

Nghiên cứu giá trị dấu ấn sinh học DKK1 và HBx-LINE1 trong chẩn đoán và theo dõi điều trị ung thư biểu mô tế bào gan

Study on validity of biomarkers DKK1 and HBx-LINE1 in diagnosis and posttreatment monitoring of hepatocellular carcinoma

Lê Trung Hải*, Phan Quốc Hoàn**, Nguyễn Tiến Thịnh**,
Lê Thanh Sơn****, Lê Văn Thành**, Ngô Tất Trung**,
Đào Đức Tiến***, Lê Trung Hiếu**, Đào Phương Giang**,
Vũ Văn Quang**, Mai Thanh Bình**,
Nguyễn Ngọc Đại Lâm***** và cộng sự

*Cục Quân y
**Bệnh viện Trung ương Quân đội 108
***Bệnh viện Quân y 175
****Bệnh viện Quân y 103
*****Bệnh viện E

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá giá trị của DKK1 và HBx-LINE1 trong chẩn đoán và theo dõi điều trị ung thư biểu mô tế bào gan có nhiễm HBV và phân tích mối liên quan với lâm sàng và cận lâm sàng. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu 114 trường hợp ung thư biểu mô tế bào gan có nhiễm HBV tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108, Bệnh viện Quân y 103 và Bệnh viện Quân y 175 (1/2016 - 3/2018). Các bệnh nhân được xét nghiệm DKK1 và HBx-LINE1, có kiểm tra xét nghiệm sau mổ. **Kết quả:** Với ngưỡng DKK1 $\geq 2,15\text{ng/mL}$, tỷ lệ nồng độ protein DKK1 huyết thanh dương tính ở các nhóm nghiên cứu tăng cao hơn hẳn so với tỷ lệ dương tính của xét nghiệm AFP (97,37% so với 62,92%). So sánh với nhóm xơ gan thì các giá trị trung bình nồng độ protein DKK1 huyết thanh của nhóm ung thư biểu mô tế bào gan đã tăng cao rõ rệt ($p < 0,05$). Sử dụng phối hợp cả 2 xét nghiệm AFP và biểu hiện gen DKK1 sẽ cải thiện tỷ lệ dương tính và giúp chẩn đoán thêm ở 12,3% số trường hợp ung thư biểu mô tế bào gan nữa. Phân tích logistic cho thấy nguy cơ mắc ung thư biểu mô tế bào gan ở nhóm có DKK1 $\geq 2,15\text{ng/mL}$ cao gấp 18,5 lần với $p = 0,005$. **Kết luận:** Các dấu ấn sinh học protein DKK1 huyết thanh và biểu hiện gen DKK1 có giá trị trong chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan, nhất là khi AFP âm tính. Chưa phát hiện thấy biểu hiện chuyển gen HBx-LINE1 ở các bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan có nhiễm HBV.

Từ khóa: Virus viêm gan B, ung thư gan, dấu ấn sinh học DKK1, dấu ấn sinh học HBx-LINE1.

Summary

Objective: Evaluate validity of DKK1 and HBx-LINE1 in diagnosis and post-treatment of HCC/HBV and analyse relationship with clinical and paraclinical some characteristics. **Subject and method:** Study on 114 HCC patients at 108 Military Central Hospital, 103 Military Hospital and 175 Military Hospital (January 2016 to March 2018) with DKK1 and HBx-LINE1, re-examination after surgery. **Result:** With DKK1 $\geq 2.15\text{ng/mL}$, the positive rates of serum protein DKK1 were

Ngày nhận bài: 17/5/2018, ngày chấp nhận đăng: 25/5/2018

Người phản hồi: Lê Trung Hải, Email: mgprof.lthai@gmail.com - Cục Quân y

significant increased when compared with those of AFP (97.37% vs 62.92%). The mean of serum protein DKK1 of HCC was significant higher than it in liver cirrhosis patients with $p < 0.05$. Combination between AFP and DKK1 expression will improved positive rates and help more diagnosis in 12.3% of HCC cases. Logistic regression analysis showed the risk of HCC will be increased about 18.5 times when $DKK1 \geq 2.15 \text{ ng/mL}$. **Conclusion:** Biomarkers serum protein DKK1 and DKK1 expression have validity in diagnosis and post-treatment of HCC, especially for AFP-negative patient. HBx-LINE1 fusion transcript was not identified in our study.

Keywords: Hepatitis B virus, hepatocellular carcinoma, biomarker DKK1, biomarker HBx-LINE1.

