PGS.TS. NGUYỄN VĂN KÌNH, BS. NGUYỄN TUẤN ANH

# SINH HỌC PHÂN TỬ UNG THƯ

## ÁP DỤNG CHO LÂM SÀNG

NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC
HÀ NỘI - 2015

# LỜI GIỚI THIỆU

Ung thư là loại bệnh diễn biến phức tạp. Thế giới đang có những bước tiến mới trong lĩnh vực chẩn đoán và điều trị. Các chẩn đoán về mô học tế bào vẫn giữ vai trò quan trọng, song các biomarker và các chẩn đoán phân tử đã giúp cho người thầy thuốc có đủ cơ sở dữ liệu để lựa chọn những phững phương pháp điều trị thích hợp nhất. Việc ứng dụng các chất ức chế phân tử nhỏ và các kháng thể đơn dòng trong điều trị đích đã cứu sống nhiều bệnh nhân ung thư. Điều đó đã khẳng định vai trò quan trọng của các chẩn đoán phân tử, đặc biệt là các đột biến gen kiềm chế khối u hay gen gây ung thư, cũng như các gen liên quan tới các quá trình điều hòa các con đường nội tại.

Cuốn sách "Sinh học phân tử ung thư áp dụng cho lâm sàng" của các tác giả PGS.TS. Nguyễn Văn Kình và BS. Nguyễn Tuấn Anh- những người đang trực tiếp nghiên cứu và điều trị ung thư sẽ cung cấp cho chúng ta những kiến thức cập nhật nhất về ung thư, đặc biệt là các quá trình liên quan đến các cơ chế dẫn đến ung thư, sự xâm lấn và di căn. Cuốn sách cũng chi tiết hóa các loại ung thư phổ biến như ung thư phổi, ung thư vú, ung thư cổ tử cung, ung thư gan, ung thư đại tràng v.v.. vì thế đây không những là một cuốn sách tham khảo tốt mà còn là một tài liệu tra cứu hữu ích cho các bác sĩ lâm sàng, đặc biệt là các bác sĩ chuyên ngành ung thư.

Trong những năm qua, Nhà xuất bản Y học lần lượt xuất bản các ấn phẩm của tác giả PGS.TS. Nguyễn Văn Kình: Gen trị liệu (2005), Thực hành ứng dụng Gen trị liệu (2007), Những phương pháp tiếp cận hiện đại Gen trị liệu ung thư (2011) và trong lần xuất bản này là "Sinh học phân tử ung thư áp dụng cho lâm sàng" (2015). Tác giả là người tâm huyết với sinh học phân tử và là một trong số những người đặt nền móng về lý thuyết và thực hành cho Gen trị liệu Việt Nam. Sự ra đời của "Sinh học phân tử ung thư" sẽ đáp ứng sự mong đợi của độc giả, đặc biệt là nhiều kiến thức mới về ung thư và những ứng dụng thực tiễn của nó.

Nhà xuất bản Y học trân trọng giới thiệu cùng độc giả cuốn sách quý giá này.

NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC

# LỜI NÓI ĐẦU

Theo đánh giá của Tổ chức Y tế Thế giới, bệnh ung thư vẫn là gánh nặng kinh tế - xã hội với mọi quốc gia. Trung bình mỗi năm có thêm 10-16 triệu người mắc bệnh và khoảng 6 triệu người chết do ung thư. Việt Nam cũng là quốc gia có tỷ lệ mắc bệnh ung thư cao. Theo thông tin từ Bộ Y tế, hàng năm Việt Nam có khoảng 150.000-200.000 người mắc bệnh ung thư mới và khoảng 75.000- 100.000 người tử vong vì căn bệnh này. Ung thư hiện nay đứng vị trí thứ hai các trường hợp tử vong, sau bệnh tim mạch và nó thực sự là mối quan tâm của quốc gia.

Tình hình ung thư trên thế giới có sự khác biệt rất lớn giữa các nước và các vùng miền. Sự khác biệt của một số ung thư có thể lên đến hàng trăm lần, tùy thuộc vào mức độ tiếp xúc của cộng đồng với các yếu tố nguy cơ và di truyền. Trong một quốc gia, tỷ lệ mắc các bệnh ung thư khác nhau cũng rất khác nhau. Các ung thư hàng đầu thế giới đối với nam giới là: Ung thư phổi, dạ dày, đại- trực tràng, tuyến tiền liệt, gan. Với nữ giới là ung thư vú, đại - trực tràng, cổ tử cung, dạ dày, phổi. Điều đặc biệt lý thú là, người ta đã xác định được rằng trên 80% nguyên nhân gây ung thư là do môi trường, đặc biệt là thuốc lá (chiếm 30% tổng số nguyên nhân gây ung thư ở người). Bên cạnh đó là các yếu tố thuộc lối sống như chế độ dinh dưỡng không thích hợp, mất cân bằng, ăn nhiều chất béo, ít chất xơ, ngũ cốc, uống nhiều rượu bia, ít luyện tập cơ thể. Một yếu tố không kém phần quan trọng, đó là nhiễm khuẩn và nghiện ma túy v. v.. tất cả những yếu tố này là những nguyên nhân quan trọng dẫn đến ung thư.

Ở Việt Nam, phần lớn các bệnh nhân ung thư (khoảng 70%) chỉ đến bệnh viện điều trị khi bệnh đã ở giai đoạn quá muộn nên cơ hội chữa khỏi bệnh thấp. Theo thống kê, tỷ lệ chữa khỏi bệnh ung thư ở Việt Nam chỉ khoảng 35%.

Trong quá trình hình thành và phát triển của con người, ngay từ giai đoạn phôi thai đến khi trưởng thành, cơ thể luôn luôn tiếp cận với các yếu tố môi trường bên ngoài, đồng thời có sự phối hợp đồng bộ giữa các quá trình bên trong cơ thể. Một khi giữa các con đường nội tại mất sự kiểm soát, các gen gây ung thư không bị kiềm chế tự do được kích hoạt, các yếu tố gây ung thư có điều kiện tác động thì cơ thể dễ dàng bị ung thư.

Cuốn sách "**SINH HỌC PHÂN TỬ UNG THƯ ÁP DỤNG CHO LÂM SÀNG**" đề cập tới các khía cạnh phân tử trong bệnh sinh học ung thư, hay ngắn gọn là cơ chế phân tử các bệnh thư. **Ở phần thứ nhất**: nền tảng khoa học của sinh học phân tử ung

thư, chúng tôi lần lượt đề cập tới các vấn đề chính của ung thư. Chương I: tổng quan về ung thư, các nguyên nhân gây ung thư. Chương II: bản chất của ung thư, các khối u nảy sinh từ các mô bình thường và nhiều dạng khối u nảy sinh từ các tế bào chuyên hóa. Chương III: di truyền học khối u – ung thư được coi như một bệnh di truyền. Chương IV: các hệ thống sửa chữa DNA. Chương V: các gen gây ung thư. Chương VI: các gen kiềm chế khối u. Chương VII: các con đường dẫn đến ung thư- cốt lõi của sinh học phân tử ung thư. Chương VIII: sự chết theo chương trình của tế bào. Chương IX: ung thư epigenetic –đó là quá trình liên quan tới sự methyl hóa DNA tác động lên sự hoạt động của các gen, nhưng không liên quan tới sự thay đổi cấu trúc nhiễm sắc thể và số lượng DNA. Chương X: sự xâm lấn và di căn- một quá trình có tầm quan trọng đặc biệt trong ung thư, liên quan tới sự sống còn của bệnh nhân.

Đây là những vấn đề then chốt nhất trong ung thư học hiện đại, thấu hiểu được những nền tảng này thì mới nắm rõ bản chất của ung thư, từ đó mới định hướng được các phương pháp điều trị thích hợp.

Trong **phần II**: sinh học phân tử các dạng ung thư chuyên biệt từ chương XI đến XXVI, lần lượt đề cập tới các bệnh ung thư: bệnh bạch cầu và u lymphho, u Wilms, ung thư da, ung thư đại tràng, ung thư bàng quang, carcinoma tế bào thận, ung thư gan, ung thư phổi, ung thư dạ dày, ung thư tụy, ung thư vú, ung thư cổ tử cung, ung thư buồng trứng, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư đầu và cổ, u não v.v. Đây là những ung thư phổ biến trên thế giới cũng như ở Việt Nam.

Sinh học phân tử ung thư áp dụng cho lâm sàng là tập hợp các tri thức mới nhất về sinh học phân tử ung thư người, sách được cập nhật các dẫn liệu ngay tại thời điểm xuất bản (năm 2015), vì thế sẽ giúp ích rất nhiều cho những ai muốn tìm hiểu về ung thư, đặc biệt là các cơ chế phân tử dẫn đến ung thư. Nội dung cuốn sách cũng đề cập khá đầy đủ những mối liên quan giữa các yếu tố nội tại và ngoại lai, giữa các yếu tố di truyền và môi trường cùng các nhân tố thúc đẩy và kìm hãm sự phát triển của ung thư. Trên cơ sở đó mà phát triển các mô hình thực nghiệm *in vitro* và *in vivo*, và các thử nghiệm lâm sàng trên người.

"Sinh học phân tử ung thư áp dụng cho lâm sàng", như tên gọi của nó có thể được coi như một cuốn sách tra cứu dùng cho các bác sĩ lâm sàng, những người đang trực tiếp điều trị bệnh nhân ung thư tại các bệnh viện. Tuy nhiên, cuốn sách cũng là tài liệu tham khảo hữu ích cho các nhà nghiên cứu Y Sinh học, sách cũng giúp ích cho tất cả các sinh viên các ngành Y, Dược và tất cả những ai quan tâm đến ung thư- lĩnh vực nóng bỏng nhất trong Y học hiện tại.

Để hoàn thành cuốn sách trong một thời gian ngắn, chúng tôi đã được các nhà khoa học trong và ngoài nước khích lệ, gửi tặng các tài liệu mới nhất, thậm chí các số

liệu chưa kịp xuất bản của các nhà nghiên cứu để chúng tôi có được những dẫn liệu thời sự nhất. Nhân đây, chúng tôi xin trân trọng cám ơn các nhà khoa học đã động viên, giúp đỡ chúng tôi trong quá trình biên soạn cuốn sách này. Chúng tôi xin trân trọng cám ơn Nhà xuất bản Y học đã tạo điều kiện thuận lợi tối đa để cuốn sách sớm ra đời, kịp thời đáp ứng nhu cầu của độc giả.

Tác giả cũng xin cảm tạ gia đình, vợ và các con đã động viên, khích lệ, tạo điều kiện tốt nhất để cuốn sách sớm được hoàn tất. Cuốn sách cũng dành đặc biệt cho Ngọc Anh thân yêu- người đã ra đi mãi mãi do hậu quả chất độc màu da cam.

Với thời gian biên soạn ngắn, nhưng lại đề cập tới những vấn đề lớn thuộc ung thư hiện đại, hơn nữa trình độ còn nhiều hạn chế, chắc chắc sẽ còn nhiều thiếu sót trong nội dung cuốn sách, các tác giả mong nhận được sự giúp đỡ, chỉ bảo tận tình của các nhà khoa học và đông đảo bạn đọc để nội dung cuốn sách càng hoàn thiện hơn.

*Hà Nội ngày 19 tháng 5 năm 2015*

Các tác giả

# MỤC LỤC

## PHẦN THỨ NHẤT
## NỀN TẢNG KHOA HỌC CỦA SINH HỌC PHÂN TỬ UNG THƯ


**CHƯƠNG I: MỞ ĐẦU VỀ UNG THƯ NGƯỜI ..... 17**

1.1. Tổng quan về các vấn đề ung thư ..... 17
1.2. Các nguyên nhân gây ung thư ..... 19
1.3. Những tính chất đặc trưng của ung thư và các tế bào ung thư ..... 32
1.4. Những đặc tính và phân loại ung thư trong lâm sàng ..... 39
1.5. Điều trị ung thư ..... 42

**CHƯƠNG II: BẢN CHẤT CỦA UNG THƯ ..... 45**

2.1. Khối u nảy sinh từ các mô bình thường ..... 45
2.2. Các khối u nảy sinh từ nhiều dạng tế bào chuyên hóa trong cơ thể ..... 49
2.3. Một số dạng khối u không phù hợp với các cách phân loại chính ..... 59
2.4. Các ung thư dường như phát triển một cách lũy tiến ..... 62
2.5. Khối u là sự tăng trưởng đơn dòng ..... 68
2.6. Các tế bào ung thư bộc lộ sự biến đổi trao đổi năng lượng ..... 73
2.7. Các ung thư xảy ra với tần suất rất khác nhau trong các quần thể người khác nhau ..... 75
2.8. Các nguy cơ ung thư dường như thường tăng lên bởi các ảnh hưởng có thể sắp đặt được kể cả lối sống ..... 77
2.9. Các tác nhân hóa học đặc biệt có thể gây ung thư ..... 78
2.10. Các tác nhân gây ung thư (carcinogene) nguồn gốc vật lý hay hóa học đều tác động với tư cách là các chất gây đột biến ..... 80
2.11. Các chất gây đột biến có thể gây ung thư trên người ..... 83

**CHƯƠNG III: DI TRUYỀN HỌC KHỐI U ..... 87**

3.1. Ung thư được coi như một bệnh di truyền ..... 87
3.2. Những biến đổi di truyền trong các tế bào ung thư ..... 88
3.3. Khuynh hướng di truyền đối với ung thư ..... 99
3.4. Các gen ung thư ..... 103
3.5. Sự tích lũy những thay đổi di truyền và epigenetic trong ung thư người ..... 104

**CHƯƠNG IV: SỰ TỔN HẠI VÀ SỬA CHỮA DNA ..... 107**

*4*.1. Sự tổn hại DNA trong quá trình sao chép: sửa chữa cắt bỏ nucleotide và các base ..... 107

4.2. Sửa chữa cắt bỏ nucleotide và sửa chữa liên kết chéo....114
4.3. Sửa chữa sự gãy chuỗi ....121
4.4. Những khiếm khuyết trong sửa chữa DNA và tính mẫn cảm ung thư....127
4.5. Các cơ chế bảo vệ tế bào trong ung thư....128

**CHƯƠNG V: CÁC GEN GÂY UNG THƯ (ONCOGENE)....133**
5.1. Các gen gây ung thư retrovirus....133
5.2. Các retrovirus biến nạp tác động chậm....136
5.3. Những phương pháp xác định gen gây ung thư người....139
5.4. Chức năng của các gen gây ung thư người....144

**CHƯƠNG VI: CÁC GEN KIỀM CHẾ KHỐI U....152**
6.1. Các gen kiềm chế khối u trong các ung thư di truyền....152
6.2. RB1 và chu kỳ tế bào....157
6.3. TP53 là thể loại khác của kiềm chế khối u....161
6.4. Phân loại các gen kiềm chế khối u....169

**CHƯƠNG VII: NHỮNG CON ĐƯỜNG UNG THƯ....173**
7.1. Các con đường ung thư....173
7.2. Tín hiệu mapk được coi là một con đường ung thư....174
7.3. Con đường PI3K....178
7.4. Điều hòa chu kỳ tế bào bằng con đường MAPK và PI3K....183
7.5. Điều biến con đường MAPK và PI3K....186
7.6. Mạng lưới TP53....190
7.7. Tín hiệu do các yếu tố TGFB....192
7.8. Tín hiệu thông qua các yếu tố STAT....193
7.9. Con đường NFKB....195
7.10. Các hệ thống điều hòa phát triển với tư cách là các con đường ung thư ..198

**CHƯƠNG VIII: SỰ CHẾT THEO CHƯƠNG TRÌNH CỦA TẾ BÀO (APOPTOSIS) VÀ LÃO HÓA SAO CHÉP....206**
8.1. Giới hạn sự tăng sinh tế bào....206
8.2. Các cơ chế apoptosis....210
8.3. Các cơ chế làm suy giảm apoptosis trong ung thư....216
8.4. Lão hóa sao chép và sự phiền nhiễu của nó trong các ung thư người ..220

**CHƯƠNG IX: UNG THƯ EPIGENETIC....227**
9.1. Các cơ chế di truyền epigenetic....227
9.2. Sự in dấu và bất hoạt nhiễm sắc thể X....229

9.3. Sự methyl hóa DNA....233
9.4. Cấu trúc chất nhiễm sắc chromatin....239
9.5. Epigenetic của sự biệt hóa tế bào....243
9.6. Epigenetic của cân bằng nội mô....245

**CHƯƠNG X: SỰ XÂM LẤN VÀ DI CĂN....254**
10.1. Sự xâm lấn và di căn được xem như là các quá trình gồm nhiều bước....254
10.2. Các gen và protein liên quan đến sự kết dính tế bào - tế bào và tế bào - chất nền....257
10.3. Các gen và protien liên quan tới việc sửa chữa chất nền ngoại bào trong quá trình xâm lấm của khối u....262
10.4. Sự tạo mạch....266
10.5. Sự tương tác của khối u xâm lấn với hệ miễn dịch....270
10.6. Tầm quan trọng của tương tác khối u - chất nền....274

## PHẦN THỨ HAI
## SINH HỌC PHÂN TỬ CÁC DẠNG UNG THƯ CHUYÊN BIỆT

**CHƯƠNG XI: BỆNH BẠCH CẦU VÀ U LYMPHO....280**
11.1. Đặc tính thông thường của ung thư máu....280
11.2. Những bất thường di truyền trong bệnh bạch cầu và u lympho....282
11.3. Sinh học phân tử của u lympho Burkitt....286
11.4. Sinh học phân tử bệnh bạch cầu dòng tủy mãn (CML)....292
11.5. Sinh học phân tử bệnh bạch cầu dòng tiền tủy....297

**CHƯƠNG XII: U WILMS (CARCINOMA NGUYÊN BÀO THẬN)....305**
12.1. Tổ chức học, bệnh căn và đặc tính u Wilms....305
12.2. Di truyền học của u Wilms và gen WT1....307
12.3. Epigenetic của các u Wilms và locus WT2....311

**CHƯƠNG XIII: UNG THƯ DA....316**
13.1. Sự sinh ung thư (carcinoma) ở da....316
13.2. Carcinoma tế bào vảy (SCC)....319
13.3. Carcinoma tế bào đáy (BCC)....322
13.4. U hắc sắc tố (melanoma)....326
13.5. Các kháng nguyên khối u....329

**CHƯƠNG XIV: UNG THƯ ĐẠI TRÀNG....332**
14.1. Lịch sử tự nhiên của ung thư đại tràng....332

14.2. Đa polyp adenoma do coli có tính chất gia đình và con đường WNT....333
14.3. Quá trình tiến triển của ung thư đại tràng và mô hình nhiều bước của sinh ung thư....340
14.4. Carcinoma đại tràng không polyp có thể di truyền....341
14.5. Bất ổn định hệ gen trong carcinoma đại tràng....344
14.6. Viêm nhiễm và ung thư đại tràng....345

**CHƯƠNG XV: UNG THƯ BÀNG QUANG....349**
15.1. Lịch sử và nguyên nhân của ung thư bàng quang....349
15.2. Biến đổi phân tử trong ung thư bàng quang xâm lấn....356
15.3. Biến đổi phân tử trong ung thư bàng quang thể nhú....362
15.4. Các dưới type ung thư bàng quang....364

**CHƯƠNG XVI: CARCINOMA TẾ BÀO THẬN....367**
16.1. Tính đa dạng của các ung thư thận....367
16.2. Di truyền tế bào của carcinoma tế bào thận....369
16.3. Sinh học phân tử của các ung thư thận di truyền....370
16.4. Hội chứng von-Hippel-Lindau và carcinoma thận....375
16.5. Sinh học phân tử của carcinoma tế bào thận....381
16.6. Trị liệu hóa học và trị liệu miễn dịch carcinoma thận....383

**CHƯƠNG XVII: UNG THƯ GAN....387**
17.1. Nguyên nhân....387
17.2. Biến đổi di truyền trong carcinoma tế bào gan....390
17.3. Virus trong carcinoma tế bào gan (HCC)....395

**CHƯƠNG XVIII: UNG THƯ PHỔI....400**
18.1. Mở đầu....400
18.2. Sinh học phân tử ung thư phổi....401
18.3. Những gen gây ung thư phổi....401
18.4. Gen kiềm chế khối u....409
18.5. Kích thích tăng trưởng bởi các gen gây ung thư....411
18.6. Vô cảm với các tín hiệu kháng tăng sinh: các gen kiềm chế khối u....414
18.7. Sự lẩn tránh apoptosis....417
18.8. Tiềm năng sao chép vô hạn của telomere và telomerase....418
18.9. Sự tạo mạch của khối u....420
18.10. Sự xâm lấn và di căn mô....420
18.11. Bất thường phân tử trong bệnh sinh học ung thư phổi....421
18.12. Bệnh sinh học phân tử carcinoma phổi không tế bào nhỏ....423

18.13. Bệnh sinh học phân tử ung thư phổi tế bào nhỏ ..... 431

**CHƯƠNG XIX: UNG THƯ DẠ DÀY ..... 446**
19.1. Nguyên nhân ..... 446
19.2. Cơ chế phân tử ..... 449
19.3. Helicobacter pylori và ung thư dạ dày ..... 452

**CHƯƠNG XX : UNG THƯ TỤY ..... 459**
20.1. Các tín hiệu tăng trưởng ..... 459
20.2. Sự mất nhạy cảm với các tín hiệu tăng trưởng ..... 463
20.3. Sự tránh né apoptosis ..... 463
20.4. Tiềm năng sao chép không giới hạn ..... 465
20.5. Sự xâm lấn và di căn ..... 465
20.6. Sự tạo mạch ..... 467

**CHƯƠNG XXI: UNG THƯ VÚ ..... 468**
21.1. Những đặc trưng sinh học của vú ..... 468
21.2. Nguyên nhân ..... 474
21.3. Ung thư vú có tính chất di truyền ..... 476
21.4. Receptor estrogen và protein ERBB trong ung thư vú ..... 483
21.5. Phân loại các ung thư vú ..... 489

**CHƯƠNG XXII: UNG THU CỔ TỬ CUNG ..... 494**
22.1. HPV và các bệnh ung thư liên quan ..... 494
22.2. Sự thâm nhiễm sinh sản bình thường ..... 496
22.3. Thâm nhiễm không thành công như là tiền thân tới ung thư ..... 505
22.4. Những sự kiện phân tử trong quá trình tiến triển ung thư ..... 508
22.5. Sự thoái lui, tình trạng ngủ và thâm nhiễm không triệu chứng ..... 510

**CHƯƠNG XXIII: UNG THƯ BUỒNG TRỨNG ..... 513**
23.1. Những con đường tín hiệu của UTBT ..... 513
23.2. Nghiên cứu về proteomic ..... 517
23.3. Cơ chế đặc hiệu nền tảng cho sự di căn của ung thư buồng trứng ..... 528
23.4. Biomarker liên quan đến chẩn đoán lâm sàng ung thư buồng trứng ..... 532

**CHƯƠNG XXIV : UNG THƯ TUYẾN TIỀN LIỆT ..... 535**
24.1. Dịch tễ học ung thư tuyến tiền liệt ..... 535
24.2. Androgen và ung thư tuyến tiền liệt ..... 540
24.3. Di truyền học và epigenetic của ung thư tuyến tiền liệt ..... 545
24.4. Tương tác giữa chất nền và khối u trong ung thư tuyến tiền liệt ..... 550

**CHƯƠNG XXV: UNG THƯ ĐẦU VÀ CỔ ..... 556**
25.1. Cơ sơ phân tử các yếu tố nguy cơ phát triển ung thư đầu và cổ. ..... 556
25.2. Những mối liên quan với virus và bệnh carcinoma tế bào vảy đầu và cổ. 558
25.3. Sự sinh ung thư (tumorigenesis/carcinogenesis) ..... 560
25.4. Vùng ung thư hóa ..... 561
25.5. Quá trình chuyển đổi từ biểu mô thành trung mô ..... 562
25.6. Biến đổi epigenetic ..... 562
25.7. Con đường phân tử liên quan đến carcinoma tế bào vảy đầu và cổ ..... 563
25.8. Các marker chẩn đoán và tiên lượng ..... 574

**CHƯƠNG XXVI: U NÃO ..... 576**
26.1. Các số liệu sinh học ..... 577
26.2. Các marker phân tử tiên đoán nâng cao độ chính xác của chẩn đoán ..... 579
26.3. Điều trị đích ..... 579

**TÀI LIỆU THAM KHẢO ..... 584**

*PHẦN THỨ NHẤT*

# NỀN TẢNG KHOA HỌC CỦA SINH HỌC PHÂN TỬ UNG THƯ

# CHƯƠNG I: MỞ ĐẦU VỀ UNG THƯ NGƯỜI

## 1.1. TỔNG QUAN VỀ CÁC VẤN ĐỀ UNG THƯ

Cái thường được gọi là "ung thư người" (human cancer) trong thực tế bao gồm trên 200 bệnh, chiếm khoảng 1/5 tổng số người chết ở các quốc gia công nghiệp của Thế giới Phương Tây. Hơn nữa, 1/3 các ung thư nghiêm trọng đã được điều trị trong suốt thời gian sống của họ. Ở một quốc gia công nghiệp Phương Tây điển hình như Đức với 82 triệu dân, mỗi năm có > 400.000 người ung thư được chẩn đoán mới, và khoảng 200.000 người tử vong do căn bệnh này vì phạm vi ảnh hưởng của hầu hết các ung thư đều tăng dần theo tuổi tác. Những số liệu này vẫn đang tăng lên, khi tuổi thọ tiếp tục tăng.

Nếu ta xem xét các sự cố và tỷ lệ tỷ vong chỉ theo vị trí cơ quan mà bỏ qua những khác biệt về lâm sàng và sinh học thì ung thư được chia thành 3 nhóm lớn. Các ung thư phát sinh từ *biểu mô* (epithelia) được gọi là *"carcinoma"*. Đây là những ung thư phổ biến nhất. Có 4 carcinoma đặc biệt quan trọng. Các ung thư phổi và trực - kết tràng là những vấn đề quan trọng nhất đối với cả 2 giới tính, cùng với ung thư vú ở phụ nữ và ung thư tuyến tiền liệt ở nam giới. Nhóm ung thư thứ 2 không khá phổ biến như 4 loại ung thư này là carcinoma bàng quang, dạ dày, thận, tụy, thực quản, cổ tử cung và buồng trứng ở phụ nữ. Mỗi ung thư đều chiếm một số phần trăm tổng số các sự cố và tỷ lệ tử vong. Các bệnh bạch cầu và u lympho thường đi cùng nhau. Các ung thư phổ biến nhất là ung thư da - loại ung thư hiếm khi gây chết người, ngoại trừ u hắc tố *(melanoma).* Các ung thư thuộc các mô mềm, não, tinh hoàn, xương và các cơ quan khác tương đối hiếm, nhưng có thể là một vấn đề đáng kể về mặt sức khỏe đối với các nhóm tuổi và các vùng địa lý đặc biệt. Ví dụ như ung thư tinh hoàn nói chung là ảnh hưởng thường xuyên đến thanh niên và nam giới với tỷ lệ > 10% tại một số quốc gia thuộc Scandinavian và Thụy sĩ.

Tình trạng Y tế ở các nước công nghiệp hóa thấp hơn, khác biệt với các nước công nghiệp hóa cao của thế giới là do liên tục tái diễn hay xuất hiện mới các mối đe dọa về các bệnh truyền nhiễm như sốt rét, lao và AIDS. Tuy vậy ung thư cũng rất quan trọng ở các quốc gia này với tỷ lệ khác nhau và thường có tỷ lệ tử vong cao. Ung thư dạ dày, gan, bàng quang, thực quản và cổ tử cung đều là đặc hiệu ở từng khu vực xác định của thế giới. Thường thì những ung thư này hay được biểu hiện ở các lứa tuổi trẻ hơn so với các nước công nghiệp hóa cao. Ngược lại, với 4 ung thư chủ yếu ở các nước công nghiệp hóa thì chỉ có ung thư phổi là bị tác động tương tự như các nước đang phát triển.

Nhìn chung, tỷ lệ ung thư biến đổi theo thời gian. Chẳng hạn như, công nghiệp hóa cao và sự lan tràn của khói thuốc lá nói chung là có liên quan tới việc gia tăng ung thư phổi, thận và bàng quang. Về mặt tích cực, những cải thiện về vệ sinh và chất lượng thực phẩm đã góp phần làm giảm một cách ngoạn mục ung thư dạ dày ở các nước phát triển. Về mặt tiêu cực, ung thư tuyến tiền liệt và tinh hoàn lại xuất hiện gia tăng trong các thập kỷ qua. Trong ung thư tuyến tiền liệt, có sự tăng nhẹ tỷ lệ theo tuổi và càng trầm trọng hơn là do sự lão hóa dân số nói chung. Ở một số vùng, sự cố u hắc tố đã leo thang đến mức báo động. Sự gia tăng này không liên quan tới tuổi tác của dân số, nhưng có thể liên quan tới các yếu tố lối sống.

Mục đích quan trọng của việc nghiên cứu sinh học phân tử về ung thư người là để tìm hiểu những nguyên nhân về sự khác biệt địa lý và thời điểm trong các sự cố ung thư. Sự hiểu biết này là điều kiện tiên quyết quan trọng để phòng chống ung thư. Rõ ràng là, viễn cảnh phòng chống cao nhất là đối với các ung thư có sự khác biệt lớn về địa lý hoặc những biến đổi lớn theo thời gian. Ví dụ: ung thư tuyến tiền liệt của những người định cư ở Đông Á có thể thấp hơn 10-20 lần so với những người họ hàng của họ sinh trưởng ở Hoa Kỳ. Thật là dễ hình dung tiềm năng đối với việc phòng tránh nếu các nguyên nhân về sự khác biệt này đã được hiểu rõ.

Đáng tiếc là về tổng thể không loại ung thư hay tỷ lệ tử vong liên quan ung thư trên người đã suy giảm nhờ các can thiệp có ý thức trong các thập kỷ qua. Trụ cột của việc điều trị "*Bốn ông lớn*" ung thư và các carcinoma ở nhóm thứ 2 đã nêu trên vẫn là phẫu thuật, xạ trị và hóa trị giống như 30 năm trước đây. Phẫu thuật và hóa trị thường thành công một cách hạn chế với một số trường hợp, còn hóa trị thì chỉ hiệu ứng vừa phải đối với các ung thư tiến triển (advanced cancers). Nói chung, chỉ mới có những cải thiện khiêm tốn đạt được về tỷ lệ sống sót của những ung thư này. Điều quan trọng là, chất lượng cuộc sống của các bệnh nhân hiện đang được đặt ra như là một tiêu chí cho sự thành công của trị liệu. Trị liệu ung thư hiện đại thừa nhận rằng không phải khối u ác tính nào cũng có thể chữa trị được bằng các phương tiện hiện có. Do vậy, qui trình điều trị cần phải lựa chọn thật cẩn thận để tối đa hóa cơ hội chữa khỏi bệnh trong khi vẫn duy trì tối đa chất lượng cuộc sống. Khi được cung cấp một cơ sở tốt hơn cho sự lựa chọn có lẽ sẽ thiết lập được những phương thức áp dụng tức thì những hiểu biết mới về sinh học phân tử ung thư. Ngoài ra, phương pháp điều trị giảm nhẹ đã trở nên tinh vi hơn và thuốc giảm đau cũng được dùng ít hơn hạn định. Tuy nhiên, việc điều trị các carcinoma di căn vẫn là điểm yếu nhất đối với trị liệu ung thư hiện đại và là mục tiêu chủ chốt của việc nghiên cứu ung thư.

Những bước tiến lớn hướng tới điều trị thành công đã được thực hiện với các ung thư chuyên biệt, đáng tiếc là các ung thư này hầu hết lại thuộc về nhóm thứ 3. Những cải biến này tuy chỉ có chút ít ảnh hưởng tác động lên các bệnh ung thư trên toàn bộ dân

số, nhưng nó đã giúp ích cho nhiều cá nhân thường là những người trẻ tuổi và trẻ em. Những bệnh bạch cầu và u lympho vô phương cứu chữa trước đây bây giờ đã điều trị thành công bằng hóa trị và/hoặc ghép tế bào gốc, đặc biệt là đối với trẻ em và thanh niên. Hơn nữa, sự gia tăng tỷ lệ mắc ung thư tinh hoàn đã được ngăn chặn bởi hóa trị và xạ trị, tỷ lệ cứu sống đạt trên 90%. Rõ ràng là, cần phải hiểu tại sao chỉ những ung thư này mà không phải là các ung thư khác lại đáp ứng tốt như vậy với các thuốc trị liệu hóa học hiện đại. Hy vọng rằng, một sự hiểu biết tốt hơn về cơ sở tế bào và phân tử cuối cùng sẽ mở ra cánh cửa cho việc điều trị thành công các carcinoma chính cũng như phát triển những thuốc mới và những cách trị liệu mới dựa trên cơ sở của các thành quả nghiên cứu về sinh học phân tử.

## 1.2. CÁC NGUYÊN NHÂN GÂY UNG THƯ

Vì cấu trúc di truyền của con người hầu như không hề thay đổi qua hàng thế kỷ và chỉ có những khác biệt vừa phải giữa các quần thể ở những phần khác nhau của thế giới, nên những ung thư cá lẻ là thay đổi theo thời gian và những biến đổi về mặt địa lý đã lớn đến mức phản ánh được sự tác động của môi trường. Các ung thư được gây ra bởi các tác nhân gây ung thư thuộc *sinh học, vật lý* và *hóa học* có nguồn gốc ngoại sinh. Chúng tác động lên người ở mức độ khác nhau do có sự khác biệt trong cấu trúc di truyền và tất nhiên cũng đừng lãng quên về các điều kiện kinh tế, xã hội và tâm lý của họ. Những quá trình nội sinh trong cơ thể con người cũng góp phần làm phát triển ung thư – tự mình hoặc bằng cách tương tác với các tác nhân ngoại sinh.

Các cơ chế phát sinh ung thư trên người thường rất phức tạp và là đa yếu tố. Các yếu tố khác nhau có thể hoạt động theo những cơ chế khác nhau và tùy thuộc vào các giai đoạn khác nhau của sự phát triển khối u. Trong các thí nghiệm trên động vật, các chất gây ung thư có thể được áp dụng một cách có kiểm soát và với các bước riêng biệt cùng các tương tác vì thế mà có thể được phân tích một cách chính xác hơn. Ví dụ trong một số trường hợp có thể phân biệt xem đó là các tác nhân khởi đầu hay thúc đẩy, cũng như là các chất gây ung thư toàn diện hay là nằm giữa ranh giới chất gây ung thư và chất cộng tác gây ung thư (carcinogens and co-carcinogens). Trong những mô hình ở phòng thí nghiệm này thì các tác nhân gây khởi đầu ung thư thường là các gen đột biến (mutagene), trong khi đó các tác nhân thúc đẩy lại hoạt động theo cách tạo thuận lợi cho việc phát triển các TB có DNA đột biến.

Những sự tách biệt này khá khó khăn khi áp dụng trong ung thư người. Chẳng hạn như, khói thuốc lá là một chất gây ung thư cho người không còn nghi ngờ gì nữa. Nhưng trong thực tế có rất nhiều thể loại gây ung thư khác nhau, một số có thể tác động như là tác nhân khởi đầu và một số như là các promoter và một số lại đóng vai trò cả hai. Bản thân nicotine gần như chắc chắn không phải là chất gây ung thư trực tiếp,

nhưng đó là một alkaloid tiềm năng tác động không những lên hệ thần kinh trung ương mà còn ảnh hưởng đến tín hiệu TB và sự tương tác tế bào trong đường hô hấp và phổi. Như vậy, nó sẽ phải được phân loại như một đồng chất sinh ung thư (co-carcinogen). Những sự tương tác phức tạp tương tự như vậy cũng xảy ra trong quá trình sinh ung thư da do bức xạ cực tím. Hơn nữa, những tác động này của các chất sinh ung thư và đồng sinh ung thư lại được điều biến bởi những sự khác biệt di truyền ở những quần thể người cận huyết xa, không giống như nhiều động vật thí nghiệm.

Như một hệ quả, thường là rất khó giải thích một cách chính xác cơ chế tác động của một chất gây ung thư tiềm năng, mặc dầu nó đã được xác định một cách rõ ràng là có liên quan tới một ung thư chuyên biệt qua các số liệu dịch tễ học. Nỗ lực phòng tránh vì thế thường phải bắt đầu từ trước khi mối quan hệ giữa một chất gây ung thư và sự phát triển ung thư đã được am hiểu đầy đủ. Tuy nhiên, độ chính xác của các cơ chế và sự trợ lực đắc lực với cái nhìn sâu sắc từ sinh học phân tử sẽ góp phần nâng cao việc phòng tránh ung thư.

Nhiều chất gây ung thư được thiết lập rất quan trọng trong ung thư người theo cách này hay cách khác. Các chất gây ung thư có nguồn gốc ngoại sinh có thể được phân loại là các tác nhân hóa học, vật lý và sinh học. Trên bảng 1.1 liệt kê một cách tổng quát những lớp này cùng với các ví dụ tiêu biểu cho mỗi lớp. Đối với một số chất gây ung thư đã có bằng chứng rất chắc chắn, trong khi đó đối với một số chất khác thì "khái niệm" chất gây ung thư lại được áp dụng theo một nghĩa rộng hơn. Một kiểu phân loại khác được WHO ban hành thì các nhóm chất gây ung thư trên người được phân loại theo mức độ các bằng chứng hiện hữu. Tiêu chí quan trọng nhất của cách phân loại này đã được liệt kê ở Bảng 1.2.

**Bảng 1.1.** *Các dạng và các ví dụ về các chất gây ung thư trên người*

| **Các dạng chất gây ung thư** | **Ví dụ** |
|---|---|
| Các chất gây ung thư nguồn gốc hóa học | Nickel, cadmium, arsenic, nitrosamine, trichloroethylene, Arylamine, benzopyrene, aflatoxin, các loại oxy phản ứng |
| Các tác nhân gây ung thư nguồn gốc vật lý | Bức xạ cực tím (đặc biệt là UVB), bức xạ ion hóa |
| Các tác nhân gây ung thư nguồn gốc sinh học | Virus gây u nhú trên người (typ 16), Epstein-Bar virus, Hepatitis virus (virus viêm gan) B, *Helicobacter pylori, Schistosoma mansoni* |
| Các quá trình ngoại sinh | Sao chép DNA, các phản ứng chuyển hóa tạo ra các dạng oxy phản ứng. |

**Bảng 1.2.** *Phân loại các các tác nhân gây ung thư trên người theo WHO/IARC*

| Nhóm | Định nghĩa |
|---|---|
| *Nhóm 1* | Tác nhân là các chất gây ung thư trên người. Cần vạch rõ đó là các chất gây ung thư cho người |
| *Nhóm 2A* | Tác nhân có thể gây ung thư trên người. Cần vạch rõ là có thể gây ung thư cho người |
| *Nhóm 2B* | Tác nhân có khả năng gây ung thư trên người. Cần vạch rõ có khả năng gây ung thư cho người. |
| *Nhóm 3* | Tác nhân không được xếp loại là sinh ung thư cho người |
| *Nhóm 4* | Tác nhân có thể không gây ung thư cho người |

❑ ***Các chất hóa học gây ung thư***

Có nhiều nguồn gốc khác nhau và bao gồm rất nhiều chất khác nhau. Các hợp chất vô cơ như nickel, cadimium hoặc arsenic gặp phải nơi làm việc hoặc được hiện diện với tư cách là các chất gây ô nhiễm trong nước. Các hợp chất hữu cơ tác động như các chất gây ung thư có thể là các chất béo như nitrosamine có trong thực phẩm hun khói hoặc trichloro-ethylene được dùng trong việc làm sạch. Nitrosamine được cho là góp phần tạo nên ung thư dạ dày, đặc biệt là các hợp chất thơm như benzopyrene và arylamine được tạo ra từ các nguồn tự nhiên bị đốt cháy, và một trong nhiều chất gây ung thư là khói thuốc lá. Chúng cũng tạo nên sự nguy hiểm ở nơi làm việc, ví dụ như trong chế biến than và sản xuất thuốc nhuộm. Đặc biệt là, arylamine được cho là nguyên nhân gây nên ung thư bàng quang. Các polyaromate như benzopyrene cũng được giải phóng vào môi trường do đốt cháy than và các nhiên liệu. Các hợp chất thiên nhiên được tạo ra từ cây cỏ và nấm mốc có thể là các chất gây ung thư cao. *Aflatoxin B1* là một chất gây ung thư gan và là chất đáng ghét nhất trong số nhiều hợp chất hóa học thuộc nhóm này. Các thuốc sử dụng trong y học cũng có thể là các chất gây ung thư, đáng chú ý là các thuốc được dùng trong điều trị tăng sinh khối u như cyclophosphamide, các mù tạt nitrogen (nitrogen mustard) và các hợp chất của platinum. Các hormone và giống hormone có nguồn gốc tự nhiên và dược phẩm cũng ảnh hưởng tới sự phát triển ung thư ở các mô chuyên biệt, ví dụ như trong ung thư vú và ung thư tuyến tiền liệt. Chẳng còn nghi ngờ gì nữa, chất gây ung thư ngoại sinh nhiều nhất là oxy phản ứng. Dioxy có trong không khí là tương đối trơ và an toàn khi khử hoàn toàn thành $H_2O$. Tuy nhiên, oxy hay dioxy khi bị khử một phần thì nó hoạt hóa tới trạng thái đơn phản ứng cao và có thể gây đột biến gen. Những chất oxy phản ứng vẫn được tạo ra nhưng ở mức thấp trong quá trình chuyển hóa bình thường và nó được tạo ra với tỷ lệ cao trong những quá trình sinh lý xác định như trong phòng thủ miễn dịch và

viêm nhiễm. Nồng độ của chúng cũng có thể tăng lên khi chuyển hóa một số hợp chất ngoại sinh như các quinone hoặc trạng thái bệnh lý quá tải sắt.

❑ ***Các tác nhân gây ung thư nguồn gốc vật lý***

Bất kỳ một bức xạ giầu năng lượng nào về nguyên tắc cũng tác động như là các tác nhân gây ung thư, tùy thuộc vào liều lượng và độ hấp thu. Các ánh sáng nhìn thấy thường không gây ung thư trừ phi nó được hấp thu bởi các tác nhân nhạy cảm với ánh sáng để tạo ra các mẫu (species) oxy phản ứng. Chiếu xạ UVB là một tác nhân quan trọng gây ung thư da, và hiệu ứng của nó được nâng lên bởi UVA. Ngược lại, UVC được hấp thu mạnh ở các lớp bảo vệ không xốp của da và thường tác động như là một tác nhân gây ung thư. Bức xạ γ từ các nguồn tự nhiên, công nghiệp và do điều trị (X quang) có thể xâm nhập và xuyên qua cơ thể. Đây là sự sinh ung thư theo mức độ bức xạ mà nó hấp thụ hay do sự hủy hoại DNA hoặc do các TB hấp thụ trực tiếp cũng như gián tiếp các mẫu oxy phản ứng. Tính hủy hoại và sinh ung thư bởi bức xạ γ vì thế mà phụ thuộc vào nồng độ oxy cũng như khả năng sửa chữa DNA. Bức xạ β phóng xạ (radioactive β-radiation) và đặc biệt là bức xạ γ là nguy hiểm nhất khi các hạt nhân được kết hợp lại với nhau, ví dụ như sự kết hợp của cesium, uranium và plutonium. Hiệu ứng của các đồng vị phóng xạ cũng phụ thuộc vào sự phân bố của chúng trong cơ thể, chẳng hạn như iode phóng xạ bị tích tụ lại ở tuyến giáp vì thế gây nên ung thư tuyến giáp, trong khi đó các đồng vị phóng xạ cesium có xu hướng được làm giàu ở bàng quang. Tính sinh ung thư tiềm năng của vi sóng và các bức xạ điện từ radio sóng dài tất nhiên là chủ đề của các tranh cãi công cộng.

❑ ***Các tác nhân sinh ung thư nguồn gốc sinh học***

Một số virus và vi khuẩn xác định tác động như các tác nhân sinh ung thư sinh học trên người. Một chủng virus đặc biệt gây u nhú trên người (HPV 16 và HPV 18) được thiết lập như các yếu tố nguyên nhân (causatic factor) trong ung thư cổ tử cung và các ung thư khác thuộc cơ quan sinh dục. Chúng cũng ảnh hưởng tới sự phát triển ung thư da và ung thư đầu cổ và có thể ở những bộ phận khác của cơ thể. SV40 (simian virus) giống papovavirus gây các ung thư trên động vật và biến nạp một phần các TB người *in vitro*, nhưng liệu chúng có thực sự gây ung thư trên người hay không thì vẫn còn tranh cãi. Bằng chứng rõ nhất tồn tại ở u trung biểu mô – một ung thư hiếm gặp có thể do tác động tổ hợp của SV40 và amian (asbestors). Các virus herpes đặc hiệu cũng có thể tác động như các tác nhân sinh ung thư, ví dụ như các virus herpes 8 của người (human herpes virus 8 – HHV8) trong ung thư Kaposi, hoặc virus Epstein – Bar (EVB) trong u lympho. Các virus gây viêm gan B (HBV) (hệ gen DNA) và virus gây viêm gan C (HCV) (hệ gen RNA) chắc chắn là có liên quan đến việc gây ung thư gan . Các retrovirus của người như HIV tạo thuận lợi cho việc phát triển ung thư hầu hết bởi sự

tương tác với hệ miễn dịch, trừ HTLV1 (virus gây bệnh bạch cầu tế bào T của người) gây bệnh bạch cầu hiếm gặp do kích thích tăng trưởng trực tiếp các tế bào T.

Trong khi nhiều nhà khoa học đầu tư nghiên cứu về vai trò sinh ung thư của vi khuẩn thì đã có bằng chứng xác thực về mối liên hệ giữa nhiễm *Helicobacter pylori* và ung thư dạ dày. Nói chung, nhiễm vi khuẩn có thể góp phần gây viêm nhiễm sau đó có thể thúc đẩy phát triển ung thư. *Schistosoma trematode* cũng gây ung thư cho người, đặc biệt với bàng quang.

❑ ***Các tác nhân gây ung thư nội sinh***

Các tác nhân gây ung thư ngoại sinh hiệu quả như thế nào trong việc phát sinh ung thư ở một người cụ thể phụ thuộc rất nhiều vào sự tiếp xúc cá thể, vào các đáp ứng đặc hiệu và tình trạng sức khỏe nói chung. Vậy thì, các quá trình nội sinh trong bất kỳ trường hợp nào cũng liên quan tới sự phát triển ung thư thông qua sự điều tiết đáp ứng với các tác nhân sinh ung thư ngoại sinh. Tuy nhiên, ung thư cũng có thể do các quá trình nội sinh.

– Sự chuyển hóa bình thường cũng tạo ra các hợp chất sinh ung thư như nitrosamine, các amine thơm, quinone, các aldehyde phản ứng và các mẫu oxy phản ứng như đã đề cập ở trên. Nồng độ của các chất gây ung thư tiềm năng này có thể phụ thuộc một cách khác nhau vào các yếu tố như chế độ ăn uống hoặc hoạt động sinh lý, dù ở mức thấp nhất nó vẫn liên quan tới bất cứ mức độ hoạt động chuyển hóa nào cũng như bất cứ chế độ ăn nào. Các cơ chế giải độc và bảo vệ vẫn tồn tại ở nhiều hợp chất này, nhưng chưa thật sự hoàn hảo.

– Trong cùng một khuynh hướng, sự hủy hoại đối với các TB và đặc biệt là DNA xảy ra với tỷ lệ thấp nhất một cách tự phát, đặc biệt là khi tăng sinh TB là do các sai sót trong sao chép, hoặc các phản ứng hóa học tự phát của các base DNA. Số lượng rất lớn các sai sót như thế được khu trú lại là nhờ các cơ chế sửa chữa DNA rất hiệu quả hướng vào các sai sót điển hình. Hơn nữa, các tế bào đã bị hủy hoại sẽ được loại bỏ bởi apoptosis và các cơ chế khác. Những cơ chế bảo vệ này tuy nhiên vẫn chưa hoàn hảo.

– Do đó, có một số bằng chứng về các DNA và các tế bào bị hủy hoại được tích tụ lại theo tuổi tác và các cơ chế bảo vệ có thể trở nên kém hiệu quả. Những yếu tố này có thể góp phần làm tăng các tỷ lệ mắc bệnh ung thư theo tuổi tác, mặc dù chưa rõ ràng.

– Khi mỗi quá trình trên xảy ra ở bất kỳ thời kỳ nào của con người thì nguy cơ sinh ung thư chắc chắn cao hơn ở những phase đặc biệt, ví dụ như mô tăng sinh sau khi bị tổn hại. Thời kỳ mà trong đời sống con người có hoạt tính tăng sinh đặc biệt cao tất nhiên là thời kỳ phát triển thai nhi. Những sai sót di truyền, thậm chí cả sai sót epigenetic xảy ra trong thời kỳ này có thể dẫn đến ung thư ở trẻ em, cũng như phát triển các ung thư sau này.

– Một số điều kiện bệnh lý cũng có thể làm tăng nguy cơ phát triển ung thư. Đặc biệt trong các viêm nhiễm mạn tính có liên quan đến việc các gia tăng nguy cơ ung thư ở nhiều cơ quan, ví dụ như kết tràng hoặc dạ dày. Một số yếu tố có liên quan bao gồm sự gia tăng sản xuất các mẫu oxy phản ứng gây đột biến bởi các TB viêm nhiễm cũng như việc tiết ra các protease, cytokine và các yếu tố tăng trưởng bởi các dạng TB khác nhau trong mô này dẫn đến tăng trưởng và bành trướng của các khối u. Như vậy, sự tái sinh mô nói chung có liên quan tới việc làm gia tăng các nguy cơ ung thư. Trong thực tế có một số chất sinh ung thư tác động một cách đơn giản bằng cách kích thích tăng trưởng và xây dựng lại mô nhưng không phải là gây đột biến thật sự.

Tóm lại, cả yếu tố ngoại sinh lẫn nội sinh đều có vai trò quan trọng đối với ung thư người. Trong nhiều loại ung thư, chúng tương tác rất phức tạp và rất khó phân biệt những sự đóng góp của chúng. Trong một số trường hợp, sự tham gia của các tác nhân sinh ung thư đặc biệt có thể được xác định bởi các đột biến đặc trưng. Trong những trường hợp khác, sự vắng mặt của các "dấu vân tay" như thế thì các chứng cứ dịch tễ học lại chỉ rõ ưu thế của các quá trình nội sinh. Trên nền tảng này xác định được 5% các ung thư trên người là do các tác nhân gây ung thư có tính chất nghề nghiệp hoặc 15% được gây nên bởi các virus. Tuy nhiên, đây mới chỉ là các đánh giá sơ bộ để xem bao nhiêu phần trăm ung thư đã được phòng tránh.

## 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 mẫu hình (pattern) 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 ở 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 cho 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 enzyme 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 là 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

enzyme 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 đến 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 là 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 enzyme 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 săc 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 enzyme 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 enzyme 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 đột biến thúc đẩy ung thư ở một gen kiềm chế ung thư có thể được di truyền như một alelle 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 bẻ gãy nhiễm sắc thể làm gián đoạn các

gen, hoặc do biến đổi một nucleotide 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 dị 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 điểm 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 kiềm chế khối u đã biết như gen *Rb1*, các đứt đoạn (xóa bỏ) 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 kiềm 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 enzyme liên quan tới việc sửa chữa không thích ứng DNA (Lynch và de la chapel, 1999 và Yan, 2000).

Khuynh 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 alelle có đặc tính).

❑ ***Đột biến số lượng bản sao***

Các tế bào ung thư thường có những biến đổi 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 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 xóa bỏ. Theo đó, 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, tuy nhiên 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 kiềm 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 tạo nên sự hòa trộn gen *c-abc* với gen *bcr*. Hỗn hợp gen *bcr/abl* mã hóa cho protein chimeric có hoạt tính tyrosine kinase mới (Hermans và cộng sự, 1987).

Enzyme tyrosine 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 tyrosine 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. 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 tyrosine 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 tái cơ cấu các đoạn lớn của NST, nhưng vẫn chưa thể phát hiện được các *khuếch đại nhỏ (microamplication)* và các đứt đoạn có thể tác động vào các gen đơn liên quan tới bệnh tật (các oncogene và các gen kiềm 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 chíp 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 chíp 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 kiềm 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 thông thường. 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 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 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 leukema - 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 được các kiểu phụ (subtype) chưa biết trong u lympho tế bào B khuếch tán lớn (diffuse large B - cell lymphoma) có tương quan với 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 hiếu chiến (làm cho sự 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 hiếu 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 hormone và yếu tố tăng trưởng khác nhau. Chẳng hạn như tế bào buồng trứng và tế bào vú tăng trưởng để đáp ứng với hormone estrogen và progesterone. Khoảng 75% ung thư vú phát hiện thấy có tăng mức estrogen hoặc receptor protein progesterone (ER+). Những receptor này gắn với các hormone 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 hormone 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 hormone thì tế bào được phép tăng trưởng để đáp ứng với các con đường hormone, nơi mà không kích thích tăng trưởng đối với các tế bào bình thường. Sự biểu hiện quá mức receptor hormone 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 hormone tăng cao có thể được xử trí bằng các thuốc ngăn chặn hormone như tamoxifen. Thuốc này sẽ gắn vào các receptor hormone, làm cho các hormone không bị kích thích tăng trưởng và thường dẫn đến sự chết của các tế bào khối u. Các trị liệu kháng hormone 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/progesterone và bật đèn xanh cho tăng trưởng khi không có sự hiện diện của estrogen hoặc progesterone, hoặc khi các receptor estrogen/progesterone 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 sấu (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 kiềm 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 bộ ba âm tính (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™ và MammaPrint ) giúp cho thầy thuốc xác định được các dạng trị liệu thích ứng cho từng bệnh nhân.

Trong ung thư tế bào gan (hepatocellular carcinma - 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, trong khi sự phát triển của ung thư chỉ cần biến đổi biểu hiện của trăm gen mà thôi. Có những biến đổi trong điều hòa một số quá trình có thể phân biệt được ung thư như sự tăng trưởng, chu kỳ tế bào, sao chép 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 epigenetic 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.

## 1.3. NHỮNG TÍNH CHẤT ĐẶC TRƯNG CỦA UNG THƯ VÀ CÁC TẾ BÀO UNG THƯ

Mặc dầu với sự đa dạng của chúng, các ung thư trên người đều có chung một số đặc tính cơ bản. Các dạng ung thư khác nhau hiển thị ở các mức độ khác nhau. Tuy nhiên, những đặc tính này có thể phải đòi hỏi từng bước một mới trở nên rõ ràng ở các giai đoạn khác nhau trong tiến trình phát triển ung thư. Hầu hết các đặc tính mang tính chất cá thể này cũng phát hiện thấy ở các bệnh khác và có một số thậm chí được phơi bày trong qua trình đáp ứng thích nghi sinh lý học. Tuy nhiên, tổ hợp của việc mất kiểm soát tăng sinh TB, biệt hóa và biến đổi chuyển hóa, sự không ổn định của hệ gen và sau chót là sự xâm lấn của di căn là những độc quyền trong việc xác định ung thư.

❑ ***Sự tăng sinh và tự điều khiển tế bào***

Đặc tính rõ ràng nhất của các khối u là tăng trưởng vượt quá kích cỡ bình thường. Trên thực tế, thuật ngữ "khối u" được sử dụng với nghĩa rộng, biểu thị tất cả các cấu trúc lớn lên bất thường trong cơ thể con người bao hàm cả sưng tấy hoặc các u nang chứa đầy dịch lỏng. Chính xác hơn là ung thư thuộc về những khối u chủ yếu gây bởi tăng sinh TB, như sự tăng sinh vĩnh viễn và liên tục số lượng TB. Gia tăng sự tăng sinh TB như vậy cũng quan sát thấy khi tái sinh mô, tăng trưởng thích nghi mô và trong một số bệnh không phải là ung thư, chẳng hạn như xơ vữa động mạch cũng có một số vấn đề được đánh giá như là một bệnh khối u. Nhìn chung, việc tăng số lượng TB trong một mô là biểu thị của *"sự tăng sản"*. Sự tăng sản mở rộng hay tăng sản đi kèm các thay đổi như biệt hóa có sửa đổi thì được coi như là u lành tính. *Loạn sản* thường là sự báo trước cho các khối u ác tính và trong những trường hợp như thế được coi là *sự biến đổi "tiền ung thư"* (preneoplastic change). Những thay đổi đáng kể trong cấu trúc của các mô này

và đặc biệt là sự hiện diện của sự xâm lấn TB u thì được xác định là u ác tính hay là ung thư (Bảng 1.4). Ranh giới giữa tăng sản, u lành tính và ung thư thường rất rõ ràng qua kiểm tra vi mô thậm chí là vĩ mô, nhưng trong một số trường hợp tiêu chí bổ sung hoặc các dấu ấn cũng phải được sử dụng. *Cường tăng sinh* trong ung thư là do có sự biến đổi đáp ứng đối với các tín hiệu điều hòa tăng trưởng ngoại sinh. Một mặt, ung thư thường là cường cảm ứng đối với các tín hiệu điều hòa tăng trưởng và một số ung thư trở nên phụ thuộc nhiều vào chúng. Mặt khác, sự nhạy cảm đối với các tín hiệu ức chế tăng trưởng thường bị giảm sút hoặc bị triệt tiêu. Tổ hợp lại với nhau thì những biến đổi đáp ứng này dẫn đến hậu quả là *tự tăng trưởng* – đó là đặc trưng của ung thư. Tuy nhiên, nó tăng một cách đặc biệt trong tiến trình phát triển ung thư.

**Bảng 1.3** *Những tính chất đặc trưng của ung thư người*

| **Đặc tính** |
|---|
| Gia tăng sự tăng sinh tế bào (thường là tự trị - autonomous) |
| Apoptosis không đầy đủ |
| Biến đổi tế bào và biệt hóa mô |
| Biến đổi chuyển hóa |
| Bất ổn định hệ gen |
| Sự bất tử hóa (tăng trưởng vượt xa sự lão hóa sao chép) |
| Xâm lấn vào các lớp mô khác nhau và các mô khác (cấu trúc mô bị xáo trộn) |
| Di căn vào các hạch bạch huyết và các mô ở xa |

❑ ***Apoptosis kém hiệu lực***

Tăng sinh TB trong ung thư có thể do tổ hợp 3 yếu tố sau đây: (1) Tốc độ tăng sinh TB tăng cao do tăng tỷ lệ TB có chu kỳ TB kích hoạt, ví dụ như phần tăng sinh cao hơn và/hoặc bởi sự quá cảnh nhanh hơn xuyên qua chu kỳ TB, kết quả là tăng tổng hợp DNA và phân bào (mitosis). (2) Tỷ lệ TB chết thường giảm xuống do apoptosis tương đối giảm. Thực tế trong một số ung thư, đây là động lực cho sự tăng sinh. Ở các trường hợp khác, tốc độ apoptosis có tăng lên so với các mô bình thường, nhưng vẫn chưa đủ hiệu lực để bù đắp cho việc gia tăng hoạt tính phân bào mitosis. (3) Ở các mô bình thường, giai đoạn kế tiếp của sự biệt hóa liên quan một cách đặc biệt với việc giảm dần dần khả năng tăng sinh và/hoặc sự chết theo chương trình của các TB đã biệt hóa đầy đủ. Do đó, ngăn chặn sự biệt hóa trong một số trường hợp cũng đủ để làm tăng tốc độ tăng sinh.

***Bảng 1.4.*** *Một vài định nghĩa trong ung thư học*

| Mệnh danh | Ý nghĩa | Ghi chú |
|---|---|---|
| *Khối u* | Bất kỳ sự tăng bất bình thường nào về kích cỡ của mô | Cũng được sử dụng đối với sưng tấy ngoại lệ cho cả phì đại và tăng sản lành tính |
| *U ác tính* | Một u được đặc trưng bởi tăng sự tăng sinh TB vĩnh viễn, tăng trưởng tiến triển và xâm lấn hoặc di căn | Tương ứng với "ung thư" trong bất cứ ngôn ngữ nào |
| *U lành tính* | U không có tăng trưởng vượt ra khỏi một vùng hạn chế trong một mô | |
| *Ung thư (cancer)* | Một u ác tính | Ưu tiên sử dụng cho các bệnh hệ thống (nghi ngờ hay xác thực) |
| *Sự tạo hình mới* | U ác tính | |
| *Bệnh bạch cầu* | U ác tính được hình thành từ các TB tạo máu và thấy ở trong máu | |
| *U lympho* | U ác tính được hình thành từ các TB dòng lympho | Có thể bị giới hạn với các cơ quan lympho chuyên biệt |
| *Sarcoma* | U ác tính rắn được hình thành từ các TB mô liên kết (trung mô) | |
| *Carcinoma* | U ác tính hình thành từ các TB nguồn gốc biểu mô | |
| *Adenoma* | U lành tính biểu hiện cấu trúc tuyến | Thường bắt nguồn từ mô tuyến |
| *Adenocarcinoma* | U ác tính giống cấu trúc tuyến | Thường bắt nguồn từ mô tuyến |
| *Giai đoạn u* | Tiêu chuẩn vật lý của u (ác tính) | Các hệ thống khác nhau được dùng cho các dạng ung thư khác nhau (và ngay cả giống nhau) |
| *Độ ung thư* | Tiêu chuẩn của sự lạc kiểu cấu trúc hoặc TB của một khối u | Như trên |

### ❑ *Biến đổi biệt hóa*

Nhiều ung thư bao gồm những TB giống như TB tiền thân mô gốc của chúng và không tham gia vào các tiến trình bình thường của sự biệt hóa, trong khi những TB khác lại thể hiện với đặc tính TB ở giai đoạn giữa của sự biệt hóa. Tuy nhiên, trong một số ung thư lại không bao gồm các TB có dấu ấn của sự biệt hóa hoàn toàn với sự khác biệt quan trọng là chúng tiếp tục tăng sinh. Trong những ung thư này không khó khăn gì trong việc xác định TB gốc, đó là vấn đề rất quan trọng đối với chẩn đoán. Tuy nhiên, nhiều ung thư lại biểu hiện các dấu ấn mà không có trong các mô gốc của chúng. Thường là các TB ung thư biểu hiện các protein mà nếu không thì chỉ thấy ở các TB thai

nhi. Các protein như thế, ví dụ như kháng nguyên carcinoma phôi (carcinoembryonic antigen) trong ung thư kết tràng đều được gọi là các dấu ấn ung thư thai nhi (oncofetal markers). Những protein khác biểu hiện ở các ung thư lại chưa hề được tổng hợp trong TB gốc, ví dụ các kháng nguyên ung thư tinh hoàn trong u hắc tố (melanoma) và các hormone peptide khác trong ung thư phổi TB nhỏ. Hiện tượng này được gọi là "*sự biểu hiện lầm lạc*" (ectopic expression). Một số ung thư lại biến đổi kiểu hình (phenotype) của chúng giống như các TB của một mô khác trong một quá trình được gọi là *dị sản* (metaplasia). Người ta có thể nghĩ rằng, đây là một dấu hiệu rõ ràng của ung thư, nhưng dị sản cũng xảy ra trong một số điều kiện tương đối vô hại, ví dụ khi phát triển một dạng đặc biệt của ung thư dạ dày. Trong một số carcinoma khác, dị sản có thể là một sự kiện muộn. Những biến đổi khác của sự biệt hóa TB đã xóa đi quá mạnh kiểu hình TB gốc, điều đó gây khó khăn cho việc phân biệt vị trí đầu tiên khởi đầu di căn. Hai dạng TB giống (generic cell) là TB giống biểu mô nhỏ có nhân lớn so với tế bào chất và TB có dạng hình thoi giống như nguyên bào sợi trung mô. Những dạng TB này là điểm kết thúc của sự tiến triển ung thư ở một số trường hợp carcinoma, điển hình thấy ở những trường hợp "hiếu chiến" (agressive) và do đó cũng phải có trong các di căn.

Như vậy, biến đổi sự biệt hóa đã tạo ra các đặc tính cho các TB ung thư, nếu không thì chỉ phát hiện được ở các TB tiền thân của mô, hay trong các TB thai nhi hoặc các TB của mô khác. Tuy nhiên, biến đổi biệt hóa cũng liên quan tới việc gia tăng sự tăng sinh. Như đã đề cập ở trên, việc kiểm soát tăng sinh và biệt hóa gắn kết chặt chẽ với nhau ở các mô bình thường. Giai đoạn kết thúc sự biệt hóa của nhiều mô thường có liên quan tới một sự mất mát không thể đảo ngược về tiềm năng sao chép hoặc ngay cả với sự chết của TB. Quá trình này vì thế mà được gọi là *"sự biệt hóa kết thúc*" (terminal differentiation). Chẳng hạn như các TB biệt hóa ở biểu mô keratine hóa liên kết chéo với nhau, nhân TB bị hủy bỏ và TB chứa đầy các protein cấu trúc. Có một trạng thái ổn định được duy trì giữa sự sản sinh TB và mất mát TB ở con đường này, nếu bị phá vỡ thì sẽ biệt hóa thành ung thư.

- ***Biến đổi chuyển hóa***

Sự tăng sinh TB bình thường hay bất thường đều đòi hỏi phải thay đổi theo sự chuyển hóa TB. Rõ ràng nhất là việc tổng hợp DNA thì phải có các deoxynucleotide, do vậy các enzyme đòi hỏi cho sinh tổng hợp nucleotide và đặc biệt là sinh tổng hợp deoxynucleotide phải được cảm ứng và hoạt hóa trong các TB tăng sinh. Hơn nữa, các thành phần của TB như màng và cơ quan tử cũng cần cho sự nhân đôi. Vì lý do này nên sự sinh tổng hợp lipid tăng lên ở các TB ung thư có thể vì chúng chưa đủ lượng acid béo, các phospholipid và cholesterol từ các lipoprotein do ruột và gan cung cấp. Như một hệ quả, sự biểu hiện và hoạt tính của các enzyme chủ chốt như synthase acid béo (fatty acid synthase) và hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase sẽ tăng lên ở các

TB ung thư. Sinh tổng hợp porphyrin thường cũng tăng lên, như Warbur đã ghi từ những năm 1930 rằng nhiều TB khối u chuyển đổi sự chuyển hóa glucose từ hiếu khí sang kỵ khí.

Đòi hỏi chính cho sự tăng trưởng TB là tăng tổng hợp protein thể hiện ở nhiều cấp độ bằng cách tăng kích cỡ và số lượng của các hạch nhân, tăng biểu hiện các yếu tố khởi đầu sao chép và tăng cường sự phosphoryl hóa các protein ribosome. Trong quá trình xâm lấn và di căn, việc tăng đặc biệt mạnh sinh tổng hợp protein, hiển nhiên là một nhu cầu.

Về tổng thể, vì có sự tăng trưởng ung thư nên đòi hỏi bệnh nhân phải tăng nhu cầu năng lượng, nhu cầu này tăng lên cùng với tải trọng của khối u. Hơn nữa, các khối ung thư cũng giải phóng ra các sản phẩm thừa vô giá trị mà cơ thể phải đối phó do sự chuyển hóa của chúng như lactate. Ung thư cũng tiết ra các enzyme và hormone tác động lên vật chủ, trong đó có một số là độc tố. Đặc biệt là các cytokine như *yếu tố hoại tử u α* (tumor necrosis factor α) có thể phá vỡ chức năng chuyển hóa với sự phung phí năng lượng đến mức có thể " *suy kiệt*", hơn nữa nó còn kiềm chế hệ miễn dịch, do vậy mà tạo thuận lợi cho nhiễm trùng cơ hội.

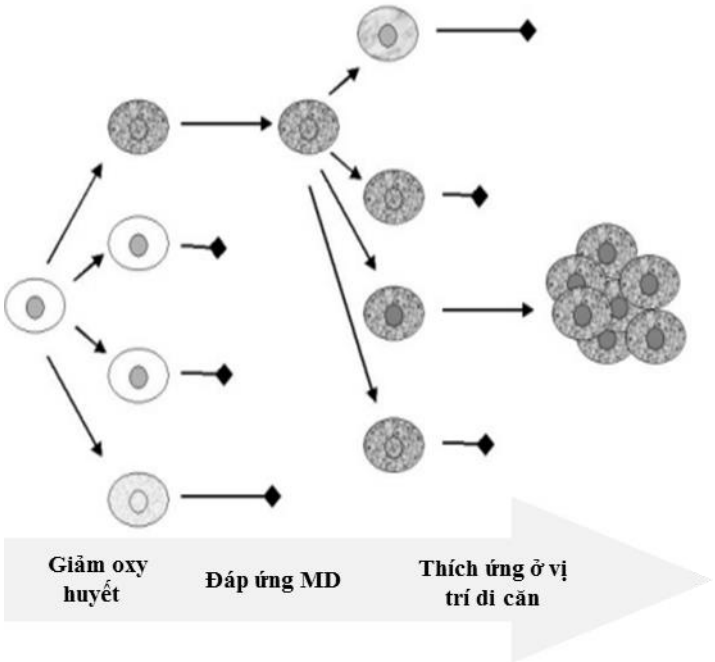
Các sản phẩm khối u khác như ligand FAS có thể làm hư hại các cơ quan nhạy cảm như gan và các sản phẩm *hormone "lầm lạc"* có thể can thiệp vào sự cân bằng nội mô. Chẳng hạn như calcitonin được sinh ra bởi ung thư phổi TB nhỏ có thể là nguyên nhân gây nên những biến đổi đe dọa tới tính mạng liên quan tới nồng độ calcium. Đây chính là triệu chứng *cận ung thư "paraneoplasia"*, có thể là vấn đề sống còn đối với các bệnh nhân tăng trưởng ác tính.

❑ ***Sự bất ổn định của hệ gen***

Việc phân biệt giữa tăng sinh TB ung thư hoặc không ung thư nằm ở sự bất ổn định của hệ gen. Như một quy luật, các TB ung thư chứa đựng nhiều đột biến gen và epigenetic. Với đa bội thì tăng số lượng hệ gen có thể được xác định bằng việc đo hàm lượng DNA của TB. Còn với dị bội, ví dụ như biến đổi số lượng và cấu trúc của các NST cá thể thì được phát hiện bằng các phương pháp di truyền TB. Những bất thường này thường được phát hiện bằng các quan sát hiển vi các mô khối u về những biến đổi kích cỡ và hình dáng của nhân trong các TB ung thư cũng như những số liệu về sự phân bào bất thường. Các ung thư khác vẫn ở lưỡng bội hoặc gần như vậy thì lại có các đột biến điểm và/hoặc biến đổi kiểu methyl hóa DNA.

Với tư cách là tiến trình ung thư thì số lượng các biến đổi có xu hướng tăng lên trong hệ gen của chúng. Do đó, đối với các ung thư ngay cả nếu đồng nhất về bề ngoài thì vẫn có các dòng TB khác nhau về cấu trúc di truyền. Các dòng TB biến thể được chọn lọc liên tục để có được những biến thể tăng sinh nhanh nhất, dung nạp được với

các điều kiện bất lợi nhất, có khả năng lẩn tránh được các đáp ứng miễn dịch, ví dụ như các dòng TB thích ứng nhất có tăng trưởng trội nhất (Hình 1.1). Biến thể này trở nên đặc biệt rõ ràng như khi điều trị khối u bằng hóa trị, và như vậy đã chọn lọc được những TB mang các biến đổi cho phép chúng sống sót và tiếp tục phát triển mặc dầu bệnh nhân vẫn đang được điều trị.




**Hình 1.1** *Mô hình chọn lọc dòng của sự tăng trưởng ung thư*

Tính không ổn định của hệ gen đã tạo nên những dòng mới từ u khởi đầu (trái). Những dòng này được chọn lọc tương xứng với khả năng của chúng đối với tăng sinh khi đối mặt với sự giảm oxy và đáp ứng miễn dịch cũng như thích ứng tại vị trí di căn (bên phải).

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Có một số tranh cãi, liệu một số ung thư chỉ đơn giản là sự tích lũy nhiều đột biến trong quá trình phát triển của chúng hay là phơi bày tất cả những bất ổn hệ gen dẫn đến tăng tỷ lệ biến đổi NST, đột biến điểm và/hoặc khiếm khuyết epigenetic. Đây không phải là một vấn đề học thuật bởi vì các ung thư có bất ổn hệ gen sẽ biểu lộ nhiều hơn các biến thể và nguy cơ phát triển sự đề kháng. Thực sự có vẻ như là sự bất ổn hệ gen được phát triển ở một số ung thư có thể bắt nguồn từ một vài nguồn gốc, ví dụ như khiếm khuyết sửa chữa DNA và các cơ chế kiểm tra tính toàn vẹn di truyền.

❑ ***Sự bất tử hóa***

Nhiều TB ung thư được "*bất tử hóa*", nghĩa là chúng có khả năng phân chia TB với sơ lượng không hạn định. Nhiều TB người chỉ có thể phân chia được một số lần ( khoảng 60-80 lần) trước khi chúng mất khả năng tăng sinh. Rõ ràng là, cấu trúc TB của

dòng mầm được bãi miễn với sự hạn chế này và như vậy chúng được gọi là các TB gốc của mô. Chẳng hạn như, các TB gốc tạo máu ở tủy xương có thể được cấy ghép liên tục trên người nhận và vẫn có khả năng tái cấu trúc hoàn toàn hệ thống tạo máu, máu và các TB miễn dịch. Tính bất tử ở các TB gốc được duy trì bởi các cơ chế đặc biệt giống như sự biểu hiện của telomerase ở các ung thư. Tuy nhiên, một số TB ung thư của người còn được duy trì trong nuôi cấy mô hoặc cấy ghép trên động vật với cái tên "*ghép ngoại lai*" qua nhiều thế hệ. Cũng cần phải lưu ý rằng, không chắc chắn là tất cả các TB ung thư của người đều được bất tử hóa vì nhiều TB có thể không tăng trưởng được trong nuôi cấy mô hoặc ghép ngoại lai. Ngay cả việc biểu hiện telomerase cũng không phải là đối với tất cả các TB ung thư. Tuy nhiên, để đe dọa tính mạng người bệnh, một ung thư cũng không cần phải có những TB có tiềm năng tăng trưởng vô hạn. Bắt đầu từ một TB đơn, sau 50 lần sao chép đã có tới $2^{29}$ tế bào khối u, con số này có thể so sánh với $10^{13}$ - $10^{14}$ tế bào bình thường ở người. Tuy nhiên, ngay cả với những ung thư gây chết người thì con số này vẫn còn nhỏ hơn rất nhiều.

❑ ***Sự xâm lấn và di căn***

Một đặc trưng hiển nhiên ở các ung thư người là khả năng xâm lấn và di căn. Xâm lấn và di căn là tiêu chí tối hậu để phân biệt giữa các khối u lành tính và ác tính, cũng đồng nghĩa với ung thư (Bảng 1.4). Hơn nữa, sự xâm lấn và di căn của khối u luôn đi kèm với sự suy kiệt cơ thể và kiềm chế miễn dịch, đó là những "*thương tích*" đối với hầu hết những người bị ung thư.

Trong quá trình xâm lấn, các ung thư mở rộng ra khỏi vị trí ban đầu của chúng để đi sâu vào các lớp khác nhau cũng như các bộ phận của cùng một mô, cuối cùng là tăng trưởng vượt ra khỏi giới hạn của nó và đi sâu vào các cấu trúc lân cận. Sự xâm lấn liên quan tới rất nhiều bước và thường là nó tái dựng lại một cách đáng kể các cấu trúc mô bởi các TB khối u và các TB khác trong mô có đáp ứng với tín hiệu phát ra từ các TB khối u cũng như bởi các TB gây viêm và các TB miễn dịch. Đặc biệt là, trong các carcinoma thì màng cơ bản tách biệt biểu mô và trung mô bị phá hủy và khối u được mở rộng xuyên qua mô liên kết và các lớp cơ. Ở một số ung thư, các TB tách ra và di chuyển xuyên qua các mô lân cận như các TB đơn. Xâm lấn thường đi kèm với viêm nhiễm, vì thế các TB lympho, bạch cầu hạt và đại thực bào mới có mặt ở các mô bị xâm lấn cũng như ở nhiều khối u khác.

Một thành phần quan trọng của tăng trưởng ác tính là sự tạo mạch mới (neoangiogenesis). Các chất dinh dưỡng và oxy được cung cấp từ các mạch máu trước đó không đủ để trợ giúp cho sự tăng trưởng khối u đã vượt quá kích cỡ vài mm. Vì thế, các ung thư cũng như một số khối u lành tính đều cảm ứng tạo mạch mới, bao gồm tăng trưởng các mao mạch và xây dựng lại các mạch máu hiện thời. Các mạch bạch huyết cũng có thể được tu sửa hoặc được tạo mới.

Trong quá trình di căn, các TB ung thư tách khỏi khối u nguyên phát và qua máu hoặc bạch huyết mà di chuyển tới các cơ quan khác và chúng sẽ hình thành các khối u mới ở đó. Tùy thuộc vào lộ trình, "*di căn hệ tạo máu*" thường dẫn đến di căn tới các cơ quan xa hơn, phân biệt hẳn với *di căn lympho* (lymphogenetic metastasis) dẫn đến khởi đầu sự hình thành di căn ở bạch huyết làm thoát dịch ở khu vực mà ung thư xuất hiện từ đó. Giống như xâm lấn, di căn thật sự là một quá trình gồm nhiều bước. Tuy nhiên, nhiều TB ung thư đi vào máu hoặc bạch huyết hơn là hình thành di căn thực sự. Trong thực tế, những TB ung thư cá lẻ hoặc những nhóm nhỏ chỉ có thể được kết thúc trong một mô khác để sống sót trong thời gian dài mà không có tăng trưởng. Những "*vi di căn*" này không thể phát hiện được bằng các kỹ thuật hình ảnh hiện thời, mặc dầu chúng có thể được phát hiện bằng phương pháp hóa sinh nhờ các protein được tiết ra bởi các TB ung thư. Theo thời gian, chúng có thể thích ứng được với vi môi trường mới và mở rộng di căn hơn, đe dọa tính mạng của bệnh nhân. Điều này có thể xảy ra khi khối u tiên phát đã được loại bỏ vài năm. Các ung thư khác nhau về mức độ và vị trí mà chúng di căn tới. Nói chung, những cơ quan thuận lợi nhất cho di căn là những cơ quan có hệ thống mao mạch được mở rộng như gan, phổi và xương.

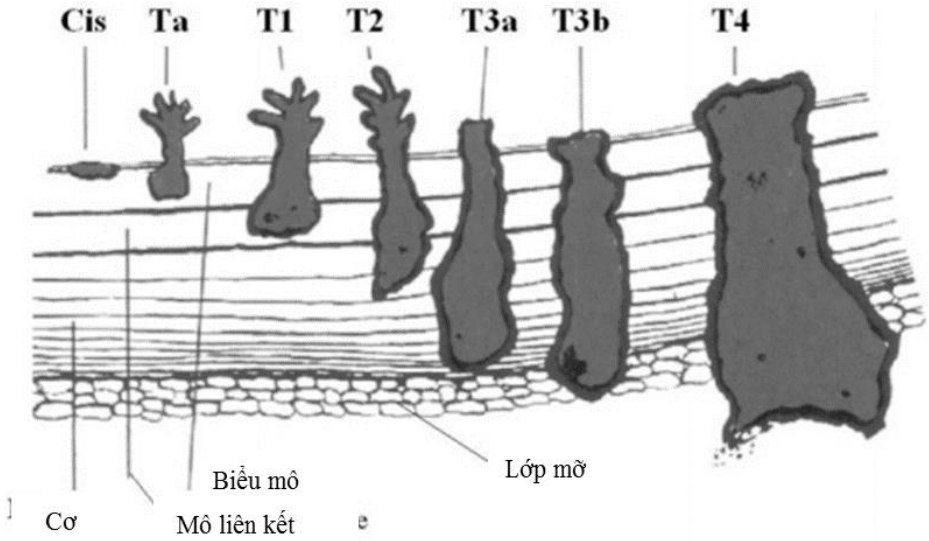
## 1.4. NHỮNG ĐẶC TÍNH VÀ PHÂN LOẠI UNG THƯ TRONG LÂM SÀNG

Nhiều đặc tính của ung thư cũng đã được đề cập trong các phần trước nhằm mô tả và phân loại ung thư – đó là điều kiện tiên quyết cho việc điều trị thích hợp cũng như tiên đoán. Vì những lý do này cũng như vì nghiên cứu ung thư trên đối tượng là người nên bắt buộc phải mô tả càng chính xác càng tốt về sự bành trướng của khối u, đó là các khái niệm về *độ* (mức độ) (degree) ác tính và các *dưới typ* (subtype).

- ***Giai đoạn (thời kỳ):*** Sự mở rộng (bành trướng) của một khối u được mô tả bằng các giai đoạn. Trước phẫu thuật hoặc chưa được phẫu thuật, giai đoạn lâm sàng (clinical stage) được xác định bằng mắt thường, chụp mạch và các kỹ thuật hình ảnh khác như siêu âm, X quang, ghi hình, chụp cắt lớp, cộng hưởng từ và chụp cắt lớp phát xạ positron- một phương pháp hình ảnh phát hiện nhanh những biến đổi về hình dáng và tỷ trọng mô, trong khi đó các phương pháp khác đáp ứng với những biến đổi lại ở sự chuyển hóa và lưu lượng máu trong các ung thư. Nếu phải thực hiện phẫu thuật thì phải miêu tả chính xác hơn về sự mở rộng của khối u, điều này có thể thực hiện được qua việc kiểm tra vị trí u và bằng các xét nghiệm mô bệnh học của các mẫu. Giai đoạn được xác định trong phương thức này được gọi là *giai đoạn bệnh lý*. Nó được ký hiệu bằng một *tiếp đầu ngữ 'p'* để phân biệt với giai đoạn trong lâm sàng được ký hiệu là 'c'.

Sử dụng rộng rãi nhất là *hệ thống* (systematic staging system) *phân loại TNM,* trong đó những hệ thống khác vẫn được sử dụng cho các ung thư chuyên biệt. Trong hệ thống TNM, độ rộng của khối u tiên phát thường được mô tả từ T1-T4, mô tả những

khối u có nhiều khối u lớn hơn và/hoặc xâm lấn nhiều hơn (Hình 1.2). Hệ thống này biến thiên theo các vị trí u khác nhau. Sự có mặt của các TB ung thư ở các hạch lympho được ký hiệu là N0, N1 và trong một số ung thư được ký hiệu là N2; N0 có nghĩa là không phát hiện được. Sự có mặt của các di căn được chỉ định bằng M0, nghĩa là không phát hiện được, rồi M1 và trong một số ung thư được ký hiệu là M2. Sau phẫu thuật, điều quan trọng là phải biết được liệu đã gỡ bỏ được mọi tăng trưởng khối u cục bộ hay chưa. Vấn đề này được biểu thị bằng trị số R. Chữ R là viết tắt của resection margin (giới hạn cắt bỏ), như vậy R0 có nghĩa là khối u dường như là đã được cắt bỏ hoàn toàn. Ở tất cả các thể loại, *tiếp đầu ngữ 'x'* được dùng trong trường hợp không xác định được/chưa xác định.



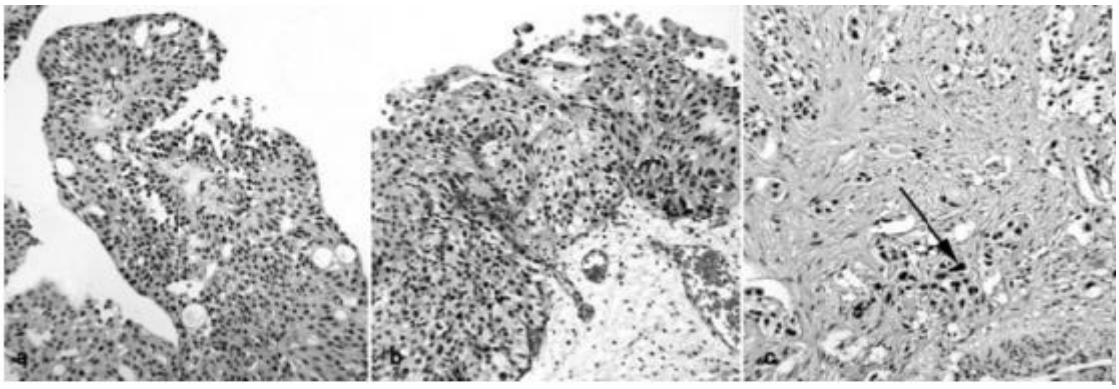

**Hình 1.2** *Các giai đoạn ung thư trong ung thư bàng quang*

Carcinoma in situ (CIS) là một loạn sản nghiêm trọng làm thu hẹp lớp biểu mô (urothelium). Các khối u Ta là các cấu trúc mao mạch được hình thành do biểu mô niệu (urothelium) cường tăng sinh phát triển vào lòng ống đường tiết niệu, nhưng không đi vào các lớp mô phía dưới. Các khối u T1 mở rộng vào lớp mô liên kết. Các khối u T2 vào các lớp cơ và các khối u T3 vào các lớp mỡ. Các tiếp vĩ ngữ (a và b) dùng để phân biệt xa hơn sự mở rộng xâm lấn. Các ung thư T4 phát triển vào các cơ quan lân cận như tuyến tiền liệt và tử cung.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

❑ ***Phân loại:*** Mức độ (độ) ác tính của một số khối u cũng được ước tính bằng các hệ thống phân loại. Vả lại, một vài hệ thống cũng được sử dụng cho các khối u khác nhau cũng như ở các quốc gia khác nhau. Chúng đạt mức độ khác nhau về sự lạc kiểu (atypia) nhân và TB và/hoặc mức độ đảo lộn mô ở phần khối u, sinh thiết, hoặc ngay cả các TB khối u đơn lẻ. Hệ thống phổ biến nhất là hệ thống phân loại G, thường xếp hạng từ G0 đến G4 (Hình 1.3). G0 thường biểu thị sự biệt hóa bình thường, không có lạc kiểu

TB như thấy ở khối u lành tính. Ở đầu kia G4 nhường lại cho các ung thư có hình thái TB khác hoàn toàn với mô bình thường và có vẻ như là lạc kiểu về TB và nhân. Phân hạng từ G1-G3 là biệt hóa tốt, biệt hóa vừa phải và biệt hóa ít. Điều quan trọng là phải nhận thức được rằng việc sử dụng thuật ngữ "biệt hóa" trong bối cảnh này là khác so với khi sử dụng trong sinh học phát triển và TB. Điều này có thể có nhầm lẫn, và càng nhiều hơn trong phân loại bệnh lý hiện đại dựa trên cơ sở hình thái học đôi khi được trợ giúp bằng cách nhuộm màu hóa miễn dịch kháng PCNA – một tiểu đơn vị của DNA replisome vẫn còn biểu hiện ở các tế bào tại pha S, còn Ki67 – một protein chủ yếu làm giới hạn hoạt động chu kỳ TB có thể được sử dụng để đánh giá phần tăng sinh trong khối u ngoài các đánh giá về tốc độ tăng sinh bằng cách đếm số phân bào.



