Vai trò của dấu ấn DNA tự do của virus Epstein-Barr trong kiểm soát bệnh ung thư vòm mũi họng

Plasma cell-free DNA of Epstein-Barr virus in management of nasopharyngeal carcinoma

Hồ Hữu Thọ*, Triệu Thị Nguyệt*, Đỗ Trâm Anh*,
Nguyễn Đình Ứng*, Bùi Tiến Sỹ,**
Hoàng Đào Chinh, Nghiêm Đức Thuận***

**Học viện Quân y,*
***Bệnh viện Trung ương quân đội 108*

Tóm tắt

Ung thư vòm mũi họng là loại ung thư rất phổ biến ở một số nước châu Á, trong đó có Việt Nam. Ung thư vòm mũi họng liên quan mật thiết với nhiễm virus Epstein-Barr (EBV), hệ gen của virus này đã được xác định trong hầu hết các tế bào của khối ung thư vòm mũi họng. Nồng độ dấu ấn DNA tự do của virus Epstein-Barr trong huyết tương (cf EBV DNA) - định lượng bằng kỹ thuật real-time PCR với độ nhạy cao - là một dấu ấn sinh học tuyệt vời giúp kiểm soát bệnh ung thư vòm mũi họng. Bài tổng quan này đề cập đến vai trò của cf EBV DNA huyết tương trong phát hiện sớm, theo dõi sau điều trị và tiên lượng sau điều trị ung thư vòm mũi họng, mối quan hệ giữa tải lượng EBV DNA với giai đoạn bệnh và kích thước khối u.

Từ khóa: Virus Epstein-Barr, ung thư vòm mũi họng.

Summary

Nasopharyngeal carcinoma (NPC) is one of the most common cancers in Asia country, including Vietnam. The strong association between NPC and Epstein-Barr virus (EBV) has been reported in many literature show that EBV genome has been determined in almost NPC tumors. Cell-free DNA of EBV in plasma (cf EBV DNA) was demonstrated as a useful biomarker for early detection and monitoring of NPC. This review will mention the role of cf EBV DNA in early detection, follow up and prognosis in post-treatment, the relation between cf EBV DNA concentrations and stages of disease, size of tumors.

Keywords: Epstein-Barr virus, nasopharyngeal carcinoma.

Ngày nhận bài: 29/10/2018, ngày chấp nhận đăng: 09/11/2018

Người phản hồi: Hồ Hữu Thọ, Email: daibi0109@gmail.com - Học viện Quân y

1. Đặt vấn đề

Ung thư vòm mũi họng (UTVMH) là loại ung thư xuất phát từ lớp biểu mô của vòm họng. Đây là loại ung thư ít gặp ở các nước Âu Mỹ nhưng lại rất phổ biến ở một số nước châu Á như miền nam Trung Quốc và một số quốc gia Đông Nam Á, trong đó có Việt Nam [1], [2]. Trong vùng dịch tễ UTVMH, tỷ lệ mắc bệnh vào khoảng 20 - 30/100.000 người dân. Tỷ lệ mắc bệnh UTVMH cao nhất ở nam giới trong độ tuổi từ 40 - 60 tuổi và có thể cao đến 40 ca trong 100.000 dân. Theo số liệu ước tính năm 2012 của Cơ quan Nghiên cứu Ung thư Quốc tế (The International Agency for Research on Cancer - IARC), tỷ lệ mắc UTVMH ở Việt Nam đứng hàng thứ 5 ở nam giới với tỷ lệ mắc chuẩn theo tuổi (ASR) là 7,7/100.000 dân, và đứng hàng thứ 8 ở nữ giới với ASR là 3,4/100.000 dân.

