP khi chẩn đoán HCC từ nhóm viêm gan B mạn tính, tuy nhiên, khi kết hợp các miRNA-21, miRNA-145 và AFP đều làm tăng AUC so với sử dụng các miRNA này và AFP đơn lẻ ($AUC = 0,865$, $p < 0,001$). Đồng thời, việc sử dụng các miRNA cũng làm tăng độ nhạy khi sử dụng AFP trong chẩn đoán sàng lọc HCC (Hình 3.A).



Hình 4. Giá trị chẩn đoán của miRNA-29a-5p và AFP: A-Giữa nhóm HCC và viêm gan B mạn tính, B-Giữa nhóm HCC giai đoạn sớm và viêm gan B mạn tính

MiRNA	Nhóm	AUC	P	Cut-off	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)
miRNA-21	HCC-CHB	0,659	<0,001	0,193	80%	51%
miRNA-145		0,339	<0,001	0,042	99%	3%
AFP		0,728	<0,001	7,935	61%	92%

MiRNA	Nhóm	AUC	P	Cut-off	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)
miRNA-21+ miRNA- 145		0,735	<0,001	0,467	88%	56%
miRNA-21+ miRNA- 145 + AFP		0,865	<0,001	0,426	76%	83%
miRNA-21	HCC sớm - CHB	0,657	0,006	3,657	47%	84%
miRNA-145		0,337	0,005	0,42	100%	3%
AFP		0,642	0,013	7,935	50%	92%
miRNA-21+ miRNA- 145		0,751	<0,001	0,213	91,2%	52%
miRNA-21+ miRNA- 145 + AFP		0,859	<0,001	0,212	79,4%	79%

Khi phân tích nhóm HCC sớm ($n = 34$) theo phân loại BCLC-A và nhóm CHB ($n = 100$), diện tích dưới đường cong khi sử dụng miRNA-21, kết hợp miRNA-21 và miRNA-145 hoặc kết hợp miRNA-21, miRNA-145, và AFP đều cao hơn so với AFP riêng lẻ (tương ứng AUC = 0,657, 0,751, 0,859 so với AUC = 0,642, $p < 0,05$). Độ nhạy của các phức hợp miRNA cũng cao hơn so với AFP riêng lẻ.

IV. BÀN LUẬN

miRNA đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của ung thư biểu mô tế bào gan (HCC) thông qua việc điều hòa biểu hiện gen sau phiên mã. Các miRNA có thể hoạt động như các gen oncomiR (thúc đẩy ung thư) hoặc tumor suppressor miR (ức chế ung thư), tác động đến các con đường tín hiệu liên quan đến tăng sinh tế bào, chết tế bào theo chương trình, xâm lấn và di căn. Việc lựa chọn miRNA trong nghiên cứu ung thư biểu mô tế bào gan ngày càng trở nên quan trọng do sự không đồng nhất về kết quả giữa các nghiên cứu trước đó. Để khắc phục vấn đề này, cần kết hợp các phương pháp in silico, bao gồm tin sinh học và thực nghiệm, nhằm sàng lọc và xác nhận các miRNA tiềm năng một cách hệ thống. Cách tiếp cận đa phương pháp này không chỉ nâng cao độ tin cậy của kết quả nghiên cứu mà còn mở ra hướng ứng dụng miRNA trong chẩn đoán, tiên lượng và điều trị HCC một cách chính xác và cá thể hóa hơn.

Nghiên cứu này tiến hành lựa chọn miRNA để phân tích thông qua bước sàng lọc trên các hệ thống dữ liệu mở và phân tích in silico được thực hiện bằng công cụ tin sinh học Mienturnet¹⁰. Các

miRNA được chọn lọc là những miRNA có mối liên quan chặt chẽ với các gen trong các con đường tín hiệu nội bào liên quan đến sự hình thành và tiến triển của HCC. Kết hợp phân tích dữ liệu UALCAN, chọn ra 2 miRNA gồm miRNA-21-5p và miRNA-145-5p có sự khác biệt giữa hai nhóm HCC và CHB với mức p có ý nghĩa nhất.