**Hình 1.3** *Một ví dụ về phân loại khối u bằng hệ thống G*

Phân loại ung thư biểu mô tiết niệu (urothelium). Ghi chú về sự tăng kích thước nhân và đa hình từ G1 (trái) qua G2 (giữa) tới G3 (phải). Mũi tên chỉ nhân to lên đáng kể ở một ung thư biệt hóa kém.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

- ***Phân loại theo tổ chức học***

Vị trí của khối u là đầu mối trước tiên để phân loại nó. Tất nhiên, như thế là chưa đủ vì (1) khối u có thể đại diện cho một di căn hoặc cũng có thể là sự mở rộng của một ung thư bắt nguồn từ một cơ quan lân cận. Tuy nhiên, (2) một số loại ung thư khác nhau có thể cùng phát triển trong một mô, thường có rất nhiều đặc tính lâm sàng khác nhau và có nhiều lựa chọn cách điều trị. Vì thế, khối u phải được phân loại theo tổ chức học từ các mẫu sinh thiết hay từ các mẫu lấy từ phẫu thuật. Một số chỉ định được dùng trong bối cảnh này đã được giới thiệu tóm tắt ở Bảng 1.4. Việc phân loại mô học các khối u được thực hiện bằng cách đánh giá hình thái của chúng. Các kỹ thuật thường quy sử dụng nhiều thuốc nhuộm đặc hiệu đã được phát triển qua nhiều thế kỷ trong giải phẫu và bệnh lý học để làm nổi bật các dạng TB đặc biệt cũng như các cấu trúc ngoại bào như màng cơ bản, các lớp sợi hoặc chất nhầy. Càng ngày càng có nhiều phương pháp phân loại khối u bằng mô bệnh học được nâng cao bởi các dấu ấn phân tử đặc hiệu.

Người ta thường thực hiện việc nhuộm hóa miễn dịch với các kháng thể kháng trực tiếp các kháng nguyên đặc hiệu của mô gốc khảo sát, ví dụ như các cytokeratine hoặc các kháng nguyên đặc hiệu khối u, hay kháng nguyên carcino phôi (carcinoembryonic antigen). Đối với bệnh bạch cầu, việc phân tích các dưới type (subtype) có thể được xác định bằng cách nhuộm kháng thể theo phân dòng TB (flow cytometry). Các phân tích về mức RNA hay DNA đối với các kiểu biểu hiện gen hay những biến đổi di truyền đặc hiệu tuy chưa được tiêu chuẩn hóa nhưng đã được các tổ chức chuyên ngành sử dụng. Nói tóm lại, các kỹ thuật di truyền TB đang được sử dụng rộng rãi, đặc biệt để phân loại các ung thư máu.

Sự hiểu biết về sinh học phân tử ung thư người đã được nâng cao trong nhiều lĩnh vực đặc biệt là phân loại ung thư theo tổ chức học. Những tiến bộ này đã tác động ngay lập tức lên trị liệu ung thư, bởi vì hầu hết các ung thư đều cần sự lựa chọn cách trị liệu dựa trên cơ sở của các thông số này. Ngay cả hiện giờ, một khối u ở thận sẽ được xử lý khá khác biệt, ví dụ một carcinoma thận ác tính nhưng ở giai đoạn đầu hay giai đoạn tiến triển của ung thư, hay một khối u lành tính có nguồn gốc trung mô hay là một di căn của melanoma hoặc là một u lympho. Tuy nhiên, các dấu ấn phân tử trong hiện tại và tương lai sẽ còn tiến bộ vượt xa hơn nữa. Chúng có thể phát hiện được những khác biệt giữa các ung thư có hình thái học giống nhau nhưng lại đại diện cho các bệnh khác nhau, ví dụ như một số bệnh bạch cầu xác định. Chúng cũng phát hiện được các dưới lớp (subclass) mà trước đây không được nhận ra trong một số bệnh như là trường hợp của ung thư vú, đồng thời cũng có thể dự đoán được các liệu trình lâm sàng cho các khối u có hình thái học tương tự. Hơn nữa, với cái nhìn phân tử sâu sắc sẽ cho phép chọn lọc được các ung thư xác định để điều trị với các loại thuốc phù hợp cho các đích đặc hiệu và có thể cho phép dự đoán được một bệnh dung nạp tốt như thế nào với trị liệu ung thư bằng xạ trị hoặc các thuốc kiềm chế TB.

## 1.5. ĐIỀU TRỊ UNG THƯ

Về nguyên lý, có rất nhiều kỹ thuật khác nhau có thể điều trị ung thư trên người. Phẫu thuật, chiếu xạ hay có thể dùng hóa chất hoặc kết hợp các kỹ thuật. Trị liệu nào được lựa chọn tùy thuộc rất lớn vào phân loại ung thư như các tiêu chí đã trình bày ở trên.

Phẫu thuật hay xạ trị là lựa chọn cho việc điều trị các ung thư cục bộ. Ngược lại, các bệnh bạch cầu, u lympho và các di căn hoặc các carcinoma tiến triển cục bộ cũng như ung thư mô mềm thì lại đòi hỏi hóa trị bằng thuốc, trong một số trường hợp là ung thư nguyên phát hay các di căn thì phải bổ sung thêm cả xạ trị hoặc phẫu thuật. Ngược lại, sau phẫu thuật có thể là hóa trị hoặc chiếu xạ để tấn công các khối u cục bộ còn sót hoặc các di căn. Vấn đề này được gọi là *điều trị "phụ thêm"* (adjuvant treatment). Cũng rất phù hợp khi hóa trị được áp dụng trước khi phẫu thuật để làm thu nhỏ khối u và tạo

thuận lợi cho việc cắt bỏ hoàn toàn khối u. Vấn đề này thường được gọi là *điều trị phụ thêm mới* (neo-adjuvant treatment). Hiệu lực của hóa trị và xạ trị phụ thuộc rất nhiều vào dạng của khối u. Một số ung thư, ví dụ như ung thư tinh hoàn và các u lympho xác định nhạy cảm cao, trong khi đó các ung thư khác như carcinoma TB thận về tổng thể là kém nhạy cảm hơn so với nhiều mô bình thường.

Trong hóa trị liệu ung thư có rất nhiều thuốc khác nhau được sử dụng. Một số thuốc nhắm thẳng tới ung thư, nhưng các thuốc khác lại được sử dụng để ổn định hóa các chức năng đặc biệt của cơ thể bệnh nhân hay để giảm đau. Thành phần quan trọng nhất trong việc điều trị nhiều loại ung thư là trị liệu với các thuốc gây độc TB, thường đơn giản gọi là trị liệu hóa học. Trong kiểu trị liệu này, các hợp chất hóa học được sử dụng để ngăn chặn sự tổng hợp, sự sao chép DNA và hoặc phân bào (mitosis) trong các TB ung thư, thường hướng chúng tới apoptosis. Một dạng khác của thuốc kháng ung thư được tóm tắt như là "các tác nhân sinh học" gắn vào các phân tử receptor trong các TB ung thư, không liên quan trực tiếp với sự sao chép DNA hay sự phân bào, tuy nhiên lại điều hòa các quá trình này. Ví dụ về dạng thuốc này là các hormone và kháng hormone dùng trong điều trị ung thư vú và ung thư tuyến tiền liệt, cũng như retinoid dùng để điều trị một số ung thư, đặc biệt là các bệnh bạch cầu cấp chuyên biệt, bệnh bạch cầu tiền tủy bào (promyelocytic leukemia). Kể từ khi công nghệ sinh học tái tổ hợp DNA ra đời, các cytokine và các yếu tố tăng trưởng có thể được sản xuất với giá thành hợp lý và đủ tinh khiết để được sử dụng trong trị liệu ung thư. Trong một số trường hợp, chúng tác động trực tiếp lên các TB ung thư, trong các trường hợp khác chúng lại kích thích đáp ứng miễn dịch kháng lại ung thư. Ngoài ra chúng còn nhiều ứng dụng khác nữa như ổn định hóa hệ tạo máu của bệnh nhân kháng lại các hiệu ứng của ung thư. Các interferon và interleukine được dùng trong điều trị bệnh bạch cầu và carcinoma thận. Đó là các ví dụ về 2 áp dụng đầu tiên. Erythropoetin kích thích sản xuất hồng cầu và GM-CSF tăng cường tạo máu được sử dụng rộng rãi trên toàn cầu là các ví dụ về dạng thuốc thứ ba.

Một số dạng khác của bức xạ có thể được sử dụng trong xạ trị ung thư ngay cả với các hạt và các đồng vị phóng xạ. Được sử dụng rộng rãi nhất là bức xạ ion hóa ở dạng bức xạ γ năng lượng cao. Nó phá hủy các TB ung thư bởi các hiệu ứng trực tiếp lên các đại phân tử TB hoặc bởi tạo ra các mẫu oxy phản ứng như trong quá trình sinh ung thư. Đặc biệt là các gốc được cảm ứng khởi đầu các chuỗi phản ứng dẫn đến việc bẻ gãy các DNA chuỗi kép, ngăn chặn sự tăng sinh TB xa hơn hoặc cảm ứng apoptosis. Liều lượng bức xạ có thể áp dụng được giới hạn vì các hiệu ứng của nó lên các mô bình thường. Những kỹ thuật hiện đại cho phép tập trung các bức xạ hoặc sử dụng các chất đồng vị phóng xạ đi sâu vào các khối u. Tuy nhiên, những cải biến này hầu hết là hữu dụng cho điều trị các ung thư cục bộ. Trong một số trường hợp, các TB khối u có thể nhạy cảm

với bức xạ, chẳng hạn như nhiều khối u trong thực tế có tốc độ sinh tổng hợp porphyrin cao hơn các mô bình thường đã được trị liệu bằng quang hóa (photodynamic). Trong kỹ thuật này, tia sáng cực mạnh với bước sóng dài gần với sự hấp thu tối đa của porphyrin đã được áp dụng nhờ một chùm tia laser để tạo ra oxy phản ứng. Trong những trường hợp khác thì đồng vị phóng xạ đã được ưu tiên khai thác để trị liệu ung thư, ví dụ như trị liệu tuyến giáp biệt hóa cao bởi iod phóng xạ.

Kể cả trường hợp đã có đầy đủ các phương pháp trị liệu ung thư thì ngày nay nhiều ung thư vẫn chưa thể cứu chữa được. Nhiều bệnh ác tính, việc trị liệu vẫn chỉ mang tính chất tạm thời, ví dụ làm giảm các triệu chứng nhưng không kéo dài sự sống. Những phương pháp trị liệu ung thư mới là một nhu cầu khẩn cấp, vì thế trị liệu ung thư là một lĩnh vực trong đó trông mong cao nhất là được áp dụng các thành quả của sinh học phân tử ung thư trong điều trị bệnh. Thực sự là, các thuốc mới đã được phát triển trên cơ sở của những tầm nhìn sâu sắc này. Tuy nhiên, sự hiểu biết về các trị liệu sẵn có vẫn cần phải đào sâu hơn nữa. Những sự phát triển này bắt đầu tác động đáng kể lên trị liệu ung thư. Rõ ràng, chúng ta hy vọng rằng những phương pháp trị liệu mới hoàn toàn sẽ xuất hiện. Trị liệu miễn dịch đã được áp dụng ở một số ung thư, mặc dầu hiệu quả rất khác nhau. Về nguyên nhân dẫn đến thành công hay thất bại thì dần dần sẽ được sáng tỏ, nhưng chắc chắn nó sẽ được sử dụng rộng rãi trong tương lai. Gen trị liệu ung thư cũng chứa đựng các hy vọng lớn và hàng trăm thử nghiệm lâm sàng đã được thực hiện hoặc đang được triển khai. Tuy nhiên, trong giai đoạn này nó mới chỉ là một phương pháp trị liệu thực nghiệm thuần khiết.

# CHƯƠNG II: BẢN CHẤT CỦA UNG THƯ

Tổ chức tế bào của sinh vật đa bào đã trải qua quá trình tiến hóa đa dạng về kiểu mẫu giải phẫu (anatomical designs). Điều này có thể bắt nguồn từ thực tế là các khối kiến trúc của mô và sự kiến tạo các cơ quan – các tế bào cá thể đã được trời phú cho quyền tự trị và tính linh hoạt tuyệt vời. Hầu hết các dạng TB trong cơ thể đa bào đều mạng hệ gen hoàn hảo – thu được nhiều thông tin hơn bất kỳ tế bào nào. Nhiều TB vẫn có khả năng tăng trưởng và phân chia lâu dài sau khi đã hoàn tất việc phát triển tổ chức. Chính vì vậy mà vẫn duy trì được khả năng tăng sinh và tham gia vào quá trình hình thành hình thái học của mô (tạo hình) để có thể duy trì được các mô trưởng thành trong suốt đời sống của sinh vật. Sự duy trì như thế có thể liên quan đến việc sửa chữa vết thương và thay thế các tế bào đã bị hao tổn sau một thời gian dài "phục vụ".

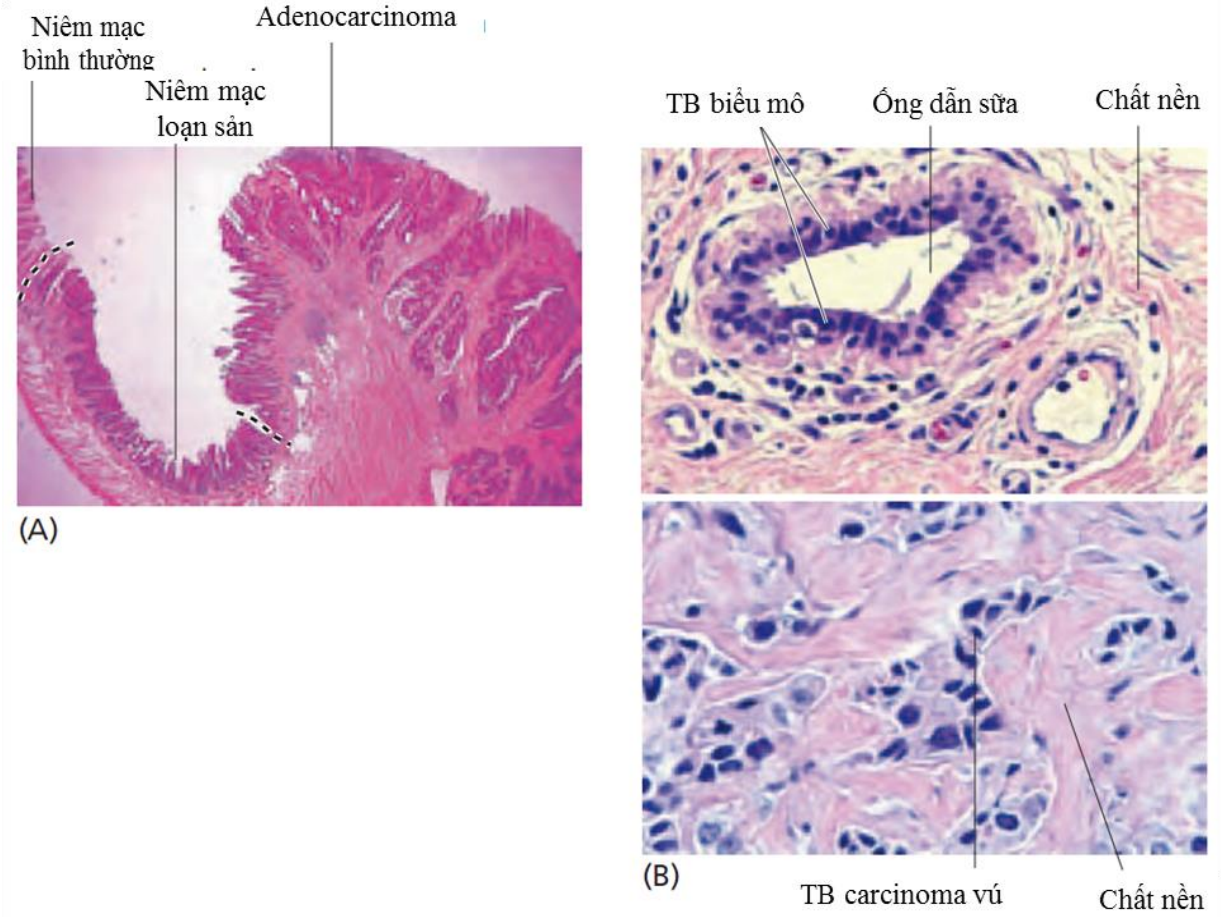
Đồng thời, tính linh hoạt và tự trị lại gây nên một mối nguy hiểm nghiêm trọng, trong đó các tế bào cá thể trong cơ thể có thể truy cập được những thông tin về hệ gen của chúng mà bình thường vẫn bị từ chối liên quan đến vai trò duy trì những chức năng không hợp lý của mô bình thường. Hơn nữa, những trình tự hệ gen của chúng có thể bị hư hỏng do nhiều cơ chế khác nhau làm thay đổi cấu trúc và nội dung thông tin của hệ gen. Kết quả của sự đột biến gen có thể làm cho TB đạt được một trạng thái mới, thường là các kiểu hình bất thường cao. Những sự thay đổi như thế có thể là không tương thích với vai trò thuộc về cấu trúc và sinh lý học mà các TB này đảm nhiệm. Trong số các biến đổi không phù hợp này có thể là các biến đổi trong chương trình tăng sinh TB, đến lượt mình nó lại có thể dẫn đến việc xuất hiện các quần thể lớn TB không tuân thủ các quy luật điều hành về cấu trúc cũng như duy trì mô bình thường.

Nếu diễn tả theo cách này thì những TB "phản bội" hình thành nên khối u là kết quả của việc mất đi quá trình phát triển bình thường. Mặc dù vậy, cơ thể cũng có những cơ chế bảo vệ đặc biệt, nó thực hiện nhằm phòng ngừa những TB ung thư xuất hiện bằng cách nào đó mà lại phát triển rất mạnh. Còn với các TB bình thường thì đã được lập trình rất cẩn thận để cộng tác với nhau trong việc kiến tạo các mô khác nhau và làm cho nó có thể sống sót một cách thực thể (organismic). Các TB ung thư khá khác biệt và có "chương trình" với một động lực cần quan tâm đó là tạo ra thật nhiều các bản sao của chính mình.

## 2.1. KHỐI U NẢY SINH TỪ CÁC MÔ BÌNH THƯỜNG

Tổ hợp của những khám phá vào giữa và cuối thế kỷ 19 đã cho chúng ta hiểu rõ mô và các sinh vật đa bào được hình thành từ trứng thụ tinh như thế nào. Nền tảng của

những vấn đề đó là ở chỗ người ta phát hiện ra rằng, tất cả các mô đều bao gồm các TB và các sản phẩm của TB, đều được nảy sinh từ sự phân chia của các TB đã có từ trước đó. Điều này đã dẫn đến suy luận rằng tất cả các TB trong cơ thể của các sinh vật đa bào đều là các thành viên của các dòng TB có nguồn gốc từ trứng thụ tinh. Trái lại, các trứng thụ tinh lại có khả năng sản sinh ra tất cả các TB trong cơ thể, điều đó được thực hiện thông qua việc lặp lại các chu kỳ tăng trưởng và phân chia tế bào.




**Hình 2.1** *So sánh giữa mô bình thường và mô ung thư*

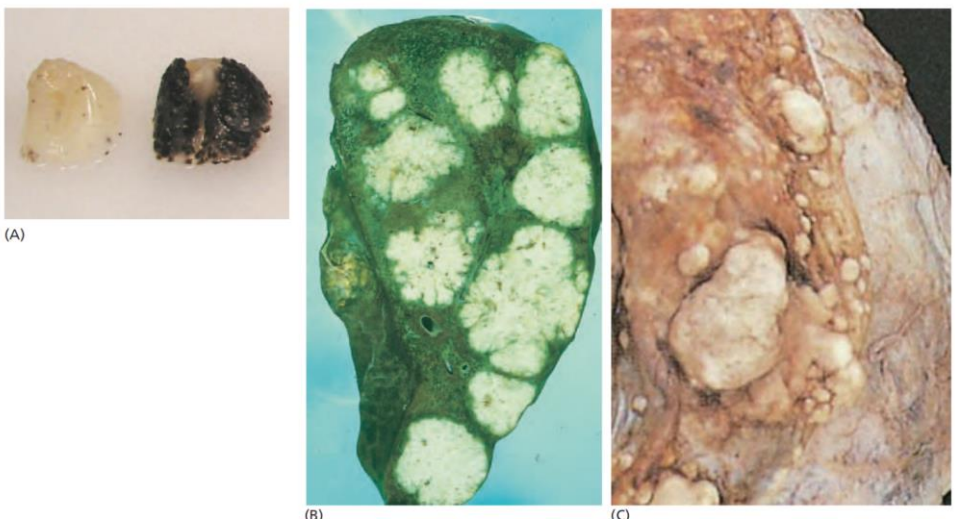
A: Mặt cắt ngang tổ chức lớp ruột hồi trong ruột non, quan sát ở cỡ phóng đại thấp phát hiện thấy những thay đổi liên tục giữa mô bình thường và mô ung thư. Ở xa phía trái là dòng biểu mô bình thường, màng nhầy. Ở giữa là mô niêm mạc trở nên bất thường cao hoặc dị sản. Phía bên phải là một khối u rõ ràng bắt đầu xâm lấn xuống dưới các mô.

B: Một cặp cắt ngang quan sát ở cỡ phóng đại cao cho thấy các cấu trúc mô bình thường trở nên xáo trộn trong các khối u như thế nào. Trong tuyến vú người bình thường (trên), ống dẫn sữa được lót bởi các tế bào biểu mô (nhân màu tím đỏ). Những ống dẫn này được bao quanh bởi mô trung mô (Hình 2.7) có tên là chất nền "stroma", bao gồm các tế bào mô liên kết như nguyên bào sợi và tế bào mỡ, và chất nền collagen (màu hồng). Trong carcinoma tuyến vú xâm lấn (dưới), các tế bào ung thư nảy sinh từ các dòng tế bào biểu mô thì các bộc lộ nhân lớn một cách bất thường (màu tím)

(Theo A.T. Scarin , Atlas of Diagnstic Oncology, 2003; B, courtesy of A.Orino)

Những quan niệm này đã ảnh hưởng một cách sâu sắc đến việc nhận thức các khối u như thế nào. Trước đây nhiều người miêu tả khối u là các *thể lạ* mà bằng cách nào đó đã "*mọc rễ*" được vào những người bị ảnh hưởng. Hiện nay, các khối u cũng như các mô bình thường đều có thể được xác định dưới kính hiển vi  hay còn gọi là ***tổ chức hoc (histology).*** Những xét nghiệm lát cắt mỏng của mô đã cho thấy các khối u cũng như các mô bình thường đều bao gồm các khối TB (Hình 2.1) .

Các bằng chứng cho thấy, **các dạng khối u** (chứ không phải là tràn vào cơ thể từ thế giới bên ngoài) ***thường bắt nguồn trực tiếp từ các mô bình thường***. Tuy nhiên, dường như là các khối u không có khả năng di chuyển trong phạm vi giới hạn của cơ thể. Tuy nhiên, nhiều bệnh nhân có nhiều khối u được phát hiện tại các vị trí giải phẫu rất xa nơi bệnh khởi đầu, đó là hệ quả của xu hướng các ung thư muốn bành trướng ra khắp cơ thể, đồng thời thiết lập các tập đoàn ung thư (Hình 2.2). Những khu định cư mới này có tên là ***di căn (metastase),*** thường thì vẫn có thể theo dõi được một cách trực tiếp vị trí bắt đầu ung thư - nơi thiết lập ung thư hay còn gọi là ***khối u tiên phát (primary tumor).***




**Hình 2.2** *Sự di căn của các tế bào ung thư tới các vị trí xa hơn*

Nhiều dạng tế bào khối u cuối cùng giải phóng ra các tế bào ung thư di cư tới các vị trí xa hơn trong cơ thể, ở đó chúng hình thành nên các khối u thứ cấp gọi là sự di căn.

A: Di căn của u hắc tố melanoma có thể được xác định nhanh chóng trên chuột bởi vì có sự hình thành sắc tố đen đặc thù. Ở đây ta thấy phổi của 2 chuột, một trong số đó sự hình thành di căn hầu như đã bị ngăn chặn (trái) còn một con thì hàng trăm di căn (các điểm đen) được phép hình thành (phải), khi quan sát tại thời điểm 2 tuần sau khi tiêm các tế bào melanoma chuột B16 vào tĩnh mạch đuôi của chuột. Tiêm bằng con đường này sẽ làm cho nhiều tế bào bị bãy một cách cơ học ở phổi, tại đó nó làm nảy sinh nhiều tập đoàn (colony).

B: Các di căn (trắng) ở gan thường nảy sinh ở các bệnh nhân carcinoma đại tràng tiến triển. Tĩnh mạch cửa chính dẫn máu từ đại tràng tới gan, tạo nên một "đại lộ" cho các tế bào ung thư đại tràng di căn di chuyển trực tiếp vào trong gan.

C: Ung thư vú thường di căn tới não. Ở đây các di căn lớn được phát hiện sau khi khám nghiệm tử thi. Người ta thấy phía bên phải màng cứng của não (màng phủ ngoài nguyên vẹn ở bên phải) đã bị cắt bỏ.

(Theo Courtesy of Peter Issacson, 1988)

Điều bất di bất dịch là, các xét nghiệm chi tiết về sự tổ chức của các TB bên trong các khôi u đã đưa ra các bằng chứng cho thấy cấu trúc mô của nó được tổ chức kém hơn mô bình thường gần đó (Hình 2.1). Những sự so sánh mô bệnh học này đã cho chúng ta những cơ sở đầu tiên của ý tưởng đã thống trị phần lớn thế kỷ thứ 20 chứng minh rằng, các khối u được tạo ra bởi các TB đã mất khả năng lắp ráp để tạo ra các mô có chức năng bình thường. Nói một cách đơn giản là, ung thư được xem như là một *bệnh của các TB suy yếu về chức năng.*

Mặc dù vi cấu trúc của khối u có khác biệt với mô bình thường, tuy nhiên vẫn thấy những hình ảnh tổ chức học xác định giống như mô bình thường. Người ta cho rằng, tất cả các khối u về nguyên lý đều có thể truy nguyên được các vị trí đặc biệt của cơ quan hay mô nơi mà chúng được nảy sinh đầu tiên, điều này được khẳng định nhờ các phân tích mô bệnh học các lát cắt mô. Ý tưởng đơn giản này đã dẫn đến cách phân loại mới về những sự tăng trưởng này. Kết quả phân loại thường được nhất quán trên quan điểm các ung thư được nảy sinh trong các mô và các cơ quan có các *chức năng khác biệt một cách triệt để* nhưng lại có chung các dạng tổ chức mô thông thường.

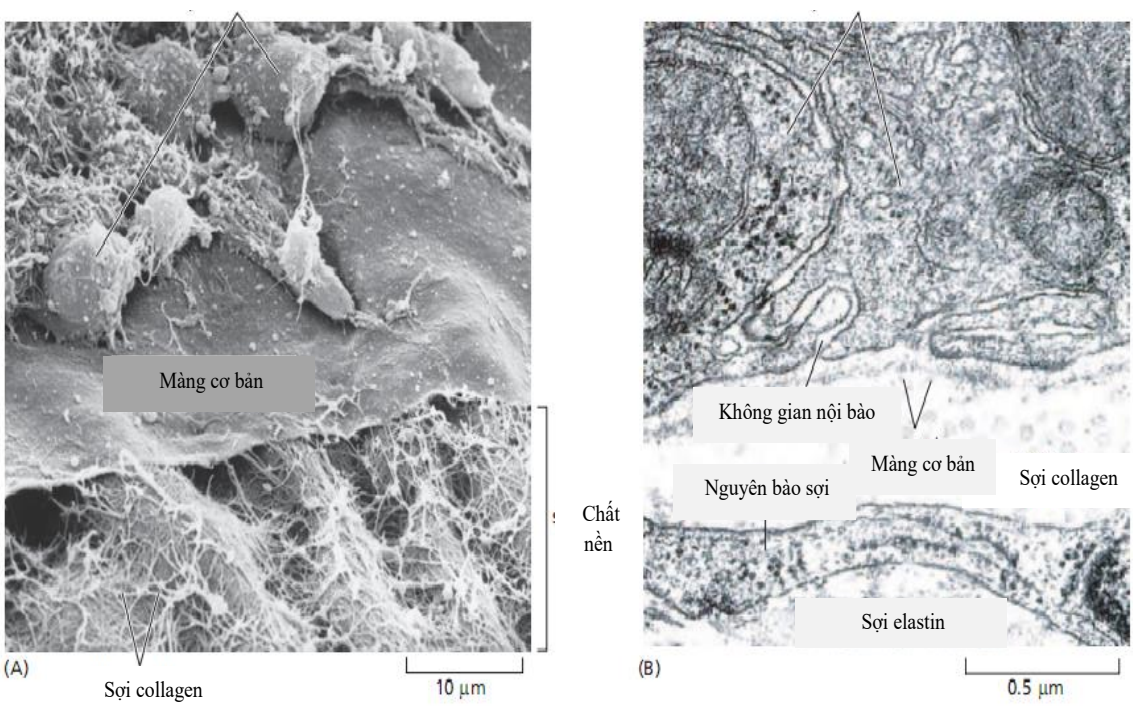
Khoa học mô bệnh học cũng làm cho chúng ta có thể hiểu được mối quan hệ giữa sự hiệu ứng của khối u lên bệnh nhân và các hình ảnh hiển vi của nó. Điều quan trọng nhất ở đây là tiêu chuẩn để phân chia các khối u thành 2 thể loại chính tùy thuộc vào mức độ tăng trưởng tích cực (hiếu chiến) của chúng. Những khối u tăng trưởng có tính chất cục bộ không có sự xâm lấn vào các mô lân cận được phân loại là ***u lành tính*** *(benign).* Còn những khối u xâm lấn vào các mô gần đó và sinh ra các di căn thì có tên là ***u ác tính*** (*malignant).*

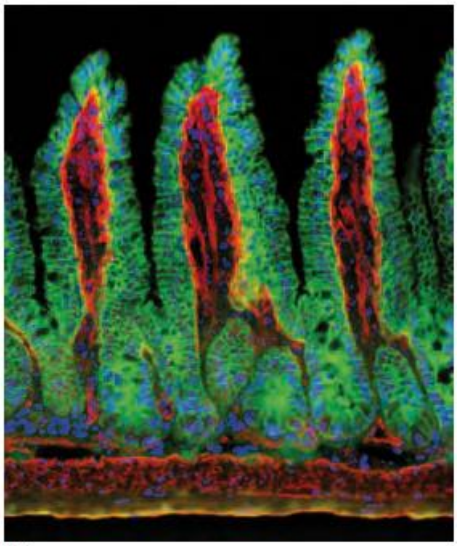
Trên thực tế, phần lớn các khối u nguyên phát nảy sinh trên người đều là lành tính và vô hại đối với chủ nhân của chúng, trừ một số hiếm các trường hợp ở đó có sự mở rộng khối lượng cục bộ làm chúng chèn ép vào các cơ quan hoặc mô quan trọng. Tuy nhiên, một số mô lành cũng có thể gây nên các vấn đề về lâm sàng bởi vì chúng giải phóng ra các hormone ở mức cao nguy hiểm, tạo nên sự mất cân bằng sinh lý trong cơ thể, Ví dụ như *adenoma tuyến giáp* (tăng trưởng biểu mô tiền ác tính) có thể gây nên việc giải phóng quá mức hormone tuyến giáp vào hệ tuần hoàn, dẫn đến cường giáp; *adenoma tuyến yên* có thể giải phóng hormone tăng trưởng quá mức các mô xác định - trường hợp này gọi là *bệnh cực đại (acromegaly).* Dù sao thì những cái chết gây ra bởi các u lành là tương đối không phổ biến. Phần lớn tỷ lệ tử vong liên quan đến ung thư đều bắt nguồn từ các u ác tính. Đặc biệt hơn là, các di căn được sinh ra từ các khối u này thì 90% chết đều do ung thư.

## 2.2. CÁC KHỐI U NẢY SINH TỪ NHIỀU DẠNG TẾ BÀO CHUYÊN HÓA TRONG CƠ THỂ

Phần lớn các khối u của người đều nảy sinh từ ***mô biểu mô (epithelial tissue).*** Biểu mô là các lớp TB ghép thành các vách của các hốc và các ống dẫn hoặc trong trường hợp của da thì nó làm nhiệm vụ che phủ bên ngoài cơ thể. Trong những thập kỷ đầu tiên của thế kỷ 20, các phân tích chi tiết về tổ chức học đã cho thấy, các mô bình thường có chứa biểu mô thì đều có cấu trúc tương tự. Do vậy, bên dưới các lớp TB biểu mô của mỗi mô này là ***màng cơ bản (basement membrance)*** (đôi khi gọi là ***lá cơ bản (basal lamina),*** nó tách biệt các TB biểu mô khỏi các lớp cơ bản trợ giúp cho các TB mô liên kết, có tên là ***chất nền (stroma)*** (Hình 2.3).

Màng cơ bản là một dạng chuyên hóa của ***chất nền ngoại bào (ECM)*** được lắp ráp từ các protein chủ yếu được tiết ra từ các TB biểu mô. Một dạng khác của màng cơ bản tách biệt các tế bào nội mô (endothelium), tạo nên phần lót bên trong các mao mạch và các mạch máu lớn, bắt nguồn từ lớp ngoài của các tế bào cơ trơn chuyên hóa. Trong tất cả các trường hợp, những màng cơ bản này "phục vụ" với tư cách là một cơ cấu giàn (structural scaffolding) của mô. Hơn nữa, như chúng ta đã biết thì các TB đều đính kèm các phân tử tín hiệu hoạt hóa sinh học đối với màng cơ bản.





(C)

**Hình 2.3** *Màng cơ bản*

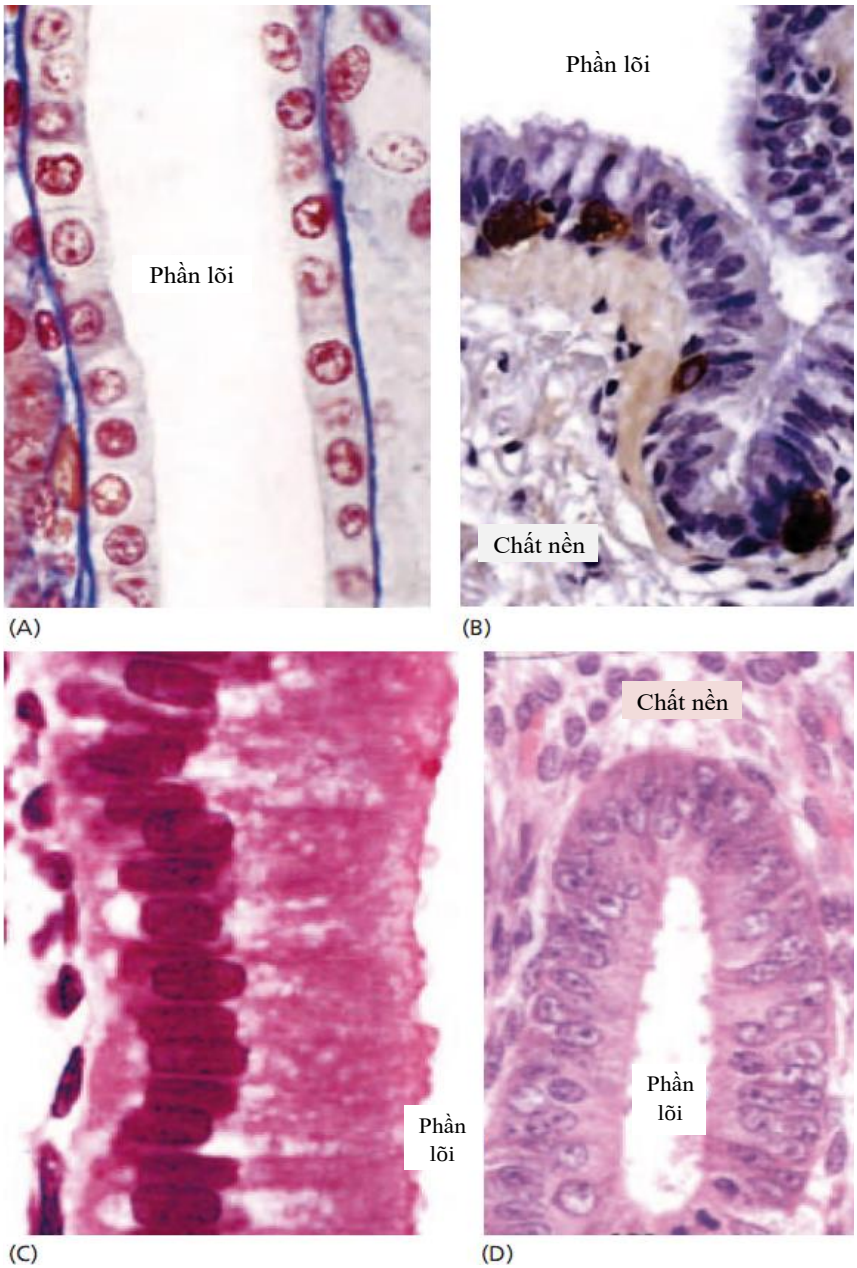
A: Khảo sát sàng lọc bằng hiển vi điện tử biểu mô giác mạc, minh họa sơ đồ cơ bản của mô biểu mô, trong đó các tế bào biểu mô cột chặt vào một phía của màng cơ bản, đôi khi được gọi là "lá cơ bản" (basal lamina). Nhìn thấy ở đây những tấm liên tiếp nhau được hình thành như các mặt sàng các protein chất nền ngoại bào. Mạng lưới sợi collagen neo vào phía dưới màng cơ bản chất nền ngoại bào (ECM) của chất nền.

B: Biểu mô của khí quản chuột quan sát ở đây có độ phóng đại khá cao qua kính hiển vi điện tử. Một số tế bào biểu mô như đã nhìn thấy ở trên phía màng cơ bản, còn ở phía dưới là các sợi collagen, nguyên bào sợi và các sợi elastin. Lưu ý rằng, màng cơ bản không bị gián đoạn tại không gian nội bào giữa các tế bào biểu mô.

C: Khi màng cơ bản không thể phát hiện được bằng các kỹ thuật nhuộm thông thường thì có thể sử dụng phương pháp miễn dịch huỳnh quang với các kháng thể kháng lại protein màng cơ bản – trong trường hợp này là laminin 5 (đỏ) có thể được nhìn thấy. Các tế bào biểu mô bao quanh các lông nhung ruột non chuột nhuộm màu với một kháng thể kháng lại E-cadherin (xanh), trong khí đó tất cả nhân tế bào được nhuộm màu xanh da trời (blue). Ở đây, màng cơ bản bị cuộn lại tách biệt lớp lông nhung phía ngoài của các tế bào biểu mô, gọi là tế bào ruột (enterocyte), có nguồn gốc từ các tế bào trung mô hình thành nên phần lõi (core) lông nhung.

(Theo Courtesy of Robert Trelstd, 2008).

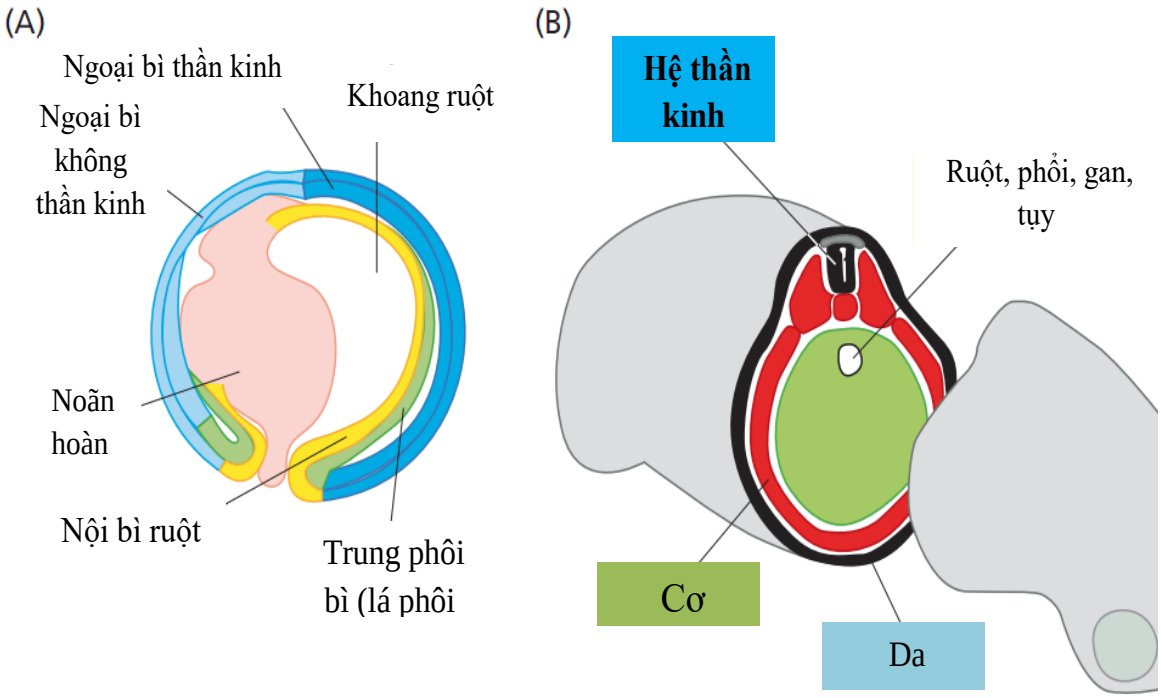
Ở đây biểu mô được đặc biệt quan tâm bởi vì chúng sản sinh ra hầu hết các ung thư phổ biến trên người – carcinoma. Các khối u này gây ra trên 80% số người chết liên quan đến ung thư ở Phương Tây. Trong số đó thì carcinoma là các khối u nảy sinh từ các lớp tế bào biểu mô của đường tiêu hóa bao gồm miệng, thực quản, dạ dày - ruột non, ruột già, da, tuyến vú, tụy, phổi, buồng trứng, tử cung, tiền liệt tuyến, túi mật và bàng quang. Các ví dụ về biểu mô bình thường được trình bày ở (Hình 2.4).




**Hình 2.4** Cấu trúc mô biểu mô: Đây là sơ đồ tổ chức của hầu hết các các mô biểu mô trong cơ thể. Các tế bào biểu mô trưởng thành, biệt hóa bộc lộ trên bề mặt biểu mô. Trong nhiều mô, phần biểu mô cơ bản này là các tế bào biểu mô kém biệt hóa, không nhìn thấy trong hình này. Phía dưới là lớp tế bào biểu mô nằm ở màng cơ bản (xem hình 2.3), thường khó nhìn thấy bằng kính hiển vi ánh sáng thường. Ở hình này thì (A) tập hợp các ống nhỏ của thận, (B) tiểu phế quản phổi, (C) biểu mô hình trụ của túi mật và (D) áo niêm mạc tử cung. Trong mỗi trường hợp, các tế bào biểu mô đều làm nhiệm vụ bảo vệ các mô nằm dưới với tư cách là tấm lót. Ở mục (C) thể hiện một đặc trưng khác của các tế bào biểu mô: trạng thái phân cực đỉnh –đáy (apico-basal polarity), trong đó các tế bào biểu mô cá thể được tổ chức để hiện diện bề mặt đỉnh hướng về phần lõi (phải) và bề mặt đáy hướng về màng cơ bản. Sự phân cực này liên quan đến sự định vị bất cân đối của nhân, cùng với hàng trăm protein bề mặt tế bào (không được thể hiện ở đây) không định vị đặc hiệu tới bề mặt đỉnh hay đáy của các tế bào. Hơn nữa, mặt bên của các tế bào biểu mô cũng thiết lập một số kiểu chức năng khác biệt với các các biểu mô lân cận.

(Theo B. Young et al.; Wheater’s functuiona Histology, Edinburgh, 2003)

Nhóm mô này bao gồm các dạng tế bào nảy sinh từ 3 lớp tế bào nguyên thủy ở giai đoạn phôi sớm động vật có xương sống. Vì vậy, biểu mô của phổi, gan, túi mật, tụy, thực quản, dạ dày và ruột non, tất cả đều có nguồn gốc từ một lớp tế bào bên trong – đó là *nội bì (endoderm).* Da được sinh ra từ lớp tế bào phía bên ngoài của phôi gọi là *ngoại bì (ectoderm),* trong khi đó buồng trứng lại được sinh ra từ lớp giữa của phôi gọi là *trung bì (mesoderm)* (Hình 2.5).




**Hình 2.5** Các lớp tế bào của phôi (A) các mô của động vật đa bào được phát triển từ 3 thành phần tế bào phôi – ngoại bì (màu xanh), trung bì (xanh lá cây) và nội bì (vàng). Những lớp tế bào của 3 lá phôi này là các tế bào tiền thân khác biệt với các tế bào đã biệt hóa. (B) Ở giai đoạn sớm của nòng nọc, da và hệ thần kinh được phát triển từ ngoại bì (đen), trong khi đó mô liên kết bao gồm xương, cơ và các tế bào tạo máu được phát triển từ trung bì (đỏ). Ruột và các cấu trúc hình túi bao gồm phổi, tụy và gan (đỏ). Sự phát triển của các động vật có dây sống đều theo sự sắp đặt này.

(Theo T.Mohun et al.; Cell 22;9-15, 1980)

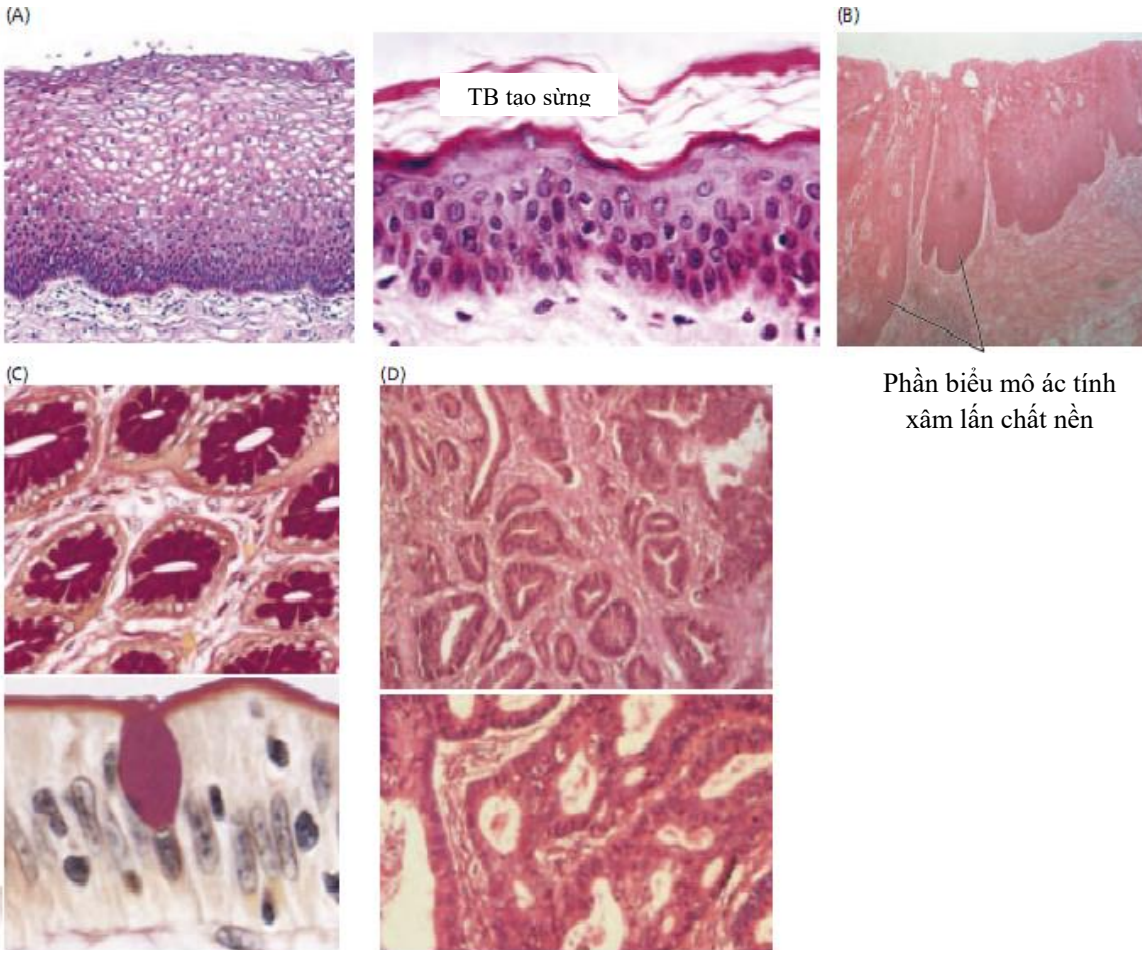
Các tế bào đệm và biểu mô của các mô khác nhau này hợp tác với nhau trong việc hình thành và duy trì các lớp biểu mô. Khi nhìn nhận theo quan điểm tiến hóa thì dường như là các cơ chế thuộc phôi học đối với việc tổ chức và cấu trúc của các mô biểu mô đã được phát minh rất sớm với khoảng trên 600 triệu năm qua và nguyên lý của các cơ chế này đã được tận dụng làm cho các mô và cơ quan có được muôn vàn chức năng sinh lý.

Hầu hết các carcinoma đều rơi vào 2 thể loại chính phản ánh 2 chức năng sinh học chủ chốt có liên quan đến biểu mô (Bảng 2.1). Một số lớp biểu mô chủ yếu là để ngăn cách các khoang hoặc các kênh ‘‘họ hàng’’ và bảo vệ các quần thể tế bào nền tảng (Hình 2.6). Các khối u nảy sinh từ các TB biểu mô hình thành nên các lớp TB bảo vệ này có tên là *carcinoma tế bào vảy (squamous cell carcinoma*). Ví dụ như tế bào biểu mô lót cho da – các *tế bào tạo sừng (karatinocyte)* và hầu hết các TB khoang (cavity) miệng sản sinh ra các khối u dạng này.

Nhiều biểu mô (thượng bì) cũng chứa các TB chuyên hóa tiết các chất vào trong các ống hoặc các khoang ‘‘họ hàng’’. Lớp các TB biểu mô này sinh ra ***adenocarcinoma.*** Thường thì các sản phẩm tiết này là để bảo vệ lớp TB biểu mô ở các khoang (*lumina*) mà chúng bao quanh (xem Hình 2.6). Vì thế, một số TB biểu mô lót phổi và dạ dày tiết ra các lớp nhày để bảo vệ chúng khỏi bị ăn mòn bởi nồng độ acid cao. Biểu mô trong một số cơ quan như phổi, tử cung, và cổ tử cung có khả năng thường xuyên nảy sinh ra các adenocarcinoma thuần khiết hay carcinoma tế bào vảy thuần khiết. Tuy nhiên, các khối u trong các cơ quan này lại phát hiện thấy có sự tồn tại của cả 2 dạng tế bào carcinoma.

**Bảng 2.1.** *Các carcinoma*

| **Các vị trí mô đối với các dạng thông thường của adenocarcinoma** | **Các vị trí mô đối với các dạng thông thường của carcinoma TB vảy** | **Các dạng khác của carcinoma** |
|---|---|---|
| Phổi | Da | Carcinoma phổi TB nhỏ |
| Kết tràng | Khoang mũi | Carcinoma phổi TB lớn |
| Vú | Miệng, hầu | Carcinoma TB gan |
| Tụy | Thanh quản | Carcinoma TB thận |
| Dạ dày | Phổi | Carcinoma TB chuyển tiếp |
| Thực quản | Thực quản | (hoặc bàng quang) |
| Tuyến tiền liệt | Cổ tử cung | |
| Màng trong tử cung | | |
| Buồng trứng | | |




**Hình 2.6** Biểu mô và các carcinoma biểu mô có thể được phân loại thành các dưới type (subtype) tùy thuộc vào hình dạng và chức năng của các TB biểu mô bình thường cũng như các carcinoma nảy sinh từ chúng. Điểm xuất phát của các carcinoma tế bào vảy và adenocarcinoma đã được chỉ ra ở đây. (A) các TB vảy bình thường thường có hình dẹt và có chức năng bảo vệ biểu mô và mô cơ bản ở phần lõi, hoặc trong trường hợp của da thì nó làm nhiệm vụ che chắn khỏi các tác động bên ngoài. Biểu mô vảy cổ tử cung (trái) và da (phải) được tổ chức khá giống nhau với các tế bào dẹt trưởng thành trên bề mặt liên tục bị rơi rụng (ví dụ các TB tạo sừng đã chết của da) và được thay thế bằng các TB ít biệt hóa hơn di chuyển lên trên và tiếp tục biệt hóa. (B) Trong carcinoma thực quản, các TB biểu mô vảy ác tính xâm lấn vào mô đệm/trung bì cơ bản. (C) Trong một số mô, các TB tuyến trong biểu mô tiết ra mucopolysaccharide để bảo vệ biểu mô ; ở các mô khác thì chúng tiết ra các protein với chức năng trong (các khoang) lumina của các ống để góp phần vào việc phân phối tới các vị trí xa hơn trong cơ thể. Những lỗ trên thành dạ dày được lót bằng các tế bào tiết chất nhày (đỏ sẫm, phía trên). Trong biểu mô của ruột non (dưới) là các tế bào đơn dẹt nhỏ li ti tiết chất nhầy (tím) được bao quanh bởi các TB biểu mô của type thứ 3- các TB hình trụ có liên quan đến việc hấp thu nước. (D) những adenocarcinoma này của dạ dày (trên) và kết tràng (dưới) thể hiện nhiều yếu tố ống, điều đó rõ ràng là chúng bắt nguồn từ biểu mô tiết như ở phần C.

(Theo B. Young et al, Wheater's functionl histology, Churchill Livingstone, 2003)

Các khối u ác tính còn lại thì nảy sinh từ các mô không biểu mô có ở khắp nơi trong cơ thể. Lớp chủ chốt nhất của các ung thư không biểu mô có nguồn gốc từ các mô liên kết, tất cả chúng đều có nguồn gốc từ trung bì (Hình 2.2). Những khối u này –

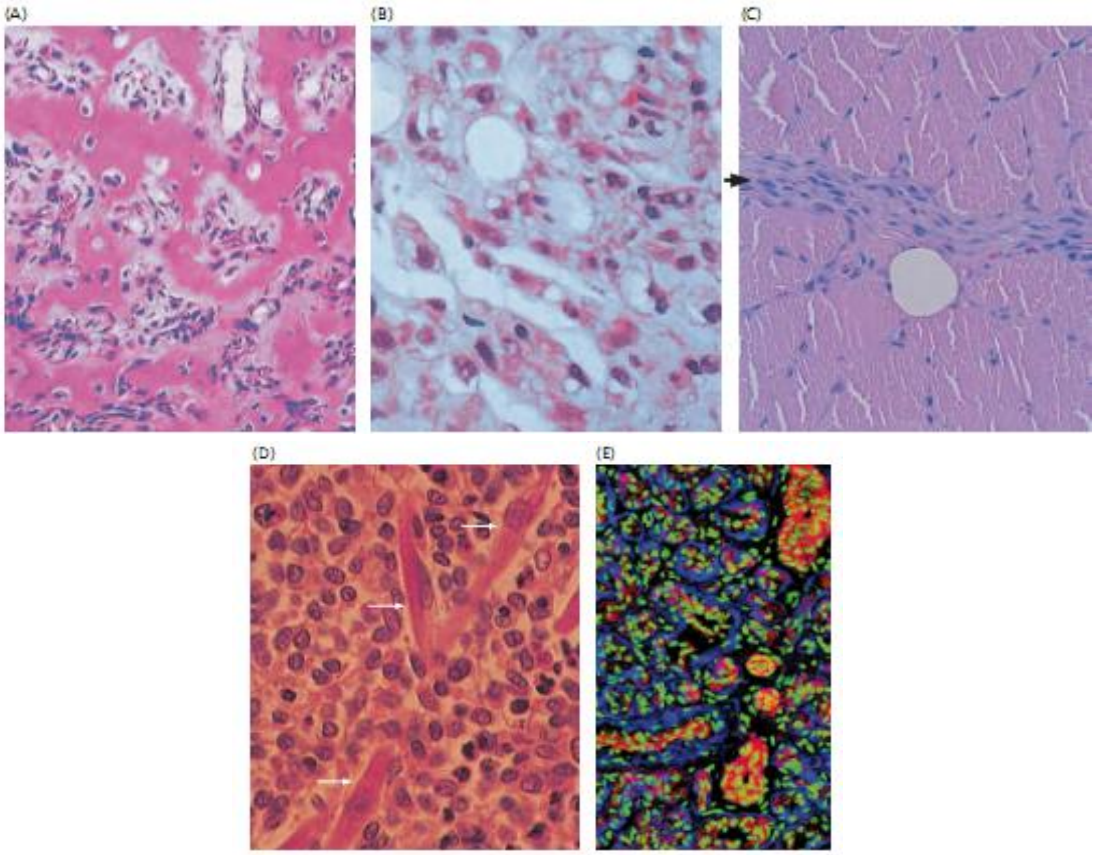
***sarcoma*** chỉ chiếm 1% các khối u gặp trong ung thư lâm sàng. Sarcoma cũng bắt nguồn từ nhiều dạng TB trung mô. Trong số đó có *nguyên bào sợi (fibroblasts)* và các dạng TB mô liên kết có liên quan, tiết ra collagen - thành phần cấu trúc chính chất nền ngoại bào của gân và da; các *tế bào tạo mỡ (adipocyte)* tích trữ các chất béo trong tế bào chất (tương bào); các *TB tạo xương (osteoblast*) lắp ráp các tinh thể calcium phosphate trong khung collagen để tạo xương và các *TB tạo cơ (myocte*) chịu trách nhiệm lắp ráp để tạo nên các cơ (Hình 2.7). Các u máu tương đối phổ biến ở trẻ em cũng nảy sinh từ các TB biểu mô. Các lớp nền của mô biểu mô bao gồm cả một số dạng TB trung mô này.

**Bảng 2.2.** *Các dạng sarcoma phổ biến*

| Dạng khối u | Suy đoán dòng tế bào cơ sở |
|---|---|
| Sarcoma xương (osteosarcoma) | Nguyên bào xương (TB hình thành xương) |
| Liposarcoma | Tế bào tạo mỡ |
| Leiomyosarcoma | Tế bào cơ trơn (ví dụ ở ruột) |
| Rhabdomyosarcoma | Tế bào vân/cơ xương |
| Malignant fibrous histocytoma | Tế bào tạo mỡ/cơ |
| Fibrosarcoma | Nguyên bào sợi (tế bào mô liên kết) |
| Angiosarcoma | Tế bào nội mô (lót thành mạch máu) |
| Chondrosarcoma | Tế bào tạo sụn |

Nhóm thứ 2 thuộc các khối u không biểu mô nảy sinh từ nhiều dạng tế bào kiến tạo máu tạo nên mô các *tế bào tạo máu (hematopoeetic),* bao gồm các tế bào hệ miễn dịch (Bảng 2.3 và Hình 2.8). Những tế bào này cũng bắt nguồn từ phôi trung mô. Trong số đó có tế bào có chức phận tạo *tạo hồng cầu*, các *TB tiết kháng thể (plasma),* cũng như các *lympho T và B*. Thuật ngữ *bệnh bạch cầu (leukemia)* (thường gọi là bệnh máu trắng) ám chỉ các bệnh ác tính bắt nguồn từ một số dòng tế bào tạo máu di chuyển tự do trong hệ thống tuần hoàn, đó là các tế bào không sắc tố. *U lympho (lymphoma)* bao gồm các khối u dòng lympho (lympho T và B) tụ tập thành các khối u rắn thường phát hiện thấy trong các hạch bạch huyết (chứ không phải là phân tán), các quần thể tế bào đơn của các tế bào khối u cũng thấy ở các bệnh bạch cầu. Lớp khối u này chiếm 7% số người chết liên quan đến ung thư ở Hoa Kỳ.

Nhóm thứ 3 và là nhóm chính cuối cùng của các khối u không biểu mô nảy sinh từ các tế bào hình thành nên các bộ phận khác nhau của *hệ thần kinh trung ương và ngoại biên* (Bảng 2.4). Những khối u này thường được gọi là u ngoại bì thần kinh, phản ánh nguồn gốc của chúng nằm ở lớp tế bào phía ngoài của phôi sớm. Bao gồm: *Glioma, gliobalstoma, neuroblastoma, schawannoma* và *medulloblastoma* (Hình 2.9). Mặc dù chỉ chiếm 1,3% các ung thư được chẩn đoán nhưng nó lại chiếm tới 2,5% số người chết liên quan đến ung thư.

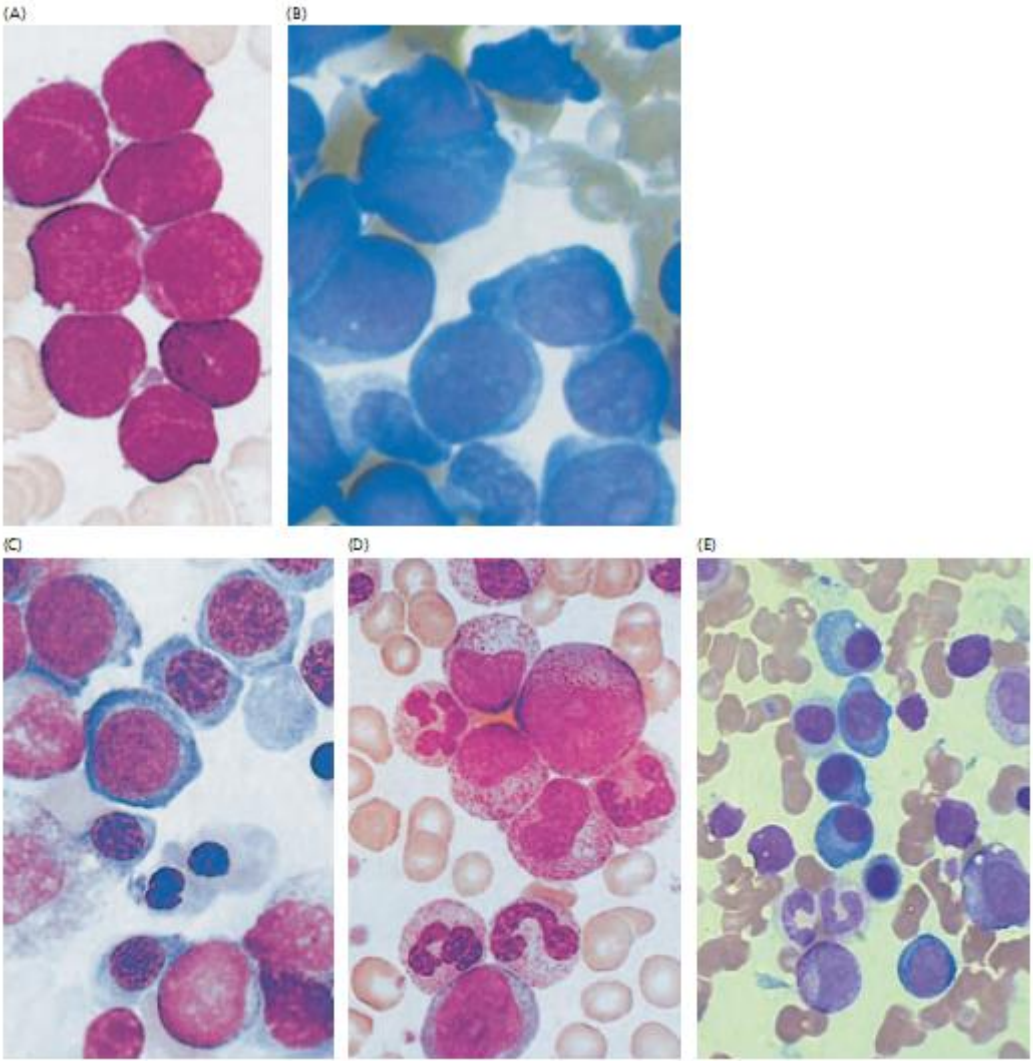



**Hình 2.7** Các khối u thuộc trung mô (A) osteosarcoma là các tế bào hình thành xương ác tính –các nguyên bào xương (nhân tím đậm) nằm giữa phần xương bị khoáng hóa (tím), chúng được kiến tạo trong chất nền ngoại bào. (B) liposarcoma nảy sinh từ các tế bào có quan hệ gần gũi với các tế bào tạo mỡ được dự trữ trong các khối cầu lipid nhỏ ở nhiều mô. Sự hiện diện của các khối cầu nhỏ khắp khối u này làm xuất hiện các bọt nhỏ. (C) leiomysarcoma này (mũi tên, nhân tím đậm) nảy sinh ở các tế bào tạo cơ trơn làm cho các tế bào khối u cá thể tăng trưởng lẫn với các sợi cơ bình thường lân cận (tím nhạt). (D) Rhabdomysarcoma nảy sinh từ các tế bào hình thành cơ xương/cơ vân; các tế bào ung thư (nhân đỏ thẫm) nhìn thấy ở đây nằm giữa các tế bào cơ bình thường (mũi tên). (E) Hemangioma- các khối u phổ biến ở trẻ em, có nguồn gốc từ các tế bào biểu mô tạo nên tấm lót cho lumina của các mạch máu lớn và nhỏ. Các mao quản đóng dày đặc trong các khối u đặc biệt được hình thành từ các tế bào biểu mô có nhân nhuộm màu xanh lá cây và bào tương nhuộm màu đỏ. Cũng giống như các tế bào biểu mô, các tế bào nội mô tạo nên màng cơ bản để chúng bám vào, ở đây là màu xanh.

(Theo A.T .Skarin, Atlast of Diagnostic Oncology, Elsevier Science Ltd, 2003)

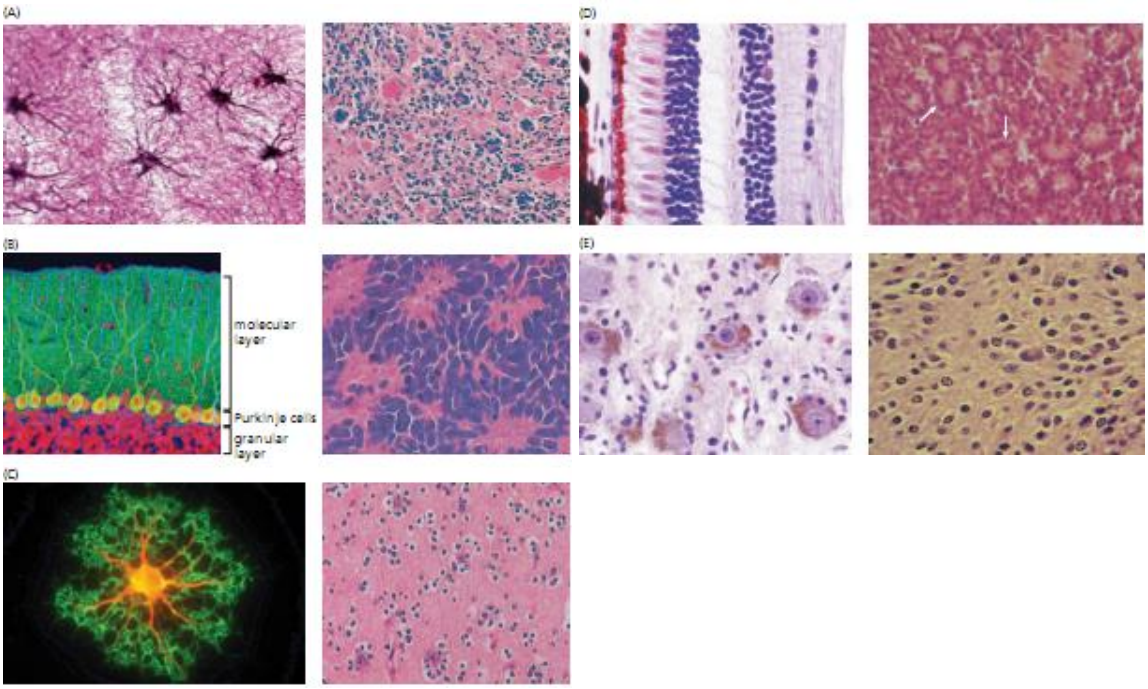
***Bảng 2.3*** *Các dạng ung thư liên quan tới sự tạo máu thường gặp*

| |
|---|
| Bệnh bạch cầu lympho cấp (acute lymphocytic leukemia) (ALL) |
| Bệnh bạch cầu tủy cấp (acute myelogenous leukemia) (AML) |
| Bệnh bạch cầu lympho mạn (chronic lymphocytic leukemia) (CLL) |
| Đa u tủy (multiple myeloma) (MM) |
| Lymphoma không Hodgkins (Non-Hodgkin’s lymphoma) (NHL) |
| Lymphoma Hodgkin (HL) |




**Hình 2.8 Các ung thư ác tính hệ tạo máu (Hematopoietic malignancy):** (A) Bệnh bạch cầu lympho cấp (acute lymphocytic leukemia –ALC) nảy sinh từ dòng tế bào B (80%) và tế bào T (20%). Các tế bào hình thành các khối u đặc biệt này (tím-đỏ) bộc lộ marker kháng nguyên chỉ rõ nguồn gốc từ tiền tế bào B. (B) giống như nhiều u ác tính hệ tạo máu, các tế bào bệnh bạch cầu dòng tủy cấp (AML) chỉ có một vành tương bào bao quanh nhân lớn. Chúng bắt nguồn từ các tế bào tiền thân của dòng tạo ra nhiều dạng tế bào có nhân cũng như các tế bào đơn nhân, đến lượt mình các tế bào đơn nhân lại phát triển thành đại thực bào, các tế bào tua (dendritic cell), nguyên bào xương và các tế bào thực bào đặc hiệu mô. (C) các hồng cầu lớn trong erythroleukomia (tím-đỏ) rất giống các tiền thân của các tế bào hồng cầu biệt hóa. (D) trong bệnh bạch cầu dòng tủy cấp (CML), nhiều tế bào ung thư dòng tủy (nhân đỏ) hiện lên rõ ràng, điều đó cho thấy có sự biệt hóa của các tế bào gốc thành một số dạng tế bào khác biệt. (E) Đa u tủy (MM) là u ác tính của các tế bào plasma (thuộc dòng tế bào B), chúng tiết ra các phân tử kháng thể, điều đó giải thích cho việc các tế bào là tương đối lớn vì để thực thi việc tiết các protein. Ở đây là các tế bào plasma của MM tại các gia đoạn khác nhau của sự biệt hóa (nhân tím). Trong một số khảo sát hiển vi thấy nhiều hồng cầu bắt màu nhẹ.

(Theo A.T. Skarin, Atlast of Diagnostic Oncology, Elseviet Science, 2010)

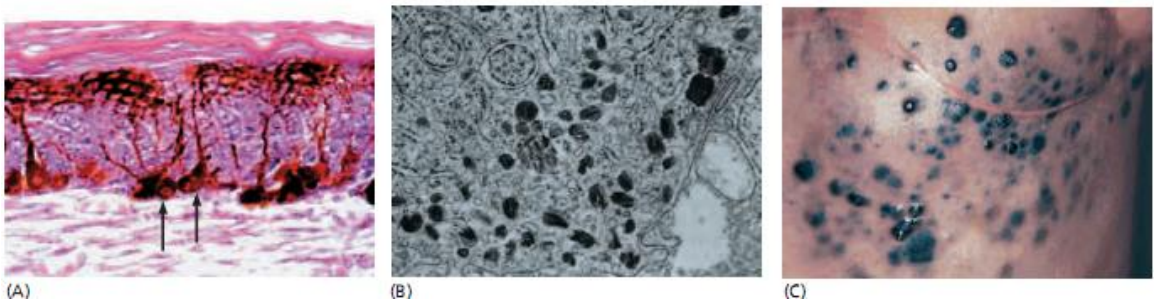



**Hình 2.9** U ngoại bì thần kinh (neuroectodermal tumor) (A) các tế bào hình sao – không phải là tế bào thần kinh, trợ giúp cho các tế bào của não bộ (tím đậm, trái) được cho là các tiền thân của các u tế bào hình sao (astrocytoma) và u nguyên bào (glioblastoma) (bên phải). U nguyên bào đa thể (glioblastoma multiforme) có tên như vậy là do nhiều dạng tế bào ngoại bì thần kinh khác biệt kiến tạo nên khối u. Các tế bào khối u dường như là nhân có kích cỡ khác nhau (tím). (B) các tế bào lớp hạt của tiểu não (trái) ngụ dưới các tế bào Purkinje và các tế bào ở vỏ tiểu não. Các tiền thân của của các tế bào hạt tạo nên u nguyên bào tủy (phải), các tế bào của chúng rất có khả năng biệt hóa thành các tế bào thần kinh, tế bào thần kinh đệm, và các tế bào thần kinh ngoại biên bắt màu (nhân đỏ tía, bào tương màu hồng). Khoảng 1/3 các khối u này biểu lộ rosette tế bào. (C) một u thần kinh đệm ít gai (phải) bắt nguồn từ các tế bào oligodendrocyte, các tế bào không thần kinh nguồn gốc ngoại bì trợ giúp và cách ly các sợi trục trong hệ thần kinh trung ương. Nhân của mọi tế bào khối u đều có quầng sáng bao quanh, đó là đặc trưng của khối u này. Các tế bào thần kinh đệm ít gai nuôi cấy (trái) lộ rõ nhiều nhánh (tua) (dendritic), mỗi nhánh lại gắn với một hoặc một vài sợi trục và tiếp tục hình thành nên một lớp vỏ myelin bao quanh các đoạn của các sợi trục này. Thân tế bào bắt màu miễn dịch (vàng/cam) đối với marker 04 oligodendrocyte, trong khi đó phần chóp của các tay tua (xanh lá cây) được nhuộm màu do CNPase, một enzyme có liên quan đến sự methyl hóa sợi trục. (D) Các tế bào hình que, hình nón và các dạng tế bào thần kinh khác (trái) kiến tạo nên các thành phần quan trọng của võng mạc bình thường. U nguyên bào võng mạc (phải) nảy sinh từ các tế bào có các thuộc tính của các tiền thân hiện diện trong quá trình phát triển bình thường của võng mạc. U nguyên bào võng mạc thường thể hiện đặc trưng rosette, ở đây được chỉ bằng các mũi tên. (E) Các tế bào hạch thần kinh giao cảm (các tế bào lớn, bên phải) sinh ra u nguyên bào thần kinh (phải) thường hay thấy ở trẻ em. Những tế bào khối u cá thể ở đây được bao quanh bởi mạng lưới fibrill dày đặc sinh ra từ quá trình xử lý thần kinh-bào tương được các tế bào thần kinh sử dụng để thông tin liên lạc với nhau.

(Theo H.Okazaki, B.W. Scheider, Atlast of Neuropathology, Elseviet Science, 2003)

## 2.3. MỘT SỐ DẠNG KHỐI U KHÔNG PHÙ HỢP VỚI CÁC CÁCH PHÂN LOẠI CHÍNH

Không phải tất cả các khối u đều rõ ràng được xếp vào một trong số 4 nhóm chính này. Ví dụ như với ***u hắc tố (melanoma)*** bắt nguồn từ các tế bào sinh sắc tố của biểu bì (malanocyte), các TB sắc tố của da và võng mạc. Đến lượt mình, các TB sinh hắc tố lại được nảy sinh từ một cấu trúc mô nguyên thủy có tên là *mào thần kinh (neuron crest).* Trong khi có nguồn gốc phôi gần với nguồn gốc của các TB ngoại bì thần kinh thì các tế bào melanocyte lại kết thúc sự phát triển với tư cách là các "du khách" định cư ở da và mắt, tạo sắc tố cho các mô này nhưng không kết nối trực tiếp với hệ thần kinh (Hình 2.10)




**Hình 2.10** Các tế bào tạo sắc tố và u hắc tố (melanoma) (A) các tế bào tạo sắc tố (mũi tên) tạo nên các hạt sắc tố melamin, thường phân tán giữa các tế bào tạo sừng cơ bản của da. Chúng mở rộng các quá trình trong bào tương để thông qua đó mà đưa những hạt này vào trong bào tương của các tế bào tạo sừng (xem Hình 2.6A). Các lớp sừng chết trên bề mặt da (trên) và các tế bào đệm (dưới) cũng rất rõ ràng. (B) các hạt sắc tố nhìn thấy ở đây là qua hiển vi điện tử, do vậy mà melanoma là một đối tượng hứng thú cho việc nghiên cứu bởi vì các di căn do chúng tạo nên rất dễ nhìn thấy (ví dụ ở hình 2.2A). Khi melanoma bắt đầu xâm lấn theo chiều vuông góc với lớp bề mặt da vào đến chất nền phía dưới thì có xu hướng cao dẫn tới di căn đến các mô xa hơn. (C) trường hợp melanoma da này chuyển thể thành di căn thì rất dễ dàng quan sát thấy vì những phần di căn đều bắt màu.

(Theo W.J. Bacha jr. et al, Atlast of veterinary histology, Wiley-Blackwell, 2012)

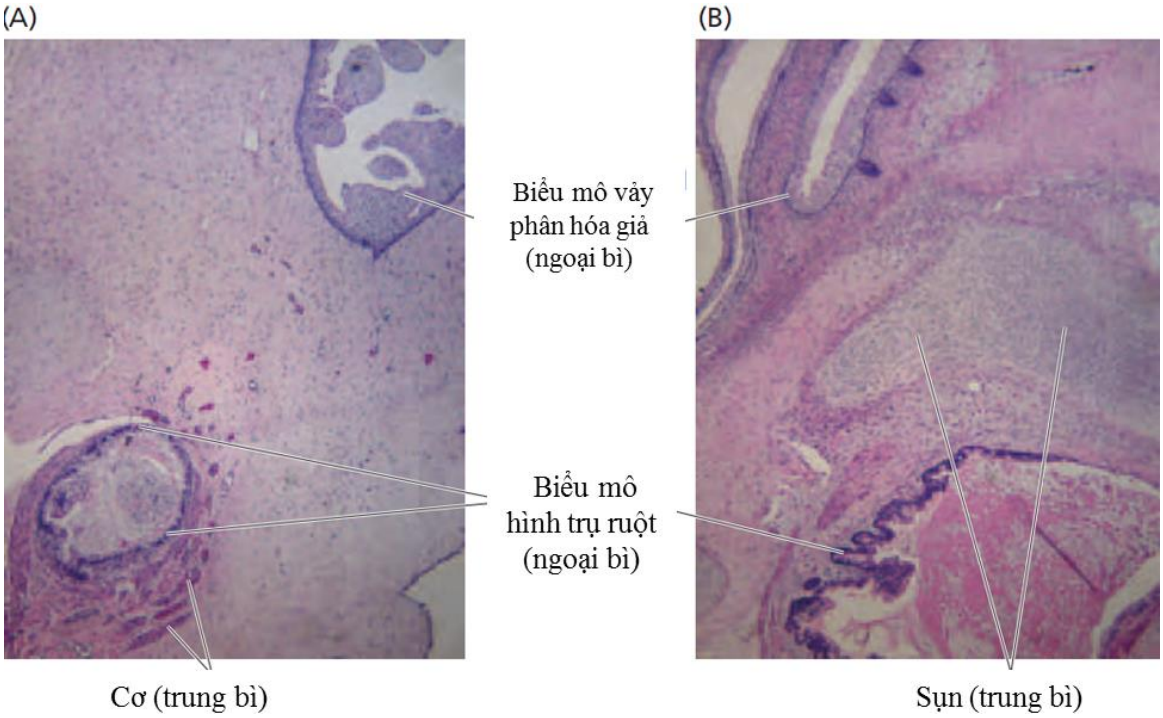
***Bảng 2.4.*** *Các dạng u ác tính ngoại bì thần kinh*

| Tên khối u | Dòng tế bào cơ sở |
|---|---|
| U đa nguyên bào (glioblastoma multiforme) | U tế bào hình sao tiến triển cao |
| U tế bào hình sao (astrocytoma) | Tế bào hình sao (dạng tế bào đệm) |
| U màng não (meningioma) | Các tế bào màng nhện của màng não |
| U sợi thần kinh (Schwannoma) | Tế bào nón trong võng mạc |
| U nguyên bào võng mạc (retinoblastoma) | Các tế bào của hệ thống thần kinh ngoại biên |
| U lớp lót khoang não tủy sống (ependymoma) | Các tế bào lót não bộ |
| U tế bào thần kinh đệm ít gai (oligodendroglioma) | Các tế bào thần kinh đệm ít gai phủ các sợi trục TK (axon) |
| U nguyên tủy bào (medulloblastoma) | Các tế bào hạt của tiểu não |

***Carcinoma phổi tế bào nhỏ (SCLC)*** có chứa các tế bào có nhiều thuộc tính của TB thần kinh thể tiết (neurosecretory cell) chẳng hạn như các tế bào thuộc mào thần kinh bắt nguồn từ tuyến thượng thận. Những tế bào như thế thường đáp ứng với các tín hiệu thần kinh, chúng tiết ra các peptide có hiệu lực sinh học. Tuy nhiên, vẫn chưa rõ là SCLC thường gặp ở những người hút thuốc thì liệu có nảy sinh từ các tế bào thần kinh ngoại bì (neuroectodermal cell) hay không?. Có nhiều khả năng các khối u này bắt nguồn từ các quần thể tế bào nội bì (endodermal cell) của phổi nhưng đã bị phai mờ một số đặc tính biểu mô của chúng và thế vào đó là các đặc tính của dòng thần kinh ngoại bì (neuroectodermal lineage).

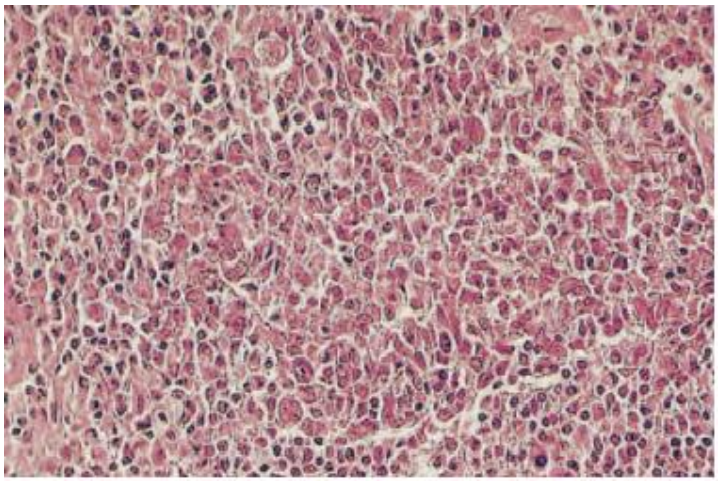
Quá trình chuyển đổi này của các dòng mô kết quả là đạt được một bộ mới các đặc trưng biệt hóa, thường gọi là ***biệt hóa không thể đảo ngược (transdifferentiation)***. Thuật ngữ này ngụ ý rằng có sự chuyển đổi tế bào trong quá trình phát triển phôi để trở thành dòng TB này hay dòng TB khác một cách không thuận nghịch, và dưới những điều kiện xác định thì các TB có thể dịch chuyển từ một dòng biệt hóa này thành một dòng biệt hóa khác. Sự biến đổi như vậy trong kiểu hình có thể ảnh hưởng tới cả các TB bình thường cũng như ung thư. Chẳng hạn như tại các giáp ranh của nhiều carcinoma, các TB ung thư biểu mô thường có sự thay đổi về hình dạng cũng như chương trình biểu hiện gen và đưa vào các thuộc tính của các TB đệm lân cận có nguồn gốc trung mô. Sự thay đổi mạnh mẽ này trong kiểu hình của tế bào được gọi là sự ***chuyển đổi trung-biểu mô (epithelial-mesenchymal transition),*** hoặc vắn tắt là **EMT**, ngụ ý nhấn mạnh tính mềm dẻo tuyệt vời của một bộ phận tế bào mà bình thường dường như là ứng xử như là các tế bào biểu mô. Sự chuyển đổi này thường hay đi cùng với sự xâm lấn của các tế bào carcinoma vào trong các mô bình thường lân cận.

Đối với các dạng khối u không điển hình thì các ***u quái (teratoma)*** được cho là kỳ lạ nhất trong tất cả các số đó. Hàng năm toàn thế giới chỉ chẩn đoán được 10.000 trường hợp u quái nhưng nó rất xứng đáng được chú trọng bởi vì chúng rất độc đáo và làm sáng tỏ được các đặc trưng về sinh học của các tế bào gốc phôi (EC), và vì vậy chúng trở nên vô cùng quan trọng đối với các nhà sinh học. Các u quái dường như là nảy sinh từ các tiền thân *tế bào mầm (germ cell)* (trứng và tinh trùng), chúng không di chuyển tới được các điểm đến thích hợp trong quá trình phát triển phôi và dừng ở các vị trí sai lạc (ectopic site) (không thích hợp). Tuy nhiên, chúng vẫn còn *tiềm năng đa năng (pluripotency)* của các tế bào phôi sớm- có khả năng sản sinh ra hầu hết và có thể nói là tất cả các mô có mặt ở thai nhi phát triển đầy đủ. Các tế bào ở mỗi bộ phận khác nhau của các u quái "trưởng thành" thông thường- phần lớn là u lành tính, nó biệt hóa-tăng trưởng một cách cục bộ để tạo ra các mô rất giống các mô đã thấy ở rất nhiều mô trưởng thành (Hình 2.11). Thường thì có 3 lớp tế bào đại diện của phôi là lớp nội bì, trung bì và ngoại bì (xem Hình 2.5) cùng tồn tại bên trong một khối u đơn và thường phát triển thành các cấu trúc có thể nhận dạng được như răng, tóc và xương. Thỉnh thoảng những khối u này cũng phát triển thành các khối u ác tính cao và đe dọa tính mạng con người.




