

## Chương II

# HỆ GEN UNG THƯ

### NHỮNG NÉT CƠ BẢN VỀ HỆ GEN UNG THƯ (CANCER GENOMICS)

Ung thư là bệnh có liên quan tới biến đổi gen trong các tế bào soma. Ung thư là nhóm các tế bào (khối u) tăng trưởng một cách rầm rộ và không điều tiết được. Dĩ nhiên là mô hình tăng trưởng mất trật tự này không thể xảy ra đối với tất cả các tế bào của cơ thể - do vậy khi các mô hình gen phát hiện thấy có các tế bào ung thư thì sẽ vô cùng nguy hiểm cho giao tử hoặc phôi.

Ung thư là bệnh liên quan tới quá trình biến đổi gồm nhiều bước trong hệ gen của tế bào soma. Những đột biến DNA ở tế bào soma vẫn xảy ra một cách thường xuyên, nhiều dạng tế bào như tế bào biểu mô tăng trưởng một cách liên tục và hàng triệu tế bào mới được tạo ra do quá trình gián phân (mitosis) xảy ra hàng ngày. Nhưng hầu hết đột biến mới trong tế bào soma đều không có hiệu ứng đối với các trình tự protein và sự biểu hiện gen hoặc các kiểu hình tế bào. Chỉ có một số đột biến làm biến đổi các protein quan trọng thì mới gây nguy hại tới tế bào. Những đột biến ở tế bào đơn ít khi gây được hiệu ứng tổng thể lên cơ thể vì các tế bào đã đột biến không sinh sản. Tuy nhiên, cũng có các đột biến tế bào soma tác động tới các enzym làm nhiệm vụ điều hòa tăng trưởng và sửa chữa DNA thì rất nguy hiểm. Chỉ cần một đột biến trong điều hòa tăng trưởng đã có thể cho phép các tế bào vượt qua giới hạn bình thường của nó làm cho nó không cảm nhận được những tín hiệu ức chế từ mô lân cận. Một đột biến trong enzym sửa chữa DNA cũng làm cho tế bào (và các hậu duệ của nó) có nhiều khả năng đột biến mới. Kết hợp 2 đặc tính về tăng trưởng và tỷ lệ đột biến cao có thể tạo nên một quần thể các tế bào nổi trội về **tiến hóa do chọn lọc**. Bất kỳ đặc tính mới nào thu nhận được do đột biến trong một tế bào cũng sẽ di truyền lại cho con cháu của nó, tạo nên một dòng (clone), và những đặc tính đó lại thúc đẩy tăng trưởng bổ sung dẫn đến nhiều tế bào mang các đặc tính đó. Theo thời gian, các đột biến có thể được tích lũy dần rồi dẫn tới những thuộc tính ác tính của các tế bào ung thư. Bất kỳ một chất điều hòa tăng trưởng hay tác nhân gây độc nào được thực thi cho một dòng đang tăng trưởng đều tạo nên một áp lực chọn lọc, cho phép các tế bào thể đột biến kháng lại với tác nhân đó để được tăng trưởng.

Nếu một đột biến làm hủy hoại chức năng của một gen dẫn đến ung thư thì gen đó sau đó được coi như gen **kiềm chế khối u**. Dĩ nhiên là sự biểu hiện bình thường của của gen này sẽ ngăn chặn được ung thư. Những chất kiềm chế khối u bao gồm các enzym sửa chữa DNA và các chất điều hòa chu kỳ tế bào. Nếu đột biến làm tăng biểu hiện của một gen dẫn đến ung thư thì gen đó sau được coi như là **gen gây ung thư (oncogene)** tức là gen thúc đẩy ung thư. Các gen ung thư thường mã hóa cho các protein với chức năng là yếu tố tăng trưởng, receptor yếu tố tăng trưởng, chất chuyển đổi tín hiệu, yếu tố phiên mã hoặc chất điều hòa apoptosis.