1. Đặt vấn đề

Ung thư biểu mô tế bào gan (UBTG) là một trong những loại ung thư khá phổ biến trên thế giới và ở Việt Nam, gây tỷ lệ tử vong cao cho người bệnh. Trong các yếu tố nguy cơ hàng đầu gây bệnh UBTG ở nước ta phải kể đến tình trạng nhiễm vi rút viêm gan B (HBV) với tỷ lệ cao từ 60 - 80% bệnh nhân UBTG có mang vi rút viêm gan B. Theo Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) - 4/2017, ước tính có khoảng gần 260 triệu người mang HBV mạn tính, tập trung nhiều ở 11 nước, trong đó có Việt Nam và hàng năm trên Thế giới có khoảng 1,4 triệu người chết do nhiễm cấp tính và UBTG, trong đó có tới 47% liên quan đến HBV. Nghiên cứu công bố gần đây tháng 11/2017 cho thấy trong quần thể gần 120.000 trường hợp ung thư được phát hiện tại thành phố Hồ Chí Minh 20 năm (từ năm 1995 đến năm 2014) thì UBTG đứng hàng thứ ba, chỉ sau ung thư phổi và ung thư vú. Đặc biệt, theo nghiên cứu tổng hợp gần đây tại các bệnh viện lớn trong quân đội của Trần Ngọc Dũng (2018) UBTG chiếm nhiều nhất trong số các bệnh lý ung thư mà quân nhân mắc phải và đây là vấn đề rất đáng quan tâm cần nghiên cứu để phòng chống của ngành Quân y Việt Nam.

Những nguyên nhân có liên quan đến HBV gây UBTG được xác định là do kiểu gen, đột biến gen HBx của HBV, tính chất di truyền học của người bệnh và quá trình tương tác giữa bộ gen của vi rút với DNA của tế bào gan. Nhiều nghiên cứu gần đây cho thấy tỷ lệ đột biến gen HBx này đều tăng hơn rõ rệt và đột biến gen Pre - S cũng làm tăng nguy cơ phát sinh UBTG, nhất là đột biến mất đoạn. Kiểu gen của HBV là yếu tố

liên quan đến sự hình thành và phát triển UBTG, trong đó kiểu gen C có nguy cơ gây UBTG cao hơn. Ngoài ra, các nghiên cứu cũng cho thấy sự tương tác qua lại giữa gen HBV và gen người có thể phát sinh ung thư, nhất là liên quan đến việc tạo ra phiên mã tổ hợp gen vi rút - người (HBx-LINE1) có chức năng tương tự như RNA không mã hóa đoạn dài, gây tăng nguy cơ sinh u và phát triển UBTG. Nghiên cứu của Lau Chi-Chiu (ở Hồng Kông - 2014) cho thấy sự xuất hiện của chuyển gene HBx-LINE1 chiếm 23,3% khối mô ung thư gan. Đây được coi như là một đột biến khởi mào cho sự dịch chuyển từ tế bào gan lành nhiễm HBV sang tế bào ác tính. Điều này có nghĩa sự xuất hiện của HBx-LINE1, cần được nhìn nhận như là một dấu ấn rất sớm thúc đẩy quá trình chuyển dạng ác tính của tế bào gan mang HBV. Tuy nhiên, Zucman-Rossi J và cộng sự (Pháp 2014) qua 50 trường hợp UBTG có liên quan đến HBV song đã không thấy sự xuất hiện của chuyển gene HBx-LINE1. Tác giả cho rằng sự xuất hiện của chuyển gene HBx-LINE1 ở các bệnh nhân HCC/HBV ở Hồng Kông có thể chỉ giới hạn trong quần thể dân cư ở đây, nơi mà vi rút viêm gan B với kiểu gen C chiếm ưu thế và đề nghị cần có các nghiên cứu độc lập khác để tiếp tục đánh giá.

Việc chẩn đoán UBTG dựa vào các yếu tố chính là chẩn đoán hình ảnh, các xét nghiệm dấu ấn sinh học và tế bào mô học. Các xét nghiệm dấu ấn sinh học không chỉ có vai trò quan trọng trong chẩn đoán mà còn giúp tiên lượng, theo dõi kết quả điều trị, đánh giá nguy cơ tái phát trong UBTG. Xu hướng mới gần đây tập trung vào các