**Hình 2.11** Các u quái (teratoma) được tạo ra bằng cách cấy các tế bào gốc của phôi (EC) vào chuột thu được một khối u bản sao kiểu hình (phenocopy) các u quái tự phát thường thấy ở trẻ em. Những khối u quái "trưởng thành" như thế có chứa các tế bào đã biệt hóa hoàn toàn và là các khối u cục bộ, không xâm lấn. Hai loại u quái này (A,B) chỉ các "ứng xử" đặc biệt của các khối u này, trong đó các thành phần khác nhau của khối u này bắt nguồn từ tất cả 3 lớp tế bào phôi sớm như ở hình 2.5.

(Theo Courstery of Sumita Gkhale)



**Hình 2.12** Các khối u không phân hóa nguồn gốc không rõ ràng. Sự biểu hiện tổ chức học của các khối u không phân hóa như được thể hiện ở đây chỉ rõ phần nào về mô cội nguồn của nó. Các nhà nghiên cứu đã cố gắng xác định nguồn gốc của các tế bào này với kỹ thuật nhuộm kháng thể nhận dạng một cách chuyên biệt các protein marker đặc hiệu với mô này hay mô khác.

(Theo A.T. Skarin, Atlast of Diagnostic Oncology, Elservier Science, 2003)

Điều đặc biệt quan tâm là trên thực tế khi phân tích một cách cẩn thận bản đồ nhiễm sắc thể cũng như các phân tích phân tử các u lành tính, u quái trưởng thành đã chỉ rõ rằng các tế bào khối u liên quan đều là *dạng hoang dã về mặt di truyền*. Điều này gợi lên rằng, các TB u quái là đặc biệt duy nhất, nó là dạng TB sinh khối u nhưng hệ gen của nó hoàn toàn là hoang dã, trái ngược hẳn với các TB của tất cả các dạng u khác là mang rất nhiều biến đổi di truyền.

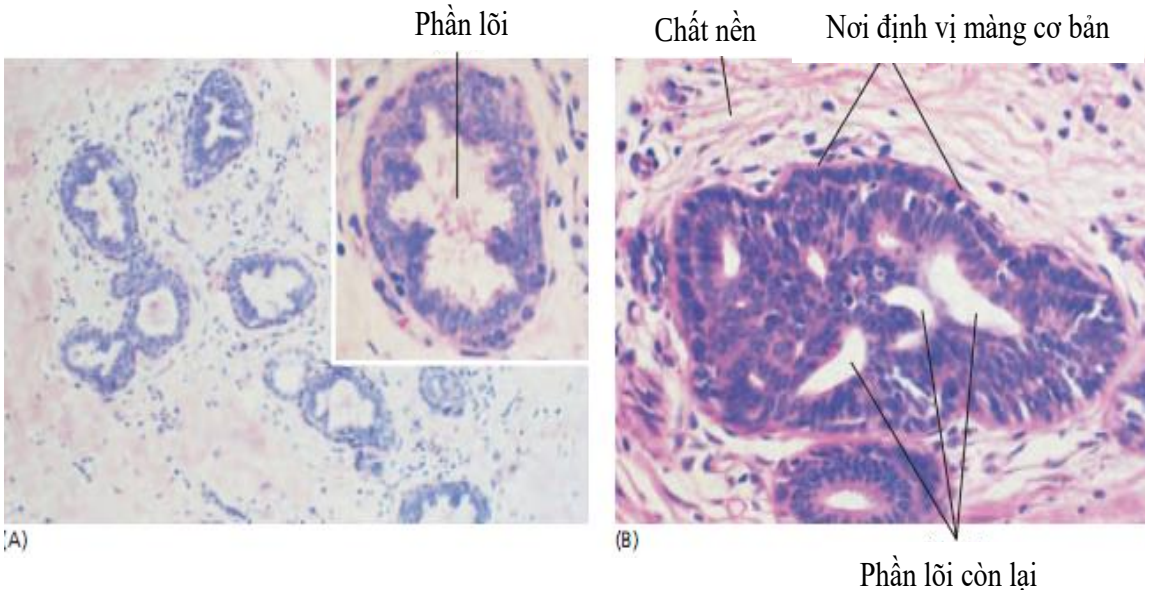
Đôi khi cũng có những ngoại lệ phá vỡ các quy tắc, như các u quái và các sản phẩm EMT cũng không làm mất đi một nguyên lý sinh học lớn dường như là chi phối phần lớn các ung thư đó là: trong khi các TB ung thư đi chệch một cách đáng kể trong cách ứng xử so với các tiền thân của các TB bình thường thì các loại u này *luôn giữ lại một số thuộc tính riêng biệt của các dạng TB bình thường đã sinh ra chúng*. Những thuộc tính này đã cung cấp các manh mối đặc biệt về nguồn gốc của hầu hết các khối u; cho phép các nhà nghiên cứu bệnh học xác định được các sinh thiết khối u dưới điều kiện hiển vi và chỉ ra được các mô gốc cũng như phân loại được các khối u ngay cả khi chưa biết trước các vị trí giải phẫu mà từ đó các sinh thiết này được chuẩn bị.

Trong một số ít các trường hợp (2-4%) các khối u đã cho phép các nhà nghiên cứu bệnh học phân tích hầu như tất cả các đặc điểm biệt hóa, đặc hiệu mô của các mô tiền thân bình thường của chúng. Dạng khối u này thường được xếp loại là các *ung thư tiên phát chưa rõ nguồn gốc (cancer of unknown primary- CUP),* điều đó cũng phản ánh được những khó khăn trong việc xác định vị trí gốc hình thành nên các khối u trên bệnh nhân.

## 2.4. CÁC UNG THƯ DƯỜNG NHƯ PHÁT TRIỂN MỘT CÁCH LŨY TIẾN

Giữa 2 cấu trúc mô ác tính cực kỳ cao và mô hoàn toàn bình thường là một dãy các mô trung gian. Sự phân cấp thành các bậc khác nhau về các bất thường có thể phản ánh một cách rõ ràng là các quần thể tế bào có sự tiến hóa lũy tiến về cách ứng xử cũng như sự tấn công ở các mức độ tăng dần. Vì thế, mỗi dạng tăng trưởng bất thường bên trong một mô đều có thể đại diện cho một bước riêng biệt trong con đường tiến hóa.

Một số tăng trưởng có chứa các TB chỉ đi chệch một cách tối thiểu khỏi sự tăng trưởng của các TB bình thường, tuy nhiên nó lại có thể là bất thường khi mà ở đó chứa đựng một lượng dư thừa quá mức các tế bào. Những sự tăng trưởng như thế có tên là ***tăng sản (hyperplastic)*** (Hình 2.13). Mặc dù rõ ràng chúng là tăng sinh không kiểm soát, nhưng các TB hình thành nên sự tăng sản vẫn có khả năng lắp ráp thành các mô bình thường.

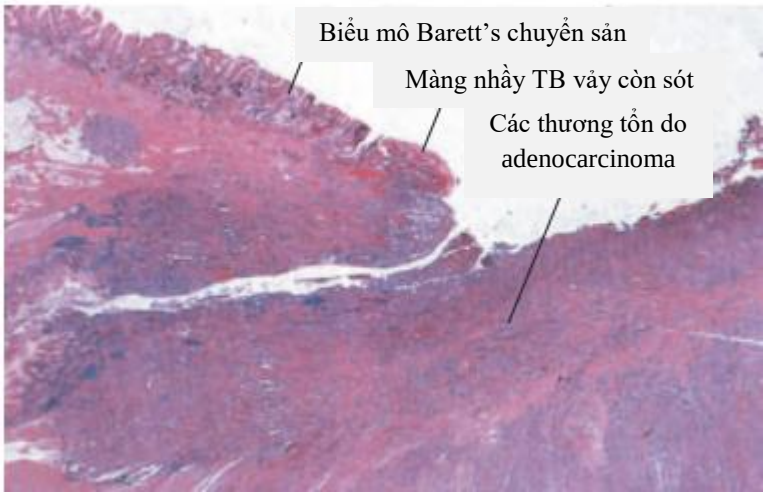



**Hình 2.13** *So sánh giữa biểu mô tăng sản và biểu mô bình thường.*

Hình thái học biểu mô ống bình thường của tuyến vú (xem Hình 2.18) có thể so sánh được các mức độ khác nhau về sự tăng sản. (A) trong các ống sữa tăng sản nhẹ cho thấy có sự to ra ít và to ra nhiều, các tế bào biểu mô vú đã hình thành nên các cột lớn nhô ra khỏi lumina. (B) ống tuyến vú tăng sản hơn thể hiện các TB biểu mô chật ních và lấp đầy hầu hết phần lõi. Tuy nhiên, chúng lại không chọc thủng màng cơ bản (không nhìn thấy được) và xâm lấn vào phần chất nền xung quanh.

(Theo A.T.Skarin, Atlast of Diagnostic Oncology, Elsevier Science, 2003)

Nếu độ lệch tăng sản là tối thiểu so với bình thường thì gọi là ***dị sản (metaplasia),*** ở đó lớp tế bào bình thường được thay thế bằng một dạng tế bào khác mà bình thường không gặp ở đây. Những xâm lấn này mặc dầu hiện diện sai vị trí nhưng nó vẫn xuất hiện hoàn toàn bình thường dưới kính hiển vi. Dị sản thường xuyên nhất là tại các vùng chuyển đổi biểu mô, ở đó đáng lẽ là biểu mô thì lại là một dạng tế bào khác. Các vùng chuyển đổi như thế cũng thường thấy ở vùng giáp nối giữa cổ tử cung và tử cung hay vùng giáp nối giữa thực quản và dạ dày. Ở cả 2 vị trí, biểu mô vảy thường trải qua một quá trình chuyển đổi đột ngột thành biểu mô tiết nhày. Chẳng hạn như một dấu hiệu sớm của biến đổi tiền ác tính trong thực quản là sự chuyển đổi có tên là *thực quản Barett*, trong đó biểu mô vảy thường vẫn hiện diện sẽ được thay thế bằng một dạng tế bào biểu mô tiết thường thấy trong dạ dày (Hình 2.14). Mặc dầu các TB dạ dày này xuất hiện khá bình thường, nhưng sự dị sản này được coi như là một bước sớm trong quá trình phát triển adenocarcinoma thực quản. Thực sự thì số bệnh nhân thực quản Barett đã làm tăng 30 lần nguy cơ phát triển các khối u ác tính cao.



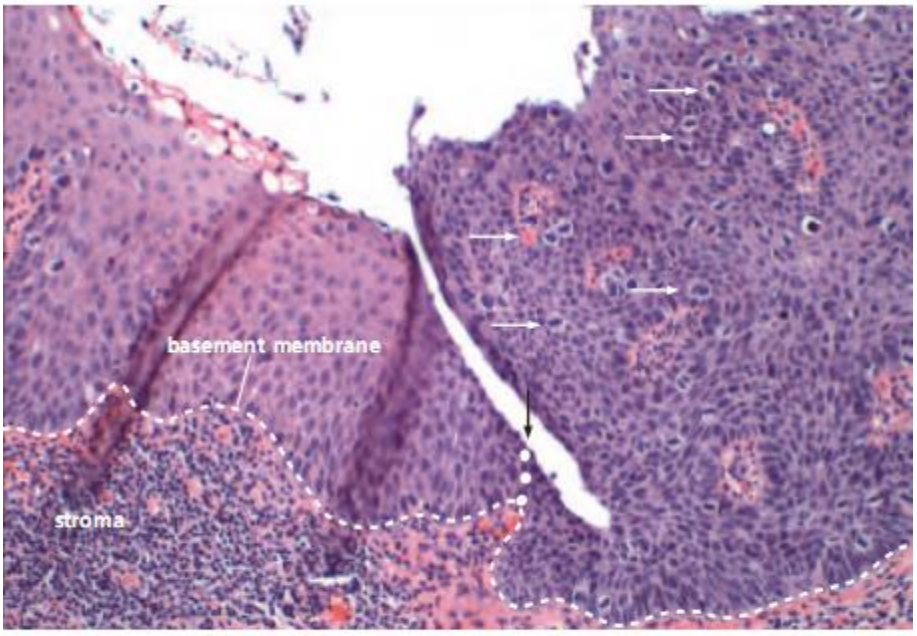

**Hình 2.14** Sự chuyển đổi biểu mô của dị sản. Trong một số trường hợp tiền ung thư, biểu mô thường hiện diện được thay thế bằng biểu mô từ một mô lân cận- quá trình dị sản. Chẳng hạn như trong thực quản Barett thì các TB vảy thường lót ở thành thực quản được thay thế bằng các tế bào tiết di chuyển từ phần lót dạ dày (biểu mô barett's dị sản). Sự dị sản đặc biệt này được kích thích bởi sự trào ngược acid mạn tính từ dạ dày có thể thành tổn thương tiền thân đi đến carcinoma thực quản, ở đây là phát triển từ các tế bào cội nguồn là dạ dày.

(Theo A.T.Skarin, Atlast of Diagnostic Oncology, Elsevier Science, 2003)

Với các mô chỉ hơi bất thường một chút thì gọi là ***loạn sản (dysplasia).*** Các tế bào trong loạn sản thường là có sự *bất thường về tế bào học*; điều đó có nghĩa là có xuất hiện các tế bào cá thể không còn là bình thường. Những thay đổi về tế bào học bao gồm: biến đổi về hình dạng và kích cỡ nhân, tăng bắt màu nhân bởi thuốc nhuộm, tăng tỷ lệ kích cỡ nhân/tế bào chất, tăng sự phân bào và không thể hiện các đặc trưng tế bào chất có liên quan tới các tế bào biệt hóa bình thường của mô (Hình 2.15). Trong các loạn sản có khá nhiều dạng tế bào mà thường vẫn thấy trong mô bình thường thì nay không quan sát thấy. Cùng với những sự thay đổi này ở các tế bào cá thể thì có nhiều TB đã bị ảnh hưởng tới cấu trúc tổng thể của mô. Loạn sản được coi như là *trạng thái chuyển tiếp giữa tăng trưởng hoàn toàn bình thường sang tiền ác tính.*

Thậm chí còn bất thường hơn là các tăng trưởng thấy ở biểu mô có tên là **adenoma** như *polyp, polyp adenoma, u nhú (papilloma) và mụn cóc ở da* (Hình 2.16). Những thể loại này thường tăng trưởng nhanh có thể phát hiện được bằng mắt thường bao gồm tất cả các dạng TB thấy ở mô biểu mô bình thường, nhưng sự hoạch định này của TB đã vạch sẵn theo một chương trình, tạo nên các khối u lớn. Dưới kính hiển vi, các mô bên trong các tăng trưởng adenoma này đều là loạn sản. Các mô này thường tăng trưởng tới một kích cỡ xác định, sau đó dừng tăng trưởng và tôn trọng biên giới

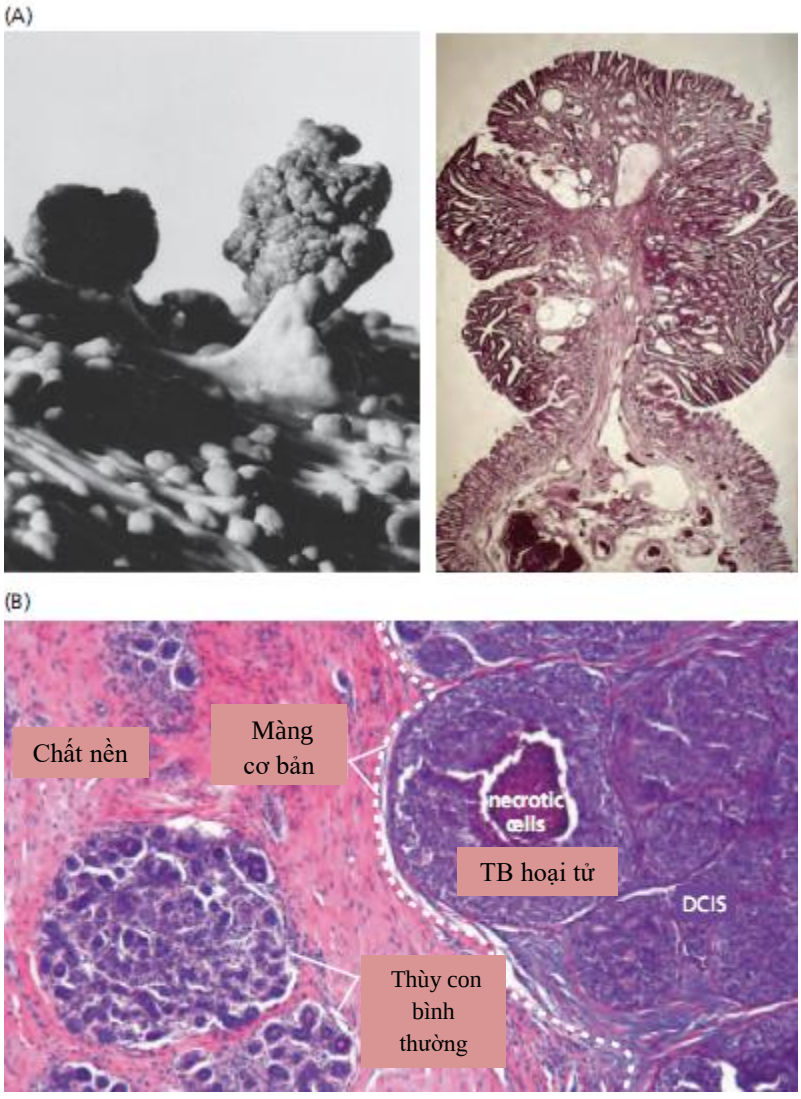
được tạo ra bởi màng cơ bản, rồi chúng tách biệt khỏi chất nền cơ bản. *Vì tăng trưởng adenoma không xuyên qua màng cơ bản và xâm lấn lớp mô phía dưới nên được coi là các u lành.*




**Hình 2.15** Sự hình thành biểu mô loạn sản. Trong ung thư biểu mô vảy cổ tử cung (đường chấm trắng bên phải, mũi tên đen). Các tế bào biểu mô không bị vỡ (không nhìn thấy, được chỉ ra nhờ đường chấm trắng) và xâm lấn vào phần chất nền phía dưới. Những tế bào trong loạn sản này tiếp tục đóng dày đặc tất cả con đường tới bề mặt lumina (trên), trái lại các tế bào này khó phân tán được vào lớp biểu mô bình thường (trái), bào tương (hồng nhạt) tăng kích cỡ như là các tế bào biệt hóa. Nhiều hình ảnh phân bào cũng rất rõ ràng trong loạn sản này (mũi tên trắng), cho thấy có sự tăng sinh mạnh.

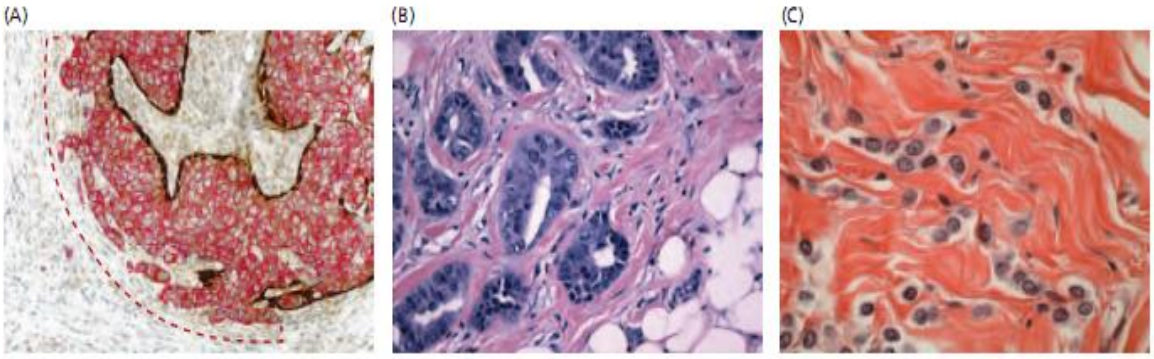
(Theo Courtery of Tan A. Ince)

Mức độ bất thường khác được đại diện bởi các tăng trưởng để xâm lấn vào các mô phía dưới. Trong trường hợp các TB **carcinoma** thì sự xâm nhập này báo hiệu rằng tại thời điểm này các tế bào carcinoma đã vượt qua màng cơ bản và xâm lấn vào chất nền lân cận (Hình 2.17). Ở đây lần đầu tiên có sự chạm trán với các TB ác tính có tiềm năng đáng kể đe dọa sự sống. Các nhà ung thư học lâm sàng và phẫu thuật thường dành riêng từ ***ung thư (cancer)*** cho những trường hợp này cũng như các trường hợp tăng trưởng bất thường hơn nữa. Bộ sưu tập các tăng trưởng cả lành tính và ác tính đều gọi chung là ***u (neoplasm),*** tức là các dạng mới của mô (đôi khi còn thay thế neoplasm thành các khối u ác tính (maglinant tumor). Sơ đồ tóm tắt phân loại bệnh lý học các khối u được trình bày trên Hình 2.18.




**Hình 2.16** Adenoma và carcinoma tiền xâm lấn. Các tăng trưởng adenomatous được gọi là các polyp trong các cơ quan xác định, mà hình thái học làm cho nó phân biệt được giữa biểu mô quá sản và biểu mô bình thường. (A) trong đại tràng, các tăng trưởng tiền xâm lấn xuất hiện ở thành đại tràng (polyp không cuống, không được thể hiện) hoặc tăng trưởng giống hình thân cây (polyp có cuống) ảnh (bên trái) và qua hiển vi (phải). Những sự tăng trưởng này cũng được gọi là adenoma, không xuyên qua màng cơ bản và xâm lấn vào chất nền phía dưới. (B) Các thùy con của vú người bình thường (các đảo màu hồng, nửa hình bên trái), mỗi thùy có rất nhiều túi nhỏ trong đó sữa được tạo ra, được bao quanh bởi phần nền sợi trải rộng (tím). Các tế bào carcinoma bên trong ống (intraductal) thường gọi là carcinoma *in situ* (DCIS; màu hồng, bên phải), các ống bị sưng tấy và bít lại nhưng không xâm lấn qua màng cơ bản bao quanh các ống trong chất nền. Giữa các ống này là đảo các tế bào carcinoma hoại tử (đỏ đậm) đã chết.

(Theo Courtery of John Northover and cancer research, UK)




**Hình 2.17** Carcinoma xâm lấn. Các khối u được xem như là ác tính chỉ sau khi chúng chọc thủng màng cơ bản và xâm lấn vào chất nền xung quanh. (A) các TB ung thư vú này (đỏ thẫm) đã kiến tạo trước một carcinoma in situ (DCIS) (xem hình 1.16B), nay đã làm vỡ một mảng lớn lớp TB biểu mô cơ (nâu đậm) và dính vào màng cơ bản phía dưới (không nhìn thấy) vào tận chất nền; điều đó chỉ rõ, chúng đã thu nhận được một hình ảnh mới: xâm lấn. (B) sau khi xuyên thủng màng cơ bản, các TB ung thư xâm lấn có thể xuất hiện với các cấu hình khác nhau ở giữa chất nền. Trong carcinoma ống xâm lấn của vú, các đảo TB ung thư biểu mô (tím đậm) rải thêm vào giữa chất nền (hồng đậm). Bản chất ống của carcinoma được vạch rõ là do nhiều ống cơ bản được hình thành bởi các TB ung thư vú. (C) trong carcinoma nhiều thùy xâm lấn này của vú thì các tế bào carcinoma cá thể (nhân tím đậm) đã mạo hiểm vào tận bên trong chất nền (đỏ da cam), sự việc này vẫn thường xảy ra trong quá trình hình thành carcinoma.

(Theo F.Koerner, Diagnostic Problems in Breast Pathology, Elsevier, 2008)

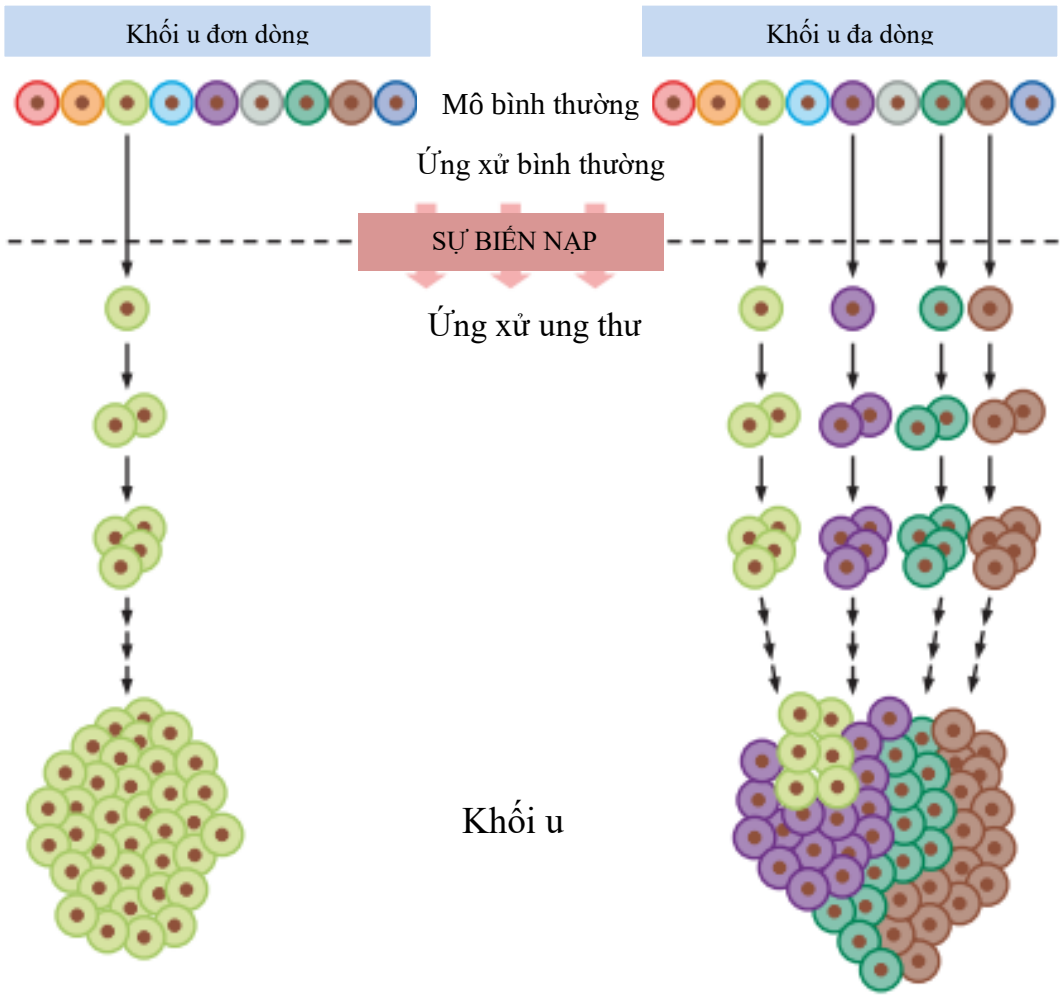
Như đã đề cập ở trên, các tế bào khối u tiên phát được tạo ra đầu tiên có thể gieo những "bầy đàn" (colony) u mới ở những vị trí xa hơn trong cơ chế thông qua quá trình di căn. Quá trình này bản thân nó đã cực kỳ phức tạp và phụ thuộc vào khả năng của các TB ung thư với việc xâm lấn các mô lân cận để đi vào máu và mạch bạch huyết, di chuyển qua những mạch này tới các vị trí giải phẫu xa hơn rồi rời khỏi mạch và xâm lấn vào các mô bên dưới và sáng lập ra các bầy đàn TB ung thư mới ở vị trí xa hơn.

Tuy nhiên, mối liên hệ sản phẩm tiền thân của những sự tăng trưởng này (tức là từ bình thường → tăng sản →loạn sản →ung thư→ di căn) cũng chỉ là dựa trên giả định chứ chưa được chứng minh.

## 2.5. KHỐI U LÀ SỰ TĂNG TRƯỞNG ĐƠN DÒNG

Thậm chí nếu chúng ta quan niệm rằng, các khối u nảy sinh thông qua sự biến đổi lũy tiến của các TB bình thường thì vẫn còn một câu hỏi chưa có câu trả lời đó là: ***bao nhiêu TB bình thường là tổ tiên của các tế bào tập hợp thành một khối u*** (Hình 2.19).

Các TB khối u khởi nguồn từ một TB tổ tiên liệu có vượt qua được ranh giới từ bình thường thành tăng trưởng bất bình thường hay không? Hoặc một tập hợp lớn các TB bình thường có trải qua sự biến đổi này thì mỗi TB có trở thành tổ tiên của một tiểu quần thể các TB riêng biệt bên trong khối u hay không ?




**Hình 2.19** *So sánh các khối u đơn dòng và đa dòng*

Về mặt lý thuyết, các khối u có thể cội nguồn là đa dòng hay đơn dòng. Trong khối u đa dòng (phải) nhiều tế bào vượt qua ranh giới từ bình thường tới ác tính để trở thành tổ tiên của một số tiểu quần thể tế bào phân biệt về mặt di truyền trong khối u. Trong u đơn dòng (trái) chỉ có một tế bào đơn được biến nạp từ cách ứng xử bình thường sang ứng xử ung thư để trở thành tổ tiên của các tế bào trong khối u.

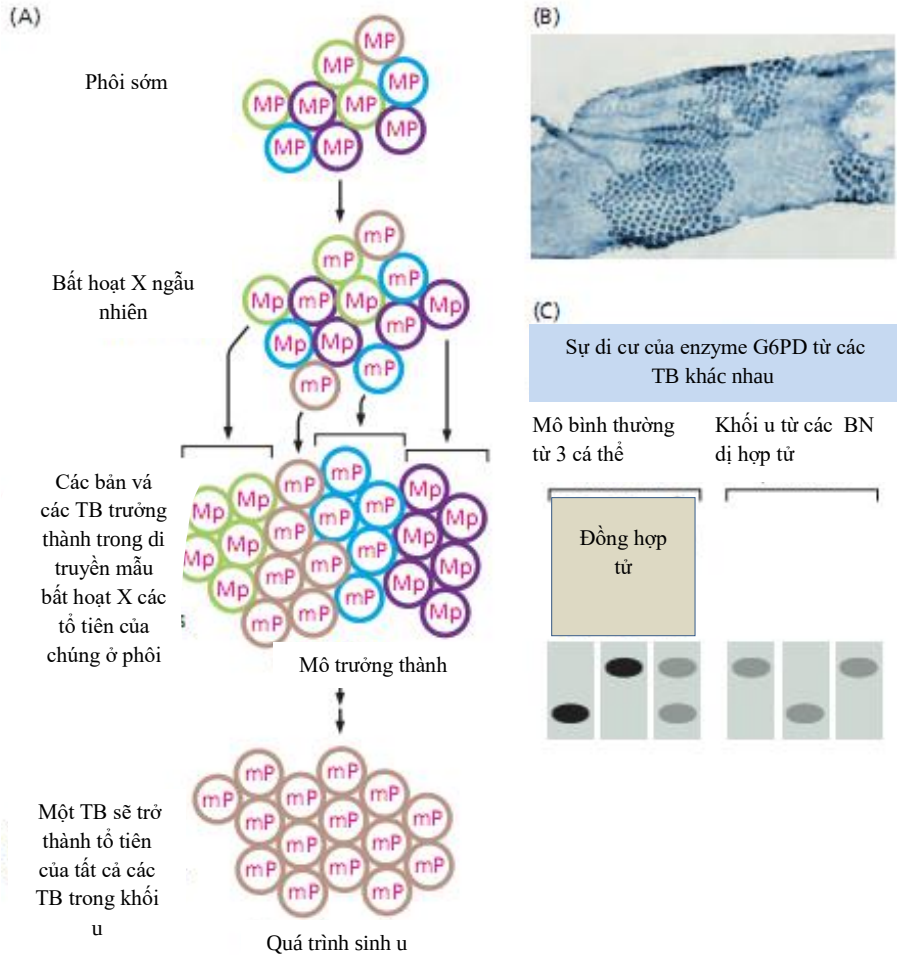
(Theo Robert A. Weinberg, The Biology of Cancer, Garland science, 2014)

Cách hiệu quả nhất giải quyết vấn đề là xác định xem liệu tất cả các TB trong một khối u có chung các marker hóa sinh hay các đặc tính di truyền đặc hiệu cao hay không. Vậy thì, một quần thể TB mà tất cả đều bắt nguồn từ một TB tổ tiên bình thường thì gọi là ***đơn dòng (monoclonal).*** Ngược lại, nếu khối u bao gồm hàng loạt các tiểu quần thể phân biệt về mặt di truyền mà không có dấu hiệu là chung nguồn gốc thì được coi là ***đa dòng (polyclonal).***

Các thí nghiệm đầu tiên được thiết kế để trắc lượng bản sao (clonality) các quần thể TB khối u phụ thuộc thực sự vào các sự kiện xảy ra một cách tự nhiên, mà không phụ thuộc vào gen (nongenetic) gọi là ***epigenetic***.

Dòng của một tế bào có thể được theo sau bởi các khảo sát *in vivo* từ một tổ tiên phôi thai của nó thì gọi là sự ***truy lùng dòng dõi (lineage tracing).*** Gen glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) định vị trên nhiễm sắc thể X và trên 30% phụ nữ Hoa Kỳ gốc Phi là dị hợp tử ở locus này. Như vậy, chúng mang 2 allele quy định hình thức của enzyme này (có thể được phân biệt bằng điện di trên gel tinh bột hoặc bằng độ nhạy với sự bất hoạt do nhiệt). Vì sự yên lặng của nhiễm sắc thể X nên mỗi TB ở những phụ nữ dị hợp tử này sẽ chỉ biểu hiện allele này hoặc allele khác của gen G6PD (Hình 2.20). Trong hầu hết các mô của chúng, một nửa số tế bào sẽ tạo nên một biến thể enzyme, trong khi đó một nửa khác lại tạo ra một biến thể khác. Năm 1965, nhiều quan sát được báo cáo là ***leimyomas*** (u lành tính của thành tử cung) trong các dị hợp tử của người Mỹ gốc Phi. Trong đó, mỗi leiomymas đều biểu hiện một cách bất biến dạng biến thể này hay biến thể khác của enzyme G6PD. Điều đó có nghĩa là, tất cả hậu duệ chúng đều có dòng dõi từ một *tổ tiên sáng lập đơn (single founding progenitor*) chỉ biểu hiện allele đặc hiệu đó.

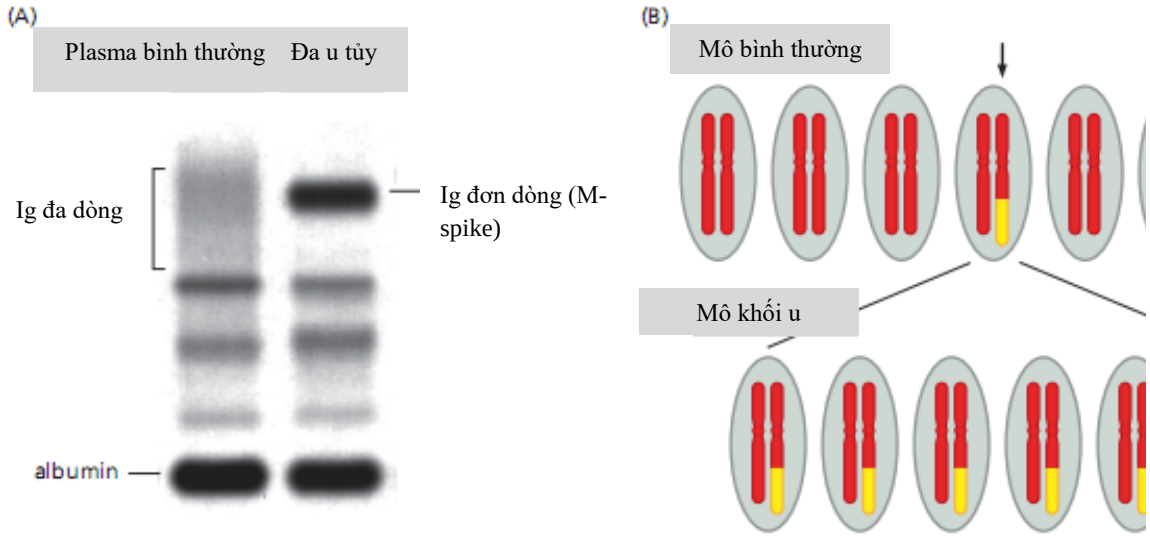
Chứng minh đầu tiên về trạng thái đơn dòng (monoclonality) của các khối u được rút ra từ sự quan sát *u tủy (myeloma)* phát sinh từ các tiền thân tế bào B của các tế bào plasma sinh kháng thể. Như một quy luật, rõ ràng là các tiền thân tế bào B bao hàm hàng trăm, hàng nghìn đến hàng triệu các tiểu quần thể riêng biệt, mỗi tiểu quần thể đều biểu hiện các phân tử kháng thể đặc hiệu của nó, đó là hệ quả của sự sắp xếp lại gen kháng thể đặc biệt (immunoglobulin). Thế nhưng, tất cả các tế bào B trong một bệnh nhân lại sản xuất ra các phân tử kháng thể giống hệt nhau, điều đó cho thấy nguồn gốc của chúng là từ một tổ tiên đơn thông thường đã hiện diện nhiều năm trong quần thể tế bào dị hợp tử phức tạp này (Hình 2.21A).




**Hình 2.20** Mẫu nhiễm sắc thể X bất hoạt và tính đơn dòng (monoclonality) của các khối u. (A) trong khi phôi nữ giới bắt đầu với cả 2 nhiễm sắc thể X ở trạng thái hoạt hóa như nhau thì một trong 2 nhiễm sắc thể X được di truyền từ mẹ (M) hoặc từ bố (P) sớm bị bất hoạt một cách ngẫu nhiên. Sự bất hoạt như thế làm yên lặng sự biểu hiện của hầu hết các gen trên nhiễm sắc thể đó. Ở người trưởng thành, tất cả hậu duệ trực hệ của một TB phôi đặc biệt sẽ tiếp tục bất hoạt nhiễm sắc thể X. Ở đây, cơ thể trưởng thành của phụ nữ được tạo nên từ các bản vá (patche) (các dòng) tế bào dạng Mp và các bản vá dạng mP, ở đó các chữ viết thường biểu thị trạng thái bất hoạt. (B) hai dạng allele của glucose -6-phosphate dehydrogenase (G6PD) được mã hóa bởi một gen trên nhiễm sắc thể X khác nhau về sự nhạy cảm với bất hoạt do nhiệt. Vì vậy, sưởi ấm nhẹ nhàng các mô từ một dị hợp tử- trong trường hợp này là một lát cắt của ruột đã bộc lộ các miếng vá của các tế bào mang biến thể enzyme vẫn còn hoạt hóa nhưng kháng nhiệt (những điểm xanh đậm) giữa các miếng vá không mang biến thể enzyme. Các tế bào trong mỗi miếng vá đều đi từ một tế bào phôi đã bất hoạt nhiễm sắc thể X từ bố hoặc từ mẹ. (C) dùng điện di trên tinh bột giải quyết việc 2 dạng G6PD đã chỉ rõ rằng tất cả các tế bào ung thư trong một khối u từ một bệnh nhân dị hợp tử G6PD đều biểu hiện cùng phiên bản của enzyme này. Điều này chỉ rõ, chúng có khả năng bắt nguồn từ một tế bào tổ tiên thông thường đã có sẵn mẫu X bất hoạt đặc biệt này, điều đó cho thấy các tế bào ung thư trong một khối u đã kiến tạo nên những sự tăng trưởng đơn dòng.

(Theo M. Novelli et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2003)

Có lẽ minh chứng sinh động nhất về trạng thái đơn dòng của khối u bắt nguồn từ các tế bào ung thư với rất nhiều biến đổi NST là sự quan sát qua hiển vi khi NST cô đặc lại ở trung kỳ mitosis. Thường thì một bất thường NST rất đặc biệt- kết quả hiển nhiên của một tai nạn di truyền hiếm gặp –thường thấy ở tất cả các TB trong một khối u (xem Hình 2.21B). Quan sát này đã làm sáng tỏ rằng tất cả các tế bào ác tính trong khối u bắt nguồn từ một tế bào tổ tiên đơn này có xảy ra sự tái cấu trúc NST nguyên gốc.

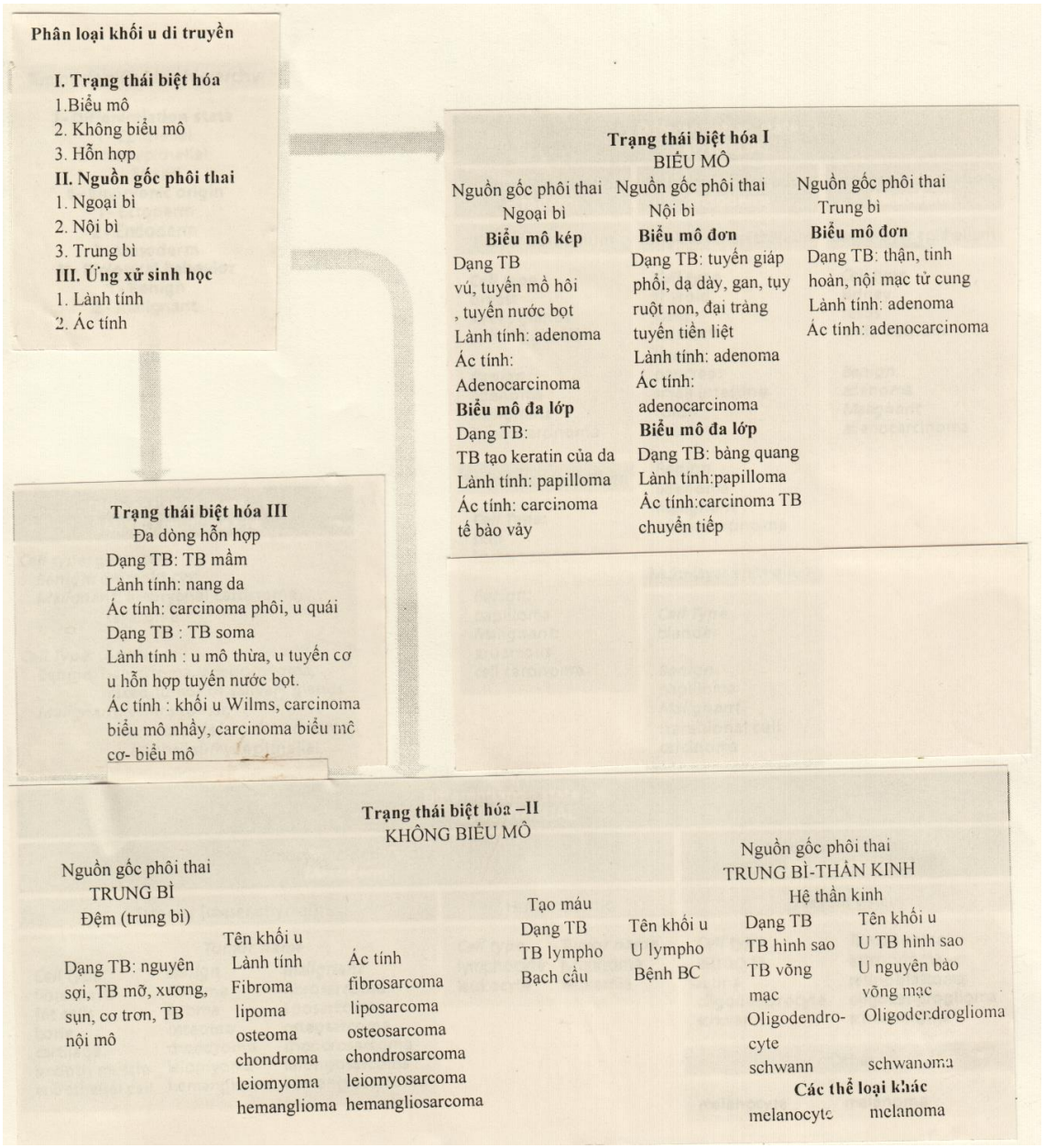



**Hình 2.21** Các bằng chứng phụ thêm về trạng thái đơn dòng của khối u. (A) trong huyết tương bình thường, các phân tử immunoglobulin (ví dụ các kháng thể) di trú như là một tập hợp các phân tử không đồng nhất trên điện di trên gel (Ig đa dòng, đỉnh bên trái). Tính không đồng nhất này được biểu hiện là một phổ đa dạng (quần thể đa dòng) của các TB plasma trong việc tạo kháng thể. Tuy nhiên, trong đa u tủy tính không đồng nhất này được thay thế bằng các mẫu kháng thể đơn (có tên là M-spike) được tạo ra bởi một quần thể đơn dòng của các tế bào tiết kháng thể. (B) phác họa một chuyển vị không bình thường (mũi tên) có liên quan đến sự trao đổi giữa 2 đoạn NST khác nhau (không tương đồng)- một NST màu vàng và một NST màu đỏ. (Chỉ có một trong 2 sản phẩm NST của sự chuyển vị được thể hiện ở đây). Sự chuyển vị đã tạo được ‘‘chữ ký’’ đặc trưng phân biệt được các tế bào bị ảnh hưởng từ quần thể các tế bào bình thường xung quanh (trên cùng). Vì tất cả các tế bào ung thư bên trong một khối u được nảy sinh sau đó có mang sự chuyển vị hiếm (dưới cùng), điều đó chỉ rõ nó bắt nguồn từ một tổ tiên bình thường trong đó sự chuyển vị này đã xảy ra.

(Theo A, Courtesy of S. Chen- Kiang and S. Ely)

Với những quan sát như vậy đã cho chúng ta một bằng chứng hấp dẫn là các quần thể khối u là đơn dòng, tuy nhiên quá trình sinh u thực sự có thể còn phức tạp hơn. Tuy nhiên, có một đồng thuận lớn là phần lớn các khối u tiến triển của người đều là tăng trưởng đơn dòng và nó bắt nguồn từ các TB tiền thân đơn bình thường nhưng đã có những bước nhỏ đầu tiên tiến tới ung thư. Những tiền thân như thế thường có tên là các ***tế bào gốc – cội nguồn (cell-of origin)*** và người ta ngày càng đánh giá cao chương trình

biệt hóa của những TB này vì nó tiếp tục gây ảnh hưởng tới cách ứng xử của các quần thể TB ung thư hàng thập kỷ sau đó. Thực sự thì ở phần lớn các dạng khối u người, chúng ta có thể xác định được các mô mà ở đó các TB cội nguồn này định cư, nhưng việc xác định một cách chính xác trạng thái biệt hóa biệt hóa của chúng thì vẫn còn hết sức khó khăn.




**Hình 2.18** Sơ đồ phân loại các khối u

(Theo Couretry of Tan A. Ince)

## 2.6. CÁC TẾ BÀO UNG THƯ BỘC LỘ SỰ BIẾN ĐỔI TRAO ĐỔI NĂNG LƯỢNG

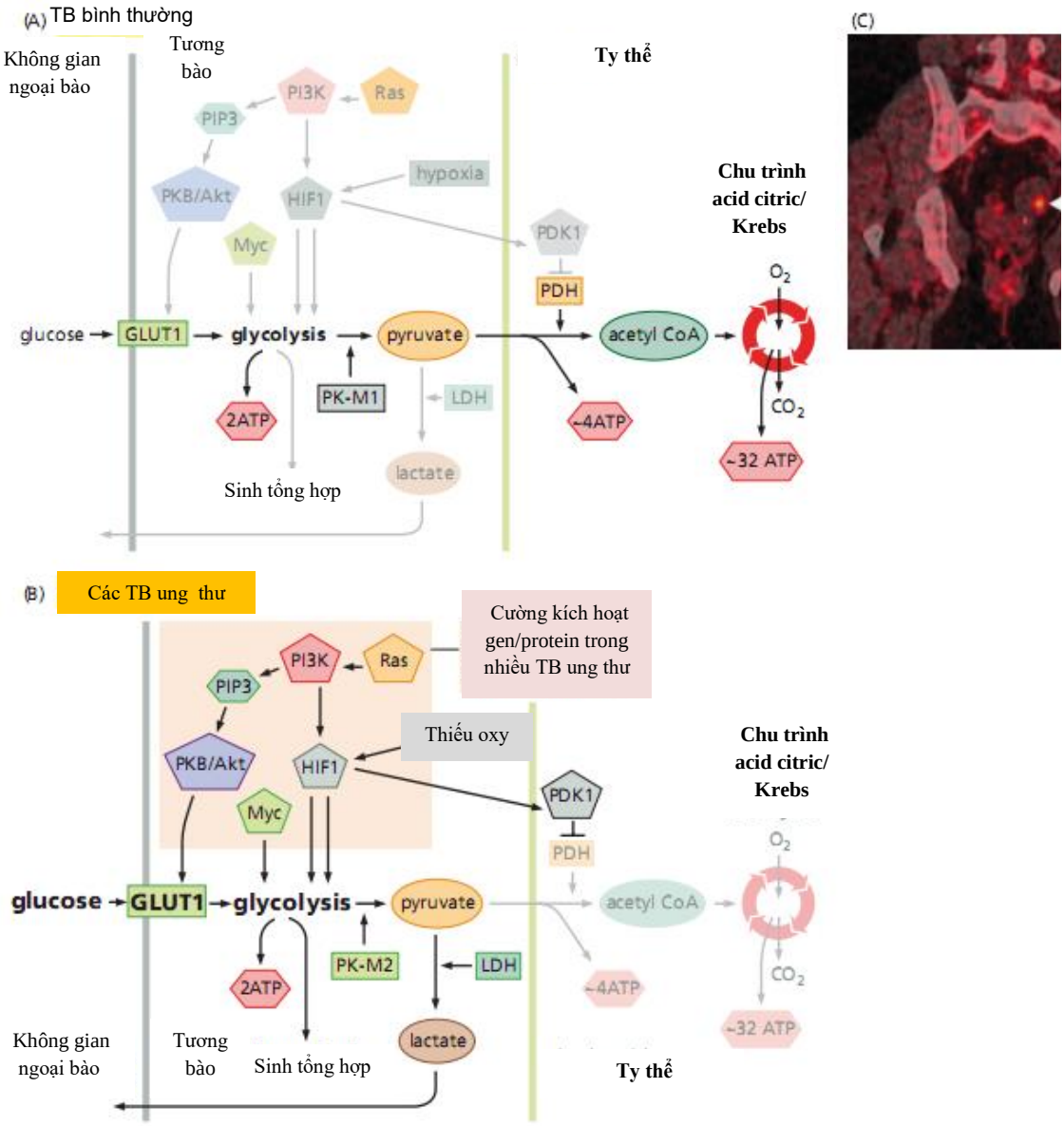
Tình trạng đơn dòng của các TB khối u lần đầu tiên được chứng minh vào năm 1965. Điều thú vị khác cũng được đánh giá hơn 4 thập kỷ qua là sự chuyển hóa năng lượng của hầu hết các TB ung thư khác rất xa các TB bình thường, đặc điểm trước tiên được báo cáo năm 1924 bởi Otto Warburg – người mà sau này được giải thưởng Nobel về việc phát hiện ra các enzyme hô hấp mà ngày nay chúng ta gọi là cytochrome c oxidase. Như đã ghi nhận hàng thập kỷ nay rằng, các TB bình thường trong những điều kiện thí nghiệm hiếu khí đã phân giải glucose thành pyruvate ở bào tương thông qua quá trình phân giải glucose (đường phân), sau đó pyruvate được đưa vào ty thể, ở đó nó bị phân giải xa hơn thành carbon dioxide trong *chu trình acid citric (chu trình Crebs* – Hình 2.22A). Tuy nhiên, dưới điều kiện kỵ khí hay là *thiếu oxy (hypoxic)* các TB bình thường chỉ sử dụng giới hạn quá trình đường phân (gycolysis), pyruvate được tạo ta sẽ bị khử thành lactate, sau đó thải ra khỏi tế bào. Warburg đã phát hiện ra rằng, ngay cả khi được tiếp xúc với lượng oxy phong phú thì nhiều dạng TB ung thư cũng dựa chủ yếu vào quá trình glycolysis tạo ra lactate với tư cách là sản phẩm phân giải glucose (xem Hình 2.22B).

Trên thực tế, hầu hết các dạng TB bình thường trong cơ thể có thể được cung cấp oxy liên tục do máu chuyển tới và vì thế mà sự chuyển hóa glucose thường được thông qua con đường sử dụng năng lượng hiệu quả hơn. Xu hướng của các *TB ung thư lại hạn chế bản thân chỉ với quá trình glycolysis ngay cả khi được cung cấp đầy đủ oxy, đó là cách ứng xử cực kỳ nổi bật.*

Có một căn cứ logic hoàn hảo cho vấn đề tại sao các TB ung thư lại không sử dụng đường phân hiếu khí. Tuy vậy, tính không phụ thuộc của nó như thế nào thì vẫn cần được giải quyết và còn một vấn đề khác nữa là các TB ung thư thực sự điều hành như thế nào để tránh né được việc xử lý các chất chuyển hóa bởi ty thể?

## 2.7. CÁC UNG THƯ XẢY RA VỚI TẦN SUẤT RẤT KHÁC NHAU TRONG CÁC QUẦN THỂ NGƯỜI KHÁC NHAU

Bản chất của ung thư được cho là một bệnh hết sức hỗn độn, nó phá vỡ các trật tự sinh học hiện hữu trong cơ thể. Đặc biệt hơn là các rối loạn thấy ở các ung thư lại trực tiếp đi từ những trục trặc trong việc kiểm soát, vì vậy cần phải xác định xem khi nào, ở đâu các TB trong khắp cơ thể sẽ được nhân lên. Trên thực tế, có nhiều cơ hội cho các rối loạn ung thư tấn công vào cơ thể con người. Hầu hết trên $10^{13}$ tế bào trong cơ thể tiếp tục mang các thông tin di truyền mà trước đây đã cho phép chúng được tồn tại và có thể trong tương lai sẽ cho phép chúng nhân lên một lần nữa. Điều này giải thích được tại sao nguy cơ của sự tăng sinh TB một cách mất kiểm soát ở vô số các vị trí khắp cơ thể là lớn, đáng kể là qua gan các động vật có vú như chúng ta.




**Hình 2.22.** Những thay đổi trong chuyển hóa glucose ở các tế bào ung thư. (A) trong hầu hết các TB bình thường không phân chia, đều có phương sách để có được lượng oxy phù hợp, glucose được đưa vào bên trong TB bởi các chất vận chuyển glucose (GLUT) rồi chúng được phân giải bởi quá trình đường phân (glycolysis) và chu trình acid citric. Trong bước cuối cùng của glycolysis thì pyruvate kinase thể M1 (pyruvate kinase form M1) đảm bảo tạo ra sản phẩm là pyruvate, nó được đưa vào ty thể, ở đó nó bị oxy hóa bởi pyruvate dehydrogenase (PDH) thành acetyl C0A để được xử lý trong chu trình acid citric. Nói chung, ty thể có thể tạo ra được nhiều tới 36 phân tử ATP/mỗi phân tử glucose. (B) trong các tế bào ung thư, bao gồm cả các TB có phương sách để đạt được nhiều oxy, chất vận chuyển glucose GLUT1 đưa một lượng lớn glucose vào trong tương bào, ở đó nó được xử lý bằng quá trình đường phân. Tuy nhiên, ở bước cuối cùng của đường phân thì sản phẩm của pyruvate kinase M2 (PK-M2) là pyruvate sẽ chuyển tới lactate dehydrogenase (LDH-A), tạo nên lactate, sản phẩm này được tiết ra rất nhiều bởi các TB ung thư. Bởi vì chỉ có một lượng tương đối ít glucose khởi đầu được đưa vào sẽ được chuyển hóa bởi ty thể nên một phân tử glucose chỉ có 2 ATP được tạo ra. Hơn nữa, nhiều chất trung gian được tạo ra trong quá trình đường phân cũng được sử dụng cho việc tổng hợp. Cách

điều hòa sự chuyển hóa này cũng giống như trạng thái chuyển hóa của các TB bình thường phân chia nhanh cũng chuyển một phần đáng kể các chất trung gian glycolysis của chúng vào con đường tổng hợp. Các enzyme được biểu thị là các hình chữ nhật, các chất chuyển hóa là hình quả trứng, các hợp chất phân tử thấp là hình lục giác, các protein điều hòa hình ngũ giác. (C) chụp cắt lớp phát xạ vị trí (PGD-PET) 2-deoxy-2-( $^{18}$F) fluoro-D-glucose có thể nhìn thấy các khối u trong cơ thể tập trung một lượng lớn glucose do cường kích hoạt chất vận chuyển glucose GLUT1 trong các tế bào ung thư có liên quan. Trong trường hợp được chỉ ra ở đây thì PDG-PET đã phát hiện được một khối u nhỏ (mũi tên, cam sáng) ở khu vực gần buồng trứng của một phụ nữ đang điều trị ung thư vú nhưng không có các triệu chứng. Chụp cắt lớp được sử dụng cùng thời điểm phác thảo hình ảnh mô của bệnh nhân. Công nghệ với độ nhạy cao này lần đầu tiên đã cung cấp những dấu hiệu đầu tiên về ung thư buồng trứng phôi thai ở bệnh nhân này.

(Theo R. R. Milam and R.B. Lyer, J. Clin. Oncol. 2007)

***Bảng 2.5***. *Sự thay đổi về địa lý đối với tần số ung thư và tỷ số chết do ung thư*

| Các quốc gia có tần sô các dạng ung thư đặc biệt cao nhất và thấp nhất | | | |
|---|---|---|---|
| **Cancer site** | **Quốc gia có nguy cơ cao nhất** | **Quốc gia có nguy cơ thấp nhất** | **Nguy cơ tương đối H/L** |
| Da (melanoma) | Australia (Queensland) | Nhật Bản | 155 |
| Môi | Canada (Newfoundland) | Nhật Bản | 151 |
| Mũi hầu | Hong Kong | Anh Quốc | 100 |
| Tuyến tiền liệt | U.S. (African American) | Trung Quốc | 70 |
| Gan | Trung Quốc (Thượng | Canada (Nova Scotia) | 49 |
| Dương vật | Brazil | Israel (Ashkenazic) | 42 |
| Cổ tử cung | Brazil | Israel (non-Jews) | 28 |
| Dạ dày | Nhật Bản | Kuwait | 22 |
| Phổi | Mỹ (Louisiana, African American) | Ấn Độ (Madras) | 19 |
| Tụy | Mỹ (Los Angeles, Korean American) | Ấn Độ | 11 |
| Buồng trứng | New Zealand (Polynesian) | Kuwait | 8 |
| **Các vùng địa lý có tỷ lệ chết do các dạng ung thư đặc biệt cao nhất và thấp nhất** | | | |
| **Vị trí ung thư** | **Vùng nguy cơ cao nhất** | **Vùng nguy cơ thấp nhất** | **Nguy cơ tương đối H/L** |
| Phổi, nam | Đông Âu | Tây Phi | 33 |
| Thực quản | Bắc Phi | Tây Phi | 16 |
| Trực tràng, nam | Australia, New Zealand | Trung Phi | 15 |
| Vú, nữ | Bắc Âu | Trung Quốc | 6 |

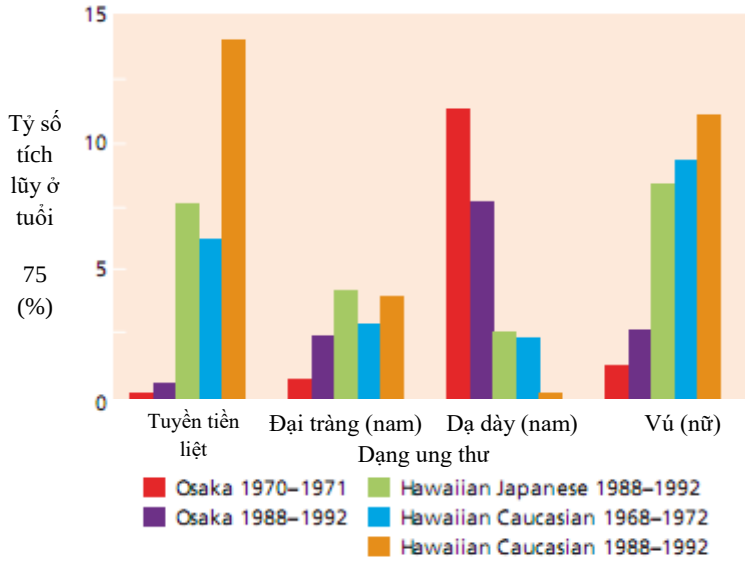
Hơn 100 dạng ung thư người dường như là xảy ra một cách ngẫu nhiên – tai nạn không thể tránh khỏi của thiên nhiên. Điều này dường như đúng đối với các khối u xác định ở trẻ em. Tuy nhiên, còn nhiều yếu tố khác nữa can thiệp tới các quần thể xác định làm tăng một cách đáng kể tổng số các trường hợp ung thư. Hai yếu tố góp phần rõ ràng ở đây là di truyền và môi trường.

Vậy biến đổi nào trong số 2 biến đổi - *di truyền* hay *môi trường* là yếu tố quyết định nổi trội của sự biến động tỷ lệ mắc ung thư của một quốc gia? Trong khi đó thì nhiều thể bệnh gây nên bởi các allele phân phối không đồng đều trong các "kho gen"

(gene pool) của các quần thể người khác nhau, những allele này dường như không giải thích được về sự khác nhau một cách kỳ lạ tần suất của các ung thư trên toàn thế giới. Vấn đề này được thể hiện đáng kể nhất khi xác định tỷ lệ ung thư ở các quần thể di cư. Chẳng hạn như tỷ lệ ung thư dạ dày của người Nhật Bản cao gấp 6-8 lần so với Hoa Kỳ (Hình 2.23). Tuy nhiên, khi người Nhật định cư ở Hoa Kỳ thì ở thế hệ con cháu của họ tỷ lệ ung thư dạ dày có thể so sánh được với các quần thể xung quanh. Vì thế, đối với phần lớn các ung thư thì nguy cơ bệnh tật dường như là ở phía "môi trường".

Như biểu thị ở (Bảng 2.5), tần suất của một số dạng ung thư có thể thay đổi rất lớn từ quần thể này sang quần thể khác. Vì vậy mà ung thư vú ở Trung Quốc chỉ vào khoảng 1/6 mức phổ biến ở Hoa Kỳ hay Bắc Âu. Ngay cả trong quần thể người Mỹ cũng có rất nhiều khác biệt về tỷ lệ tử vong do ung thư. Seventh-day Adventist – một tôn giáo không khuyến khích hút thuốc, uống rượu nặng và sử dụng thịt lợn thì tỷ lệ chết do ung thư chỉ bằng ¾ so với tỷ lệ của quần thể lớn.

Như vậy về mặt *cơ chế bệnh nguyên (etiologic)* của ung thư thì những phát hiện này dẫn đến kết luận không thể khác được đó là, phần lớn các ung thư xảy ra là do các yếu tố hay các tác nhân từ bên ngoài đi vào cơ thể và bằng cách nào đó đã tấn công và làm hư hỏng các mô. Trong một số ít ung thư, những thay đổi đáng kể về nguy cơ ung thư có thể do những khác biệt trong cách ứng xử với sinh sản bởi những hiệu ứng mạnh mẽ lên môi trường hormone trong cơ thể người phụ nữ.




**Hình 2.23** So sánh các tần suất ung thư của các quốc gia. Những ghi nhận về y tế cộng đồng vạch rõ những sự khác biệt ấn tượng về tần suất một số ung thư xác định ở các quốc gia khác nhau. Ở đây tần suất tương đối của một nhóm các ung thư ở Nhật Bản, đảo Hawai thuộc Hoa Kỳ là các đại diện. Sau khi những người Nhật di cư tới Hawai thì ở thế hệ sau tỷ lệ ung thư tiến gần đến tỷ lệ của các dân cư đã định cư ở đó trước họ. Điều này chỉ rõ sự khác nhau giữa tỷ lệ ung thư của các quần thể Nhật Bản và Hoa Kỳ không phải là do yếu tố di truyền.

(Theo J. Petro, Nature 411:390-395, 2001)

## 2.8. CÁC NGUY CƠ UNG THƯ DƯỜNG NHƯ THƯỜNG TĂNG LÊN BỞI CÁC ẢNH HƯỞNG CÓ THỂ SẮP ĐẶT ĐƯỢC KỂ CẢ LỐI SỐNG

Rõ ràng là, các loại ung thư xác định đều liên quan tới lối sống đặc biệt khá cũ kỹ, tụt lùi so với dịch tễ học hiện đại hàng thế kỷ. Báo cáo được biết đến đầu tiên là các quan sát của nhà vật lý học Anh John Hill năm 1761 đã nhận thấy có sự kết nối giữa sự phát triển ung thư mũi với việc sử dụng quá mức thuốc lá. 14 năm sau, Percivall Port, một nhà giải phẫu học ở London báo cáo rằng, ông đã gặp số lượng đáng kể ung thư da dương vật ở những người trong tuổi vị thành niên, những người ngay từ trẻ đã phải làm công việc cạo ống khói. Trong 3 năm, hội những người cạo ống khói Đan Mạch đã kêu gọi các thành viên của họ hãy tắm rửa hàng ngày để loại bỏ các vật liệu khỏi da của họ để tránh bị ung thư. Thực tế cho thấy khả năng gây ung thư dương vật đã giảm với một tỷ lệ đáng kể ở các quốc gia Âu Châu, thậm chí có thể so sánh được với Anh Quốc một thế kỷ sau.

Bắt đầu vào giữa thế kỷ 19, bạc được tách chiết với số lượng lớn ở St. joachimsthall ở Bohemia. Vào nửa đầu thế kỷ 19, ung thư phổi đã được ghi nhận với tỷ lệ cao ở những thợ hầm mỏ, một loại bệnh hầu như không được nghe thấy vào thời điểm đó. Lại một lần nữa cho thấy, sự tiếp xúc nghề nghiệp có tương quan với một dạng ung thư đặc biệt.

Năm 1839, một nhà vật lý học người Italia báo cáo rằng, ung thư vú là một tai họa trong ni viện, với tỷ lệ cao gấp 6 lần so với những phụ nữ trong quần thể nói chung đã nhiều lần sinh con. Vào cuối thế kỷ 19, một vấn đề đã rõ ràng là, *tiếp xúc nghề nghiệp và lối sống có sự kết nối chặt chẽ và là nguyên nhân hiển nhiên của nhiều dạng ung thư.*

Nhiều tác nhân có thể kích hoạt ung thư đã được phát hiện ở thập kỷ đầu tiên thế kỷ 20, các nhà vật lý đã làm thí nghiệm với các ống tia X và sau đó đã phát hiện thấy có sự tăng tỷ lệ ung thư và thường phát triển các khối ở các vị trí chiếu xạ. Những quan sát này nhiều năm sau đó người ta mới hiểu được tình trạng ung thư phổi ở những thợ mỏ ở St. Joaxchimstaler. Nguy cơ ung thư phổi ở họ rất cao có thể là do có mức hoạt tính phóng xạ cao trong quặng từ các hầm mỏ này.

***Bảng 2.6.*** *Nguy cơ tương đối của ung thư phổi là do khói thuốc lá hàng ngày*

| | Suốt đời không hút thuốc | có hút thuốc | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Số điếu thuốc sử dụng trước khi phát bệnh | — | ≥1, <5 | ≥5, <15 | ≥15, <25 | ≥25 |
| Nguy cơ tương đối | 1 | 8 | 12 | 14 | 27 |

(Theo R.Doll and A.B. Hill, BMJ, 1950)

Có lẽ mối liên hệ hấp dẫn nhất giữa môi trường tiếp xúc và tần suất ung thư được rút ra từ những năm 1949-1950 khi 2 nhóm dịch tễ học báo cáo rằng những cá thể nghiện thuốc lá nặng thì có nguy cơ ung thư phổi cao gấp 20 lần so với những người không hút thuốc. Những kết quả khởi đầu của một trong số các nghiên cứu này được ghi lại (Bảng 2.6). Thực sự thì trong nửa thế kỷ sau những năm 1949-1950 các nhà dịch tễ học đã xác định được rất nhiều yếu tố về môi trường và lối sống có mối tương quan chặt chẽ với tần suất của các ung thư xác định (Bảng 2.7).

***Bảng 2.7.*** *Các nguyên nhân đã biết hoặc còn nghi ngờ về ung thư người*

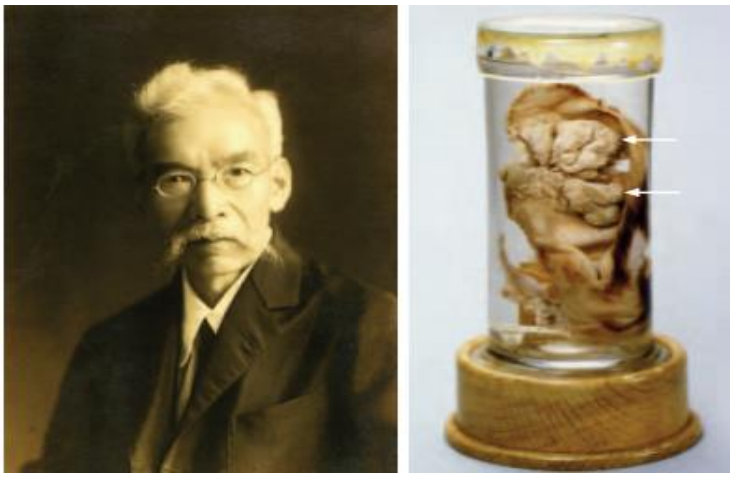
| Các yếu tố môi trường cà lối sống đã biết hoặc còn nghi ngờ là căn nguyên của ung thư ở Hoa kỳ | |
|---|---|
| **Dạng** | **% Các trường hợp** |
| Ung thư do tiếp xúc nghề nghiệp | 1–2 |
| Lối sống của người ung thư | |
| Liên quan đến thuốc lá (phổi, bàng quang, thận) | 34 |
| Chế độ ăn: ít rau, nhiều muối và nitrate (dạ dày, thực quản) | 5 |
| Chế độ ăn: nhiều mỡ, ít chất xơ, thực phẩm nướng, chiên (ruột, tụy, tuyến tiền liệt, vú ) | 37 |
| Rượu và thuốc lá (miệng, họng) | 2 |
| **Các tác nhân gây ung thư đặc hiệu ảnh hưởng đến nguyên nhân của các ung thư xác định** | |
| **Ung thư** | **Tiếp xúc** |
| Carcinoma dương vật | Khói ống khói cô đặc |
| Angiosarcoma gan | vinyl chloride |
| Bệnh bạch cầu cấp | benzene |
| Adenocarcinoma mũi | Bụi gỗ |
| Osteosarcoma | radium |
| Carcinoma da | arsenic |
| U trung biểu mô | Amian |
| Carcinoma âm đạo | diethylstilbestrol |
| Carcinoma miệng | Thuốc lá để hít |
| Ung thư vú | Trị liệu thay thế hormone |

(Theo S. Wilson, L. Jone, gên –environment interaction. Washington DC, 2002)

## 2.9. CÁC TÁC NHÂN HÓA HỌC ĐẶC BIỆT CÓ THỂ GÂY UNG THƯ

Nhựa than đá ngưng tụ (giống như các chất có liên quan đến nguyên nhân ung thư theo công trình của Percivall) được sử dụng ở Nhật Bản vào đầu thế kỷ 20 đã gây cảm ứng ung thư da trên thỏ. Bôi lặp lại nhựa than đá ngưng tụ tại một vùng nhỏ trên tai của chúng, kết quả sau nhiều tháng tự nhiên xuất hiện carcinoma. Công trình này lần đầu tiên được báo cáo bởi Katsusaburo Yamagima năm 1915, nhưng ít được cộng đồng khoa học quốc tế lúc đó chú ý (Hình 2.24). Khi nhìn lại thì thấy nó đại diện cho một

bước tiến tuyệt vời bởi vì nó là một chất hóa học (có trong than đá) liên quan trực tiếp đến nguyên nhân ung thư. Một công trình khác cũng không kém phần quan trọng là của Yamagiwa cùng với Peyton Rous đã chứng minh rằng, có thể gây ung thư theo ý muốn trong các động vật thí nghiệm. Hiện nay, các khối u có thể được tạo ra theo một chương trình định trước, nhưng thường phải mất nhiều tháng xử lý thực nghiệm trên các động vật.

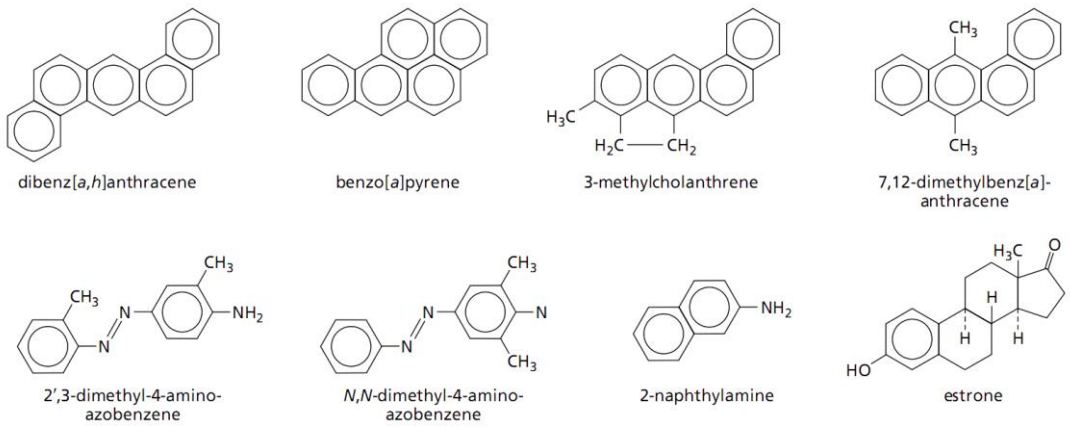


**Hình 2.24.** Cảm ứng khối u đầu tiên bằng các tác nhân gây ung thư nguồn gốc hóa học. (A) năm 1915, Katsusaburo Yamagiwa đã báo cáo thành công đầu tiên gây ung thư bằng cách xử lý lặp lại vào tai thỏ một chất gây ung thư nguồn gốc hóa học, trong trường hợp này là nhựa than đá. (B) carcinoma da (mũi tên) ông đã gây cảm ứng trên tai của những con thỏ này, mẫu vật này vẫn được giữ tới ngày nay tại bảo tàng trường Đại học Tokyo. Carcinoma đặc biệt này được thu thập và cố định sau 660 ngày bôi nhựa than đá.

(Theo Courtesy of T. Taniguchi)

Năm 1940, các nhà hóa học Anh đã tinh khiết được một số thành phần của than đá là các chất gây ung thư đặc biệt, nó có thể gây ung thư trên da chuột thí nghiệm. Các hợp chất như 3-methylcholanthrene, benzo[a]pyrene và 1,2,4,5-dibenzen[a,h]anthracene là các sản phẩm thông thường của sự đốt cháy và một trong số các hydrocarbon là benzo[a]pyrene được phát hiện sau đó ở khói thuốc nhựa là đáng chú ý hơn cả (Hình 2.25). Những sự phát hiện này cho thấy, các mẫu hóa học xác định khi vào trong cơ thể con người có thể gây nên sự hỗn loạn mô và tế bào và cuối cùng kích động sự xuất hiện khối u. Như vậy có thể nói, tia X cũng có khả năng gây u và về hình thức bên ngoài là thông qua một cơ chế tác động khá khác biệt.

Khi những phát hiện này được báo cáo thì một dòng nghiên cứu độc lập lại miêu tả ung thư như là một *bệnh truyền nhiễm*. Các nhà nghiên cứu trong những thập kỷ đầu của thế kỷ 20 đã phát hiện ra rằng, các virus có thể gây các bệnh bạch cầu và sarcoma ở gà. Vào giữa thế kỷ, rất nhiều virus đã được phát hiện là có khả năng gây ung thư trên thỏ, gà, chuột. Và tất nhiên, ý định phát hiện ra nguồn gốc của ung thư người sẽ theo 3 hướng khác nhau, đó là các chất hóa học, virus và các tác nhân phóng xạ đã trở nên hấp dẫn.




**Hình 2.25.** Cấu trúc của các hydrocarbon gây ung thư. Những mẫu hóa học này sinh ra từ sự đốt cháy không hoàn toàn các chất hữu cơ (ví dụ như các hợp chất chứa carbon). Những cấu trúc hóa học được thể hiện ở đây đã được xác định xác định trước năm 1940, chúng đại diện cho một số mẫu hóa học đã được phát hiện sau khi được tinh khiết hóa nó sẽ là chất có tiềm năng gây ung thư. 4 hợp chất trên cùng đều là các hydocarbon thơm đa vòng.

(Theo E.C. Miller, Cancer Res.38., 1978)

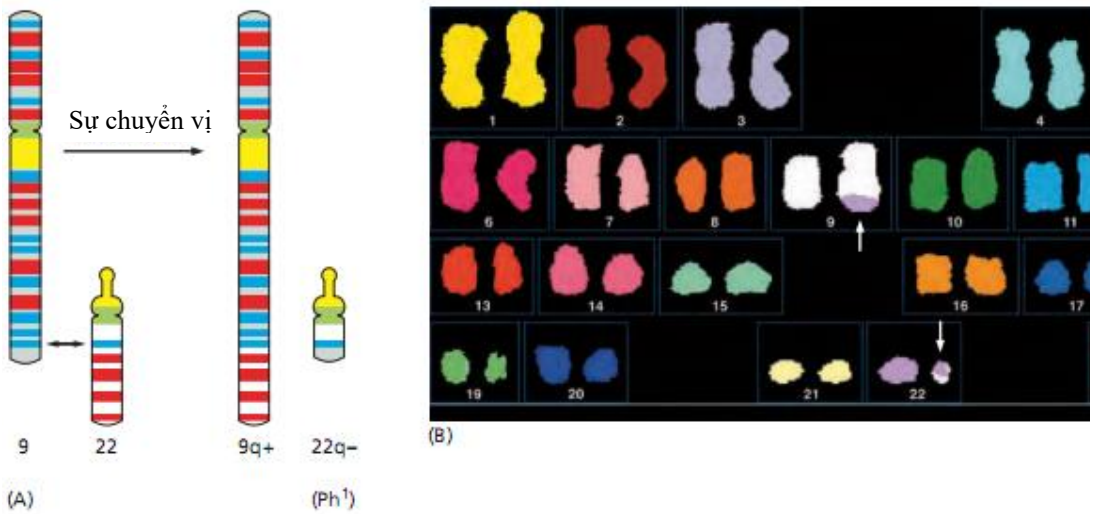
## 2.10. CÁC TÁC NHÂN GÂY UNG THƯ (CARCINOGENE) NGUỒN GỐC VẬT LÝ HAY HÓA HỌC ĐỀU TÁC ĐỘNG VỚI TƯ CÁCH LÀ CÁC CHẤT GÂY ĐỘT BIẾN

Do bị lấn át bởi 3 giả thuyết sinh ung thư như đã kể trên đã làm giảm ý nghĩa về các phát hiện được thực hiện trong lĩnh vực di truyền ruồi giấm. Năm 1927, Hermann Muller đã phát hiện rằng ông có thể gây được các đột biến trong hệ gen của ruồi giấm *Drosophila melanogaster* bằng việc cho những con ruồi này tiếp xúc với tia X. Điều quan trọng nhất là, phát hiện này đã vạch rõ rằng hệ gen của động vật có thể bị biến đổi, điều đó có nghĩa là nội dung thông tin của nó có thể bị biến đổi thông qua việc xử lý đặc hiệu, đáng chú ý là chiếu xạ. Cùng thời điểm đó người ta cũng cho rằng có ít nhất một cơ chế mà theo đó tia X có thể gây ung thư, có lẽ bức xạ có khả năng làm biến đổi gen của các TB bình thường, do vậy tạo nên các TB đột biến tăng trưởng theo kiểu ác tính.

Cuối những năm 1940, hàng loạt các chất hóa học mà nhiều trong số đó là tác nhân alkyl hóa, thứ khí mù tạt đã được sử dụng trong thế chiến thứ nhất cũng được phát hiện là chất gây đột biến gen đối với ruồi giấm. Ngay sau đó, một số trong các hợp chất tương tự này đã được chỉ rõ là các chất gây ung thư đối với động vật thí nghiệm. Những sự phát hiện này làm cho một số nhà di truyền học suy đoán rằng ung thư là bệnh của các gen đột biến.

Những suy đoán này không phải là đầu tiên, đầu năm 1941 nhà sinh học Đức Theodor Boveri đã lặp lại các quan sát gần đây của những người khác, đã chứng minh rằng trong các TB ung thư có các NST liên quan đến chất mang (carrier) mang các

thông tin di truyền lầm lẫn đã làm các TB ung thư đột biến. Khái niệm của Boveri cùng nhiều suy đoán khác về nguồn gốc ung thư phần nào có gắn kết với nhau, tuy nhiên mãi đến năm 1950 khi phát hiện ra sự bất thường trong cấu trúc NST với tỷ lệ lớn ở bệnh bạch cầu dòng tủy mạn (CML), NST này sau đó được gọi là nhiễm sắc thể Philadelphia (nơi phát hiện ra nó) thì mới làm rõ được đặc trưng đặc biệt của dạng ung thư này (Hình 2.26).



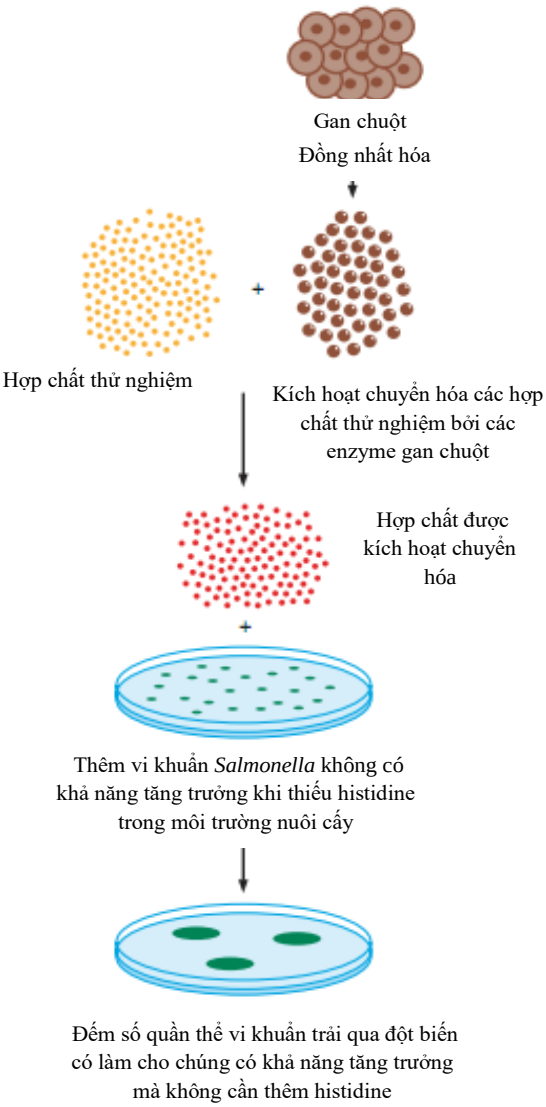

**Hình 2.26** Cấu trúc của nhiễm sắc thể Philadelphia. Phân tích các băng nhuộm NST ở trung kỳ của các TB bệnh bạch cầu dòng tủy mạn (CML) lần đầu tiên đã phát hiện được các NST đặc trưng nhỏ xíu (gọi là nhiễm sắc thể Philadelphia hoặc Ph) hiện diện trong các tế bào của hầu hết các bệnh nhân bệnh bạch cầu mạn. (A) mẫu băng này được xác định thông qua hiển vi ánh sáng thường. Trong khi đó sự chuyển vị NST tạo ra được 2 NST biến đổi (9q+,22q-) thuận nghịch (chẳng hạn liên quan đến việc mất đi hay nhận thêm bởi cả 2), kích cỡ cánh tay NST biến đổi là không đều nhau, dẫn đến nhiễm sắc thể 22 bị cắt xén rất nhiều (ví dụ 22q-). Mũi tên nhỏ chỉ rõ điểm bắt chéo, được hiểu là điểm gẫy của sự chuyển vị. (B) sự thay đổi tương đối nhỏ về bản đồ NST tế bào khối u được tạo ra do sự chuyển vị thể hiện rõ ràng trong các phân tích SKY, trong đó các đầu dò đặc hiệu NST cùng với hình ảnh huỳnh quang NST bổ sung của các tế bào bệnh bạch cầu mãn. Rõ ràng là, một trong số 2 nhiễm sắc thể 9 đã có thêm một đoạn màu tím nhạt ( màu chỉ định NST 22) ở cuối cánh tay dài. Về sự tương hỗ, một trong 2 NST 22 có được một vùng trắng (đặc trưng của NST 9) ở cuối cánh tay dài của nó (mũi tên)

(Theo B. Albert et al., Molecular Biology of the Cell, New york , 2008)

Năm 1975, Bruce Ames – một nhà di truyền học vi sinh tại trường Đại học California ở Berkerey báo cáo kết quả thí nghiệm cho thấy microgram aflatoxin – một hợp chất được sản sinh từ các loại nấm mốc mọc trên lạc hoặc lúa mì có hoạt tính sinh ung thư tiềm năng cao gấp 10.000 lần hợp chất bezidine tổng hợp. Ames đặt câu hỏi: liệu các hợp chất này có gây đột biến không, đặc biệt hơn là liệu các hợp chất sinh ung thư tiềm năng có phải là chất gây đột biến tiềm năng hay không?