Mức độ phức tạp khác nữa trong di truyền học ung thư trên người (và tất cả các động vật có vú khác) là hệ gen lưỡng bội. Mỗi một gen đều hiện diện trong 2 bản sao trên 2 nhiễm sắc thể tương đồng (một từ bố, một từ mẹ). Do vậy một đột biến soma đơn đối với một gen kiềm chế khối u, ngay cả trong trường hợp là một chất điều hòa tăng trưởng hay enzym sửa chữa DNA thì cũng chưa chắc đã tạo được nhiều hiệu ứng kiểu hình. Một bản sao bình thường của một gen vẫn có thể có mặt ở một nhiễm sắc thể khác làm cho chức năng protein vẫn bình thường. Tuy nhiên cũng có nhiều đột biến trội tạo ra được hiệu ứng khi một bản sao gen đơn bị biến đổi, chẳng hạn như với

các chất điều hòa đặc biệt, các enzym hoặc các protein ở trong các lỗ ngự trị ở vị trí ON hoặc một oncogene lại biểu hiện quá mức do mất vị trí gắn yếu tố điều hòa âm. Chẳng hạn như các đột biến ở gen *k-ras* gây nên hoạt hóa cơ bản chức năng truyền tín hiệu của protein *ras* đã thấy ở 30% ung thư phổi, 50% ung thư kết tràng và 90% ung thư tụy (Mimamoto và cộng sự, 2000).

Tính chất nguy hiểm của hệ gen lưỡng bội là một đột biến thúc đẩy ung thư ở một gen kiểm chế ung thư có thể được di truyền như một alen lặn và chức năng của nó được bù đắp bởi bản sao bình thường của gen trên nhiễm sắc thể khác. Người có đột biến như thế thì dễ bị tổn thương với bất kỳ đột biến nào tác động tới bản sao bình thường của gen ở bất kỳ tế bào soma nào tạo nên chức năng gen knockout. Sự knockout này có thể do đứt đoạn bản sao bình thường của gen, do bề gãy nhiễm sắc thể làm gián đoạn các gen, hoặc do biến đổi một nucleotid đơn nào đó dẫn đến làm khiếm khuyết chức năng hoặc biểu hiện protein. Bất kỳ sự cố đột biến nào tác động tới bản sao đơn nguyên vẹn của một gen đều được gọi là sự **mất tính hợp tử (loss of heterozygosity LOH)**. LOH là do xóa bỏ gen (có thể phát hiện bằng khuếch đại PCR định lượng những đoạn DNA đặc hiệu của hệ gen). Những đột biến đặc hiệu có thể được phát hiện bằng các marker SNP. Giới hạn chủ yếu của phương pháp LOH dựa trên cơ sở marker là nó không chỉ phát hiện những đứt đoạn trên các locus xác định mà phải lướt hết trên toàn bộ hệ gen. Các nghiên cứu LOH tập trung chủ yếu vào các gen kiểm chế khối u đã biết như gen *Rb1*, các đứt đoạn dẫn đến u nguyên bào võng mạc. Nhiều bệnh ung thư có thể di truyền được là do dạng đột biến này có trong một bản sao của một gen kiểm chế khối u. Ví dụ thông thường nhất là hội chứng ung thư trực - kết tràng không đa polyp có thể di truyền (hereditary nonpolyposis colorectal cancer HNPCC); 80% HNPCC có đột biến dòng mầm ở gen *MSH2* hoặc *MLH1*. Cả 2 gen này đều mã hóa cho các enzym liên quan tới việc sửa chữa không thích ứng DNA (Lynch và de la chapel, 1999 và Yan, 2000).

Khuyênh hướng di truyền này thường dẫn đến các ung thư xảy ra ở nhiều vị trí trong cơ thể vì các tế bào soma có những khác biệt trong việc phát triển các đột biến ở bản sao chức năng đơn của gen. Tính di truyền của các gen nhạy cảm ung thư đã làm đảo ngược khái niệm thông thường về chức năng gen trội và gen lặn. Một bản sao khiếm khuyết của một gen đơn đòi hỏi phải có các đột biến làm bất hoạt cả 2 bản sao tương đồng mới tạo được kiểu hình thúc đẩy ung thư thì mới được coi là gen lặn theo quan điểm phân tử, còn theo y học thì bản chất di truyền ung thư là tính trội (người bị khiếm khuyết một alen có đặc tính).