dấu ấn sinh học kết hợp với các đặc điểm hình thái, nhất là trong sàng lọc, chẩn đoán, đánh giá sự xâm lấn, di căn, tái phát, tiên lượng cũng như giúp điều trị liệu pháp trúng đích và theo dõi điều trị bệnh nhân UBTG. Các dấu ấn sinh học có giá trị và được quan tâm nhiều gồm các dấu ấn trong huyết thanh: Alpha Foeto-Protein (AFP), AFP-L3, Des-Gamma-Carboxyprothrombin (DCP) và các dấu ấn phân tử. Tuy nhiên, việc sử dụng AFP trong chẩn đoán UBTG có thể bị dương tính giả hoặc âm tính giả với một tỷ lệ không nhỏ. Các xét nghiệm AFP-L3 và DCP giúp tăng tỷ lệ chẩn đoán. Khi kết hợp các dấu ấn này với nhau sẽ làm tăng khả năng phát hiện UBTG, nhất là khi khối u còn có kích thước nhỏ hơn 2cm, tuy nhiên điều này làm gia tăng giá thành chẩn đoán và không phải cơ sở y tế nào cũng có thể tiến hành được. Vì vậy việc nghiên cứu tìm ra một dấu ấn sinh học mới nhằm nâng cao độ nhạy, độ đặc hiệu và đặc biệt hỗ trợ cho các dấu ấn đang tồn tại như AFP cũng như hỗ trợ cho các trường hợp khối u gan nhỏ trong chẩn đoán UBTG, đồng thời giúp cho tiên lượng và theo dõi hiệu quả điều trị là cần thiết. DKK1 (Dickkopf-1) là một loại glycoprotein giữ vai trò quan trọng trong sự phát triển của phôi thai. Nó hoạt động như một chất ức chế con đường tín hiệu quan trọng cho phát triển tế bào và đang được nghiên cứu cho liệu pháp trúng đích tiềm năng trong UBTG. Vai trò của DKK1 trong chẩn đoán UBTG cũng đã được quan tâm nghiên cứu trong những năm gần đây và cho kết quả rất khả quan. Shen và cộng sự (2012) qua nghiên cứu đa trung tâm cho thấy sử dụng nồng độ DKK1 huyết thanh có kết quả chẩn đoán UBTG tốt hơn so với AFP. Khi kết hợp đồng thời DKK1 và AFP sẽ cải thiện độ chính xác của chẩn đoán UBTG so với khi chỉ sử dụng một test chẩn đoán đơn thuần. Nghiên cứu tiếp theo phân tích tổng hợp nhiều báo cáo của Jie Zhang (2014) cũng cho thấy DKK1 hoặc kết hợp DKK1 với AFP đã có giá trị chẩn đoán chính xác cao UBTG.

Ở Việt Nam, đã có một số nghiên cứu đi vào lĩnh vực sinh học phân tử xác định mối liên quan

giữa yếu tố nguy cơ nhiễm HBV (kiểu gen, đột biến gen) với UBTG. Tuy nhiên, cho đến nay có rất ít cơ sở y tế triển khai xét nghiệm ở mức độ phân tử và di truyền đánh giá mức độ biểu hiện gen DKK1 mRNA và protein DKK1 trong huyết thanh cũng như tần suất chuyển gen HBx-LINE1 ở bệnh nhân UBTG, kể cả các kỹ thuật sinh học phân tử sẵn tìm sự có mặt của HBx-LINE1 trong máu ngoại vi. Với hy vọng có thể góp phần xác định các dấu ấn sinh học mới giúp chẩn đoán, theo dõi tiên lượng điều trị UBTG và nghiên cứu liệu pháp trúng đích tiềm năng trong điều trị UBTG, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với các mục tiêu sau:

Đánh giá giá trị của DKK1 trong chẩn đoán UBTG và theo dõi sau điều trị cắt gan do UBTG. Phân tích mối liên quan giữa DKK1 với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của UBTG.

Xác định tần suất chuyển gen HBx-LINE1 ở bệnh nhân UBTG có nhiễm HBV và đánh giá giá trị của chuyển gen HBx-LINE1 trong theo dõi điều trị UBTG/HBV.

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

Gồm các bệnh nhân (BN) ung thư biểu mô tế bào gan có nhiễm HBV được điều trị tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108, Bệnh viện Quân y 103 và Bệnh viện Quân y 175 trong thời gian từ tháng 1/2016 đến tháng 3/2018.

Tổng số BN nghiên cứu gồm 120 trường hợp, chia làm 4 nhóm: Nhóm 1: UBTG được điều trị phẫu thuật cắt gan (33 BN) và có lấy mẫu bệnh phẩm qua mảnh gan được cắt; nhóm 2: Nhóm UBTG có lấy bệnh phẩm qua sinh thiết gan (81 BN), được điều trị can thiệp hoặc các biện pháp khác; nhóm 3: Nhóm xơ gan có nhiễm vi rút HBV (6 BN) có lấy bệnh phẩm qua sinh thiết gan (nhóm tham khảo); nhóm 4: Nhóm theo dõi điều trị (19 BN) gồm các BN đã được phẫu thuật cắt gan đã xuất viện được mời đến kiểm tra theo dõi kết quả điều trị và được xét nghiệm protein DKK1 huyết thanh và mức độ biểu hiện gen DKK1 sau mổ.