MicroRNA-21-5p (miRNA-21-5p) là một trong những microRNA được nghiên cứu nhiều nhất trong ung thư biểu mô tế bào gan (HCC), với vai trò quan trọng trong việc điều hòa các con đường tín hiệu nội bào liên quan đến sự phát triển và tiến triển của khối u. Sự biểu hiện tăng cao của miRNA-21-5p trong HCC đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu, cho thấy mối liên hệ chặt chẽ giữa miRNA này và quá trình ung thư hóa ở gan. Một trong những cơ chế chính mà miRNA-21-5p ảnh hưởng đến HCC là thông qua việc điều hòa các gen đích quan trọng như PTEN và EGFR. Trong nghiên cứu của chúng tôi, miRNA-21-5p có mức độ biểu hiện cao hơn trong nhóm bệnh nhân HCC so với nhóm viêm gan B mạn tính do nhiễm HBV, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Kết quả này phù hợp với nhiều nghiên cứu trên thế giới, cho thấy miRNA-21-5p đóng vai trò quan trọng trong quá trình sinh ung thư gan và có tiềm năng như một biomarker chẩn đoán. Tại Nhật Bản, nghiên cứu của Tomimaru và cộng sự (2012)¹¹ đã phát hiện rằng miRNA-21 biểu hiện cao hơn đáng kể trong huyết tương của bệnh nhân HCC so với nhóm viêm gan mạn và người khỏe mạnh, với $p < 0,0001$. Kết quả này nhấn mạnh tiềm năng của miRNA-21 như một công cụ hỗ trợ chẩn đoán HCC. Điều này củng cố thêm bằng chứng về vai trò của

miRNA-21 trong quá trình phát triển HCC và khả năng sử dụng nó như một dấu ấn sinh học cho bệnh này. Tại Việt Nam, nghiên cứu của Đặng Chiêu Dương (2020)¹² tại Học viện Quân y đã xác nhận rằng miRNA-21 có biểu hiện tăng cao trong huyết tương của bệnh nhân HCC so với nhóm viêm gan B mạn tính và người khỏe mạnh, với $p < 0,001$. Những nghiên cứu này cho thấy sự nhất quán trong việc miRNA-21 tăng cao ở bệnh nhân HCC so với viêm gan B mạn tính trên toàn cầu. Điều này nhấn mạnh tiềm năng của miRNA-21 như một dấu ấn sinh học quan trọng trong chẩn đoán và theo dõi HCC, đặc biệt trong các quần thể có tỷ lệ nhiễm HBV cao.

MiRNA-145-5p đóng vai trò quan trọng trong ung thư biểu mô tế bào gan với các cơ chế như ức chế oncogenes, tác động đến chu trình tế bào và apoptosis, ảnh hưởng đến quá trình di căn, và con đường tín hiệu TGF- β . MiRNA-145 có thể can thiệp vào con đường tín hiệu TGF- β , một yếu tố quan trọng trong việc điều hòa sự chuyển đổi EMT, là một quá trình quan trọng trong sự di căn của ung thư. MiRNA-145 làm giảm sự kích hoạt TGF- β , qua đó ngăn chặn quá trình chuyển đổi biểu mô-mesenchymal, từ đó làm giảm khả năng di căn của tế bào ung thư.¹³ Trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy mức độ biểu hiện của miRNA-145-5p giảm ở nhóm HCC 2,06 lần so với nhóm CHB do nhiễm viêm gan B mạn tính ($p < 0,001$). Nghiên cứu này phù hợp với kết quả của các nghiên cứu khác trên thế giới cho thấy mức độ biểu hiện của miRNA-145-5p giảm trong nhóm HCC. Tuy nhiên, các nghiên cứu trước đây chủ yếu đánh giá cao việc sử dụng miRNA-145-5p trong tiên lượng bệnh nhân ung thư gan.

Phân tích về giá trị chẩn đoán của các miRNA-21 và miRNA-145 trong ung thư biểu mô tế bào gan, diện tích dưới đường cong của miRNA-21 và miRNA-145 thấp hơn của AFP khi chẩn đoán HCC từ nhóm viêm gan B mạn tính. Tuy nhiên khi kết hợp các miRNA này và AFP đều làm tăng diện tích dưới đường cong (AUC), độ nhạy của phức hợp này cũng tăng lên có ý nghĩa trong quá trình sàng lọc đối với HCC so với nhóm viêm gan B mạn tính. Tương tự như vậy, AUC cũng tăng lên đáng kể khi kết hợp cả hai miRNA-21 và miRNA-145 với AFP ở nhóm bệnh

nhân HCC giai đoạn sớm so với nhóm CHB. Các nghiên cứu trước đây cho thấy AFP có độ nhạy và độ đặc hiệu thấp, đặc biệt trong giai đoạn sớm của bệnh, dẫn đến bỏ sót nhiều trường hợp trong chẩn đoán HCC. Điều này là do nồng độ AFP trong máu không tăng cao ở một số bệnh nhân HCC hoặc tăng trong các bệnh lý gan khác như viêm gan mạn và xơ gan. Do đó, việc kết hợp AFP với các microRNA (miRNA) - những phân tử RNA nhỏ điều hòa biểu hiện gen, giúp cải thiện độ chính xác trong phát hiện sớm HCC. Kết quả của nghiên cứu có thể là một gợi ý cho việc kết hợp các miRNA tạo thành panel trong chẩn đoán HCC.