## **ĐỘT BIẾN SỐ LƯỢNG BẢN SAO**

Các tế bào ung thư thường thấy có những biến đổi lớn về cấu trúc nhiễm sắc thể (sai lệch về di truyền tế bào). Sở dĩ như vậy là do đột biến trong gen sửa chữa DNA và / hoặc đột biến trong hệ thống kiểm soát chất lượng thường làm cho nhiễm sắc thể của tế bào bất bình thường dẫn đến tự hủy hoại do apoptosis. Hầu như tất cả các khối u đặc, u lympho, bệnh bạch cầu đều có kiểu nhân bất thường. Toàn bộ nhiễm sắc thể có thể bị mất đi hoặc những mảnh lớn của nhiễm sắc thể bị đứt đoạn. Luân phiên nhau, các vùng của nhiễm sắc thể có thể bị khuếch đại, làm tăng số bản sao của một số gen lên nhiều lần. Sự chuyển vị của các mảnh lớn DNA từ nhiễm sắc thể này sang nhiễm sắc thể khác hoặc đảo đoạn một phần nhiễm sắc thể cũng thường hay xảy ra. Bản chất dòng của tăng trưởng khối u cho phép xảy ra sự cố sắp xếp lại nhiễm sắc thể trong một tế bào soma đơn để sản sinh ra một quần thể các tế bào. Cũng thường quan sát thấy các kiểu nhân khác biệt trong các tế bào ở một khối u đơn. Điều này lại một lần nữa cho thấy những bất thường di truyền tế bào này là vô cùng nguy hiểm đối với

giao tử hay phát triển phôi, nhưng cũng có thể các tế bào soma có nhiễm sắc thể bất thường nhưng vẫn tồn tại và sinh sôi nảy nở.

Những sai lệch về di truyền tế bào có thể dẫn đến ung thư theo nhiều cách. Có thể là sự khuếch đại một gen ung thư (oncogene) làm tăng biểu hiện của nó dẫn đến có nhiều sản phẩm protein trong tế bào. Sự khuếch đại của các thành viên *myc*, *erb* (receptor yếu tố tăng trưởng bì) và họ gen *ras* phát hiện thấy nhiều trong các khối u của người. Khoảng 30% ung thư vú và ung thư buồng trứng có khuếch đại gen *erbB2* (HER-2/neu) (Slamon và cộng sự, 1989). Sự mất đi các đoạn nhiễm sắc thể có chứa các gen kiểm chế khối u có thể tạo nên sự cố mất tính dị hợp hoặc đơn thuần là chỉ mất một bản sao của gen làm cho mức protein thấp hơn, do vậy mà làm thay đổi điều hòa các con đường tế bào quan trọng. Sự chuyển vị và đảo đoạn có thể làm mất đi vùng mã gen làm nó bất hoạt hoặc lại gắn với một gen có vùng điều hòa mới có thể làm tăng hoặc giảm biểu hiện của nó trong một tế bào cá biệt. Một số sự cố về chuyển vị hoặc đảo đoạn có thể tạo nên những tổ hợp mới các vùng mã hóa giữa các gen khác nhau để sản sinh ra một protein hỗn hợp với các đặc tính mới. Ví dụ kinh điển về sự chuyển vị tạo nên một oncogene do sự hòa trộn gen là nhiễm sắc thể Philadelphia được phát hiện trong tất cả các trường hợp leukemia dòng tủy mạn tính (chronic myelogenous leukemia-CML). Sự chuyển vị giữa nhiễm sắc thể 9 và 22 ở CML có sự hòa trộn gen *c-abc* với gen *bcr*. Hỗn hợp gen *bcr/abl* mã hóa cho protein chimeric có hoạt tính tyrosin kinase mới (Hermans và cộng sự, 1987).

Enzym tyrosin kinase cũng được biết đến với tên là BCR-ABL, được tạo nên do sự hòa trộn gen *bcr /abc* trong CML, nó hoạt động như một gen ung thư (oncogene), kích thích sự phân chia tế bào của các bạch cầu và ức chế con đường apoptosis. Gleevec là thuốc điều trị CML. Gleevec liên kết và làm bất hoạt protein BCR-ABL. Thật thú vị là Gleevec (imatinib) cũng có hiệu quả trong trị liệu các khối u ở mô đệm dạ dày - ruột non (gastrointestinal stromal tumors). Tại đó, nó ức chế một tyrosin kinase khác cũng có đặc tính thúc đẩy ung thư. Gleevec hiện đang được thử nghiệm trị liệu các dạng ung thư khác như ung thư phổi tế bào nhỏ, CML và u thần kinh đệm. Mặc dù Gleevec là một mẫu thiết kế thuốc tuyệt vời, nhưng khi phát triển và sử dụng nó lại không thực sự dựa trên công nghệ di truyền. Chẳng hạn như với CML, điều kiện duy nhất để phân loại là sự hiện diện của nhiễm sắc thể Philadelphia hoặc protein BCR-ABL. Tuy nhiên, đối với các dạng ung thư khác cũng có thể hội tụ đủ các điều kiện trước khi các bệnh nhân được điều trị với Gleevec nếu trước đó đã sàng lọc về protein hoặc biểu hiện gen để xem tyrosin kinase khác có ở quá mức đích hay không.