Để làm sáng tỏ vấn đề, Ames đã dùng một chủng *Salmonella* đột biến không thể sinh trưởng trong môi trường thiếu amino acid histidine. Allele đột biến gây nên kiểu hình này rất nhạy cảm với đột biến ngược (back-mutation) đối với một allele hoang dã.

Nhưng một khi allele hoang dã được hình thành để đáp ứng với việc tiếp xúc với một chất gây đột biến, thì vi khuẩn mang allele này sẽ trở nên tăng trưởng trong môi trường chọn lọc của Ames, nó được nhân lên cho tới khi hình thành được một quần thể có thể nhìn thấy được bằng mắt thường (Hình 2.27).

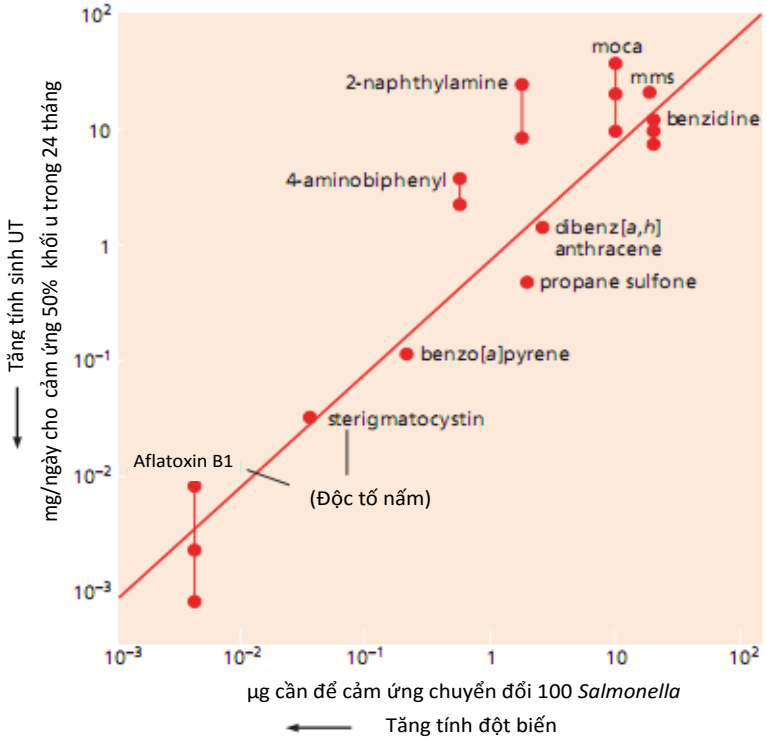



**Hình 2.27** Thử nghiệm của Ames để xác định tính gây đột biến. Thử nghiệm của Ames có thể định lượng được tiềm năng gây đột biến của một hợp chất định thử nghiệm. Đầu tiên, gan của động vật được nghiền nát đồng nhất hóa để giải phóng các enzyme. Phần đồng bộ hóa của gan (chấm nâu) sau đó được trộn với hợp chất định thử nghiệm (da cam) thường là do các enzyme của gan nó sẽ chuyển đổi theo cách chuyển hóa hợp chất thử nghiệm tới trạng thái kích hoạt hóa học gây đột biến (đỏ). Hỗn hợp này (vẫn chứa gan đồng nhất, không được chỉ ra) được dùng cho đĩa của vi khuẩn *Salmonella* đột biến (chấm xanh nhỏ) đòi hỏi amino acid histidine trong môi trường nuôi cấy chúng để nó tăng trưởng. Vì histidine không còn trong môi trường nên chỉ vi khuẩn nào đã đột biến đối với kiểu hình độc lập histidine thì mới có khả năng tăng trưởng và mỗi tế bào này sẽ tạo nên một khuẩn lạc lớn (xanh lá cây) có thể đếm được bằng mắt thường, chỉ rõ có bao nhiêu vi khuẩn đột biến (và như vậy tức là có allele đột biến) sẽ được tạo ra do sự tiếp xúc ngắn với hợp chất kích hoạt.

(Theo B. Albert et al., Molecular Biology of the Cell, New york , 2008)

Tuy nhiên vẫn còn một trở ngại lớn là làm thế nào để thành công trong việc sinh đột biến này. Các nghiên cứu chi tiết đã chỉ rõ, sau khi các phân tử sinh ung thư đi vào các mô động vật thí nghiệm thì chúng đã được chuyển hóa thành các mẫu hóa học khác. Trong nhiều trường hợp, các sản phẩm kết quả của sự chuyển hóa, chứ không phải là các chất hóa học đưa vào lúc đầu sẽ là các tác nhân đáp ứng trực tiếp gây ung thư mà ta đã quan sát được. Các hợp chất chuyển hóa này được phát hiện là có hoạt tính hóa học cao và có khả năng hình thành nên các liên kết cộng hóa trị với các đại phân tử khác đã biết, hiện diện trên các tế bào – đó là DNA, RNA và protein.

Các khảo nghiệm của Ames cũng vạch rõ, nhiều chất gây ung thư đã biết cũng có hoạt tính gây đột biến gen tích cực. Quan trọng hơn nữa là, Ames đã phát hiện ra được các mối tương quan: các chất hóa học có tiềm năng gây đột biến cũng là các chất gây ung thư mạnh. Những chất gây đột biến yếu thì cảm ứng gây ung thư yếu (Hình 2.28).




**Hình 2.28** So sánh tiềm năng gây đột biến và tiềm năng sinh ung thư của các hợp chất hóa học trên chuột thí nghiệm. (Theo M. Meselson et al., Origin of Human Cancer,Cold Spring Habor Laboratory Press, 1977)

## 2.11. CÁC CHẤT GÂY ĐỘT BIẾN CÓ THỂ GÂY UNG THƯ TRÊN NGƯỜI

Sự liên hệ giữa sinh ung thư và sinh đột biến dường như đã làm sáng tỏ sự nảy sinh các khối u trên người như thế nào. Có lẽ nhiều khối u là hậu quả trực tiếp sự tác động gây đột biến của các chất sinh ung thư nguồn gốc vật lý hay hóa học. Những chất hóa học gây đột biến, đặc biệt là các chất tiền sinh ung thư không phải duy nhất đi từ các hợp chất do sự đốt cháy carbon và hình thành hắc ín. Có vẻ hợp lý là, các mẫu hóa học hiện diện một cách tự nhiên trong thực phẩm hoặc được tạo ra trong quá trình nấu nướng cũng có thể GÂY ung thư. Ngay cả khi nhiều thực phẩm không chứa các chất gây ung thư (ultimate), thì các chất do sự chuyển đổi hóa học được thực hiện bởi các TB gan hoặc bởi vô số vi khuẩn ở đại tràng cũng có thể tạo ra các mẫu hóa học gây đột biến tích cực và vì thế mà thành các chất sinh ung thư.

Một số chất sinh ung thư tác động thông qua khả năng gây đột biến DNA, nhưng cũng có những chất lại thúc đẩy sự xuất hiện của khối u thông qua các *cơ chế không di truyền (nongenetic mechanism).*

***Bảng 2.8.*** *Danh mục lấy mẫu các chất gây ung thư của Bruce Ames nhận diện được trong thức ăn thường ngày*

| Thực phẩm | Hợp chất | Nồng độ trong thực phẩm |
|---|---|---|
| Hạt tiêu đen | piperine | 100 mg/g |
| Nấm thường | agaritine | 3 mg/g |
| Cần tây | furocoumarins, psoralens[b] | 1 µg/g, 0.8 µg/g |
| Cây đại hoàng | anthraquinones | Thay đổi |
| Bột ca cao | theobromine | 20 mg/g |
| Mù tạt, cải gia vị | allyl isothiocyanate | Thay đổi |
| Chồi linh lăng | canavanine[c] | 15 mg/g |
| Vật liệu cháy | large number | Thay đổi |
| Cà phê | caffeic acid | 11.6 mg/g |

***Bảng 2.9.*** *Các ví dụ về các nguyên nhân bí ẩn: mối tương quan giữa dịch tễ học và các yếu tố môi trường/lối sống và tần suất ung thư chưa được giải thích rõ ràng về các cơ chế.*

| Lối sống, yếu tố thực phẩm hoặc điều kiện y tế | Biến đổi nguy cơ ung thư |
|---|---|
| Khối lượng khi sinh cao | Tăng ung thư vú khi tiền mãn kinh<br>Tăng bệnh bạch cầu ở trẻ em |
| Thịt màu đỏ chế biến | Tăng ung thư vú<br>Tăng TB vảy và adenocarcinoma phổi |
| Giá đậu | Tăng ung thư vú |
| Thịt đỏ nấu kỹ | Tăng ung thư tuyến tiền liệt |
| Thức ăn Phương Tây nhiều mỡ, nhiều thịt đỏ | Tăng ung thư trực kết tràng, thực quản, và phổi |
| Thể dục | Tăng ung thư vú do đáp ứng hormone |
| Thức ăn có dầu cải | Tăng ung thư tuyến tiền liệt |
| Chỉ số khối cơ thể cao (BMI) | Tăng nhiều dạng ung thư |
| Tỷ số giữa số con gái và con trai được sinh từ một phụ nữ là cao | Tăng ung thư buồng trứng |
| Bệnh Parkinson | Tăng ung hắc tố da (melanoma) |
| Vitamin D lưu thông thấp | Tăng tần số và tỷ lệ tử vong ung thư vú |
| Bệnh nha chu | Tăng carcinoma thực quản |
| Sử dụng cà phê | Giảm carcinoma tế bào gan |

## *TÓM TẮT*

❖ *Việc mô tả ung thư và các tế bào ung thư phát triển từ nửa cuối thế kỷ 19 và nửa đầu thế kỷ 20, đã chỉ rõ rằng khối u không khác gì hơn các quần thể tế bào bình thường ngoài việc "vận hành một cách điên cuồng". Tuy nhiên, nhiều khối u dường như là bao gồm nhiều hậu duệ của một TB đơn đã vượt qua ranh giới giữa bình thường và ác tính và thực hiện việc sinh sôi nảy nở hàng tỷ TB hậu duệ để kiến tạo nên những khối u ác tính. Mô hình này đã thu hút sự chú ý tới bản chất của các TB sáng lập ra khối u và cơ chế dẫn đến sự biến nạp chúng thành các tế bào ung thư. Và điều mà người ta cần phải tìm hiểu là tại sao một TB lại nhân lên một cách không kiểm soát và bằng cách nào đó đã xảy ra ung thư.*

❖ *Vẫn còn tồn tại một vấn đề là có những quan sát và những kỹ thuật thực nghiệm chưa bộc lộ được một cách chính xác tại sao một TB lại thay đổi cách ứng xử của mình, tự biến nạp từ TB bình thường thành TB ác tính. Chất sinh ung thư - chất gây đột biến, về lý thuyết dường như cũng cần phải được làm rõ thêm một số vấn đề vì nó còn liên quan đến các gen đột biến của TB với tư cách là các tác nhân đáp ứng cho sự phát triển bệnh và vì thế mà các TB ung thư có cách ứng xử khác thường. Có lẽ đã có các gen đột biến điều hành bên trong các TB ung thư lập trình sự gia tăng của những TB này. Nhưng viễn cảnh của sự phát hiện các gen như thế cũng như những hiểu biết về sự tác động của chúng thì dường như vẫn còn rất xa vời. Chẳng ai biết được nhiều gen đã hiện diện trong hệ gen người như thế nào và việc phân tích chúng ra sao? Nếu các gen đột biến thực sự giữ vai trò lớn về phương diện nguyên nhân sinh ung thư thì có khả năng chúng chỉ là một số nhỏ so với một số gen rất lớn hiện diện trong toàn thể hệ gen. Chúng ví như chiếc kim trong đống cỏ khô, trong trường hợp này là một đống cỏ khô rộng lớn không rõ kích cỡ.*

❖ *Lý thuyết về nguồn gốc ung thư này sẽ còn phức tạp hơn nữa bởi 2 xem xét quan trọng khác. Thứ nhất là, nhiều chất sinh ung thư rõ rệt nhưng lại thất bại với thử nghiệm của Ames, điều đó cho thấy chúng không phải là các chất gây đột biến. Thứ hai là, sự thâm nhiễm các virus xác định dường như là có liên hệ chặt chẽ với tần suất nhỏ nhưng quan trọng đối với một số ít các dạng ung thư người.*

❖ *Vào giữa những năm 1970, công nghệ DNA tái tổ hợp, bao hàm cả phân dòng gen đã ảnh hưởng rất lớn đến lĩnh vực nghiên cứu hóa sinh. Người ta đã phân lập và xác định được các đặc tính của gen, các nhà nghiên cứu ung thư đã có khả năng, ít nhất là ở mức khởi đầu khai thác nó để theo dõi các gen đột biến khó nắm bắt đáp ứng với ung thư. Tuy nhiên, một điều đã rõ ràng là sớm hay muộn quá trình sinh ung thư (pathogenesis) cũng cần phải được giải thích, cũng như phải hiểu ở mức phân tử. Bằng cách nào đó, mô hình DNA, RNA và protein có thể giải thích được nhiều quá trình sinh học cần phải được đưa vào trong các vấn đề ung thư.*

❖ *Cuối cùng, sự đột phá bắt nguồn từ việc nghiên cứu các virus gây khối u, theo đó thì các virus gây khối u rất đơn giản về mặt di truyền nhưng lại có khả năng gây ung thư rất mạnh. Dưới ánh sáng của khoa học hiện đại, chúng ta sẽ hiểu được một cách cặn kẽ vấn đề này.*

❖ *Thách đố lớn trong tương lai là cần phải hiểu được các yếu tố môi trường và sinh học khác nhau, cũng như lối sống đã góp phần làm tăng tỷ lệ ung thư như thế nào. Chẳng hạn như trên Bảng 2.5, tỷ lệ các loại ung thư như ung thư đại tràng, ung thư vú và ung thư tuyến tiền liệt đều thể hiện vô số những biến đổi liên quan đến địa lý – những sự khác biệt ấn tượng không thể quy cho sự khác biệt về tính nhạy cảm di truyền. Trên thực tế, các nhà dịch tễ học đã khám phá ra rằng, có nhiều mối tương quan giữa tần số của dạng ung thư này hay ung thư khác với các yếu tố thuộc lối sống khác nhau (Bảng 2.9). Tuy nhiên, cũng có những ngoại lệ là các cơ chế sinh học và hóa sinh mà theo đó các yếu tố này đã làm tăng (hoặc giảm) tần số bệnh tật thì chúng ta về vẫn chưa hiểu biết một cách đầy đủ và vẫn phải chờ đợi vào những nghiên cứu tương lai.*

❖ *Chỉ khi nào hiểu được các yếu tố thuộc lối sống và sinh học khác nhau đã thành công trong việc kích hoạt hay ngăn chặn sự phát triển của khối u như thế nào thì chúng ta mới có khả năng phòng ngừa được các ung thư mới (thường là khi chẩn đoán được thì bệnh đã rất nặng, khó cứu chữa). Bảng 2.9 cung cấp các thông tin quan trọng giúp cho việc khám phá những bí ẩn về cuội nguồn ung thư.*

# Chương III: DI TRUYỀN HỌC KHỐI U

## 3.1. UNG THƯ ĐƯỢC COI NHƯ MỘT BỆNH DI TRUYỀN

Tính chất đặc trưng của các TB ung thư là biến đổi rất lớn về gen. Thực vậy, tính không ổn định về hệ gen là một trong những tính chất (đặc tính) để xác định ung thư và sự cấu trúc  sai lệch của nhân thấy trong nhiều TB ung thư là hệ quả rõ ràng về hình thái học của sự biến đổi hệ gen. Rất có thể mọi TB ung thư đều có những biến đổi về số lượng và cấu trúc hệ gen của nó. Số lượng các biến đổi hiện vẫn chưa xác định được một cách chính xác và chắc chắn là nó có sự thay đổi ở các dạng ung thư cũng như các giai đoạn tiến triển của nó. Bằng phương pháp giải trình tự DNA hệ thống người ta đã xác định được hàng trăm đến hàng nghìn điểm đột biến trong một số khối u. Chắc chắn là có đến 20 hoặc hơn sự sai lệch NST đã được phát hiện bởi các kỹ thuật di truyền TB, đó chẳng phải là việc bất thường đối với một carcinoma tiến triển.

Vì vậy, việc xem xét *ung thư như là một bệnh di truyền* là rất thích đáng. Tuy nhiên vẫn còn một số điểm cần phải lưu ý đó là:

– Chỉ có một số ít các ung thư là do các đột biến có thể di truyền được ở dòng mầm. Không phải đa số các biến đổi di truyền thấy trong các ung thư đều được phát triển trong các TB soma của một bệnh nhân theo năm tháng. Do vậy, ung thư hầu như luôn luôn là một bệnh gây nên bởi các đột biến soma. Ngay cả trong các ung thư đã được di truyền qua nhiều thế hệ trong một gia đình thì những đột biến di truyền khởi đầu cũng được bổ sung bởi các đột biến phụ soma. Hơn nữa, các ung thư phát sinh ở trẻ nhỏ hoặc ở lứa tuổi thanh thiếu niên cũng thường do những đột biến de novo trong các TB mầm của cha mẹ chúng hoặc trong quá trình phát triển ở trong tử cung của người mẹ. Một dạng đặc biệt của ung thư này là u ác tính Wilms, ung thư tinh hoàn hay bệnh bạch cầu thời thơ ấu.

– Mối liên hệ giữa kiểu gen (genotype) đột biến và kiểu hình (phenotype) trong bệnh ung thư cũng không đơn giản. Như một quy luật, các TB ung thư đều chứa nhiều đột biến khác nhau mà mỗi đột biến đều  có thể góp phần với những mức độ khác nhau đối với các đặc tính của khối u.

– Không phải tất cả các đặc tính của các TB ung thư đều có thể do các khiếm khuyết di truyền. Nhiều sự thay đổi ổn định ở các TB ung thư được thiết lập bởi một vòng điều hòa mà không hề có sự biến đổi nào về các trình tự hoặc số lượng DNA. Những sự biến đổi như thế được biểu thị với tư cách là *biến đổi epigenetic*. Chúng có thể xảy ra trong một TB ung thư hoặc liên quan tới những tương tác của nó với các dạng TB khác.

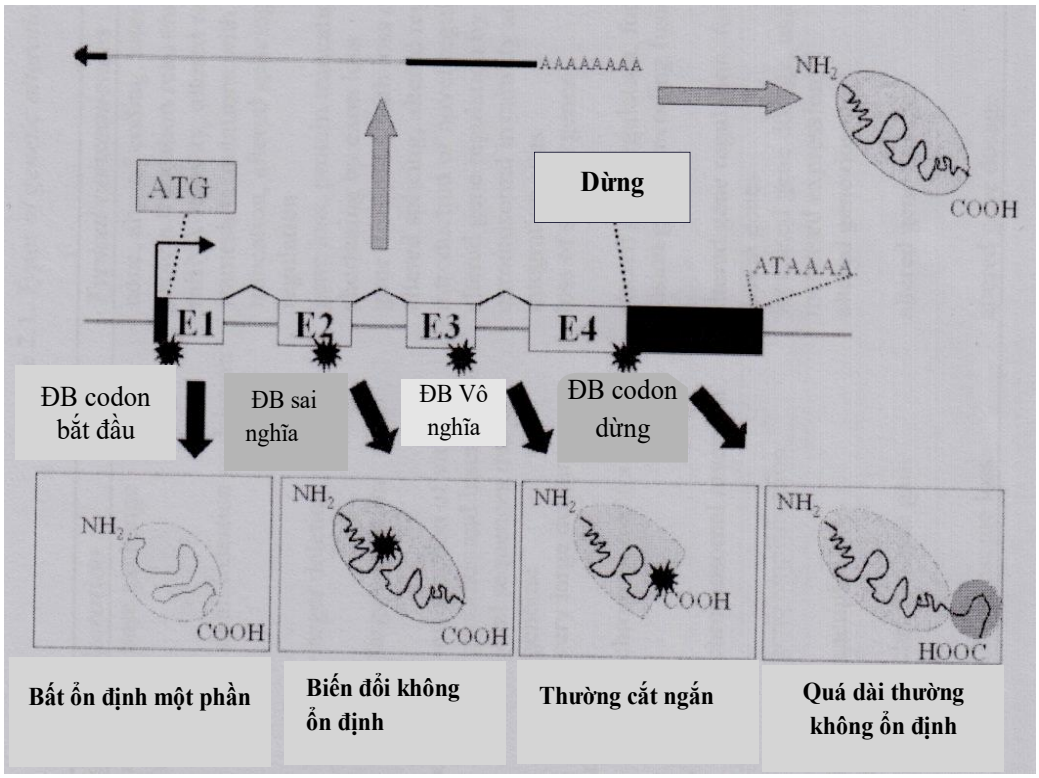
## 3.2. NHỮNG BIẾN ĐỔI DI TRUYỀN TRONG CÁC TẾ BÀO UNG THƯ

Nhiều dạng biến đổi gen khác nhau có thể quan sát thấy trong các TB của người nhờ các phương pháp di truyền TB hoặc phân tử (Bảng 3.1). Một số biến đổi tác động tới chỉ một hoặc số ít gen. Trình tự DNA của một gen cá thể có thể bị biến đổi do các đột biến điểm, đứt đoạn lớn hay nhỏ hoặc do sự cài thêm hay sự sắp xếp lại với rất nhiều trình tự tiềm năng. Các đứt đoạn lớn hơn có thể tác động tới một số gen. Sự sắp xếp lại có thể dẫn đến việc tạo ra các gen mới từ các gen khác.

❑ ***Các đột biến điểm***

Các đột biến điểm là do sự trao đổi giữa các base của DNA. Chúng được phân loại như các quá trình chuyển đổi (pyrimidine → pyrimidine hoặc purine → purine) hoặc đổi ngang pyrimidine → purine hoặc purine → pyrimidine). Chúng có thể có các hiệu ứng khác nhau, ngay cả khi chỉ xem xét những gì xảy ra trong vùng mã hóa của một gen (Hình 3.1). Các *đột biến câm* (silent mutation) dẫn đến mã hóa một codon khác, giống nhau về amino acid. Vì thế, chúng không làm thay đổi tiềm năng mã hóa của mRNA, nhưng chúng có thể tác động đến *tính ổn định* của nó. Một hiệu ứng giống nhau có thể được lộ ra do các đột biến ở đầu 3'- hoặc 5'-UTR (vùng không phiên dịch-untranslated region). Các *đột biến sai nghĩa* (missense mutation) dẫn đến *thay đổi amino acid và các trình tự*. Hệ quả của sự biến đổi này là protein có thể tăng giảm hay giữ nguyên hoạt tính. Vì thế, việc đánh giá tác động chức năng của một đột biến sai nghĩa phát hiện được trong một TB khối u cần đòi hỏi một khảo nghiệm về sinh hóa và TB đối với chức năng của protein đã được mã hóa. Các *đột biến vô nghĩa* (nonsense mutation) thì việc đánh giá dễ dàng hơn vì chúng dẫn đến sự *cắt ngắn*, thường là một sản phẩm protein không ổn định. Hơn nữa, những đột biến vô nghĩa xảy ra giữa các codon bắt đầu bằng ATG và vị trí ghép nối, ví dụ như trong exon thứ nhất hoặc thứ hai của một gen, sự bất ổn định mRNA làm cho nó dễ bị suy yếu qua trung gian do đột biến vô nghĩa (nonsense –mediated decay) (NMD) – một cơ chế kiểm soát chất lượng TB. Điều quan trọng là, các đột biến điểm về nguyên tắc có thể được hoạt hóa hoặc bất hoạt. Tuy nhiên, phạm vi của các đột biến dẫn đến tăng hoạt tính của một sản phẩm gen

thường hẹp hơn nhiều so với làm giảm hoạt tính của nó. Chẳng hạn như các đột biến làm hoạt hóa gen ung thư RAS chỉ giới hạn ở 3 codon, trong khi đó các đột biến gây bất hoạt gen kiềm chế khối u TP53 kéo dài qua cả một gen.



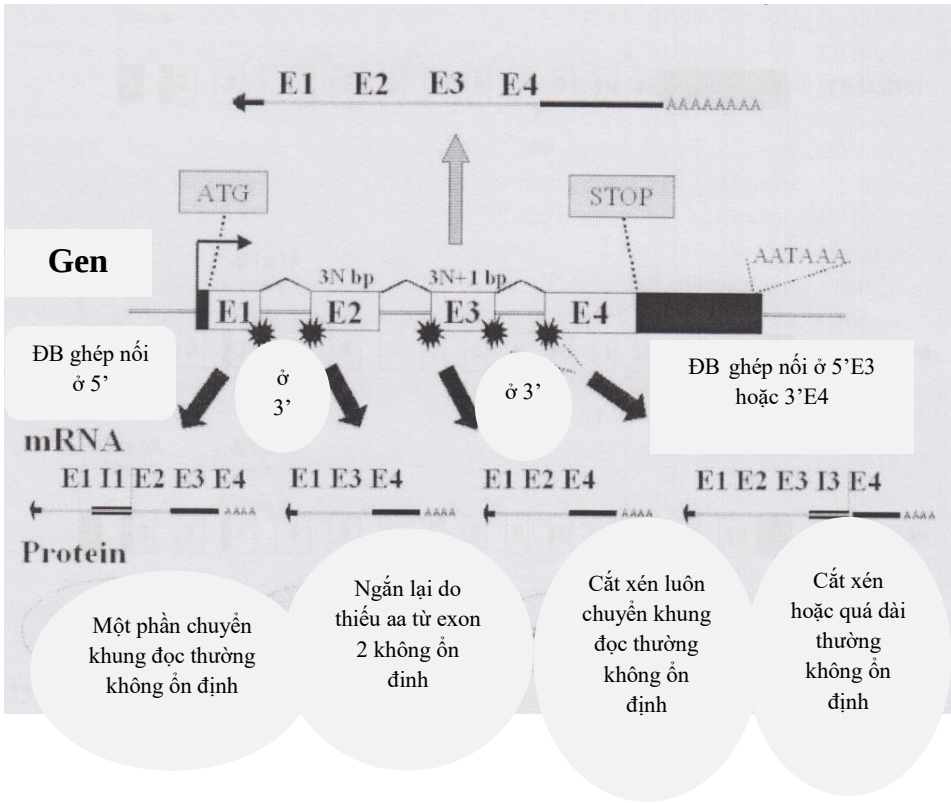

**Hình 3.1** *Các hiệu ứng của đột biến điểm trong mã hóa trình tự của một gen*
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

### ❑ *Các đột biến ghép nối*

Sự ghép nối đòi hỏi các trình tự phải có sự đồng thuận đặc biệt ở các khớp nối exon-intron cũng như trong intron. Hiệu lực của ghép nối cũng bị ảnh hưởng bởi các trình tự bên trong exon. Các đột biến trình tự cần cho sự ghép nối có thể làm thay đổi sản phẩm protein hoặc mức độ biểu hiện của nhiều hoặc ít gen (Hình 3.2). Các đột biến làm đứt vị trí ghép nối 5’ có thể dẫn đến nhảy mất một đoạn exon, trong khi đó các đột biến tác động vào vị trí ghép nối 3’ thì có thể dẫn đến kéo dài exon cho đến khi có thể nhận ra vị trí ghép nối tiếp theo. Trong cả 2 trường hợp, một protein bị biến đổi có thể là do thiếu amino acid hoặc thêm các amino acid bổ sung. Nếu khung đọc ở các exon sau bị thay đổi thì sản phẩm protein theo sau thường bị cắt xén và/hoặc không ổn định. Với các trình đồng dạng, thì các đột biến điểm trong các intron hay exon có thể tạo nên các vị trí ghép nối mới từ các “vị trí ghép nối khe” (cryptic splice sites).

**Bảng 3.1** *Các dạng biến đổi gen ở ung thư người*

| Dạng biến đổi di truyền | | Hậu quả tiêu biểu | Ví dụ |
|---|---|---|---|
| Thay đổi trong trình tự DNA | Trao đổi base | Không, biến đổi sự mã hóa, biến đổi ghép nối, biến đổi tính ổn định của mRNA, biến đổi điều hòa | Hoạt hóa tiền gen ung thư RAS bất hoạt gen kiềm chế khối u TP53 |
| | Cài thêm hoặc loại bỏ một đoạn nhỏ. | Đột biến khung đọc với cắt xén protein, biến đổi ghép nối, biến đổi điều hòa gen | Dãn/co đoạn Oligo –đoạn A trong gen TGFBR2 |
| | Đứt đoạn lớn | Mất gen, cắt xén hoặc làm ngắn protein do mất exon | Đứt đoạn CDKN2A, mất domain trong gen kiềm chế khối u RB1 |
| | Cài đoạn lớn | Gián đoạn gen với mất protein, biến đổi ghép nối, biến đổi điều hòa | Bất hoạt gen kiềm chế khối u APC do chèn retrotransposon |
| Nhiễm virus | Đưa vào hệ gen virus và cài các trình tự vào hệ gen | Đưa vào các protein điều hòa mới, biến đổi điều hòa gen do cài virus bất ổn định NST ở vị trí hội nhập virus | Bất hoạt TP53 và RB1 bởi HPV E6 và protein E7, hoạt hóa oncogene bởi LTR của retrovirus |
| Thay đổi cấu trúc nhiễm sắc thể | Đứt đoạn rất lớn | Mất một số gen | Đứt đoạn 8p trong ung thư tuyến tiền liệt |
| | Chuyển vị NST | Biến đổi điều hòa gen, hình thành gen liên hợp | Hoạt hóa gen ung thư MYC trong u lympho, gen liên hợp BRC-ABL trong CML |
| | Đảo NST | Biến đổi điều hòa gen, hình thành các gen liên hợp | Hoạt hóa gen ung thư RET trong ung thư tuyến giáp |
| | Khuếch đại gen | Tăng liều lượng gen, thường với tăng sự biểu hiện | Khuếch đại gen ung thư MYC hoặc ERBB1 |
| Thay đổi số lượng NST | Aneuploidy (lệch bội) | Biến đổi liều lượng gen | Biến đổi số lượng NST trong các ung thư tiến triển |
| | Tăng thêm NST | Biến đổi liều lượng gen | Thêm NST 7 trong carcinoma TB u nhú thận |
| | Mất NST | Biến đổi liều lượng gen | Mất NST 3p trong RCC tế bào sang |



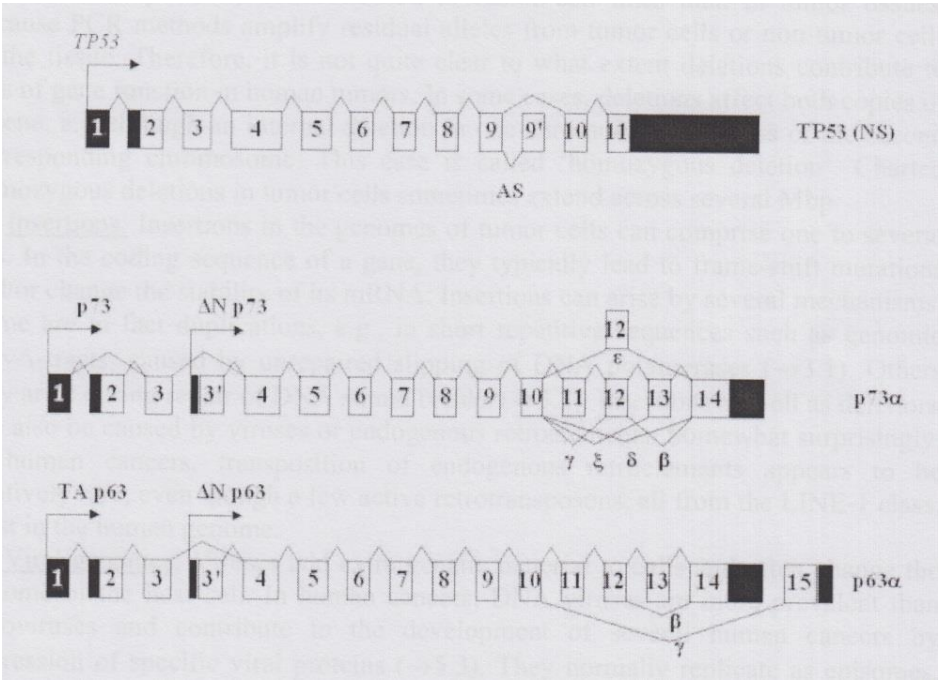

**Hình 3.2** Các hiệu ứng tiềm năng của các đột biến vị trí ghép nối

E: exon; I: intron. Lưu ý rằng hiệu ứng của đột biến vị trí ghép nối 3' phụ thuộc vào exon có số nucleotide có thể chia hết cho 3.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

❑ ***Sự ghép nối luân phiên (alternative splicing)***

Vấn đề biến đổi ghép nối trong các khối u người là rất khó vì trong các TB bình thường của động vật có vú luôn có những thay đổi bất thình lình về các ghép nối. Hiện tại theo ước tính trung bình *mỗi gen người tạo ra khoảng 5 biến thể mRNA khác nhau* do sự ghép nối khác nhau, vì có sử dụng promoter luân phiên và các tín hiệu kết thúc luân phiên. Điều đó làm khó cho việc xem xét, liệu rằng những biến đổi ghép nối thấy ở các khối u có liên quan gì hay không và liệu có gây ra bởi các đột biến trong các gen tác động hay bởi các đột biến trong các chất điều hòa ghép nối?. Một số gen quan trọng bộc lộ các biến thể trong ghép nối ở ung thư người có lẽ là có liên quan về mặt chức năng, tuy nhiên vẫn chưa hiểu nguyên nhân vì sao. Trong số đó có chất kiềm chế khối u TP53, được gọi là TP73L và TP73 (Hình 3.3). Chúng mã hóa cho một số protein khác nhau với các chức năng khác nhau, các tiền type (prototype) được biểu thị thứ tự là p63α và p73α.




**Hình 3.3** *Các biến thể ghép nối của p63 và p73*

P73 và p63 là các tương đồng (homolog) của protein kiềm chế khối u quan trọng TP73 có chồng chéo một phần chức năng. Nhiều protein được tạo thành là kết quả sự ghép nối luân phiên (theo chữ Hy Lạp), và sử dụng các vị trí khởi đầu sao chép khác nhau, ít nhất là 2 vị trí ở mỗi gen (mũi tên). Những vùng không được phiên dịch được vẽ màu đen. Trong các TB ung thư, tần số tương đối của các thông điệp khác nhau thường bị biến đổi bởi các cơ chế chưa được rõ. Gen P53 có lẽ cũng biểu hiện các biến thể ghép nối bổ sung mà mẫu hình của nó đã thay đổi ở các ung thư.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

### ❑ *Đột biến trong các trình tự điều hòa*

Đây là vấn đề thậm chí còn phức tạp hơn cả đột biến các trình tự không mã hóa điều hòa sự sao chép. Các trình tự điều hòa cho một gen thường chiếm khoảng 10 Kb. Ngoài các promoter cơ bản, chúng còn bao gồm các enhancer và silencer có thể định vị ở thượng nguồn hay hạ nguồn của gen cũng như trong các intron và các thành phần (yếu tố) biên giới. Chúng không thật đặc trưng đối với nhiều gen của người và hiệu ứng của đột biến điểm và thậm chí cả với các thay đổi lớn cũng chỉ có thể được đánh giá bằng các thí nghiệm tẻ nhạt. Và hệ quả là, nhiều nghiên cứu về ung thư người lại chỉ tập trung vào các đột biến chỉ ở các trình tự mã hóa, việc xem xét hầu hết tại các khớp nối exon/intron. Vì thế người ta cho rằng có nhiều đột biến ung thư xảy ra ở ngoài vùng mã hóa của gen, nhưng tần suất và chức năng tác động của chúng thì hiện nay chưa đánh giá được. Hơn nữa, nhiều đột biến đã được báo cáo lại nằm ngoài các gen thực tế, ví dụ như các lặp microsatellite thì tầm quan trọng về chức năng của chúng vẫn chưa xác định được.

❑ ***Đứt đoạn (xóa bỏ)***

Ngoài thay đổi các base, việc loại bỏ hay cài thêm vào các đoạn lớn hay nhỏ các base trong các TB ung thư đều gây cản trở vùng mã hóa của các gen hoặc phá hủy các yếu tố điều hòa của chúng. Hiển nhiên là, các đứt đoạn nhỏ sẽ được phân tích bằng PCR, trong khi đó các đứt đoạn rất lớn có thể được phát hiện bằng các phương pháp di truyền TB. Các đứt đoạn cỡ trung bình khoảng 1Kb hoặc hơn một chút thì dùng để lập biểu đồ trong các dòng TB ung thư chứ không phải là trong các mô khối u. Vì thế hiện chưa rõ là mức độ nào của đứt đoạn thì góp phần làm mất chức năng gen trong các khối u người. Trong một số trường hợp, đứt đoạn tác động tới cả hai bản sao của một gen, ví dụ một đứt đoạn nội bộ ở một NST và mất nhiễm sắc thể tương ứng thứ hai. Trường hợp này được gọi là *đứt đoạn đồng hợp tử*. Khi lập biểu đồ các đứt đoạn đồng hợp tử trong các tế bào khối u đôi khi thấy nó kéo dài tới vài Mbp.

❑ ***Sự cài thêm***

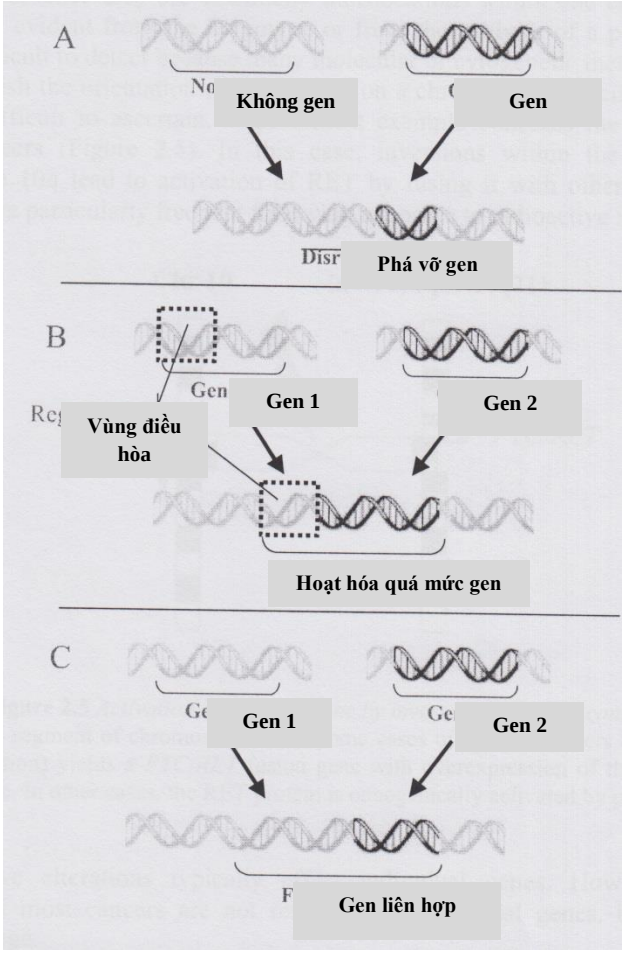
Việc cài thêm vào hệ gen các TB khối u có thể từ 1 bp đến một vài bp. Trong các trình tự mã hóa của một gen thường dẫn đến các *đột biến chuyển khung* (frame-shift mutation) và/hoặc *thay đổi tính ổn định mRNA*. Chèn thêm (cài thêm) có gây nên do một số cơ chế. Một số trường hợp có sự trùng lặp với thực tế, ví dụ trong các trình tự lặp ngắn như vùng poly A của hệ gen do ghép nối không sửa chữa của DNA polymerase. Còn trong các trường hợp khác lại nảy sinh trong quá trình sửa chữa các vết gãy chuỗi DNA. Cài thêm cũng như xóa bỏ đều có thể do virus hoặc các yếu tố retro nội sinh (endogenous retroelement). Điều hơi ngạc nhiên là trong các ung thư người dường như ít liên quan đến sự hoán vị của các yếu tố retro nội sinh, ngay cả với một số ít retrotransposon hoạt động tích cực, tất cả đều từ lớp LINE-1 tồn tại trong hệ gen người.

❑ ***Hệ gen virus***

Các virus mang thêm các vật liệu di truyền vào trong các TB và thường làm thay đổi hệ gen của TB túc chủ. Trong các ung thư người, các virus DNA phổ biến hơn retrovirus đóng góp vào việc phát triển một số ung thư do sự biểu hiện của các protein virus đặc hiệu. Chúng sao chép một cách bình thường như các episome, nhưng trong các TB ung thư thì sự hợp nhất không phải là không bình thường. Những sự chèn thêm này thường gây cản trở cho các gen và đi cùng với việc mất một phần hệ gen virus làm biến đổi các mẫu biểu hiện của các gen virus. Điều quan trọng là, các hợp nhất thường không ổn định và vì thế nó cảm ứng sự bẻ gãy NST cùng với việc mất và sắp xếp lại NST. Đặc biệt là việc cài thêm retrovirus cũng thường ảnh hưởng đến biểu hiện của gen ở gần ví trí cài thêm và gây nên việc biểu hiện quá mức. Trong ung thư người, việc chèn thêm retrovirus dường như là hiếm, nhưng các virus DNA như HBV đôi khi có thể cũng tác động với phương thức tương tự.

❑ ***Sự chuyển vị nhiễm sắc thể***

Những biến đổi trong cấu trúc hoặc biểu hiện các gen đặc biệt cũng có thể do chuyển vị NST (Hình 3.4), mà rõ ràng nhất là trong các ung thư mô mềm và ung thư máu. Rõ ràng là, sự chuyển vị chỉ đơn giản là làm phá hủy và bất hoạt gen tại các vị trí chuyển vị. Tuy nhiên, kết quả đối nghịch là không thường xuyên và rất quan trọng đối với các ung thư người. Chuyển vị có thể làm tách các yếu tố điều hòa ức chế khỏi vùng mã hóa của gen và/hoặc đặt nó dưới ảnh hưởng của các yếu tố điều hòa hoạt hóa từ một gen khác. Trong cả hai trường hợp, chắc chắn là sẽ làm biểu hiện quá mức hoặc làm mất điều hòa của gen. Ví dụ về cơ chế này là sự kích hoạt gen MYC trong u lympho Burkitt. Kết quả thứ ba có thể là tạo ra các gen mới do chuyển vị 2 gen đối lập nhau. Đặc biệt là, sản phẩm của gen mới là một protein liên hợp có chứa các trình tự cuối N nguồn gốc từ một cặp đôi liên hợp và các trình tự cuối C có nguồn gốc từ các cặp đôi khác. Nếu xảy ra một sự chuyển vị cân bằng thì 2 gen và 2 protein liên hợp có thể được hình thành. Các protein liên hợp có thể có các thuộc tính khác nhau đáng kể so với các protein ban đầu. Hai protein "đáng ghét" nhất của dạng này là BCR-ABL và PML-RARα.




**Hình 3.4** Các hiệu ứng của sự chuyển vị NST trong ung thư người

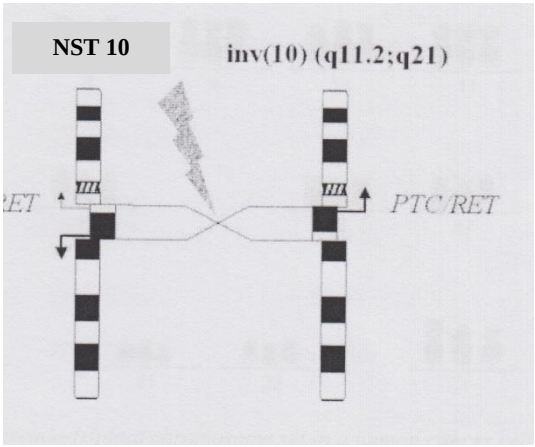
Ở A, gen bị bất hoạt do bị cản trở; ở B, vùng điều hòa của gen 1 trở nên đối nhau với với gen B, làm mất điều hòa sự biểu hiện của nó. Ở C, gen 1 và gen 2 liên hợp với nhau kết quả là biểu hiện một protein liên hợp được kiểm soát bởi vùng điều hòa từ gen 1.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

❑ ***Chèn thêm vào nhiễm sắc thể***

Về cơ bản, có thể có một số hậu quả như sự chuyển vị vì về bản chất chúng cũng là sự hoán đổi trong một NST. Nếu chúng không được thể hiện một cách rõ ràng ở các phân tích karyotype hoặc các phân tích của một gen đặc biệt thì việc phát hiện ra chúng sẽ rất khó khăn vì nhiều phương pháp phân tử hay di truyền TB đang được sử dụng không thể phân biệt được sự định hướng của một trình tự trên NST. Một ví dụ nổi bật có liên quan đến gen RET trong ung thư tuyến giáp (Hình 3.5). Trong trường hợp này, việc chèn thêm vào cánh tay dài của nhiễm sắc thể 10q đã dẫn đến hoạt hóa RET do có sự liên hợp của nó với các gen khác. Những chèn thêm này đặc biệt thường xuyên sau khi tiếp xúc với iode phóng xạ.

Những biến đổi đặc biệt trên đây đã tác động lên các gen cá biệt. Tuy nhiên, những biến đổi di truyền trong hầu hết các ung thư lại không có giới hạn với các gen cá thể, nhưng tác động tổng thể của chúng đến hệ gen lại rất lớn.




**Hình 3.5** Hoạt hóa gen RET do việc chèn thêm vào trong ung thư tuyến giáp

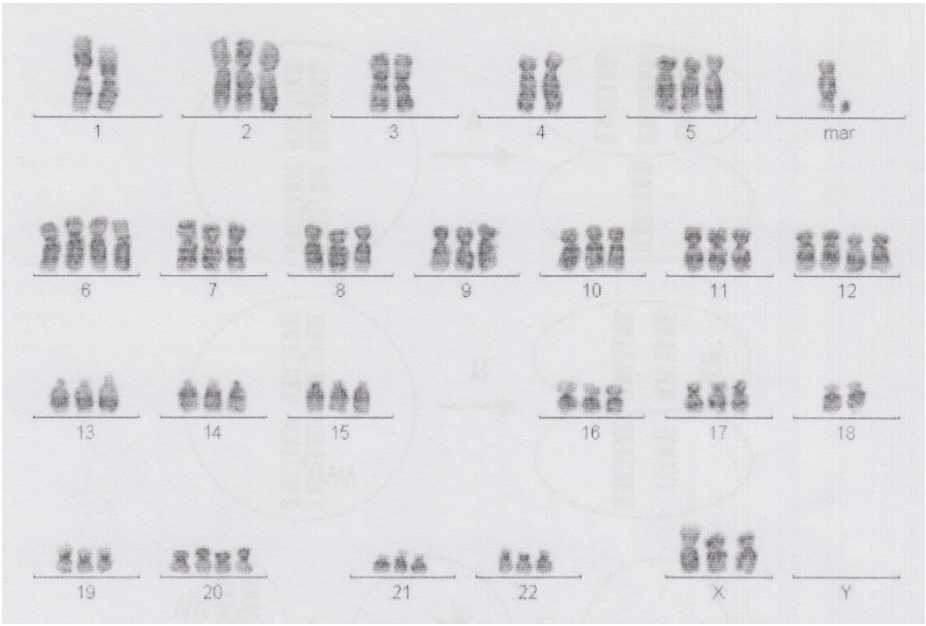
Cài thêm một đoạn của NST 10 trong một số trường hợp của ung thư tuyến giáp (do phóng xạ ion hóa) sẽ tạo nên gen liên hợp PCT/RET với sự biểu hiện quá mức RET receptor tyrosine kinase. Trong các trường hợp khác thì protein RET lại hoạt hóa sinh ung thư bởi các đột biến điểm.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

❑ ***Đa bội và dị bội***

Trong khi một số ung thư vẫn giữ lại hệ gen giống hệt lưỡng bội, chỉ có biến đổi chút ít về số lượng và cấu trúc NST thì nhiều ung thư tiến triển lại là dị bội (aneuploidy) lộ rõ nhiều sai lạc về cấu trúc và số lượng NST. Theo sự định lượng DNA thì nhiều carcinoma bắt đầu xuất hiện từ giai đoạn gần lưỡng bội (near-diploidy), ở đó các NST bị mất đi hoặc thêm vào (mất đi thường chiếm ưu thế) cho đến khi đạt tới tam bội giả (pseudo-triploidy) siêu bền. Thực sự là, nhiều dòng tế bào carcinoma thể hiện trạng thái này với số NST tình thái (modal chromosome) khoảng 70 (Hình 3.6). Con số này gần với con số của một hệ gen tam bội, tức là tam bội giả ấn tượng với nhiều thay đổi về số lượng và cấu trúc NST cá thể. Một số bệnh bạch cầu vẫn duy trì ở trạng thái gần lưỡng

bội trong hầu hết liệu trình của chúng, tuy nhiên cũng biểu lộ những thay đổi riêng biệt như sự chuyển vị đặc hiệu hay mất các đoạn nhiễm sắc thể đặc biệt, nhưng sau đó thì sự phát triển được nhân lên và có những thay đổi NST khác trong phase "khủng hoảng" tận cùng của chúng (terminal "crisis" phase). Nhìn chung, nhiều sai lệch về cấu trúc và số lượng NST đã được phân biệt.




**Hình 3.6** *Bộ NST tam bội giả trong dòng tế bào ung thư người*
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

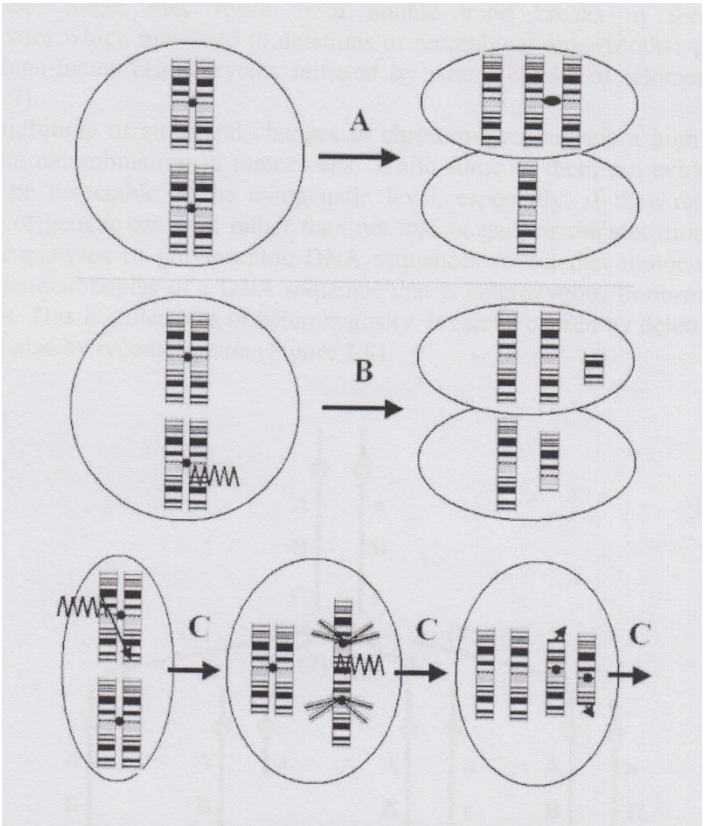
❑ ***Lầm lạc số lượng nhiễm sắc thể***

Trong các TB dị bội, số NST hoặc cánh NST lệch khỏi tổng số các số hiện diện cần thiết, ví dụ như 3 NST của một loại có thể thấy trong TB lưỡng bội. Những sai lệch về số lượng có nghĩa là có một lượng gen đã bị biến đổi do các gen bị tác động. Số bản sao của một gen trong một TB khối u vì thế có thể từ zero (ví dụ như loại bỏ đồng hợp tử) đến rất nhiều. Tuy nhiên, ngay cả trong một TB ung thư thì cũng hiếm khi có hơn 5 hoặc 6 NST của cùng một loại.

❑ ***Khuếch đại gen***

Đạt được số bản sao các gen lớn hơn là do sự khuếch đại của vùng NST nhỏ hơn được gọi là các *amplicon* kích cỡ từ vài Kbs đến vài Mps. Kích cỡ này liên quan đến các khuếch đại có thể chứa một vài gen, trong đó có một hoặc một vài gen biểu hiện quá mức và liên quan tới kiểu hình khối u. Nếu đã đủ lớn thì vùng khuếch đại chứa trong một NST có thể phát hiện được bằng di truyền TB nhờ vùng bắt màu đồng nhất

(homogeneously staining regions –HSR). Các amplicon trong các TB khối u có thể là episome, điển hình như các vòng DNA nhỏ hiện diện như là các chấm nhỏ trong phân tích di truyền TB. Đây là những thiết kế "*double minutes*". Các double minutes tự sao chép nhưng không có hạt trung tâm (kinetochore) và phân phối ngẫu nhiên tới các TB con cháu. Theo đó thì số lượng của chúng thay đổi. Tuy nhiên, chúng có thể thay đổi tương ứng với HSR mà từ đó chúng có thể được tạo ra và chúng có thể phục hồi bằng cách tái tổ hợp. Số lượng bản sao của các gen trên double minutes có thể lên tới hàng ngàn trên một TB. Tăng hay mất toàn bộ NST có thể do sự tạo cụm sai ở phân bào (missegregation at mitosis). Tuy nhiên, với những khuếch đại có thể phỏng đoán trước được những biến đổi về cấu trúc.




**Hình 3.7** Các cơ chế dẫn đến lầm lẫn NST

A: Phân bào không phân ly thường sinh ra trisomy và monosomy của một NST ở các TB con. B: Chuỗi kép bị bẻ gãy không được sửa chữa cho đến tận lúc TB phân chia có thể là nguyên nhân làm mất chất liệu di truyền. C: Cũng có thể còn có cách khác nữa là những nét gãy chuỗi kép làm khởi đầu vòng cầu liên hợp bẻ gãy (breakage –fusion-bridge cycles). Lưu ý rằng các sản phẩm được tạo ra do sự chống đối nhau của NST hai tâm động ở hình giữa có khả năng khởi đầu các vòng chu kỳ tế bào khác. Các vòng cầu liên hợp chỗ gãy cũng có thể được cho là một bộ trong phương thức gây nên bởi sự liên hợp của các telomerase khiếm khuyết.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

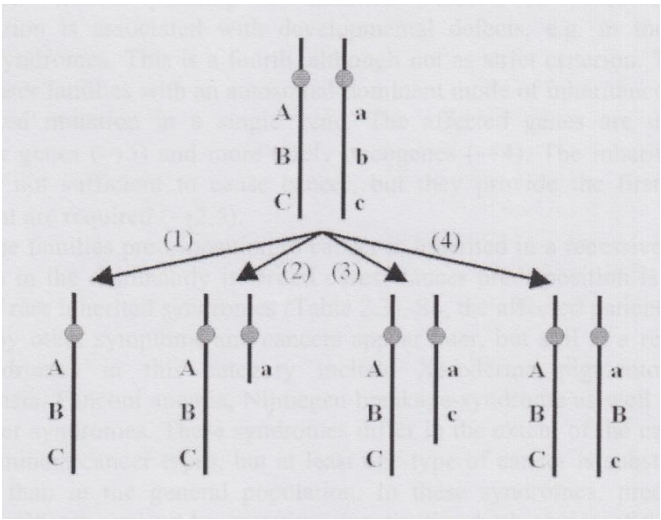
### ❑ *Các sai lệch về cấu trúc nhiễm sắc thể*

Các vấn đề về chuyển vị cũng như cài thêm ở các TB khối u đã được bàn luận như trên, nhưng cũng cần nói thêm về những đứt đoạn nội bộ với các kích cỡ khác nhau. Các phương pháp di truyền TB cổ điển đã phân biệt được "*dấu ấn*" NST trong nhiều TB ung thư, bao gồm các mảnh từ một số NST khác nhau (Hình 3.6). Các phân tích di truyền TB hiện đại đã vạch rõ rằng ngoài các NST xuất hiện một cách hiển nhiên, trong

các TB ung thư còn là nơi neo đậu của các đứt đoạn, cài thêm hoặc gồm cả những bộ phận của một số NST.

Những thay đổi số lượng NST có thể do sự không phân ly ở phân bào (Hình 3.7). Nếu một NST không gắn đúng cách với thoi phân bào thì một TB con có thể có thêm một NST phụ còn TB khác lại bị mất đi một NST. Cội nguồn của những thay đổi cấu trúc NST có lẽ còn phức tạp hơn nhiều. Một số có thể là do các vết gãy chuỗi kép trong NST liên quan mà có thể dẫn đến đứt đoạn hoặc tái tổ hợp. Một cơ chế khác là các vòng cầu liên hợp bẻ gãy được khởi đầu bởi các vết gãy chuỗi hoặc sự liên hợp telomere (Hình 3.7).

Nhiều thay đổi cấu trúc trong các NST lộ ra rất nhiều tái tổ hợp trái nguyên tắc rất cao trong các TB khối u. Một số trong đó thì đã rõ ràng còn số khác thì chưa có khả năng phát hiện được ở mức di truyền TB đặc biệt nếu kết quả lại do sự trao đổi các chất liệu di truyền chứ không phải chỉ đơn thuần là mất hay được hoặc chuyển vị. Thực sự là, các phân tích phân tử về các trình tự DNA đa hình đã vạch rõ rằng các TB khối u thường chứa đựng các bản sao giống hệt một trình tự DNA dị hợp tử trong các TB bình thường của bệnh nhân. Điều này được gọi là *mất tính dị hợp tử*. Nó cũng được gây nên bởi sự đứt đoạn của một allele cũng như sự tái tổ hợp (Hình 3.8)




**Hình 3.8** *Các cơ chế dẫn đến mất tính dị hợp tử trong các TB ung thư*

Hai nhiễm sắc thể đồng hợp tử phơi bày các dấu ấn đa hình Aa, Bb, Cc (đa hình microsatellite hoặc đa hình nucleotide đơn). (1) Mất một NST dẫn đến monosomy; (2) Mất phần cánh dài của NST dẫn đến monosomy một phần; (3) Đứt đoạn ở kẽ với việc mất dấu ấn b; (4) Tái tổ hợp dẫn đến thay thế b bằng B.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Nhiều dạng biến đổi NST khác nhau được bàn luận ở đây lại chưa từng xảy ra đến chừng mực như vậy trong các ung thư người. Đúng hơn là, trong các khối u khác nhau các dạng đột biến cá biệt có xu hướng chiếm ưu thế. Trong một số ung thư, các đột biến điểm là phổ biến, trong khi đó các sai lệch NST dường như là phần lớn làm thay đổi di truyền ở các ung thư khác. Trong một số ung thư, các tiểu dạng (subtype) khác nhau có thể được phân biệt  bởi những khác biệt này, ví dụ trong carcinoma kết tràng. Những

khác biệt khác có thể sẽ còn tinh tế hơn. Chẳng hạn như một số ung thư có xu hướng mất hoặc tăng thêm toàn bộ NST, trong khi đó các ung thư khác lại có xu hướng loại bỏ, tăng thêm hoặc sắp xếp lại các mảnh NST. Đó là những chủ đề rất năng động trong các nghiên cứu ung thư hiện tại.

## 3.3. KHUYNH HƯỚNG DI TRUYỀN ĐỐI VỚI UNG THƯ

Mặc dầu hầu hết các biến đổi di truyền trong các TB khối u phát triển trong suốt thời gian sống của bệnh nhân, nhưng khuynh hướng đi tới ung thư có thể là do di truyền. Có 3 dạng di truyền khác nhau có thể được phân biệt.

Trong một số gia đình, bệnh ung thư thường xuyên xảy ra ở mỗi thế hệ. Đây là dấu xác nhận chung của các bệnh di truyền *tính trạng trội* có tần số xuất hiện cao. Những gia đình này có thể bị quấy nhiễu bởi các ung thư đặc biệt, như ung thư hiếm gặp - u nguyên bào võng mạc hoặc các ung thư thường gặp hơn như ung thư vú, hoặc nhiều dạng ung thư khác như trong hội chứng Li-Fraumeni (Bảng 3.2). Đặc biệt là các ung thư biểu hiện ở độ tuổi thấp hơn so với tuổi trung bình khởi phát và cũng thường bất thường tại nhiều vị trí hoặc ảnh hưởng tới các cơ quan cặp đôi như mắt, thận và vú. Đây là 2 tiêu chí quan trọng khác để chỉ ra các ung thư di truyền. Trong một số trường hợp, khuynh hướng ung thư có liên quan với sự khiếm khuyết phát triển, ví dụ như trong hội chứng Gorlin và Cowden. Đây là tiêu chí thứ tư mặc dầu không phải là tiêu chí quan trọng lắm. Gia tăng nguy cơ trong các gia đình có phương thức biểu hiện di truyền trội là do một đột biến di truyền ở một gen đơn. Các gen bị ảnh hưởng thường là các gen kiềm chế khối u và hiếm hơn là các gen gây ung thư (oncogene). Những đột biến di truyền này dường như là chưa đủ để gây nên ung thư, nhưng chúng đã tạo ra các đột biến đầu tiên cần có.

Trong một số gia đình, khuynh hướng ung thư di truyền ở *phương thức lặn*. Thường trong các trường hợp di truyền trội, khuynh hướng ung thư được phát hiện trong bối cảnh các hội chứng di truyền hiếm gặp (Bảng 3.3). Như vậy, những bệnh nhân bị tác động sẽ bị ảnh hưởng đầu tiên bởi các hội chứng khác và ung thư sẽ xuất hiện sau đó, nhưng vẫn là với độ tuổi tương đối trẻ. Còn các hội chứng trong thể loại này bao gồm: Khô da sắc tố (xeroderma pigmentosum), mất điều hòa giãn mao mạch (ataxia telangiectasia), thiếu máu Fanconi (Fanconi anemia), hội chứng gãy Nijmegen cũng như hội chứng Bloom và Werner. Trong những hội chứng này, khuynh hướng tiến tới ung thư hiển nhiên là do các đột biến làm bất hoạt cả hai bản sao của cùng một gen. Các gen bị ảnh hưởng thường có liên quan tới việc bảo vệ TB và sửa chữa DNA. Nhìn chung là, những khiếm khuyết di truyền trong việc sửa chữa DNA đã hỗ trợ những biến đổi di truyền trong các TB soma để dẫn đến ung thư.

Tính di truyền của các gen đột biến trong các hội chứng ung thư tính trạng lặn và trội làm tăng rất cao nguy cơ phát triển ung thư trong đời người có thể tới mức 100%. Trong khi đó, nguy cơ về thời gian sống của các ung thư rải rác trong cộng đồng dân số lại có thể là tối thiểu. Tuy nhiên, ngay cả trong những bệnh ung thư đó như ung thư da thì nguy cơ về thời gian sống là cao trong cộng đồng dân cư nói chung, nhưng nguy cơ để phát triển một ung thư thì phải đến một độ tuổi xác định nào đó mới tăng cao đối với những người có khuynh hướng di truyền. Rất may là, loại khuynh hướng ung thư này lại không thường xuyên xảy ra. Vì thế tất cả những đột biến nguy cơ cao trong các hội chứng ung thư di truyền lặn và trội cũng chỉ chiếm ít hơn 10% tất cả các ung thư người.

***Bảng 3.2.*** *Các hội chứng khối u có thể được di truyền ở phương thức trội*

| **Hội chứng** | **Gen** | **Định vị** | **Vị trí ung thư** |
|---|---|---|---|
| Bệnh u xơ thần kinh 1 | NF1 | 17q11.2 | Ngoại biên |
| U hắc tố di truyền và ung thư tụy | CDKN2A | 9q21 | Da, tụy và các nơi khác |
| U nguyên bào võng mạc | RB1 | 13q14 | Mắt, xương |
| Cowden | PTEN | 10q23.3 | Nhiều cơ quan |
| Xơ cứng nốt | TSC1 | 9q34 | Các mô mềm trong một số cơ quan |
| | TSC2 | 16p13 | Một số cơ quan |
| Gorlin | PTCH | 9p22 | Da, não |
| Von Hippel-Lindau | APC | 5q21 | Kết tràng, trực tràng và các cơ quan khác |
| | VHL | 3p25 | Thận, tuyến thượng thận, các cơ quan khác |
| Carcinoma TB thận u mềm cơ trơn có thể di truyền | FII | 1q24.1 | Tử cung, thận |
| Burt-Hogg-Dube | BHD | 17q11 | Thận và các cơ quan khác |
| Ung thư dạ dày di truyền | CDH1 | 16q22 | Dạ dày |
| Đa tạo hình mới nội tiết dạng 1 | MEN1 | 11q13 | Các tuyến nội tiết |
| Bệnh u xơ thần kinh 2 | NF2 | 22q | Hệ TK trung ương, TK ngoại biên |
| Li-Fraumeni | TP53 | 17p13.1 | Nhiều cơ quan |
| HNPCC | MLH1 | 3p21 | Kết tràng |
| | MSH2 | 2p15-16 | Nội mạc tử cung, dạ dày, các cơ quan khác |
| Ung thư vú di truyền | BRCA1 | 17q21 | Vú, buồng trứng |
| Ung thư buồng trứng | BRCA2 | 13q12 | |
| Đa tạo hình mới nội tiết dạng 2 | RET | 10q11.2 | Tuyến giáp và các tuyến nội tiết khác |
| Ung thư u nhú thận di truyền | MET | 7q31 | Thận |

Tuy nhiên, nguy cơ ung thư "cá thể" có thể chịu ảnh hưởng rất nhiều bởi kiểu hình. Có khoảng 1/1000 cặp base khác nhau giữa các cá thể người. Những khác biệt xảy ra với trên *0,5%* ở một dân cư được gọi là "*sự đa hình" (polymorphisms*) và vì thế được phân biệt với những thay đổi hiếm. Các đa hình phát hiện thấy ở vùng mã hóa của các gen cũng như trong các trình tự điều hòa và các trình tự không mã hóa khắp hệ gen. Những sự khác biệt này bao gồm các *đa hình nucleotide đơn (SNP*) và những khác biệt về kích cỡ của *các lặp micro* và *minisatellite* cũng như việc cài thêm hoặc loại bỏ với các kích cỡ khác nhau.

***Bảng 3.3*** *Các hội chứng ung thư có thể di truyền trong cách thức lặn*

| **Hội chứng** | **Chức năng bị tác động** | **Gen liên quan** | **Vị trí cơ quan** |
|---|---|---|---|
| Chứng khô da | Nucleotide | XP(ERCC) | Da |
| Mất điều hòa sắc tố (pigmentosum ataxia) | Cắt bỏ sửa chữa phá vỡ chuỗi | Gen và ATM | Nhiều cơ quan |
| Giãn mao mạch | Sửa chữa tín hiệu | | |
| Thiếu máu Fanconi | Sửa chữa liên kết chéo | Gen FANC, BRCA2 (đồng hợp tử) | Hệ tạo máu và các hệ khác |
| Hội chứng bẻ gãy Nijmegen | Bẻ gãy sửa chữa chuỗi kép | NBS | Hệ tạo máu |
| Hội chứng Bloom | Tái tổ hợp | BLM | Nhiều cơ quan |
| Hội chứng Werner | Sửa chữa tái tổ hợp, chức năng Telomere | WRN | Nhiều cơ quan |

Sự đa hình trong các gen có liên quan tới sự chuyển hóa thuốc và các hợp chất ngoại sinh (Bảng 3.4) được xác định là có liên quan đến các gen trong miễn dịch học, sự viêm nhiễm, chuyển hóa hormone và chuyển hóa nucleotide.

***Bảng 3.4*** *Một số đa hình di truyền quan trọng đối với khuynh hướng ung thư*

| **Gen** | **Đa hình** | **Chứ năng gen** | **Môi trường tương tác** |
|---|---|---|---|
| GSTM1 | Đứt đoạn | Carcinogen, chuyển hóa | Khói thuốc lá và các nguồn khác |
| Đứt đoạn | Carcinogen, chuyển hóa | Các alkene chlorinate béo ngắn | |
| NQO1 | Base/ thay đổi aa với tính bất ổn định của protein | Carcinogen, chuyển hóa. ngăn ngừa vòng oxy hóa khử | Benzene, quinone |
| NAT2 | Nhiều base/thay đổi aa trong vùng mã hóa | Carcinogen, chuyển hóa<br>Carcinogen, chuyển hóa | Arylamine<br>Hydrocarbon polyaromatic |

| | | | |
|---|---|---|---|
| CYP1A1 | Base/thay đổi aa | | |
| TS | Số lặp trong promoter | Sinh tổng hợp nucleotide | Folate |
| MTHFR | Base/thay đổi aa với giảm tính ổn định | Sinh tổng hợp nucleotide | Folate, vitamin $B_{12}$, alcohol |
| TP53 | Base/ thay đổi aa | Kiểm soát tính ổn định | Bức xạ, clastogen |
| BRCA2 | Base/thay đổi aa | Sửa chữa DNA | Bức xạ, clastogen |
| OGG1 | Base/thay đổi aa | Sửa chữa DNA | Chế độ ăn (?) |
| XRCC1 | Base/thay đổi aa | Sửa chữa DNA | UV (?) |
| ATM | Base/thay đổi aa hoặc cắt xén | Sửa chữa DNA | Bức xạ ion hóa |
| MC1R | Base/thay đổi aa | Biệt hóa và tăng sinh Melanocyte | UV |
| IL1B | Số lặp trong promoter | Đáp ứng miễn dịch | *Helicobacter pyroli* |
| HPC1 | Base/thay đổi aa | Đáp ứng với dsRNA (?) | Nhiễm virus (?) |
| AR | Chiều dài lặp trong trình tự mã hóa | Đáp ứng hormone | Chế độ ăn |

Điều quan trọng cần lưu ý là hiệu ứng của một đa hình trong chuyển hóa thuốc không những phụ thuộc vào mức độ mà nó làm biến đổi chức năng của gen mà còn phụ thuộc vào liều lượng và dạng tiếp xúc. Chẳng hạn như, sản phẩm của một gen khác từ họ GST là GSTT1 nói chung cũng có tác dụng bảo vệ kháng lại các chất sinh carcinoma, nhưng lại  hoạt hóa các alkene chlorinate nhỏ như trichloro-ethylene thành các hợp chất gây đột biến cao.

Một tình huống phức tạp được đặt ra bởi sự đa hình ở các gen ung thư nguy cơ cao. Chẳng hạn như, một số đa hình được biết đến trong đột biến gen ở hội chứng Li-Fraumeni- gen TP53. Có ít nhất một trong số đó có thể chỉ có liên quan nhỏ nhưng lại đặc hiệu hơn làm tăng nguy cơ ung thư. Một khó khăn hơn nữa có liên quan tới các đột biến ở gen ATM dẫn đến nguy cơ ung thư cao khi hiện diện ở trạng thái đồng hợp tử (trong thực tế thường có sự tổ hợp các đột biến nguy cơ cao khác nhau), do vậy chính xác vấn đề này là *đồng hợp tử đa hợp* (compound homozygosity). Thật may mắn là đồng hợp tử là rất hiếm gặp, nhưng dị hợp tử đối với các đột biến như 7172T→G có thể là thường xuyên với tỷ lệ 1:200 trong một số dân cư (do vậy người ta phải xem xét vấn đề này như là một sự đa hình). Vậy thì liệu những người có đa hình thì nguy cơ có tăng cao hay không? Đây là vấn đề "hot" đang được bàn cãi.

Một đặc trưng của các khối u di truyền là chúng xuất hiện sớm hơn so với các trường hợp lẻ tẻ. Điều này thật rõ ràng khi các khối u phát sinh trong bối cảnh các hội

chứng di truyền (ví dụ như các u não thời thơ ấu) trong các gia đình có hội chứng Li-fraumeni. Mặc dù chúng là các khối u của thời niên thiếu nhưng sự khởi đầu trung bình có thể sớm hơn chút ít ở một số trường hợp có tính chất gia đình.

Tuy nhiên, đối với các trường hợp khác của Wilms thì lại gây nên bởi các khuyết tật phát triển (developmental defects) trong TB mầm của cha mẹ hoặc trong quá trình phát triển sớm do *hệ quả của các biến đổi di truyền hay biến đổi epigenetic*. Tình hình tương tự cũng có trong các ung thư TB mầm tinh hoàn bắt nguồn từ các TB mầm có những đột biến thu được trong bào thai nên không hoàn tất sự trưởng thành của chúng. Một số ít các ung thư này trở nên rõ ràng ở trẻ em, nhưng hầu hết bắt đầu phình to ra dưới ảnh hưởng của tăng nồng độ androgen trong quá trình dậy thì, đỉnh điểm là ở độ tuổi 30. Trong bối cảnh đó, các nghiên cứu trên trẻ song sinh có sự giảm thấp bệnh bạch cầu đã chỉ rõ rằng các chuyển vị NST tin cậy có khả năng xảy ra rất sớm trong quá trình phát triển thai nhi, mặc dầu sau đó một thập kỷ bệnh mới được xuất hiện. Như vậy, trong khi các ung thư này bị nghi ngờ là bị di truyền thì chính xác hơn chúng lại là các bệnh bẩm sinh.

## 3.4. CÁC GEN UNG THƯ

Trong TB của một ung thư tiến triển giai đoạn muộn, hàng trăm gen có thể bị đột biến hoặc có sự sắp xếp lại và quy luật về lượng cũng như cách thức biểu hiện của chúng có thể bị thay đổi. Thực sự thì, việc thực hiện những dẫn liệu về TB khối u bằng các kỹ thuật mảng (array techniques) đã phát hiện được hàng nghìn gen có biểu hiện hoặc tăng hoặc giảm. Tuy nhiên, những thay đổi về sự biểu hiện có thể không chỉ do những thay đổi nguyên phát như biến đổi về lượng gen hoặc đột biến mà còn nguyên nhân thứ hai nữa là do các *đột biến ở gen điều hòa do các cơ chế epigenetic*. Do đó, không phải ngay lập tức làm rõ ràng ngay được những thay đổi nào là cần cho sự phát triển khối u, đóng góp vào kiểu hình của các ung thư, điều đó là hoàn toàn ngẫu nhiên. Một số loại gen khác biệt có thể được phân biệt liên quan trong ung thư người.

❑ ***Các gen kiềm chế khối u:*** Chức năng của chúng suy giảm mạnh hoặc bị xóa sạch do các đột biến hoặc do sự ghép nối epigenetic

❑ ***Các gen gây ung thư (oncogene):*** Một vài gen chịu trách nhiệm trong các ung thư di truyền như RET trong ung thư nội tiết di truyền và MET trong carcinoma u nhú thận di truyền (hereditary renal papillary carcinoma) được kích hoạt. Đối với một lượng lớn các gen, việc kích hoạt do các đột biến đặc hiệu hoặc do biểu hiện quá mức trình tự khuếch đại gen hoặc bởi các cơ chế khác cũng nhất quán như trong các ung thư lẻ tẻ. Một số trong số các gen này có liên quan đến các gen trong các retrovirus gây ung thư (oncogenic retrovirus) trên động vật, vì thế các gen này được gọi là gen ung thư (oncogene).

❑ ***Sửa chữa DNA và các gen trạm kiểm soát (checkpoint gene)***

Hầu hết các gen ung thư và kiềm chế khối u kiểm soát trực tiếp sự tăng sinh, biệt hóa và/hoặc sự sống sót của TB. Loại gen kiềm chế khối u đôi khi được gọi là "*người chăm sóc*" (caretaker) và liên quan trực tiếp đến sự điều hòa tăng trưởng nên được gọi là "*người gác cổng*" (gatekeeper). Những đột biến trong một số gen người gác cửa cũng thấy trong một số ung thư rải rác của người.

❑ ***Các gen điều biến nguy cơ:*** Có một nhóm gen trong các gen liên quan thậm chí còn ít liên quan trực tiếp đến sự phát triển ung thư nhưng các sản phẩm gen của nhóm này lại điều biến sự phát triển ung thư, ví dụ như bằng cách gây ảnh hưởng đến mức các carcinogen hoạt hóa, phản ứng của hệ miễn dịch đối với các TB ung thư hoặc mức hormone và các yếu tố tăng trưởng kích thích tăng sinh TB khối u. Tầm quan trọng của chúng thường rất phụ thuộc vào các yếu tố môi trường như việc tiếp xúc với các chất sinh carcinoma chẳng hạn. Nhưng khi ung thư đã được thiết lập thì những tác nhân này không còn cần thiết một cách tuyệt đối nữa.

❑ ***Các gen điều hành:*** Ngược lại, một nhóm các gen khác chỉ trở nên quan trọng sau khi ung thư đã được thiết lập. Những gen này có thể bị kích hoạt bởi các đột biến, nhưng thường bị cảm ứng do hậu quả của sự hoạt hóa các gen ung thư hoặc bất hoạt các gen kiềm chế khối u. Chúng có thể không cần thiết đối với sự sống sót của các TB ung thư nhưng lại cần cho sự duy trì tăng trưởng và đặc biệt cho sự xâm lấn và di căn của chúng.

## 3.5. SỰ TÍCH LŨY NHỮNG THAY ĐỔI DI TRUYỀN VÀ EPIGENETIC TRONG UNG THƯ NGƯỜI

Những ung thư tiến triển của người thường chứa đựng nhiều thay đổi di truyền và các biến đổi epigenetic. Trong các ung thư người, hiếm có khả năng xác định xem chúng đã tiến triển đến giai đoạn nào. Tuy nhiên, hầu hết các số liệu cho thấy quá trình phát triển ung thư được tích lũy dần dần. Sự tích lũy dần dần nhiều sự thay đổi di truyền giải thích được tại sao hầu hết các ung thư lại xuất hiện ở lứa tuổi đã cao và như thế có phù hợp với các số liệu dịch tễ học cho rằng muốn phát triển ung thư phải cần 4-5 "cú hích" (hit). Những gen bị tác động bởi các đột biến quan trọng là các gen sinh ung thư và các gen kiềm chế khối u. Thực sự thì, các carcinoma tiến triển ở người thường chứa đựng các đột biến ở một số gen của cả 2 dạng. Những thay đổi di truyền và epigenetic ở các gen khác nữa có thể điều biến kiểu hình của khối u. Hầu hết các biến đổi di truyền là do các đột biến soma, nhưng khuynh hướng di truyền của ung thư lại có thể do các đột biến quan trọng xảy ra ở dòng mầm, cùng với các đột biến xảy ra một cách soma.

Cách khác về khuynh hướng di truyền ung thư có thể là do các đột biến dòng mầm ở các gen sửa chữa DNA hoặc các gen người chăm sóc "caretaker". Những khiếm

khuyết này dường như là trợ giúp cho việc phát triển ung thư do gia tăng khả năng đột biến quan trọng trong các gen ung thư và kiềm chế khối u, nhưng cũng có liên quan đến các đột biến phụ có tầm quan trọng ít hay nhiều đối với sự tiến triển khối u. Chẳng hạn như các ung thư do khiếm khuyết cặp DNA không phù hợp chứa đựng một lượng lớn các đột biến, một số có trong các gen ung thư và các gen kiềm chế khối u, còn số khác có trong các lặp microsatellite không thích hợp.

## *TÓM TẮT*

❖ *Các TB ung thư thường chứa đựng nhiều biến đổi về số lượng và cấu trúc gen và nhiễm sắc thể.*

❖ *Đa số các biến đổi di truyền thấy trong các TB ung thư là các đột biến ở TB soma. Một vài ung thư ở trẻ em và những người trẻ tuổi là do các khiếm khuyết di truyền hoặc khiếm khuyết epigenetic trong quá trình phát triển thai nhi. Những đột biến dòng mầm là nền tảng của những hội chứng ung thư có tính chất gia đình. Chúng có thể được di truyền ở thể lặn hay thể trội.*

❖ *Các đột biến gây nên các hội chứng ung thư có thể được di truyền lại sẽ làm tăng nguy cơ ung thư theo mức độ quan trọng của chúng. Về tổng thể, chúng tương đối hiếm. Ngược lại, những biến thể di truyền ấn tượng (đa hình) ở rất nhiều gen lại chỉ ảnh hưởng vừa phải đến nguy cơ ung thư nhưng lại rất phổ biến. Những gen mã hóa như thế, ví dụ như các protein liên quan tới sự chuyển hóa của các chất sinh carcinoma và kháng lại sự hủy hoại của TB cũng như điều hòa hoạt tính miễn dịch, sự viêm nhiễm và sự chuyển hóa của các hormone và các yếu tố tăng trưởng.*

❖ *Nhiều biến đổi di truyền khác nhau đã quan sát được ở các TB ung thư. Các gen cá thể biểu hiện các đột biến điểm, như những biến đổi của các base, sự cài thêm hoặc đứt đoạn, hoặc có thể do tác động bởi sự đảo đoạn hay chuyển vị NST. Những biến đổi này dẫn đến biểu hiện các sản phẩm biến đổi gen làm giảm hoặc tăng sự biểu hiện gen hoặc một sản phẩm gen mới được tạo thành như các protein liên hợp (fusion protein). Hơn nữa, các TB ung thư thường biểu hiện là dị bội (aneupoid) và/hoặc các biến đổi cấu trúc của NST. Bao gồm mất hoặc được các NST hoặc các bộ phận của NST cũng như sự sắp xếp lại và tái tổ hợp. Hậu quả làm cho nhiều gen cá thể bị mất hoàn toàn do sự xóa bỏ đồng hợp tử thông qua việc làm giảm số lượng bản sao và tăng liều lượng gen do sự khuếch đại. Ở các locus đa hình, mất dị hợp tử có thể xảy ra là hậu quả của sự đứt đoạn hay tái tổ hợp.*

❖ *Trong các ung thư xác định, do bị nhiễm các virus DNA và các retrovirus đã làm biến đổi thành phần của hệ gen như thêm vào các trình tự mới và làm biến đổi những cái hiện có, đó là hệ quả của việc cài thêm hoặc cảm ứng đứt đoạn và sự sắp xếp lại.*

❖ *Những dạng khác nhau này của sự biến đổi gen xảy ra trong các bối cảnh khác nhau ở các dạng ung thư khác nhau và ngay cả trong các ung thư của cùng một dạng. Do vậy, trong một số ung thư, các đột biến điểm có thể chiếm ưu thế, trong khi các trường hợp khác lại phát hiện thấy những sự lầm lạc NST là nổi trội.*

❖ *Những dạng khác nhau của các biến đổi gen dẫn đến thay đổi kiểu (pattern) biểu hiện gen và biến đổi các sản phẩm gen trong các TB ung thư. Những sự biến đổi trong biểu hiện gen cũng rất phức tạp bởi các cơ chế epigenetic. Epigenetic nói chung biểu thị sự thừa kế (di truyền) một cách ổn định các biến đổi trong biểu hiện gen mà không có biến đổi nào ở các trình tự DNA.*

❖ *Hai lớp gen quan trọng đặc biệt bị tác động bởi các biến đổi di truyền và biến đổi epigenetic trong các TB ung thư là các gen sinh ung thư (oncogene) và các gen kiềm chế khối u. Các gen ung thư góp phần vào việc phát triển khối u do tăng hoạt tính hoặc bị sai lệch địa chỉ. Trong trường hợp là kiềm chế khối u thì ngược lại. Đặc biệt là sự hoạt hóa các gen sinh ung thư và làm bất hoạt các gen kiềm chế khối u đều quan sát thấy ở các ung thư người.*

❖ *Nhiều biến đổi di truyền cũng như các biến đổi epigenetic được tích lũy lại trong quá trình phát triển các khối u ác tính, trong số đó có rất nhiều biến đổi là cần thiết. Để tích lũy được nhiều biến đổi như vậy các TB ung thư có thể phải cần đến một "kiểu hình đột biến" (mutator phenotype) trong quá trình khởi đầu hoặc phát triển khối u . Thực sự thì, các TB ung thư thường bộc lộ các khiếm khuyết trong việc ổn định hệ gen dẫn đến gia tăng tốc độ đột biến điểm cố định hoặc biến đổi NST hoặc cả hai.*

# CHƯƠNG IV: SỰ TỔN HẠI VÀ SỬA CHỮA DNA

## 4.1. SỰ TỔN HẠI DNA TRONG QUÁ TRÌNH SAO CHÉP: SỬA CHỮA CẮT BỎ NUCLEOTIDE VÀ CÁC BASE

Những đột biến và các biến đổi NST thấy ở các TB ung thư chỉ chiếm một phần nhỏ trong những phát sinh trong thời gian sống của một con người, vì phần lớn chúng đã được loại bỏ bởi một trong những cơ chế sửa chữa (Bảng 4.1). Những cơ chế này đã điều chỉnh một cách tuyệt vời các dạng tổn hại DNA khác nhau có thể gây nên đột biến (Hình 4.1). Tuy nhiên, những TB có tổn hại đáng kể về DNA hoặc có hệ gen dị bội thường được loại bỏ hoặc ít nhất cũng bị ngăn cản tăng sinh. Vì thế, các TB ung thư cần phải bộc lộ tính không ổn định hệ gen để vô hiệu hóa các hệ thống đáp ứng cho sự giám sát này. Do đó, những khiếm khuyết ở các hệ thống sửa chữa DNA và các cơ chế giám sát TB là rất quan trọng nếu không muốn nói là yếu tố rất cần thiết trong việc phát triển ung thư người. Những khiếm khuyết như thế có thể do di truyền hoặc do tập nhiễm (acquired).

Sự tổn hại DNA có thể là do các yếu tố nội sinh cũng như ngoại sinh. Sao chép DNA là một quá trình đặc biệt quan trọng, nó làm tăng tiềm năng đột biến, tăng nhạy cảm với cảm ứng gây tổn hại. Tăng sinh TB vì thế mà mẫn cảm hơn với biến nạp ung thư (neoplastic transformation). Những vấn đề có thể nảy sinh trong quá trình sao chép DNA bao gồm: hợp nhất sai các base, trượt replisome ở trình tự lặp song song, chuyển đổi từ bẻ gãy chuỗi đơn thành bẻ gãy chuỗi kép do sự sao chép, dừng replisome ở các trình tự "khó" (difficult sequences) hoặc các base bị điều chỉnh bởi các phản ứng hóa học với các chất sinh carcinoma ngoại sinh hay các protein nội sinh.