Tiêu chuẩn chọn: Bệnh nhân UBTG có nhiễm HBV được chẩn đoán xác định bằng tế bào và/hoặc mô bệnh học có UBTG và có nhiễm HBV; BN xơ gan: Có đủ hai hội chứng trên lâm sàng và xét nghiệm: Hội chứng tăng áp lực tĩnh mạch cửa và hội chứng suy tế bào gan. Xét nghiệm HBsAg (+).

2.2. Phương pháp

Mô tả, tiến cứu.

Phương pháp nghiên cứu lâm sàng, cận lâm sàng: Tất cả các BN nghiên cứu được thăm khám lâm sàng, làm các khám nghiệm cận lâm sàng, trong đó chẩn đoán UBTG dựa theo tiêu chuẩn của Hội Gan mật Hoa Kỳ.

Lấy mẫu bệnh phẩm qua sinh thiết gan (bằng súng sinh thiết gan tự động Tru-cut, dưới hướng dẫn của siêu âm) và lấy mẫu bệnh phẩm qua phẫu thuật cắt gan (chiều dài của mẫu bệnh phẩm phải từ 1cm trở lên và bệnh phẩm lấy tại khối u) được bảo quản trong hộp bảo ôn và được gửi đến Khoa Sinh học Phân tử, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 trong vòng 3 giờ sau khi lấy mẫu.

Phương pháp xét nghiệm DKK1: Các hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị được sử dụng tại Khoa Sinh học Phân tử, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108. Triển khai xét nghiệm mức độ biểu hiện gen DKK1 và nồng độ protein DKK1 huyết thanh ở các bệnh nhân UBTG, trong đó lưu ý các khâu tách ARN, tổng hợp cADN, lựa chọn gen nội chuẩn, sử dụng kỹ thuật Realtime PCR với đầu dò Taqman để xác định mức độ biểu hiện gen DKK1 và sử dụng kỹ thuật ELISA (với kit của công ty R&D Systems, Inc) để xác định nồng độ protein DKK1 huyết thanh.

Phương pháp xét nghiệm HBx-LINE1: Các hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị được sử dụng tại Khoa Sinh học Phân tử, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108. Triển khai xét nghiệm xác định tần xuất chuyển gen HBx-LINE1 ở các bệnh nhân UBTG có nhiễm HBV, trong đó lưu ý các bước tách RNA (có sử dụng kit tách của

Quiagen), tổng hợp cDNA (với bộ kit của Thermo), nhân gen HBx bằng phương pháp giải trình tự gen (với máy CEQ8800) và chạy PCR cho Sequencing.

Xử lý số liệu: Các số liệu nghiên cứu được quản lý và phân tích bởi phần mềm SPSS 15.0. Số liệu với p-value<0,05 được coi là có ý nghĩa thống kê.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Đặc điểm chẩn đoán và điều trị

Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng:

Nhóm BN UBTG có tuổi trung bình là $56,71 \pm 2,25$, lứa tuổi gặp nhiều nhất từ 40 - 60, chiếm 54,3%, số BN nam chiếm đa số (86,84%), tỷ lệ nam/ nữ là 6,6/ 1. Điều này cũng phù hợp với nhiều nghiên cứu khác của Thái Doãn Kỳ (2015), Nguyễn Thị Thanh Huyền (2017) và gần đây là Đào Đức Tiến (2018) với độ tuổi trung bình là $60,7 \pm 11,6$ và có tỷ lệ nam/nữ là 9/1. Các nghiên cứu của Moreno Luna LE (2013) và Floridi C (2017) cho thấy tỷ lệ nam/nữ trong UBTG cũng khá cao từ 4/1 - 6,2/1. Lý do được đưa ra ở nam giới có thể do lượng testosterone cao và liên quan uống rượu bia nhiều hơn.

Trong tổng số cả 2 nhóm (cắt gan và sinh thiết gan do UBTG) thì tỷ lệ chung xét nghiệm nồng độ AFP (+) ở mức từ 20ng/mL trở lên gặp ở 73/114 BN (60,04%) và tỷ lệ âm tính là 39,96%. Tỷ lệ này cũng chính là tỷ lệ âm tính giả của AFP và điều này cho thấy những hạn chế của xét nghiệm AFP trong chẩn đoán UBTG. Nhiều nghiên cứu gần đây về UBTG của các tác giả khác cũng cho thấy tỷ lệ dương tính của AFP ở các BN UBTG là chưa cao, chỉ từ 46,3 - 61,9% (TD Kỳ 2015, LC Chánh 2015, TCD Long 2016, NTT Huyền 2017, ĐĐ Tiến 2018, NĐ Sáng 2018). Như vậy tỷ lệ âm tính giả của các nghiên cứu trên sẽ dao động từ 38,1 - 53,7%.