UTVMH liên quan mật thiết với nhiễm virus Epstein-Barr (EBV), hệ gen của virus này đã được xác định trong hầu hết các tế bào của khối UTVMH. Triển vọng to lớn của cf EBV DNA lưu hành trong máu ngoại vi đối với sàng lọc phát hiện sớm, tiên lượng và đánh giá mức độ đáp ứng điều trị UTVMH đã được khẳng định qua hàng loạt các nghiên cứu trên thế giới trong hơn 15 năm qua. Năm 1998, Mutirangura và cộng sự đã phát hiện được DNA của EBV (cf EBV DNA) lưu hành trong máu ngoại vi của các bệnh nhân bị UTVMH [3]. Trong khi đó, dấu ấn này không hề xuất hiện ở toàn bộ 82 đối tượng của nhóm chứng khoẻ mạnh, mặc dù có tới 95% số đối tượng trong nhóm chứng khoẻ mạnh này đã từng bị nhiễm EBV. Như vậy, các EBV gây nhiễm các tế bào lympho B ở thể tiềm ẩn có thể đã không giải phóng cf EBV DNA tự do ra huyết tương và bởi thế không gây ra hiện tượng dương tính giả. Phát hiện này là một bước đột phá quan trọng, cho thấy cf EBV DNA trong huyết tương là dấu ấn rất đặc hiệu của UTVMH. Tuy nhiên, độ nhạy phát hiện UTVMH đạt được trong nghiên cứu này còn thấp, cf EBV DNA chỉ được phát hiện ở 31% (13/42) số bệnh nhân UTVMH.

Chỉ một năm sau đó, Lo và cộng sự đã thay thế phương pháp PCR thường bằng phương pháp realtime PCR để nâng cao độ nhạy phát hiện cf EBV DNA tự do lưu hành trong máu ngoại vi lên tới 96%. Các nghiên cứu sau đó chỉ ra rằng độ nhạy của quy trình realtime PCR phát hiện UTVMH giai đoạn muộn có thể lên tới 98%, trong khi đó trên cùng nhóm bệnh nhân độ nhạy của xét nghiệm huyết thanh miễn dịch đặc hiệu VCA-IgA chỉ đạt 85%. Độ chính xác ưu việt hơn hẳn của cf EBV DNA so với xét nghiệm huyết thanh miễn dịch VCA-IgA cũng đã được các nhóm nghiên cứu khác nhau tái khẳng định. Nhờ vào độ nhạy và độ đặc hiệu cao, cf EBV DNA huyết tương đã trở thành dấu ấn sinh học hữu ích và tiềm năng trong bệnh UTVMH và đã nhanh chóng được áp dụng trong công tác nghiên cứu và lâm sàng quản lý bệnh nhân UTVMH. Tại Việt Nam, Hồ Hữu Thọ và cộng sự là nhóm tác giả đầu tiên công bố thiết lập thành công quy trình realtime PCR định lượng cf EBV DNA với ngưỡng phát hiện đạt 25copy/ml và được chuẩn hóa trên bộ mẫu chuẩn quốc tế [4]. Trong nghiên cứu này, quy trình đạt được độ nhạy là 97%, độ đặc hiệu 98% giúp phát hiện sớm UTVMH, theo dõi sau điều trị, tiên lượng sau điều trị. Các nghiên cứu tiếp theo áp dụng quy trình realtime PCR này đã chỉ ra mối quan hệ giữa tải lượng cf EBV DNA với giai đoạn bệnh và kích thước khối u.

2. Vai trò của xét nghiệm cf EBV DNA huyết tương

Sàng lọc phát hiện sớm UTVMH

Bệnh nhân UTVMH thường được chẩn đoán ở giai đoạn muộn, đồng thời các triệu chứng của bệnh thường không đặc hiệu và khó phân biệt với các bệnh lý khác ở vùng

lân cận. Bên cạnh đó, UTVMH thường có di căn hạch sớm. Hậu quả là nhiều bệnh nhân UTVMH được chẩn đoán ở giai đoạn tiến triển kèm theo di căn, điều trị khó khăn mà hiệu quả không cao. Xạ trị đơn thuần có thể áp dụng đối với UTVMH giai đoạn sớm (I, II) với tỷ lệ bệnh nhân sống sau 5 năm có thể lên tới 80 - 85%. Tuy nhiên, tỷ lệ này giảm xuống chỉ còn khoảng 34 - 56% đối với các bệnh nhân ở giai đoạn III - IVB. Đồng thời những bệnh nhân này có nguy cơ tái phát cao với tỷ lệ tái phát tại chỗ và di căn xa trong vòng 2 năm là 40 - 47%, và thời gian sống còn toàn bộ khi thất bại với xạ trị chỉ từ 12 - 18 tháng.