V. KẾT LUẬN

Mức độ biểu hiện của miRNA-21-5p tăng gấp 3,9 lần và miRNA-145-5p giảm 2,6 lần ở nhóm HCC so với nhóm CHB, sự khác biệt đều có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Vì vậy, miRNA-21-5p và miRNA-145-5p là những dấu ấn sinh học tiềm năng có ý nghĩa trong chẩn đoán HCC ở bệnh nhân viêm gan B mạn tính.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Zhang C hao, Cheng Y, Zhang S, Fan J, Gao Q (2022) *Changing epidemiology of hepatocellular carcinoma in Asia*. Liver Int 42(9): 2029-2041. doi:10.1111/liv.15251.
2. Bray F, Laversanne M, Sung H et al (2024) *Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*. CA Cancer J Clin 74(3): 229-263. doi:10.3322/caac.21834.
3. Nguyen-Dinh SH, Do A, Pham TND, Dao DY, Nguy TN, Chen MS (2018) *High burden of hepatocellular carcinoma and viral hepatitis in Southern and Central Vietnam: Experience of a large tertiary referral center, 2010 to 2016*. World J Hepatol. 2018;10(1):116-123. doi:10.4254/wjh.v10.i1.116.
4. Qu J, Yang J, Chen M et al (2019) *MicroRNA-21 as a diagnostic marker for hepatocellular carcinoma: A systematic review and meta-analysis*. Pak J Med Sci 35(5):1466-1471. doi:10.12669/pjms.35.5.685.
5. Kadkhoda S, Ghafouri-Fard S (2022) *Function of miRNA-145-5p in the pathogenesis of human*

- disorders*. Pathol Res Pract 231: 153780. doi:10.1016/j.prp.2022.153780.
6. Bộ Y tế (2024) Quyết định 3310/QĐ-BYT 2019 hướng dẫn chẩn đoán điều trị bệnh viêm gan vi rút B. 2019. Accessed. <https://thuvienphapluat.vn/van-ban/The-thao-Y-te/Quyết-dinh-3310-QĐ-BYT-2019-huong-dan-chan-doan-dieu-tri-benh-viem-gan-vi-rut-B-419819.aspx>.
 7. Bộ Y tế (2020) Quyết định 3129/QĐ-BYT 2020 tài liệu Hướng dẫn chẩn đoán điều trị ung thư biểu mô tế bào gan. Published online 2020.
 8. Kramer MF (2011) STEM-LOOP RT-qPCR for miRNAs. Curr Protoc Mol Biol Ed Frederick M Ausubel AI CHAPTER: Unit15.10. doi:10.1002/0471142727.mb1510s95.
 9. Livak KJ, Schmittgen TD (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods 25(4):402-408. doi: 10.1006/meth.2001.1262.
 10. Licursi V, Conte F, Fiscon G, Paci P (2019) MIENTURNET: An interactive web tool for microRNA-target enrichment and network-based analysis. BMC Bioinformatics 20(1): 545. doi:10.1186/s12859-019-3105-x.
 11. Tomimaru Y, Eguchi H, Nagano H et al (2012) Circulating microRNA-21 as a novel biomarker for hepatocellular carcinoma. J Hepatol 56(1): 167-175. doi:10.1016/j.jhep.2011.04.026.
 12. Đặng Chiếu Dương, Nguyễn Linh Toàn, Ngô Tất Trung (2020) Nghiên Cứu Biểu Hiện microRNA-21, microRNA-122 Huyết tương ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan nhiễm vi rút viêm gan B. Học viện Quân y.
 13. Chen S, Xu J, Su Y, Hua L, Feng C, Lin Z, Huang H, Li Y (2020) MicroRNA-145 suppresses epithelial to mesenchymal transition in pancreatic cancer cells by inhibiting TGF- β signaling pathway. J Cancer 11(9): 2716-2723. doi: 10.7150/jca.34902.