Trong đặc điểm tổn thương ở 114 BN UBTG cho thấy đa số các trường hợp (trên 60%) gặp vị trí u ở bên gan phải, số lượng 1 khối u và kích thước u ≥ 5 cm. Giải phẫu bệnh và giai đoạn

bệnh của UBTG cho thấy gặp nhiều nhất là độ biệt hóa trung bình (64,91%) và xếp loại BCLC giai đoạn A (49,12%).

Đặc điểm về điều trị: Ở nhóm phẫu thuật cắt gan do UBTG (33 ca) cho thấy cắt gan lớn là 42,42%, hầu hết theo phương pháp Takasaki (87,87%). Đối với nhóm 81 BN sinh thiết gan do UBTG có đa số 42/81 (51,85%) được điều trị can thiệp mà nhiều nhất là phương pháp TACE.

3.2. Kết quả xét nghiệm DKK1

3.2.1. Nồng độ protein DKK1 huyết thanh

Nghiên cứu của chúng tôi với ngưỡng $\geq 2,15\text{ng/mL}$ thì tỷ lệ nồng độ protein DKK1 huyết thanh dương tính ở các nhóm cắt gan, nhóm sinh thiết gan và chung cả 2 nhóm trên lần lượt là 93,94%, 98,77% và 97,37% cao hơn hẳn so với tỷ lệ dương tính của xét nghiệm AFP (với nồng độ $\geq 20\text{ng/mL}$) của các nhóm tương ứng nói trên lần lượt là 51,52%, 69,64% và 62,92%. Ngoài ra, nếu so sánh (tham khảo) với nhóm xơ gan thì các giá trị trung bình nồng độ protein DKK1 huyết thanh của nhóm UBTG ($126,47 \pm 94,83\text{ng/mL}$) đã tăng cao rõ rệt so với giá trị này ở nhóm xơ gan ($37,04 \pm 33,96\text{ng/mL}$). Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p=0,024$.

Các tác giả Tung EK-K và cộng sự (2012), Prieto PA và cộng sự (2013), Jie Zhang và cộng sự (2014), Yasser M Fouad và cộng sự (2016) cũng cho rằng xét nghiệm AFP đã được sử dụng từ lâu, tuy nhiên độ đặc hiệu trong chẩn đoán còn thấp nên cần cấp thiết nghiên cứu tìm ra các xét nghiệm chính xác và nhạy hơn để sàng lọc UBTG. Các tác giả cho rằng với ngưỡng dương tính là $2,15\text{ng/mL}$ giúp cho chẩn đoán và DKK1 là một biện pháp bổ trợ với AFP trong chẩn đoán UBTG. Nó giúp cải thiện chẩn đoán với các bệnh nhân UBTG có AFP âm tính.

3.2.2. Mức độ biểu hiện gen DKK1

Trong số 6 trường hợp mức độ biểu hiện gen DKK1 $> 2,15$ (dương tính) ở nhóm cắt gan thì có 5 trường hợp có kèm theo nồng độ AFP

âm tính với giá trị trung bình mức độ biểu hiện gen DKK1 là $10,03 \pm 1,7$ (3,76 - 20,11). Chung cả 2 nhóm có 12/57 (21,05%) trường hợp mức độ biểu hiện gen DKK1 $> 2,15$ (dương tính) và đặc biệt trong đó có 7/57 (12,3%) trường hợp có kèm theo nồng độ AFP âm tính với giá trị trung bình mức độ biểu hiện gen DKK1 là $14,51 \pm 4,64$ (3,76 - 48,17). Như vậy, nếu sử dụng phối hợp cả 2 xét nghiệm AFP và biểu hiện gen DKK1 sẽ giúp cải thiện tỷ lệ dương tính và giúp chẩn đoán thêm nữa ở 12,3% số trường hợp UBTG. Việc cải thiện tỷ lệ chẩn đoán chính xác UBTG thêm 12,3% này có ý nghĩa quan trọng, nhất là ở các trường hợp UBTG có xét nghiệm AFP âm tính. Đây cũng là những đóng góp đáng khích lệ và giá trị của DKK1 trong chẩn đoán UBTG.