Phân tích di truyền các tế bào ung thư đã được hưởng lợi từ nhiều kỹ thuật sinh học phân tử. Trước tiên, các tế bào ung thư được xếp loại theo kiểu nhân (karyotype) bằng việc phân tích hiển vi nhiễm sắc thể ở pha giữa (metapha) trong các tế bào đang phân chia. Các thuốc nhuộm quinacrin - mustard và trysine - Giemsa đã tạo nên các mẫu băng đặc thù trong NST, cho phép nhận dạng một cách trực quan NST của từng cá thể và có thể phát hiện ra những sai lệch ở quy mô lớn. Nghiên cứu di truyền học tế bào được cải thiện do sử dụng công nghệ **huỳnh quang trong lai ghép *in situ* (fluorescence *in situ* hybridization- FISH)** với các đầu dò DNA có đánh dấu để xác định các vùng của từng NST trong một kiểu nhân (karyotype). Sự lai ghép với các đầu dò này cho phép phát hiện ra những đứt đoạn, chuyển vị và sao chép NST. Tuy nhiên, các kỹ thuật FISH đòi hỏi trước hết phải hiểu tường tận về các vị trí bất ổn định của hệ gen để thiết kế các đầu dò phát hiện ra các biến đổi. Kỹ thuật thông thường hơn là **lai ghép so sánh hệ gen (comparative genomic hybridization - CGH)** sử dụng toàn bộ hệ gen như là một đầu dò đánh dấu và một kiểu nhân ở kỳ giữa được gắn trên một

slide hiển vi với tư cách là đích. DNA hệ gen từ các tế bào bình thường được đánh dấu màu huỳnh quang và DNA hệ gen từ các tế bào khối u được đánh dấu một màu huỳnh quang khác, sau đó cả hai được trộn lẫn và lai ghép với nhau để đích các NST. Các vùng của NST đích sẽ hiện lên với những khác biệt về huỳnh quang giữa 2 màu và cho thấy sự khác biệt về số bản sao giữa hệ gen khối u và hệ gen bình thường, đồng thời cũng cho thấy cả những đứt đoạn và khuếch đại. CGH đã trở thành phương pháp chuẩn mực cho việc phân tích di truyền tế bào từ đầu những năm 1990.

Giải pháp CGH dựa trên cơ sở lai ghép toàn bộ NST với khoảng 10-20 Mb (1.00.000 cặp base). Như vậy là đủ để phát hiện ra các đứt đoạn và các tái cơ cấu các đoạn lớn của NST, nhưng vẫn chưa thể phát hiện được các khuếch đại nhỏ (microamplification) và các đứt đoạn có thể tác động vào các gen đơn liên quan tới bệnh tật (các oncogene và các gen kiểm chế khối u). Những tiến bộ gần đây trong công nghệ microarray đã tạo khả năng khảo sát toàn bộ hệ gen với giải pháp rất cao trên một chip hệ gen (genome tiling chip) (array CGH), do đó các các đứt đoạn và các khuếch đại của các vùng nhỏ chừng 10.000 base (10Kb) đến nay đã được phát hiện. Khi mà các chip CGH đã trở nên rẻ hơn thì việc phân tích số lượng bản sao sẽ trở nên nhanh chóng, và có thể còn phát hiện ra các ứng dụng khác nữa ngoài ung thư.

Những thay đổi tương đối về số bản sao gen được phát hiện nhờ ứng dụng CGH có liên quan tới khuếch đại oncogene hoặc làm mất chức năng gen kiểm chế khối u. Tuy nhiên, CGH không thể phát hiện được các chuyển vị (bẻ gãy và nối lại các đoạn từ các NST khác nhau). Một kỹ thuật lai ghép hệ gen gọi là **Spectral Karyotyping (SKY)** sử dụng nhiều thuốc nhuộm huỳnh quang để tạo nên một màu khác thường cho mỗi NST, sau đó lai hỗn hợp này với các tế bào khối u. Kết quả là làm cho nó dễ dàng nhận diện được các chuyển vị (một NST lai có chứa các bộ phận từ 2 NST khác nhau). Tuy nhiên, array CGH lại không thích hợp lắm với việc phát hiện các chuyển vị vì số các bản sao các đoạn của hệ gen nói chung là không biến đổi nhiều, và chỉ một hoặc một vài đầu dò là có thể tác động được vào điểm ngắt của DNA.