Sự sao chép DNA của nhân cực kỳ chính xác với tỷ lệ hợp nhất sai của các nucleotide chỉ là $10^{-7}$ – $10^{-6}$, vì DNA polymerase sao chép của sinh vật nhân thực (eukaryote) phân biệt được rất rõ ràng giữa các nucleotide khác nhau và enzyme sao chép (replicase) chủ chốt có chức năng đọc "bông" (bản thảo) của 3',5'. Tuy nhiên, mức độ chính xác này không phải lúc nào cũng đạt được nhờ các polymerase sửa chữa. Mặc dầu sự sao chép protein chính xác với với mức $>3x10^9$ bp trong hệ gen, nhưng vẫn có hàng trăm sự nhầm lẫn mỗi lần sao chép. Hầu hết những sự hợp nhất sai đều được sửa chữa lại bởi các hệ thống *sửa chữa không phù hợp base*, ước tính có khoảng $1x10^{-10}$ thay đổi base trong mỗi lần phân chia TB.

***Bảng 4.1.*** *Tổng quát về các cơ chế sửa chữa trong các tế bào*

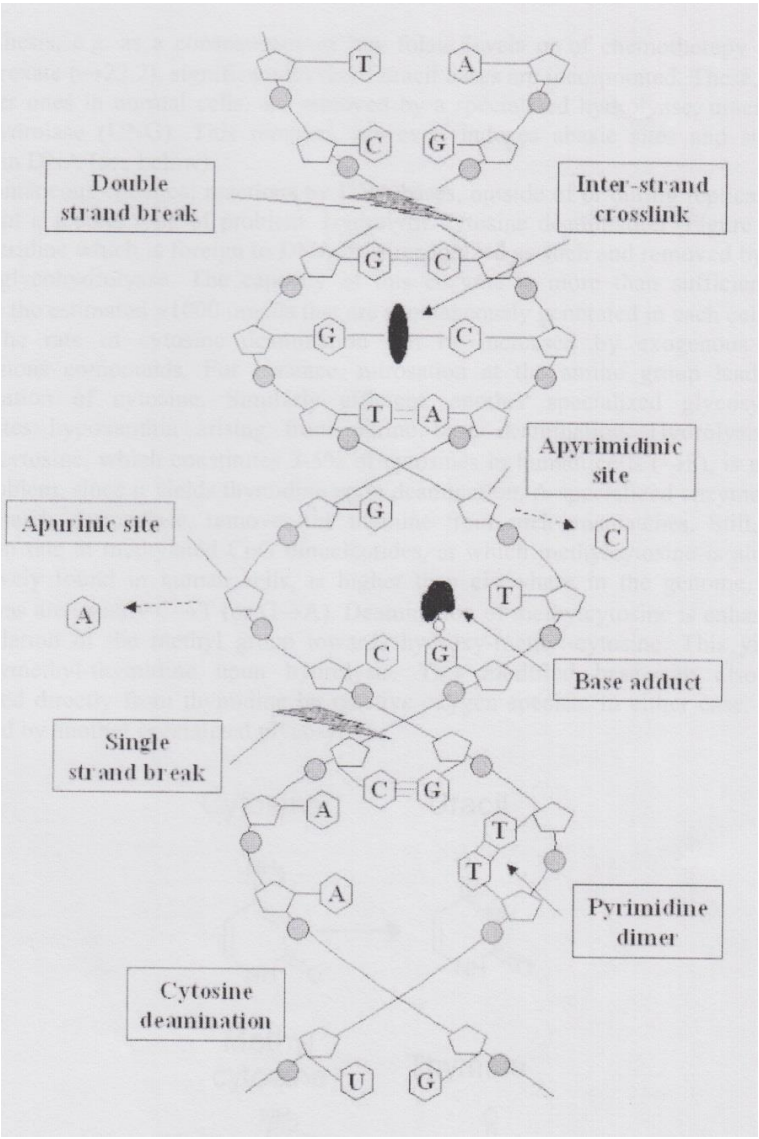
| Dạng tổn hại DNA | Cơ chế sửa chữa | Các protein chọn lọc có liên quan |
|---|---|---|
| Hợp nhất sai base | Sửa chữa các không thích hợp | MLH1, MSH2, MSH6, PMS1 |
| | Sửa chữa cắt một đoạn ngắn base | UGH |
| Sửa đổi hóa học các base | Sửa chữa cắt một đoạn ngắn base | UGH, OGG, MGMT, MBD4, MYH |
| Mất base | Sửa chữa cắt một đoạn ngắn base | AP endonuclease, DNA polymerase, DNA ligase |
| Hình thành các dimere base trong cùng một chuỗi hoặc xếp thành đống các base | Sửa chữa cắt bỏ nucleotide | Các protein XP(ERCC), CSA, CSB, XPG, DNA polymerase, DNA ligase1, |
| | Sửa chữa đường vòng | DNA polymerase η |
| Liên kết chéo cùng chuỗi | Sửa chữa liên kết chéo | Protein FANC và các thành phần của HRR |
| Bẻ gãy chuỗi kép | Sửa chữa tái tổ hợp tương đồng | RAD52, NBS1, MRE11, RAD50, RAD51, BRCA2, BLM (?) |
| | Lắp ráp phần kết không tương đồng | KU70, KU80, NBS1, MRE11, FEN1, VRN(?), DNA ligase IV |

Tuy nhiên, sự hợp nhất sai base chỉ là một trong những vấn đề xảy ra trong quá trình sao chép. Hệ thống *sửa chữa không phù hợp* (mismatch repair-MMR system) cũng bảo trọng cả các vòng (loop) chuỗi đơn trong các DNA sao chép vì có sự trượt DNA ở các trình tự lặp. Đặc biệt là sự trượt xảy ra ở các microsatellite có các lặp song song 1-4 bp. Vì thế những khiếm khuyết trong việc sửa chữa không phù hợp sẽ dẫn đến tăng tần suất hợp nhất sai base, và cũng dẫn đến sự mở rộng ra hay co lại của các microsatellite. Ngay cả khi với việc sửa chữa không phù hợp đầy đủ chức năng thì các microsetellite vẫn có thể có tỷ lệ đột biến cao hơn một chút so với con số trung bình của hệ gen, đó là lý do tại sao gọi chúng thường là đa hình.

Một cách khác của hợp nhất sai base là các *đồng dạng mesomer* (mesomeric isoform) của các base DNA có thể bắt cặp sai (mispair). Các đồng phân mesomer của 4 base chuẩn không tồn tại được lâu, nhưng cũng có một số được ổn định hóa nhờ các sửa đổi hóa học. Chẳng hạn như sự hydroxyl hóa guanine ở vị trí 8 sẽ ổn định hóa sự bắt cập không phù hợp G:A. Hầu hết những sự không phù hợp đều gây nên bởi các sự cố bắt cặp sai phổ biến như OH-G:A được nhận ra bởi các protein đặc hiệu kích hoạt hệ thống sửa chữa không phù hợp.

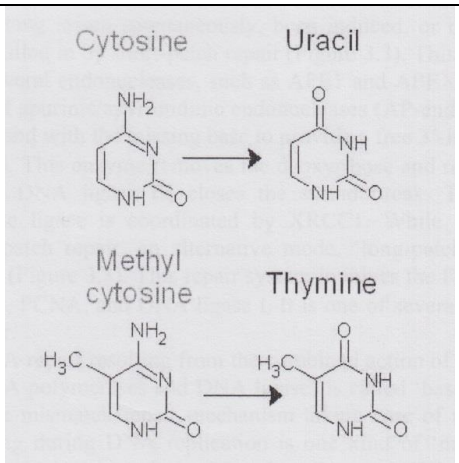
Độ chính xác của sự sao chép DNA cũng phụ thuộc vào lượng dự trữ của các tiền thân nucleotide. Những sự chênh lệch tương đối của các deoxy-nucleotide triphosphate cũng làm giảm độ chính xác của sự hợp nhất base. Trong các sách hóa sinh đã đề cập rất chi tiết, các con đường sinh tổng hợp nucleotide còn bao hàm cả sự điều hòa chéo và các cơ chế phản hồi (feed back) nhằm tối thiểu hóa những sự khác biệt như thế. Ngoài ra, mất điều hòa lượng dự trữ các tiền thân, đặc biệt là các nucleotide của guanine sẽ làm kích hoạt trạm kiểm soát TB thông qua protein TP53. Tiếp theo nữa là các dGTP, dTTP cũng có thể là rất quan trọng, bởi vì DNA polymerase cũng chấp nhận cả dUTP. Trong các TB bình thường mức dUTP duy trì ở mức thấp vì có sự thủy phân bởi enzyme. Trong các tế bào có sự sinh tổng hợp thymine dưới mức tối ưu, ví dụ do hệ quả của mức folate thấp hoặc do hóa trị liệu với methotrexate thì các base urcil sẽ được hợp nhất vào ở mức đáng kể. Những vấn đề này hiếm thấy hơn ở các TB bình thường và nó sẽ được loại bỏ bằng enzyme hydrolyase, uracil-N-glycohydrolase (UNG) chuyên biệt. Tuy nhiên, sự loại bỏ này lại gây cảm ứng các vị trí không có base và bẻ gãy các chuỗi trong DNA.

Các phản ứng hóa học tự phát bởi các base DNA xảy ra liên quan quá trình sao chép đại diện cho dạng thứ hai của vấn đề này. Sự deamin hóa thủy phân cytosine (hydrolytic cytosine deamination) (Hình 4.2) tạo ra uridine là chất lạ đối với DNA. Nó được nhận dạng  và được loại bỏ bởi uracil glycohydrolyase. Khả năng của enzyme này đủ cao để loại bỏ khoảng 1000 uracil được tạo ra một cách tự phát ở mỗi TB trong mỗi ngày. Tốc độ deamin hóa cytosine có thể tăng lên bởi các hợp chất nội sinh và ngoại sinh. Chẳng hạn như sự nitro hóa ở nhóm amino sẽ dẫn đến deamin cytosine. Một glycosylase chuyên biệt khác cũng có hiệu lực tương tự, nó loại bỏ hypoxanthine được sinh ra từ sự deamin hóa base purine. Trong các TB người, sự thủy phân methylcytosine kiến tạo được 3-5% cytosine, đó là một vấn đề lớn vì nó sẽ sinh ra thymidine dựa trên sự deamin hóa. Một enzyme chuyên hóa – glycosylase không phù hợp G-T sẽ loại bỏ thymine khỏi những bắt cặp không phù hợp như thế. Tuy nhiên, tỷ lệ đột biến ở dinucleotide CpG, trong đó methylcytosine hầu hết phát hiện được trong các TB người đều cao hơn so với trong hệ gen và những đột biến thường là C→ T (hoặc A→G). Sự deamin hóa methylcytossine được tăng cường vì sự oxy hóa nhóm methyl thành hydroxyl-methyl-cytosine. Sản phẩm hydroxymethyl-thymine này được sinh ra bởi sự thủy phân. Các base sửa đổi này cũng có thể được tạo ra trực tiếp từ thymine nhờ các mẫu oxy phản ứng. Trong cả hai trường hợp, nó đều được loại bỏ bởi một glycosylase chuyên biệt khác.




**Hình 4.1** *Các dạng hư hại DNA*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)




**Hình 4.2** Các hiệu ứng của sự deamin hóa cytosine và methylcytosine

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Cạnh nhóm amino của cytosine, guanine hiện diện đích base nhạy cảm nhất đối với các phản ứng hóa học trên DNA. Nhiều chất ưa điện tử (electrophile) phản ứng khá tự nhiên ở vị trí N7 và O6. Chất ưa điện tử nội sinh quan trọng là S-adenosylmethionine--chất mang chuẩn (standard carier) cho các phản ứng methyl hóa sinh học. Sự methyl hóa guanine có thể dẫn đến sự bắt cặp sai và các nhóm methyl vì thế mà được loại bỏ bởi một enzyme chuyên biệt. Enzyme methyl-guanine methyltransferase (MGMT) có tính đặc hiệu rộng hơn và cũng loại bỏ các nhóm alkyl khác bằng cách chuyển đến các nhóm cysteine, làm bất hoạt chính nó trong quá trình phản ứng. Guanine cũng là vị trí chủ chốt cho sự alkyl hóa bởi các hợp chất ngoại sinh, bao hàm cả một số thuốc kiềm chế tăng sinh TB và các chất sinh carcinoma chủ chốt. Lại một lần nữa cho thấy MGMT tác động mang tính chất bảo vệ. Sự điều hòa xuống enzyme này bởi các cơ chế epigenetic phát hiện được ở một số ung thư. Đây là yếu tố quan trọng trong đáp ứng của chúng đối với trị liệu hóa học, nhưng cũng có thể làm tăng tỷ lệ đột biến nói chung.

Guanine cũng là base nhạy cảm nhất với các mẫu oxy phản ứng. Sản phẩm quan trọng nhất là 8-oxo-guanine (hoặc 8-hydroxy-guanine, tùy thuộc vào dạng mesomer nào được xem xét). Base này cũng cặp đôi sai và bị loại bỏ bởi các glycosylase chuyên biệt, nổi bật nhất là oxo-guanine –glycosylase 1 (OGG1). Vì OGG1 là đa hình ở người nên mỗi cá thể có thể khác nhau về khả năng loại bỏ dạng tổn hại này.

Như tên gọi của chúng đã chỉ rõ, base glycosylase nói chung là thủy phân liên kết N-glycoside giữa các base đã bị sửa đổi và deoxyribose, để lại các vị trí không có base ở DNA. Những vị trí như thế cũng được nảy sinh một cách tự phát hay cảm ứng sự thủy phân  các liên kết N-glycoside của các base bình thường hoặc các base đã được sửa đổi hóa học. Purine nhạy cảm mất DNA gấp 20 lần so với pyrimidine và ước tính có đến 20.000 base purine bị mất đi mỗi ngày trong một tế bào người..

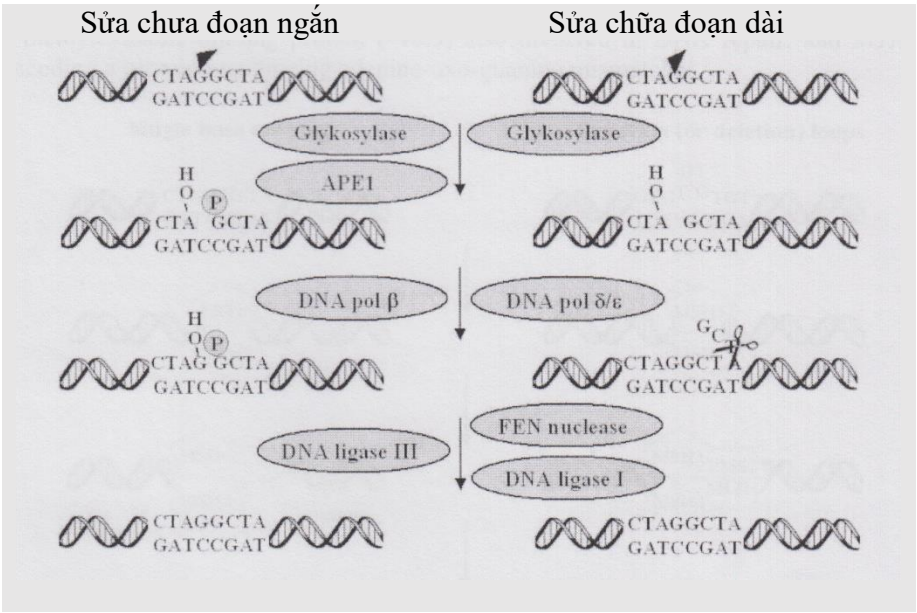
Các vị trí không có base phát sinh một cách tự phát là do cảm ứng hoặc được tạo ra thông qua sự tác động của enzyme để lấp đầy với các đoạn sửa chữa ngắn (Hình 4.3). Vấn đề này được khởi đầu bởi sự tác động của một trong số các endonuclease như APE1 và APEXL2, thuộc họ apurinic/apyrimidinic endonuclease (AP endonuclease). Chúng tách chuỗi DNA bị mất base để tạo ra nhóm 3’-hydroxy tự do cho DNA polymerase β. Enzyme này loại bỏ deoxyribose và thay thế nó bằng các nucleotide đúng. DNA ligase III gắn lại các vết gãy của chuỗi. Tác động của polymerase và ligase được điều phối bởi XRCC1. Trong khi chỉ có 1 base được thay thế bằng sửa chữa một đoạn ngắn thì có một cách thức khác lại là thay thế sửa chữa một đoạn dài với một số nucleotide (Hình 4.3). Hệ thống sửa chữa này liên quan tới FEN endonuclease, DNA polymerase δ, PCNA và DNA ligase1. Đây là một trong số các hệ thống phục hồi sửa chữa các base đơn.

Dạng sửa chữa DNA do hệ quả từ sự tác động phối hợp của các glycosylase, Ap endonuclease, DNA polymerase và DNA ligase được gọi là "*sửa chữa cắt bỏ base"*. Nếu so sánh ta thấy, cơ chế sửa chữa không phù hợp chăm sóc các base không phù hợp và enzyme trượt đi trong quá trình sao chép DNA là một kiểu của sự sửa chữa cắt bỏ nucleotide. Như vậy, cũng tương tự như sửa chữa cắt bỏ base, nhưng nó lại liên quan tới các bước nhận dạng tổn hại, sự cắt bỏ, loại bỏ một đoạn ngắn các nucleotide, tái sinh tổng hợp và kết nối (ligation). Rất nhiều thành phần (nhưng không phải tất cả) hệ thống này trên người đã được biết đến (Hình 4.4). Sự nhận diện tổn hại đạt được là nhờ các protein khác nhau, tùy thuộc vào dạng tổn hại. Các base không phù hợp được nhận diện bởi các protein MSH2, MSH6. Trong khi đó, việc cài thêm hay xóa đi các vòng (loop) do sự trượt đi được nhận diện bởi MSH3 và MSH2. Trong cả 2 trường hợp, PMS2 và MLH1 đều được tuyển dụng. Nhưng không rõ là ở người thì liệu bất kỳ endonuclease nào cũng liên quan đến sự sửa chữa không phù hợp của DNA hay không. Dường như là sự sửa chữa không phù hợp trong quá trình sao chép được bắt đầu ở những vết gãy sợi đơn và có sử dụng các thành phần của DNA replisome cùng với EXO1 endonuclease. Tất cả đều được phối hợp bởi tiểu đơn vị PCNA của replisome.

Sự tiến thoái lưỡng nan rõ ràng nhất trong quá trình sửa chữa những không thích hợp là việc quyết định những base không thích hợp nào sẽ phải cắt bỏ, tương tự như vậy vòng chuỗi đơn nào chỉ định phải loại bỏ hoặc được cài thêm vào. Trong một số sinh vật nhân chuẩn, việc loại bỏ này rất thuận lợi vì chuỗi (thuộc) cha mẹ (parental strand) thì đã được methyl hóa, còn các chuỗi con được methyl hóa muộn hơn. Chẳng hạn như, *E.coli* sử dụng sự methyl hóa adenine ở các vị trí GATC cho sự phân biệt này, còn ở người thì DNA lại methyl hóa sau sao chép ở các base cytosine, nhưng sự thay đổi này dường như không phải là nhằm phục vụ cho cùng một mục đích. Hơn nữa, những chuỗi được tổng hợp mới lại được phân biệt bởi sự hiện diện của các vết gãy chuỗi đơn, nó "phục vụ" như là điểm bắt đầu cho sự cắt bỏ nucleotide.

Những đột biến di truyền trong các thành phần của hệ thống sửa chữa không thích hợp mang khuynh hướng di truyền mạnh mẽ đối với một số ung thư xác định. Vì trong các cá thể bị ảnh hưởng thì các ung thư kết tràng và trực tràng là dễ nhìn thấy nhất, nguy cơ đối với thời gian sống lên đến 80%, những hội chứng này đã được tóm tắt dưới tiêu đề HNPCC cho các ung thư trực kết tràng không polyp có thể di truyền. Những ung thư này không đồng nhất về mặt di truyền bởi vì thành phần này hay thành phần khác của hệ thống sửa chữa có thể bị khiếm khuyết. HNPCC là một hội chứng ung thư thể nhiễm sắc trội (dominant-autosomal inherited cancer syndrome). Các ung thư trong các gia đình bị tác động bởi HNPCC cũng hiện diện ở nội mạc tử cung, dạ dày, buồng trứng, hệ thống gan mật và đường tiết niệu trên. Những đột biến có ở ít nhất 5 gen khác nhau có thể là nền tảng cho hội chứng. Thường gặp nhất là một allele của *MSH2* và

*MLH1* bị đột biến ở dòng mầm; các đột biến ở *PMS2*, *MSH6* và *PMS1* thì ít phổ biến hơn. Các ứng cử viên xa hơn là *MBD4*, mã hóa cho protein gắn methylcytosine liên quan tới việc sửa chữa DNA, và *MYH* mã hóa cho một protein nhận dạng những không thích hợp của adenine-oxo-guanine.




**Hình 4.3** *So sánh giữa sửa chữa đoạn ngắn và sửa chữa đoạn dài DNA*

Các base DNA tổn hại (biểu tượng bằng G có hình tam giác) có thể được thay thế bằng sửa chữa đoạn ngắn (trái) hay đoạn dài (phải) nhờ sử dụng các enzyme báo hiệu (để chỉ rõ từ trên xuống dưới). Sửa chữa đoạn dài hay đươc ưa dùng hoặc cần thiết nếu deoxy-ribose bị tổn hại nặng và/hoặc thiếu phosphate.

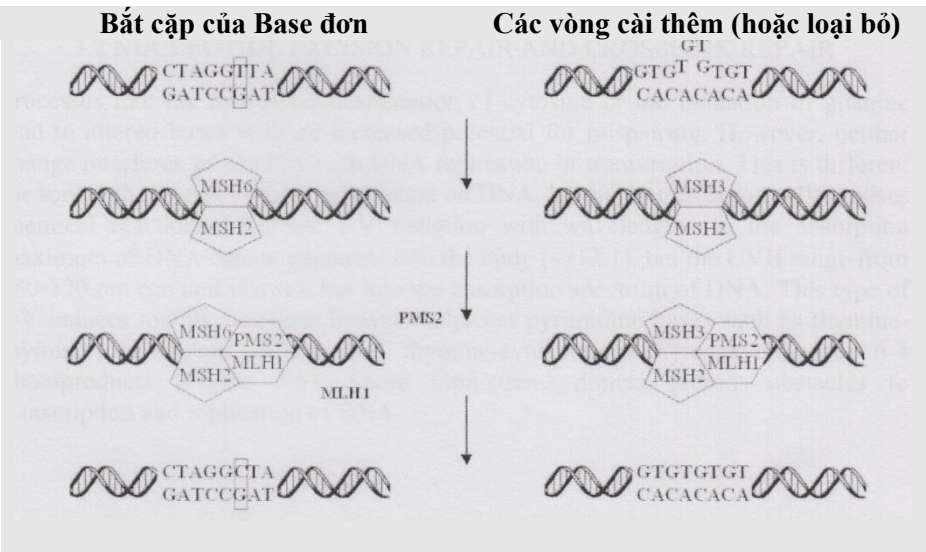
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Cách thức nổi bật nhất của sự di truyền trong HNPCC không phải do hiệu ứng trội của sản phẩm gen đột biến. Thay vì, một allele vẫn duy trì chức năng là đủ hiệu lực di truyền để sửa chữa những không thích hợp. Tuy nhiên, khi ung thư phát sinh lần thứ hai thì những allele nguyên vẹn của gen sửa chữa không thích hợp bị ảnh hưởng sẽ vô tình bị đột biến hay bị trao đổi do tái tổ hợp với allele bị đột biến đầu tiên trong các TB soma. Trong quá trình sao chép DNA thì những TB này sau đó sẽ tích lũy đột biến với tỷ lệ cao.

Một số trong các đột biến này có thể là không thích hợp với cách sửa chữa này, như độ dài của các lặp microsatellite, do có sự trượt đi nên chiều dài bị sai lệch. Tuy nhiên, một số khác lại dẫn đến bất hoạt các gen quan trọng trong việc kiểm soát tăng sinh TB, bởi vì các đột biến base đơn nảy sinh từ những bắt cập không được sửa chữa hoặc có sự trượt đi trong các lặp base ở những vùng mã hóa không được sửa chữa.

Chẳng hạn như gen *MSH3* và *MSH6* đều chứa đựng cytidine và adenosine hexanucleotide nằm trải dài dẫn đến việc co lại hay giãn ra với sự sửa chữa không thích hợp khiếm khuyết trong các TB. Vì chúng xảy ra một cách thường xuyên nên giãn ra và co lại microsatellite đều được gọi chung là sự bất ổn định microsatellite (microsatellite instability –MSI), có thể được dùng để chẩn đoán ung thư phát sinh từ khiếm khuyết sửa chữa không thích hợp. Vì lý do này nên một bộ chuẩn 5 microsatellite nhạy cảm nhất đã được xác định.

Các ung thư có bất ổn định microsatellite (MSI) không giới hạn đối với các gia đình có hội chứng HNPCC mà còn có cả ở các ung thư lẻ tẻ (không có tính chất gia đình). Một cách tổng quát thì có đến 15% tổng số ung thư kết tràng có thể thuộc nhóm MSI, nhưng chỉ có vài phần trăm tổng số ung thư phát sinh trong các gia đình HNPCC. Nguyên nhân của MSI lẻ tẻ là đột biến, đứt đoạn hoặc sự yên lặng epigenetic (epigenetic silencing) của các gen sửa chữa không thích hợp. Nguyên nhân phổ biến nhất của MSI trong các ung thư lẻ tẻ có thể là sự yên lặng của MLH1 do cường methyl hóa promoter.




***Hình 4.4*** *Hai con đường quan trọng sửa chữa những không thích hợp của DNA*

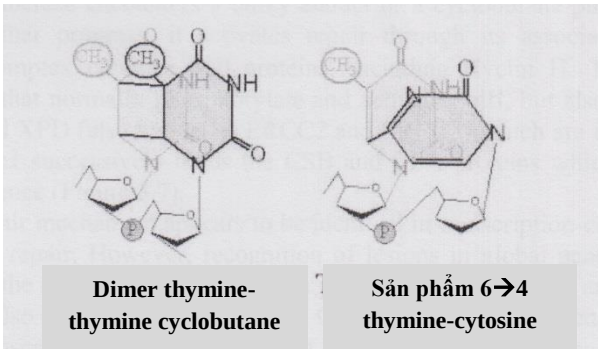
Bên trái: Sửa chữa không thích hợp T:G; bên phải: Sửa chữa bằng việc cài thêm hay loại bỏ tại microsatellite

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

## 4.2. SỬA CHỮA CẮT BỎ NUCLEOTIDE VÀ SỬA CHỮA LIÊN KẾT CHÉO

Các quá trình như deamin hóa cytosine hay oxy hóa guanine dẫn đến thay đổi các base, làm tăng tiềm năng cho sự bắt cặp sai. Tuy nhiên, không có sự thay đổi nào lại chỉ can thiệp chủ yếu vào việc nhân đôi và sao chép DNA. Đây là điểm khác biệt với các

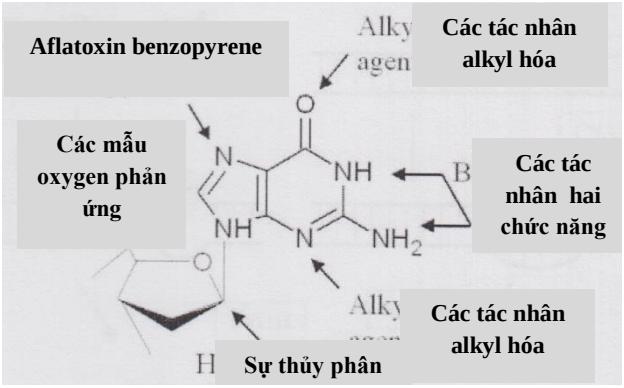
dạng tổn hại khác giáng vào DNA. Bức xạ cực tím (UV) gây ra các phản ứng hóa học ở DNA. Bức xạ cực tím bước sóng dài mà DNA hấp thu cực đại có thể lại không xuyên qua được cơ thể, nhưng UVB bước sóng 280-320nm lại có thể đạt đúng với phổ hấp thu của DNA. Dạng UV này cảm ứng chủ yếu các phản ứng giữa các base pyrimidine kề nhau như dimer thymine-thymine cyclobutane và các sản phẩm của các phản ứng quang hóa (photoproducts) 6→4 thymine-cytosine (hoặc cytosine-cytosine) (Hình 4.5). Sự hiện diện của những dimer nội chuỗi (intra-strand) này gây trở ngại đối với sự sao chép và nhân đôi DNA.




***Hình 4.5*** *Các phản ứng của base pyrimidine cảm ứng bởi sự chiếu xạ UV*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Tương tự như vậy, các phản ứng hóa học của các hợp chất nội sinh và các chất sinh carcinoma hóa học kích hoạt có thể dẫn đến sự thay đổi cực lớn các base để không phù hợp với chuỗi xoắn kép và không thể được nhận dạng bởi các polymerase. Sản phẩm cộng của aflatoxin và benzopyrene tại các guanine là các ví dụ quan trọng (Hình 4.6). Ngay cả các protein cũng có thể liên kết cộng hóa trị với base của DNA. Sự sao chép và nhân đôi cũng bị ngăn trở khi các chuỗi DNA đối nghịch trong chuỗi kép có liên kết chéo. Điều này được khai thác trong trị liệu ung thư bằng các hợp chất như cis-platinum và mitomycin.




***Hình 4.6*** *Các phản ứng của carcinogen với guanosine*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Các sản phẩm quang hóa và các sản phẩm cộng cồng kềnh sẽ được loại bỏ bằng sửa chữa cắt bỏ nucleotide (NER). Hai hệ thống sửa chữa liên kết với nhau đã biết ở người là "*sửa chữa hệ gen toàn cầu*" (global genome" và sửa chữa "*gắn kết phiên mã*" (transcription –coupled). Sửa chữa gắn kết phiên mã thì nhanh hơn nhưng lại bị giới hạn đối với những vùng của hệ gen được phiên mã bởi RNA polymeraseII. Khi polymerase sao chép chạm trán với các sản phẩm cộng cồng kềnh hoặc các sản phẩm quang hóa cyclobutane thì ngăn chặn sự tiến triển khác, nó kích hoạt việc sửa chữa thông qua phức

hợp liên quan TFIIH. Phức hợp này có chứa khoảng 10 protein gồm cả cyclin H. Cyclin này điều hòa các kinase phosphoryl hóa và hoạt hóa một cách bình thường PolII, cũng như DNA helicase XPB và XPD (cũng được gọi là ERCC2 và ERCC3) cũng liên quan với NER. Phức hợp này gắn kết liên tục các protein CSB và CSA khởi động trình tự sửa chữa hiện thời (Hình 4.7).

Cơ chế sửa chữa thực tế dường như là giống hệt với cơ chế sửa chữa "gắn kết sao chép" và sửa chữa "hệ gen toàn cầu". Tuy nhiên, sự nhận diện các tổn thương trong sửa chữa hệ gen toàn cầu không liên quan tới RNA polymerase, nhưng lại được thực hiện bởi các protein XPC và HHR23. Nó cũng không đòi hỏi các protein CSA và CSB. Sửa chữa hệ gen toàn cầu thường chậm hơn so với sửa chữa gắn kết sao chép và có tính đặc hiệu rộng hơn. Tuy nhiên, sau khi nhận dạng được tổn thương thì cả 2 hệ thống sửa chữa đều sử dụng các thành phần của TFIIH như XPA và XPB cũng như các protein liên kết chuỗi đơn RPA và XPA để bung ra hoàn toàn và dò xét các tổn thương trong phương thức phụ thuộc ATP. Những đoạn DNA tổn hại sẽ được cắt bỏ như một chuỗi đơn 18-24nt thông qua sự cắt bỏ 5' bởi ERCC1/XPF endonuclease và cắt bở 3' bởi XPG (còn gọi là RCC5) endonuclease. Khoảng trống DNA sẽ được lấp đầy bởi DNA polymerase δ hoặc được trợ giúp bởi FCNA và RFC và được gắn lại bởi một DNA ligase, có lẽ là DNA ligase I.

Không phụ thuộc vào sửa chữa cắt bỏ nucleotide, các sản phẩm quang hóa và các tổn thương gặp phải do replisome có thể phải thông qua sửa chữa tổn thương sao chép (translesional repair) làm cho việc sử dụng DNA polymerase η – một enzyme mạnh nhất có khả năng sao chép DNA có rất nhiều dạng tổn hại khác nhau nhưng với tỷ lệ lỗi cao hơn trong quá trình sao chép bởi các plolymerase chuẩn như Pol δ.

Những đột biến ở các gen liên quan đến sửa chữa cắt bỏ nucleotide là nền tảng cho các bệnh khô da sắc tố, hội chứng Cockayne và trichothiodistrophy. Đây là các bệnh hiếm gặp được di truyền lại ở trạng thái lặn. Những bệnh nhân có hội chứng Cockayne và trichothiodistrophy có khiếm khuyết tăng trưởng và chậm phát triển tâm thần (trí tuệ). Những khiếm khuyết da đặc hiệu và ít đặc hiệu được thể hiện rất rõ ràng, đặc biệt là bệnh da vảy (ichthyosis), giòn tóc và móng được chẩn đoán là do hội chứng trichothiodistrophy. Những bệnh nhân này dường như không có dấu hiệu gì nghiêng về ung thư nhưng lại bộc lộ một số hội chứng của lão hóa sớm và thời gian sống bị rút ngắn.

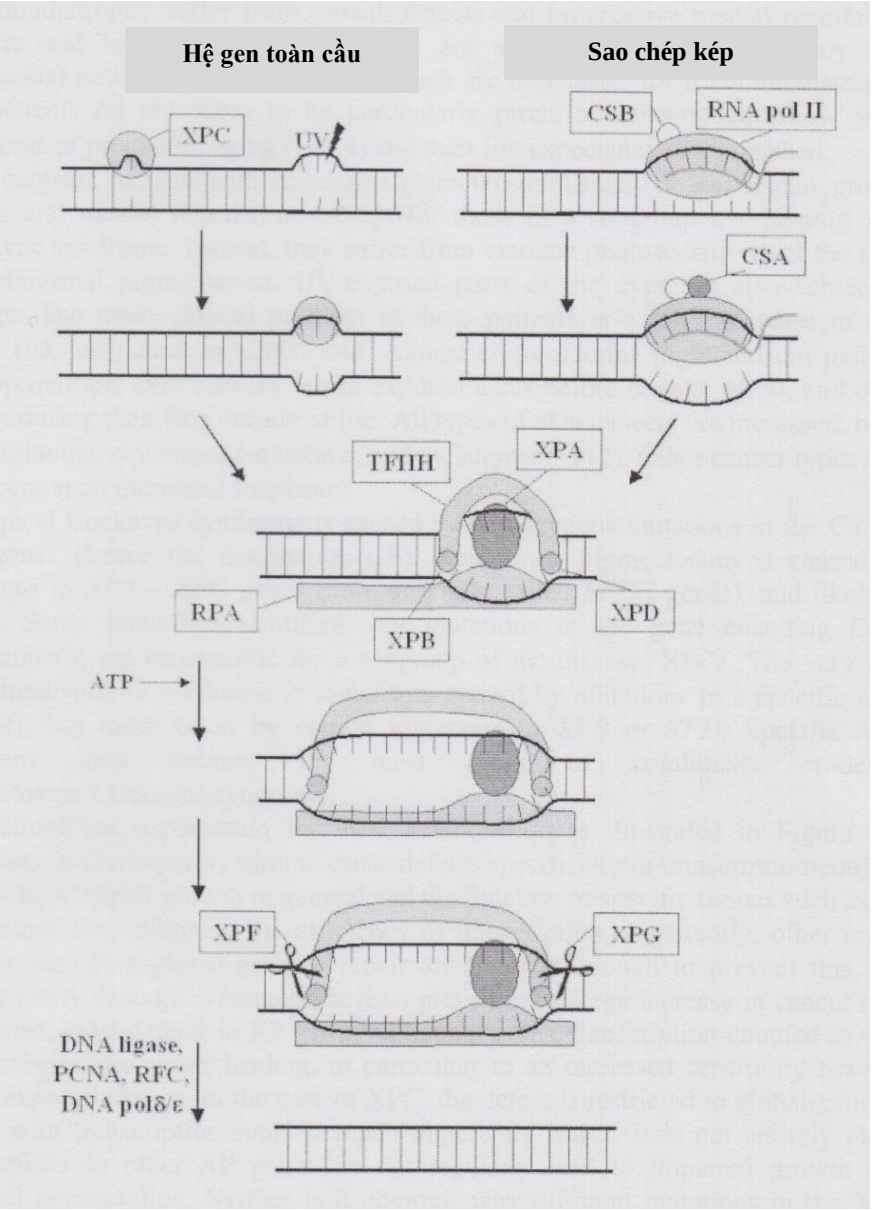
Ngược lại, những bệnh nhân khô da sắc tố thường không biểu lộ khiếm khuyết tăng trưởng và chậm phát triển tâm thần, trừ những trường hợp thuộc tiểu nhóm có chồng chéo cả hội chứng Cockayne. Da của họ nhạy cảm cực kỳ với ánh sáng có cấu thành sắc tố bất thường. Những bộ phận tiếp xúc với UV của mắt cũng bị tổn hại. Vấn đề lâm sàng chủ chốt trong những bệnh nhân này là nguy cơ ung thư da gia tăng rất lớn,

ước tính tăng gấp 2000 lần. Hầu hết những bệnh nhân khô da sắc tố đều phát triển nhiều ung thư ở vùng tiếp xúc với ánh sáng mặt trời trước tuổi 30 và thường là trong những thập kỷ đầu tiên của cuộc đời. Tất cả các dạng ung thư da đều gia tăng như carcinoma TB đáy, carcinoma TB vảy và melanoma. Các dạng ung thư khác cũng có thể xảy ra với tần suất gia tăng.

Hội chứng Cockayne điển hình do đột biến tương đồng ở các gen *CSA* hoặc *CSB* (vì thế nên gọi là *CS*). Chứng khô da sắc tố do đột biến ở các gen *XPA – XPG* (hiện nay chính thức được gọi là gen *ERCC*) và có khả năng ở các gen khác nữa. Một số vẫn chưa xác định được, nhưng các đột biến ở gen mã hóa cho DNA polymerase η thì có khả năng gây nên các tiểu nhóm (subgroup) của bệnh này –XPV. Hội chứng trichothio--distrophy rất hiếm gặp đôi khi gây bởi các đột biến ở một gen đặc biệt (*TTD-A*), nhưng thường là bởi các đột biến xác định ở *XPB* hoặc *XPD*. Các đột biến *XPD* đặc hiệu cũng rất quan trọng đối với hầu hết các trường hợp của hội chứng tổ hợp khô da sắc tố/Cockayne.

Trên hình (4.8) đã giải thích một cách đơn giản những mối quan hệ này. Các đột biến trong hội chứng Cockayne gây bởi các khiếm khuyết ở hệ thống sửa chữa gắn kết sao chép gây ảnh hưởng tới sự tăng trưởng nói chung cũng như chức năng của các mô đặc biệt như não, vì chúng làm giảm hiệu lực sao chép. Rõ ràng là, các hệ thống sửa chữa khác bao gồm cả sửa chữa hệ gen toàn cầu thì vẫn chưa đủ nhanh để ngăn chặn được vấn đề này, nhưng cuối cùng thì sự tổn hại của DNA cũng được loại bỏ, ít nhất là ngăn chặn được sự gia tăng nguy cơ ung thư. Ngược lại, hầu hết các khiếm khuyết ở các gen XP lại dẫn đến sự "thỏa hiệp" với sửa chữa gắn kết sao chép cũng như sửa chữa hệ gen toàn cầu, đặc biệt là làm tăng sự nhạy cảm của UV ở các mô được tiếp xúc. Trong trường hợp XPC thì các khiếm khuyết lại được giới hạn bởi sửa chữa gen toàn cầu, còn với sửa chữa gắn kết sao chép thì dường như không gây ảnh hưởng gì. Không hoàn toàn rõ là, tại sao những khiếm khuyết ở các gen XP khác thường không dẫn đến suy giảm tăng trưởng và thoái hóa thần kinh. Cũng không rõ là, tại sao các đột biến khác nhau ở các gen *XPB* và *XPD* lại dẫn tới khác biệt rất lớn, trong một số trường hợp thậm chí còn bổ sung thêm các kiểu hình như trichothiodistrophy và khô da sắc tố.

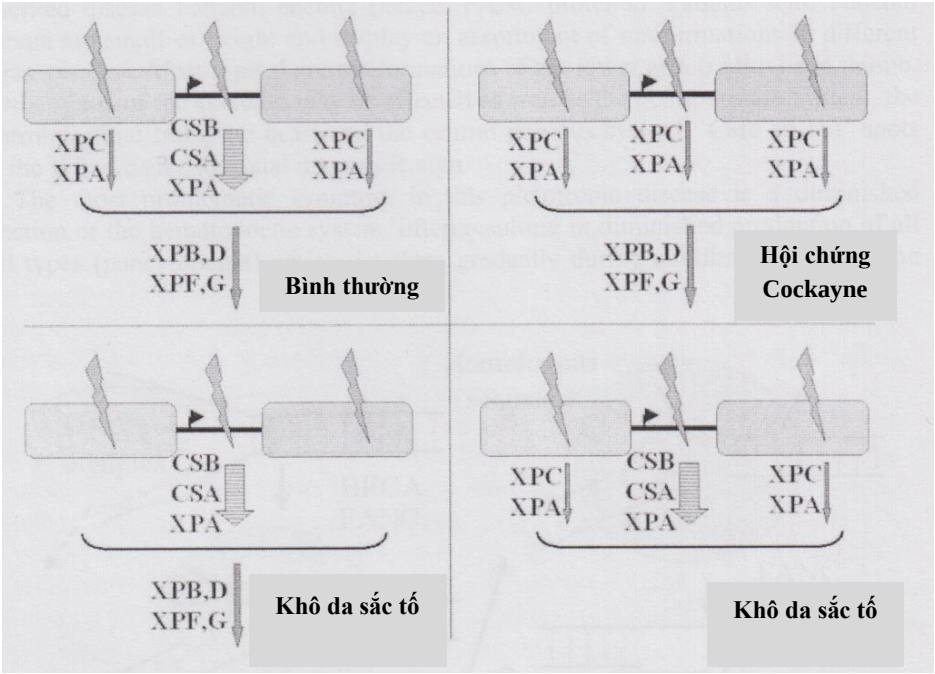
Các liên kết chéo giữa các chuỗi DNA vẫn là những trở ngại nghiêm trọng đối với sự sao chép và nhân đôi DNA. Việc sửa chữa chúng chỉ có thể bằng cách "hy sinh" một đoạn DNA. Cơ chế liên quan đến kiểu sửa chữa này chỉ mới hiểu được phần nào. Như trong sửa chữa cắt bỏ nucleotide thì cơ chế thực tế có thể thay đổi tùy thuộc một cách chính xác vào thời điểm nhận ra những biến đổi DNA, tức là trước, trong và sau nhân đôi DNA.




***Hình 4.7*** *Sửa chữa cắt bỏ nucleotide*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Trong các TB không sao chép, một số cơ chế về nguyên lý có thể vẫn sử dụng được. Chúng loại bỏ hoàn toàn các đoạn sợi đơn đã bị khóa (blocked), tiếp theo là các ghép nối cuối không tương đồng (non-homologous end-joining) thông qua việc cắt bỏ sửa chữa những lỗi cơ bản nhờ tái tổ hợp tương đồng với một NST chị em (sister chromatid) ở các tế bào phase G2. Tuy nhiên, việc chúng xử lý chính xác như thế nào và chọn lựa ra sao thì vẫn còn đang nghiên cứu.



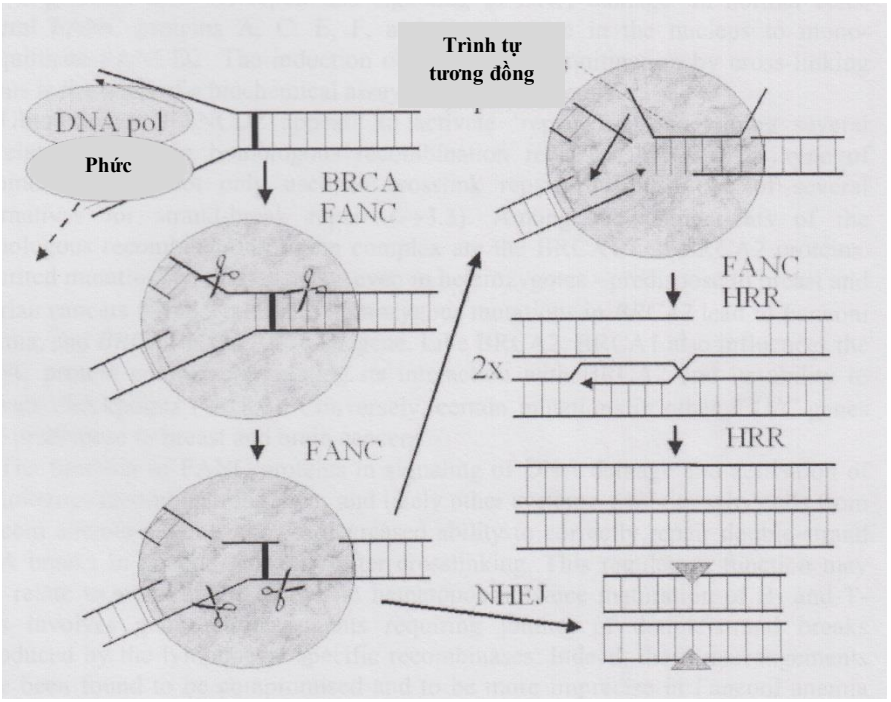

**Hình 4.8** Mối liên hệ của các hội chứng khô da sắc tố và Cockayne trong sửa chữa gắn kết sao chép và sửa chữa hệ gen toàn cầu.

Trong mỗi ô, các vùng sao chép của hệ gen được chỉ định là đường đen và những vùng không sao chép là những tam giác lớn tượng trưng chất nhiễm sắc đậm đặc hơn. Sự tổn hại DNA biểu tượng như các tia chớp.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Tương tự như cơ chế được sử dụng trong các tế bào ở G2, sự hiện diện của một trình tự tương đồng thứ hai có thể được khai thác ở các TB vẫn còn là lưỡng bội, khi mà các liên kết chéo chạm trán ở chạc ba sao chép DNA (Hình 4.9). Ở đây, việc cắt bỏ được thực hiện sau tổn thương có thể do XPF/ERCC1. Khi cắt bỏ sẽ tạo ra một khoảng trống, khi đó chuỗi được lấp đầy nhờ sử dụng trình tự tương đồng như một chiếc khuôn và kết quả là việc kết cấu sẽ được giải quyết bằng tái tổ hợp. Còn chuỗi thư hai thì lại được sinh tổng hợp sau khi đã cắt bỏ đoạn liên kết chéo. Hầu hết các cơ chế này đều sử dụng các thành phần của hệ thống sửa chữa bẻ gãy chuỗi sẽ được bàn luận dưới đây và chúng phụ thuộc chủ yếu vào các protein FANC.

Những đột biến ở một trong số trên 7 gen mã hóa cho protein FANC gây nên bệnh thiếu máu Fanconi di truyền lặn (do đó mới có tên là protein FANC). Những bệnh nhân thiếu máu Fanconi có chiều cao thấp và biểu lộ dị tật ở các hệ thống cơ quan khác nhau. Điển hình nhất là dị tật thấp cánh tay (bán kính) và dị tật ngón tay cái. Những phần khác của  xương cũng như hệ sinh dục, đường tiêu hóa, tim và hệ thần kinh trung ương cũng có thể bị tác động. Những nốt "đốm cà phê sữa" (café  au lait) trên da là các dấu hiệu chẩn đoán bổ sung.




**Hình 4.9** *Sửa chữa liên kết chéo của DNA trong khi sao chép*

Phác họa giả thuyết sửa chữa DNA ở chạc sao chép bị đình trệ tại liên kết chéo nội chuỗi (in đậm). Các protein BRCA có lẽ điều hòa hoạt tính của các protein FANC phối hợp sự cắt bỏ và sửa chữa các đoạn DNA tổn hại. Các giai đoạn chót của quá trình này có thể được thực hiện bởi hệ thống HRR (Hình 4.11) bảo tồn trình tự hoặc bởi NHEJ (Hình 4.10) thường gây nên một đứt đoạn.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Hội chứng khó hiểu nhất trong bệnh đa hình này là sự giảm sút chức năng của hệ thống tạo máu, thường là do giảm sản xuất tất cả các dạng TB (pancytopenia), chứng này cứ phát triển dần dần trong thời thơ ấu. Chức năng tạo máu không hoàn hảo sẽ dẫn đến chảy máu, thiếu máu và nhạy cảm với nhiễm trùng. Ngược lại, với những bệnh nhân thường mắc hội chứng tiền ung thư (preneoplastic) là loạn sản tủy 'myelodysplastic' thì dễ tiến triển thành các bệnh bạch cầu tủy cấp. Khi phải thách thức với các hợp chất liên kết chéo DNA như mitomycin C hoặc diepoxybutane thì các TB từ các bệnh nhân thiếu máu Fanconi thể hiện cường nhạy cảm và thường bị giữ lại ở phase G2. Thử nghiệm này đã cung cấp những số liệu rất rõ ràng đối với các bệnh khác hơn là tăng tỷ lệ bẻ gãy nhiễm sắc thể một cách tự phát.

Tính cường nhạy cảm với các liên kết chéo của DNA trong thiếu máu Fanconi đã nhấn mạnh tầm quan trọng của protein FANC trong việc sửa chữa liên kết chéo. Tuy nhiên, thật khó mà giải thích được đầy đủ các kiểu hình của bệnh nhân. Vì thế người ta cho rằng các protein FANC còn có các chức năng phụ, ví dụ như điều hòa sinh tổng hợp

cytokine và tác động tới cả apoptosis. Đặc biệt là FANCC còn liên quan đến việc bảo vệ TB kháng lại stress oxy hóa. Hiển nhiên là, các protein FANC có vai trò rộng hơn trong việc sửa chữa DNA và báo hiệu sự tổn hại của DNA. Trong các TB bình thường, một số protein A, C, E, F và G của FANC lại hợp tác với monoubiquitinate FANCD2 trong nhân. Sự cảm ứng monoquitin hóa này bởi các tác nhân liên kết chéo là nền tảng cho những thí nghiệm hóa sinh về thiếu máu Fanconi.

FANCD2 ubiquitin hóa dường như là kích hoạt "trung tâm sửa chữa" có chứa một số protein liên quan đến sửa chữa tái tổ hợp tương đồng DNA. Dạng tái tổ hợp này không những dùng để sửa chữa liên kết chéo mà còn là một trong những lựa chọn thay thế cho việc sửa chữa bẻ gãy chuỗi. Trong số các thành phần của phức hợp protein tái tổ hợp tương đồng có protein BRCA1 và BRCA2. Những đột biến có thể di truyền trong những gen này thậm chí trong các dị hợp tử đã mở đường cho các ung thư vú và buồng trứng. Trên thực tế, những đột biến đồng hợp tử ở BRCA2 đã dẫn đến thiếu máu Fanconi. Giống như BRCA2, BRCA1 cũng ảnh hưởng đến phức hợp protein FANC, điều hòa sự tương tác của nó với BRCA2 và khả năng của nó đối với việc kích hoạt trạm kiểm soát. Ngược lại, những đột biến xác định ở các gen FANC khác có thể mở đường cho ung thư vú và não.

Chức năng của các protein FANC liên quan đến tín hiệu tổn hại DNA và sự kích hoạt sửa chữa tái tổ hợp tương đồng. Chức năng điều hòa này có thể cũng liên quan đến một số khiếm khuyết trong sự tạo máu, vì đột biến của các tế bào B và T liên quan đến sự tái sắp xếp cần cho việc kết nối các vết gãy chuỗi kép DNA được hướng dẫn bởi các recombinase đặc hiệu lymphocyte.

Cuối cùng, một số thuốc gây độc TB thông thường lại là các chất liên kết chéo của DNA. Chẳng hạn như cis-platinum là một thành phần cần thiết trong nhiều công thức hóa trị liệu ung thư và đã chứng minh được rằng nó như là một loại thuốc kỳ diệu điều trị ung thư tinh hoàn. Có bằng chứng cho thấy các ung thư cá thể có thể đáp ứng với những thuốc này tùy thuộc vào mức độ biểu hiện các protein FANC của họ.

## 4.3. SỬA CHỮA SỰ GÃY CHUỖI

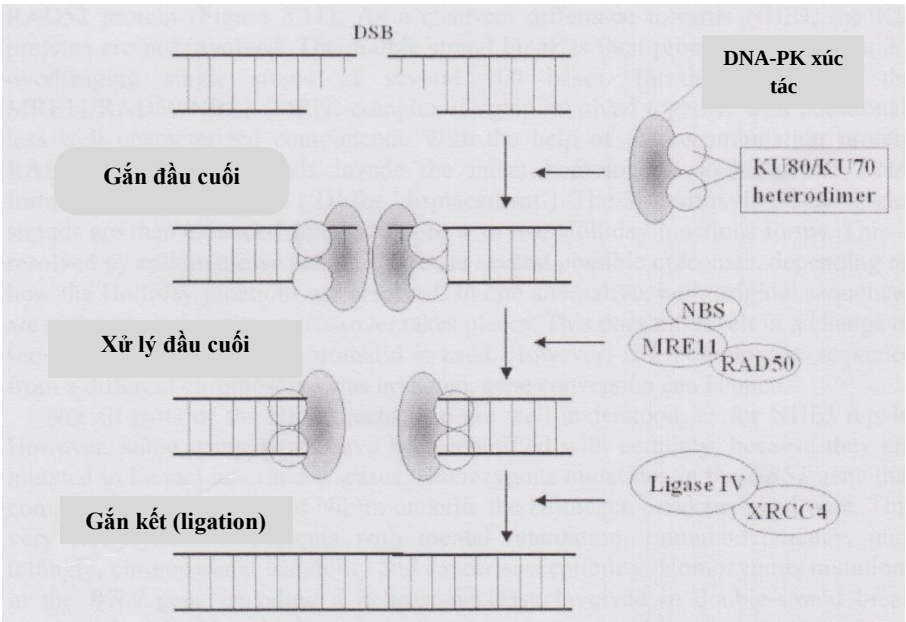
Sửa chữa các base tổn hại của DNA là một quá trình thường xuyên trong các TB sống. Đây là những vấn đề thông thường và theo ước tính thì mỗi TB trong một ngày xảy ra 100.000 vết gãy chuỗi đơn DNA. Trường hợp đơn giản nhất là các vết gãy chuỗi đơn được sửa chữa bởi DNA ligase, nhưng vẫn cần đến các thành phần từ hệ thống sửa chữa cắt bỏ các đoạn ngắn hay dài hoặc hệ thống sửa chữa cắt bỏ nucleotide khi sự tổn hại base là nghiêm trọng hoặc có sự biến đổi hóa học của phân tử đường liên quan đến việc làm mất base.

Cũng giống như sửa chữa không thích hợp trong sao chép DNA, sửa chữa các vết gãy chuỗi DNA diễn ra khá êm ả. Tuy nhiên, vấn đề này có sự thay đổi đáng kể khi đã có các vết gãy chuỗi kép DNA được tạo ra. Chúng có thể phát sinh do các cơ chế sinh lý học cũng như không sinh lý học, các quá trình nội sinh và các tác nhân gây ung thư nguồn gốc ngoại sinh. Trong quá trình sao chép DNA thì vết gãy chuỗi kép DNA có thể đi từ vết gãy chuỗi đơn nếu nó không được sửa chữa trước khi chạm trán với replisome. Đôi khi 2 vết gãy chuỗi đơn có thể cùng xảy ra một cách tình cờ dẫn đến gãy chuỗi kép. Những vết gãy chuỗi kép khác là do các tác nhân ngoại sinh. Một số virus mã hóa các enzyme phân cắt DNA trong phương thức giống như các enzyme giới hạn, ví dụ như enzyme integrase của retrovirus, hay bức xạ ion hóa cũng có thể tạo ra các vết gãy chuỗi đơn cũng như chuỗi kép DNA, giống như tác động của một số chất sinh carcinoma và một số thuốc sử dụng trong hóa trị liệu. Ví dụ như Bleomycin phân cắt trực tiếp DNA và các chất ức chế topoisomerase sẽ tạo ra các vết gãy chuỗi bởi sự ức chế cuả những enzyme này. Việc sửa  chữa các liên kết chéo DNA cũng liên quan tới việc tạo ra các vết gãy ở chuỗi kép.

Các vết gãy chuỗi kép cũng được tạo ra một cách có kiểm soát trong quá trình tái tổ hợp sinh lý học. Những quá trình quan trọng trong dạng này là tái tổ hợp meiotic và việc tạo ra các gen immunoglobulin (IG) và gen receptor tế bào T chức năng (functional T –cell receptor –TCR) trong các TB lympho, trong khi đó thỉnh thoảng cũng xảy ra những sự sai sót. Sự tái tổ hợp không ngang bằng ở các TB mầm là nguyên nhân quan trọng gây nên các bệnh di truyền, kể cả ung thư. Sự kết nối sai lạc của các gen mã hóa cho receptor tế bào T hay immunoglobulin với các gen khác như *MYC* là nguyên nhân hay gặp do sự chuyển vị NST ở các u lympho. Những sự chuyển vị và đứt đoạn khác ở các ung thư dòng lympho cũng có thể là một nguyên nhân khi hệ thống tái tổ hợp đặc hiệu lymphocyte tác động một cách tình cờ vào các vị trí nằm bên ngoài cụm gen TCR và IG.

Không lệ thuộc vào việc chúng được sinh ra như thế nào, các vết gãy chuỗi kép càng dài càng nguy hiểm, đặc biệt là đối với sự tăng sinh TB. Một mảnh DNA được tách ra từ tâm động (centromere), mở đường cho sự mất mát trong quá trình phân bào. Tuy nhiên, các đầu cuối mở (open ends) có thể tái tổ hợp với các bộ phận khác của hệ gen, khởi đầu một chuỗi phản ứng tái tổ hợp và làm biến đổi NST dẫn đến biến nạp hoặc chết TB. Vì thế, sự sửa chữa chuỗi kép có liên quan đến việc ngăn chặn các đầu cuối mở của DNA, ngoài việc sửa chữa thực sự vết gãy. Hơn nữa, việc hoạt hóa sửa chữa vết gãy DNA chuỗi kép cũng thường liên quan đến sự hoạt hóa trạm kiểm soát TB ngăn chặn các TB đi vào phase S và tiến hành phân bào. Đặc biệt là những vết gãy chuỗi kép DNA không được sửa chữa thường gợi ra sự chết theo chương trình trong các TB bình thường. Cơ chế này cho thấy, vẫn còn một cách bảo vệ khác kháng lại sự sinh ung thư ngoài việc sửa chữa chính phân tử DNA.

Có một số hệ thống sửa chữa trong các TB người để đối phó với các vết gãy chuỗi kép. Chúng có thể được phân loại là các *hệ thống sửa chữa tương đồng* và *không tương đồng*.




**Hình 4.10** *Sửa chữa các vết gãy chuỗi kép DNA bằng cách nối các đầu cuối không tương đồng*
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

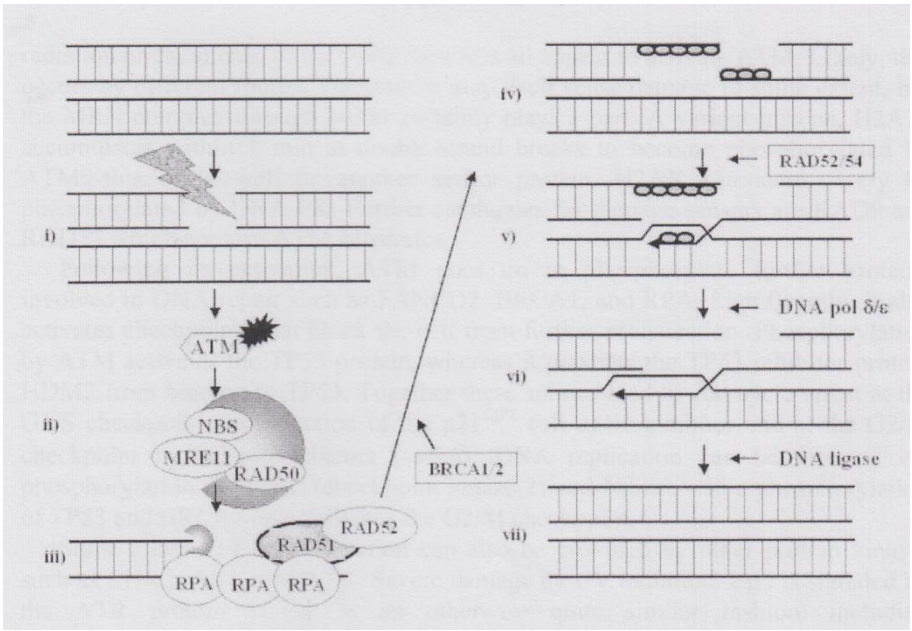
Sự *kết nối đầu cuối không tương đồng* (non-homologous end-joining –NHEJ) là một cơ chế rất chính xác vẫn thường được sử dụng trong các TB người (Hình 4.10). Các vết gãy chuỗi kép được bảo vệ bởi protein heterodimer KU70/KU80 và ràng buộc bởi phức hợp MRN bao gồm protein MRE11, RAD50 và NBS1 (Nibrin). Những protein này ngăn chặn chúng tái tổ hợp trái nguyên tắc và đặt chúng vào đúng vị trí. Những đầu cuối tương thích có thể được gắn lại với nhau, nhưng trong nhiều trường hợp các đầu cuối đã được xử lý. Trong quá trình xử lý có thể liên quan đến việc lấp đầy các phần 5’ nhô ra (5’ overhang) và làm giảm bớt phần 3’ nhô ra. MRE11 có hoạt tính của nuclease. Ngoài enzyme FEN1 nuclease, cũng có thể còn có liên quan đến các protein WRN nhằm cung cấp bổ sung thêm hoạt tính helicase cho các protein KU70/KU80. Rõ ràng là, trong quá trình xử lý thì các chuỗi được giãn ra rồi gắn lại với nhau cho đến khi thấy được các đoạn ngắn base bổ cứu, những đoạn base bổ cứu có thể được dùng để lai ghép 2 đầu cuối. Các phần nhô còn lại cũng được xử lý, những lỗ trống được lấp đầy và bộ khung đường- phosphate được gắn trở lại nhờ DNA ligase IV/XRCC4. Sản phẩm đầu cuối của quá trình sửa chữa là một xoắn kép DNA hoàn nguyên với một đứt đoạn tối thiểu, nó thường được giữ lại ở mức tối thiểu. Đặc trưng đặc biệt của các trình tự được sửa chữa bằng NHEJ là các tiểu tương đồng (microhomology), ví dụ như ở 2 đầu cuối

của đứt đoạn có các đoạn ngắn 1-12 bp giống hệt nhau trong các trình tự gốc. Những đoạn tương đồng này sẽ dài hơn khi các đứt đoạn phát sinh do tái tổ hợp tương đồng trái luật. Trong một số trường hợp, sửa chữa NHEJ dẫn đến việc cài thêm vào một số nucleotide phụ như trong quá trình gắn các chuỗi V(D)J ở các TB lympho.

Khi NHEJ bắt đầu hoạt động thì nó lộ ra các tín hiệu hoạt hóa trạm kiểm soát TB. Các protein KU kiến tạo nên các tiểu đơn vị điều hòa của protein kinase phụ thuộc DNA (DNA-PK) cần cho việc sửa chữa DNA đúng cách. Nó chẳng những phosphoryl hóa tiểu đơn vị xúc tác và các protein khác có liên quan trực tiếp trong việc sửa chữa mà còn hoạt hóa cả protein TP53 – một trong những chất điều hòa quan trọng trạm kiểm soát TB. Sự phosphoryl hóa TP53 bởi enzyme DNA-PK và/hoặc các enzyme khác nữa như ATM và ATR kinase làm dừng chu kỳ TB thậm chí là cả apoptosis. Phức hợp protein NHEJ bản thân nó cũng được điều hòa bởi các protein ATM và các protein khác. Trong phức hợp MRN thì Nibrin dường như là đóng vai trò kiểm soát chính. Nó được phosphoryl hóa và hoạt hóa bởi protein ATM kinase và đến lượt mình nó lại tương tác với các protein BRCA.

Trái ngược với NHEJ, *sửa chữa tái tổ hợp tương đồng* (homologous recombination repair – HRR) có thể được thực hiện với cách thức *"giải phóng" sai sót,* ít nhất là về nguyên tắc. Trong các TB người, đây là cơ chế lựa chọn cho phase G2 của chu kỳ TB khi một trình tự thứ hai giống hệt với một trong những trình tự tổn hại có ở NST chị em. Ngược lại, NHEJ có lẽ là cơ chế chiếm ưu thế ở các tế bào G1. Sửa chữa tái tổ hợp tương đồng (HRR) cũng có thể trở thành phương thức ưa thích cho việc sửa chữa các vết gãy chuỗi kép phát sinh khi các vết gãy ở một chuỗi DNA mở rộng ra thành các vết gãy chuỗi kép khi sao chép và replisome đã bị đình trệ. Trong tình cảnh này thì có thể liên quan đặc biệt đến enzyme BLM helicase. Việc phân mốc tổn thương chuỗi kép trong những trường hợp khác có khả năng được thực hiện bởi protein RAD52 (Hình 4.11). Khác biệt rõ ràng đối với NHEJ là không liên quan gì đến các protein KU. Vết gãy chuỗi kép sau đó được xử lý để có được một chuỗi đơn có phần nhô ra 3' khoảng vài trăm base. Trong quá trình xử lý, phức hợp MRE11/RAD50/NBS1 (MRN) cũng liên quan tới các thành phần ít đặc trưng hơn. Với sự trợ giúp của protein tái tổ hợp RAD51, các chuỗi đơn lấn sang DNA chuỗi kép tương đồng nguyên vẹn để hình thành nên các cấu trúc vòng D (D –loop structure) (D có nghĩa là thay thế - displacement). Các nhóm 3' hydroxyl của các chuỗi đơn sau đó nới rộng ra và một cấu trúc với 2 giao lộ Holliday được hình thành (two Holliday junction). Vấn đề này được thực thi do sự tác động của endonuclease. Có thể có một vài sự kết cục, tùy thuộc vào việc giao lộ Holliday được thực thi như thế nào, thường là có sự bắt chéo. Điều này không dẫn đến một sự thay đổi trình tự khi sử dụng NST chị em. Tuy nhiên, nếu một trình tự tương đồng bắt nguồn từ một NST khác thì lại liên quan đến việc chuyển vị gen có thể xảy ra.

Không phải các chi tiết của cơ chế HRR đã được hiểu rõ trọn vẹn như là kiểu sửa chữa NHEJ. Tuy nhiên, một số thành phần của nó đã được xác định một cách chắc chắn, bởi vì chúng bị đột biến trong những bệnh di truyền người. Các đột biến đồng hợp tử trong gen *NBS1* đã làm giảm nhẹ chức năng của Nibrin – nền tảng của hội chứng bẻ gãy Nijmegen. Đây là một hội chứng rất hiếm gặp với các biểu hiện chậm phát triển tâm thần, thiếu hụt miễn dịch và đáng chú ý là sự bất ổn định của NST và nhạy cảm với ung thư. Những đột biến đồng hợp tử ở gen WRN mã hóa cho enzyme helicase/nuclease liên quan đến việc sửa chữa vết gãy chuỗi kép và telomere vẫn duy trì tăng tính nhạy cảm đối với các dạng ung thư khác nhau, đặc biệt là đối với các mô mềm. Tuy nhiên, hệ quả của hội chứng Werner lại là bệnh lão hóa sớm thường biểu hiện quanh tuổi dậy thì.




**Hình 4.11** *Cơ chế sửa chữa các vết gãy chuỗi kép bằng tái tổ hợp tương đồng*
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Hội chứng rõ ràng nhất trong bối cảnh này là chứng mất điều hòa giãn mao mạch (ataxia telangiectasia –AT) do các đột biến đồng hợp tử trong gen mã hóa cho protein ATM kinase điều hòa sửa chữa vết gãy chuỗi kép DNA. Cũng giống như các bệnh nhân NBS, các bệnh nhân AT dễ bị thâm nhiễm và sai lạc NST. Họ có nguy cơ ung thư tăng cao gấp 100 lần, chủ yếu là các bệnh bạch cầu và u lympho. Đặc biệt là, cả 2 hội chứng đều cường nhạy cảm với bức xạ ion hóa. Tuy nhiên, những bệnh nhân AT thường không bị chậm phát triển tâm thần. Thực sự thì, chức năng tiểu não của họ bị giảm dần dần làm cản trở cho sự vận động, nói năng và tầm nhìn. Sự mất điều hòa rất đặc biệt này mới dẫn đến cái tên là chứng giãn mao mạch xuất hiện ở những nơi đặc biệt như két mạc  mắt chẳng hạn. Chúng được cho là gây nên bởi sự tạo mạch không thích hợp. Chuỗi các sự kiện dẫn đến những tổn thương này có thể liên quan đến sự mất chức năng

của ATM làm cho chức năng của TP53 không được hoàn thiện làm giảm kiềm chế sự tạo mạch được cảm ứng bởi thiếu oxy. Các khía cạnh khác của kiểu hình ATM đa chiều vẫn chưa được hiểu nhiều, như nồng độ α-fetoprotein albumin thai nhi tương đồng (fetal albumin homologous α-fetoprotein) vẫn thường dùng trong chẩn đoán bệnh.

Ngược lại, sự bất ổn định NST và cường nhạy cảm đối với bức xạ ion hóa trong hội chứng này cũng rất phù hợp với chức năng đã biết của ATM với tư cách là một điều phối viên trung tâm của việc sửa chữa vết gãy chuỗi kép. Các vết gãy chuỗi kép DNA do tái tổ hợp sinh lý học, bởi virus hoặc các enzyme retrotransposon, bởi bức xạ ion hóa hoặc các chất hóa học hoặc bởi stress oxy hóa, tất cả đều để hoạt hóa ATM. Điều này cũng có khả năng xảy ra bằng các con đường khác. Các protein có thể tự mình cảm nhận được đã bị tổn hại đến mức độ nào đó, nhưng phức hợp MRN thông qua NBS1 chắc chắn cũng đóng vai trò phần nào. Một lượng histone biến thể -H2AX tích tụ trong 1 phút ở các vết gãy chuỗi kép sẽ được phosphoryl hóa bởi ATM. H2AX cũng có thể được phosphoryl hóa theo một cách khác bởi DNA-PK. Các ứng cử viên khác cảm biến sự tổn hại là RAD9 và RAD17 cũng là cơ chất của ATM.

Sau khi hoạt hóa, ATM tiếp tục phosphoryl hóa các protein khác có liên quan tới sửa chữa DNA như FANCD2, BRCA1 và RPA. Điều đáng nói là, nó cũng hoạt hóa trạm kiểm soát để ngăn chặn không cho TB tăng sinh xa hơn. Sự phosphoryl hóa bởi ATM làm hoạt hóa protein TP53, trong khi đó nó lại ngăn chặn một protein ức chế TP53 là HDM2 không gắn với TP53. Những tác động này dẫn đến dừng chu kỳ TB tại trạm kiểm soát G1/S thông qua cảm ứng chất ức chế chu kỳ tế bào $p21^{CIPI}$ và tại trạm kiểm soát G2/M bởi các chất trung gian khác. Sự sao chép DNA có thể bị dừng lại thông qua việc phosphoryl hóa CHK2 (checkpoint kinase 2) và nibrin, trong khi phosphoryl hóa TP53 và BRCA1 cũng làm hoạt hóa trạm kiểm soát G2/M.

Một số khía cạnh về chức năng của ATM cũng có thể được quy định bởi các protein kinase khác như CHK2, ABL và ATR. Ví dụ như sự tổn hại nghiêm trọng do bức xạ UV đã được báo hiệu bởi protein ATR kinase với phương cách tương tự nhưng hoàn toàn khác biệt, bao hàm sự phosphoryl hóa TP53 và CHK1 (thay vì CHK2). Các chức năng phụ của ATM và ATR đã giải thích được tại sao các bệnh nhân AT và các TB của họ lại nhạy cảm với bức xạ ion hóa mà không nhạy cảm với UV.

Một cuộc tranh luận công cộng về vấn đề liệu tính dị hợp tử đối với các đột biến của ATM có dẫn đến tăng nguy cơ ung thư hay không?. Đây là điều đặc biệt lo ngại vì một số phương pháp thông thường dùng trong sàng lọc và chẩn đoán ung thư cũng sử dụng bức xạ ion hóa. Kết quả các khảo sát thì rất khác nhau. Có thể là nguy cơ ung thư của các chất mang (carier) dị hợp tử của bệnh còn phụ thuộc vào sự hiện diện của đột biến nào nữa. Một số đột biến có thể làm bất hoạt hoàn toàn các allele đã bị tác động. Số khác lại có thể biểu lộ mức độ nào đó kiểu hình âm trội, ví dụ hình thành một sản phẩm của một protein biến đổi không có chức năng sửa chữa, nhưng nó lại ức chế chức năng

của các protein được sản sinh bởi các allele bình thường. Trong trường hợp của protein ATM thì điều này có thể hiểu được vì protein này tồn tại một cách bình thường như là một dimer và sự hoạt hóa nó có liên quan đến sự phosphoryl hóa chéo giữa các tiểu đơn vị. Do đó, các tiểu đơn vị rối loạn chức năng có thể gây bất hoạt một số tiểu đơn vị chức năng.

## 4.4. NHỮNG KHIẾM KHUYẾT TRONG SỬA CHỮA DNA VÀ TÍNH MẪN CẢM UNG THƯ

Như đã trình bày ở các phần trước, rõ ràng là những khiếm khuyết di truyền trong hệ thống sửa chữa DNA là căn nguyên quan trọng của tính mẫn cảm ung thư. Rất nhiều hội chứng liên quan đến sửa chữa DNA làm gia tăng ung thư (Bảng 4.2). Các đột biến đồng hợp tử trong các gen *ATM, NBS1, WRN, FANC* và *XP/ERCC* là nền tảng cho các bệnh di truyền, làm tăng nguy cơ ung thư. Các đột biến dị hợp tử ở các gen *MMR* và *BRCA* và có lẽ cả các đột biến của *ATM* xác định đều dẫn đến khuynh hướng ung thư kiểu di truyền trội. Như một quy luật, không có hội chứng kiên định khác nào lại liên quan tới những đột biến này. Chỉ có một trong hai khuynh hướng hoặc là các ung thư phát triển với tốc độ tăng cao khi có một trình tự tăng cao tốc độ đột biến, hoặc là tăng các đột biến điểm trong MMR và XP hoặc tăng sự sai lạc NST. Cũng rất đặc biệt trong những bệnh ung thư này là chúng xuất hiện ở lứa tuổi còn rất trẻ.

***Bảng 4.2.*** *Những khiếm khuyết di truyền trong sửa chữa DNA và khuynh hướng ung thư*

| **Hội chứng** | **Cách thức di truyền** | **Hệ thống sửa chữa bị tác động** | **Gen liên quan** | **Các mô tăng nguy cơ ung thư** |
|---|---|---|---|---|
| Chứng khô da sắc tố | Lặn | Sửa chữa cắt bỏ nucleotide | XPA-G (ERCC1-7) và các gen khác | Da |
| Cockayne | Lặn | Sửa chữa cắt bỏ nucleotide, sao chép ghép | CSA, CSB | Tăng không ý nghĩa |
| Mất điều hòa giãn mao mạch | Lặn | Sửa vết gãy chuỗi | ATM | Nhiều |
| Thiếu máu Fanconi | Lặn | Sửa chữa liên kết chéo | FANC, BRCA2 | Hệ tạo máu và các hệ khác |
| Gãy Nijmegen | Lặn | Sửa vết gãy chuỗi | NBS | Hệ tạo máu |
| Bloom | Lặn | Sửa vết gãy chuỗi (HRR?) | BLM | Nhiều |
| Werner | Lặn | Sửa vết gãy chuỗi (HRR?) | WRN | Nhiều |
| Ung thư vú di truyền | Trội | Sửa chữa tái tổ hợp tương đồng | BRCA1, BRCA2 và các gen khác | Vú, buồng trứng |
| Carcinoma đại tràng polyp không di truyền | Trội | Sửa chữa không thích hợp | MSH2, MLH1 và các gen khác | PMS2 Kết tràng nội mạc tử cung, dạ dày và các cơ quan khác |

Rõ ràng một vấn đề được đặt ra là với mức độ khiếm khuyết nào trong sửa chữa DNA thì sẽ ảnh hưởng đến các ung thư lẻ tẻ (chiếm đa số), nó phát sinh ở những người không hề mang bất kỳ đột biến nào của các gen kể trên. Hoặc các ung thư có thể phát sinh trong cả một quá trình sống tương đối dài của con người chỉ do sự tích tụ những biến đổi hiếm hoi, bất chấp khả năng sửa chữa DNA như thế nào. Đây là những câu hỏi vẫn còn bỏ ngỏ.

Người ta cũng phải xem xét vấn đề là nhiều gen liên quan đến sửa chữa DNA lại là đa hình. Một số đa hình này liên quan đến việc làm gia tăng nguy cơ một trong số các ung thư chủ chốt. Đặc biệt là, việc gia tăng nguy cơ ung thư do những đa hình này đối với mỗi cá thể là nhỏ so với nguyên nhân là các đột biến dẫn đến làm bất hoạt hoàn toàn hệ thống sửa chữa DNA. Tuy nhiên, những dạng đa hình thường gặp của những gen như thế lại có thể là yếu tố quyết định quan trọng đối với tần suất ung thư trong cộng đồng.

Hơn nữa, các đột biến hoặc đa hình di truyền, các đột biến thu được (acquired mutation) cũng có thể làm bất hoạt các gen sửa chữa DNA trong nhiều ung thư và chúng cũng có thể trở nên yên lặng do các cơ chế epigenetic. Trường hợp ghi lại ở đây là các ung thư MSI phát sinh do bất hoạt các gen MMR. Vẫn chưa rõ là, trong các ung thư khác thì với mức bất ổn định nào của NST là do sự bất hoạt của các gen *ATM, NBS1, WRN, FANC* hoặc *BRCA* thông qua đột biến soma. Về tổng thể, những trường hợp như thế này là hiếm.

Ngược lại, thất bại của trạm kiểm soát TB được kích hoạt do sự hư hại DNA đã phát hiện được rất nhiều, nếu không muốn nói là ở hầu hết các ung thư. Vì thế, những khiếm khuyết trong sửa chữa DNA như vậy có thể là không cần cho việc phát triển ung thư, mà là tín hiệu lỗi đối với các trạm kiểm soát. Ví dụ như việc làm mất kinase trạm kiểm soát, hoặc mất chức năng TP53 là rất cần thiết. Khi lỗi kích hoạt trạm kiểm soát thì các TB được phép tiếp tục tăng sinh mặc dù có sự tổn hại DNA với hậu quả là một số khiếm khuyết trở nên vĩnh viễn và nó được nhân lên ở các thế hệ TB kế tiếp.

Rốt cuộc, có khả năng là những khiếm khuyết DNA không thường xuyên được tích tụ lại trong suốt thời gian sống của con người đã tránh né được sự sửa chữa tích tụ và có lẽ sự sửa chữa DNA trở nên kém hiệu lực trong quá trình lão hóa dần dần. Hơn nữa, sự rối loạn chức năng của telomere trong các TB lão hóa cũng tạo nên sự thử thách mới đối với hệ thống sửa chữa DNA khi mà chúng không luôn luôn làm chủ được mình.

## 4.5. CÁC CƠ CHẾ BẢO VỆ TẾ BÀO TRONG UNG THƯ

Các chất sinh carcinoma ngoại sinh và các tác nhân gây đột biến tiềm năng phát sinh từ các quá trình nội sinh thường được ngăn chặn bởi các cơ chế bảo vệ TB đặc biệt liên quan đến DNA. Những cơ chế rất đa dạng này làm việc với tư cách là một lớp khác

của phòng chống ung thư ngoài cách sửa chữa DNA và apoptosis. Thường thì những cơ chế này không những bảo vệ DNA mà còn bảo vệ cả các TB nói chung khỏi bị tổn hại. Một số trong số những cơ chế này là rất đặc hiệu còn một số thì rất chung chung. Trong bối cảnh ung thư thì chúng là đặc biệt quan trọng ở 2 phase rất khác nhau, nghĩa là (1) trong lúc sinh ung thư và (2) trong quá trình điều trị.

Nhiều hợp chất trọng lượng phân tử thấp đã được sử dụng để ổn định các đại phân tử và màng TB, kháng lại sự biến đổi áp suất thẩm thấu, làm đệm cho trạng thái oxyhóa khử, dập tắt các gốc tự do và đặc biệt là các mẫu oxy phản ứng. Những hợp chất hóa học kiểu này (Bảng 4.3) bao gồm các polyamine, các amino acid như taurine, tripeptide gluthation và các vitamin E kỵ nước ưa lipide và vitamin C, tức là acid ascorbic và tocopherol. Gluthation γ- glutamyl-cysteinyl-glycine (GSH) là một bộ phận của hệ thống đệm oxy hóa khử TB và các nhóm thiol của nó phản ứng tức thời với các gốc tự do. Dạng oxy hóa bình thường của gluthation là disulfide (GSSG), nhờ enzyme gluthation reductase, trong đó có sử dụng NADPH như là một đồng cơ chất (cosubstrate) thì GSH mới được tạo thành. GSH cũng được sử dụng trong các phản ứng xúc tác mang tính enzyme cho các mục đích tương tự. Vì vậy enzyme có chứa selenium là gluthation peroxidase sẽ loại bỏ hết hydrogen peroxide tạo ra GSSG. Vì thế thiếu enzyme này có thể là một lý do giải thích tại sao lại có thể làm tăng nguy cơ ung thư. Gluthatione cũng phản ứng một cách tự phát với các hợp chất ưa điện tử, bao hàm cả các chất sinh carcinoma kích hoạt. Những phản ứng này được đẩy nhanh tiến độ rất mạnh nhờ các enzyme gluthatione transferase (GST). Các izoenzyme khác trong họ đều xúc tác cho phản ứng của gluthatione với một số cơ chất, nhưng mỗi enzyme nhìn nhận các hợp chất này với các mức độ khác nhau. Trong hầu hết các trường hợp, các chất sinh carcinoma đều bị bất hoạt do kết hợp với gluthatione. Các cộng hợp này tiếp tục được chuyển hóa và cuối cùng bài tiết ra ngoài.

Rõ ràng từ sự mô tả ngắn gọn này thì tại sao các đa hình ở các enzyme GST xúc tác cho các phản ứng của gluthation lại điều tiết nguy cơ của các ung thư khác nhau. Ngoài mức độ gluthatione, nó còn liên quan đến tỷ số GSSG:GSH. Tuy nhiên những phản ứng tương tự như thế cũng có liên quan trong bối cảnh trị liệu ung thư. Các thuốc điều trị ung thư gây độc TB cũng phản ứng với DNA và một số tác động theo kiểu cảm ứng các mẫu oxy phản ứng. Như vậy, cả 2 phản ứng với gluthatione đều được xúc tác bởi các GST và làm dập tắt các mẫu oxy phản ứng bởi GSH và một số gốc khác lại làm giảm hiệu lực của các thuốc như thế trong các TB ung thư, trong khi đó chúng lại bảo vệ các TB bình thường. Trên thực tế, GSTP1- một izoenzyme trong nhóm thường biểu hiện quá mức trong các ung thư, kháng lại sự trị liệu. Trong một số trường hợp, đó là hệ quả của sự khuếch đại gen. Có điều nghịch lý là, cùng enzyme này lại bị điều hòa xuống ở một số ít ung thư chọn lọc như carcinoma tuyến tiền liệt.

Tranh luận tương tự cũng có thể xảy ra đối với bức xạ ion hóa. Hiệu ứng của bức xạ ion hóa lên các TB thường được giảm nhẹ bằng các cơ chế bảo vệ TB, ngoài cơ chế sửa chữa DNA. Chẳng hạn như các polyamine làm ổn định hóa các đại phân tử của TB như DNA và RNA cấu trúc. Tocopherol, ascorbate, carotenoid và gluthatione - đều tác động nhằm dập tắt hiệu ứng của các gốc hydroxyl và các mẫu oxy phản ứng khác. Vì thế, trong một số trường hợp, nó có thể hữu ích trong việc làm cạn kiệt các hợp chất này trước khi điều trị.

Các GST và gluthatione peroxidase (GPx) là các ví dụ về các enzyme bảo vệ TB điều tiết hiệu ứng của nhiều tác nhân nội, ngoại sinh khác nhau. Các enzyme khác thì phù hợp hơn đối với các hợp chất đặc biệt này. Chẳng hạn như các metallothionein là một nhóm các protein phân tử nhỏ bảo vệ kháng lại các ion kim loại như cadimium và nickel. Tuy nhiên, trong khi chúng có thể ngăn ngừa sự sinh ung thư bởi các chất này hay chất khác thì chúng cũng có thể góp phần vào việc kháng lại các trị liệu hóa học có sử dụng các hợp chất hữu cơ - kim loại và đặc biệt là kháng lại một phức hợp đã được sử dụng rộng rãi là platinum. Tuy nhiên, những protein này cũng phản ứng với các gốc tự do được cảm ứng bởi trị liệu ung thư.