Trong một nghiên cứu mới đây, Mona Watany và cộng sự (2017) đã xét nghiệm biểu hiện gen DKK1 ở 50 trường hợp UBTG và 10 ca chứng cho thấy DKK1 là một dấu ấn sinh học rất hứa hẹn, ngay cả khi ở BN có AFP âm tính và việc phối hợp AFP với DKK1 giúp cải thiện tỷ lệ chẩn đoán chính xác UBTG có liên quan viêm gan B. Tác giả đề xuất vấn đề này cần được nghiên cứu thêm với số lượng lớn hơn và ở nhiều trung tâm hơn.

3.2.3. Mối liên quan giữa nồng độ protein DKK1 huyết thanh, mức độ biểu hiện gen DKK1 với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng

Trong mối liên quan của mức độ biểu hiện gen DKK1 với số lượng, kích thước khối u ở nhóm cắt gan do UBTG cho thấy mức độ biểu hiện gen DKK1 giảm khi số lượng ≥ 2 u với giá trị $0,28 \pm 0,38$ so với ở 1 u là $2,76 \pm 6,41$. Sự thay đổi giảm này cũng thấy khi kích thước $u \geq 5\text{cm}$ với giá trị $0,48 \pm 0,85$ so với $< 5\text{cm}$ là $3,70 \pm 7,53$. Và sự thay đổi giảm này cũng thấy được tương tự như ở nồng độ AFP.

Phối hợp mức độ biểu hiện gen DKK1 hoặc protein DKK1 huyết thanh trong chẩn đoán khi AFP âm tính ở nhóm BN cắt gan: Ở các trường hợp AFP âm tính (16 ca có nồng độ $< 20\text{ng/mL}$

với nồng độ trung bình là $5,11 \pm 1,31\text{ng/mL}$) trong nhóm cắt gan đều có nồng độ protein DKK1 huyết thanh $> 2,15\text{ng/mL}$ (dương tính) với giá trị trung bình ở 16 ca này là $129,82 \pm 15,4\text{ng/mL}$ và so sánh với nhóm xơ gan có nồng độ protein DKK1 huyết thanh trung bình là $37,04 \pm 3,78\text{ng/mL}$. Như vậy, nếu sử dụng phối hợp cả 3 xét nghiệm AFP và nồng độ protein DKK1 huyết thanh cũng như biểu hiện gen DKK1 sẽ giúp chẩn đoán thêm ở các trường hợp AFP âm tính.

Kết quả phân tích logistic cho thấy nguy cơ mắc UBTG ở nhóm có protein DKK1 huyết thanh $\geq 2,15\text{ng/mL}$ cao gấp 18,5 lần so với nhóm xơ gan với $p=0,005$.

3.2.4. Giá trị theo dõi điều trị UBTG và mối liên quan của DKK1

Trong tổng số 33 ca điều trị cắt gan do UBTG có 19 ca đến kiểm tra và được làm các xét nghiệm protein DKK1 huyết thanh và xác định mức độ biểu hiện gen DKK1. Thời gian trung bình sau điều trị cắt gan là 11,68 tháng (từ 4 - 20 tháng sau mổ cắt gan do UBTG).

Kết quả cho thấy sự thay đổi về mức độ biểu hiện gen DKK1 ở thời điểm theo dõi kiểm tra sau điều trị cắt gan ($0,98 \pm 2,10$) là giảm so với trước cắt gan ($2,23 \pm 6,49$). Đồng thời mức độ biểu hiện gen DKK1 ở thời điểm sau mổ cắt gan trên 12 tháng ($0,22 \pm 0,09$) là giảm so với trước thời điểm này (từ 1 - 12 tháng) với mức độ biểu hiện gen DKK1 là $1,28 \pm 0,59$.

Nồng độ protein DKK1 không có sự thay đổi này giữa trước và sau cắt gan. Tỷ lệ dương tính của protein DKK1 ($\geq 2,15\text{ng/mL}$) tăng lên sau cắt gan (100%) so với lúc trước cắt gan (89,47%), song chưa có ý nghĩa thống kê (với $p>0,05$).

Tương quan giữa mức độ biểu hiện gen DKK1 và AFP trước và sau mổ cắt gan cho thấy: Ở các BN có AFP âm tính cũng như AFP dương tính trước mổ thì mức độ biểu hiện gen DKK1 sau mổ cắt gan đều giảm so với thời điểm trước mổ. Trong khi nồng độ protein DKK1 huyết thanh có giảm đi ở thời điểm sau mổ ở các BN có AFP

trước mổ âm tính thì giá trị này lại tăng lên ở thời điểm sau mổ ở các BN có AFP dương tính trước mổ. Những sự khác biệt này đều không có ý nghĩa thống kê (với $p>0,05$).

