

Tỷ lệ đột biến vùng promoter gen *TERT* trên bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan

Lê Văn Thu^{1,2}, Hồ Cẩm Tú¹, Nguyễn Quý Linh¹, Lê Thị Phương¹,
Trần Văn Khánh¹, Nguyễn Xuân Hậu³, Tạ Thành Văn¹, Nguyễn Thu Thúy^{1*}

¹Trung tâm Nghiên cứu Gen - Protein, Trường Đại học Y Hà Nội, 1 Tôn Thất Tùng, phường Trung Tự, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Đại học Kỹ thuật Y tế Hải Dương, 1 Vũ Hưu, phường Thanh Trung, TP Hải Dương, tỉnh Hải Dương, Việt Nam

³Bộ môn Ung thư, Trường Đại học Y Hà Nội, 1 Tôn Thất Tùng, phường Trung Tự, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 27/5/2021; ngày chuyển phản biện 31/5/2021; ngày nhận phản biện 21/6/2021; ngày chấp nhận đăng 25/6/2021

Tóm tắt:

Gen telomerase reverse transcriptase (*TERT*) mã hóa cho tiểu đơn vị xúc tác của telomase, là enzyme thiết yếu cho sự kéo dài telomere tại đầu mút nhiễm sắc thể. Mức độ biểu hiện của *TERT* tương quan cao với nguy cơ nhiều loại ung thư ở người. Đột biến phát sinh trên vùng promoter gen *TERT* ở tế bào soma được xác định là một cơ chế để kích hoạt telomerase trong ung thư. Nghiên cứu này nhằm mục đích xác định tỷ lệ đột biến vùng promoter gen *TERT* trên mẫu mô ung thư biểu mô tế bào gan và mối liên quan giữa những đột biến này với một số yếu tố nguy cơ ung thư gan. Nghiên cứu được tiến hành trên 84 bệnh nhân được chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan bằng giải phẫu bệnh. Kỹ thuật giải trình tự gen được sử dụng để xác định đột biến *TERT*. Kết quả phát hiện được 21 mẫu có đột biến -124C>T, chiếm tỷ lệ 25% và không phát hiện được đột biến tại vị trí -146C>T. Đồng thời, chưa thấy được mối liên quan giữa đột biến -124C>T và các yếu tố nguy cơ của ung thư gan.

Từ khóa: đột biến promoter, gen *TERT*, ung thư biểu mô tế bào gan.

Chỉ số phân loại: 3.2

1. Đặt vấn đề

Ung thư biểu mô tế bào gan (Hepatocellular carcinoma - HCC) là một khối u ác tính phát sinh từ tế bào gan, tế bào nhu mô gan và là dạng phổ biến nhất trong ung thư gan nguyên phát. Tại Việt Nam, ung thư gan là bệnh ung thư phổ biến nhất ở nam (20.256 ca mắc mới, chiếm 20,5%) và thứ 5 ở nữ (6.162 ca mắc mới, chiếm 7,4%). Tỷ lệ mắc mới HCC là 14,5% và tỷ lệ tử vong là 20,6%, cao nhất trong các loại ung thư [1]. Dựa trên số ca bệnh mới và số ca tử vong, chúng ta có thể thấy hầu hết bệnh nhân ung thư gan chỉ phát hiện ung thư khi bệnh đã ở giai đoạn cuối, dẫn đến thời gian sống sót thấp hơn 1 năm, tỷ lệ tử vong cao.

Gen *TERT* mã hóa cho tiểu đơn vị xúc tác của telomase, là enzyme thiết yếu cho sự kéo dài telomere tại đầu mút nhiễm sắc thể. Gen *TERT* nằm trên nhiễm sắc thể 5p15.33, gồm 16 exon và 15 intron, kéo dài khoảng 40 kb [2]. Promoter của gen được coi là yếu tố điều hòa quan trọng nhất cho sự biểu hiện của telomase. Mức độ biểu hiện của *TERT* tương quan cao với nguy cơ mắc nhiều loại ung thư ở người. Đột biến ở vùng promoter gen *TERT* được xác định là một cơ chế để kích hoạt telomerase trong ung thư. Tế bào khối u có đột biến vùng promoter của gen *TERT* có telomerase dài hơn so với của tế bào không mang đột biến này [3]. Sự thay đổi nucleotide cytosine sang thymine tại vị trí -124 bp và -146 bp trong vùng promoter gen *TERT* được xác định là 2 đột biến “hotspot” đặc hiệu ung thư [4, 5]. Các đột biến phát sinh vùng promoter gen *TERT* này được cho rằng có vai trò điều hòa tăng cường sự phiên mã của

TERT dẫn đến tăng biểu hiện telomerase bằng cách tạo ra các vị trí liên kết với ETS (E-twenty six) [5] và các yếu tố phiên mã như EST1/2, GABP và P52 (NFκB2) [6].