Chan và cộng sự [5] nghiên cứu và cho thấy, xét nghiệm cf EBV DNA huyết tương với độ nhạy cao có thể phát hiện UTVMH sớm ngay từ khi chưa có triệu chứng. Trong nghiên cứu, hơn 1.300 đối tượng nghiên cứu chưa có triệu chứng đã được sàng lọc cho UTVMH sử dụng EBV DNA huyết tương và huyết thanh học VCA IgA. Tất cả các đối tượng cho kết quả dương tính được kiểm tra nội soi tai - mũi - họng. Thông qua sàng lọc này, 3 trường hợp UTVMH sớm (1 đối tượng giai đoạn I và 2 đối tượng giai đoạn II) đã được xác định. Cả 3 bệnh nhân đều cho thấy kết quả dương tính với cf EBV DNA, nhưng chỉ 1 bệnh nhân có kết quả huyết thanh học VCA IgA dương tính [5]. Kết quả cf EBV DNA dương tính cũng được quan sát thấy trong 5% - 9% đối tượng không có UTVMH. Tuy nhiên, trong hai phần ba các đối tượng này, sự hiện diện của cf EBV DNA trong huyết tương chỉ là thoáng qua và tồn tại trong vòng 2 tuần. Do đó, việc lặp lại xét nghiệm phát hiện cf EBV DNA huyết tương ở những người có kết quả dương tính ban đầu là một chiến lược hữu ích để phân biệt bệnh nhân UTVMH thực sự và bệnh nhân không mắc UTVMH (dương tính giả). Các bệnh nhân UTVMH thực sự sẽ có mức độ lưu hành cf EBV DNA liên tục tăng theo thời gian, trong khi các cá nhân có kết quả dương tính giả trong xét nghiệm đầu tiên sẽ có kết quả âm tính trong các xét nghiệm sau [5].

Phân tích EBV DNA trong mẫu huyết tương có giá trị trong sàng lọc phát hiện sớm UTVMH. Năm 2017, nghiên cứu của Chan và cộng sự về sàng lọc phát hiện sớm UTVMH trên tổng cộng có 20.174 đối tượng nghiên cứu được sàng lọc. cf EBV DNA có mặt trong 1112 mẫu huyết tương của đối tượng nghiên cứu (5,5%) và 309 (1,5% tất cả các đối tượng và 27,8% đối tượng có kết quả dương tính) dương tính ở lần xét nghiệm thứ 2. Trong số 309 đối tượng dương tính, 300 đã khám nội soi, và 275 cả khám nội soi và MRI; trong đó 34 người có UTVMH [6].

Tải lượng cf EBV DNA với giai đoạn bệnh và kích thước khối u

Bên cạnh độ nhạy cao hơn, quy trình realtime PCR còn cho phép định lượng được nồng độ cf EBV DNA trong huyết tương của bệnh nhân. Trên cơ sở đó, nghiên cứu của Lo và cộng sự đã chỉ ra mối tương quan giữa nồng độ cf EBV DNA trong huyết tương với giai đoạn của bệnh nhân UTVMH, trong đó nồng độ cf EBV DNA ở giai đoạn muộn (III và IV) cao hơn gấp 8 lần so với giai đoạn sớm (I và II) [7]. Vì ở các bệnh nhân UTVMH giai đoạn muộn có nồng độ cf EBV DNA huyết tương cao hơn, nên nồng động của cf EBV DNA có thể phản ánh kích thước khối u của bệnh nhân. Ma và cộng sự đã nghiên cứu trên nhóm 57 bệnh nhân UTVMH giai đoạn muộn cho thấy mối liên quan thuận giữa nồng độ của cf EBV DNA huyết tương trước điều trị với thể tích khối u đo được bằng phương pháp cộng hưởng từ hạt nhân (MRI). Sử dụng mô hình chuột nhắt trắng, Chan và cộng sự tiếp tục chỉ ra tương quan tuyến tính giữa nồng

độ cf EBV DNA huyết tương có nguồn gốc từ khối u với khối lượng của khối UTVMH được cấy ghép.