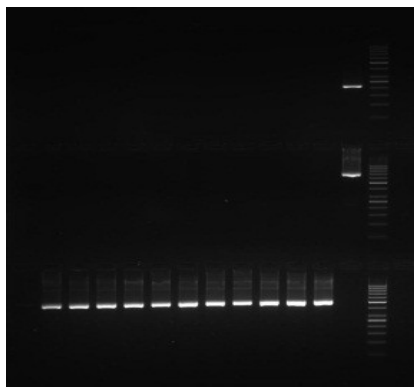
Trong số 23 trường hợp được kiểm tra sau mổ cắt gan có tỷ lệ AFP (-) với nồng độ $< 20\text{ng/mL}$ là 17/23 (73,91%) ca, AFP (+) là 6/23 ca (26,09%). Nếu so sánh với kết quả AFP trước mổ (tỷ lệ AFP âm tính trước mổ là 48,48%, AFP dương tính trước mổ là 51,51%) thì có sự tăng rõ ràng tỷ lệ AFP (-) và giảm rõ rệt tỷ lệ AFP (+) sau mổ. Đáng lưu ý ở 17/23 ca AFP (-) sau mổ nói trên có 10 ca kết quả AFP trước mổ cũng âm tính, còn 7 ca trước đây AFP là (+). Trong số 6/23 ca AFP (+) sau mổ có 5/6 ca là AFP (+) từ trước (song ở 3/5 ca này nồng độ AFP tuy còn dương tính nhưng đã giảm nhiều) và chỉ có 1/6 ca AFP (+) nhẹ sau mổ với nồng độ $22,5\text{ng/mL}$ thì trước mổ là âm tính.

Nghiên cứu của Jeng J-E và cộng sự (2014) ở Đài Loan cho thấy mức độ DKK1 thực sự giảm sau phẫu thuật cắt gan. AFP huyết thanh được xác định là một trong những yếu tố tiên lượng ở UBTG. Với UBTG ở giai đoạn muộn, nồng độ AFP có tương quan với kích thước khối u và mức tăng AFP sẽ làm tăng nguy cơ tái phát sớm và tiên lượng xấu sau điều trị triệt căn. Tuy nhiên những nghiên cứu gần đây chỉ ra rằng AFP không có vai trò tiên lượng với các UBTG nhỏ và mức độ DKK1 huyết thanh là một dấu ấn tiên lượng trong UBTG chưa có xâm lấn. Mức tăng DKK1 huyết thanh hoặc biểu hiện gen DKK1 cho thấy kết quả lâm sàng không tốt, đặc biệt khi UBTG giai đoạn sớm và UBTG mà AFP âm tính. Vì vậy, các BN UBTG có biểu hiện gen DKK1 cao thường có tiên lượng xấu. Đây chính là yếu tố tiên lượng mới trong UBTG.

3.3. Kết quả xét nghiệm HBx-LINE1

Trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy kết quả ở tất cả 114/114 (100%) mẫu bệnh phẩm khối u và huyết thanh tương ứng của các bệnh nhân UBTG có nhiễm HBV được xét nghiệm đều không phát hiện thấy biểu hiện chuyển gen HBx-

LINE1. Các mẫu chứng dương và chứng âm đều âm tính trên tất cả các mẫu nghiên cứu.



Hình 1. Không phát hiện thấy chuyển gen HBx-LINE1 trên mẫu nghiên cứu

Kết quả này cũng tương tự với nghiên cứu của nhóm tác giả Zucman-Rossi J và cộng sự (ở Pháp - 2014) và một lần nữa thấy được ngoài kết quả trước đó của Lau CC (2014) phát hiện thấy biểu hiện chuyển gen HBx-LINE1 ở 23,3% số mẫu UBTG/HBV thì cho đến nay các nghiên cứu ngoài Hồng Kông (như ở Pháp, Việt Nam) đều chưa phát hiện thấy biểu hiện chuyển gen HBx-LINE ở các bệnh nhân UBTG/HBV. Khi các tộc người khác nhau có thể tạo ra một sự khác biệt. Ngoài ra, có thể ở Việt Nam với tỷ lệ nhiễm vi rút viêm gan B mạn tính cao (từ 15 - 20%), trong đó kiểu gen B chiếm ưu thế nhất (45,5% theo B.H Hoàng - 2004) nên sẽ có sự khác biệt với các nghiên cứu ở Hồng Kông (nơi có kiểu gen C chiếm ưu thế). Dựa trên kết quả của chúng tôi và nghiên cứu trước đó của Zucman-Rossi J và cộng sự cho thấy các khẳng định về công dụng của HBx-LINE1 như là một dấu ấn sinh học tiên lượng cần được loại bỏ và một tỷ lệ cao về chuyển gen vẫn còn cần được đánh giá tiếp theo trên các bệnh nhân UBTG/HBV ở các trung tâm khác.