Gần đây, một số nghiên cứu cho thấy tỷ lệ lớn các đột biến vùng promoter gen *TERT* có vai trò trong sự hình thành khối u gan và được phát hiện trong HCC giai đoạn sớm, có thể là một yếu tố tiên lượng HCC quan trọng [7-9]. Do đó, việc xác định đột biến vùng promoter gen *TERT* có ý nghĩa trong chẩn đoán sớm, cung cấp điều trị chính xác cho bệnh nhân HCC. Đến nay, cũng có một số nghiên cứu được tiến hành để làm rõ vai trò, mối liên quan của các gen với HCC ở Việt Nam nhưng nghiên cứu về đột biến gen *TERT* vẫn còn hạn chế. Vì vậy nhóm tác giả thực hiện đề tài “Xác định đột biến vùng promoter gen *TERT* trên bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan” nhằm mục đích xác định tỷ lệ đột biến -124C>T và -146C>T gen *TERT* trên bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan và bước đầu đánh giá mối liên quan giữa các đột biến này với một số yếu tố nguy cơ gây ung thư biểu mô tế bào gan ở Việt Nam.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

84 bệnh nhân được chẩn đoán xác định là ung thư biểu mô tế bào gan bằng giải phẫu bệnh tại Bệnh viện K (cơ sở Tân Triều), có block nên và hồ sơ bệnh án đầy đủ thông tin các biến nghiên cứu cần thu thập.

Cắt 3-5 lát mẫu mô ung thư của các bệnh nhân từ các block nên đã có, đảm bảo lát cắt có tế bào ung thư.

*Tác giả liên hệ: Email: nguyenthuthuy@hmu.edu.vn

Frequency of *TERT* promoter mutations in hepatocellular carcinoma

Van Thu Le^{1,2}, Cam Tu Ho¹, Quy Linh Nguyen¹,
Thi Phuong Le¹, Van Khanh Tran¹, Xuan Hau Nguyen³,
Thanh Van Ta¹, Thu Thuy Nguyen^{1*}

¹Center for Gene and Protein Research, Hanoi Medical University,

1 Ton That Tung Street, Trung Tu Ward, quận Dong Da, Hanoi, Vietnam

²Haiduong Medical Technical University,

1 Vu Huu Street, Thanh Trung Ward, Hai Duong City, Hai Duong Province, Vietnam

³Oncology Department, Hanoi Medical University,

1 Ton That Tung Street, Trung Tu Ward, quận Dong Da, Hanoi, Vietnam

Received 27 May 2021; revised 21 June 2021; accepted 25 June 2021

Abstract:

The *TERT* gene encodes its catalytic subunit that is essential for telomere length at the chromosome ends. The expression of *TERT* is highly associated with the risk of human cancers. Recurrent mutations in the promoter of the *TERT* gene are identified as a mechanism to activate telomerase in cancer. This study aims to determine the rate of *TERT* promoter mutations in hepatocellular carcinoma (HCC) tissue samples and the association between the *TERT* promoter mutations and some risk factors of HCC. The study was conducted on 84 patients diagnosed with HCC by pathological surgery. Gene sequencing technique was used to identify *TERT* promoter mutations. Results exhibited 21 samples (25%) carried *TERT* promoter mutation at -124C>T site and no mutation at -146C>T site. At the same time, there was no association between -124C>T mutation and risks of HCC found in this study.

Keywords: hepatocellular carcinoma, promoter mutation, *TERT* gene.

Classification number: 3.2

2.2. Phương pháp

- Tách chiết DNA: DNA tổng số được tách chiết từ các mảnh mô đã vùi parafin bằng kit QIAamp DNA FFPE Tissue. Nồng độ và độ tinh sạch của DNA được xác định bằng phương pháp đo mật độ quang.