Các nghiên cứu đã chứng minh rằng, các tế bào khối u trong UTVMH khi bị chết theo chương trình đã giải phóng vào hệ thống tuần hoàn một số lượng rất lớn các bản sao DNA của EBV (có thể lên tới hàng trăm triệu bản sao mỗi ngày), đồng thời cf EBV DNA lưu hành trong máu ngoại vi cũng nhanh chóng bị loại bỏ khỏi hệ thống tuần hoàn với thời gian bán thải chỉ 2 giờ. Chính vì tốc độ đào thải nhanh như vậy nên hầu như toàn bộ cf EBV DNA có trong huyết tương đều mới được tạo ra từ tổ chức khối u.

Theo dõi sau điều trị

Phân tích cf EBV DNA huyết tương ở một loạt các thời điểm tái khám sau khi kết thúc điều trị cũng là một công cụ hữu ích để theo dõi điều trị và để phát hiện sớm bệnh tái phát. Lo và cộng sự [8] chỉ ra rằng ở tất cả các bệnh nhân được theo dõi cf EBV DNA huyết tương sau điều trị ở các thời điểm khác nhau thì đều thấy ban đầu nồng độ giảm. Ở các bệnh nhân sau điều trị có lâm sàng ổn định liên tục, cf EBV DNA giữ ở mức dưới ngưỡng phát hiện hoặc có nồng độ rất thấp. Ngược lại, người ta nhận thấy nồng độ cf EBV DNA lưu hành tăng đáng kể ở những bệnh nhân sau đó xuất hiện tái phát tại chỗ, vùng hay di căn xa [8]. Tăng nồng độ cf EBV DNA có thể diễn ra trước các biểu hiện lâm sàng tới 6 tháng [8]. Vì vậy, theo dõi nồng độ cf EBV DNA ở các thời điểm khác nhau có thể sẽ hữu ích trong theo dõi điều trị và diễn biến bệnh UTVMH. Trong một nghiên cứu sau đó, Leung và cộng sự chỉ ra rằng độ nhạy của phân tích nồng độ cf EBV DNA huyết tương sẽ thấp hơn khi phát hiện các khối u tái phát ở khu vực xạ trị so với phát hiện các khối u ở khu vực chưa xạ trị hay ở vùng di căn xa. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ phát hiện là 42% đối với 12 khối u tái phát ở khu vực xạ trị so với 92% đối với 51 khối u chưa được điều trị.

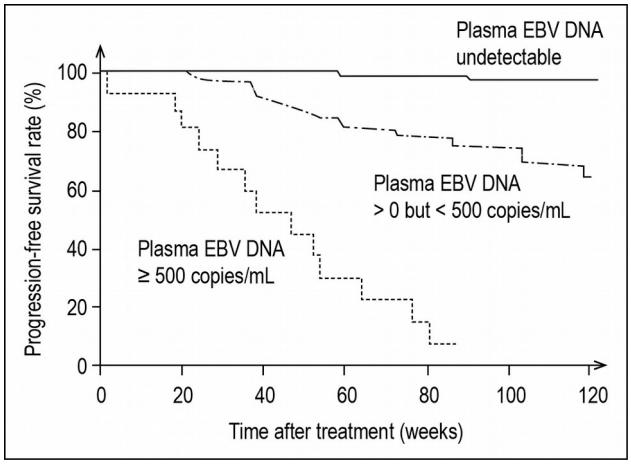
Người ta cũng có thể sử dụng nồng độ cf EBV DNA huyết tương để lựa chọn bệnh nhân tiến hành các thăm khám đắt tiền và mang tính can thiệp hơn nhằm phát hiện sớm các thất bại sau điều trị. Với cách tiếp cận này, Wang và cộng sự [9] đã theo dõi nồng độ cf EBV DNA huyết tương 3 - 6 tháng một lần của 245 bệnh nhân UTVMH được điều trị triệt để. Các bệnh nhân có kết quả cf EBV DNA dương tính hoặc lâm sàng nghi ngờ tái phát sẽ được chụp cắt lớp phát xạ positron (PET). Tất cả 36 bệnh nhân có cf EBV DNA huyết tương dương tính sau đó đều bị tái phát [9]. Ngược lại, cả 5 bệnh nhân có biểu hiện gợi ý bệnh tái phát nhưng âm tính với cf EBV DNA huyết tương đều không bị tái phát [9]. Những kết quả này gợi ý rằng cf EBV DNA huyết tương có thể sẽ có ích trong việc xác định các bệnh nhân cần được điều trị tích cực hơn và tránh cho những bệnh nhân còn lại những can thiệp và tốn kém không cần thiết.