***Bảng 4.3.*** *Một số hợp chất trọng lượng phân tử thấp và các enzyme trong bảo vệ tế bào*

| **Hợp chất TLPT thấp** | **Chức năng** | **Protein** | **Chức năng** |
|---|---|---|---|
| Gluthatione | Bảo vệ kháng lại các mẫu oxy phản ứng và các hợp chất ưa điện tử | Gluthatione, peroxidase | Loại bỏ $H_2O_2$ |
| Acid ascorbic | Bảo vệ kháng lại các gốc ưa nước | Catalase | Loại bỏ $H_2O_2$ |
| Tocopherol | Bảo vệ kháng lại các gốc ưa lipide | Superoxide, Dismutase | Loại bỏ superoxide |
| Spermidine Spermine (polyamine) | Ổn định hóa phức hợp ribonucleo-protein | Metallothioneine | Liên kết với các ion kim loại |
| Tảuine, betaine | Bảo vệ thẩm thấu | | |

Điều quan trọng là cần phải thấy rõ tác động của các yếu tố di truyền và môi trường. Về mặt di truyền, sự đa hình với số lượng lớn các gen trong bối cảnh này dường như là để điều tiết nguy cơ ung thư nhưng cũng là để đáp ứng với sự trị liệu. Về mặt môi trường, các yếu tố như chế độ ăn uống và trạng thái miễn dịch cũng tác động tới các mức của các hợp chất TLPT thấp và các protein liên quan đến việc bảo vệ TB. Các yếu tố môi trường và di truyền trong những trường hợp đặc biệt có thể đồng vận với nhau. Đã có bằng chứng về kiểu tương tác này ở rất nhiều ung thư người.

## *TÓM TẮT*

❖ *DNA trong các TB con người bị tổn hại không ngừng. Trong hầu hết các trường hợp đều được sửa chữa một cách hợp lý, chỉ để lại tương đối ít những thay đổi vĩnh viễn. Các loại tổn hại bao gồm sự biến đổi hóa học hoặc mất các base DNA, đứt chuỗi đơn hoặc kép hoặc các liên kết chéo giữa các chuỗi và trong cùng một chuỗi. Mỗi dạng tổn hại đều có thể dẫn đến đột biến. Nguồn đột biến quan trọng nằm ở sao chép và tái tổ hợp DNA, sao chép DNA là một phase đặc biệt quan trọng, trong đó các nucleotide bị hợp nhất không đúng, có thể là DNA polymerase bị trượt hoặc bị "nhốt" ở chạc sao chép. Nguồn đột biến khác đến từ sự sai lạc các quá trình tái tổ hợp sinh lý học, ví dụ trong TB mầm hoặc trong các tế bào lympho.*

❖ *Ngoài các quá trình nội sinh như stress oxy hóa và các phản ứng tự phát của DNA như deamin hóa cytosine, các chất sinh carcinoma ngoại sinh nguồn gốc hóa học và vật lý cũng gây tổn hại DNA. Một số chất sinh carcinoma gây nên các đột biến điểm đặc hiệu, trong khi đó các chất sinh carcinoma khác lại cảm ứng bẻ gãy chuỗi hoặc các dạng biến đổi khác nhau. Các chất sinh carcinoma cảm ứng bẻ gãy chuỗi có thể tác động như những "clastogen", ví dụ như cảm ứng sự sai lạc cấu trúc NST. Sự tham gia của các chất sinh carcinoma tác động đặc hiệu trong một số trường hợp có thể phát hiện được bằng các đột biến thấy ở ung thư.*

❖ *Các virus gây khối u có thể gây nên đột biến do được cài thêm vào hoặc do sự sắp xếp lại làm mất NST hoặc gián tiếp qua các protein virus can thiệp vào các hệ thống TB kiểm soát tính toàn vẹn của hệ gen.*

❖ *Các hệ thống sửa chữa DNA khác nhau trong TB người được thiết kế riêng cho từng loại tổn hại DNA khác nhau. Chúng chia sẻ các thành phần như DNA polymerase, DNA ligase, nhưng mỗi hệ thống lại sử dụng các protein đặc hiệu bổ sung.*

❖ *Các glycosylase chuyên hóa loại bỏ các base bị tổn hại. Enzyme AP (apurivic/apyrimidinic) endonuclease chịu trách nhiệm chuẩn bị những vị trí không có (thiếu) base để được sửa chữa cắt bỏ một đoạn ngắn hay dài các base. Những biến đổi không rõ ràng như sản phẩm cộng của chất sinh carcinoma (adducts) và pyrimidine dimer gây bởi ánh sáng UV được loại bỏ bằng các hệ thống sửa chữa cắt bỏ nucleotide. Những cặp base không phù hợp gây bởi các tác nhân gây đột biến hoặc những nhầm lẫn trong quá trình sao chép DNA là mục tiêu của các hệ thống sửa chữa 2 liên kết không phù hợp giữa 2 chuỗi (interlink). Các vết gãy của chuỗi kép đặt ra một thách thức lớn đối với sự sống sót của TB và tính toàn vẹn của hệ gen. Chúng đã được nhận dạng và cũng đã được xử lý bằng một số hệ thống sửa chữa khác nhau nhờ sử dụng các tái tổ hợp tương đồng hay không tương đồng để tránh hoặc làm thấp nhất*

*sự tổn hại vĩnh viễn. Còn một hệ thống sửa chữa khác nữa thì sử dụng protein FANC để chuẩn bị các DNA liên kết chéo cần phải sửa chữa nhờ tái tổ hợp.*

❖ *Những sai sót bẩm sinh trong hệ thống sửa chữa DNA này là nền tảng cho các hội chứng liên quan đến các khiếm khuyết phát triển, bệnh thần kinh và ung thư, chẳng hạn như sửa chữa cắt bỏ bị khiếm khuyết ở chứng khô da sắc tố, sửa chữa các liên kết không phù hợp trong bệnh polyp không di truyền do coli- HNPCC (hereditary non-polyposis carcinoma coli), sửa chữa chuỗi kép trong mất điều hòa giãn mao mạch và sửa chữa các liên kết chéo ở thiếu máu Fanconi. Với một hội chứng hiếm gặp thì sự đa hình ở các gen sửa chữa DNA có khả năng điều biến nguy cơ ung thư trong cộng đồng.*

❖ *Một lớp thứ hai của các cơ chế bảo vệ là trợ giúp tránh khỏi sự tổn hại DNA. Các chất gây đột biến phản ứng (reactive mutagen) bị ngăn chặn nhờ các hợp chất bảo vệ phân tử thấp như gluthatione hoặc nhờ các metallothionein hoặc gluthatione transferase. Đối với những cơ chế đặc hiệu bảo vệ kháng lại các mẫu oxy phản ứng cũng như kháng lại bức xạ thì ngoài các đa hình di truyền đạt được, chế độ ăn và các yếu tố môi trường khác cũng ảnh hưởng đến hiệu lực của các cơ chế này ở mỗi cá thể con người.*

❖ *Sự tổn hại DNA có thể làm hoạt hóa trạm kiểm soát TB ngăn chặn tiến triển chu kỳ TB và làm dừng sự tổng hợp DNA cũng như sự phân bào hoặc hoạt hóa sự chết theo chương trình của TB. Việc bẻ gãy chuỗi tạo ra một tín hiệu đặc biệt mạnh. Các tín hiệu stress cũng có thể được hoạt hóa bởi bức xạ hay các mẫu oxy phản ứng thông qua con đường tín hiệu chuyên biệt. Nhiễm virus cũng hoạt hóa trạm kiểm soát TB và các tín hiệu stress.*

# Chương V: CÁC GEN GÂY UNG THƯ (ONCOGENE)

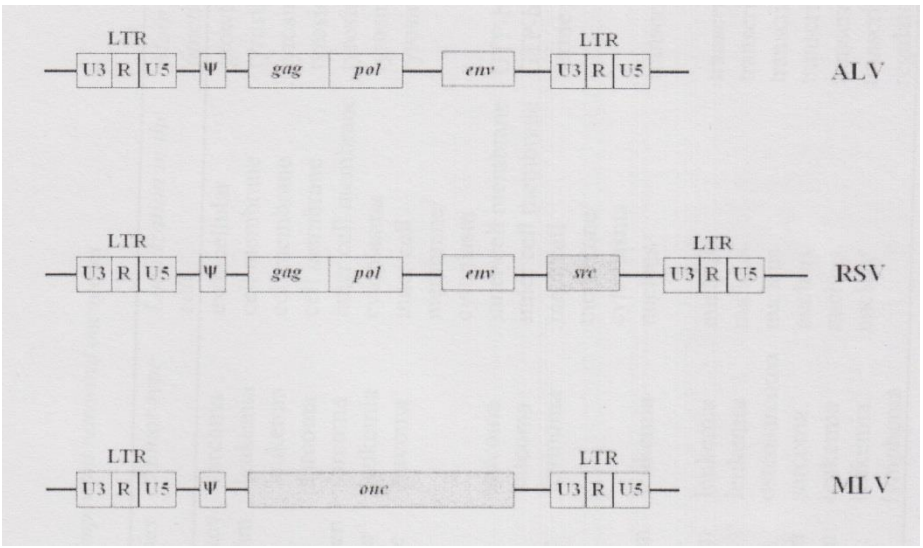
## 5.1. CÁC GEN GÂY UNG THƯ RETROVIRUS

Một số dạng virus khác nhau có liên quan đến sự phát triển ung thư trên người và động vật. Trên người thì liên quan chủ yếu tới các virus DNA. Trong số các retrovirus chỉ có HTLV1 (human T-lymphotropic virus) và HIV liên quan tới sinh ung thư, nhưng với cách thức rất quanh co. Trên động vật thì ngược lại, một số retrovirus như các tài liệu đã ghi, là nguyên nhân trực tiếp gây nên các ung thư với 2 cơ chế khác nhau có thể được phân loại là "cấp" hoặc "chậm". Nói một cách khác là chúng có thể được mệnh danh là "tải nạp" (transducing) hay "tác động cis" (cis-acting).

*Các retrovirus biến nạp cấp* như *ALV* (avian leucosis virus) hoặc *RSV* (Rous sarcoma virus) gây nên các bệnh bạch cầu, u lympho hoặc các sarcoma tiến triển nhanh sau khi vật chủ của chúng bị thâm nhiễm. Trên thực tế, các retrovirus biến nạp cấp thường được xác định trong thời gian dịch bệnh tàn phá các trang trại gà. Chúng thể hiện khả năng biến nạp các TB đích với cách thức trội, không cần bất kỳ đồng chất gây ung thư carcinogen (co-carconogen) nào. Rất sớm sau khi phát hiện ra vào đầu thế kỷ 20, chúng đã được dự báo là có *mang các gen gây biến nạp TB* và được gọi là gen gây ung thư (oncogene). Sự tồn tại của những gen này chính thức được chứng minh vào nửa cuối thế kỷ 20 và protein sinh ung thư đầu tiên – v-src từ RSV đã được xác định đặc tính hóa sinh vào cuối những năm 1970.

Protein *v-src* là một protein kinase định vị bên trong màng sinh chất. Trong khi hầu hết các protein kinase phosphoryl hóa các gốc serine hay threonine trong cơ chất thì *v-src* lại *phosphoryl hóa tyrosine* (đây là một bất ngờ tại thời điểm được phát hiện). Trong hệ gen của RSV thì v-src thực thi với tư cách là một *gen phụ 3'* (additional gene 3') gần sát các gen chuẩn gag, pol và env. Điều này là không bình thường đối với các retrovirus biến nạp cấp. Hầu hết trong số chúng, có một hoặc hai oncogene thay thế các bộ phận của gen chuẩn (Hình 5.1). Đặc biệt là, các oncogene thay thế pol và một phần gene gag cũng như protein oncogene được biểu hiện rất cao với tư cách là một protein liên hợp với gang. Mức biểu hiện cao này góp phần vào việc chi phối hoạt động của các oncogene retrovirus. Tất nhiên là, việc thay thế pol hoặc các gene virus khác bằng một trình tự oncogene đã làm mất đi khả năng tự sao chép của virus, làm nó trở thành

"khuyết tật". Đối với việc sao chép và truyền bệnh thì các retrovirus khuyết tật phải cần các virus trợ giúp có thẩm quyền sao chép còn nguyên vẹn để cung cấp các protein cần cho sự sao chép ngược, sự hợp nhất, sự đóng gói và sự chín (trưởng thành). Với sự đòi hỏi này có thể giải thích được tại sao các retrovirus biến nạp cấp lại hiếm. Ngược lại, khả năng độc đáo về tự sao chép của RSV có thể góp phần vào việc phân lập được nó rất sớm- đã từ một thế kỷ trước đây.




**Hình 5.1** *Các retrovirus nguyên thủy và các hệ gen onco-retrovirus*

ALV (avian leucosis virus), RSV ( Rous sarcoma virus) và MLV (murine leukemia virus)

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Trong khi đó, hơn hai chục oncogene đã được phân lập từ các retrovirus và đã được xác định các đặc tính hóa sinh. Nguồn gốc, sự định vị TB và các chức năng hóa sinh của một số oncogene đã được ghi nhận (Bảng 5.1). Một số điểm cần lưu ý về những sự phức tạp của chúng là: (1) Một số oncogene dường như là tương tự nhau. Trong một số trường hợp chỉ là do tên gọi như *v-myb* và *v-myc*, còn không giống nhau ngoại trừ đều là các yếu tố sao chép, nhưng cả 2 oncogene này đều được phát hiện thấy ở các retrovirus gây các bệnh bạch cầu dòng tủy. Ngược lại, *k-ras* và *ha-ras* thì thực sự là các protein rất giống nhau. Chính vì điểm này mới dẫn tới sự tồn tại của các họ oncogene. (2) Các sản phẩm của các gen retrovirus dường như bao hàm phạm vi tương đối giới hạn các chức năng hóa sinh. **Các protein kinase** như *v-erbB, v-src* và *v-raf* và các yếu tố phiên mã như *v-fos, v-jun, v-myb* và *v-myc* chiếm đa số. Các thành phần khác là các **receptor** như *v-erbB* hoặc *v-fms* hoặc các protein tín hiệu chuyển đổi bắt nguồn từ các receptor. Một số ít chức năng khác kiến tạo nên các phần còn lại (*remainder).* (3) Một số oncogene retrovirus mang 2 oncogene hợp tác với nhau trong quá trình biến nạp.

Chẳng hạn như virus erythroblastosis có chứa 2 oncogene v-erbA và v-erbB. Oncogene đầu tiên là một protein ức chế sao chép, còn oncogene thứ 2 thì tác động như là một protein tyrosine kinase màng TB. Sự hợp tác của chúng là ở chỗ v-erbA ngăn chặn sự biệt hóa của các tiền thân dòng hồng cầu và v-erbB kích thích tăng sinh và hỗ trợ cho sự sống sót của những TB gây nên chứng loạn nguyên hồng cầu này.

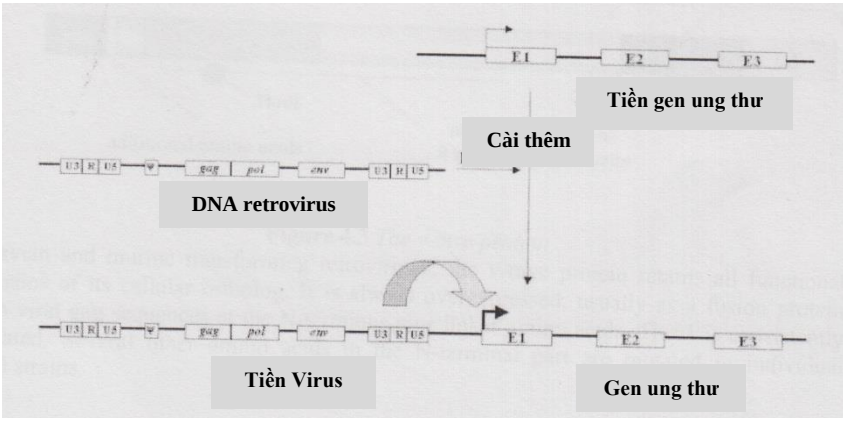
**Bảng 5.1.** *Một số oncogene retrovirus quan trọng*

| **Oncogene** | **Virus** | **Mẫu** | **Dạng khối u** | **Định vị trong TB** | **Chức năng hóa sinh chính** |
|---|---|---|---|---|---|
| Sir | simian sarcoma virus | Khỉ | Sarcoma | Ngoại bào | Yếu tố tăng trưởng |
| erbB | avian erythroblast virus | Gà | Bệnh bạch cầu | Màng TB | Tyrosine kinase |
| fms | feline sarcoma virus(chủng SM) | Mèo | Bệnh bạch cầu | Màng TB | Tyrosine kinase |
| kit | feline sarcoma virus(chủng HZ2) | Mèo | Sarcoma | Màng TB | Tyrosine kinase |
| Src | Rous sarcoma virus | Gà | Sarcoma | Màng trong TB | Tyrosine kinase |
| Abl | Abelson murine; leukemia virus | Chuột | Bệnh bạch cầu | Tế bào chất | Tyrosine kinase |
| raf | murine sarcoma virus(chủng 3611) | Chuột | Sarcoma | Màng trong TB tế bào chất | Tyrosine kinase |
| Ha-ras | Harvey sarcoma virus | Chuột | Sarcoma | Màng trong TB | Protein gắn GTP |
| Ki-ras | Kirsten sarcoma virus | Chuột | Sarcoma | Màng trong TB | Protein gắn GTP |
| akt | AKT8 virus | Chuột | Thymoma | Màng trong TB | Protein serine kinase |
| myc | Một số avian myelocytomatosis virus | Gà | Bệnh bạch cầu | Nhân | Yếu tố sao chép |
| myb | avian myeloblastosis virus | Gà | nt | Nhân | Yếu tố sao chép |
| rel | avian reticuloendothelosis | Gà tây | Bệnh bạch cầu | Nhân | Yếu tố sao chép |
| fos | murine osteosarcoma | Chuột | Sarcoma xương | Nhân | Yếu tố sao chép |
| jun | avian sarcoma virus | Gà | Sarcoma | Nhân | Yếu tố sao chép |
| erbA | avian erythroblastosis | Gà | Bệnh bạch cầu | Nhân | Yếu tố sao chép |
| tax | HTLV1 | Người | Bệnh bạch cầu u lympho | Nhân | Điều hòa sao chép |

## 5.2. CÁC RETROVIRUS BIẾN NẠP TÁC ĐỘNG CHẬM

Như một quy luật, các retrovirus biến nạp tác động chậm *có thẩm quyền sao chép* và *không tải nạp các oncogene*. Thay vì, chúng gây biến nạp bằng việc hợp nhất ở bên trong hoặc lân cận các gen TB và làm biến đổi sự biểu hiện của chúng. Trong cách thức này, chúng chuyển đổi các gen TB từ tiền ung thư thành ung thư trong phương thức tác động cis.

Sự hợp nhất của một retrovirus biến nạp chậm sẽ làm gián đoạn các yếu tố điều hòa âm của gen đích và/hoặc hoạt hóa sự sao chép của nó bởi các trình tự điều hòa sao chép có chứa trong LTR retrovirus. Một số cơ chế có thể được mường tượng là các trình tự điều hòa virus có thể gây nên sự biểu gen quá mức. Một cách tổng quát, cơ chế nổi bật dường như là sự hoạt hóa các promoter gen TB bởi enhancer trong LTR retrovirus. Cơ chế này là hiệu quả nhất nếu các retrovirus hợp nhất ở thượng nguồn ngược hướng với promoter (Hình 5.2).




**Hình 5.2** *Sự hoạt hóa các oncogene bằng cài thêm retrovirus*

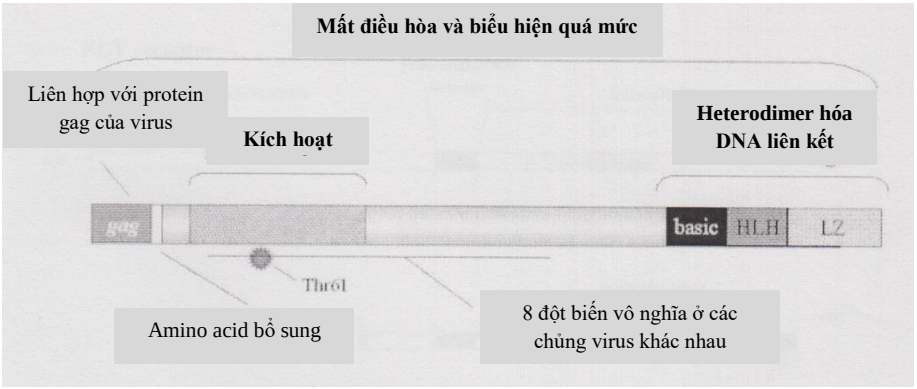
Cách thức thông thường nhất hoạt hóa oncogene là thông qua sự hoạt động của enhancer LTR provirus 'idle' 3' trên promoter tiền gen ung thư như vẽ trên hình. Thường thì khi cài thêm provirus sẽ làm gián đoạn hoặc tách rời các yếu tố điều hòa âm liên quan tới túc chủ (host).

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Trong hình vẽ, cách hoạt hóa này được biểu thị cho gen myc của TB (khởi đầu gọi là c-myc). Gen này gồm 3 exon và có chứa một số yếu tố điều hòa âm thượng nguồn của 2 vị trí bắt đầu sao chép và intron đầu tiên. Sự sao chép được tiến hành từ một vị trí bắt đầu sinh lý học (physiological start site) trong intron đầu tiên và tạm dừng ở đó cho đến khi có các tín hiệu khác đến, tương tự như trong quá trình điều hòa phiên mã bằng việc làm suy yếu vi khuẩn hoặc bởi protein tat của HIV. Việc gen myc cài thêm retrovirus điển hình sẽ làm gián đoạn cơ chế kiểm soát âm (cũng như các cơ chế khác) và đồng thời gây nên sự sao chép mạnh mẽ từ một promoter bất hoạt bí mật (cryptic)

khác gần đầu cuối intron 1. Trong  cách thức này, việc sao chép trở nên độc lập với các tín hiệu ngoại bào. Đặc biệt là sự biểu hiện của gen không bị điều hòa xuống trong đáp ứng với các tín hiệu biệt hóa.

Gen c-myc được hoạt hóa bởi các retrovirus biến nạp chậm rất giống oncogene được thực thi bởi virus myelocymatosis (Hình 5.3). Rõ ràng là, gen TB là tiền thân của gen virus và đã được chọn lọc do sự tiến hóa của tiền thân virus myelocymatosis. Điều này có thể xảy ra do sự tái tổ hợp của c-myc mRNA với mRNA hệ gen retrovirus sau khi tải nạp (transduction). Hơn nữa, sự tái tổ hợp có thể liên quan đến bản sao chép (tranncript) hệ gen và bản sao chép từ locus c-myc, trong đó retrovirus đã được cài thêm vào. Trong phương thức này, các retrovirus biến nạp tác động chậm có thể làm nảy sinh các dạng biến nạp cấp hiếm hơn.



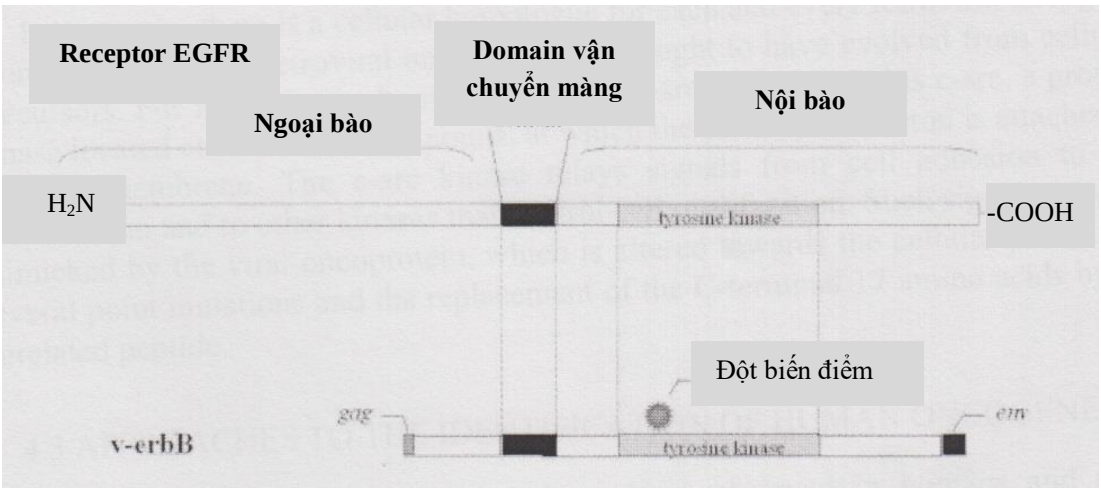

**Hình 5.3** *Protein v-myc*

Trong các retrovirus biến nạp chuột murine và chim, protein v-myc vẫn giữ lại tất cả các domain chức năng trình tự gen tương đồng (ortholog) TB của nó. Nó luôn luôn biểu hiện quá mức và thường là protein liên hợp với các trình tự gag virus ở đầu cuối N cộng với linker amino acid. Thr61 chắc chắn đã bi đột biến. Một số amino acid khác ở phần đầu cuối N cũng bị đột biến ở các chủng virus cá thể.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Khi một retrovirus biến nạp chậm hợp nhất vào trong gen c-myc thì gen đích trở nên mất điều hòa và biểu hiện quá mức (Hình 5.2). Vì gen v-myc có trong các retrovirus myelocytomasis, do vậy nó được biểu hiện mạnh mẽ. Ngoài ra, còn có một số thay đổi trong các trình tự amino acid của v-myc so với c-myc của gia cầm. Những vấn đề này không phải là ngẫu nhiên. Chẳng hạn như, sự thay đổi ở hầu hết các chủng virus là cần phải loại bỏ threonine để làm bất hoạt protein myc và tăng cường hơn nữa tính sinh ung thư. Do vậy, tóm gọn là sự biểu hiện quá mức retrovirus biến nạp cấp đã làm thay đổi protein tế bào, trong khi đó các virus biến nạp chậm lại làm mất điều hòa protein nội sinh, có thể vẫn chưa bị biến đổi.

Cũng như trong ví dụ của c-myc/v-myc, các oncogene retrovirus hầu như luôn luôn biến đổi so với các trình tự gen tương đồng (ortholog) TB của chúng, nơi khởi nguồn của chúng. Những biến đổi này trong trường hợp của myc thường là nghiêm trọng hơn. Chúng bao gồm việc cắt xén, đột biến hoặc hợp nhất với các protein virus làm tăng hoạt tính, tác động tới sự điều hòa và thay đổi sự định vị của oncoprotein bên trong TB. Chẳng hạn như, sản phẩm v-erbB bắt nguồn từ gen erb – B1 của TB mã hóa cho receptor yếu tố tăng trưởng EGFR (Hình 5.4). Receptor này bao gồm 3 domain cơ bản: Domain ngoại bào gắn với các ligand yếu tố tăng trưởng, domain vận chuyển màng (transmembrance) và domain tyrosine kinase tế bào chất được kiểm soát bởi vòng tự ức chế (autoinhibitory loop). Sản phẩm của virus không có hầu hết các domain ngoại bào, nhưng có chứa một đoạn gag nhỏ gây nên sự kết tụ protein mà bình thường thì do cảm ứng ligand. Hơn nữa, một đột biến điểm và sự cắt xén đầu cuối C ở domain tế bào chất làm giảm ức chế thông tin phản hồi và tự ức chế. Do vậy, có thể nói ngắn gọn là các virus đã mã hóa và biểu hiện quá mức protein hoạt hóa cấu thành.




**Hình 5.4** *Sự hoạt hóa erbB1 tới oncogene v-erbB*

Trong receptor oncogene, sự cắt xén của domain ngoại bào đã tiêu hủy sự liên kết ligand, trong khi đó việc hợp nhất với peptide gag dẫn đến sự oligo hóa cấu thành. Cắt xén tại đầu cuối C và một đột biến điểm ở vòng tự ức chế làm tăng cường hơn nữa hoạt tính cấu thành.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Sự biến nạp bởi các virus biến nạp chậm và cấp diễn ra với các khoảng thời gian khác nhau có thể được giải thích là do những biến đổi phụ này ở các oncogene tải nạp. Những khác biệt khác nữa cũng góp phần vào hiệu ứng này. Các retrovirus biến nạp cấp tải nạp các oncogene kích hoạt vào trong mỗi TB mà chúng thâm nhiễm và vì thế mà tạo ra một nguồn dự trữ lớn các TB chuyển nạp tiềm năng. Ngược lại, các retrovirus biến nạp chậm lại hợp nhất vào nhiều vị trí khác nhau trong các TB thâm nhiễm khác

nhau và hiếm khi đụng (hit) chạm với gen tiền ung thư của tế bào, và chỉ sản sinh được một vài TB biến nạp tiềm năng. Một lý do cho sự ấn định khoảng thời gian cho sự phát triển khối u là cần phải có một thời gian để nhân rộng dòng TB khối u.

Có khả năng là có nhiều hơn 2 lý do. Lý do thứ nhất là bắt buộc phải chuyển nạp một oncogene kích hoạt vào một lượng lớn TB để có được một hiệu ứng đáng kể lên sự tương tác giữa chúng với nhau và giữa chúng với các TB vật chủ. Chẳng hạn như, nó có thể làm thay đổi đáng kể các mức cytokine tự tiết (autocrine) hoặc cận tiết (paracrine) được tiết ra bởi những TB này hoặc kiềm chế đáp ứng miễn dịch kháng u. Lý do thứ 2 là có một lượng dự trữ lớn các TB có chứa oncogene làm tăng xác suất của một đột biến thứ 2 gây nên sự biến nạp trọn vẹn và tiếp theo là khối u tiến triển. Thực sự rất rõ ràng là, việc biến nạp bởi các retrovirus biến nạp chậm thường đòi hỏi phải có thêm một cú hích thứ hai. Đôi khi điều này cũng được thực hiện bằng cách cài thêm vào một retrovirus thứ hai nữa trong hệ gen. Một số retrovirus biến nạp cấp mang tới 2 oncogene, vì thế mà có được 2 cú hích trong cùng một trận đánh.

Sự chọn lọc gen đã được phát hiện nhờ sự kích hoạt bằng việc cài thêm retrovirus (Bảng 5.2). So sánh với Bảng 5.1, ta thấy một số gen này như c-myc có các tương đồng (homolog) virus. Điều đó không có gì ngạc nhiên là các retrovirus biến nạp cấp phát sinh từ các tiền thân tác động chậm. Tuy nhiên, nhiều gen được kích hoạt bằng cách cài thêm virus lại không quan sát thấy sự tải nạp. Trong một số trường hợp, vấn đề này có thể là do kích cỡ hơn là do sự điều tiết ở một retrovirus.

Điều quan trọng là, mỗi retrovirus đều có một tương đồng (homologue) TB và cho đến nay mọi oncogene đã được phát hiện. Vậy thì, tất cả các oncogene retrovirus có lẽ là đã được tiến hóa từ các tiền thân TB. Chẳng hạn như tương đồng của gen RSV là c-src, một protein kinase định vị ở các điểm kết dính đầu mối, tại đó bộ xương actin gắn với màng TB. C-src kinase chuyển tiếp tín hiệu về sự kết dính TB tới bộ xương TB và các kinase khác kiểm soát tăng sinh TB. Những tín hiệu như thế có thể bị bắt chước bởi protein gây ung thư của virus, nó được biến đổi thành protein TB do các đột biến điểm và sự thay thế 17 amino acid đầu cuối C bằng một peptide không có quan hệ gì.

## 5.3. NHỮNG PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH GEN GÂY UNG THƯ NGƯỜI

Không có retrovirus biến nạp cấp nào đã quan sát thấy trên người và ngay cả việc kích hoạt các gen TB bởi retrovirus hoặc các virus có liên quan như là HBV. Hai trường hợp kích hoạt oncogene do điều trị có thể xảy ra khi trị liệu gen bệnh miễn dịch tổ hợp trầm trọng ở trẻ em, trong trường hợp này các retrovirus mang gen trị liệu đã hợp nhất vào locus tiền gen ung thư *MLO2*.

***Bảng 5.2.*** *Một số gen gây ung thư quan trọng trong ung thư người*

| Oncogene | Dạng u | Cơ chế hoạt hóa | Định vị TB | Chức năng hóa sinh chính |
|---|---|---|---|---|
| TGFR | Nhiều carcinoma | Biểu hiện quá mức | Ngoại bào | Yếu tố tăng trưởng |
| FGF1 | Nhiều u đặc | Biểu hiện quá mức | Ngoại bào | Yếu tố tăng trưởng |
| WNT1 | Carcinoma chọn lọc | Biểu hiện quá mức | Ngoại bào | Yếu tố tăng trưởng |
| IGF2 | Nhiều ung thư | Biểu hiện quá mức | Ngoại bào | Yếu tố tăng trưởng |
| ERBB1 | Carcinoma chọn lọc | Biểu hiện quá mức | Màng TB | Tyrosine kinase |
| KIT | Ung thư tinh hoàn<br>U mô đệm đường tiêu hóa | Đột biến | Màng TB | Tyrosine kinase |
| RET | Tuyến giáp và các tuyến nội tiết khác | Đột biến | Màng TB | Tyrosine kinase |
| MET | Carcinoma thận | Đột biến, biểu hiện quá mức | Màng TB | Tyrosine kinase |
| IGFR1 | Carcinoma gan | Biểu hiện quá mức, đột biến ? | Màng TB | Tyrosine kinase |
| SMO | Ung thư da và não | Đột biến | Màng TB | Receptor gắn G |
| HRAS | Nhiều ung thư | Đột biến | Màng trong TB | Protein gắn GTP |
| NRAS | Nhiều ung thư | Đột biến | Màng trong TB | Protein gắn GTP |
| KRAS | Nhiều carcinoma | Đột biến | Màng trong TB | Protein gắn GTP |
| BRAF | Melanoma, ung thư kết tràng, v.v. | Đột biến | Màng trong TB | Tyrosine kinase |
| PI3K | Các UT chọn lọc | Biểu hiện quá mức | Màng trong TB tế bào chất | Phospholipid kinase |
| CTNNB1 | Carcinoma kết tràng Gan, v.v. | Đột biến | Màng trong TB tế bào chất, nhân | Hoạt hóa sao chép khung tế bào |
| MYC | Nhiều ung thư | Chuyển vị, biểu hiện quá mức, đột biến | Nhân | Yếu tố sao chép |
| MYCN | Ung thư chọn lọc | Biểu hiện quá mức | Nhân | Yếu tố sao chép |
| MYCL | Carcinoma chọn lọc | Biểu hiện quá mức | Nhân | Yếu tố sao chép |
| RELA | Bệnh bạch cầu | Chuyển vị | Nhân | Yếu tố sao chép |
| MDM2/HDM2 | Sarcoma và các u đặc khác | Biểu hiện quá mức | Nhân, Tế bào chất | Điều hòa sao chép/ ubiquitin ligase |
| SKP2 | Ung thư chọn lọc | Biểu hiện quá mức | Nhân, Tế bào chất | Ubiquitin ligase |
| CCND1 | Nhiều ung thư | Biểu hiện quá mức | Nhân | Điều hòa chu kỳ TB |
| CCND2 | Ung thư chọn lọc | Biểu hiện quá mức | Nhân | Điều hòa chu kỳ TB |
| CDK4 | Ung thư chọn lọc | Biểu hiện quá mức, đột biến | Nhân | Điều hòa chu kỳ TB |
| BCL2 | U nang, u lympho nhiều Ung thư khác | Chuyển vị, biểu hiện quá mức | Ty thể | Điều hòa apoptosis |

Những trường hợp như vậy rõ ràng là ngoại lệ, việc làm sáng tỏ các cơ chế mà retrovirus gây nên các ung thư trên động vật sẽ cung cấp nhiều thông tin hữu ích để hiểu rõ về các ung thư người. Ngay cả nếu các gen trong hệ gen người hầu như không bao giờ bị kích hoạt bởi các retrovirus để trở thành oncogene thì trình tự gene người tương đồng với các oncogene virus và động vật cũng có thể bị kích hoạt bởi những cơ chế khác ở người. Ngay sau khi phát hiện ra các oncogene tế bào, nhiều ung thư người đã được tiến hành sàng lọc về những biến đổi sinh ung thư trong những gen này. Thực sự thì có rất nhiều gen liên quan với tư cách là các oncogene trong ung thư người (Bảng 5.3).

❑ ***Phân tích trình tự gen tương đồng người (human ortholog) của các gen gây ung thư ở retrovirus***

Cách tiếp cận rõ ràng nhất là khảo sát các trình tự gen tương đồng người của các oncogene virus về mức độ biểu hiện của chúng và sự đột biến trong các ung thư người. Có rất nhiều tài liệu nói về những kết quả của nghiên cứu này. Tóm gọn là, một số trình tự gen tương đồng của oncogene virus biểu hiện quá mức hoặc đột biến trong các ung thư người và rõ ràng là có liên quan tới sự phát triển của chúng. Chẳng hạn như, tương đồng người của v-erbB, ERBB1 và tương đồng v-myc của người- MYC biểu hiện quá mức, đột biến và có liên quan đến nhiều ung thư người. Các gen khác thì chỉ liên hệ trực tiếp với phạm vi giới hạn hơn các ung thư như rel trong u lympho chọn lọc. Mặt khác, nhiều oncogene virus mạnh cũng chưa bao giờ trỗi lên như các oncogene trội ở người, nổi bật là v-src và v-fos. Thay vì, các sản phẩm của các gen người tương ứng thì liên hệ một cách tinh tế hơn về sự định hình kiểu hình của các ung thư người. Cần lưu ý là, trong khi đó ERBB1 hoặc MYC lại biểu hiện quá mức với một phạm vi rộng các ung thư người. Đây không phải là trong từng trường hợp gây ra bởi những thay đổi tiên phát trong gen của chúng. Tóm lại, tương đồng người của hầu hết các oncogene virus đều góp sức bằng cách nào đó vào một hay một số ung thư người.

❑ ***Thí nghiệm biến nạp tế bào 3T3***

Các thí nghiệm nuôi cấy TB như nguyên bào sợi 3T3 hướng vào việc thiết lập các thí nghiệm xác định các oncogene virus cũng đã được sử dụng để phát hiện các oncogene người. Trong thí nghiệm 3T3 nguyên bản, dòng tế bào nguyên bào sợi chuột 3T3 được thâm nhiễm với một retrovirus mang oncogene và đã tạo ra được các tiêu điểm (focus) của TB biến nạp có hình thái học biến đổi phát triển ra một lớp đơn ở hội lưu (ngã ba). Các tiêu điểm cũng có thể thu được bằng cách thâm chuyển DNA từ các TB khối u của người. Từ những tiêu điểm như thế gen có thể đảm nhiệm được việc phân lập ra các kiểu gen biến đổi. Thí nghiệm này dẫn đến việc xác định được một số oncogene người. Thành quả ấn tượng nhất là 3 tương đồng người của gen v-ras có thể tác động như là các oncogene. Trong tương đồng người của cả 2 gen ki-ras (KRAS) và

Ha-ras (HRAS) còn có một "người thân thuộc" (relative) thứ 3 nữa là NRAS có cấu trúc và chức năng tương tự. Tất cả 3 gen đều được thu hồi từ thử nghiệm hình thành tiêu điểm 3T3, trong mỗi trường hợp đều mang các đột biến điểm ở các vị trí đặc biệt, ví dụ codon 12, 13 hoặc 61. Do đó, một số gen TB như gen RAS có thể được chuyển đổi từ gen tiền ung thư thành gen ung thư chỉ vì các đột biến điểm. Thí nghiệm 3T3 cũng tạo ra được một số gen phụ cũng như nhiều vấn đề hóa sinh lý thú từ sự sắp xếp lại gen trong quá trình thâm chuyển.

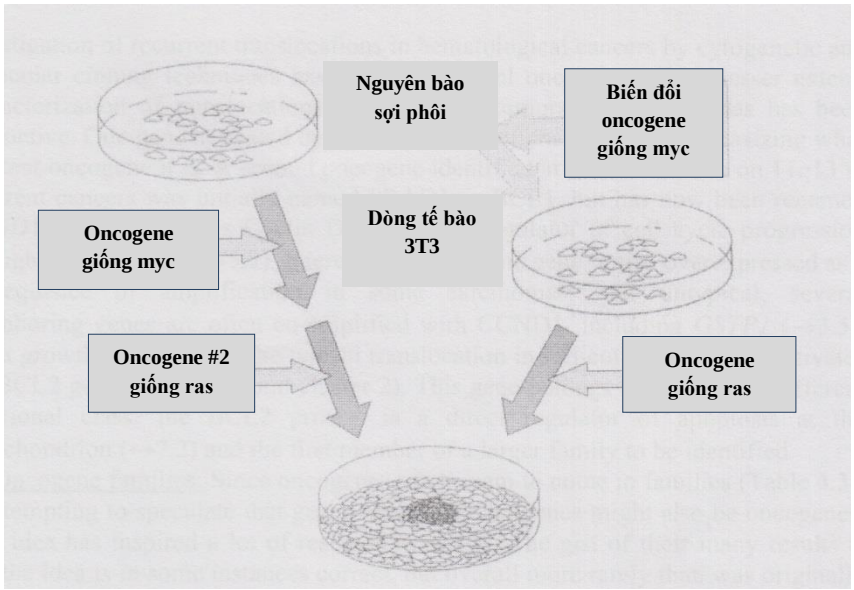
❑ ***Các thí nghiệm biến nạp khác***

Thí nghiệm 3T3 bị giới hạn vì nó nghiêng nhiều về một dạng oncogene xác định như ras, trong khí đó các oncogene tiềm năng khác thì không gây được hiệu ứng nào. Giới hạn này xuất phát từ một thực tế là thí nghiệm nhằm chọn lọc khả năng của các oncogene canh phòng các nguyên bào sợi tăng trưởng ngoài hội lưu và làm biến đổi hình thái học của chúng. Những gen RAS đột biến đã tạo nên các tính chất này. Tuy nhiên, không phải tất cả các oncogene đều tham gia vào câu chuyện này. Vì thế, cần phải phát triển các thí nghiệm tế bào sâu hơn nữa để xác định các oncogene tác động trên những tính chất khác. Trong số các thí nghiệm nổi danh này thì có thí nghiệm REF, trong đó các nguyên bào sợi phôi chuột được thâm nhiễm với các retrovirus hoặc được tải nạp với oncogene hoặc DNA tế bào khối u tinh khiết. Trong thí nghiệm này, cần 2 oncogene cho sự hình thành tiêu điểm (focus), một là oncogene dạng ras và một oncogene dạng myc. Đây là một ví dụ khác về sự hợp tác oncogene như đã thấy khi biến nạp retrovirus ở các động vật. Cơ sở phân tử chính xác của sự hợp tác này vẫn đang được nghiên cứu sau gần 20 năm phát hiện ra nó. Nói tóm lại, gen dạng myc làm bất tử hóa các nguyên bào sợi phôi chuột và kích thích sự tăng sinh của chúng, trong khí đó các gen dạng ras lại làm tăng trưởng quá mức và làm biến đổi về hình thái học. Rõ ràng là, các gen 3T3 (Hình 5.5) nằm ở bước đầu tiên trong cả một quá trình dài.

❑ ***Sự khuếch đại gen***

Vì sự biểu hiện quá mức thường là một đòi hỏi về chức năng của oncogene nên các gen biểu quá mức mạnh mẽ ở các ung thư người chuyên biệt rõ ràng là các ứng cử viên cho các oncogene. Đặc biệt là một số ung thư có chứa các khuếch đại tái diễn tại các vùng NST đặc biệt. Những oncogene này có thể được phát hiện bằng các kỹ thuật di truyền TB, chẳng hạn như sự biểu hiện quá mức của MYC và ERBB1 trong các ung thư người thường là do khuếch đại các gen của chúng định vị tại 8q24 và 17p12. Khi khảo sát các vùng khuếch đại khác đã phát hiện được các oncogene khác nữa. Đoạn nhiễm sắc thể 2p24 thường bị khuếch đại ở u nguyên bào thần kinh cũng như ở một số carcinoma có chứa gen liên quan tới MYC có tên là u nguyên bào thần kinh MYC-[MYCN] (N: neuroblastoma). Một gen có liên quan khác là MYCL thấy khuếch đại và

biểu hiện quá mức ở các ung thư phổi và các carcinoma khác cũng có được sự biểu hiện quá mức gen tương tự như ERBB1. Hiện nay tên chính thức của nó là ERBB2, nhưng sau đó vẫn còn gọi là HER-2 hoặc NEU, bởi vì một dạng đột biến đã được phát hiện một cách độc lập ở u nguyên bào thần kinh chuột được cảm ứng một cách hóa học.




**Hình 5.5** *So sánh thí nghiệm 3T3 và REF về sự hình thành tiêu điểm (focus)*
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Những kết quả như thế này xác nhận rằng những vùng khuếch đại phù hợp trong hệ gen của TB ung thư thường chứa đựng các oncogene. Tuy nhiên, việc xác định các oncogene không phải luôn luôn đơn giản, vì các vùng khuếch đại có thể bao gồm tới vài Mbp. Chẳng hạn như, một vùng từ 12q14 chứa các gen GL11, CDK4 và HDM2[4] thường hay khuếch đại ở các khối u người. Như đã đề cập ở các phần trước, mỗi một gen trong số những gen này đều có các đặc tính khiến nó trở thành một ứng cử viên tốt cho một oncogene. Còn một phiền hà nữa là một số khuếch đại lại liên quan tới sự yên lặng gen hơn là sự biểu lộ quá mức.

❑ ***Chuyển vị nhiễm sắc thể***

Một dạng khác của sự sai lạc NST trong ung thư người là chuyển vị. Đặc biệt trong các bệnh ung thư máu thì các gen ở các vị trí chuyển vị sẽ được hoạt hóa để trở thành oncogene. Do vậy, khi khảo sát một cách hệ thống những sự chuyển vị có định kỳ ở các ung thư huyết bằng kỹ thuật nhân dòng phân tử và di truyền TB đã phát hiện được một số oncogene. Đặc trưng của những chuyển vị ở các khối u của mô mềm và carcinoma không phong phú lắm. Trường hợp một gen được hoạt hóa bởi một số chuyển vị là MYC. Cũng cần phải nhấn mạnh rằng, vậy oncogene nào là tiềm năng?

Oncogene thứ hai được xác định ở các vị trí tái diễn trên 11q13 ở các ung thư khác nhau, gen này khởi đầu gọi là PRAD1 hoặc BCL1, nhưng cho đến nay nó được sửa tên thành CCD1 vì nó mã hóa cho cyclin D1 – một chất điều hòa quan trọng với tiến trình chu kỳ TB ở phase G1. Thật thú vị là, một số gen cũng được biểu hiện quá mức do hệ quả của sự khuếch đại ở một số carcinoma. Điển hình là một số gen lân cận thường cũng bị khuếch đại đồng thời với CCD1, trong đó bao gồm GSTP1 và một gen yếu tố tăng trưởng. Sự chuyển vị đặc biệt ở u nang lympho đã làm hoạt hóa gen BCL2. Gen này thuộc lớp có chức năng hoàn hoàn khác. Protein BCL2 điều hòa trực tiếp apoptosis ở ty lạp thể và là thành viên đầu tiên trong siêu họ các gen đã được xác định.

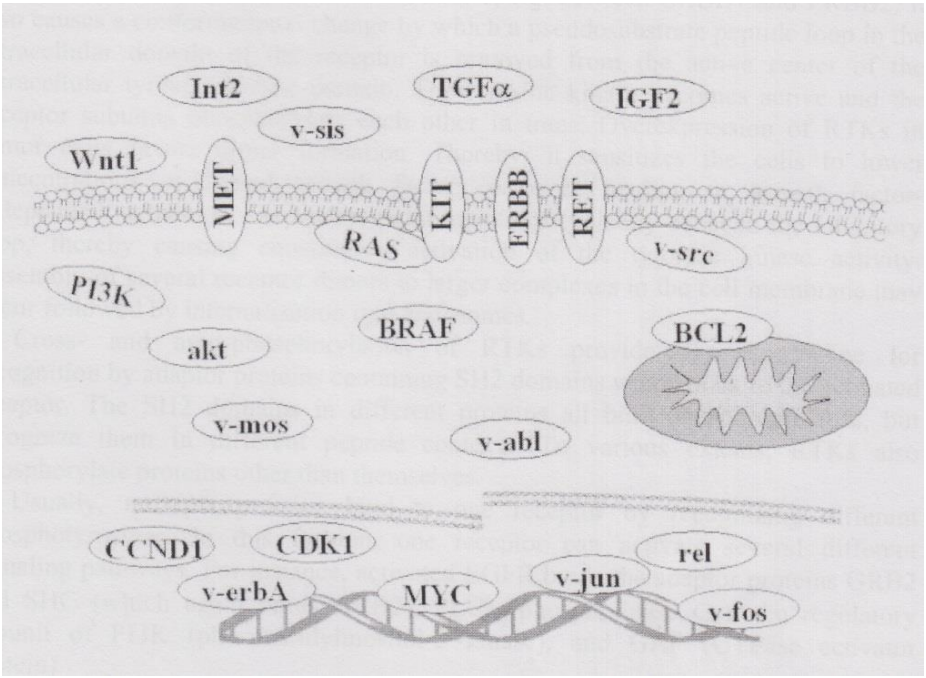
❑ ***Họ oncogene***

Điều thật sự hấp dẫn là các gen liên quan tới oncogene cũng có thể là các oncogene. Ý kiến này đã gây cảm hứng cho rất nhiều nghiên cứu. Yếu điểm trong nhiều kết quả của họ là trong một số trường hợp ý kiến này là đúng, nhưng về tổng thể thì cũng không hoàn toàn như vậy. Trong một số trường hợp, các lý do đã rất rõ ràng chẳng hạn như họ MYC bao gồm các thành viên như MX11 và MAD - chúng đối kháng thật sự với các tiền ung thư MYC, MYCN và MYCL, trong khi đó MAX lại mã hóa cặp đôi heterodimer hóa cho tất cả các thành viên. Vẫn chưa hiểu rõ tại sao ERBB1 và ERBB2 thường kích hoạt oncogene, nhưng 2 thành viên khác trong họ này là ERBB3 và ERBB4 thì lại hiếm khi kích hoạt. Tương tự như vậy, các trình tự gen tương đồng người gần cận nhất của virus v-raf, RAF1 lại dường như không bị kích hoạt trong các khối u người, nhưng các tương đồng BRAF của nó thì chắc chắn bị kích hoạt, ví dụ như trong các melanoma. Như vậy, tương đồng với một oncogene rõ ràng là một dấu hiệu tốt về tầm quan trọng, nhưng không cho phép kết luận chắc chắn đó là một gen tiềm năng ung thư.

Sự lôi cuốn khác liên quan đến các gen biểu lộ quá mức rất mạnh ở khối u người với tư cách là một oncogene. Như đã chỉ ra ở trên, ý nghĩa của sự biểu hiện quá mức có thể là mơ hồ ngay cả với các oncogene *bona fide* như *MYC* và *ERBB1*. Việc quan sát sự biểu hiện quá mức của một gen trong ung thư người không phải luôn luôn dễ dàng giải thích, vì có thể gặp khó khăn khi test các chức năng tác động của sự biểu hiện quá mức này.

## 5.4. CHỨC NĂNG CỦA CÁC GEN GÂY UNG THƯ NGƯỜI

Các oncogene của các retrovirus biến nạp cấp (Bảng 5.1) cũng như các oncogene của người (Bảng 5.2) có thể được phân loại theo chức năng hóa sinh của chúng hoặc theo sự định vị của các sản phẩm của chúng. Một sự phác họa về những định vị này (Hình 4.6) gợi ý rằng sự phân bố không gian này có thể không quan trọng lắm. Thực sự thì, nhiều oncogene đã được kiểm chứng hay còn nghi ngờ đều thuộc mạng lưới chức năng làm nhiệm vụ truyền các tín hiệu cho sự tăng sinh và sự sống sót từ bên ngoài TB tới nhân.




**Hình 5.6** *Sự định vị tế bào của các protein oncogene*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Sự tăng sinh của một TB bình thường là sự đáp ứng với các tín hiệu ngoại bào bắt nguồn từ các yếu tố tăng trưởng hòa tan và được điều tiết bởi các tín hiệu, đó là kết quả của sự kết dính TB với chất nền ngoại bào và các TB lân cận. Nhóm thứ nhất các sản phẩm được coi như là của oncogene người bao gồm các yếu tố tăng trưởng peptide như TGFα (yếu tố biến nạp α), FGF1 (yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi) hoặc WNT (wingless/int-1) – các mitogen đối với các TB biểu mô và trung mô. Những yếu tố này hoặc các yếu tố có liên quan khác được sản xuất quá mức bởi các carcinoma.

Các yếu tố tăng trưởng peptide gắn và kích hoạt các receptor ở màng TB như EGFR (epidermal growth factor receptor) (Hình 5.4), sản phẩm của gen ERBB1, hoặc một trong số các receptor FGF. ERBB1 biểu hiện quá mức ở các carcinoma khác nhau và thường là hệ quả của sự khuếch đại gen. Sự biểu hiện của FGFR cũng bị biến đổi ở nhiều khối u người và đặc biệt là FGFR3 lại được kích hoạt bởi các đột biến điểm trong các ung thư bàng quang và cổ tử cung. Các receptor yếu tố tăng trưởng khác như ERBB2, MET, TGFR1, KIT và RET cũng là các oncogene quan trọng trong các ung thư người. Những receptor này đều chia sẻ về cấu trúc và cơ chế tín hiệu và đã được tóm lược như các receptor tyrosine kinase (RTK - TRK). RTK kiến tạo nên một trong số các lớp oncogene lớn nhất. Tuy nhiên, một số sản phẩm của oncogene lại là các receptor thuộc các lớp khác nhau, ví dụ như các cytokine receptor.

Khi gắn yếu tố tăng trưởng với domain ngoại bào của RTK sẽ dẫn đến việc hình thành các dimer hay heterodimer receptor, ví dụ như giữa ERBB1 và ERBB2. Nó cũng gây nên sự thay đổi về cấu hình, theo đó một vòng (loop) peptide cơ chất giả (pseudosubstrate peptide loop) ở domain nội bào của receptor bị loại khỏi trung tâm hoạt động của domain tyrosine kinase nội bào. Tyrosine kinase trở nên hoạt hóa và các tiểu đơn vị receptor sẽ phosphoryl hóa lẫn nhau trong trạng thái trans. Sự biểu hiện quá mức các RTK trong các TB khối u đã giúp cho việc hình thành các dimer. Vì thế, nó gây nhạy cảm cho các TB với nồng độ thấp hơn các yếu tố tăng trưởng ligand hoặc thậm chí dẫn đến việc hoạt hóa độc lập yếu tố tăng trưởng. Các đột biến điểm của oncogene thường xảy ra ở vòng (loop) ức chế, vì thế gây nên sự hoạt hóa cấu thành của tyrosine kinase hoạt tính. Việc lắp ráp một số receptor dimer thành các phức hợp lớn hơn trong màng TB có thể xảy ra sau khi nó đi vào các endosome.

Sự tự phosphoryl hóa và phosphoryl hóa chéo của các RTK đã tạo ra các phosphotyrosine được nhận dạng bởi các protein điều biến (adaptor protein) có chứa các domain $SH_2$ gắn với các receptor kích hoạt. Các domain $SH_2$ ở các protein khác nhau đều gắn với các phosphotyrosine, nhưng việc nhận dạng chúng lại nằm ở những đoạn peptide khác nhau. Với các mức độ khác nhau, các RTK cũng phosphoryl hóa các protein khác hơn là phosphoryl hóa chính mình.

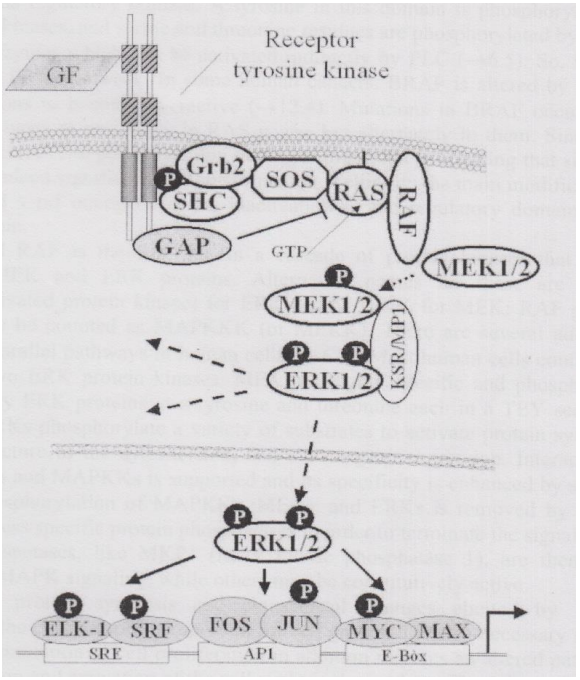
Thông thường thì có nhiều protein gắn vào một receptor do sự nhận dạng của các phosphotyrosine khác nhau. Trong phương thức này, một receptor có thể hoạt hóa một số con đường tín hiệu khác nhau. Chẳng hạn như, EGFR kích hoạt gắn với các protein điều biến GRB2 và SHC (lại gắn với GRB2), PLCγ ( phospholipase Cγ), tiểu đơn vị điều hòa của PI3K (phosphatidylinositol-3'-kinase), và GAP (GTPase activator protein).

Các phosphotyrosine là các cơ chất của tyrosine phosphatase và cũng hoạt động với tư cách là các vị trí nhận dạng các protein dẫn đến sự "nhập cuộc" (internationalization) và thoái hóa của receptor như các protein CBL. Tổ hợp lại sẽ làm giới hạn lại cường độ của các tín hiệu yếu tố tăng trưởng trong các TB bình thường và đảm bảo chắc chắn rằng các tín hiệu chỉ có tính chất nhất thời.

Đến lượt mình, các protein điều biến lại gắn với một protein khác có tên là SOS để hình thành một phức hợp có tác dụng hoạt hóa và tương tác với các protein RAS (Hình 5.7). Tất cả các protein *HRAS, KRAS hoặc NRAS* đều là các protein khoảng 21 KDa và *gắn vào bên trong màng TB* thông qua các đầu tận cuối C của chúng đã được sửa đổi sau khi tổng hợp nhờ sự myristyl hóa, farnesyl hóa và methyl hóa. Chúng thuộc đại siêu họ các protein G monomer nhỏ có thể gắn luân phiên GTP hoặc GDP. Ở trạng thái hoạt hóa thì gắn với GTP. Thủy phân GTP thành GDP nhờ sự tác động tổ hợp của RAS và protein GTPase activator (GAP) hoàn nguyên lại trạng thái bất hoạt. Bình thường thì sự hoạt hóa RAS phụ thuộc vào việc tương tác với SOS tác động với tư cách

là yếu tố trao đổi nucleotide guanine (guanine nucleotide exchange factor – GEF) tải protein RAS có GTP thay vì GDP. Trạng thái hoạt hóa của các protein RAS bình thường tồn tại rất ngắn vì các RTK đi song song với việc SOS GEF kích hoạt GAP kích thích sự thủy phân GTP. Tuy nhiên, các đột biến amino acid của RAS ở các vị trí 12,13 hoặc 61 bao quanh vị trí gắn GTP đã làm cản trở việc ra vào của các protein GAP và trở thành trạng thái kích hoạt..

RAS là điểm nhánh tiếp theo trong mạng lưới tín hiệu được mô tả ở đây vì RAS kích hoạt sẽ tác động lên một số con đường gây ảnh hưởng tới sự tổng hợp protein, bộ xương TB và sự sống sót của TB, đáng chú ý là con đường PI3K.




***Hình 5.7*** *Con đường MAPK chủ chốt*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

*Con đường chính mà RAS chuyển tín hiệu gia tăng TB là thông qua sự tương tác với protein RAF*. Ba protein RAF trong các TB người là các Ser/Thr protein kinase. Cũng giống như nhiều protein kinase khác, chúng có chứa một domain điều hòa và một domain xúc tác đầu cuối C. Ở trạng thái bất hoạt, các gốc protein ở bào tương và sự hoạt động của kinase bị ngăn cản bởi domain điều hòa. *RAS kích hoạt sẽ chuyển RAF tới màng TB và làm giảm sự ức chế của domain điều hòa*. Điều thú vị là, hoạt tính của RAF cũng được điều tiết bởi sự phosphoryl hóa đoạn $CR_2$ trong domain điều hòa của nó. Tyrosine trong domain này bị phosphoryl hóa bởi các kinase họ SRC, các gốc Serine và Threonine thì bị phosphoryl hóa bởi protein kinase C izozyme có thể được hoạt hóa gián tiếp qua PLC. Do vậy, đây là các mối liên lạc khác trong mạng lưới này. Trong một số ung thư người, BRAF bị biến đổi vì các đột biến điểm mà trở nên hoạt hóa quá mức. Các đột biến ở BRAF xảy ra ở một số khối u cũng giống như các đột biến xảy ra ở các gen RAS. Vì các protein RAS tác động lên một số con đường nên sự phát hiện này rất quan trọng để chứng minh rằng tín hiệu thông qua RAF là thực sự quan trọng đối với sự biến nạp. Đáng chú ý là, sự sửa đổi chủ yếu ở các oncogene v-raf retrovirus là làm bất hoạt domain điều hòa của protein tế bào.

*RAF kích hoạt là thành viên đầu tiên trong thác protein kinase,* ngoài ra thác này còn có các protein **MEK và ERK.** Các protein này còn có các tên khác như MAPK (mitogen-activated protein kinase) cho ERK và MAPKK cho MEK. Các protein RAF vì

thế có thể được coi như là MAPKKK hoặc MEKK. Có một số con đường song song MEKK bổ sung (phụ) ở các TB người. Hầu hết các TB người đều có chứa 2 protein kinase là MEK và ERK. MEK có tính đặc hiệu cao và phosphoryl hóa chủ yếu các protein ERK tại tyrosine và threonine trong trình tự TEY. ERK kích hoạt thì phosphoryl hóa nhiều cơ chất để hoạt hóa sự sinh tổng hợp protein, biến đổi cấu trúc khung TB và cảm ứng biểu hiện gen. Sự tương tác của MEK, ERK và MAPKK được hỗ trợ bởi các protein và tính đặc hiệu của nó được tăng cường nhờ các protein sàn (scaffold protein). Sự phosphoryl hóa MAPKK, MEK và ERK sẽ bị loại bỏ bởi một số protein phosphatase đặc hiệu và ít đặc hiệu kết thúc tín hiệu. Một số phosphatase khác như MKP1 (MAP kinase phosphatse 1) cũng được hoạt hóa bởi tín hiệu MAPK, trong khi đó các tín hiệu khác lại hoạt hóa cấu thành.

Tăng sinh tổng hợp protein và thay đổi khung TB xuất phát từ các tín hiệu MAPK ở tế bào chất là rất quan trọng đối với sự tăng trưởng TB và cũng rất cần thiết cho sự dịch chuyển của TB. Đối với việc kích thích tăng sinh TB thì ngoài việc đòi hỏi phải thay đổi mô hình biểu hiện gen lại cần phải hoạt hóa chu kỳ TB ở trong nhân. Tín hiệu phân bào từ các yếu tố tăng trưởng cần để biến đổi sao chép, phần lớn được chuyển tiếp bởi thác tín hiệu MAPK. Các ERK kích hoạt sẽ phosphoryl hóa một số yếu tố sao chép (Hình 5.7) một cách trực tiếp hoặc kích thích các protein kinase khác như $p90^{RSKI}$ để thực thi nhiệm vụ đó. Điều này làm cảm ứng sao chép một lượng gen lớn hơn sau đó lại được tổ chức như một thác mạng lưới trong nhân.

Bộ gen đầu tiên gây cảm ứng sự hoạt hóa con đường MAPK bởi các yếu tố tăng trưởng trong các TB "nghỉ ngơi" trước đây là các gen *"đáp ứng sớm*". Điều đó có nghĩa là chúng bị cảm ứng bởi việc xử lý các TB yên lặng (quiescent cells) khi nuôi cấy TB với các yếu tố tăng trưởng hay huyết thanh. Trong số chúng có một số nằm trong danh sách các oncogene như **FOS, JUN, MYB và MYC**. Quan trọng nhất trong số những gen ung thư người này là MYC thường bị hoạt hóa bởi biểu hiện quá mức hoặc mất điều hòa và vì thế mà trở nên hoạt hóa không cần tín hiệu yếu tố tăng trưởng. Như một qui luật, FOS, JUN và MYB là rất cần thiết cho sự tăng trưởng ung thư người, nhưng nói một cách chính xác thì dường như chúng không thường xuyên tác động với tư cách là các oncogene. Cũng chưa rõ hoàn toàn là tại sao nó lại như thế. Nhưng có điều chắc chắn là các đối tác của gen này biến đổi và biểu quá mức một cách phi thường. Thực sự thì, việc biểu hiện quá mức các protein như FOS hoặc JUN cũng gây cảm ứng apoptosis trong một số TB người.

Theo sau sự cảm ứng của chúng, các sản phẩm của gen "đáp ứng sớm" lại cảm ứng sự biểu hiện của các gen cần cho sự tiến triển chu kỳ TB một cách trực tiếp hay gián tiếp. Ở các TB bình thường một trong số các protein quan trọng nhất gắn với tín hiệu phân bào để điều hòa chu kỳ TB là *cyclin D1* – sản phẩm của gen CCND1. Sự biểu hiện quá mức của Cyclin D1 do khuếch đại gen hay chuyển vị của CCND1 là rất quan

trọng đối với một số ung thư người khác nhau. Tuy nhiên, cyclin D1 thường biểu hiện quá mức nhưng gen của nó lại không có biến đổi gì. Có khả năng đây là hệ quả của sự đột biến "thượng nguồn" trong con đường MAPK. Sự biểu hiện quá mức của nó (một phần) qua trung gian hiệu ứng sinh ung thư của những biến đổi này. Gen liên quan CCDN2 được biểu hiện trong một số giới hạn hơn các mô hơn là CCDN1. Có điều rất phù hợp là sự biểu hiện quá mức và sự khuếch đại của gen này lại xảy ra một cách giới hạn hơn trong các khối u người, ví dụ như chỉ nổi bật trong các ung thư tinh hoàn. Các D-cyclin hoạt hóa kinase phụ thuộc cyclin thúc đẩy tiến triển chu kỳ TB. Sự khuếch đại và biểu hiện quá mức của CDK4 cũng quan sát thấy trong các ung thư người như u thần kinh đệm và u gan.

Kết cục, tín hiệu sinh lý học cho sự tăng sinh TB lại đòi hỏi phải đi song song một tín hiệu sự sống sót TB bởi cùng một yếu tố tăng trưởng và receptor của nó hoặc bởi một con đường bổ sung. Chẳng hạn như, các yếu tố tăng trưởng giống insulin cũng kích thích thác MAPK nhưng lại trao cho một tín hiệu sống sót mạnh hơn được trung gian qua PI3K. Vì thế, việc biểu hiện quá mức các yếu tố tăng trưởng giống insulin IGF1 và IGF2 cũng như PI3K và kinase AKT ở hạ nguồn của nó phải được xem như là một sự kiện sinh ung thư ở nhiều ung thư người. Còn một cách khác, sự chết TB do apoptosis được coi như là hệ quả của sự kích thích không thích hợp sự tăng sinh TB, có thể được ngăn chặn bằng cách biểu hiện quá mức các protein sinh ung thư như BCL2. Đây là một sự kiện quan trọng trong bệnh u nang lympho (follicular lymphoma), nhưng sự thay đổi như thế này hoặc tương đương cũng phát hiện thấy ở các ung thư huyết khác cũng như nhiều carcinoma. Sự đồng bộ giữa oncogene kích thích tăng sinh TB và oncogene ngăn chặn apoptosis được cảm ứng bởi sự kích thích này đã rõ ràng ở nhiều ung thư người, minh bạch nhất là trong các u lympho xác định. Đây là một ví dụ khác về sự hợp tác giữa các oncogene.

Vì các ung thư người tích lũy nhiều biến đổi di truyền và biến đổi epigenetic trong quá trình tiến triển của chúng nên trong một ung thư điển hình thì nhiều gen được biểu hiện quá mức và nhiều sản phẩm của chúng được hoạt hóa quá mức và một số còn biểu lộ các đột biến. Nhiều gen này cũng có thể quan trọng về mặt chức năng và chúng đã thúc đẩy tăng trưởng khối u. Thật là hấp dẫn khi xem xét tất cả các gen thuộc thể loại này với tư cách là oncogene, đặc biệt là nếu nó bộc lộ ra các tính chất hóa sinh thích đáng như hoạt tính của một protein kinase hay sự liên kết DNA. Tuy nhiên, trong ngữ cảnh ung thư người thì phải hết sức thận trọng. Sở dĩ như vậy là vì nhiều ung thư đã phát triển qua một thời kỳ rất dài với nhiều hiển thị về sự bất ổn định hệ gen và/hoặc tăng tỷ lệ các đột biến điểm. Như một hệ quả, có thể có một lượng lớn các gen có những biến đổi trong các trình tự của chúng và số lượng những biến đổi này trong một dòng khối u xác định chắc chắn là dư thừa rất nhiều so với yêu cầu cho sự tăng trưởng của nó.

## *TÓM TẮT*

❖ *Nhóm thứ nhất các gen ung thư đã được phát hiện trong những hệ gen của các retrovirus biến nạp cấp, gây nên các ung thư máu hoặc ung thư mô mềm ở các vật chủ của chúng là động vật có vú hay gia cầm. Chúng tác động với cách thức trội và làm biến đổi các đặc tính tăng trưởng cũng như hình thái học trên các TB đích đặc hiệu ở trung mô hoặc hệ thống tạo máu.*

❖ *Nhóm thứ 2 các gen ung thư bao gồm các tiền gen ung thư của vật chủ (host ptoto-oncogene), nó trở nên hoạt hóa khi được cài thêm vào các retrovirus biến nạp chậm làm gián đoạn sự điều hòa của chúng.*

❖ *Chèn retrovius chỉ là một trong số các cơ chế có thể hoạt hóa các tiền gen ung thư thành gen ung thư tác động trội. Các cơ chế khác bao gồm chuyển vị NST, khuếch đại gen và đột biến điểm. Những cơ chế này làm biến đổi sự điều hòa và/hoặc chức năng của các TB qua đó mà kích hoạt từ tiền gen ung thư thành gen ung thư. Như một hệ quả của những sự biến đổi này, các sản phẩm protein của chúng trở nên biểu hiện quá mức hoặc mất điều hòa và/hoặc trở nên hoạt hóa quá mức hoặc định vị sai trong tế bào.*

❖ *Các gen ung thư (oncogene) của các retrovirus biến nạp cấp trên thực tế cũng bắt nguồn từ các gen của vật chủ và trở nên mất điều hòa hoặc hoạt hóa quá mức do biểu hiện các lặp cuối dài của retrovirus và do các đột biến. Một số gen như NRAS, KRAS, ERBB1 và MYC tương đồng với oncogene virus "bật lên" sự biểu hiện quá mức hoặc gây đột biến trong các ung thư người. Các trình tự gen tương đồng (ortholog) tế bào của các oncogene retrovirus khác thì có sự liên quan tinh tế hơn trong các ung thư người.*

❖ *Nhiều gen tiền ung thư điều hòa sự tăng sinh, sự biệt hóa TB cũng như sự sống sót của chúng ở trạng thái bình thường. Một số thì tác động với tư các là các yếu tố tăng trưởng ngoại bào, một số lại như các receptor và một số là các yếu tố thích nghi (adaptor) hay yếu tố chuyển đổi (transducer) màng TB trong các thác tín hiệu xuất phát từ các receptor yếu tố tăng trưởng hay các receptor màng. Một lớp lớn các sản phẩm của gen tiền ung thư là các protein kinase. Chúng bao gồm các receptor yếu tố tăng trưởng có hoạt tính tyrosine kinase chính yếu. Các kinase khác thì định vị ở tế bào chất. Một nhóm lớn khác các tiền gen ung thư bao gồm các yếu tố sao chép hoạt động trong nhân. Do vậy, các oncogene có thể được xếp loại theo sự định vị TB và/hoặc các chức năng hóa sinh của chúng. Thực sự là, một số lượng vô cùng lớn các gen tiền ung thư thực hiện chức năng tương tác với các mạng lưới tín hiệu đơn, cốt lõi là thác MAP kinase phân bào, nó gắn với yếu tố tăng trưởng báo hiệu sự sao chép ở nhân trong chu kỳ TB, tuy nhiên nó cũng ảnh hưởng tới sự sinh tổng hợp protein và bộ khung tế bào.*

❖ *Tín hiệu yếu tố tăng trưởng và thác MAPK được điều tiết rất chặt chẽ trong các TB bằng điều hòa thông tin phản hồi (feed back) và bằng đời sống bán phần ngắn (short half-life) của các trạng thái kích hoạt. Các đột biến oncogene làm cho các protein oncogene phụ thuộc vào các tín hiệu đầu vào, làm gián đoạn điều hòa thông tin phản hồi hoặc kéo dài trạng thái kích hoạt của chúng.*

❖ *Có một số rất ít trường hợp trong đó các oncogene đơn (single oncogene) đã đủ hiệu lực để biến nạp hoàn toàn một tế bào trở thành ác tính. Hơn nữa, một oncogene đơn cũng đã "ban tặng" một số diện mạo kiểu hình ác tính và hợp tác với các gen khác hay làm khiếm khuyết sự kiềm chế khối u để hoàn tất sự biến nạp. Mối quan hệ này đã vẽ lên bức tranh về các hệ thống phân tích tế bào như nguyên bào sợi phôi chuột, trong đó sự biến nạp đòi hỏi phải có tới 2 dạng oncogene khác nhau.*

❖ *Các ung thư người, trong qua trình tiến tiển nó tích lũy rất nhiều biến đổi di truyền và biến đổi epigenetic. Ở một dạng ung thư điển hình thì có nhiều gen biểu lộ quá mức và cũng có nhiều gen hoạt hóa quá mức. Tuy nhiên, chỉ có một phần rất nhỏ trong số này là cần cho sự sống sót và duy trì tăng trưởng ung thư. Do vậy, chúng cũng được coi là các oncogene. Như vậy, định nghĩa chặt chẽ hơn thì một oncogene phải bộc lộ đầy đủ những đặc tính giống nhau này, còn việc biểu hiện quá mức hay kích hoạt quá mức của nó là do những biến đổi lớn trong gen, tức là do đột biến hay khuếch đại gen.*

# CHƯƠNG VI: CÁC GEN KIỀM CHẾ KHỐI U

## 6.1. CÁC GEN KIỀM CHẾ KHỐI U TRONG CÁC UNG THƯ DI TRUYỀN

Như đã đề cập ở trên, một số hội chứng di truyền lặn gây nên bởi các khiếm khuyết trong gen sửa chữa DNA có liên quan tới việc làm gia tăng nguy cơ ung thư thường là bệnh bạch cầu và u lympho (Bảng 5.2). Các hội chứng ung thư khác được di truyền lại ở thể trội. Hầu hết các hội chứng này chỉ thiên về một số ít ung thư thậm chí là một dạng khối u đơn.

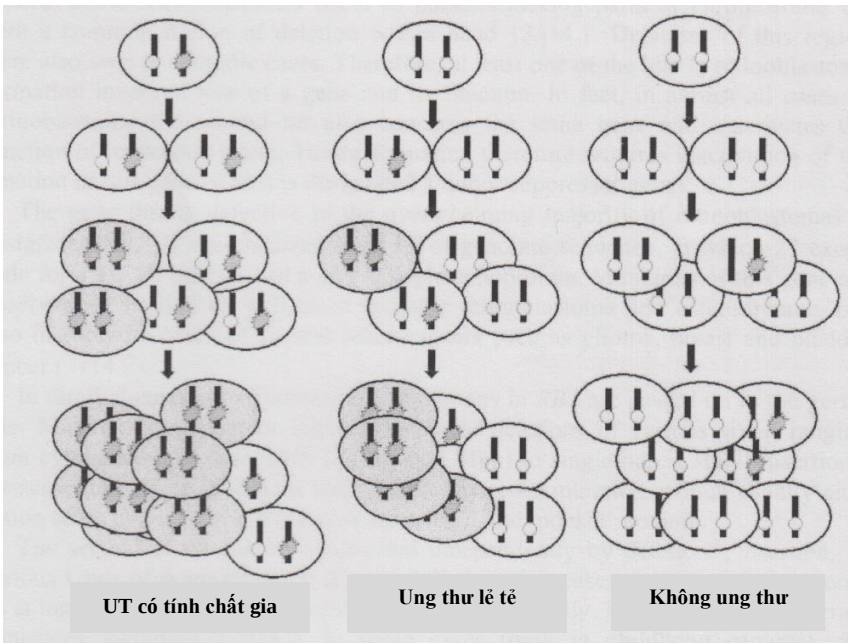
**Bảng 6.1** *Một số hội chứng ung thư di truyền trội ở người*

| Hội chứng | Gen | Định vị | Vị trí ung thư | Chức năng |
|---|---|---|---|---|
| U nguyên bào võng mạc | RB1 | 13q14 | Mắt, xương | Người gác cổng |
| Li-Fraumeni | TP53 | 17p13.1 | Nhiều cơ quan | Người chăm sóc |
| Ung thư tụy và melanoma di truyền | CDKN2A | 9p21 | Da, tụy | Người gác cổng |
| Polyp coli adenoma có tính chất gia đình | APC | 5q21 | Kết tràng, trực tràng | Người gác cổng |
| Cowden | PTEN | 10q23.3 | Nhiều cơ quan | Người gác cổng |
| Gorlin | PTCII | 9p22 | Da, não | Người gác cổng |
| Von Hippel-Lindau | VHL | 3p25 | Thận, tuyến thượng thận | Người gác cổng |
| Ung thư vú và buồng trứng di truyền | BRCA1 | 17q21 | Vú, buồng trứng | Người chăm sóc |
| | BRCA2 | 13q12 | | |
| HNPCC | MLH1 | 3p21 | Kết tràng | Người chăm sóc |
| | MSH2 | | Nội mạc tử cung, dạ dày | |
| Đa ung thư nội tiết type II | RET | 10q11.2 | Tuyến giáp và các tuyến nội tiết khác | Oncogene |
| Ung thư thận di truyền | MET | 7q31 | Thận | Oncogene |

Thường thì những hội chứng này thâm nhập cao và nguy cơ về thời gian sống của ung thư có thể tới mức 100%. Với tính cách là một đặc trưng phụ, các bệnh nhân ung thư có tính chất gia đình thường phát triển ung thư ở lứa tuổi trẻ hơn đáng kể so với các trường hợp "lẻ tẻ" khác. Do vậy, hầu hết các ung thư lẻ tẻ thuộc vú hoặc kết tràng thường gặp trên bệnh nhân ở các lứa tuổi 60 hoặc 70. Ngoài ra, các bệnh nhân bị ung thư di truyền lại có thể phát triển nhiều hơn các thể ung thư khác nhau. Rõ ràng nhất là trong các ung thư thuộc các cơ quan như vú, thận hoặc mắt. Các bệnh nhân với FAP

hoặc HPRCC có thể có tới "hàng ngàn" u riêng biệt ở trong ruột hoặc thận. Đã có nhiều giải thích về mặt lý thuyết những đặc tính này của các ung thư di truyền và sau này những thí nghiệm đã khẳng định rằng u nguyên bào võng mạc có thể được di truyền.

U nguyên bào võng mạc là một loại u hiếm, xảy ra ở trẻ nhỏ. Ở đây, các nguyên bào lưới – nguyên bào võng mạc (retinoblast) không được biệt hóa hoặc biệt hóa không hoàn toàn, tạo nên một khối TB mở rộng phía sau mắt. Tỷ lệ bệnh này nói chung khoảng 1:20000 trẻ, nhưng trong một số gia đình trung bình có tới 2 trẻ bị ảnh hưởng, đây có thể là một bệnh di truyền trội NST thường. Những trường hợp liên quan tới các tổ chức kép là cực kỳ hiếm ngoài các gia đình u nguyên bào võng mạc. Thậm chí, tất cả các bệnh nhân mắc bệnh này dù là những người trẻ thì tuổi trung bình biểu hiện ung thư cũng thấp hơn so với những trường hợp có tính chất gia đình. U nguyên bào võng mạc được phát hiện và có thể được xử lý bằng phẫu thuật từ thế kỷ 19. Các bác sĩ phẫu thuật thời đó đã lưu ý rằng những bệnh nhân u nguyên bào võng mạc đã được cứu chữa sau này vẫn có xu hướng phát triển các ung thư khác, đặc biệt là ung thư xương (osteosarcoma) và con cái của họ cũng có xu hướng phát triển bệnh đó. Dựa trên các số liệu thống kê tổng hợp, trong những năm đầu của 1970, mô hình về bệnh này đã được Knudson phát triển.




**Hình 6.1** *Mô hình Knudson về u nguyên bào võng mạc*

Phía bên phải: Một đột biến đơn (biểu thị bằng ngôi sao nổ bùng) không đủ để gây nên ung thư. Điều này đòi hỏi thêm một sự kiện hiếm nữa là một đột biến thứ hai trong cùng một dòng tế bào (chính giữa). Vì trong các trường hợp ung thư di truyền thì đột biến thứ nhất đã sẵn có ở dòng tế bào mầm (trái) nên các ung thư thường xảy ra thậm chí ở cả mắt.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Mô hình Knudson (Hình 6.1) giả định rằng, sự phát triển của u nguyên bào võng mạc (UNBVM) đòi hỏi phải có 2 cú hích (đột biến) trong một TB để hình thành một dòng TB khối u khởi đầu. Trong những trường hợp ung thư di truyền thì một trong số hích này đã xảy ra ở các gia đình chịu ảnh hưởng. Sự phát triển của UNBVM sau đó phụ thuộc vào một đột biến đơn xảy ra ở bất kỳ TB nào trong thời kỳ quan trọng khi nguyên bào võng mạc tăng sinh trong quá trình phát triển thai nhi. Xác suất một đột biến trong một gen người chuyện biệt là $10^{-6}$ – $10^{-7}$/thế hệ tế bào. Do đó, rõ ràng là phải xảy ra một hoặc một vài đột biến mới dẫn đến một hoặc nhiều hơn một UNBVM. Nếu không có đột biến nào được di truyền lại thì lại đòi hỏi phải có 2 đột biến ở 2 tế bào trong cùng một dòng. Xác suất cho ngẫu nhiên kép này là rất thấp, thậm chí nó không xảy ra dù chỉ một lần trong một người. Như vậy, trong những trường hợp có tính chất gia đình thì các khối u rất có khả năng phát triển nhanh hơn (bởi vì sự mở rộng của chúng đã bắt đầu ngay sau cú hích thứ nhất) và chúng có thể là các cơ quan kép, trong khi đó ở những trẻ em không có allele khiếm khuyết di truyền thì sự hình thành u thường ít hơn nhiều, muộn hơn và hầu hết không bao giờ ở nhiều nơi.

Mô hình lý thuyết này cho tới nay không giả định là gen bị ảnh hưởng bởi hích 1 và hích 2. Chúng có thể là 2 allele của cùng một gen hoặc một allele của mỗi gen khác nhau. Tuy nhiên, mô hình này đòi hỏi là các gen phải ứng xử theo cách lặn ở mức tế bào. Vì các oncogene tác động trong phương thức trội nên mô hình này đã xác định được một loại gen khối u khác đã trải qua sự bất hoạt trong các ung thư. Thực sự thì một số UNBVM đã xảy ra ở những bệnh nhân thiếu các bộ phận của nhiễm sắc thể số 13 với một vùng đứt đoạn thông thường ở band 13q14.1. Những đứt đoạn của vùng này cũng thấy ở các trường hợp lẻ tẻ. Vì thế, ít nhất một trong những cú hích trong sự hình thành UNBVM phải liên quan đến việc mất một gen và các chức năng của nó. Trên thực tế, trong hầu hết các trường hợp của UNBVM thì cú hích thứ 2 cũng liên quan tới cùng một gen và việc bất hoạt chức năng allele thứ 2 của nó. Sự hình thành khối u vì thế đòi hỏi phải làm bất hoạt chức năng của gen này (được thiết kế là *gen kiềm chế khối u).*

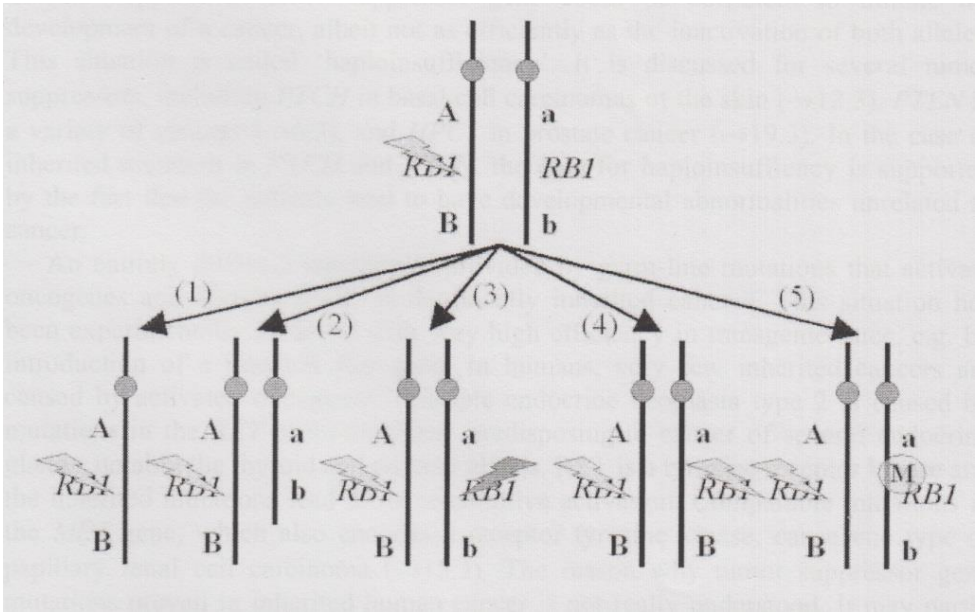
Gen khiếm khuyết trong đại đa số UNBVM là RB1. Nó bao gồm một trình tự hệ gen khoảng 180 Kb, trong đó 27 exon mã hóa cho một mRNA 4,7 Kb và một phosphoprotein 110kDa. Những đột biến của gen này quan sát thấy trong các UNBVM có tính chất gia đình cũng như UNBVM lẻ tẻ, tuy nhiên cũng thấy ở một số ung thư rải rác như u thần kinh đệm, ung thư vú, ung thư bàng quang.