- Kỹ thuật PCR: đoạn gen vùng promoter của gen *TERT* được khuếch đại bằng cặp mồi đặc hiệu có trình tự như sau: *TERTF*-5'-AGTGGATTCGCGGGACACAGA-3', *TERTR*-5'-ACGCCATGTAACTATTACT-3'. Thành phần phản ứng PCR gồm: 1,8 µl H₂O, 5 µl 2X Hotaq master mix, 0,35 µl mỗi mồi *TERTF* và *TERTR* (5 pmol/µl), 0,5 µl DMSO và 2 µl DNA

cho đủ 10 µl. Chu kỳ nhiệt phản ứng: 93°C/4 phút, [93°C/30 giây, 59°C/30 giây, 72°C/30 giây] x 40 chu kỳ, 72°C/7 phút. Sản phẩm PCR điện di trên gel agarose 2%, 110V/15 phút, nhuộm Ethidiumbromide và chụp ảnh bằng máy EC3 Imaging System.

- Thành phần của phản ứng PCR sequencing gồm: 5,5 µl H₂O, 2,0 µl BigDye™ Terminator v3.1 5X Sequencing Buffer, 1,0 µl BigDye™ Terminator v3.1 Ready Reaction Mix, 0,5 µl mỗi *TERTF* (5 pmol/µl), 1,0 µl sản phẩm PCR. Chu kỳ nhiệt phản ứng: 96°C/1 phút, [96°C/10 giây, 50°C/5 giây, 60°C/4 phút] x 25 chu kỳ. Sản phẩm PCR-sequencing được tinh sạch bằng Bigdye XTerminator™ Purification Kit và tiến hành giải trình tự gen trên hệ thống ABI 3500 Genetic Analyzer. Kết quả giải trình tự được phân tích bằng phần mềm CLC Main Workbench 6.0.1.

- Số liệu được phân tích bằng phần mềm phân tích thống kê SPSS 20.0. Mỗi liên quan của đột biến vùng promoter gen *TERT* với một số yếu tố nguy cơ của ung thư biểu mô tế bào gan được đánh giá bằng hồi quy logistic đa biến để tính tỷ lệ chênh (OR) với khoảng tin cậy 95% (CI). Nếu giá trị p<0,05 được coi là có ý nghĩa thống kê.

2.3. Đạo đức nghiên cứu

Đề tài đã được Hội đồng Đạo đức của Trường Đại học Y Hà Nội chấp thuận theo Quyết định số 109/GCN-HĐĐĐNCYSH-ĐHYHN. Mọi thông tin của cá nhân được mã hóa và giữ bảo mật an toàn. Thu thập số liệu được tiến hành một cách trung thực, chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu.

3. Kết quả

3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

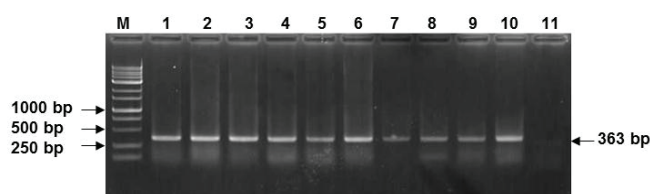
Bảng 1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu.

Đặc điểm	Số lượng (n=84)	Tỷ lệ (%)
Tuổi	<60	49
	≥60	35
Giới tính	Nam	71
	Nữ	13
	Tỷ lệ nam/nữ	5,46
Nồng độ AFP (ng/ml)	AFP≤20	43
	AFP>20	41
Độ mô học ung thư	I	41
	II	29
	III	14
	IV	0
Yếu tố nguy cơ	Nhiễm HBV	65
	Nhiễm HCV	04
	Xơ gan	16
	Sử dụng rượu bia	34
		40,5