Tiên lượng sau điều trị

Xạ trị đã được chứng minh là phương pháp điều trị UTVMH hiệu quả nhất với điều kiện là bệnh được phát hiện ở giai đoạn sớm. Tuy nhiên, hầu hết các trường hợp bị UTVMH (75 - 90%) được chẩn đoán ở giai đoạn muộn, khi mà tế bào ung thư đã xâm lấn sang tổ chức lân cận hoặc di căn vùng, điều này gây cản trở việc điều trị hiệu quả và dẫn đến nguy cơ cao bệnh tái phát hoặc di căn xa. Thực tế này làm giảm cơ hội điều trị loại bỏ khối u triệt để, nên các dấu ấn sinh học để đánh giá mức độ đáp ứng điều trị và theo dõi tái phát ở những thời điểm tái khám cũng giữ vai trò quan trọng trong kiểm soát bệnh UTVMH.

Trong số các yếu tố tiên lượng khác nhau thì nồng độ cf EBV DNA huyết tương là yếu tố tiên lượng độc lập tin cậy nhất đối

với tái phát bệnh và tỷ lệ sống sót khi theo dõi dài hạn sau điều trị. Sau khi tiến hành điều trị bệnh, người ta có thể phát hiện các tế bào ung thư còn sót lại với độ nhạy cao bằng cách phân tích cf EBV DNA huyết tương. Chan và cộng sự [10] đã theo dõi nhóm 170 UTVMH không bị di căn lúc chẩn đoán với thời gian theo dõi trung bình là 116 tuần. Tác giả xác định nồng độ cf EBV DNA huyết tương khoảng 6 - 8 tuần sau khi kết thúc xạ trị. Tất cả các bệnh nhân với nồng độ cf EBV DNA ≥ 500copy/mL đều bị tái phát trong vòng 2 năm, trong khi đó các bệnh nhân không phát hiện được cf EBV DNA huyết tương có tỷ lệ bệnh ổn định không bị tái phát sau 2 năm là > 95% (Hình 1) [10]. Các bệnh nhân xuất hiện cf EBV DNA huyết tương nhưng với nồng độ < 500copy/mL có mức tiên lượng trung gian [10]. Kết quả này được tái khẳng định bởi các nhóm nghiên cứu khác với các bệnh nhân có nguồn gốc chủng tộc khác nhau và ở các giai đoạn lâm sàng khác nhau của bệnh.



Hình 1. Đường cong khả năng sống sót đối với bệnh nhân NPC với nồng độ khác nhau của cf EBV DNA huyết tương sau điều trị [10]

cf EBV DNA huyết tương sau điều trị là một yếu tố dự báo mạnh mẽ cho sự sống còn của bệnh nhân. Tất cả bệnh nhân có nồng độ cf EBV DNA trong huyết tương ≥ 500copy/mL phát triển tái phát lâm sàng trong vòng 2 năm. Ngược lại, bệnh nhân với cf EBV DNA không phát hiện được sau khi điều trị có tỷ lệ sống rất tốt.