## **BIỂU HIỆN LÂM SÀNG**

Một lý do tại sao ung thư khó chẩn đoán và điều trị là vì nó không phải là một bệnh. Mặc dầu y học thường phân loại ung thư theo các tổ chức và mô xảy ra ung thư (ung thư vú, ung thư phổi, bệnh bạch cầu), nhưng không phải tất cả các ung thư của một mô đơn đều có cùng một kết quả và cùng đáp ứng với điều trị lâm sàng như nhau. Sự biến đổi này phản ánh cả sự không đồng nhất của các dạng tế bào ung thư nơi ung thư bắt nguồn cũng như những khác biệt về các sự cố đột biến đặc biệt làm hoạt hóa các kiểu hình ác tính. Các khối u xuất hiện tương tự trong một mô đơn cũng có các đột biến ở các gen khác nhau và vì thế mà nó có các đáp ứng khác nhau đối với các thuốc do vậy mà các kết quả lâm sàng là khác nhau.

Công trình của Golub, Lander và cộng sự trước đây (Golub et al. 1999) chứng minh rằng có thể dùng microarray để phân biệt một cách tin cậy các kiểu phụ (subtype) ung thư đã biết như bệnh bạch cầu dòng tủy cấp (acute myeloid leukemia - AML) khác với bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp (acute lymphoblastic leukemia - ALL). Microarray cũng được sử dụng cùng với các kỹ thuật phân tích số liệu dựa trên cơ sở xếp nhóm bằng máy tính đã xác định các kiểu phụ (subtype) chưa biết trong u lympho tế bào B khuếch tán lớn (diffuse large B - cell lymphoma) có tương quan với tỷ lệ sống sót của bệnh nhân (Alizadeh et al. 2000, Ship et al. 2002). Những công trình tương tự cũng sử dụng dẫn liệu (profile) biểu hiện gen bằng

microarray để xác định các lớp hoặc các kiểu phụ của nhiều ung thư có liên quan đến sự sống còn như ung thư tuyến tiền liệt (Lapointe et al. 2004), ung thư phổi (Bee et al. 2002) và ung thư cổ tử cung (Lung et al. 2006). Một loại test chẩn đoán có thể xác định được các đặc tính của một ung thư như tính hiệu chiến (công kích) (làm cho sống sót bị sút kém) hoặc ung thư với sự tăng trưởng chậm có thể có ý nghĩa lớn về mặt lâm sàng đối với bệnh nhân. Những ung thư hiệu chiến có thể được xử trí bằng các phương pháp trị liệu công kích như phẫu thuật, xạ trị và các phương pháp hóa trị cực mạnh. Trong khi đó, với các bệnh nhân ung thư tăng trưởng chậm thì có thể bỏ qua các phương pháp có tác dụng phụ nguy hiểm và nên hướng tới các phương pháp điều trị ít gây rối loạn hơn.

Một nét đặc trưng chung của các tế bào ung thư là sự tăng trưởng của chúng rất khủng khiếp. Các tế bào ở các mô khác nhau đều được kích thích để tăng trưởng bởi hormon và yếu tố tăng trưởng khác nhau. Chẳng hạn như tế bào buồng trứng và tế bào vú tăng trưởng để đáp ứng với hormon estrogen và progesteron. Khoảng 75% ung thư vú phát hiện thấy có tăng mức estrogene hoặc receptor protein progesteron (ER+). Những receptor này gắn với các hormon có trong máu và hoạt hóa các protein khác bên trong tế bào, nó tác động với tư cách là các yếu tố phiên mã, mở (hoặc đóng) sự biểu hiện của nhiều gen dẫn đến tăng trưởng hoặc tái tạo tế bào. Receptor hormon hoạt động như một công tắc hoặc chất điều hòa tổng thể làm hoạt hóa con đường tăng trưởng tế bào. Khi có biểu hiện cao hơn các receptor hormon thì tế bào được phép tăng trưởng để đáp ứng với các con đường hormon mà ở đó không kích thích tăng trưởng đối với các tế bào bình thường. Sự biểu hiện quá mức receptor hormon có thể dẫn đến khuếch đại số lượng bản sao của các gen tương ứng, sự đột biến ở các vùng điều hòa của các gen này làm thay đổi đáp ứng của chúng đối với các yếu tố phiên mã hoặc các chất điều hòa sau phiên mã, hoặc làm biến đổi số lượng hoặc chức năng của các chất điều hòa phiên mã và sau phiên mã.