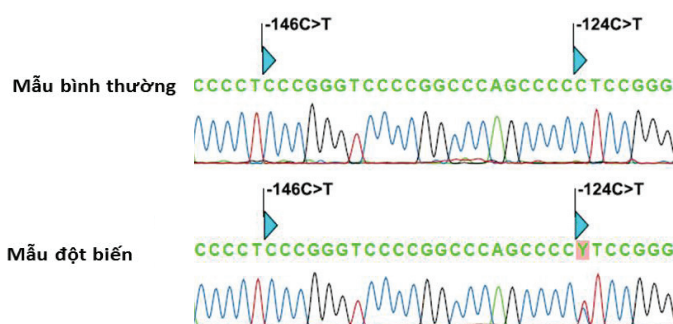
Đặc điểm chung của nhóm đối tượng nghiên cứu được thể hiện ở bảng 1. Nhóm bệnh nhân HCC có tuổi từ 17 đến 81, trung bình là $55,96 \pm 10,9$. Trong phân bố nhóm tuổi của bệnh nhân HCC, nhóm tuổi <60 là 58,3%, nhóm tuổi ≥ 60 là 41,7%. Phần lớn bệnh nhân HCC trong nghiên cứu là nam, chiếm tỷ lệ 84,5% và nữ chỉ có 15,5%. Chỉ số nồng độ AFP của bệnh nhân HCC được chia làm 2 nhóm: nhóm có $AFP \leq 20$ chiếm tỷ lệ 51,2%, và nhóm $AFP > 20$ chiếm 48,8%. Độ mô học của bệnh nhân HCC chỉ gồm 3 nhóm độ I, II và III. Trong đó, bệnh nhân có độ mô học I chiếm tỷ lệ cao nhất là 48,8%, độ II là 34,5% và độ III có tỷ lệ thấp nhất là 16,7%. Trong các yếu tố nguy cơ, bệnh nhân HCC nhiễm HBV chiếm tỷ lệ cao nhất là 77,4%, có sử dụng rượu bia là 40,5%, bị xơ gan là 19% và nhiễm HCV là 4,8%.

3.2. Tỷ lệ đột biến vùng promoter gen *TERT* trên bệnh HCC

Để xác định đột biến tại vị trí -124C>T và -146C>T, nhóm tác giả sử dụng cặp mồi đặc hiệu để khuếch đại đoạn gen chứa 2 vị trí đột biến này trên promoter của gen *TERT*. Sản phẩm khuếch đại có kích thước 363 bp, đặc hiệu, rõ nét (hình 1) được sử dụng để giải trình tự gen xác định đột biến.



Hình 1. Hình ảnh sản phẩm khuếch đại vùng promoter gen *TERT* trên mẫu ung thư biểu mô tế bào gan. M: marker DNA 1 kb; 1-10: sản phẩm khuếch đại đoạn gen *TERT* của một số mẫu mô HCC; 11: chứng âm.



Hình 2. Kết quả giải trình tự xác định đột biến -124C>T và -146C>T.

Để xác định các vị trí đột biến, trình tự gen của các mẫu nghiên cứu được so sánh với trình tự gen *TERT* (NG_009265) trên GenBank bằng phần mềm CLC Main Workbench 6.0.1. Hình ảnh giải trình tự xác định đột biến -124C>T và -146C>T của các mẫu ung thư biểu mô tế bào gan được thể hiện ở hình 2. Ở mẫu bình thường, tại vị trí -124 và -146 chỉ có 1 đỉnh nucleotide C. Ở mẫu có đột

biến, tại vị trí -124 gồm 2 đỉnh nucleotide C và T. Kết quả phân tích đã phát hiện được 21 bệnh nhân chỉ có đột biến -124C>T (chiếm tỷ lệ 25%), 63 bệnh nhân không có đột biến -124C>T và -146C>T (chiếm tỷ lệ 75%) (bảng 2).

Bảng 2. Tỷ lệ đột biến vùng promoter gen *TERT*.

Đột biến vùng promoter gen <i>TERT</i>	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Đột biến		
-146C>T	0	0
-124C>T	21	25
Không đột biến	63	75
Tổng	84	100

3.3. Mối liên quan giữa đột biến -124C>T của promoter gen *TERT* và một số đặc điểm, yếu tố nguy cơ của ung thư biểu mô tế bào gan

Mối liên quan giữa đột biến -124C>T và một số đặc điểm của nhóm đối tượng nghiên cứu được thể hiện ở bảng 3. Tỷ lệ đột biến ở nhóm ≥ 60 tuổi là 28,6% và nhóm <60 tuổi là 22,4%, sự khác nhau này giữa 2 nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p=0,612$. Nhóm bệnh nhân HCC nam có tỷ lệ đột biến -124C>T (28,2%) cao hơn so với nhóm bệnh nhân HCC nữ (7,7%), nhưng cũng không có mối liên quan giữa đột biến -124C>T và đặc điểm giới tính của mẫu nghiên cứu ($p=0,169$). Nhóm HCC có nồng độ AFP huyết thanh ≤ 20 ng/ml xuất hiện đột biến -124C>T nhiều hơn nhóm HCC có nồng độ AFP > 20 ng/ml, với tỷ lệ lần lượt là 28 và 22%. Sự chênh lệch này không có ý nghĩa thống kê ($p=0,566$) nên chưa thấy được mối liên quan giữa đột biến promoter gen *TERT* và chỉ số AFP ở bệnh nhân HCC.