Trong những trường hợp UNBVM có tính chất gia đình, những đột biến ở RB1 xảy ra ở dòng mầm. Những đột biến ở những gia đình khác nhau bao gồm các đứt đoạn với các kích cỡ khác nhau từ mức có thể phát hiện được bằng di truyền tế bào (vài Mbp) đến từng base đơn. Việc cài thêm các đoạn nhỏ, các đột biến vô nghĩa và đột biến do

ghép nối, các đột biến sai nghĩa (missense) đặc hiệu thường làm biến đổi các amino acid ở phần trung tâm của protein – domain "pocket".

Allele thứ 2 có thể bị bất hoạt một cách độc lập do đứt đoạn, chèn thêm hoặc các loại đột biến điểm khác (Hình 6.2). Trong một số ít trường hợp, toàn bộ NST số 13 bị mất đi, ví dụ do không phân ly trong phân bào, đứt đoạn lớn làm xóa đi các trình tự trong đó có cả 13q14.1. Trong một số trường hợp (chỉ trong các ung thư trẻ em), nếu allele thứ 2 không còn nguyên vẹn thì nó không được sao chép do hệ quả của việc cường methyl hóa promoter RB1.

Một cơ chế quan trọng khác liên quan tới việc thay thế một allele nguyên vẹn bằng một bản sao khiếm khuyết. Điều này một lần nữa có thể xảy ra theo một số cách khác nhau. Trong một số trường hợp, tế bào có chứa 2 NST số 13 giống hệt nhau có thể do nhân đôi một NST còn lại sau khi NST khác đã bị mất đi hoặc do phân bố nhầm các NST trong quá trình phân bào. Trong những trường hợp khác, sự tái tổ hợp giữa 2 NST khác nhau dẫn đến việc thay thế những vùng lớn hơn hoặc nhỏ hơn một NST bởi các trình tự từ các NST khác và đặc biệt là việc chuyển đổi RB1 nguyên vẹn thành một bản sao khiếm khuyết.




**Hình 6.2** *Các cơ chế gây bất hoạt allele RB1 thứ 2*

(1) Mất NST 13 mang allele nguyên vẹn; (2) Đứt đoạn; (3) Đột biến độc lập; (4) Tái tổ hợp; (5) Cường methyl hóa promoter; Các cơ chế (1), (2) và (4) có liên quan với LOH. Allele đột biến đầu tiên được đánh dấu như hình tia chớp.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Một số cơ chế kể trên, đặc biệt là cơ chế đứt các đoạn lớn hơn và tái tổ hợp không đều nhau hoặc tái tổ hợp sau khi mất NST đã làm cho các TB không những thiếu allele chức năng của gen kiềm chế khối u RB1 mà còn xóa đi những sự khác biệt khác giữa 2 bản sao NST. Như vậy, đa hình trong các nucleotide đơn (SNP) hoặc trong các trình tự của microsatellite sẽ bị biến mất khi các trình tự dị hợp tử trở thành đồng hợp tử (Hình 6.2). Quá trình này được gọi là *sự mất dị hợp tử (LOH)*. Như vậy, các vùng đánh dấu của LOH trong hệ gen khối u là nơi có các đứt đoạn hoặc xảy ra tái tổ hợp không đúng luật. Vì những quá trình này thường liên quan tới sự bất hoạt của các gen kiềm chế khối u nên việc quan sát LOH thích hợp tại một vùng của một dạng khối u cá biệt có thể được sử dụng như là một dấu hiệu cho sự hiện diện của gen kiềm chế khối u.

Nhiều chất kiềm chế khối u khác cũng rất phù hợp với mô hình Knudson (Bảng 6.1). Trong số đó có APC trong carcinoma kết tràng, VHL trong carcinoma tế bào thận và CDH1 trong carcinoma dạ dày. Những chất kiềm chế khối u khác cũng theo mô hình này ít nhất là một phần. Do vậy, BRCA1 và BRCA2 ứng xử theo mô hình này ở các ung thư buồng trứng và ung thư vú di truyền, nhưng hiếm khi liên quan đến các trường hợp lẻ tẻ. Trường hợp trái ngược thì phổ biến hơn, ví dụ một số gen kiềm chế khối u không bao giờ đột biến ở dòng mầm, nhưng cả hai bản sao lại bất hoạt trong các ung thư. Nói cách khác là, không phải tất cả các ung thư thông thường ở người đều xảy ra ở dạng di truyền. Có thể tưởng tượng rằng, chỉ cần đột biến một bản sao của một gen kiềm chế khối u cũng đủ để khởi đầu cho sự phát triển một ung thư, mặc dù không hiệu quả như khi bất hoạt cả 2 allele. Tình trạng này được gọi là *"hapolinsufficiency*". Vấn đề này đã được đề cập trong phần một số chất kiềm chế khối u bao gồm PTCH trong carcinoma tế bào đáy của da, PTEN trong các ung thư khác nhau và HPC1 trong ung thư tuyến tiền liệt. Trong trường hợp đột biến di truyền ở PTCH và PTEN thì hapolinsufficiency cũng được ủng hộ bởi một thực tế là các bệnh nhân đều có xu hướng phát triển những bất bình thường nhưng không liên quan gì tới ung thư.

Một tình trạng hoàn toàn khác do *các đột biến dòng mầm làm hoạt hóa các oncogene* và vì thế mà sinh ra các *ung thư di truyền trội*. Tình trạng này đã đạt được trong thực nghiệm với hiệu ứng cao trên chuột chuyển gen, ví dụ như đưa vào chuột một gen Ras đột biến. Ở người thì rất ít ung thư di truyền do các oncogene kích hoạt. Đa ung thư nội tiết (endocrine neoplasia) type 2 là do các đột biến ở tiền gen ung thư RET mở đường cho ung thư một số tuyến nội tiết, đáng chú ý là tuyến giáp và tuyến thượng thận. RET là một tyrosine receptor kinase và các đột biến di truyền sẽ dẫn đến việc hoạt hóa cấu thành của nó. Có thể so sánh các đột biến ở gen MET, nó cũng mã hóa cho receptor tyrosine kinase, gây nên một dạng carcinoma tế bào thận (papillary renal cell carcinoma). Lý do tại sao các đột biến của gen kiềm chế khối u lại chiếm ưu thế trong các ung thư di truyền người thì vẫn chưa thật rõ. Điều đó có thể phản ánh phần nào về

sự bảo vệ tốt hơn của các TB người kháng lại sự biến nạp oncogene so với các tế bào loài gặm nhấm hoặc sự nhạy cảm rõ rệt đối với các oncogene đột biến trong quá trình phát triển của con người.

## 6.2. RB1 VÀ CHU KỲ TẾ BÀO

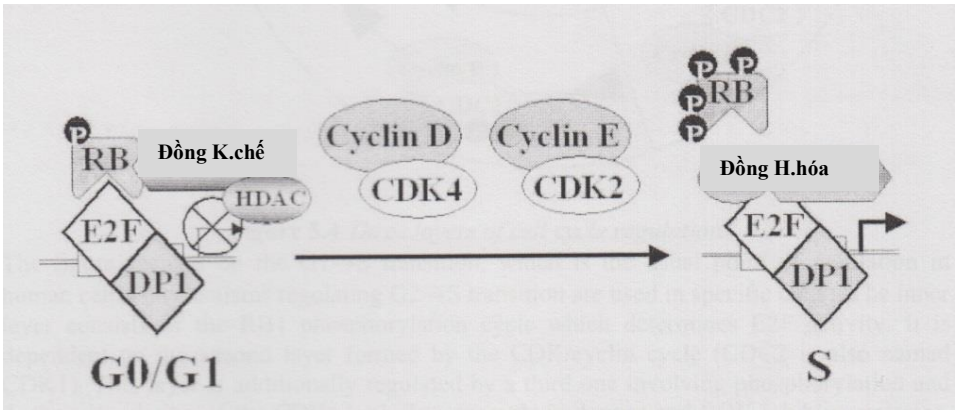
Sản phẩm của gen RB1, $pp110^{RB1}$ hầu hết đều là chất điều hòa chủ chốt chu kỳ TB (Hình 6.3). Protein RB1 kiểm soát quá trình chuyển đổi từ phase G1 sang phase S bằng cách gắn với các protein E2F1, E2F2 hoặc E2F3 vì thế mà kiềm chế các promoter của các gen cần để đi vào phase S. Sự kiềm chế này là nhẹ và việc gắn với E2F sẽ giảm bớt khi $pp110^{RB1}$ trở nên cường phosphoryl hóa hướng tới kết thúc G1. Cần ít nhất 2 sự phosphoryl hóa để làm bất hoạt RB1. Bình thường thì phosphoryl hóa đầu tiên được thực hiện bởi một CDK4/cyclin D holoenzyme và theo sau là một phosphoryl hóa khác do CDK2/cyclin E holoenzyme thực hiện. RB1 cường phosphoryl hóa bị bất hoạt có liên quan tới việc điều hòa chu kỳ TB giai đoạn G1/S. Protein này cũng có chức năng ở phase S, tại đây nó có liên quan tới việc tổ chức chất nhiễm sắc (chromatin), và trong quá trình phân bào thì nó có thể trợ giúp cho việc tổ chức các protein cần cho sự phân chia NST. Sau phân bào, RB1 bị dephoshoryl hóa một phần và trạng thái hypophoshoryl hóa lại được hoàn nguyên. Trong cách thức này, RB1 có sự chuyển đổi giữa các trạng thái hypo và hyper - phoshoryl hóa trong chu kỳ tế bào.

Vì thế, rõ ràng là khi mất chức năng RB1 ở mức thấp nhất đã làm phá rối sự điều hòa chu kỳ TB và có thể dẫn đến sự tăng sinh TB không hạn chế. Đặc biệt khi vắng mặt các tế bào RB1 chưa trưởng thành như các nguyên bào võng mạc thì có thể do chúng chưa dành đủ thời gian để đi vào trạng thái biệt hóa hoặc thiết lập một sự yên lặng ổn định, nghĩa là dừng ở phase G0. Tệ hơn nữa là, vì RB1 cũng có thể là nhu cầu đối với cấu trúc chất nhiễm sắc đặc biệt và sự phân chia NST nên các TB có thể có khuynh hướng trở nên bất ổn hệ gen và kèm thêm các biến đổi phụ giúp cho các khối u tiến triển. Ít nhất là có một cơ chế bảo vệ có thể kháng lại sự mất chức năng RB1, đó là sự hoạt động quá mức các yếu tố E2F, đặc biệt là E2F1 có thể cảm ứng apoptosis.

Cơ chế điều hòa chu kỳ TB đã được phác thảo cho tới nay sự thực là quá phức tạp và bao hàm một số lớp kiểm soát, ngay cả khi chỉ xem xét sự chuyển đổi từ G1 tới S (Hình 6.4). Hoạt tính của protein kinase CDK4 và CDK2 phụ thuộc nghiêm ngặt vào sự hiện diện của các tiểu đơn vị điều hòa, ví dụ như D-cyclin và cyclin E. Cả 2 chất này đều dao động thất thường với phương thức phối hợp trong tiến trình chu kỳ TB. Việc biểu hiện của cyclin D phụ thuộc trực tiếp vào sự kích thích bởi các tín hiệu bên ngoài như các yếu tố tăng trưởng. Tuy nhiên, các CDK chỉ được hoạt hóa nếu chúng được phosphoryl hóa theo một mô hình xác định. Sự phosphoryl hóa ở gốc threonine đặc hiệu bởi CDK sẽ làm hoạt hóa kinase (CAK, giống hệt CDK7) trong việc kết hợp với tiểu

đơn vị điều hòa của nó là cyclin H hoạt hóa, trong khi đó nếu phosphoryl hóa ở 2 threonine khác lại gây ức chế. Các nhóm phosphate ở những vị trí này sẽ được loại bỏ nhờ các CD25 phosphatase, cũng đáp ứng với các tín hiệu bên ngoài.

Một lớp kiểm soát khác được tạo nên bởi các protein ức chế CDK (Bảng 6.2). Có 2 lớp chất ức chế như thế là protein CIP/KIP và INK. Lớp thứ nhất bao gồm các protein $p21^{CIPI}$, $p27^{KIPI}$ và $p57^{KIPI}$, lớp thứ hai bao gồm $p15^{INK4B}$, $p16^{INK4A}$, $p18^{INK4C}$ và $p19^{INK4D}$. Cho đến nay, các gen của chúng được biểu thị lần lượt là CDKN1A-CDKN1C và CDKN2A-CDKN2D. Tất cả những protein này đều được đặt tên theo trọng lượng phân tử của chúng. Chức năng của protein INK4 (chất ức chế của kinase 4) thì đã rõ ràng, chúng cạnh tranh với D- cyclin trong việc liên kết với CDK4 và ngăn chặn hoạt tính kinase của nó.

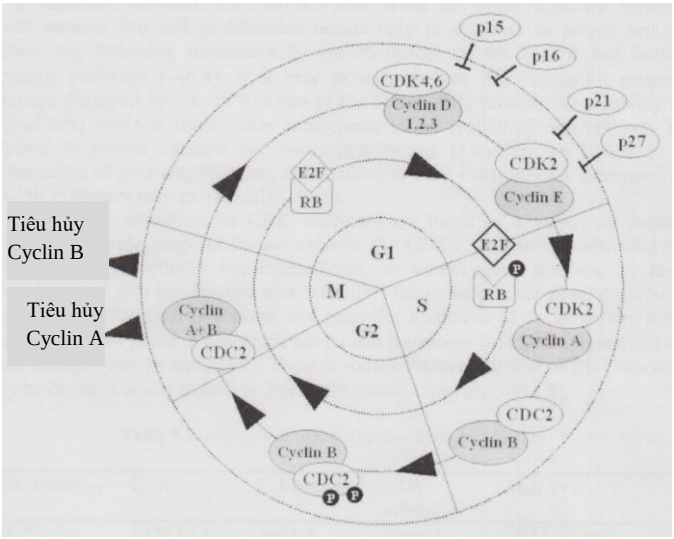



**Hình 6.3** Chức năng của RB1 trong điều hòa chu kỳ tế bào

DPI là một cặp đôi heterodimer của các protein E2F; HDAC: histone deacetylase; HAT: histone acetyl transferase.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Chức năng của các protein CIP/KIP (CDK/protein ức chế kinase) khá phức tạp. Ở nồng độ cao thì chúng ức chế sự hoạt động của các CDK nói chung, nhưng khác với các INK là chúng lại ngăn cản CDK-cyclin holoenzyme. Ở các nồng độ điều tiết thay vì chúng lại kích thích lắp ráp các phức hợp CDK-cyclin. Trong tăng sinh TB, các protein CIP/KIP, đặc biệt là $p27^{KIPI}$ lại trợ giúp cho sự phối hợp chu kỳ TB. Đến cuối G1, $p27^{KIPI}$ được gắn với phức CDK2/cyclin E làm trì hoãn sự hoạt động của nó cho tới cuối G1 khi đòi hỏi có sự hoạt động của CDK2 để làm bất hoạt RB1. Tại thời điểm này, chất ức chế $p27^{KIPI}$ bị phosphoryl hóa nhanh chóng. Mặt khác, ở các TB không tăng sinh thì với nồng độ cao của các protein ức chế đã làm dừng chu kỳ TB.




**Hình 6.4** *Ba lớp điều hòa chu kỳ tế bào*

Trên hình vẽ tập trung chú ý vào sự chuyển tiếp G1→S, đó là điểm thường lệ của sự điều hòa trong các TB người (cơ chế điều hòa chuyển tiếp G1→S được sử dụng cho những TB đặc biệt). Lớp bên trong bao gồm vòng phosphoryl hóa RB1 xác định hoạt tính của E2F. Nó phụ thuộc vào lớp thứ hai được hình thành bởi vòng CDK/cyclin (CDC2 cũng là tên của CDK1). Lớp này được điều hòa bổ sung bởi lớp thứ ba có liên quan tới sự phosphoryl hóa và dephoshoryl hóa các CDK và các protein ức chế CDK. Lớp này tương tác với lớp bên trong và chịu ảnh hưởng của nhiều tín hiệu phân bào và kháng tăng sinh.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Các chất ức chế CDK khác nhau đáp ứng với các tín hiệu khác nhau dẫn đến đình chỉ TB, cho phép các đáp ứng TB tinh chỉnh đối với các tín hiệu khác nhau. Chẳng hạn như, trong một số TB dạng $p15^{INK4B}$ bị cảm ứng bởi yếu tố ức chế tăng trưởng (inhibitory growth factor) như TGFβ. Ở nồng độ cao, protein ức chế sẽ phân giải phức hợp cyclinD/CDK4 và ngăn cản CDK4. Chúng cũng chuyển bất kỳ sự hiện diện nào của $p21^{CIPI}$ hay $p27^{KIPI}$ về phía CDK2/cyclin E, cũng như ngăn chặn kinase này. Khi so sánh thì thấy, $p16^{INK4A}$ xoay vòng rất chậm và được tích lũy dần dần trong các TB tăng sinh liên tục cho tới khi đạt tới nồng độ đủ để làm chậm lại hoặc dừng chu kỳ TB một cách không thuận nghịch. $p21^{CIPI}$ cũng được tích lũy theo cách thức tương tự trong quá trình sao chép thông thường, nhưng nó cũng đáp ứng với nhiều yếu tố tăng trưởng cũng như sự tổn hại của DNA. $p57^{KIPI}$ được biểu hiện với mức hạn chế trong các dạng TB, nổi bật nhất là trong quá trình phát triển phôi, ở đó protein xuất hiện để trợ giúp cho việc thiết lập trạng thái biệt hóa cuối cùng ở các mô chuyên biệt. Như một quy luật, gen mã hóa $p57^{KIPI}$, CDK1C chỉ biểu hiện từ allele di truyền từ mẹ, tức là nó được in dấu.

Tóm gọn là, RB1 hình thành một nút trong mạng lưới điều hòa chu kỳ TB để đảm bảo rằng sự tăng sinh TB chỉ xảy ra để đáp ứng với những bộ tín hiệu thích hợp, ví dụ

sau khi được kích thích bởi các yếu tố tăng trưởng thông qua con đường MAPK và các con đường khác. Thật dễ dàng để hình dung được rằng, mạng lưới điều hòa này trở nên gián đoạn như thế nào do mất chức năng protein RB1 chủ chốt. Cách khác làm mất chức năng của RB1 là do các thành phần khác của mạng lưới điều hòa có thể bị ảnh hưởng trong các ung thư người. Do đó, khi biểu hiện quá mức D-cyclin hoặc CDK4 được coi như là hệ quả của sự khuếch đại gen hay do các đột biến của CDK4 làm cho nó không đáp ứng với các chất ức chế CDK có thể gây nên các hiệu ứng tương tự.

Hơn nữa, những biến đổi ở các chất ức chế CDK đã phát hiện được trong nhiều ung thư người. Trong hàng loạt ung thư người, gen CDKN2A đều bị bất hoạt do các đột biến điểm, do cường methyl hóa promoter hoặc do sự loại bỏ dị hợp tử. Trên thực tế, CDKN2A cũng phải được coi là một gen kiềm chế khối u "cổ điển", vì cả 2 allele đều bị ảnh hưởng trong các ung thư như thế, và các đột biến dòng mầm của gen đã phát hiện được trong những gia đình dễ bị ung thư tụy và melanoma. Chú ý là, không phải tất cả những sự thay đổi này đều là tương đương nhau. Có một số bằng chứng cho thấy, mất chức năng RB1 có thể là một khiếm khuyết nghiêm trọng nhất.

***Bảng 6.2*** *Các protein ức chế các kinase phụ thuộc cyclin*

| Chất ức chế CDK | Gen | Định vị | CDK bị ức chế | Cảm ứng |
|---|---|---|---|---|
| $p21^{CIPI}$ | CDKN1A | 6p21.2 | Một số | TP53, các yếu tố tăng trưởng, sự lão hóa |
| $p27^{KIPI}$ | CDKN1B | 12p13.1-p12 | CDK2 | TGFβ, GSK (?) |
| $p57^{KIP2}$ | CDKN1C | 11p15.5 | Một số | Biệt hóa TB, lão hóa |
| $p16^{INK4A}$ | CDKN2A | 9P21 | CDK4 | Yếu tố tăng trưởng, lão hóa |
| $p15^{INK4B}$ | CDKN2B | 9p21 | CDK4 | TGFβ |
| $p18^{INK4C}$ | CDKN2C | 1p32 | CDK4/6 | ? |
| $p19^{INK4D}$ | CDKN2D | 19p13 | CDK4/6 | ? |

Cũng ngạc nhiên là, các đột biến hay đứt đoạn của gen mã hóa cho các chất ức chế CDK trừ $p16^{INK4A}$ cho đến nay không phải là thường xuyên ở các ung thư người. Gen CDKN2B mã hóa cho $p15^{INK4B}$ được định vị với 40kb trong CDKN2A (Hình 6.9) và thường bị loại bỏ cùng với "láng giềng" của nó. Tuy nhiên, sự bất hoạt của gen này chỉ quan trọng trong các bệnh bạch cầu xác định. Sự bất hoạt của CDKN1C phù hợp với việc biểu hiện giới hạn hơn của nó, có thể liên quan chặt chẽ hơn với nhiều ung thư. Các đột biến trong các gen mã hóa cho $p21^{CIPI}$ và $p27^{KIPI}$ dường như là rất hiếm hoi trong các ung thư người, nhưng việc điều hòa xuống sự biểu hiện của chúng là rất phổ biến trong nhiều loại ung thư khác nhau. Nó thường là một dấu hiệu tốt cho sự tiến triển của khối u và là một marker cho các ung thư thường gặp trong lâm sàng. Nhưng cũng chưa hiểu rõ tại sao những gen này lại hiếm khi đột biến như thế cũng như các cơ chế chính

xác dẫn đến việc điều hòa xuống sự biểu hiện của chúng trong quá trình tiến triển u. Trong một số trường hợp, mất $p27^{KIPI+}$ có thể do sự biểu hiện quá mức của các protein có liên quan đến sự phân giải của nó ở cuối G1.

## 6.3. TP53 LÀ THỂ LOẠI KHÁC CỦA KIỀM CHẾ KHỐI U

RB1 là gen kiềm chế khối u chủ chốt bởi vì khi nó bất hoạt đã loại bỏ đi các điểm điều hòa quan trọng của chu kỳ TB. Do đó, khi nó bị mất đi tế bào khối u sẽ theo hướng tăng sinh không hạn định và làm giảm sự phụ thuộc vào các tín hiệu ngoại bào. Lưu ý rằng, khi bất hoạt RB1 sẽ tạo điều kiện cho u phát triển, nhưng chức năng kiềm chế khối u thực tế của nó cũng không lớn lắm, tuy nhiên nó lại cho phép sự tăng sinh và biệt hóa phối hợp chặt chẽ với nhau trong quá trình phát triển và duy trì ở các mô bình thường. Rất phù hợp là, những chuột thiếu RB1 thì mất tính khả thi trong kiềm chế khối u và bộc lộ những khuyết tật trong quá trình phát triển của một số mô.

Ngược lại, về nguyên lý các động vật có thể sống không cần chất kiềm chế khối u nào khác ngoài TP53. Tuy nhiên, chuột thiếu TP53 thì không thể chống chọi được với các khối u chỉ sau vài tháng. Trong một bệnh hiếm gặp ở người – hội chứng Li-Fraumeni (Bảng 6.1) thì một bản sao đột biến của gen TP53 được di truyền lại. Bệnh nhân phát triển các dạng khối u ở các mô khác nhau, trong đó có máu, tổ chức lympho, các mô mềm, hệ thần kinh và biểu mô và thường phát triển rất sớm khi còn rất trẻ. Phù hợp với mô hình Knudson, các khối u đều chứa các đột biến làm bất hoạt allele TP53 thứ 2 hoặc thể hiện LOH ở nhiễm sắc thể 17p – nơi gen này định vị. Gen TP53 cũng bất hoạt ở nhiều dạng ung thư lẻ tẻ khác nhau ở người. Đó là gen thường hay bị đột biến nhất trong ung thư người. Thực sự thì, chức năng chính của TP53 dường như là để phòng ngừa sự tổn hại của hệ gen, phòng ung thư vì thế mà nó có nghĩa đen là *"chất kiềm chế khối u*".

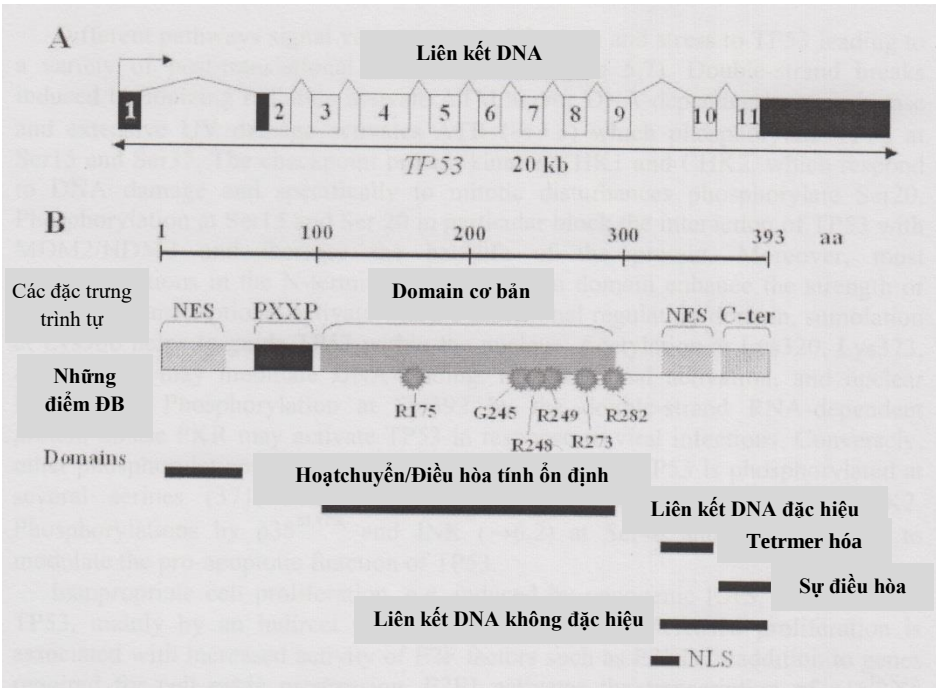
Gen TP53 chiếm khoảng 20 kb trên nhiễm sắc thể 17p13.1 mã hóa 11 exon của một mRNA 2,2 kb, từ đó mà tên của nó được suy ra do một phosphoprotein được tổng hợp có trọng lượng phân tử 53 kb. Protein TP53 (đơn giản hóa là p53) có một cấu trúc điển hình của chất hoạt hóa sao chép (Hình 6.5). Nó bao gồm một domain gắn DNA trung tâm, domain kích hoạt cuối N và domain cuối C có chứa các trình tự cần cho sự oligo hóa và điều hòa liên kết DNA.

Thực sự thì TP53 có thể có chức năng như là một chất hoạt hóa sao chép tại hàng trăm gen. Trong nhiều gen này, TP53 liên kết như một tetramer đối với một trình tự liên kết đặc hiệu đối xứng ở khu vực promoter hoặc enhancer (thường là intron). Đối với các gen khác, TP53 tác động như một chất kiềm chế sao chép bởi polII và polIII do liên kết và ngăn chặn yếu tố sao chép cơ bản TBP hoặc do tương tác với các chất kiềm chế sao

chép ví dụ như SIN3A. Tuy nhiên, TP53 còn có một số chức năng khác ít đặc trưng hơn như có khả năng liên kết trực tiếp với DNA tổn hại để có chức năng như một exonuclease gắn các acid nucleic với nhau, có lẽ để điều hòa sinh tổng hợp ở ribosome.

Vì những chức năng khác nhau của TP53 nhằm phối hợp các đáp ứng TB đối với nhiều kiểu tổn hại của hệ gen, đặc biệt là sự bẻ gãy DNA chuỗi kép được cảm ứng bởi các chất gây đột biến nguồn gốc hóa học, bức xạ ion hóa cũng như một số thể loại xác định các stress TB như sự mất cân bằng nucleotide guanine, thâm nhiễm virus cũng như sự cường tăng sinh cảm ứng bởi các oncogene (Hình 6.6) nên TP53 cũng có liên quan đến việc điều hòa sự lão hóa sao chép.

Tác động của TP53 chủ yếu là điều hòa sau tổng hợp nhờ sự phosphoryl hóa và các cải biến khác (Hình 6.7) làm thay đổi tính ổn định và hoạt tính của protein. Trong những tình cảnh bình thường, TP53 có sự luân chuyển nhanh chóng trong TB, với đời sống bán phần khoảng 10-20 phút. Vì lý do đời sống bán phần ngắn này nên protein MDM2/HDM2 đảm nhiệm trách nhiệm chính. Nó gắn với domain cuối N của TP53 ngăn chặn hoạt tính sao chép của nó và khởi đầu cho sự vận chuyển của nó ra ngoài nhân.

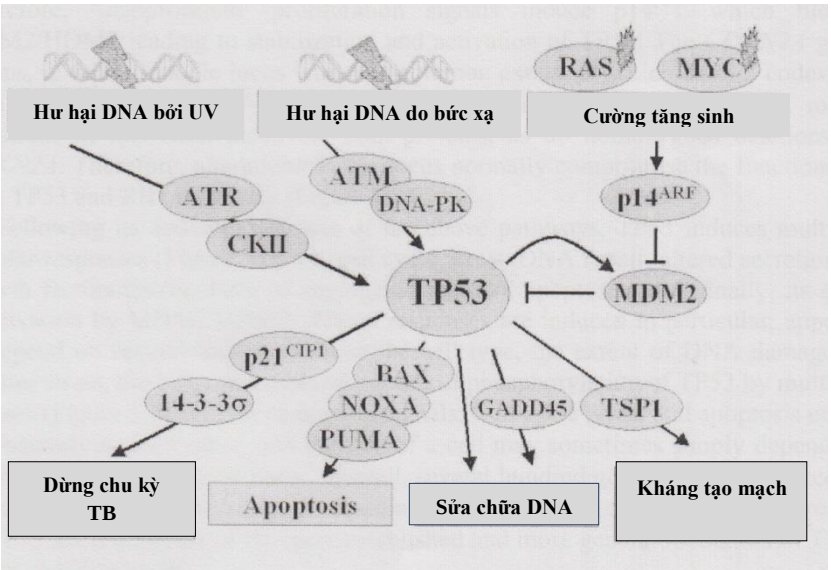



**Hình 6.5** Các domain chức năng và cấu trúc của TP53

A: Tổ chức của gen. Các intron ở đây không đúng hoàn toàn theo tỷ lệ. Thanh màu ghi chỉ các exon mã hóa các domain liên kết DNA cơ bản; B: Các đặc trưng của protein. C-ter: Domain tương tác cuối C; NES/NLS (nuclear export/localization signal – nhân/xuất khẩu/tín hiệu định vị) ; PXXP: Domain giầu proline (proline –rich domain)

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

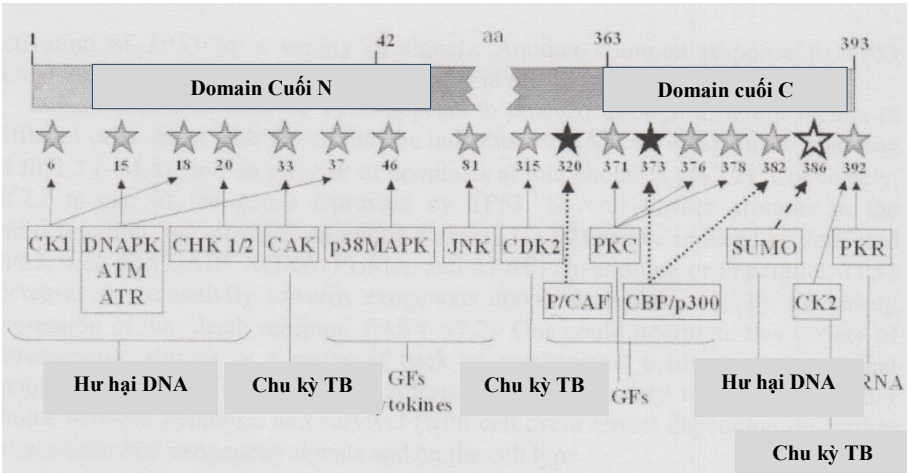
Hơn nữa, MDM2/HDM2 cũng tác động như là một enzyme ubiquitin ligase đối với TP53, cho phép các olio- ubiquitin hóa được phân giải nhanh chóng bởi proteasome.




**Hình 6.6** Phác họa về mạng lưới TP53

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Các con đường tín hiệu khác nhau gây tổn hại và stress đối với TP53 dẫn đến nhiều sự thay đổi sau tổng hợp (Hình 6.7). Các vết gãy chuỗi kép cảm ứng bởi bức xạ ion hóa làm hoạt hóa ATM và/hoặc protein kinase phụ thuộc DNA và sự tổn hại rộng do UV thì hoạt hóa ATM làm phosphoryl hóa TP53 ở Ser15 và Ser37. Các protein kinase trạm kiểm soát CHK1 và CHK2 đáp ứng với sự tổn hại DNA và đặc biệt là phá rối sự phân bào, làm phosphoryl hóa Ser20. Đặc biệt là sự phosphoryl hóa ở Ser15 và Ser20 ngăn chặn sự tương tác của TP53 với MDM2/HDM2 và làm tăng đời sống bán phần của protein. Tuy nhiên, hầu hết các phosphoryl hóa ở domain kích hoạt cuối N đều nâng cao sức mạnh của TP53 với tư cách là một chất hoạt hóa sao chép. Ở domain điều hòa cuối C thì sự thủ vai ở Lys386 trợ giúp cho việc hướng TP53 đi vào trong nhân. Sự acetyl hóa ở Lys320, Lys373 và Lys382 có thể điều tiết được sự liên kết DNA, sự hoạt hóa sao chép và sự định vị nhân. Sự phosphoryl hóa ở Ser392 nhờ protein kinase phụ thuộc RNA chuỗi kép PKR có thể làm hoạt hóa TP53 trong đáp ứng với thâm nhiễm virus. Ngược lại, những sự phosphoryl hóa khác có thể lại kiềm chế TP53. Chẳng hạn như TP53 bị phoshoryl hóa ở một số serine (371, 376 và 378) bởi PKC và ở Ser315 bởi CDK2. Sự phosphoryl hóa bởi $p38^{MAPK}$ và JNK ở Ser46 và Thr81 điều tiết chức năng tiền apoptosis của TP53.

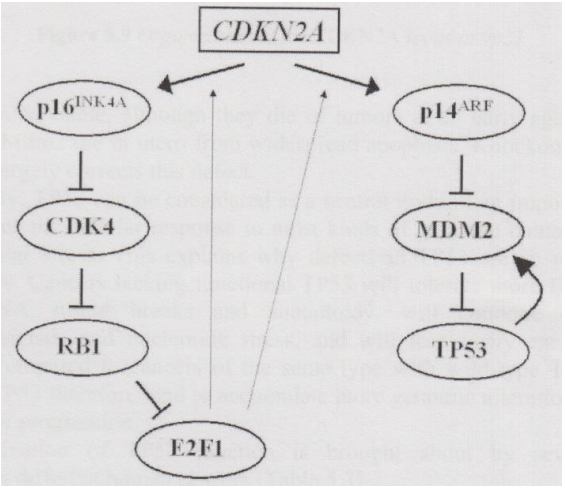



**Hình 6.7** Sự điều hòa sau tổng hợp của TP53

Chỉ có các domain cuối N và cuối C của protein mới được thể hiện. Hầu hết mọi biến đổi đều là sự phosphoryl hóa trừ trường hợp Lys320 và 373 là acetyl hóa và 386 (sự bắt chước - sumolation), các biến đổi enzyme được thể hiện trong các hộp.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Sự tăng sinh TB không thích hợp, ví dụ được cảm ứng bởi RAS sinh ung thư cũng làm hoạt hóa TP53, chủ yếu do một cơ chế gián tiếp (Hình 6.8). Tăng cường tăng sinh có liên quan đến tăng hoạt tính của các yếu tố E2F như E2F1. Ngoài những gen cần thiết cho tiến triển chu kỳ TB thì E2F1 đã làm hoạt hóa sự sao chép của $p16^{INK4A}$ mRNA từ gen CDKN2A, trong gen này còn có một promoter thứ 2 nữa nên dẫn đến việc biểu hiện một protein 14kDa trong một khung đọc khác. Protein này vì thế mà được biểu thị là $p14^{ARF}$ ($p19^{ARF}$ ở chuột). Đây là một chất ức chế MDM2/HDM2. Vì thế những tín hiệu tăng sinh không thích hợp sẽ cảm ứng $p14^{ARF}$ ngăn chặn MDM2/HDM2 dẫn đến làm ổn định hóa và hoạt hóa TP53. Gen CDKN2A thực tế có một locus kép với 2 exon thông thường, trong đó exon 2 mã hóa cho cả $p16^{INK4A}$ và $p14^{ARF1}$ ở các khung đọc khác nhau (Hình 6.9). Như vậy, nhiều đột biến trong exon này đã làm bất hoạt cả 2 protein cũng như thực hiện việc loại bỏ đồng hợp tử của CDKN2A. Vì thế, những biến đổi ở locus này thường làm thỏa hiệp chức năng của cả TP53 và RB1 một cách gián tiếp (Hình 6.8).




**Hình 6.8** Sự điều hòa của TP53 và RB1 nhờ các protein từ locus CDKN2A
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Sau khi được hoạt hóa bởi một trong số các con đường trên, TP53 sẽ cảm ứng nhiều đáp ứng TB (Hình 6.6), bao gồm dừng chu kỳ TB, sửa chữa DNA, thay đổi sự tiết của các yếu tố tăng trưởng (đặc biệt là các yếu tố tạo mạch), apoptosis và cuối cùng là chính nó lại bị bất hoạt bởi MDM2/HDM2. Đặc biệt là những đáp ứng nào bị cảm ứng thì dường như là phụ thuộc vào một số yếu tố như dạng TB, mức độ tổn hại của DNA hoặc stress TB, cảm ứng của sự phosphoryl hóa TP53 bởi nhiều kinase (Hình 6.7) và các tín hiệu cạnh tranh. Dừng chu kỳ TB và apoptosis xảy ra một cách luân phiên và số phận của TB đôi khi có thể chỉ phụ thuộc một cách đơn giản vào đáp ứng nào được cảm ứng nhanh hơn. Một cách tổng quát là, có hàng trăm gen bị hoạt hóa hoặc kiềm chế bởi TP53. Vì thế, các protein trên (Hình 6.6) tác động tại hạ nguồn TP53 là một lựa chọn của nhiều trung gian (mediator) về sự tác động của TP53 trong các TB người.

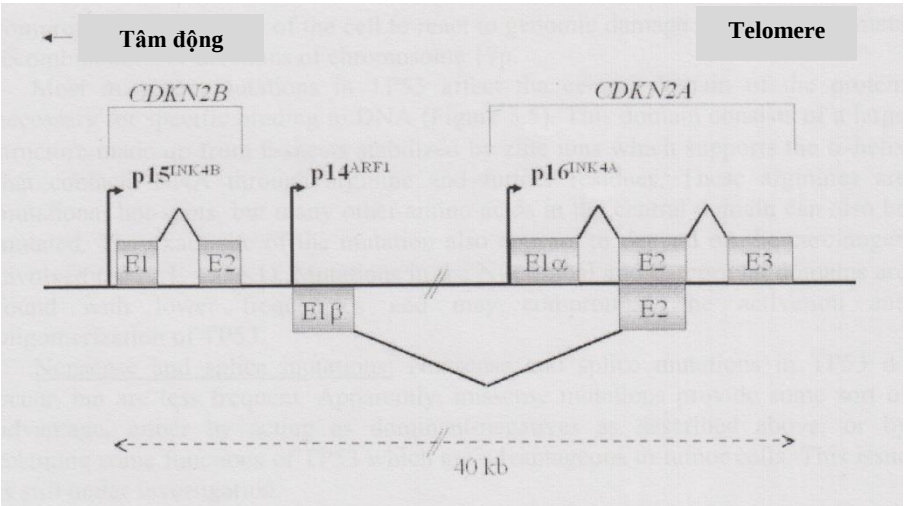
Việc dừng chu kỳ TB bởi TP53 là qua trung gian cảm ứng nhanh và mạnh của 2 protein: $p21^{CIPI}$ và 14-3-3ϭ chặn chu kỳ TB ở G1 hoặc G2. Đây là một đáp ứng xuất hiện một cách bình thường đối với tất cả các dạng TB và theo sau là sự hoạt hóa TP53 bởi nhiều tín hiệu. Một đáp ứng khác với sự hoạt hóa TP53 là sự cảm ứng của GADD45- - một protein liên quan đến sửa chữa DNA.

Sự cảm ứng apoptosis bởi TP53 dường như được thực hiện thông qua các yếu tố khác nhau ở các TB khác nhau. Phổ biến rộng rãi nhất là sự cảm ứng của BAX- một tương đồng trái ngược của BLC2 và một bộ phận tác động (effector) của apoptosis ở ty lạp thể. Ngược lại, BLC2 lại là một trong số các gen bị kiềm chế bởi TP53. Một số protein khác trong con đường apoptosis "ty thể " hoặc "nội tại" có thể bị cảm ứng bởi các TP53 kích hoạt như p53AIP, NOXA, PUM và APAF1. Ngoài ra, TP53 còn làm tăng sự nhạy cảm đối với các tín hiệu apotosis ngoại bào, ví dụ tăng biểu hiện receptor chết FAS. Người ta có thể giải thích sự bất đồng này của các tín hiệu tiền apoptosis bằng rất nhiều cơ chế lùi tiến "back – up" để đảm bảo rằng apoptosis không bị phá vỡ. Nói cách khác là, sự bất đồng này cho phép một sự lựa chọn tốt hơn giữa apoptosis và sự sống sót (với việc dừng chu kỳ TB) tùy thuộc vào các tín hiệu nội bào và ngoại bào cũng như tùy thuộc vào dạng của tế bào.

Một nhóm khác các gen bị cảm ứng hoặc kiềm chế bởi các chức năng TP53 trong việc liên lạc với các mô kế cận, đặc biệt là với các tế bào nội mô. Chẳng hạn như, thrombospondin (TSPT) ức chế sự tăng sinh của các TB nội mô và do đó ngăn chặn sự tạo mạch.

Sau chót là, TP53 cảm ứng một cơ chế ức chế phản hồi làm giới hạn lại sự tác động của chính nó. Gen MDM2//HDM2 là đích sao chép trực tiếp của TP53 và bị cảm ứng tương đối nhanh sau khi hoạt hóa TP53. Việc tích lũy MDM2/HDM2 đã làm ngăn chặn sự hoạt hóa sao chép bởi TP53 và gây nên sự phân giải của nó. Hiệu quả của cơ

chế này được minh họa một cách khả thi nhất là một thí nghiệm trên chuột. Những chuột thiếu Tp53 thường vẫn có thể được sống sót, mặc dù chúng bị chết vì các khối u ở tuổi còn non. Ngược lại, những chuột thiếu Mdm2 thường bị chết ngay trong tử cung do apoptosis. Việc loại bỏ gen Tp53 phần lớn cũng là để sửa chữa sự khiếm khuyết này.




**Hình 6.9** Sự tổ chức của locus CDKN2A ở 9p21

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

Tóm lại, TP53 có thể được xem xét như là một nút trung tâm trong một mạng lưới quan trọng điều hòa đáp ứng TB đối với hầu hết các thể loại tổn hại của hệ gen và nhiều dạng stress TB. Điều này giải thích tại sao những khiếm khuyết ở TP53 lại phổ biến đến như vậy ở các ung thư người. Các ung thư do thiếu TP53 chức năng sẽ dung nạp hơn với sự tổn hại DNA bao gồm cả các vết gãy chuỗi DNA và dị bội, sẽ bỏ qua các tín hiệu tăng sinh không thích hợp và stress nucleotide và đi vào lão hóa sao chép một cách kém dễ dàng. So sánh với các ung thư cùng dạng có TP53 dạng hoang dã thì các ung thư có TP53 đột biến có khuynh hướng tích lũy các biến đổi hệ gen nhiều hơn và nguy cơ tiến triển cao hơn.

Sự bất hoạt chức năng TP53 là do một số cơ chế khác nhau ở các ung thư khác nhau trên người (Bảng 6.3).

❑ ***Đột biến sai nghĩa cộng với mất dị hợp tử (LOH)***

Cơ chế phổ thông nhất đối với nhiều thể loại khối u ở người bao gồm các đột biến sai nghĩa ở một allele và mất allele chức năng thứ 2 do đứt đoạn hoặc tái tổ hợp, nó có thể phát hiện được với tư cách là mất dị hợp tử ở 17p. Trong các mô hình thực nghiệm,

một TP53 đột biến xác định thỏa hiệp một cách rõ ràng chức năng của một protein chưa biến đổi (dạng hoang dã). Chúng tác động với tư cách là âm tính trội, có lẽ do cô lập các protein monomer dạng hoang dã ở phức hợp tetramer bất hoạt. Chưa rõ ràng lắm là, hiệu ứng này quan trọng thực sự như thế nào trong quá trình phát triển các ung thư người. Có thể hình dung là, đột biến sai nghĩa khởi đầu có thể làm tăng khả năng mất đi của allele thứ 2 do sự thỏa hiệp khả năng của TB phản ứng với sự tổn hại hệ gen như sự tái tổ hợp không đúng quy luật hoặc sự đứt đoạn của nhiễm sắc thể 17p.

Hầu hết các đột biến sai nghĩa ở TP53 đều ảnh hưởng đến domain trung tâm của protein cần cho sự liên kết đặc hiệu với DNA (Hình 6.5). Domain này gồm có một cấu trúc lớn được kiến tạo nên từ các tấm β được ổn định hóa bởi các ion kẽm giúp cho xoắn α tiếp xúc được với DNA thông qua gốc arginine và các gốc khác. Những gốc arginine này là các điểm nóng đột biến, tuy nhiên nhiều amino acid khác ở domain trung tâm cũng có thể bị đột biến. Vị trí chính xác của đột biến dường như phụ thuộc vào chất sinh ung thư có liên quan. Những đột biến ở các domain cuối N và cuối C được phát hiện với các tần suất thấp hơn và có thể thỏa hiệp với sự hoạt hóa oliogomer hóa TP53.

❑ ***Đột biến vô nghĩa (nonsense) và đột biến do ghép nối***

Các đột biến vô nghĩa và các đột biến do ghép nối ở TP53 tuy có xảy ra nhưng ít thường xuyên hơn. Rõ ràng là các đột biến sai nghĩa đã tạo nên một số lợi thế, hoặc là tác động như là các âm tính trội (dominant-negatives) như đã trình bày ở trên hoặc vẫn giữ lại một số chức năng của TP53 có lợi thế cho các TB khối u. Vấn đề này vẫn đang được nghiên cứu.

❑ ***Biểu hiện quá mức MDM2.***

Một số khối u ẩn náu các khuếch đại của gen HDM2/MDM2. Sự biểu hiện quá mức ở gen này là do các cơ chế chưa được hiểu rõ. Sự biểu hiện quá mức như thế dường như làm giảm chức năng của TP53. Thực sự là, trong một số ung thư như sarcoma, u thần kinh đệm thì các khuếch đại của HDM2 và các đột biến của TP53 xảy ra theo kiểu loại trừ lẫn nhau. Đây là một dấu hiệu rõ ràng cho thấy chúng bổ sung thực sự cho nhau. Cần lưu ý rằng, mặc dầu vậy HDM2 còn có các chức năng khác ngoài chức năng điều hòa TP53, điều đó có thể là quan trọng trong các ung thư đặc biệt (ví dụ sarcoma). Ngược lại, ở các ung thư có TP53 đột biến thì HDM2 không bị cảm ứng bởi TP53. Về phương diện khác, nếu các đột biến không làm mất sự ổn định của protein TP53 thì sẽ dẫn đến tích lũy các protein đột biến vì HDM2 là một enzyme giới hạn tốc độ cho sự phân giải của nó. Đây là một lý do giải thích tại sao trong nhiều ung thư thì mức protein TP53 lại có nghịch lý là cao hơn các mô tương ứng bình thường. Vì thế, trong một số trường hợp việc phát hiện thấy tăng mức protein TP53 (do tích lũy các protein đột biến) có thể được sử dụng để phát hiện các TB khối u.

***Bảng 6.3*** *Các cơ chế làm bất hoạt TP53 trong các ung thư người*

| **Cơ chế gây bất hoạt** |
|---|
| Các đột biến sai nghĩa |
| Các đột biến vô nghĩa và đột biến do ghép nối |
| Sự loại bỏ một allele |
| Biểu hiện quá mức HDM2 do khuếch đại gen và mất điều hòa |
| Mất chức năng của $p14^{ARF}$ do đứt đoạn gen, đột biến hoặc cường methyl hóa promoter |
| Mất chức năng của các chất hoạt hóa thượng nguồn, ví dụ ATM hoặc CHK1 |
| Mất chức năng các effector hạ nguồn , ví dụ BAX |
| Bất hoạt do sự thay đổi sau tổng hợp |
| Bất hoạt do các oncogene virus, ví dụ HPV E6 |

❑ ***Bất hoạt các chất hoạt hóa thượng nguồn***

Chức năng của TP53 có thể bị cản trở do các đột biến ở các con đường thượng nguồn tạo ra các tín hiệu cho sự hoạt hóa (Hình 5.6). Điều này đã xảy ra trong trường hợp mất điều hòa giãn mao mạch. Trong bệnh này, sự hoạt hóa TP53 trong đáp ứng với bức xạ ion hóa bị giảm sút là do hệ quả của các khiếm khuyết ở ATM kinase. Nói chung, trong các ung thư ở người việc mất $p14^{ARF}$ có thể là quan trọng. Gen CDKN2A bị bất hoạt trong nhiều dạng ung thư người khác nhau do sự đứt đoạn hoặc đột biến điểm, trong các ung thư chuyên biệt cũng do cường methyl hóa các promoter. Mất $p14^{ARF}$ có thể giúp cho việc tiên đoán những rối loạn đặc biệt về sự hoạt hóa TP53 trong đáp ứng với tăng sinh TB không thích hợp, ví dụ như bị cảm ứng do hoạt hóa oncogene. Lưu ý rằng, việc mất $p14^{ARF}$ cũng xảy ra ở các ung thư có sự bất hoạt TP53 do các cơ chế khác và $p16^{INK4A}$ cũng là một đích đột biến trong gen này. Thật thú vị là, mất $p16^{INK4A}$ và RB1 dường như xảy ra theo cách loại trừ lẫn nhau.

❑ ***Điều hòa xuống một cách đặc hiệu dạng tế bào***

Có một vài ung thư trong đó các đột biến của TP53 lại cực kỳ hiếm. Trong các khối u tế bào mầm tinh hoàn, ví dụ u tinh hoàn (seminoma) các đột biếm có thể là rất hiếm bởi vì bình thường thì các gen không hoạt hóa lắm ở giai đoạn phát triển, giai đoạn mà các TB khối u được phát sinh. Tuy nhiên, TP53 có thể được hoạt hóa bởi các tín hiệu mạnh và có sự hiện diện của một gen nguyên vẹn, đó là yếu tố làm cho việc xạ trị và hóa trị những ung thư này có hiệu quả cao.

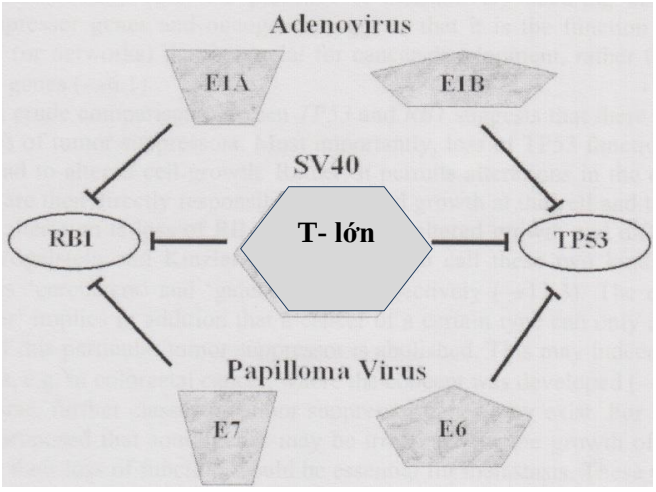
❑ ***Sự bất hoạt do các protein virus***

Vẫn còn một cơ chế khác đã được phát hiện trong việc điều hòa ở các ung thư cổ tử cung và đôi khi trong một số dạng ung thư khác. Những ung thư này do các chủng

gây ung thư đặc hiệu của virus papilloma (HPV). Những chủng này biểu hiện một protein E6 gắn với TP53 và thúc đẩy sự phân giải của nó rất giống HDM2. Cơ chế này nhằm ức chế đáp ứng TB đối với việc thâm nhiễm và hoạt hóa sự sao chép của virus. Nếu việc biểu hiện E6 được duy trì, ví dụ do sự hoạt hóa của gen virus thông qua các enhancer tế bào thì nó sẽ góp phần vào việc làm bất tử hóa tế bào và tạo thuận lợi cho việc tích lũy các biến đổi di truyền, thúc đẩy ung thư vì nó cản trở đáp ứng với sự tổn hại DNA và các khiếm khuyết của nhiễm sắc thể.

Thực sự là, các virus DNA khác cũng phát triển các cơ chế tương tự để đối phó với TP53 khi thâm nhiễm. Các adenovirus là các tác nhân tạo u ở các loài gậm nhấm thì sử dụng protein E1B để cô lập và ức chế TP53, mặc dầu protein này không bị phân giải. Trên thực tế, TP53 nguyên bản được phát hiện với tư cách là một protein điều hòa có liên quan với một protein biến nạp chủ yếu của virus DNA gây khối u là SV40 – một papovavirus gây thâm nhiễm các loại linh trưởng kể cả người. Virus này mã hóa cho 2 kháng nguyên khối u có tên là T- lớn và T- nhỏ. Kháng nguyên T- lớn là một protein đa chức năng làm nhiệm vụ điều hòa sao chép và sự nhân lên của SV40. Nó cũng liên kết và làm bất hoạt một số protein vật chủ kể cả TP53.

Một protein quan trọng thứ 2 bị cô lập và làm bất hoạt bởi T-lớn của SV40 là RB1 (Hình 6.10). Các virus DNA tạo u khác cũng làm bất hoạt RB1, với HPV thì do protein E7 của nó, còn với các adenovirus thì do các protein E1A. Mặc dầu vậy, các adenovirus lại không có khả năng gây biến nạp trên người. Tuy nhiên, SV40 và các papovavirus có liên quan như BK và JC lại giữ vai trò quan trọng trong các ung thư chuyên biệt trên người. Bằng chứng rõ ràng nhất là nó có khả năng gây các khối u ở trung biểu mô, nơi mà việc thâm nhiễm SV40 có sự hiệp lực của amian.




**Hình 6.10** Bất hoạt TP53 và RB1 bởi các virus DNA gây khối u

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. Springer 2005)

## 6.4. PHÂN LOẠI CÁC GEN KIỀM CHẾ KHỐI U

Thực tế là các virus DNA gây khối u nhắm đích một cách đặc hiệu tới TP53 và RB1 là một dấu hiệu khác cho thấy các protein này là quan trọng bậc nhất trong sự tăng trưởng bình thường của tế bào cũng như trong ung thư. Chúng cư trú tại các nút của

mạng lưới kiểm soát tăng sinh TB và sự toàn vẹn của hệ gen. Chúng cần phải được phá vỡ hoặc được khắc phục thì sự tăng trưởng khối u mới được thực hiện. Xem xét một cách tổng thể thì các chất kiềm chế khối u có thể thể hiện rất nhiều chức năng hóa sinh và tác động trong mạng lưới điều hòa với mức độ rộng hơn ngoài chức năng điều hòa chu kỳ TB và đáp ứng hư hại DNA.

Một số trong những mạng lưới này, kể cả chất kiềm chế khối u cũng như các gen gây ung thư đều có thể phát hiện được có xu hướng đối nghịch nhau về chức năng bình thường trong những con đường. Chẳng hạn như, PTEN là một chất điều hòa âm của con đường PI3K, PTCH1 là điều hòa âm của SMO trong con đường Hedgehog. APC thúc đẩy sự bất hoạt của CTNNB1 trong con đường WNT và NF1 đột biến trong u nguyên bào võng mạc có tính chất gia đình là một GAP đặc hiệu mô điều hòa chức năng của RAS. Khi các chất kiềm chế khối u được phát hiện lần đầu tiên người ta cho rằng nó là các *"kháng –oncogene"* (anti-oncogene). Rõ ràng là có một số biện minh cho cái tên này. Tuy nhiên, đây là một sai lầm vì cho đến nay không có một sự bổ cứu cặp đôi nào (pairwise complementarity) giữa oncogene và các chất kiềm chế khối u. Trong bất cứ trường hợp nào, sự hiện diện của các biến đổi xảy ra một cách luân phiên trong các gen kiềm chế khối u và oncogene đều được cho rằng đó là chức năng của các *"con đường ung thư" (hoặc mạng lưới)* rất quan trọng cho sự phát triển ung thư, chứ không quan trọng đối với các gen của cá thể.

## *TÓM TẮT*

❖ *Trong khi các oncogene phát triển khối u bằng cách tăng cường sự hoạt động hay mất điều hòa thì các gen kiềm chế khối u lại phải đảm nhiệm việc làm mất chức năng phát triển khối u.*

❖ *Nhiều ung thư có thể di truyền được là do các đột biến dòng mầm ở các gen kiềm chế khối u, được di truyền trong các gia đình. Trong hầu hết các ung thư di truyền trội thì một allele đột biến của một gen kiềm chế khối u được di truyền. Khi allele thứ 2 cũng trở nên bất hoạt bởi đột biến, đứt đoạn hay hay tái tổ hợp với allele đã đột biến hoặc bởi các cơ chế epigenetic thì sự phát triển ung thư được bắt đầu. Trong các ung thư lẻ tẻ thì 2 đột biến ở 2 allele của gen phải xảy ra ở trong cùng một dòng TB. Vì thế, các ung thư di truyền thường xảy ra ở các lứa tuổi sớm hơn và thường là đa ổ hơn các ung thư lẻ tẻ cùng dạng. Lưu ý rằng, khi là di truyền trội thì các gen kiềm chế khối u "ứng xử" với tư cách là các gen lặn ở mức độ tế bào.*

❖ *Mất allele kiềm chế khối u do đứt đoạn hoặc tái tổ hợp thường trở nên rõ ràng khi mất dị hợp tử (loss of heterozygosity –LOH) của các marker đa hình, ví dụ như các*

*microsatellite trong vùng phụ cận. Phân tích LOH là một phương pháp hữu dụng để phát hiện các đứt đoạn, tái tổ hợp trong các khối u và có thể được sử dụng để tìm các gen kiềm chế khối u của hệ gen.*

❖ *U nguyên bào võng mạc đã cung cấp một mô hình về các gen kiềm chế khối u, nó cũng phù hợp với một số ung thư di truyền khác. Trong u nguyên bào võng mạc thì các gen kiềm chế khối u bị bất hoạt. RB1 mã hóa cho phần điều hòa trung tâm, nổi bật của quá trình chuyển đổi G1→S, nhưng cũng giúp cho sự phân chia tế bào đảm bảo chính xác, ảnh hưởng tới cấu trúc chất nhiễm sắc (chromatin) và điều hòa apoptosis. RB1 tác động bằng cách liên kết và kiểm soát các protein khác mà nổi bật nhất là các yếu tố sao chép E2F. Những yếu tố này có thể hoạt hóa các gen cần để đi vào phase S và sinh tổng hợp DNA, nhưng trong một số trường hợp xác định nó lại cảm ứng apoptosis. Bản thân RB1 cũng được điều hòa thông qua sự phosphoryl hóa bởi các kinase phụ thuộc cyclin (CDK) mà đến lượt mình, nó lại phụ thuộc vào các tiểu đơn vị điều hòa của chúng.*

❖ *Nhiều cơ chế đã được áp dụng trong các TB người để điều hòa chu kỳ TB và phosphoryl hóa RB1, bao gồm sự cảm ứng và phân giải proteolytic các cyclin, phosphoryl hóa và dephosphoryl hóa các CDK cũng như sự cảm ứng, sự ổn định hóa và sự phân giải proteolytic các chất ức chế protein CDK. Các chất ức chế CDK bao gồm họ INK4 ức chế đặc hiệu CDK4 và họ CIP/KIP ức chế một số CDK. Các chất ức chế CDK có thể là các chất kiềm chế khối u. Một chất quan trọng nhất cần lưu ý là CDKN2A/p16$^{INK4A}$, tuy nhiên p27$^{KIPI}$, P21$^{CIPI}$ và p57$^{CIPI}$ cũng có liên quan.*

❖ *Những biến đổi một cách chọn lọc trong điều hòa chu kỳ TB ở các khối u khác nhau là do mất chức năng gen kiềm chế khối u (RB1 hoặc CDKN2A) hoặc do hoạt hóa các gen gây ung thư (CCND1 hoặc CDK4). Có một số trường hợp khác, trong đó các chất kiềm chế khối u cần thiết tác động với tư cách là địch thủ của các oncogene, ví dụ như chất kiềm chế khối u NF1 là một GAP làm giới hạn sự tác động của các protein RAS. Việc mất các chất kiềm chế khối u và sự hoạt hóa các oncogene vì thế mà na ná giống nhau, mặc dầu hệ quả không hoàn toàn như nhau.*

❖ *Khi mất chức năng RB1 sẽ ảnh hưởng trực tiếp tới sự tăng sinh và biệt hóa TB. Khi mất các gen kiềm chế khối u như TP53 sẽ làm thúc đẩy sự hình thành khối u theo một cách thức khác. Bất hoạt TP53 sẽ làm thỏa hiệp khả năng phản ứng của TB với sự tổn hại của hệ gen, ví dụ do bức xạ ion hóa, cũng như cường tăng sinh do các oncogene, hoặc bị thâm nhiễm virus. Vì thế, khi mất chức năng TP53 sẽ cho phép sự sống sót và sự tăng sinh TB tích lũy các đột biến và do vậy mà xuất hiện ung thư. Một số chất kiềm chế khối u khác như BRCA1 và BRCA2 khiếm khuyết ở các ung thư vú có tính chất gia đình cũng tác động bảo vệ chủ yếu bằng cách kháng lại sự bất ổn định của hệ gen.*

*Những "người chăm sóc" (caretaker) như thế cũng được xem xét như là một lớp khác của chất kiềm chế khối u bắt nguồn từ "người gác cổng" (gatekeeper) như RB1.*

❖ *TP53 được coi như là một gen điều hòa trung tâm cho sự ổn định của hệ gen, và cũng có thể là gen thường biến đổi nhất trong các ung thư người. Một số con đường thượng nguồn đáp ứng với các kiểu ổn định hệ gen khác nhau dẫn đến hoạt hóa TP53, chủ yếu là do sự điều hòa sau phiên dịch (tổng hợp). Đến lượt mình, TP53 lại tác động lên một số con đường hạ nguồn với tư cách là các chất hoạt hóa hay kiềm chế sao chép và thậm chí có thể tham gia trực tiếp vào việc sửa chữa DNA. TP53 kích hoạt có thể làm dừng chu kỳ TB thông qua việc cảm ứng các chất ức chế chu kỳ TB như $p21^{CIPI}$, hoặc làm gây nên apoptosis do sự cảm ứng của các protein như BAX. Tác động của TP53 bị giới hạn lại là do sự cảm ứng bởi MDM2/HDM2, nó lại làm ức chế TP53 và khởi đầu cho sự phân giải proteolytic.*

❖ *Trong các ung thư người khác nhau, TP53 bị bất hoạt do các cơ chế khác nhau, phổ biến nhất là một bản sao gen bị bất hoạt do các đột biến điểm ở domain của protein gắn với DNA trung tâm. Trong khi đó, một bản sao khác lại bị mất đi do đứt đoạn hoặc tái tổ hợp. Trong một số khối u thì HDM2 được biểu hiện quá mức. Gen CDKN2A không những mã hóa cho $p16^{INK4A}$ mà còn là một chất hoạt hóa cho p53, $p14^{ARF1}$ ở một khung đọc khác. Vì thế, trong sự loại bỏ đồng hợp tử, các đột biến điểm xác định trong gen này đã làm cản trở chức năng của cả TP53 và RB1.*

❖ *Các virus gây khối u DNA như papovavirus SV40 và các chủng gây khối u của các virus papilloma người có chứa các protein gây bất hoạt cho cả TP53 và RB1. Cần phải nhấn mạnh vai trò đặc biệt quan trọng của 2 protein này trong việc phòng ngừa các ung thư trên người.*

# CHƯƠNG VII: NHỮNG CON ĐƯỜNG UNG THƯ

## 7.1. CÁC CON ĐƯỜNG UNG THƯ

Trên 250 gen khác nhau đã được mô tả là có tham gia một cách ngẫu nhiên vào các ung thư của người và nhiều gen khác có liên quan, và dường như có điều băn khoăn là có quá nhiều cơ chế gây ung thư trên người. Tuy nhiên, phần lớn các protein ung thư (oncoprotein) hiện nay được biết lại được cho là các thành viên làm giới hạn các con đường tín hiệu hoặc ít nhất là tác động lên chúng. Dĩ nhiên, "con đường ung thư" là các hệ thống điều hòa về số phận, sự sống sót, tăng sinh, biệt hóa, cũng như các chức năng bình thường của TB. Trong các TB ung thư, chúng thích ứng với việc hoạt hóa quá mức hay bị bất hoạt tạo nên các tính chất đặc trưng của các TB ung thư như tăng sinh một cách mất kiểm soát, biệt hóa bị ngăn chặn, giảm apoptosis, thay đổi cấu trúc mô v.v.. Một số con đường ung thư khá đặc biệt, còn đa số các ung thư khác thì giữ vai trò quan trọng trong số các khối u ác tính.

Để tránh việc xem xét mỗi hệ thống điều hòa TB như là một con đường dẫn đến ung thư, người ta đã xây dựng một định nghĩa có thể chấp nhận được như sau: "*Con đường dẫn đến ung thư" là một hệ thống điều hòa TB mà sự hoạt hóa hay bất hoạt của nó bởi một đột biến gen hay đột biến epigenetic là cần thiết để phát triển ít nhất một dạng ung thư trên người*. Thường là các con đường dẫn đến ung thư trở nên rõ ràng hơn khi xuất hiện những biến đổi các thành phần khác nhau của cùng hệ thống điều hòa ở từng cá thể đối với một dạng ung thư hay nhiều dạng ung thư khác nhau.

Tiêu chí sau cùng là, một số hệ thống điều hòa sẽ được xử lý, bao gồm con đường MAPK, hệ thống điều hòa TP53 và mạng lưới điều hòa chu kỳ TB bởi RB1. Cũng cần phải nhấn mạnh rằng, tất cả các con đường này đều có sự tương tác với nhau. Những con đường cũng như các protein khác cũng có sự kết nối với chúng, chẳng hạn như con đường PI3K, PKC kinase, con đường STAT, con đường NFκB và con đường đáp ứng TGFβ. Nhóm thứ 3 của các con đường ung thư bao gồm con đường WNT, con đường đáp ứng Hedgehog và hệ thống điều hòa NOTCH. Chúng rất cần thiết đối với việc điều hòa sự tạo dáng và biệt hóa của các mô trong thời kỳ phát triển thai nhi cũng như rất quan trọng đối với sinh trưởng của con người vì nó duy trì cân bằng nội mô, đặc biệt trong các mô luân chuyển nhanh hoặc tái sinh thường xuyên. Chúng đặc biệt quan trọng trong các ung thư chuyên biệt.

## 7.2. TÍN HIỆU MAPK ĐƯỢC COI LÀ MỘT CON ĐƯỜNG UNG THƯ

Con đường tín hiệu MAPK còn gọi là con đường tín hiệu protein kinsae kích hoạt phân bào. Con đường này dẫn truyền nhiều loại tín hiệu ngoại bào và tạo ra hàng loạt các đáp ứng khác nhau như tăng trưởng, biệt hóa, viêm và apoptosis. Con đường này có thể tóm lược như sau:

***Tác nhân kích thích > MAPKKK > MAPKK > MAPK > Đáp ứng.*** Trong đó MAPKK là một kinase của MAPK và MAPKKK lại là kinase của MAPKK. Trong nhiều trường hợp MAPKKK được kích hoạt (hoạt hóa) bởi protein G trọng lượng phân tử nhỏ như Ras, Rac và Rap1. Tuy nhiên, MAPKKK cũng có thể được hoạt hóa bởi một số enzyme khác. Con đường MAPK không chỉ truyền tín hiệu từ màng vào nhân TB mà còn truyền tín hiệu vào bộ máy dịch mã và khung tế bào. Tín hiệu thông qua con đường MAPK kinh điển bao gồm các protein RAF, MEK và ERK cần cho sự tăng sinh của các TB bình thường cũng như nhiều TB ung thư. Trong các TB bình thường, nó thường đóng vai trò là các tín hiệu receptor tyrosine kinase (RTK) được hoạt hóa bởi các yếu tố tăng trưởng của nhân, kết cục là làm hoạt hóa sự biểu hiện gen. Nó cũng có thể được hoạt hóa bởi nhiều thể loại kích thích nội và ngoại bào khác nữa đồng thời cũng tạo ra các hiệu ứng khác ngoài hiệu ứng làm thay đổi sự biểu hiện của gen. Trong các TB khối u, tín hiệu MAPK thường được tăng cường, làm hoạt hóa ung thư với RTK hoặc RAS. Vì thế, con đường MAPK được coi như là một thác phân bào cổ điển (classical mitogenic cascade) hay là con đường kinh điển (canonical pathway).

Trên thực tế ở động vật, có 3 con đường MAPK chính đã được xác định là MAPK/ERK, MAPK/JIN và p38 MAPK. Con đường MAPK/ERK là một trong số 6 phức hợp (module) mà mỗi module bao gồm 1 MAP kinase (tương tự ERK1/2), 1 MAPK kinase (tương tự MEK1/2) và 1 MAP kinase kinase (tương tự RAF1, ARAF, hoặc BRAF). Những module MAPK khác này đáp ứng hơn với các tín hiệu ngoại bào xuất phát từ các yếu tố tăng trưởng, tuy nhiên cũng có tín hiệu bắt nguồn từ các hormone và cytokine tác động thông qua các protein G, các phân tử kết dính TB và các tín hiệu stress được sản sinh trong TB hay màng TB. Cũng giống như con đường kinh điển, các module này cũng có thể kích thích sự tăng sinh TB, apoptosis, sự biệt hóa TB hay các chức năng TB chuyên biệt. Tuy nhiên, không có module nào liên quan rõ ràng đến sự kiểm soát tăng sinh của TB với tư cách là con đường kinh điển trong ung thư.

Có nhiều nghiên cứu về con đường tín hiệu song hành liên quan tới MEKK1, MEK4, và JNK (JUN N-terminal kinase) dẫn đến sự phosphoryl hóa yếu tố hoạt hóa (activator) sao chép JUN. Con đường được hoạt hóa bởi các protein RAS, đặc biệt trong đáp ứng với stress do chiếu xạ UV và nhiệt hoặc đáp ứng với một số cytokine xác định. Các protein liên kết GTP khác như RAC hoặc CDC42 đáp ứng với các tín hiệu dính kết

TB, con đường này được hoạt hóa thông qua MEKK1, 2 hoặc 3. Kết quả của sự hoạt hóa con đường MAPK này thường làm dừng sự tăng sinh TB hơn là kích thích nó. Trong một số trường hợp, nó có thể cảm ứng apoptosis. Cũng tương tự như vậy, con đường JNK dường như quan trọng đối với sự tiến triển môt số ung thư, nhưng thường là điều hòa xuống hơn là hoạt hóa quá mức ung thư. Đặc biệt là các thành phần của nó dường như không tham gia kiến tạo đích nguyên phát (primary target) đột biến ung thư trên người. Thật lý thú là, lại có một vài điểm "giao thoa" (cross-talk) giữa các con đường MAPK khác nhau, ví dụ như ở các mức MAPKK. Tại điểm giao thoa, thông tin được truyền dẫn theo nhiều hướng khác nhau, tới nhiều đích khác nhau, chẳng hạn như JUN được phosphoryl hóa là do hệ quả của sự hoạt hóa con đường JNK MAPK, trong khi đó các protein lại được cảm ứng sao chép bởi con đường ERK MAPK. Do vậy, trong quá trình tăng sinh của TB bình thường thì có sự hiệp đồng cả 2 con đường MAPK.

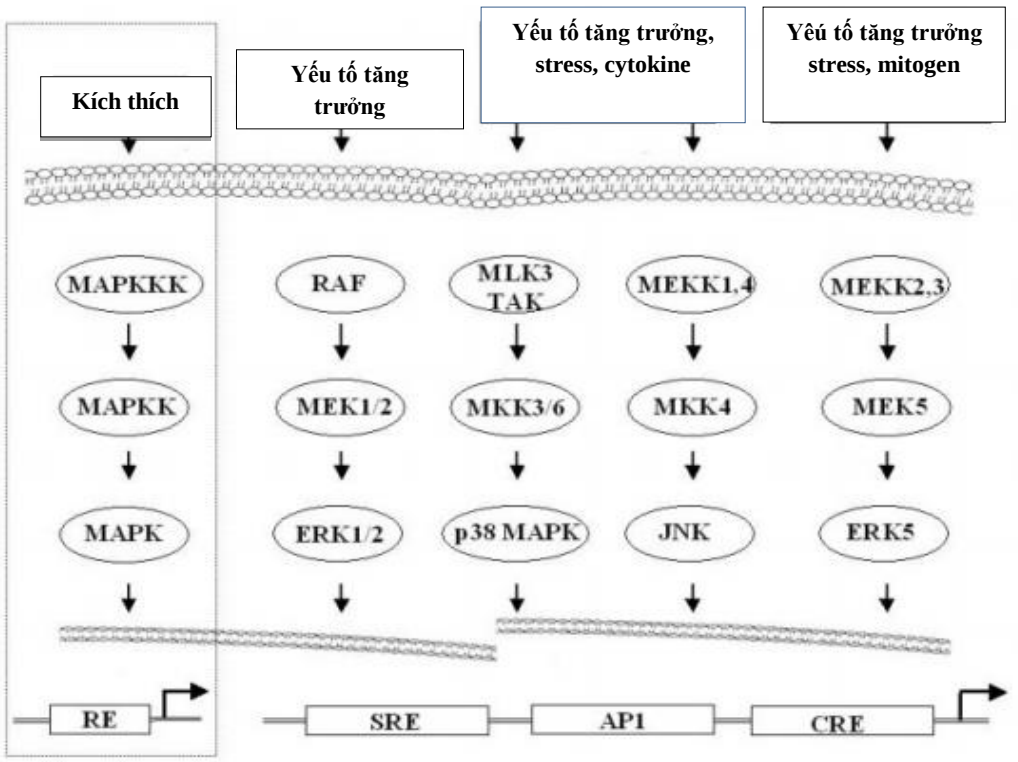
❑ ***Sự hoạt động của con đường MAPK***

Cả 2 con đường ERK và JNK MAPK đều có thể được hoạt hóa thông qua protein RAS (Hình 7.2). RAS-GTP tác động trực tiếp ở mức MEKK bằng cách kết tập các protein RAF hay MEKK tới màng TB và làm giảm sự tự ức chế của chúng (autoinhibition). Các protein RAS tác động dưới phương thức gián tiếp trên RAC protein G thông qua sự hoạt hóa PI3K, một thành phần chủ chốt của con đường ung thư khác. Ngoài ra, các protein RAC, RAS lại điều hòa các protein G nhỏ tương tự khác như RAL và RHO bằng cách hoạt hóa các yếu tố trao đổi GTP (GTP-exchange factor) của chúng GEF, hoặc protein hoạt hóa GTPase (GTPase activating protein) GAP. Thông qua những con đường này, người ta nghĩ rằng RAS khởi xướng ra những biến đổi bộ xương TB, hình dáng, độ kết dính và sự dịch chuyển của TB.

Rõ ràng là, những biến đổi như thế chắc là cũng ảnh hưởng tới "hành vi" của TB ung thư *in vivo*. Tác động của RAS trên con đường PI3K có thể là đặc biệt ý nghĩa đối với các ung thư mà trong đó con đường này thường không bị kích hoạt một cách tự động. Vì thế đột biến RAS trong ung thư người xuất hiện với tần suất cao có thể được lý giải là do các chức năng của nó được ví như là nút điều chỉnh một số con đường có liên quan tới các đặc tính nguyên phát của các TB ung thư. Trong số các hiệu ứng khác nhau này thì sự hoạt hóa con đường ERK MAPK có thể là quan trọng nhất đối với sự kích thích tăng sinh TB trong các ung thư có các đột biến RAS cũng như các ung thư có sự kích hoạt ung thư với receptor tyrosine kinase ngược dòng với RAS. Một trong số các tranh luận về học thuyết này là các đột biến loại trừ lẫn nhau trong các gen RAS và BRAF trong một số ung thư, nổi bật nhất là trong u hắc tố (melanoma).

**Bảng 7.1.** *Tóm lược các con đường ung thư*

| Con đường hay mạng lưới | Ung thư có liên quan | Protein ung thư | Kiềm chế khối u | Ghi chú |
|---|---|---|---|---|
| Con đường MAPK (kinh điển) | Nhiều | RAS, BRAF, (MYC) | | Cũng là phần tử hữu hiệu cho receptor tyrosine kinase ung thư |
| Con đường PI3K | Nhiều | PI3K, AKT | PTEN, CTMP | Cũng là phần tử hữu hiệu cho receptor tyrosine kinase ung thư |
| Mạng lưới TP53 | Nhiều | MDM2/HDM2 | TP53, ATM, BAX | |
| Mạng lưới RB1 | Nhiều | Cyclin D1, CDK4, (MYC) | RB1, $p16^{INK4A}$, $P15^{INK4B}$ | |
| Con đường TGFβ | Ung thư biểu mô,<br>Các ung thư mô mềm chọn lọc, bệnh bạch cầu chọn lọc | | TGFβRII, SMAD2<br>SMAD4, RUNX | Bất hoạt đặc thù các ung thư biểu mô, nhưng hoạt hóa các ung thư mô mềm |
| Con đường JAK/STAT | Ung thư biểu mô chọn lọc, nhiều bệnh bạch cầu và u lympho | STAT3, STAT5(?) | STAT1(?), SOCS1 | Cũng tác động tới các receptor cytokine gây ung thư và các protein liên hợp |
| Con đường NFκB | Bệnh bạch cầu chọn lọc nhiều ung thư biểu mô | Protein REL | CYLD | Tác động mạnh mẽ phụ thuộc vào điều kiện và dạng TB |
| Con đường WNT | Ung thư kết tràng, phổi, gan, vú, dạ dày và các UT khác | WNT1,β-Catenin | APC, AXIN | Kích thích bởi E-Cadherin và SFRP |
| Con đường SHH | Ung thư da, não và phổi | SHH(?), SMO, GLH (?) | PTCH1, PTCH2, SUFU | |
| Con đường NOTCH | U lympho tế bào T<br>Ung thư biểu mô | NOTCH1 | NOTCH1 | Tác động mạnh mẽ phụ thuộc vào điều kiện và dạng TB cũng như liều lượng gen. |

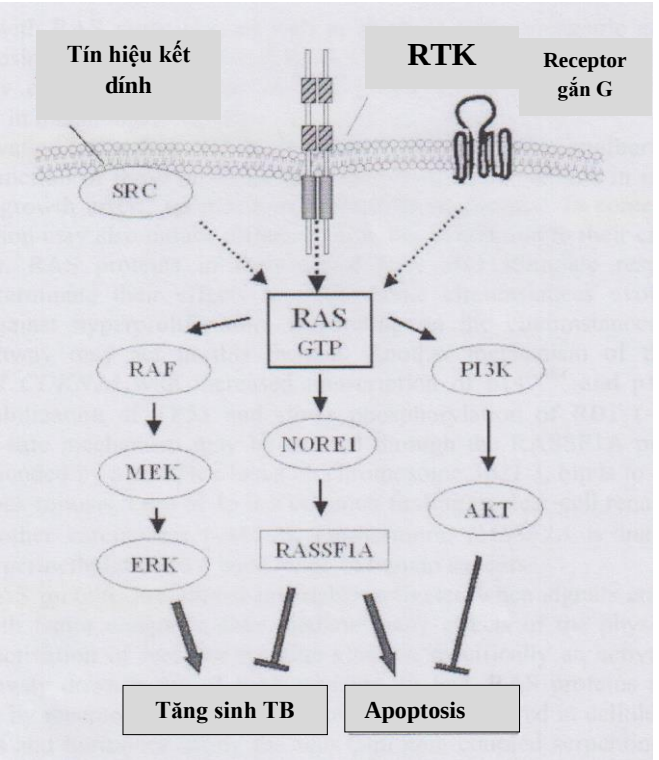



**Hình 7.1** *Module MAPK.*

Phía bên trái: cơ cấu chung của module MAPK. Một số module thực tế ở phía bên phải. Thực ra còn có nhiều module hơn nữa (như có tới 5 JNK isozyme) và có thể có các giao thoa nối nhau..

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Việc hoạt hóa con đường JNK MAPK bởi RAS là một khía cạnh khác thuộc về chức năng đa chiều của những protein này. Khi hoạt hóa quá mức các protein RAS ở các TB bình thường lại có thể cảm ứng dừng tăng trưởng, apoptosis hay làm lão hóa sự nhân lên của TB. Trong một số dạng TB, sự hoạt hóa RAS cũng có thể cảm ứng sự biệt hóa. Chính vì vậy, ngoài hiệu ứng của chúng lên tăng sinh TB, các protein RAS ở trạng thái hoạt hóa cũng kích thích các đáp ứng khác, thậm chí cả đáp ứng làm chấm dứt tác dụng của chúng, hoặc trong một số tình huống lại sinh ra các phản ứng không an toàn (fail-safe reactions) kháng lại sự cường tăng sinh. Tùy thuộc vào từng trường hợp mà con đường JNK MAPK cũng có thể tác động theo cách thức này hay cách thức khác. Một cơ chế khác theo kiểu này là cảm ứng CDKN2A, với việc tăng cường sao chép của $p14^{ARF1}$ và $p16^{INK4A}$ dẫn đến ổn định hóa TP53 và làm chậm sự phosphoryl hóa của RB1. Vẫn còn một cơ chế không an toàn khác nữa có thể được tác động thông qua các protein RASSF1A. Protein này được mã hóa bởi một locus phức hợp trên nhiễm sắc thể 3p21.3, kết hợp cùng với các vi ống có thể ngăn chặn quá trình mitosis. Mất 3p thường thấy trong các ung thư TB thận và có thể ở nhiều ung thư khác nữa. Hơn nữa, RASSF1A lại bị bất hoạt bởi cường methyl hóa promoter trong hàng loạt ung thư trên người.




**Hình 7.2** RAS với tư cách là một nút trong tín hiệu tế bào. Việc hoạt hóa RAS có thể xảy ra do hệ quả của một vài tín hiệu đầu nguồn và sau đó nhiều con đường được hiện ra do các protein RAS kích hoạt.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Vì RAS luôn được kích hoạt khi các tín hiệu xuất phát từ receptor yếu tố tăng trưởng nên chúng làm trung gian cho nhiều quá trình hoạt động sinh lý hay bệnh lý sinh ung thư của các receptor tyrosine kinase, đặc biệt là trong hoạt hóa xuôi dòng (downstream) con đường MAPK của các protein RAS. Trên thực tế, các protein RAS không những là trung gian cho các tín hiệu tạo bởi receptor tyrosine kinase mà còn tham gia vào các đáp ứng cytokine và hormone của TB thông qua các protein G nối với các receptor serpentine. Ngược lại, receptor tyrosine kinase và các module khác lại điều chỉnh sự hoạt động của MAPK, PI3K và các con đường gây ung thư khác không những thông qua RAS mà còn qua nhiều cơ chế dẫn truyền tín hiệu khác nhau.

## 7.3. CON ĐƯỜNG PI3K

Con đường PI3K có chức năng kiểm soát trao đổi chất TB, đặc biệt là sự vận chuyển và sử dụng glucose trong điều hòa tăng trưởng TB, đặc biệt là sinh tổng hợp protein đồng thời nó còn ngăn chặn apoptosis. Con đường này được kích thích bởi các protein RAS và receptor tyrosine kinase hoạt hóa, nhưng nó cũng phản hồi lại con đường xuôi chiều (downstream) của RAS. Nó được nhận ra như một con đường ung thư

bởi vì một thành phần ức chế chính của nó là PTENT - chất kiềm chế ung thư cổ điển. Hai thành phần khác tác động tới hội chứng khối u ở người là TSC1 và TSC2, nó kích thích các bước trung gian của con đường này. Hơn thế nữa, trong một số trường hợp, PI3K lại chứng tỏ như là một protein gây ung thư. Chẳng hạn như, các gen của nó được khuếch đại trong ung thư buồng trứng.

PI3K là viết tắt của phophatidyl inositol phosphate kinase vì là enzyme phosphoryl hóa nên các dẫn suất của chất này ở vị trí số 3 của vòng inositol (PI), PI(4)P, và PI(4,5)P được biến đổi thành PI3P, PI(3,4)P và PI (3,4,5)P để tạo ra các chất dẫn truyền thông tin thứ cấp điều hòa các hoạt động sống của TB như quá trình sao chép và sinh tổng hợp protein, quá trình phân chia và chết TB. Một vài isoenzyme khác của PI3K cũng tồn tại, trong đó PIKα là một trong số có liên quan nhất đối với ung thư. PI3Kα cũng có hoạt tính protein kinase, nhưng chưa xác định rõ cơ chất. Nó là một heterodimer bao gồm tiểu đơn vị xúc tác p110 và tiểu đơn vị điều hòa p85 mà ở trạng thái cơ bản nó hạn chế hoạt tính của tiểu đơn vị xúc tác.