Các khối u ở vú có mức receptor hormon tăng cao có thể được xử trí bằng các thuốc ngăn chặn hormon như tamoxifen. Thuốc này sẽ gắn vào các receptor hormon, làm cho các hormon không bị kích thích tăng trưởng và thường dẫn đến chết các tế bào khối u. Các trị liệu kháng hormon khác như các chất ức chế aromatase thì lại làm giảm tăng trưởng estrogen trong cơ và trong các tế bào mỡ (ở các phụ nữ sau mãn kinh), thuốc sẽ ngăn chặn tổng hợp estrogen bởi noãn sào (đối với các phụ nữ sau mãn kinh) và trong trường hợp này có thể phải phẫu thuật cắt bỏ buồng trứng.

Một số tế bào khối u vú có khả năng điều hòa theo con đường vòng bởi các receptor estrogen /progesteron và bật đèn xanh cho tăng trưởng khi không có sự hiện diện của estrogen hoặc progesteron, hoặc khi các receptor estrogen /progesteron chưa được hoạt hóa. Một cách kích thích tăng trưởng khác có liên quan đến **receptor yếu tố tăng trưởng bì số 2 (epidermal growth factor 2)** (cũng được gọi là **HER2** hoặc **HER2/neu**). Khoảng 25% phụ nữ bị ung thư vú di căn có sự tăng cao mức receptor HER2. Những loại ung thư này có đặc trưng là tăng trưởng rất mạnh và tiên lượng là xấu (De Laurentiis et al. 2005). Sự tăng cao các mức receptor HER2 trong các tế bào khối u thường do sự khuếch đại số bản sao của gen HER2. Loại thuốc Herceptin (trastuzumab) là một kháng thể đơn dòng gắn đặc hiệu vào receptor HER2 trên các tế bào khối u và ngăn chặn chức năng kích thích tăng trưởng của nó, nhưng đồng thời lại kích thích đáp ứng miễn dịch kháng lại các tế bào này. Hầu hết các ung thư HER2+ đều có thể được điều trị một cách hiệu quả bằng Herceptin.

Ngoài việc phân biệt giữa kiểu hình dương tính và âm tính với ER hoặc HER2 thì sự biểu hiện của gen kiểm chế khối u p53 cũng là một yếu tố độc lập quan trọng trong việc tiên lượng khả năng sống sót trong ung thư vú và nhiều dạng ung thư khác.

Sự đột biến ở gen p53 (và các mức biểu hiện của các gen điều tiết bởi p53) tương quan với khả năng sống sót thấp hơn.

Vì di truyền và hóa sinh học của điều hòa tăng trưởng khối u là một quá trình phức tạp nên khó mà chẩn đoán một cách chính xác từng loại ung thư khi mà việc sàng lọc chỉ mới được thực hiện với một số bệnh nhân hoặc chỉ với các dấu ấn (marker) di truyền. Mô hình tổng thể về biểu hiện gen trong các tế bào khối u cũng có thể là một hiển thị tốt hơn về việc bật công tắc các con đường tăng trưởng, bất chấp nguyên nhân chính xác của việc bật công tắc là gì. Các số liệu về biểu hiện gen được thực hiện bằng kỹ thuật microarray sẽ dẫn đến việc phát hiện ra /hoặc xác định được đặc tính của các kiểu phụ riêng biệt của nhiều loại ung thư khác nhau. Khi tiếp cận bằng cách xếp nhóm đa gen trên các ung thư vú người ta thấy các khối u âm tính với ER lại được phân chia thành kiểu phụ HER2+ và kiểu phụ giống như dạng cơ sở (basal-like subtype) và các khối u dương tính với ER cũng được phân chia các kiểu phụ luminal A và luminal B. Người ta xác định được đặc tính kiểu phụ giống như dạng cơ sở có mức biểu hiện các nhóm gen có liên quan đến ER và HER2 thấp và vì thế mà thường có âm tính bộ ba (triple -negative) về các protein này trên các thử nghiệm lâm sàng.

Trong mỗi trường hợp, với một số liệu dựa trên các mức biểu hiện của 10 đến 100 gen là có thể được sử dụng để phân loại một cách chắc chắn các khối u thành các lớp để tiên lượng hậu quả của bệnh (chẳng hạn như sống sót 5-10 năm không bị tái phát). Đặc trưng về chức năng của các gen điều tiết biệt hóa được xác định bởi các số liệu tiên đoán này sẽ giúp cho chúng ta hiểu thấu về mặt sinh học các mô khởi nguồn ra ung thư cũng như những biến đổi di truyền đặc trưng (như khuếch đại các gen ung thư). Các số liệu về biểu hiện gen đã được sử dụng để phân loại ung thư vú thành 5 kiểu phụ, trong đó có 2 kiểu phụ chủ yếu là **luminal A** - dương tính với receptor estrogen và kiểu phụ **cơ sở (basal)** - gắn liền với biểu hiện quá mức các gen có liên quan đến sự tăng sinh và biệt hóa tế bào.