Bảng 3. Mối liên quan giữa đột biến -124C>T và đặc điểm của đối tượng nghiên cứu.

Đặc điểm		Đột biến -124C>T		Không đột biến		OR (95%CI)	p
		n	%	n	%		
Tuổi	<60	11	22,4	38	77,6	1,38 (0,51-3,73)	$p=0,612$
	≥ 60	10	28,6	25	71,4		
Giới tính	Nam	20	28,2	51	71,8	4,71 (0,27-38,6)	$p=0,169$
	Nữ	1	7,7	12	92,3		
Nồng độ AFP (ng/ml)	AFP ≤ 20	12	28	31	72	1,38 (0,51-3,72)	$p=0,566$
	AFP > 20	09	22	32	78		
Độ mô học ung thư	I	7	17	34	83	1 (0,12-2,12)	$p=0,239$
	II	10	34,4	19	65,6		
	III	4	28,6	10	71,4		

Tỷ lệ đột biến của các nhóm ung thư có độ mô học I, II, III tương ứng là 17, 34,4 và 28,6%. Khi so sánh tỷ lệ đột biến giữa các nhóm này, không tìm thấy mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa đột biến -124C>T và độ mô học ung thư ở nhóm bệnh nhân nghiên cứu ($p=0,239$).

Nghiên cứu cũng đánh giá mối liên quan giữa đột biến -124C>T với một số yếu tố nguy cơ của ung thư biểu mô tế bào gan (bảng 4). So sánh tỷ lệ đột biến -124C>T giữa nhóm mẫu HCC nhiễm HBV (23,1%) và nhóm mẫu HCC không nhiễm HBV (31,6%), không thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p=0,548$). Tương tự, tỷ lệ đột biến -124C>T giữa nhóm mẫu HCC nhiễm HCV và HCC không nhiễm HCV đều là 25%, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p=1,0$).

Bảng 4. Mối liên quan giữa đột biến -124C>T và một số yếu tố nguy cơ của HCC.

Yếu tố nguy cơ		Đột biến -124C>T		Không đột biến		OR (95%CI)	p
		n	%	n	%		
Nhiễm HBV	Có	15	23,1	50	76,9	0,65 (0,21-2)	$p=0,548$
	Không	06	31,6	13	68,4		
Nhiễm HCV	Có	01	25	03	75	1 (0,1-10,17)	$p=1,0$
	Không	20	25	60	75		
Xơ gan	Có	05	29,5	12	70,5	1,33 (0,41-4,34)	$p=0,532$
	Không	16	23,9	51	76,1		
Sử dụng rượu bia	Có	09	26,5	12	73,5	1,14 (0,42-3,1)	$p=0,797$
	Không	25	24	38	76		

Sự phân bố đột biến -124C>T trong nhóm HCC có xơ gan có tỷ lệ là 29,5%, không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm HCC không mắc xơ gan có tỷ lệ là 23,9% ($p=0,532$). Khi so sánh tỷ lệ đột biến -124C>T giữa nhóm bệnh nhân HCC có sử dụng rượu bia (26,5%) và nhóm HCC không sử dụng rượu bia (24%) cũng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p=0,797$).

Như vậy, trong nghiên cứu này, không tìm thấy mối liên quan giữa tỷ lệ đột biến -124C>T và tình trạng nhiễm HBV, nhiễm HCV, mắc xơ gan và sử dụng rượu bia ở nhóm bệnh nhân HCC.