Do các bệnh nhân có nồng độ cf EBV DNA đáng kể trong huyết tương sau điều trị sẽ có nguy cơ cao tái phát bệnh nên những bệnh nhân này cần được tiếp tục điều trị tích cực trước khi có biểu hiện lâm sàng tái phát có thể có tác dụng cải thiện kết quả điều trị. Theo hướng tiếp cận này, một thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên mang tính toàn cầu với sự tham gia của nhiều trung tâm đã được khởi động để tìm hiểu xem liệu hoá trị bổ trợ có thể làm tăng tỷ lệ sống sót chung và tỷ lệ sống sót bệnh ổn định hay không ở các bệnh nhân vẫn còn cf EBV DNA huyết tương sau điều trị. Người ta đã tiến hành chương trình chuẩn hoá xét nghiệm cf EBV DNA để đảm bảo kết quả định lượng cf EBV DNA huyết tương từ các trung tâm khác nhau có thể so sánh được với nhau.

3. Kết luận

Xét nghiệm định lượng cf EBV DNA rất hữu ích cho sàng lọc phát hiện sớm UTVMH. Sàng lọc phát hiện sớm UTVMH nói riêng và ung thư nói chung giúp cải thiện sự sống còn của bệnh nhân ung thư. Nồng

độ cf EBV DNA trong huyết tương có mối tương quan chặt chẽ với giai đoạn của bệnh nhân UTVMH và kích thước khối u. Phân tích nồng độ cf EBV DNA huyết tương ở một loạt các thời điểm tái khám sau khi kết thúc điều trị là một công cụ hữu ích để theo dõi điều trị và để phát hiện sớm bệnh tái phát. Nồng độ cf EBV DNA huyết tương là yếu tố tiên lượng độc lập tin cậy nhất đối với tái phát bệnh và tăng tỷ lệ sống sót khi theo dõi dài hạn sau điều trị.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được Sở Khoa học và Công nghệ Hà Nội tài trợ (mã số đề tài: 01C-08/06-2016-3).

Tài liệu tham khảo

1. Yu WM and Hussain SS (2009) *Incidence of nasopharyngeal carcinoma in Chinese immigrants, compared with Chinese in China and South East Asia: Review*. J Laryngol Otol 123(10): 1067-1074.
2. Vokes EE, Liebowitz DN, and Weichselbaum RR (1997) *Nasopharyngeal carcinoma.* Lancet 350(9084): 1087-1091.
3. Mutirangura A et al (1998) *Epstein-Barr viral DNA in serum of patients with nasopharyngeal carcinoma*. Clin Cancer Res 4(3): 665-669.
4. Ho HT et al (2017) *Establishment of ultrasensitive PCR assay targeting cell-free EBV DNA for early detection of nasopharyngeal carcinoma.* Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering 59(3): 7.
5. Chan KC et al (2013) *Early detection of nasopharyngeal carcinoma by plasma Epstein-Barr virus DNA analysis in a surveillance program*. Cancer 119(10): 1838-1844.
6. Chan KCA et al (2017) *Analysis of plasma Epstein-Barr virus DNA to screen for nasopharyngeal cancer*. N Engl J Med 377(6): 513-522.
7. Lo YM et al (1999) *Quantitative analysis of cell-free Epstein-Barr virus DNA in plasma of patients with nasopharyngeal carcinoma*. Cancer Res 59(6): 1188-1191.
8. YM L et al (1999) Q*uantitative and temporal correlation between circulating cell-free Epstein-Barr virus DNA and tumor recurrence in nasopharyngeal carcinoma.* Cancer Res 59(21): 5452-5455.
9. Wang WY et al (2011) *Plasma Epstein-Barr virus DNA screening followed by (1) (8)F-fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography in detecting posttreatment failures of nasopharyngeal carcinoma.* Cancer 117(19): 4452-4459.
10. Chan AT et al (2002) *Plasma Epstein-Barr virus DNA and residual disease after radiotherapy for undifferentiated nasopharyngeal carcinoma.* J Natl Cancer Inst 94(21): 1614-1619.