Việc phân loại ung thư dựa trên cơ sở các dẫn liệu về biểu hiện gen này rõ ràng là chính xác hơn cách phân loại dựa trên cơ sở bệnh sử hoặc các test biomarker đơn (receptor estrogen, HER2,...). Một số test về ung thư vú dựa trên cơ sở số liệu về sự biểu hiện gen của các gen chủ chốt đã có giá trị thương phẩm (OncotypeDX<sup>TM</sup> của công ty Genomic Health Inc., và MammaPrint của công ty Angedea BV) giúp cho thầy thuốc xác định được các dạng trị liệu thích ứng cho từng bệnh nhân.

Trong ung thư tế bào gan (hepatocellular carcinoma - HCC) có 2 lớp phụ tách biệt đã được xác định bằng cách phân nhóm các số liệu biểu hiện gen của 80 gen từ các mô khối u của các bệnh nhân khác nhau (Lee et al. 2006). Một cách phân nhóm tương tự đó là các mẫu biểu hiện gen với các tế bào gốc là nguyên bào gan của thai (fetal hepatoblast). Các bệnh nhân có các dẫn liệu về biểu hiện gen khối u nằm trong phân nhóm này thì khả năng sống sót ngắn hơn các bệnh nhân nằm trong các phân nhóm khác.

Điểm mấu chốt cần phải ghi nhớ về các dẫn liệu gen và ung thư là sự biệt hóa trong mô và tế bào có liên quan tới biến đổi vĩnh viễn biểu hiện của hàng nghìn gen, khi mà sự phát triển của ung thư chỉ cần đến biến đổi biểu hiện gen của trăm gen mà thôi. Có những biến đổi trong điều hòa một số quá trình có thể phân biệt được ung thư như tăng trưởng, chu kỳ tế bào, nhân đôi DNA, sửa chữa những sai sót của DNA, tạo mạch và sự biến hóa của tế bào. Mặc dù việc điều hòa các quá trình này đã được thiết lập bằng việc làm cân bằng các phân tử điều hòa khác nhau trong từng mô và từng tế bào, nhưng nhìn chung thì những số liệu về biểu hiện gen vẫn luôn là cách để phân biệt các dạng tế bào, các mô dễ dàng hơn là cách phân biệt tế bào ung thư với tế bào bình thường.

## **BẢN ĐỒ HỆ GEN UNG THƯ**

Viện ung thư quốc gia (NCI) được giao phó đầu tư chính (khoảng 1,5 tỷ USD) cho dự án hệ gen gọi là bản đồ hệ gen ung thư (Cancer Genome Atlas (<http://cancergenome.nih.gov>)) nhằm thiết kế thăm dò một cách hệ thống toàn bộ các biến đổi của hệ gen liên quan tới ung thư ở người. Dự án này tập trung một cách chi tiết vào những đặc trưng di truyền của 12.500 mẫu khối u từ 50 dạng ung thư thông thường nhất. Dự án bao gồm các nghiên cứu về biểu hiện gen của toàn bộ hệ gen và những cách ghép nối khác (exon arrays), số lượng biến đổi các bản sao của toàn bộ hệ gen và sự sắp xếp lại hệ gen (chuyển vị), những biến đổi epigenomic như methyl hóa và giải trình tự toàn bộ hệ gen của các tế bào từ các mô khối u. Trong từng trường hợp, các tế bào khối u đều được so sánh với các tế bào bình thường tương ứng từ cùng một bệnh nhân. Người ta hy vọng rằng các số liệu về hệ gen sẽ cung cấp đầy đủ các dấu hiệu về những biến đổi di truyền của các tế bào soma tiến tới phát triển ác tính trong ung thư và các kiểu phụ ung thư biệt hóa.