4. Kết luận

4.1. Giá trị của DKK1 trong chẩn đoán, theo dõi điều trị UBTG và mối liên quan của

DKK1 với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của UBTG

Với ngưỡng $\geq 2,15\text{ng/mL}$, tỷ lệ nồng độ protein DKK1 huyết thanh dương tính ở các nhóm cắt gan, nhóm sinh thiết gan và chung cả 2 nhóm trên tăng cao hơn hẳn so với tỷ lệ dương tính của xét nghiệm AFP của các nhóm tương ứng. So sánh với nhóm xơ gan thì nồng độ protein DKK1 huyết thanh của nhóm UBTG đã tăng cao rõ rệt với $p < 0,05$.

Sử dụng phối hợp cả 2 xét nghiệm AFP và biểu hiện gen DKK1 sẽ cải thiện tỷ lệ dương tính và giúp chẩn đoán thêm ở 12,3% số trường hợp UBTG nữa.

Kết quả phân tích logistic cho thấy nguy cơ mắc UBTG ở nhóm có protein DKK1 huyết thanh $\geq 2,15\text{ng/mL}$ cao gấp 18,5 lần so với nhóm xơ gan với $p = 0,005$.

Mức độ biểu hiện gen DKK1 giảm sau điều trị cắt gan và khi cắt gan trên 12 tháng. Biểu hiện gen DKK1 giảm khi số lượng từ 2 khối u trở lên và khi kích thước $u \geq 5\text{cm}$, tương tự như ở nồng độ AFP.

4.2. Nghiên cứu chưa phát hiện thấy biểu hiện chuyển gen HBx-LINE1 ở tất cả các bệnh nhân UBTG có nhiễm HBV

Các khẳng định về công dụng của HBx-LINE1 như là một dấu ấn sinh học tiên lượng cần được loại bỏ và một tỷ lệ cao về chuyển gen vẫn còn cần được đánh giá tiếp theo trên các bệnh nhân UBTG/HBV ở các trung tâm khác.

Tài liệu tham khảo

1. Mai Hồng Bàng (2011) *Ung thư biểu mô tế bào gan - các phương pháp điều trị can thiệp qua da*. Nhà Xuất bản Y học, tr. 1-371.
2. Trần Ngọc Dũng (2018) *Nghiên cứu cơ cấu bệnh ung thư ở quân nhân tại một số bệnh viện quân đội*. Đề tài báo cáo tại Hội nghị Sinh viên NCKH Học viện Quân y.
3. Trần Hà Hiếu (2011) *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, tổn thương mô bệnh học và biến đổi gen*

- HBx ở bệnh nhân UBTG có nhiễm virus viêm gan B. Luận án Tiến sỹ Y học, Viện Nghiên cứu Y dược lâm sàng 108.*
4. Bùi Huy Hoàng (2004) *Đặc điểm của dấu ấn huyết thanh và kiểu gen của virút viêm gan B trên bệnh nhân xơ gan và UBTG. Luận án Tiến sỹ Y học, Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh.*
 5. Lê Hữu Song và cộng sự (2010) *Nghiên cứu ứng dụng các kỹ thuật sinh học phân tử trong phát hiện sớm và dự báo tiên lượng của ung thư tế bào gan nguyên phát trên bệnh nhân nhiễm virus viêm gan B. Chương trình Khoa học công nghệ cấp nhà nước KC 10-06, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108.*
 6. [Edmund Kwok-Kwan Tung](#) et al (2012) *Significance of serum DKK1 as a diagnostic biomarker in HCC. Future Oncol 8(12): 1525-1528.*
 7. Jeng JE, Chuang LY, Chuang WL, Tsai JF (2012) *Serum Dickkopf-1 as a biomarker for the diagnosis of HCC. Chin Clin Oncol 1: 4-7.*
 8. Jie Zhang et al (2014) *Sensitivity and specificity of Dickkopf-1 protein in serum for diagnosing hepatocellular carcinoma: A meta-analysis. Int J Biol Markers 29(4): 403-410.*
 9. Lau CC, Sun T, Ching AK et al (2014) *Viral-human chimeric transcript predisposes risk to liver cancer development and progression. Cancer Cell 25: 335-349.*
 10. Shen Q, Fan J, Yang XR (2012) *Serum DKK1 as a protein biomarker for the diagnosis of hepatocellular carcinoma: A large-scale, multicenter study. Lancet Oncol 13: 817-826.*
 11. Zucman-Rossi J (2014) *Authors' response: virus-host in HBV-related HCC: More to be revealed. Gut 0: 1.*