4. Bàn luận

Đột biến vùng promoter gen *TERT* trên bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan chủ yếu tại 2 vị trí -146C>T và -124C>T. Nghiên cứu trên 84 bệnh nhân HCC chỉ phát hiện được đột biến -124C>T, không phát hiện được đột biến -146C>T, tương đồng với nghiên cứu của F. Pezzuto và cs (2017) [10]. Trong nghiên cứu của H.W. Lee và cs (2017) [11], có sự khác biệt về tỷ lệ đột biến tại 2 vị trí -146C>T và -124C>T, lần lượt là 30,4 và 69,6%. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ đột biến -124C>T là 25% và tỷ lệ không có đột biến là 75%. Tỷ lệ này cũng gần tương đồng với kết quả nghiên cứu của H.W. Lee và cs (2017) [11] trên 160 bệnh nhân HCC người Hàn Quốc với tỷ lệ đột biến lên tới 28,8%, không đột biến là 71,2%; nghiên cứu của X. Yang và cs (2016) [9] trên 276 bệnh nhân HCC người Trung Quốc có tỷ lệ đột biến vùng promoter gen *TERT* là 30,8% và không có đột biến là 69,2%. Tuy nhiên, tình trạng đột biến vùng promoter gen *TERT* trên bệnh nhân trong nghiên cứu này khá thấp so với

tỷ lệ đột biến -124C>T ở các nước Nhật (50,3%) [12], Italia (41,8%) [13], Hoa Kỳ (44%) và Pháp (59%) [14]. Sự khác biệt này có thể do sự khác biệt về vùng địa lý, gen, lối sống và các tác động ngoại cảnh.

Ở Việt Nam, HCC hay gặp ở độ tuổi từ 19 đến 89 [15], cũng phù hợp với độ tuổi của bệnh nhân HCC trong nghiên cứu này. Tuổi trung bình của nhóm đối tượng trong nghiên cứu của chúng tôi là $55,96 \pm 10,9$, tương đồng với độ tuổi trung bình của bệnh nhân HCC là 58 ($56,5 \pm 11,2$) trong nghiên cứu của X. Yang và cs (2016) [9] và 57 ± 10 theo nghiên cứu của tác giả J.A. Marrero và cs (2005) [16]. Nhóm nghiên cứu không tìm thấy mối liên quan giữa tỷ lệ đột biến và tuổi bệnh nhân, khác với kết quả nghiên cứu của nhóm X. Yang và cs (2016) [9] trên 276 bệnh nhân, tỷ lệ đột biến cao hơn ở nhóm ≥ 60 (36,8%) so với nhóm < 60 tuổi (25,9%), với $p=0,04$. Sự khác biệt này có thể do cỡ mẫu của nghiên cứu chưa đủ lớn.

Trong nghiên cứu của nhóm tác giả, tỷ lệ bệnh nhân mắc HCC có đột biến vùng promoter gen *TERT* ở nam cao hơn ở nữ, nhưng chưa có sự tương quan giữa đột biến với giới tính, cũng tương đồng với nghiên cứu của X. Yang và cs (2016) [9]. Ngược lại, tỷ lệ đột biến này có tương quan với giới tính nam ($p=0,027$) trong nghiên cứu của H.W. Lee và cs (2017) [11]. Nguyên nhân nam giới mắc bệnh nhiều hơn nữ giới có thể do một số yếu tố nguy cơ gây bệnh như: tần suất mắc viêm gan virus B, C là khác nhau, hay thói quen sử dụng rượu, thuốc lá... khác nhau.

Chỉ số AFP huyết thanh là một marker ung thư của HCC. Nồng độ AFP thấp (< 20 ng/ml) ở bệnh nhân HCC được xác định có tương quan với đột biến promoter gen *TERT* [9, 14], nhưng mối liên quan này không có ở bệnh nhân HCC trong nghiên cứu của chúng tôi. Đột biến *TERT* thường xuất hiện ở giai đoạn sớm của quá trình ung thư. Đột biến -124C>T được phát hiện với tỷ lệ cao ở nhóm bệnh nhân HCC có độ mô học II trong nghiên cứu này, cũng như một số nghiên cứu khác nhưng không có sự tương quan giữa đột biến và độ mô học ung thư [9, 10].