Nhiều nhà khoa học trong lĩnh vực ung thư và hệ gen đã chỉ trích dự án này vì quá tốn kém và kém cỏi về thiết kế. Vấn đề mấu chốt của dự án hệ gen ung thư là các tế bào được xác định đặc tính phải được lấy từ các khối u nguyên phát. Tuy nhiên, hầu hết các tế bào đang bị hủy hoại lại là các tế bào đã di căn và di chuyển khắp mọi nơi trong cơ thể và đã thiết lập các khối u thứ cấp. Hơn nữa, sự phức tạp trong vấn đề này là các khối u lớn lại không có sự đồng nhất về mặt di truyền. Các khối u thường được tạo nên từ các tế bào đột biến liên tục khi chúng tăng trưởng và tái sinh. Phần lớn các đột biến chỉ đơn giản là các sản phẩm phụ của các hệ thống biên tập và sửa chữa DNA khiếm khuyết trong các dòng tế bào ung thư. Nhiều khu vực trong một khối u đơn cũng chứa đựng nhiều đột biến khác nhau. Vì thế người ta hy vọng dự án hệ gen ung thư sẽ xác định được nhiều đột biến không giữ vai trò chủ chốt trong việc phát triển và tồn tại của ung thư.

Tại Anh, viện Sanger là nơi đang thực hiện dự án hệ gen ung thư (<http://www.sanger.ac.uk/genomics/CGD>) cũng có những mục tiêu tương tự: xác định các đột biến soma nguy hại tới việc phát triển ung thư của người. Các dự án của Sanger tập trung trước tiên vào việc giải trình tự các vùng mã hóa và các tiếp hợp ghép nối exon (exon splice junction) trong DNA của các khối u nguyên phát và các dòng tế bào ung thư để so sánh với trình tự DNA hệ gen bình thường trên cùng cá thể. Những số liệu ban đầu từ dự án này đã được xuất bản tháng 3 năm 2007 (Green et al. 2007) với việc xác định trên 1000 đột biến ở tất cả 518 gen đã biết của protein enzym kinase, giải trình tự 210 ung thư người. Một nghiên cứu khác đã phát hiện được các đột biến ở 200 gen khác nhau trong các mô khối u được lấy từ 11 bệnh nhân ung thư trực tràng - kết tràng và 11 bệnh nhân ung thư vú (Lin và Sjoblom, 2007). Tuy nhiên, vẫn chưa thể phân biệt một cách chắc chắn các đột biến gây ung thư thật sự với các đột biến xảy ra ngẫu nhiên trong những nghiên cứu này. Có rất ít trùng lặp được phát hiện giữa các đột biến trong các khối u được lấy từ các dạng ung thư khác nhau hoặc thậm chí giữa các mẫu từ các bệnh nhân khác nhau nhưng cùng một dạng ung thư. Nếu các đột biến đã được xác định mà giữ vai trò chức năng trong việc phát triển ung thư và các khối u ác tính thì các gen tương ứng sẽ trở thành các đích tiềm năng của thuốc.

Mặc dầu có sự chỉ trích về sự tốn kém và các thiết kế thực nghiệm, nhưng dự án hệ gen ung thư đã tạo được các sản phẩm phụ hữu ích. Nhiều công trình trước dự án này cũng đã hướng tới việc phát triển công nghệ cho phép giảm bớt giá thành cho các công nghệ của các hệ gen khác nhau. Một bộ phận quan trọng của bản đồ hệ gen ung thư Viện ung thư quốc gia là nguồn cung cấp các mẫu sinh học cốt lõi (ngân hàng mô). Bộ sưu tập các mẫu sinh học được dùng sẽ đạt tiêu chuẩn cao nhất về đạo đức, kỹ thuật, sinh học, bệnh lý học và tin sinh học để đảm bảo chắc chắn cả về số lượng và chất lượng các mẫu cùng các thông tin liên quan đến lâm sàng. Cũng cần nhấn mạnh rằng phải có cả các thông tin về kinh phí cho trung tâm dữ liệu phối hợp (data

coordinating center -DCC). Điều này rất cần thiết cho việc hợp nhất một khối lượng khổng lồ các dữ liệu hệ gen từ nhiều công nghệ khác nhau cùng với các thông tin về lâm sàng trên từng nhóm đơn các bệnh nhân. DCC sẽ thiết lập nguồn tư liệu hệ gen ung thư công đồng có sự hợp nhất với NCI's Cancer Biomedical Information Grid (caBIG™) và National Library of Medicine's National Center for Biotechnology Information (NCBI) để các nhà khoa học sử dụng trong các nghiên cứu của mình nhằm tạo dựng các dấu hiệu mới về nguyên nhân và các đích tiềm năng can thiệp vào ung thư. Một lượng lớn các số liệu hệ gen ung thư đã được tích lũy trong các dữ liệu cơ sở hạ tầng rất mạch lạc, các nhà khoa học có thể tận dụng nó để đạt được những thành quả bất ngờ.