Nhiễm virus viêm gan B là yếu tố nguy cơ chiếm tỷ lệ cao nhất trong số các yếu tố nguy cơ của HCC. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ bệnh nhân HCC nhiễm HBV là 77,4 và 23,1% số bệnh nhân này có đột biến -124C>T, còn tỷ lệ đột biến ở bệnh nhân HCC không nhiễm HBV là 31,6%. Kết quả này cũng tương đồng với tỷ lệ đột biến ở nhóm HCC nhiễm HBV và không nhiễm HBV lần lượt là 28,3 và 31,6% ở nghiên cứu của X. Yang và cs (2016) [9] hay 26 và 39% ở nghiên cứu của D. Cevik và cs (2015) [8]. Các nghiên cứu của nhóm X. Yang và cs (2016) [9], D. Cevik và cs (2015) [8] đều không tìm thấy mối liên quan giữa yếu tố nguy cơ HBV và tỷ lệ đột biến promoter gen *TERT* giống như kết quả nghiên cứu HCV là nguyên nhân chủ yếu gây nên ung thư biểu mô tế bào gan sau HBV mạn tính. Tuy nhiên, tỷ lệ HCC nhiễm HCV trong nghiên cứu

của chúng tôi thấp (4,8%) và trên cỡ mẫu nhỏ nên không thấy được mối liên quan giữa nhiễm HCV và tình trạng đột biến vùng promoter gen *TERT*. Tỷ lệ đột biến vùng promoter *TERT* khoảng 30-40% đối với HCC liên quan đến HBV và 60-80% đối với HCC liên quan đến HCV [17]. Đột biến promoter *TERT* có thể xuất hiện trong ung thư gan giai đoạn sớm trong điều kiện xơ gan dẫn đến biến đổi ác tính. Do đó, đột biến promoter *TERT* có thể là dấu ấn cho nguy cơ cao của biến đổi ác tính trong mô xơ gan [17]. Kết quả nghiên cứu này cho thấy, tỷ lệ đột biến ở bệnh nhân HCC mắc xơ gan là 29,5% và bệnh nhân HCC không xơ gan là 23,9%, nhưng sự khác biệt là không có ý nghĩa thống kê ($p=0,532$). Trong nghiên cứu của X. Yang và cs (2016) [9], tỷ lệ đột biến vùng promoter gen *TERT* ở nhóm bệnh nhân mắc xơ gan (42,3%) cao hơn nhóm bệnh nhân không mắc xơ gan (31,8%), nhưng cũng không có mối liên quan giữa tình trạng đột biến và nguy cơ xơ gan.

Rượu, bia không phải là yếu tố trực tiếp gây HCC nhưng nó thúc đẩy quá trình viêm gan, xơ gan dẫn đến HCC. Theo nghiên cứu của chúng tôi, có tới 40% bệnh nhân HCC có sử dụng rượu bia, tỷ lệ đột biến -124C>T ở nhóm HCC sử dụng rượu bia là 26,5% và chưa thấy có mối liên quan giữa tình trạng sử dụng rượu bia và tỷ lệ đột biến ($p=0,797$).

Như vậy, nghiên cứu này chưa phát hiện được mối liên quan giữa tình trạng đột biến vùng promoter gen *TERT* và các yếu tố nguy cơ trên bệnh nhân HCC như nhiễm virus HBV, HCV, xơ gan và sử dụng rượu bia.

5. Kết luận

Nhóm nghiên cứu phát hiện được đột biến tại vị trí -124C>T với tỷ lệ 25%, không phát hiện được đột biến tại vị trí -146C>T của vùng promoter gen *TERT* trên 84 bệnh nhân HCC. Chưa tìm thấy mối liên quan giữa đột biến -124C>T vùng promoter gen *TERT* với các yếu tố nguy cơ gây ung thư biểu mô tế bào gan như nhiễm virus viêm gan B, nhiễm virus viêm gan C, xơ gan và sử dụng rượu bia. Để có đánh giá chính xác hơn, nghiên cứu nên tiếp tục được tiến hành trên cỡ mẫu lớn hơn.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài mã số 108.02-2019.307, thuộc Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED). Nhóm nghiên cứu trân trọng cảm ơn Quỹ và Bệnh viện K đã cung cấp mẫu nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Cancel Today, *Factsheets*, <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/704-viet-namfactsheets.pdf>, accessed 15 January 2021.

[2] Y. Cong, J. Wen, S. Bacchetti (1999), "The human telomerase catalytic subunit *hTERT*: Organization of the gene and characterization of the promoter", *Human Molecular Genetics*, **8**(1), pp.137-142, DOI: 10.1093/hmg/8.1.137.

[3] B. Heidenreich, P.S. Rachakonda, I. Hosen, et al. (2015), "*TERT* promoter mutations and telomere length in adult malignant gliomas and recurrences", *Oncotarget*, **6**(12), pp.10617- 10633, DOI: 10.18632/oncotarget.3329.

[4] B. Vogelstein, K.W. Kinzler (2004), "Cancer genes and the pathways they control", *Nature Medicine*, **10**(8), pp.789-799, DOI: 10.1038/nm1087.

[5] S. Horn, A. Figl, P.S. Rachakonda, et al. (2013), "*TERT* promoter mutations in familial and sporadic melanoma", *Science*, **339**(6122), pp.959-961, DOI: 10.1126/science.1230062.

[6] F.W. Huang, E. Hodis, M.J. Xu, et al. (2013), "Highly recurrent *TERT* promoter mutations in human melanoma", *Science*, **339**(6122), pp.957-959, DOI: 10.1126/science.1229259.

[7] C.K. Park, S.H. Lee, J.Y. Kim, et al. (2014), "Expression level of *TERT* is regulated by somatic mutation and common single nucleotide polymorphism at promoter region in glioblastoma", *Oncotarget*, **5**(10), pp.3399-3407, DOI: 10.18632/oncotarget.1975.

[8] D. Cevik, G. Yildiz, M. Ozturk (2015), "Common telomerase reverse transcriptase promoter mutations in hepatocellular carcinomas from different geographical locations", *World Journal of Gastroenterology*, **21**(1), pp.311-317, DOI: 10.3748/wjg.v21.i1.311.

[9] X. Yang, X. Guo, Y. Chen, et al. (2016), "Telomerase reverse transcriptase promoter mutations in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma", *Oncotarget*, **7**(19), pp.27838-27847, DOI: 10.18632/oncotarget.8539.

[10] F. Pezzuto, L. Buonaguro, F.M. Buonaguro, et al. (2017), "Frequency and geographic distribution of *TERT* promoter mutations in primary hepatocellular carcinoma", *Infectious Agents and Cancer*, **12**(27), DOI: 10.1186/s13027-017-0138-5.

[11] H.W. Lee, T.I. Park, S.Y. Jang, et al. (2017), "Clinicopathological characteristics of *TERT* promoter mutation and telomere length in hepatocellular carcinoma", *Medicine (Baltimore)*, **96**(5), DOI: 10.1097/MD.0000000000005766.

[12] Y. Totoki, K. Tatsuno, K.R. Covington, et al. (2014), "Trans-ancestry mutational landscape of hepatocellular carcinoma genomes", *Nature Genetics*, **46**(12), pp.1267-1273, DOI: 10.1038/ng.3126.

[13] D. Lombardo, C. Saita, D. Giosa, et al. (2020), "Frequency of somatic mutations in *TERT* promoter, TP53 and CTNNB1 genes in patients with hepatocellular carcinoma from Southern Italy", *Oncol. Lett.*, **19**(3), pp.2368-2374, DOI: 10.3892/ol.2020.11332.

[14] J.C. Nault, M. Mallet, C. Pilati, et al. (2013), "High frequency of telomerase reverse-transcriptase promoter somatic mutations in hepatocellular carcinoma and preneoplastic lesions", *Nat. Commun.*, **4**(22), DOI: 10.1038/ncomms3218.

[15] V.Q. Le, V.H. Nguyen, V.H. Nguyen, et al. (2019), "Epidemiological characteristics of advanced hepatocellular carcinoma in the northern region of Vietnam", *Cancer Control*, **26**(1), DOI: 10.1177/1073274819862793.

[16] J.A. Marrero, R.J. Fontana, A. Barrat, et al. (2005), "Prognosis of hepatocellular carcinoma: Comparison of 7 staging systems in an American cohort", *Hepatology*, **41**(4), pp.707-716, DOI: 10.1002/hep.20636.

[17] J.C. Nault, J. Calderaro, L.D. Tommaso, et al. (2014), "Telomerase reverse transcriptase promoter mutation is an early somatic genetic alteration in the transformation of premalignant nodules in hepatocellular carcinoma on cirrhosis", *Hepatology*, **60**(6), pp.1983-1992, DOI: 10.1002/hep.27372.