Sau khi kích hoạt và tự phosphryl hóa receptotor tyrosine kinase, heterodimer PI3K gắn vào tyrosine phosphate thông qua domain SH2 của p85 dẫn đến hoạt hóa tiểu đơn vị xúc tác. Đây cũng là sự kích thích độc lập và hiệp đồng bằng cách trực tiếp tương tác với RAS-GTP. Sự phosphoryl hóa lipid tạo ra PI(3,4,5)P ở mặt trong của màng sinh chất. Do vậy đã tạo nên các vị trí gắn cho các protein có chứa domain pleckstrin homology (PH), mà theo cách này nó tái định vị vào màng. Trong số protein như thế thì GEF đối với RAS và các protein giống RAS khác có liên quan tới việc tổ chức bộ khung TB.

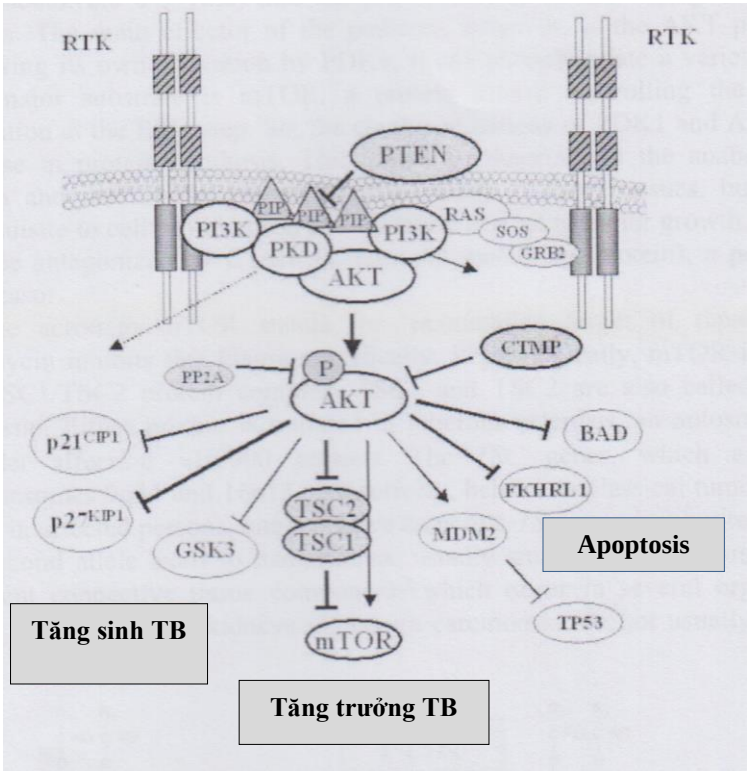
Con đường PI3K thật sự (Hình 7.3) được thực hiện thông qua các protein kinase PDK1 và AKT, cũng được biết đến như là PKB; PDK1 trở nên kích hoạt trực tiếp do gắn vào PI(3,4,5)P, trong khi đó AKT lại cần phải được phosphoryl hóa thêm bởi PDK1 mới trở nên kích hoạt. PDK1 phosphoryl hóa các protein kinase khác, bao gồm PKC isozyme ξ và $p70^{S6K}$, cũng là đích của các ERK MAP kinase. Tuy nhiên, hiệu ứng chính của con đường này lại là AKT protein kinase. Sau sự hoạt hóa bởi PDK1, nó có thể phosphoryl hóa rất nhiều protein. Một chất chính là mTOR- một protein kinase kiểm soát sự khởi đầu của dịch mã ở bước EIF4. Như vậy, tác động tổ hợp của PDK1 và AKT dẫn đến làm tăng tổng hợp protein. Hiệu ứng này rất quan trọng trong tác động đồng hóa insulin và các yếu tố tăng trưởng giống insulin (insulin-like growth factor– IGF) trong nhiều mô, nhưng nó cũng là một điều kiện tiên quyết đối với sự tăng sinh TB, do vậy nó giữ vai trò trọng yếu đối với sư tăng sinh khối u. Hoạt tính của AKT có thể bị đối kháng bởi CTMP (C-terminal membrane protein)- một chất kiềm chế khối u tiềm năng.

mTOR là từ viết tắt của "mammalian target of rapamycin", vì rapamycin ức chế đặc hiệu kinase này. Về mặt sinh lý học, mTOR bị ức chế bởi phức hợp protein TSC1/TSC2; TSC1 và TSC2 cũng được gọi là *tuberin* và *hamartin*. Một trong 2 protein này đã bị đột biến trong sơ cứng có nốt (tuberous sclerosis), một rối loạn tính trạng trội tác động với tỷ lệ khoảng 1/6000 người. Các gen TSC định vị ở nhiễm sắc thể 9q34 và 16p13 và chúng ứng xử như là các chất kiềm chế khối u cổ điển. Bởi vậy, ở những người bị tác động thì một bản sao khiếm khuyết của gen TSC được di truyền lại. Nếu có đột biến ở allele thứ 2 thì dẫn đến u mô thừa (hamatoma), thường là các u lành nhỏ, bao hàm các thành phần khác nhau của mô liên kết, điều này xảy ra ở một số cơ quan gồm não, tim, phổi và thận. Mặc dầu những carcinoma này không phát hiện thấy trong hội chứng này, nhưng các gen TSC1 có thể có liên quan đến ung thư bàng quang và có lẽ cả ung thư thận. Trong quá trình tăng trưởng, việc ức chế mTOR bởi các protein TSC bị giảm đi do có sự phosphoryl hóa các protein TSC2 lớn ở Ser 939 và Thr 1462 bởi AKT protein kinase. Vì chức năng của TSC bị mất nên dẫn đến hoạt hóa quá mức mTOR. Rapamycin hiện nay được xem xét cho việc  điều trị căn bệnh này.

Hội chứng khối u do đột biến các gen TSC làm nổi bật tầm quan trọng của việc hoạt hóa tổng hợp protein cũng như sự kích thích tăng trưởng TB bởi con đường PI3K. Tuy nhiên, con đường này còn nhiều chức năng nữa. Điều này được chứng minh khá rõ ràng bởi hội chứng u Cowden di truyền (hereditary Cowden tumor syndrome) do các đột biến ở gen PTEN, định vị ở 10q23.3. Sản phẩm của nó là một lipid phosphatase và một protein phosphatase, vì PI3K là một lipid kinase và protein kinase. PTEN đối kháng với PI3K do có sự loại bỏ bằng thủy phân nhóm phosphate ở vị trí 3 của phosphatidyl inositol (Hình 7.4). Cũng giống như các đột biến ở các gen TSC, các đột biến PTEN trong dòng mầm đã mở đường cho nhiều u mô thừa, nhưng khác với xơ cứng dạng nốt, hội chứng Cowden chứa đựng các rủi ro cho nhiều ung thư thông thường như ung thư kết tràng, ung thư vú. Những sự xoá bỏ (đứt đoạn), đột biến và bất hoạt gen PTEN cũng quan sát thấy ở nhiều ung thư lẻ tẻ khác. Trong hàng loạt ung thư, trong đó sự bất hoạt PTEN là phổ biến vì nó là một trong số các chất kiềm chế khối u quan trọng nhất. Thường là các ung thư lẻ tẻ mất PTEN đều liên quan đến sự tiến triển của khối u và tình trạng lâm sàng trở nên nặng hơn.

AKT protein kinase không những kích thích tổng hợp protein mà còn tác động tới sự sống sót và tăng sinh TB. Sự sống sót của TB được thúc đẩy bằng một vài con đường. Phosphoryl hóa yếu tố sao chép chạc ba (forkhead transcription factor) giống như FKHR-L1 ngăn chặn sự hoạt hóa sao chép các gen tiền apoptosis và các gen ức chế tăng trưởng. Sự phosphoryl hóa bởi AKT cũng làm ức chế một yếu tố hoạt hóa apoptosis quan trọng BAD. Trong cả hai trường hợp, các protein được phosphoryl hóa bởi AKT đều được nhận ra bởi các protein 14-3-3. Phức hợp protein này được giữ ở bào

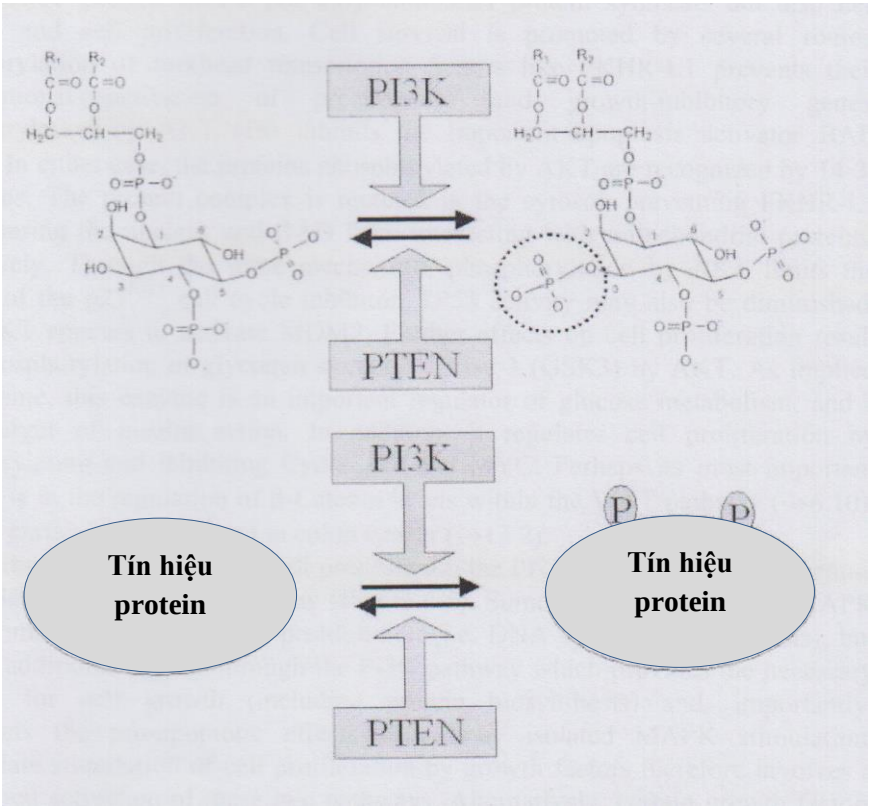
tương, ngăn chặn FKHR-L1 xâm nhập vào hạch nhân và BAD khỏi tương tác với các protein của ty thể. Thông qua cùng một cơ chế, sự phosphoryl hóa bởi AKT làm giới hạn hoạt tính của chất ức chế chu kỳ tế bào $p27^{KIPI}$. Hoạt tính của TP53 cũng có thể giảm vì sự xuất hiện của AKT làm kích hoạt MDM2. Các hiệu ứng khác lên sự tăng sinh TB cũng do sự phosphoryl hóa glycogen synthase kinase 3 (GSK3) bởi AKT. Như tên gọi của nó, enzyme này là một chất điều hòa quan trọng đối với chuyển hóa glucose và là đích chủ chốt của tác động insulin. Ngoài ra, nó còn điều hòa tăng sinh TB bằng phosphoryl hóa và ức chế cyclin D1 và MYC. Có lẽ chức năng quan trọng nhất của nó là điều hòa mức β- caterin trong con đường WNT, điều này đặc biệt quan trọng đối với ung thư kết tràng.




**Hình 7.3** *Con đường PIK.*

Những biến cố ở trung tâm con đường PIK thúc đẩy sự tăng sinh, tăng trưởng TB hoặc ngăn chặn apoptosis, lưu ý là các hiệu ứng của PKD và PI3K ngoại trừ sự phosphoryl ra còn các vấn đề khác không được trình bày chi tiết ở đây. Hiệu ứng của AKT xảy ra chủ yếu thông qua sự phosphoryl hóa. Các thành phần PI3K chính được khoanh bởi các nét đậm; protein ức chế được đánh dấu màu xám.

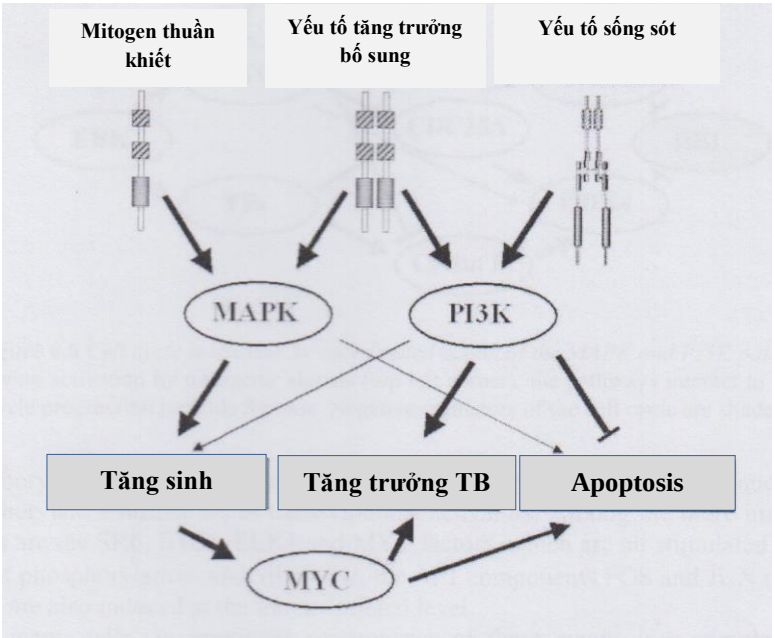
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)




**Hình 7.4** *Các phản ứng xúc tác bởi PI3K và PTEN*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Nói tóm lại, trong quá trình tăng sinh TB thì con đường PI3K có thể là cần thiết nhằm bổ sung cho con đường MAPK (Hình 7.5). Đơn giản hóa là con đường MAPK kích thích chủ yếu sự tăng sinh TB (như tổng hợp DNA và sự phân bào mitosis), nhưng nó đòi hỏi phải có các tín hiệu phụ thông qua con đường PI3K cung cấp các kích thích cần thiết cho sự tăng trưởng TB (bao hàm cả sinh tổng hợp protein) và quan trọng là nó làm mất tác dụng của các hiệu ứng tiền apoptosis do sự cô lập các kích thích MAPK. Kích thích thích hợp sự tăng sinh TB bởi các yếu tố tăng trưởng vì thế liên quan đến việc hoạt hóa phối hợp cả 2 con đường này. Có thể lựa chọn các yếu tố tăng trưởng xác định để kích thích ưu tiên hơn con đường PI3K, nổi bật nhất là các thành viên của họ insulin như IGF1 và IGF2, tác động chủ yếu như các yếu tố tăng trưởng đối với sự sống sót. Chúng cũng có thể đóng vai trò là các yếu tố tăng trưởng bổ sung tác động chủ yếu thông qua con đường MAPK. Do đó, đối với các TB ung thư thì các đột biến dẫn đến hoạt hóa kiến tạo con đường MAPK có thể được bổ sung bằng cách tăng hoạt tính của các yếu tố tăng trưởng sống sót hoặc bằng các đột biến trong con đường PI3K, tức là đã vô hiệu hóa được chức năng của PTEN.




**Hình 7.5** *Sự hiệp đồng giữa con đường PI3K và MAPK*

Mô tả đơn giản sự tương tác giữa 2 con đường được hoạt hóa bởi các yếu tố tăng trưởng và sống sót, tác động hầu hết là thông qua receptor tyrosine kinase.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

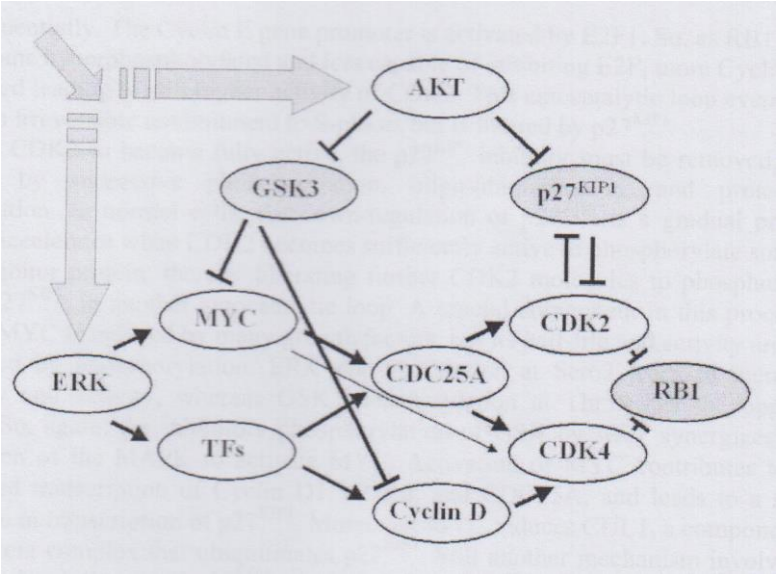
## 7.4. ĐIỀU HÒA CHU KỲ TẾ BÀO BẰNG CON ĐƯỜNG MAPK VÀ PI3K

Sự tăng sinh bình thường như thế thường liên quan tới sự hoạt hóa phối hợp giữa các con đường MAPK và PI3K. Những con đường này đã cùng nhau phơi bày đầy đủ mọi sự biến đổi, như tăng chuyển hóa, tăng cường tổng hợp protein, tổ chức lại bộ xương TB, ức chế các tín hiệu tiền apoptosis và tất nhiên là cả kích thích tiến trình chu kỳ TB từ phase G1/G0 vào phase S. ngoài ra còn có thêm một vài cơ chế hiệp lực khác để tạo ra được các đáp ứng sinh học của tế bào.

Kế sau là sự chuyển vị của các tín hiệu vào nhân tạo nên hàng loạt hiệu ứng hoạt hóa MAPK và protein kinase ERK, phosphoryl hóa một số yếu tố hoạt hóa sao chép có liên quan tới tiến trình chu kỳ TB. Ngoài ra, ERK kinase cũng phosphoryl hóa $pp90^{RSK}$ kinase, rồi sau đó cũng di chuyển tới nhân để phosphoryl hóa một bộ (set) khác các yếu tố hoạt hóa sao chép. Một trong những mục tiêu quan trọng hơn cả là các yếu tố SRF, ETS1, ELK1 và MYC, tất cả đều được kích thích theo kiểu phosphoryl hóa này, và tất nhiên là các cấu thành FOS và JUN của AP1 cũng bị cảm ứng ở mức sao chép.

Trong nhiều TB, hệ quả quan trọng của những sự kiện này là kích thích sự sao chép cyclin D. Cyclin D điều khiển sự tiến triển của chu kỳ TB, đặc biệt là ở giai đoạn

G1. Quá trình này bị ức chế bởi sự thoái hóa protein mà sự thoái hóa đó được tăng cường nếu cyclin D được phosphoryl hóa bởi GSK3. Sự phosphoryl hóa ức chế này được ngăn chặn bởi sự phosphoryl hóa GSK3 bằng AKT. Vì vậy sự hoạt hóa đồng thời của cyclin D là một vấn đề quan trọng đối với sự hiệp lực giữa con đường MAPK và PI3K.




**Hình 7.6** *Hoạt hóa chu kỳ tế bào bằng sự kích hoạt phối hợp con đường MAPK và PI3K.*

Kế sau sự hoạt hóa bởi các tín hiệu phân bào (trên cùng góc trái), các con đường này sẽ tương tác để kích thích tiến trình chu kỳ tế bào đến phase S. Các chất điều hòa âm đối với chu kỳ tế bào không được thể hiện ở đây.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Sự hoạt hóa các gen khác như CDC25A và CDK4 (ở mức thấp hơn) được coi như là hệ quả của việc kích thích con đường MAPK. Sự cảm ứng CDC25A phosphatase hiệp lực cùng sự tích tụ cyclin D sẽ làm tăng hoạt tính của CDK4 vì phosphatase loại bỏ nhóm phosphate threonine ức chế khỏi CDK4 cũng như CDK2.

Khi CDK4/cyclinD holoenzyme bị tích tụ thì nó gắn càng ngày càng nhiều vào $p27^{KIPI}$ để chuyển thành CDK2. Vì cyclin E bắt đầu tích tụ ở giai đoạn này của chu kỳ TB nên hoạt tính của enzyme CDK2/cyclin E tất nhiên tăng lên. Promoter của gen cyclin E được hoạt hóa bởi E2F1. Vậy thì, khi RB1 bắt đầu được cường phosphoryl hóa và mất khả năng ức chế E2F, thì cyclin E được tạo ra càng nhiều dẫn đến hoạt tính của CDK2 cao hơn. Vòng (loop) tự xúc tác này chắc chắn phải dẫn TB đến phase S, tuy nhiên nó lại được tiết chế bởi $p27^{KIPI}$.

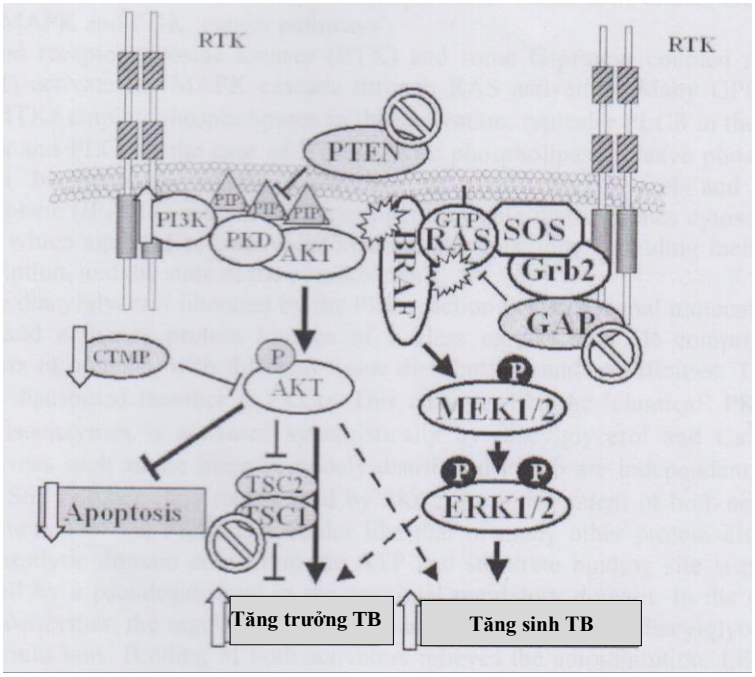
Để CDK2 trở nên hoạt hóa đầy đủ, chất ức chế $p27^{KIPI}$ phải được loại bỏ. Điều này xảy ra khi sự phosphoryl hóa thành công, khi ubiquitin hóa oligo (oligo-ubiquitination) và khi có sự phân giải proteolytic. Trong các TB bình thường, sự điều hòa xuống $p27^{KIPI}$ là một quá trình xảy ra dần dần, nó chỉ được thúc đẩy nhanh tiến độ

khi CDK2 trở nên hoạt hóa đầy đủ để phosphoryl hóa một số protein ức chế, do đó việc giải phóng thêm các phân tử CDK2 là để phosphoryl hóa nhiều hơn $p27^{KIPI}$ ở vòng tự xúc tác khác. Một thành phần quan trọng trong quá trình này là MYC. MYC bị cảm ứng bởi nhiều yếu tố tăng trưởng, nhưng đời sống bán phần và hoạt tính của nó cũng được điều hòa bởi sự phoshoryl hóa. Phosphoryl hóa ERK ở Ser62 dẫn đến gia tăng tính ổn định và hoạt tính của nó, trong khi đó phosphoryl hóa GSK ở Thr58 lại cho hiệu ứng trái ngược. Do vậy, một lần nữa sự phosphoryl hóa chất ức chế GSK bởi AKT hiệp lực cùng với sự kích hoạt MAPK sẽ làm hoạt hóa MYC. Sự hoạt hóa MYC góp phần làm tăng sự sao chép của cyclin D1, CDK4 và CDC25A, dẫn đến giảm thiểu sự sao chép $p27^{KIPI}$. Hơn nữa, MYC lại cảm ứng CUL1 – một thành phần của phức hợp protein làm ubiquitin hóa $p27^{KIPI}$. Vẫn còn một cơ chế khác liên quan là giảm phiên dịch (tổng hợp protein) $p27^{KIPI}$, rất có thể đó là hệ quả của sự hoạt hóa PI3K. Do vậy, điều hòa MYC và $p27^{KIPI}$ là các điểm khác của sự hiệp lực giữa 2 con đường.

Những sự hiệp lực để điều hòa chu kỳ TB bằng sự hoạt hóa đồng thời cả hai con đường MAPK và AKT trong quá trình tăng sinh TB bình thường đã được phản ánh qua những thay đổi quan sát được trong các ung thư (Hình 7.7). Các receptor tyrosine kinase khi bị hoạt hóa quá mức cũng có thể trở thành các gen sinh ung thư mạnh, vì chúng có khả năng hoạt hóa cả 2 con đường. Tương tự như vậy, RAS sinh u (oncogenic) có lẽ cũng hoạt hóa cả 2 con đường, mặc dù hiệu quả thấp hơn. Ngược lại, MYC sinh ung thư bản thân nó đã rất hiệu quả trong việc thúc đẩy tăng sinh TB (với nghĩa rộng) và kích thích tiến trình chu kỳ TB và cũng có xu hướng đưa các TB vào apoptosis, song tác dụng này lại bị ức chế bởi các yếu tố làm hoạt hóa con đường PI3K như peptide IGF hoặc các đột biến RAS. Điều này đã giải thích rõ ràng sự hợp tác giữa các gen sinh ung thư giống RAS và giống MYC trong các thử nghiệm về sự biến nạp TB ở loài gậm nhấm. Sự hợp tác này cũng xảy ra ở nhiều loại ung thư của người.

Tuy nhiên, tổ hợp các biến đổi này có lẽ chưa đủ hiệu lực để gây nên ung thư trên người, bởi vì chúng bị kháng lại bởi các cơ chế bảo vệ của tế bào. Cơ chế quan trọng nhất có thể là sự hoạt hóa TP53 bởi các tín hiệu cường tăng sinh và thông qua sự tích tụ của $p16^{INK4A}$ như CDK inhibitor và $p21^{CIPI}$ trong quá trình tăng trưởng nhanh liên tục của các tế bào bình thường. Những cơ chế không an toàn này dẫn đến apoptosis ở một số trường hợp, nhưng thông thường hơn là làm "lão hóa" sao chép. Vì vậy, tại một vài điểm then chốt trong quá trình phát sinh phát triển ung thư trên người, các cơ chế này cần phải được khống chế. Cách triệt để nhất cho việc bất hoạt chúng là làm mất đi cả RB1 và TP53. Một giải pháp phổ biến khác là có thể loại bỏ locus *CDKN2A* mã cho $p16^{INK4A}$ và $p14^{ARF}$. Lưu ý là, quá trình phát sinh và phát triển ung thư còn bao gồm cả việc làm giảm sự phụ thuộc của TB ung thư với các yếu tố tăng trưởng ngoại bào và tăng sự dung nạp của chúng với sự bất ổn định hệ gen (genomic).

Như vậy, những biến đổi dẫn đến tăng hoạt tính kiến tạo của các con đường MAPK và PI3K trong một số trường hợp cũng bị giới hạn. Nhưng ít nhất là chúng đã gây được áp lực chọn lọc mạnh mẽ đối với các biến đổi để đưa tiến trình tới một kiểu hình hiếu chiến hơn. Dạng tiến trình này quan sát thấy ở nhiều loại ung thư trên người như ung thư biểu mô cũng như các ung thư máu.




**Hình 7.7** *Tóm lược những biến đổi ở các con đường MAPK và PI3K trong ung thư ở người.*

Những biến đổi của MAPK (bên phải) và PI3K (trái) cùng hợp lực để làm tăng sinh và tăng trưởng TB đồng thời làm giảm apoptosis. Dấu hiệu tiền apoptosis: sự bất hoạt do đứt đoạn, đột biến và/hoặc cường methyl hóa promotor. Dấu sao nở rộng: sự hoạt hóa do đột biến. Mũi tên xuống: giảm; mũi tên lên: tăng. Hoạt tính của cả 2 con đường cũng bị cảm ứng bởi hoạt hóa quá mức receptor tyrosine kinase hoặc có thể là bắt chước phần nào sự hoạt hóa gen sinh ung thư của các yếu tố sao chép, đặc biệt là họ MYC.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

## 7.5. ĐIỀU BIẾN CON ĐƯỜNG MAPK VÀ PI3K

Con đường MAPK và PI3K có nhiều hiệu ứng đối với TB, ảnh hưởng đến nhiều protein kinase, các yếu tố sao chép, các protein khung TB, các protein tác động ở ribosome và các chất điều hòa apoptosis. Trái lại, chúng lại bị hoạt hóa không những bởi các tín hiệu từ receptor tyrosine kinase mà còn được điều biến bởi nhiều tác nhân khác nữa. Ví dụ như các dạng receptor khác như receptor của cytokine và các receptor của protein G gắn kết serpentine (G-protein coupled serpentine receptor) cũng như các phân tử kết dính TB khác nhau.

Phần tín hiệu nội bào này có liên quan tới rất nhiều protein kinase bổ sung và các coenzyme khác. Một số trong thực tế đã được phát hiện với dáng hình thay đổi đáng kể như các gen gây ung thư (oncogene) retrovirus, nhưng đối với các ung thư trên người thì hiếm khi chúng xuất hiện như các oncogene hay các chất kiềm chế khối u phù hợp với các định nghĩa chuẩn đã được đề cập ở các chương trước. Tuy nhiên, những protein này trong các ung thư người rõ ràng là rất quan trọng trong việc thiết lập các tính chất điển hình của các TB ung thư cũng như các chất điều biến con đường ung thư MAPK và PI3K.

Hầu hết receptor tyrosine kinase (RTK) và một số receptor gắn kết protein – G (G-protein coupled receptors)- [GPCR]) đều hoạt hóa thác MAPK thông qua việc kích hoạt RAS. Nhiều GPCR và một số RTK sử dụng phospholipase trong quá trình hoạt hóa này, tiêu biểu là PLCβ trong trường hợp của GPCR và PLCγ trong trường hợp của RTK. Những phospholipase này tách nhóm phosphatidyl inositol biphosphte ở màng TB để tạo ra diacylglycerol và inositol triphossphte (IP3). IP3 là phân tử truyền tin thứ 2 điều hòa mức $Ca^{2+}$ hòa tan trong TB (cytosolic $Ca^{2+}$) tác động tới nhiều chức năng TB khác nhau, bao gồm sự chuyển hóa, sự sao chép và trạng thái của bộ khung TB.

Diacyglycerol được giải phóng ra từ các phản ứng PLC cũng là một phân tử tín hiệu, liên kết và hoạt hóa các protein kinase của một lớp có tên là PKC. Với người nó bao gồm trên 10 thành viên mà sự phân bổ và tính đặc hiệu ở các mô là khác nhau. Thành viên phân bổ rộng rãi nhất là PKCα. Enzyme này cũng giống như các izoenzyme PKCγ và PKCβ "cổ điển", nó được kích hoạt hiệp đồng bởi diacyglycerol và $Ca^{2+}$. Một izoenzyme khác nữa được phân bổ rộng hơn là PKCδ, nó không phụ thuộc vào các mức $Ca^{2+}$. Vẫn còn một lớp khác nữa mà đại diện là PKCξ, không phụ thuộc với cả 2 yếu tố hoạt hóa này. Cấu trúc của PKC là các module giống nhiều protein kinase khác. Domain xúc tác xa có chứa ATP và vị trí gắn cơ chất mà thường bị ức chế bởi một cơ chất giả trong domain điều hòa gần. Trong các izoenzyme PKC cổ điển, vùng điều hòa có chứa các vị trí gắn cho diacyglycerol và các ion calci. Khi gắn với cả 2 yếu tố hoạt hóa thì sẽ làm giảm được sự tự ức chế. Cũng giống như RAF, PDK và AKT, nhiều PKC được hoạt hóa ở mặt trong của màng sinh chất.

Vị trí gắn diacyglycerol trong các PKC có chứa các ester phorbol giống như tetradecanoyl phorbol acetate (TPA) hay còn gọi là phorbol myristyl acetate (PMA). Hợp chất này có nguồn gốc từ thực vật và là một chất kích thích mạnh, nó kích thích sự tăng sinh của một số TB. Trong các thí nghiệm trên động vật, nó thúc đẩy tăng trưởng khối u ở da, mặc dầu nó không phải là một tác nhân gây đột biến. Do vậy, nguyên bản nó phải là một "promoter khối u". Tuy nhiên, hiệu ứng này còn phụ thuộc vào từng mô và từng loài. Vấn đề này có liên quan tới dạng của PKC hiện diện và tầm quan trọng của nó như thế nào đối với điều hòa tăng sinh trong các mô riêng biệt. Các PKC cũng có thể liên kết và phản ứng với các ligand khác.

PKC là các protein kinase serine threonine có một thang cơ chất rất rộng, và các izoenzyme giữa các cá thể có sự khác biệt. Vì các PKC như PKCα và PKCε có thể phosphoryl hóa RAF nên chúng có thể làm trung gian cho sự kích thích thác MAPK độc lập hay hiệp đồng với RAS. Nhờ phosphoryl hóa các protein bộ xương TB như MARCKS nên chúng tác động tới cấu trúc actin của bộ xương TB. Điều này ảnh hưởng tới các quá trình di động và vận chuyển của TB, các quá trình này cũng được điều hòa trực tiếp bởi các PKC. Các PKC cũng phosphoryl hóa các receptor nhân như VDR. Sau chót là, không chỉ các PKC mà cả EGFR cũng có thể phosphoryl hóa và điều hòa receptor tyrosine kinase.

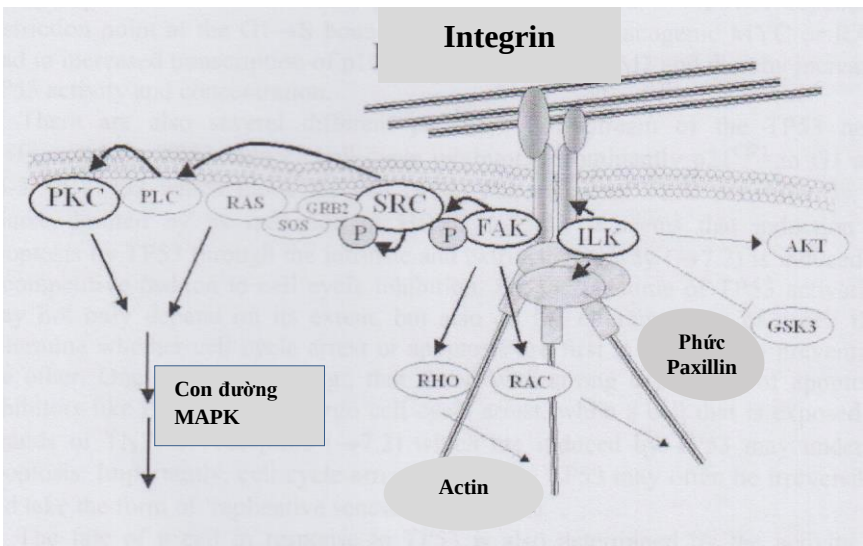
Về mặt hiệu lực, các PKC trong TB thường được sử dụng để chuyển vận các tín hiệu từ một con đường kích hoạt tới các con đường khác, tức là "sự giao thoa". Điều này có nghĩa đây là một sự điều phối hơn là xác định nhiệm vụ, điều đó có thể giải thích được tại sao chúng không xuất hiện với tư cách như một oncogene "thật sự", mặc dù chúng liên hệ chặt chẽ tới sự kiểm soát tăng sinh và sự di động của TB. Tuy nhiên, ức chế PKC cũng không ngăn chặn được sự tăng sinh của một số TB ung thư và rõ ràng là sự hoạt hóa bởi phorbol ester có thể kích thích chủ yếu sự tăng sinh của các TB bình thường cũng như các TB đã bị biến nạp một cách đặc biệt. Hơn nữa, các PLC và PKC đều là các các chất trung gian (mediator) rất quan trọng về mặt hiệu ứng đối với một số oncogene bao hàm cả các oncogene virus như *yes* và các oncogene TB như TRK tác động vào các TB lympho. Chúng cũng cần thiết trong những trường hợp mà sự tăng sinh ung thư do các receptor gắn kết protein G.

Các PKC cũng tham dự vào sự "giao thoa" giữa các phân tử kết dính TB và các con đường điều hòa tăng trưởng. Các tín hiệu xuất hiện từ sự kết dính TB-TB cũng như từ sự kết dính TB với cơ chất. Sự kết dính TB-TB thường được trung gian bởi các cadherin, được kết nối với khung TB và gây ảnh hưởng tới hoạt tính của nó. Các cadherin với các mức độ khác nhau, có thể hoạt hóa hay ức chế các con đường ung thư. E-cadherin là cadherin chủ yếu ở nhiều biểu mô, nó gắn với β- catenin vì thế mà làm giới hạn hoạt tính của con đường WNTβ-cadherin ở một số dạng TB. Tương tự như vậy, E-cadherin còn hoạt hóa con đường PI3K để tạo ra tín hiệu sống sót mạnh mẽ. Cả 2 tín hiệu này chỉ là vừa phải đối với một TB đã hợp nhất chắc chắn vào trong biểu mô tương đối yên lặng. Ở một số (không phải tất cả) các carcinoma xâm lấn, E-cadherin được điều hòa xuống hoặc được thay thế bằng các cadherin khác để hoạt hóa các con đường khác.

Các integrin làm trung gian cho các tương tác TB - chất gian bào (matrix) nhờ gắn với fibronectin ngoại bào. Tại mặt trong màng TB, chúng tạo ra một tiêu điểm để gắn actin khung TB vào các điểm tiếp xúc kết dính đầu mối. Các điểm tiếp xúc đầu mối là trung tâm hoạt động của mạng lưới tín hiệu có ảnh hưởng tới khung TB, sự tăng sinh và

sống sót của TB. Kinase ILK gắn integrin làm nhiệm vụ điều hòa và truyền tín hiệu về sự kết nối giữa các integrin và khung TB. Kinase FAK kết dính đầu mối sau đó lại truyền tín hiệu về việc thiết lập các kết dính đầu mối. Đây là một quá trình tự phosphoryl hóa và nó có thể dễ dàng nhận biết được bởi domain SH2 trong các SRC protein kinase.

SRC kinase là các human ortholog của các sản phẩm gen *v-src* của RSV. Chúng định vị ở mặt trong màng sinh chất nhờ neo myristyl. Khi gắn với FAK chúng trở nên kích hoạt và phosphoryl hóa kinase này xa hơn. Các SRC kích hoạt ứng xử rất giống các receptor tyrosine kinase kích hoạt, nó gắn với các protein điều biến (adaptor) như SHC/GRB2, phosphoryl hóa và hoạt hóa rất nhiều protein, bao gồm cả RAS cũng như PLC và sau cùng là các PKC, dẫn đến kích thích con đường MAPK và PI3K. Integrin cũng có khả năng hoạt hóa PKC một cách trực tiếp cũng như tương tác với các GTPase nhỏ khác như RAC để điều chỉnh cấu trúc bộ xương TB.




**Hình 7.8** *Tín hiệu từ các Integrin*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

SRC kinase thường hay biểu hiện quá mức và hoạt hóa quá mức trong các ung thư người, mặc dù không bị đột biến giống như các bản sao virus. Dường như là sự hoạt hóa các enzyme này thường liên quan tới các giai đoạn muộn của ung thư, khi mà các TB đã xâm lấn rất cao và đã di dời đi nơi khác. Hoạt tính của FAK và ILK tăng cao cũng quan sát thấy ở những dạng ung thư như vậy. Cũng chưa thật rõ ràng là nguyên nhân có phải là do tăng hoạt tính của các enzyme hay là do hiệu ứng tăng tính di động và các biến đổi đính kèm. Tuy nhiên, trong cả 2 trường hợp, sự kích hoạt có khả năng là cần thiết vì khi tăng sinh TB nó cần phải có thêm các tín hiệu đính kèm. Khi kích thích tăng sinh TB mà

không có các tín hiệu này thì dẫn tới *anoikis* – một dạng đặc biệt của sự chết theo chương trình của TB. Trong một TB ung thư có các biến đổi đính kèm thì sự hoạt hóa các con đường tín hiệu xuất phát từ các phân tử kết dính có vai trò rất lớn. Giống như các cơ chế lật đổ trạm kiểm soát TP53/RB1, trong quá trình tiến triển của chúng các TB ung thư dường như là đòi hỏi cần phải có khả năng để phá vỡ hàng rào phụ kháng lại sự tăng sinh TB không phù hợp này.

## 7.6. MẠNG LƯỚI TP53

Protein TP53 là nút trung tâm trong mạng lưới được liên kết với một số khác thuộc cả thượng nguồn và hạ nguồn TP53. Những biến cố thượng nguồn thúc đẩy chức năng TP53 bao gồm việc kích hoạt chủ yếu các kinase cảm nhận sự hư hại DNA như ATM và các protein kinase phụ thuộc DNA. Chúng phosphoryl hóa TP53 ở các đầu tận N của nó, làm tăng hoạt tính sao chép và làm giảm tính nhạy cảm của nó đối với việc ức chế bởi HDM2, khi quá trình này được tăng cường thì cũng kéo dài đời sống bán phần của nó. Các dạng khác của stress TB như thiếu oxy hay mất cân bằng chuyển hóa nucleotide, ví dụ như sau khi điều trị bằng các chất kháng chuyển hóa gây độc cho TB thì TP53 cũng được hoạt hóa.

Cũng còn các cơ chế khác nữa kiểm soát sự hoạt hóa TP53 dựa trên sự tăng sinh TB không thích hợp. Mối quan hệ này trong thực tế là rất phức tạp. Ở nhiều TB, khi bước vào chu kỳ TB, thì gen TP53 được sao chép mạnh hơn. Điều này có thể được xem như là một kiểu phòng ngừa, tạo ra đủ TP53 cho chức năng của một trạm kiểm soát thích hợp. Hoạt tính của TP53 bị giới hạn lại trong quá trình khi mà chu kỳ TB bình thường thông qua sự phosphoryl hóa domain đầu tận C bởi G1 & G2CDK và bởi casein kinase II phụ thuộc chu kỳ TB. Tuy nhiên, sự tích tụ TP53 cũng bị ngăn chặn bởi sự vận chuyển ra của nhân, bởi poly- ubiquitin hóa (poly- ubiquitination) và bởi sự phân giải trung gian qua HDM2. Sự phosphoryl hóa TP53 được coi như là hệ quả của việc khắc phục những hạn chế do sự hủy hoại DNA. Tương tự như vậy, các trục trặc về trạm kiểm soát như sự tái bản không đầy đủ ở ranh giới G2-M, hay hoạt hóa các kinase phụ thuộc trạm kiểm soát như CHK1 và CHK2 cũng phosphoryl hóa các đầu tận N của TP53, ngăn chặn tương tác của HDM2 và làm giảm các hiệu ứng phosphoryl hóa ức chế. Các khiếm khuyết tại các điểm giới hạn phụ thuộc RB1 tại ranh giới G1 – S gây ra bởi MYC hoặc RAS sinh ung thư dẫn đến tăng sao chép $p14^{ARF1}$ ngăn chặn HDM2 và vì thế làm cô đặc và tăng hoạt tính của TP53.

Cũng có một số con đường thuộc hạ nguồn khác của giao điểm TP53. TP53 cảm ứng các chất ức chế chu kỳ TB, đáng chú ý là $p21^{CIPI}$ ở G1 và 14-3-3ϭ ở G2 làm ngăn chặn chu kỳ TB. Dĩ nhiên, mức độ hoạt hóa TP53 bị giới hạn bởi sự cảm ứng HDM2. Dường như là sự cảm ứng apoptosis bởi TP53 thông qua con đường nội sinh và ngoại

sinh theo kiểu cạnh tranh đối với các chất ức chế chu kỳ TB. Như vậy, chung cuộc của sự hoạt hóa TP53 không những phụ thuộc vào mức độ mà còn phụ thuộc vào trạng thái của TB như chu kỳ TB đã bị dừng hay chưa hay là apoptosis đã được khởi đầu chưa - trạng thái này ngăn chặn trạng thái kia. Chúng ta có thể hình dung là một TB biểu hiện mạnh các chất ức chế apoptosis như BCL2 có thể trải qua được việc dừng chu kỳ TB, trong khi đó một TB bộc lộ các ligand của receptor TNFRF bị cảm ứng bởi TP53 thì có thể trải qua được apoptosis. Điều quan trọng là việc dừng chu kỳ TB được cảm ứng bởi TP53 thường là không thể đảo ngược và mang sắc thái của sự "lão hóa" sao chép.

Vận mệnh của một đáp ứng TB đối với TP53 cũng được xác định bởi sự hoạt động của một số con đường ung thư khác. Nhiều sự tương tác này đã được hiểu rõ, nhưng không phải là tất cả. Như vậy, tăng hoạt tính các con đường ERK và JNK MAPK sẽ có xu hướng làm hoạt hóa TP53. Tương tự như vậy, tăng hoạt tính con đường WNT trong ung thư kết tràng và đặc biệt là trong ung thư gan thì không tương thích với TP53 nguyên bản trong một khoảng thời gian dài. Ngược lại, kích hoạt con đường PI3K và NFκB trong ung thư có xu hướng chống lại các hiệu ứng của TP53. Trong trường hợp con đường PI3K, điều này có thể là do có sự hoạt hóa HDM2/MDM2 bởi AKT và do tăng mạnh "tín hiệu sống sót" để đền bù vào việc giảm sút các tín hiệu đối với các yếu tố sống sót do TP53. Ngoài ra, TP53 cũng cảm ứng mạnh IGFBP3 – một protein tiết có thể gắn và cô lập các IGF. Khi IGF tác động với mức độ lớn thông qua con đường PI3K thì con đường này tự kích hoạt, ví dụ như vì mất chức năng PTEN nên đã làm mất hoạt tính TP53 của nhánh này. Khi những sự thay đổi này giảm thì hiệu ứng tiền apoptosis của TP53, sự phosphoryl hóa AKT của $p21^{CIPI}$ sẽ điều tiết ảnh hưởng của TP53 lên việc dừng tăng trưởng. Như vậy, sự hoạt động quá mức con đường PI3K sẽ làm hạn chế các hiệu ứng hoạt hóa TP53 lên sự tăng trưởng và sống sót của TB. Khi so sánh ta thấy, sự hoạt động quá mức con đường NFκB ở nhiều loại ung thư thì dường như là nó cản trở một cách chọn lọc hơn apoptosis cảm ứng bởi TP53. Sự cảm ứng các protein kháng apoptosis như BCL-$X_L$ và IAPs có thể là yếu tố chủ chốt trong hiệu ứng bảo vệ này. AKT cũng phosphoryl hóa và hoạt hóa các yếu tố NFκB.

Cuối cùng, các đích của TP53 kích hoạt gồm các gen có liên quan đến chuyển hóa TB, sự định hình các chất gian bào ngoại bào và sự tạo mạch. Khía cạnh này của sự hoạt động TP53 dường như là để chống lại các hiệu ứng mà các TB khối u áp dụng trên môi trường của chúng.

Những chức năng hiệu ứng khác của TP53 vì thế mà liên quan tới các khía cạnh tiêu biểu của kiểu hình khối u. Ngược lại, sự hoạt hóa TP53 được coi như là hệ quả của hàng loạt những biến đổi lầm lạc để dẫn đến ung thư. Những mối quan hệ này đã giải thích được câu hỏi tại sao mạng lưới TP53 có được đặc tính gây u mạnh như thế. Hệ quả của việc mất TP53 phổ biến nhất là làm biến đổi trong mạng lưới mà người ta đã

quan sát thấy trong ung thư trên người. Những biến đổi trong điều hòa tức thì của nó như HDM2 và $p14^{ARF1}$ vẫn thường xuyên xảy ra. Mất chức năng của các chất hoạt hóa protein kinase làm nhiệm vụ hoạt hóa TP53 như ATM hoặc CHK1 được phát hiện trong các bệnh di truyền có liên quan tới việc làm tăng khuynh hướng đi tới ung thư, nhưng ở các ung thư rời rạc thì hiếm hơn. Điều này có nghĩa là đặc tính quan trọng nhất của TP53 ở các ung thư được thiết lập là khả năng đáp ứng của nó đối với cường tăng sinh. Những biến đổi ở hạ nguồn hiệu ứng của TP53 có lẽ không có ảnh hưởng giống như khi mất TP53. Khi xảy ra, chúng xuất hiện với vai trò là các yếu tố hoạt hóa của TP53 gây cảm ứng apoptosis. Do vậy, những đột biến của BAX và cường methyl hóa promoter (promoter hypermethylation) của APAF1 và các mediator apoptosis khác của TP53 đã phát hiện thấy ở một số ung thư. Cường methyl hóa cũng làm bất hoạt 14-3-3ϭ liên quan tới việc làm dừng G2 cảm ứng bởi TP53, tuy nhiên protein này còn có thêm các chức năng phụ khác nữa.

## 7.7. TÍN HIỆU DO CÁC YẾU TỐ TGFβ

Siêu họ các yếu tố tăng trưởng TGFβ gồm khoảng 30 thành viên với nhiều chức năng. Chẳng hạn các thành viên của họ này là yếu tố ức chế mullerian hay các protein tạo hình xương (bone morphogenetic protein – BMP) giữ vai trò tạo hình mô trong quá trình phát triển.

Trong bối cảnh ung thư, TGFβ đã thu hút nhiều sự quan tâm vì nó là yếu tố ức chế tăng trưởng tiềm năng đối với các TB biểu mô và vì những đột biến ở con đường này lại thường xuyên chuyển tiếp các tín hiệu TGFβ trong TB trong quá trình tiến triển nhiều carcinoma. TGFβ cũng là một yếu tố ức chế đối với nhiều TB của hệ miễn dịch. Trái lại, nó lại kích thích sự tăng sinh của nhiều dạng TB trung mô. Đặc tính sau này đã có sẵn từ ban đầu dẫn đến việc thiết kế "yếu tố tăng trưởng biến nạp" (transforming growth factor), bởi vì các EGF như TGFα và TGFβ hợp tác trong việc kích thích sự tăng trưởng không cần neo đậu của các TB trung mô trong nuôi cấy, đó là một chỉ thị về kiểu hình biến nạp.

Ở các mô carcinoma, không những mất đáp ứng đối với TGFβ ở các TB khối u mà mất cả hiệu ứng đối với các TB trung mô và TB miễn dịch một cách đáng kể. TGFβ được tạo ra từ các TB carcinoma hoặc được giải phóng ra từ dạng tiền protein liên kết với chất nền ngoại bào để ức chế đáp ứng miễn dịch kháng lại ung thư, trong khi đó lại kích thích các TB chất nền (stromal cell) tăng sinh và làm giảm chất nền ngoại bào mà ở đó carcinoma có thể được tăng trưởng mở rộng. Mối quan hệ này có thể giải thích được tại sao sự đáp ứng khiếm khuyết đối với TGFβ thường là điểm sấu báo hiệu bắt đầu có sự xâm lấn và di căn trong liệu trình phát triển carcinoma. Đặc biệt là khả năng của các TB carcinoma có thể tiết ra hoặc kích hoạt TGFβ đối với các TB khác, trong khi đó

chúng lại không đáp ứng với các hiệu ứng ức chế tăng trưởng để trợ giúp cho việc thiết lập một môi trường phù hợp cho việc thiết lập và bành chướng di căn, ví dụ như trong các ung thư tuyến tiền liệt.

Con đường nội bào trọng yếu đối với tín hiệu TGFβ rất đơn giản (Hình 7.9). Yếu tố tăng trưởng liên kết với receptor type II ở màng TB tạo nên một phức ba (trimeric) với receptor type I. Receptor trở nên phosphoryl hóa và tự kích hoạt như là một serine/threonine kinase. Nó phosphoryl hóa protein SMAD2 hoặc SMAD3 được hiện diện bởi protein SARA ở mặt trong màng TB. Các SMAD đã phosphoryl hóa rất lỏng lẻo và chúng được heterodimer hóa với SMAD4. Chúng cùng được vận chuyển vào nhân, ở đó chúng hoạt hóa hoặc kiềm chế các gen khác nhau. Các yếu tố SMAD là các transactivator tiềm năng (potent transactivator) và sự hoạt hóa chúng phụ thuộc nhiều vào sự tương tác với các yếu tố sao chép khác gắn ở vùng lân cận chúng. Điều này giải thích được phần nào vấn đề là tại sao sự hoạt hóa chúng là nằm trong bối cảnh phụ thuộc và có sự khác nhau giữa các dạng TB khác nhau.

Việc hoạt hóa con đường này bị mất tác dụng là do sự ức chế bởi các SMAD ức chế, SMAD6 và SMAD7. Những protein này được mã hóa bởi các gen cảm ứng bởi các tín hiệu TGFβ hoặc BMD, dẫn đến ức chế phản hồi. SMAD2 và SMAD3 được phân loại như những R-SMAD. "R" được biểu thị là sự điều hòa receptor. Các R-SMAD khác, SMAD1,5 và 8 được hoạt hóa bởi receptor riêng biệt cho các BMP, trái lại về mặt chức năng thì lại cùng một phương thức. Tín hiệu thông qua con đường này có thể được điều hòa xuống bởi ERK và JNK kinase - những enzyme phosphoryl hóa R-SMAD. Ngược lại, con đường MAPK cũng được kích hoạt bởi một số thành viên của họ receptor TGFβ. Các giao thoa khác diễn ra giữa tín hiệu TGFβ và con đường WNT kinh điển. Nhìn chung, những con đường này có xu hướng ức chế lẫn nhau.

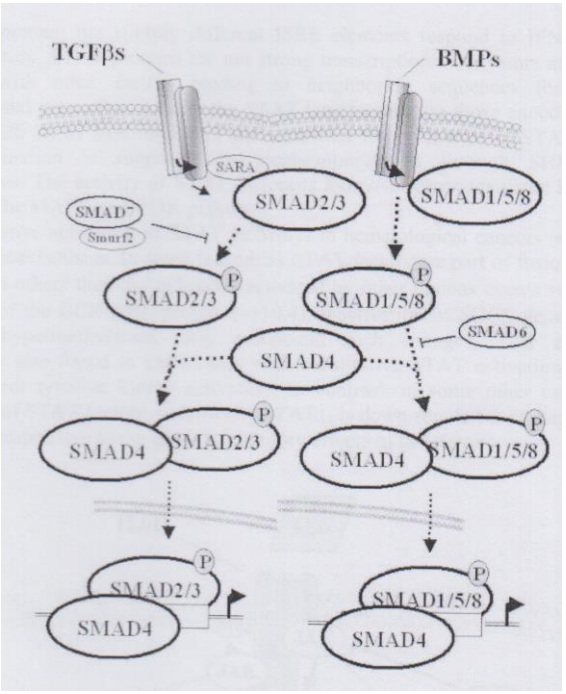
Mất đáp ứng đối với TGFβ ở các carcinoma có thể là do các biến đổi xảy ra ở một số bước trong con đường này. Chúng bao hàm những đột biến receptor, sự mất mát R-SMAD hoặc Co-SMAD do sự xóa bỏ hay bất hoạt chúng do đột biến. Những sự biến đổi như thế quan sát thấy ở các carcinoma kết tràng xâm lấn hoặc carcinoma tuyến tiền liệt đã di căn.

## 7.8. TÍN HIỆU THÔNG QUA CÁC YẾU TỐ STAT

**T**ín hiệu thông qua các yếu tố STAT ở ung thư người cũng có thể có những hậu quả khá khác thường. Như trong tín hiệu yếu tố SMAD, điều này một phần là do những sự thay đổi và các hiệu ứng "phụ thuộc bối cảnh" (context- dependent effects) của trên 7 yếu tố STAT khác nhau ở các dạng TB khác nhau. Trong các TB của hệ tạo máu, con đường tín hiệu STAT thúc đẩy tăng sinh TB trong đáp ứng với các interleukin và các

yếu tố tăng trưởng đặc hiệu dạng TB khác và các cytokine, ví dụ như GM-CSF và erythropoietin. Tín hiệu STAT cũng được hoạt hóa ở các TB biểu mô với tư cách là một trong số các con đường chịu sự tác động của các yếu tố tăng trưởng như EGF và cytokine IL-6 cũng như bởi các protein kinase chuyển tiếp các tín hiệu kết dính như SRC và ABL kinase kích hoạt. Các yếu tố STAT cũng làm trung gian cho các hiệu ứng interferon. Do vậy, trong các ung thư huyết vẫn thường thấy sự kích hoạt kiến tạo tín hiệu STAT, ví dụ như  trong bệnh bạch cầu tủy mạn tính. Ở đây STAT5 là yếu tố có liên quan chính. Trong một số carcinoma, hoạt hóa con đường STAT cũng được phát hiện, ví dụ trong ung thư vùng đầu và cổ tế bào vảy – đó là hậu quả của việc biểu hiện quá mức EGFR rất phổ biến ở dạng ung thư này. Ở đây, STAT3 có thể là thành viên có liên quan nhất. Trong các ung thư khác, tín hiệu STAT dường như là bị kiềm chế một cách tích cực, có khả năng là có sự kết hợp với việc ức chế đáp ứng TB đối với interferon. Sự điều hòa xuống liên quan chủ yếu tới STAT1.

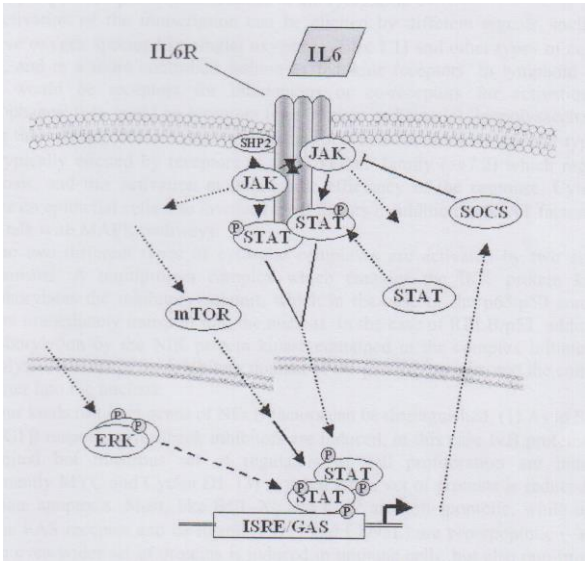
Con đường tín hiệu STAT cũng đơn giản tương tự con đường MAPK (Hình 7.10). Giống như R-SMAD, các STAT được phosphoryl hóa ở màng TB và dịch chuyển tới nhân để tác động như là một chất hoạt hóa sao chép. Khi liên kết với các ligand của chúng, nhiều receptor cytokine, ví dụ như receptor IL-6 gp 130 bắt đầu chiêu mộ các  janus kinase (JAK1 hoặc JAK2) để phosphoryl hóa protein receptor ở các gốc tyrosine. Những phosphotyrosine này làm việc với tư cách là các vị trí gắn cho domain SH2 của nhiều protein STAT khác nhau, nổi bật nhất là STAT1, STAT3, hoặc STAT5. Khi gắn vào phức receptor/JAK, các yếu tố STAT có thể trở nên hoạt hóa nhờ sự phosphoryl hóa. Các yếu tố được phosphoryl hóa và di chuyển tới nhân để gắn vào các vị trí nhận biết đặc hiệu ở các promoter của gen. Trình tự (sequence) liên kết điển hình đối với các yếu tố STAT là yếu tố GAS làm trung gian cho các đáp ứng γ-interferon ($IFN_\gamma$). Các yếu tố ISRE khác nhau chút ít về đáp ứng với IFNα/β. Giống như các yếu tố SMAD, các protein STAT không phải là các chất hoạt hóa sao chép mạnh và thường kết hợp với các yếu tố khác liên kết với các trình tự bên cạnh để kích hoạt sao




**Hình 7.9** *Tín hiệu ngoại bào do TGFβ và BMPs*
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

chép một cách hiệu lực. Trong số các gen đích STAT, chỉ những gen mã hóa các yếu tố SOCS thì mới tác động như là các chất ức chế JAK và nó cũng góp phần vào việc làm kết thúc các tín hiệu STAT. Sự kết thúc này được trợ giúp bởi sự dephoshoryl hóa thông qua protein phosphatase SHP. Hoạt tính này của các yếu tố STAT được điều hòa chéo xa nữa bởi protein kinase của các con đường MAPK và PI3K.

Sự kích hoạt cấu thành con đường STAT trong các ung thư máu do một vài cơ chế. Trong một số bệnh bạch cầu, yếu tố STAT là một bộ phận của các protein liên hợp, một số khác được hoạt hóa gián tiếp bởi các sự kiện liên hợp khác như sự hình thành protein BCR-ABL. Khi bất hoạt các gen SOCS, ví dụ do cường methyl hóa promoter làm cho hợp chất này thay đổi. Sự thay đổi này cũng phát hiện được ở các carcinoma có sự kích hoạt cấu thành STAT do sự kích hoạt receptor tyrosine kinase. Ngược lại, trong một số carcinoma khác, việc biểu hiện các yếu tố STAT, đặc biệt là STAT1 bị điều hòa xuống có lẽ là do TB trở nên không đáp ứng với các hiệu ứng ức chế tăng trưởng của các interferon.




**Hình 7.10** *Sự hoạt hóa con đường JAK/STAT bởi IL-6*
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

## 7.9. CON ĐƯỜNG NFκB

Tương tự như con đường STAT, con đường NFκB không rõ ràng là con đường mà sự hoạt hóa của nó sẽ thúc đẩy ung thư, trong sự tạo máu nó có những chức năng khác so với các dạng TB khác. Chức năng cơ bản của con đường NFκB là điều hòa sự hoạt hóa các TB lympho, sự viêm nhiễm và apoptosis. Tuy nhiên, trong một số dạng TB, nó cũng có liên quan tới sự điều hòa tăng sinh TB, đặc biệt trong đáp ứng với các cytokine.

Về danh pháp, NFκB có nghĩa là yếu tố nhân điều hòa sự biểu hiện chuỗi kappa của Ig trong tế bào B. Các yếu tố NFκB là các cấu thành sao chép heterodimer bao gồm một tiểu đơn vị REL lớn và các tiểu đơn vị p50 hoặc p53 nhỏ hơn. Các tiểu đơn vị REL gồm có RELA, RELB và c-REL. RELA phong phú nhất và phổ biến nhất trong số các REL và vì thế mà thường được biết đến là p65. Nó cũng là yếu tó hoạt hóa sao chép mạnh nhất. RELA và c-REL hình thành nên heterodimer với p105, bắt nguồn từ một tiền thân p105 lớn hơn. Những heterodimer này thường được giữ ở tế bào chất nhờ một

protein inhibitor IκB (Hình 7.11). RELB gắn với tiền thân của tiểu đơn vị p52, p100 cũng chứa domain ức chế tương tự như các IκB. Trong phương thức này, phức hợp p52 tiền RELB cũng được giữ ở tế bào chất.

Việc hoạt hóa sao chép có thể bộc lộ bởi các tín hiệu khác nhau, bao gồm các mẫu oxy phản ứng (reactive oxygen species) như oxy đơn (singlet oxygen) và các dạng khác của stress TB cũng như trạng thái mà TB được kiểm soát nhiều hơn bởi các receptor cytokine. Trong các TB lympho, đó là các receptor cho các interleukin hoặc các co-receptor đối với sự hoạt hóa. Ở đại thực bào, chúng là các receptor cho các cytokine hoặc lipopolysaccharide vi khuẩn. Sự hoạt hóa các yếu tố NFκB ở nhiều dạng TB cũng thường được lộ ra một cách đặc biệt bởi các receptor của họ TNFRSF điều hòa apoptosis, và sự hoạt hóa này sẽ điều tiết hiệu ứng của các đáp ứng. Tác động của cytokine trên các TB biểu mô cũng có liên quan đến các yếu tố NFκB ngoài các yếu tố STAT và sự giao thoa với con đường MAPK.

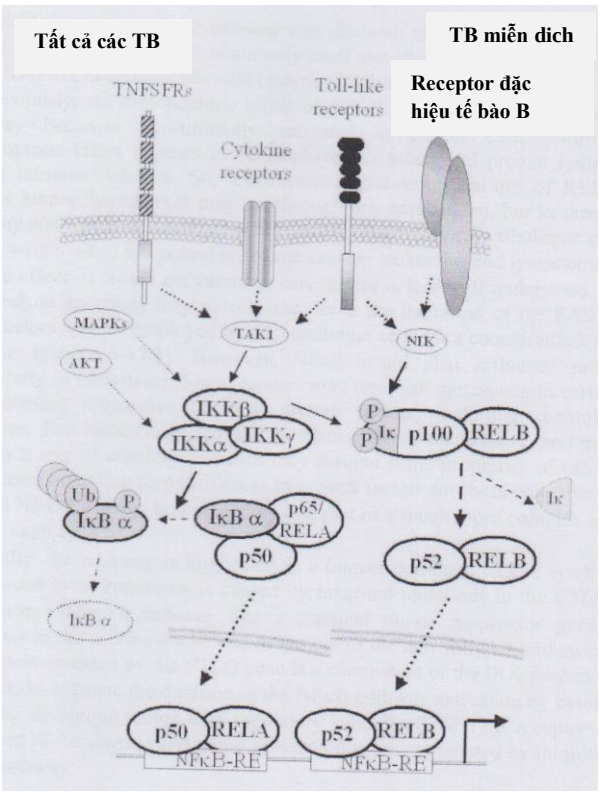
Có 2 dạng khác nhau của phức hợp hòa tan trong tế bào được hoạt hóa bởi 2 cơ chế tương tự. Phức hợp multiprotein có chứa IKK protein kinase phosphoryl hóa tiểu đơn vị ức chế, còn trong trường hợp của phức p65/p50 thì lại cho phép một sự vận chuyển tức thời vào trong nhân. Trong trường hợp RELB/p52 thì có thêm sự phosphoryl hóa bổ sung bởi protein kinase NIK có trong phức hợp làm khởi đầu sự loại bỏ proteolytic đối với domain ức chế của protein tiền p52 và phức hợp này có thể đi vào trong nhân.

Có 4 loại gen đích của các yếu tố NFκB đã được phân biệt theo các tiêu chí sau. (1) Giống như trong các đáp ứng TGFβ và STAT, các chất ức chế phản hồi được cảm ứng, trong trường hợp này là protein IκB. (2) Một bộ giới hạn nhưng rất sắc bén các chất điều hòa tăng sinh TB đã được cảm ứng, nổi bật là MYC và Cyclin D. (3) Một bộ (set) protein lớn hơn khi được cảm ứng sẽ điều biến apoptosis. Trước nhất, BCL-$X_L$ và FLIP là các chất kháng apoptosis, trong khi đó các chất khác như FAS receptor và các ligand của nó (CD95 và CD95L) lại là các tiền apoptosis. (4) Một bộ lớn hơn các protein bị cảm ứng ở các TB miễn dịch cũng như không phải miễn dịch nhưng lại có liên quan tới chức năng miễn dịch và đặc biệt là viêm nhiễm. Bao gồm các protein cần cho thông tin tế bào-tế bào, ví dụ như các phân tử kết dính, các chemokine và cytokine cũng như các yếu tố liên quan đến các đáp ứng miễn dịch đặc hiệu và không đặc hiệu. Đặc biệt là các yếu tố NFκB - các mediator chủ chốt cho sự cảm ứng nitrogen oxide synthase (inducible nitrogen oxide synthase – iNOS) và cyclooxygenase 2 (COX2), góp phần vào việc đốt các gốc oxi hóa trong hệ thống phòng vệ miễn dịch cũng như trong các phản ứng viêm nhiễm.

Chức năng sau của con đường NFκB có lẽ là vấn đề cần lưu ý nhất trong quá trình sinh carcinoma. Sự hoạt động của con đường này là một nhu cầu đối với sự viêm nhiễm,

đặc biệt là các viêm nhiễm mãn tính. Như vậy, sự hoạt động quá mức con đường này là yếu tố quan trọng để phát triển ung thư đi kèm với viêm nhiễm mạn tính, và trong một số trường hợp nó được bộc lộ tương đối đặc biệt bởi các tác nhân gây bệnh như *Heterobacter pyroli* ở dạ dày. Hậu quả là các tác nhân ngăn chặn sự hoạt hóa con đường này có thể làm giảm mức độ viêm nhiễm và ngăn chặn được ung thư. Một số thuốc kháng viêm không steroid thường dùng (NSAID) như acetylsalicylic acid (aspirin) gây ức chế IKK.

Rõ ràng là, hiệu ứng kháng apoptosis của các yếu tố NFκB cũng là một vấn đề, nếu con đường này có sự kích hoạt cấu thành trong các TB ung thư. Bình thường thì hiệu ứng kháng apoptosis dường như là để chọn lọc và bảo vệ các TB lympho trong quá trình phòng vệ miễn dịch. Như vậy, sự chuyển vị và khuếch đại các gen REL ở các u lympho của người có thể tác động thông qua cơ chế này, nhưng trong những TB này thì con đường này cũng có xu hướng kích thích tăng sinh. Retrovirus orthologue của gen REL, v-rel là một gen gây ung thư tiềm năng gây nên các bệnh bạch cầu và u lympho.




**Hình 7.11** *Phác thảo các con đường NFκB*
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Hiệu ứng của sự hoạt hóa NFκB trong ung thư chưa được hiểu cặn kẽ. Nhưng rõ ràng là hiệu ứng của nó trên apoptosis là xác đáng. Ngay cả việc cảm ứng ligand FAS bởi những yếu tố này cũng có thể được các TB ung thư sử dụng để kháng lại hệ miễn dịch. Tuy nhiên, NFκB có thể cũng gây ảnh hưởng tới sự tăng sinh, đặc biệt trong các trường hợp di căn. Một số ung thư có thể di căn ở những cơ quan xác định bằng cách đáp ứng với các yếu tố tăng trưởng cục bộ, bao gồm cả các chemokine và cytokine. Chẳng hạn như các ung thư vú và tiền liệt tuyến, sự di căn ưu tiên tới xương nhờ một kiểu bắt chước, trong đó chúng giả bộ một số đặc trưng của nguyên bào xương hay hủy cốt bào đáp ứng với các yếu tố tăng trưởng đối với các TB này, tác động phần nào thông qua NFκB. Tuy nhiên, đây chỉ là một phần của sự tương tác đa phức hợp.

Cuối cùng, con đường này cũng liên quan đến một hội chứng ung thư nổi trội ở người, một bệnh hiếm gặp có tên là Cylindromatosis do đột biến di truyền ở gen *CYLD* tại nhiễm sắc thể 16q. Nó "ứng xử" như một gen kiềm chế khối u cổ điển. Những đột biến ở allele thứ 2 sẽ dẫn đến u nang tóc và tuyến mồ hôi. Protein này được mã hóa bởi gen *CYLD* - một thành phần của phức hợp protein IKK. Sự xuất hiện của nó là để điều hòa khoảng thời gian hoạt hóa con đường NFκB bởi các cytokine như TNFα, bởi sự de-ubiquitin hóa tiểu đơn vị điều hòa của phức hợp receptor TNF. Cách điều trị bệnh và phòng chống các khối u hiện nay chủ yếu dựa vào các tác nhân ức chế con đường NFκB.

## 7.10. CÁC HỆ THỐNG ĐIỀU HÒA PHÁT TRIỂN VỚI TƯ CÁCH LÀ CÁC CON ĐƯỜNG UNG THƯ

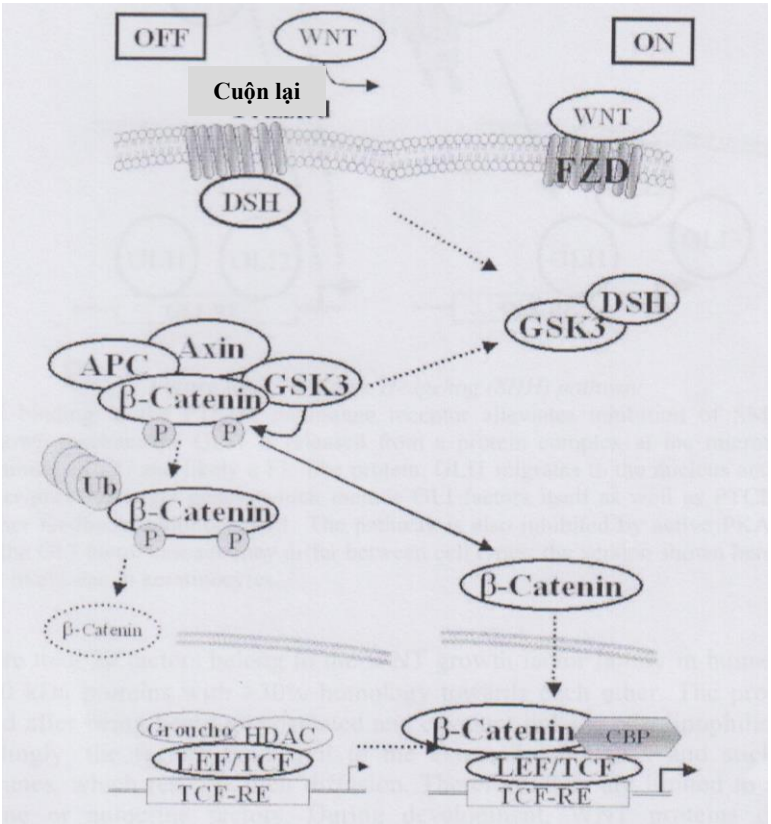
Vì ở các mô trưởng thành, tín hiệu thông qua MAPK và các con đường khác đều liên quan đến việc điều hòa tăng sinh TB, biệt hóa TB và apoptosis trong quá trình phát triển cá thể. Tuy nhiên, trong sự phát triển phôi tất nhiên là không có sự thay thế nào về cân bằng nội mô hay sự mở rộng đơn lẻ nào, nhưng nó lại liên quan tới nhiều quyết định về vận mệnh phát triển của các TB cá thể cũng như các quần thể TB.

Từ các TB đa năng ở ngoại bì, một số phát triển thành các TB mầm nguyên thủy (primordial germ cell), trong khi đó một số khác lại hình thành các lớp mầm tương tác hơn nữa để tạo nên các mô và các cơ quan. Điều này một lần nữa đòi hỏi các tế bào phải có các quyết định về số phận của mình cũng như những sự chỉnh đốn thật chuẩn xác giữa sự mở rộng nhiều hoặc ít các quần thể tiền thân qua sự tăng sinh tế bào để biệt hóa chúng thành các TB biệt hóa cuối cùng hay là vẫn nằm yên. Nhiều yếu tố tăng trưởng và con đường tín hiệu đã đề cập đều liên quan đến các quá trình này, tuy nhiên có một vài con đường phụ lại có chức năng đặc biệt trong việc quyết định số phận TB cũng như thiết lập các TB gốc của mô và sự điều hòa của chúng ở các mô trưởng thành. Ba trong số đó mà mọi người đều biết đến trong ung thư người là WNT (Hình 7.12), Hedgehog (Hình 7.13) và NOTCH (Hình 7.14).

### ❑ *Con đường tín hiệu WNT*

WNT là sự kết hợp của 2 cụm từ viết tắt là Wg (wingless) và Int. Gen wingless đáp ứng việc hình thành cánh ruồi dấm, sau này Wg được phát hiện có vai trò quan trọng với việc hình thành chân trong quá trình phát triển thai nhi. Gen Int là gen của động vật có xương sống nằm ở một số vị trí mà virus gây khối u ở chuột MMTV (mouse mammary tumor virus) có thể xâm nhập. Gen Int-1 và Wg có sự tương đồng cao về trình tự nucleotide cũng như amino acid và cả 2 đều có cùng một nguồn gốc tiến hóa.

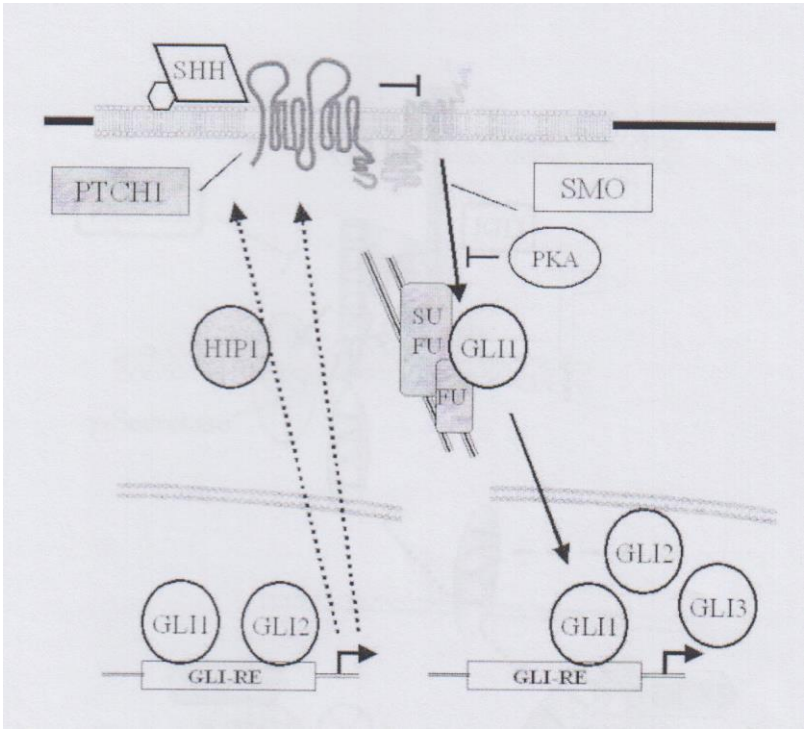
Có trên 20 yếu tố thuộc về các yếu tố tăng trưởng WNT ở người. Chúng là các protein có trọng lượng phân tử khoảng 40 kDa với > 30% độ tương đồng (homology). Những protein này được tiết ra sau khi bị glycosylate hóa và liên kết cộng hóa trị với một bán phần ưa lipid. Do đó, các yếu tố này gắn chặt vào chất nền ngoại bào và cắm vào màng TB để hạn chế sự khuếch tán của chúng. Vì thế chúng bị giới hạn tác động với tư cách là các yếu tố paracrine (cận tiết) hay autocrine (tự tiết). Trong quá trình phát triển, các protein WNT điều khiển sự mở rộng và sự tạo hình cho nhiều mô khác nhau, đặc biệt là các cấu trúc biểu mô hình ống ở thận và ruột. Tất nhiên là, các yếu tố then chốt của con đường WNT lại tương tác với nhiều con đường khác, ví dụ như các con đường tín hiệu phụ thuộc Hedgehog trong việc phát triển chi. Các yếu tố WNT riêng lẻ liên quan chủ yếu đến sự cân bằng nội mô của các mô trưởng thành và dường như là đặc biệt đối với việc kiểm soát các thành phần của TB gốc, ví dụ như trong đường tiêu hóa.




**Hình 7.12** *Con đường WNT/β-Catenin*

Trạng thái bất hoạt (vắng liên kết yếu tố WNT) được thể hiện ở phía bên trái và trạng thái hoạt hóa ở phía bên phải. Sơ đồ rút gọn này không thể hiện sự kết nối giao thoa với các con đường khác.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)




**Hình 7.13** *Con đường Hedgehog (SHH).*

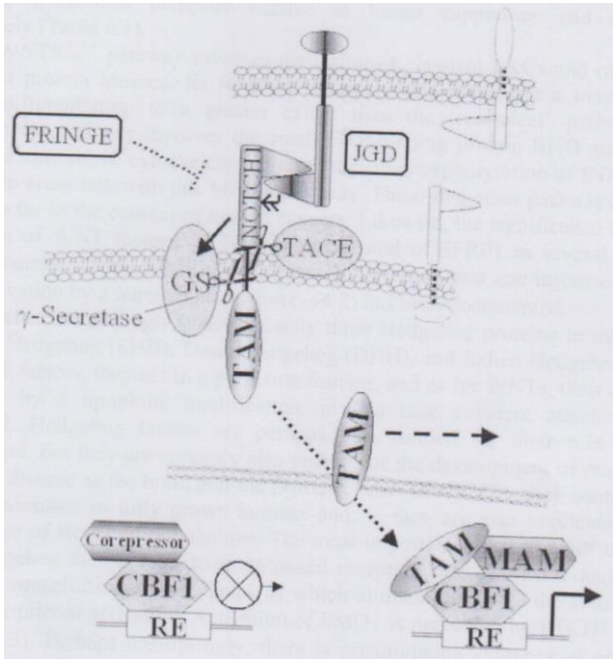
SHH gắn với receptor màng PTCHI làm giảm nhẹ sự ức chế của SMO. Theo các cơ chế chưa được xác định, GLII được giải phóng từ một phức hợp protein tại các vi ống có chứa SUFU và rất có thể là protein giống như FU; GLII di chuyển tới nhân hoạt hóa sự sao chép của các gen đích bao gồm các yếu tố GLI cũng như PTCHI và tác nhân ức chế phản hồi khác, HIPI. Con đường này cũng bị ức chế bởi PKA kích hoạt. Cần lưu ý rằng thác yếu tố GLI có thể là khác nhau giữa các dạng tế bào. Hình vẽ trên đây là ở các tế bào keratine.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Các yếu tố WNT thường được nhận biết bởi các protein receptor Frizzled (FZP) ở bề mặt TB. Có một số trong đó đáp ứng với các yếu tố WNT khác nhau. Ít nhất có 3 con đường khác nhau đã biết, nhưng chỉ có một con đường là thực sự tiêu biểu. Điểm quyết định của con đường này chính là sự tích tụ và kích hoạt β- catenin được ngăn chặn bởi sự tác động phối hợp của một số protein trong đó có APC, axin và GSK3β (Hình 7.12 và 7.13). Vì thế mà con đường đặc biệt này được gọi là con đường WNT/β- Catenin hay con đường WNT kinh điển. Sự hoạt hóa cấu thành của nó đặc biệt quan trọng trong quá trình phát sự triển ung thư đại tràng. Nó cũng quan trọng trong một số loại ung thư khác như carcinoma gan. Mất điều hòa (deregulation) con đường Wnt là do mất chức năng điều hòa âm, chẳng hạn như APC hoặc axin là do các đột biến sinh ung thư làm hoạt hóa β- catenin. Vì thế mà *APC* và *CTNNB1* (mã hóa β- catenin) có cách "ứng xử" lần lượt như là các chất kiềm chế khối u và gen gây ung thư (Bảng 7.1)

Con đường WNT/Ca2+ có liên quan tới sự hoạt hóa các PKC cổ điển và các protein kinase phụ thuộc Ca2+ khác. Chức năng của nó chưa được xác định một cách rõ

ràng, nhưng dường như là nó có thể thúc đẩy sự biệt hóa TB tới mức độ cao hơn so với con đường kinh điển. Wnt/Ca2+ liên quan đến protein RHO mang GTP nhỏ tác động lên sự phân cực bộ xương TB. Nó cũng dẫn đến sự phosphoryl hóa JNK1 kinase và vì thế cũng dẫn đến sự giao thoa với con đương MAPK. Sự phối kết hợp giữa 2 con đường ít được nghiên cứu trong các bệnh lý ung thư người. Chính vì vậy ý nghĩa của sự biểu lộ khác nhau của các yếu tố Wnt, receptor FZD và SFRP1 trong nhiều loại ung thư khác nhau ở người vẫn chưa được nghiên cứu. Tuy nhiên, ít nhất là tình huống kích hoạt yếu tố Wnt bởi sự tích hợp của retrovirus đã được chứng minh.




**Hình 7.14** *Con đường NOTCH*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

❑ ***Con đường tín hiệu Hedgehog***

Khá rõ ràng là chỉ có 3 protein Hedgehog ở người. Đó là Sonic Hedgehog (SHH), Desert Hegehog (DHH) và Indian Hedgehog (IHH) trong đó SHH là một trong 3 protein then chốt. Đối với các yếu tố Hedgehog, có lẽ nghiên cứu kỹ nhất là về vai trò của chúng trong phát triển của chân tay, nhưng cũng chắc chắn là chúng rất quan trọng đối với sự phát triển của nhiều cơ quan khác nữa như não và tuyến tiền liệt. Giống như các WNT, chúng cũng góp phần vào việc làm cân bằng nội mô ở người trưởng thành và thực tế chúng cũng tác động tới việc bảo trì các quần thể TB gốc. Yếu tố quan trọng nhất ở các mô trưởng thành là SHH. Các yếu tố Hedgehog gắn vào các receptor cơ trơn như SMO1 và khởi đầu con đường tín hiệu nội bào của chúng, cuối cùng dẫn đến việc hoạt hóa các yếu tố hoạt hóa sao chép GLI. Sự hoạt hóa của SMO1 bị ngăn chặn bởi PTCH1 (Hình 7.13). Có lẽ chẳng lấy gì làm ngạc nhiên là đã có nhiều bằng chứng về sự giao thoa giữa con đường SHH và WNT bên trong tế bào.

Sự hoạt hóa cấu thành tín hiệu SHH xuất hiện chủ yếu ở một số ung thư có kiểu hình TB tiền thân như ung thư phổi TB nhỏ và carcinoma TB đáy của da. Sự hoạt hóa này có thể tạo ra những biến đổi trong quá trình kích hoạt các điểm trong con đường dẫn truyền tín hiệu để tới đích, như tạo ra các đột biến điểm trong SMO1 hoặc có thể là sự biểu hiện quá mức các yếu tố sao chép GLI hoặc là tạo nên sự bất hoạt của một thành

phần điều hòa âm, thông thường là PTCH1. Như vậy, chúng lần lượt được coi là các gen sinh ung thư và các chất kiềm chế khối u.

❑ ***Con đường NOTCH***

Cũng giống như con đường WNT và SHH, con đường NOTCH lần đầu tiên bắt gặp ở ruồi giấm *Drosophila* và các nghiên cứu sâu rộng về chức năng của nó đối với sự phát triển cũng được thực hiện nhiều hơn ở mô hình sinh vật hơn là ở trên người. Hiện nay nó được coi như là một con đường ung thư trên người và cũng được coi như là một yếu tố của các bệnh thoái hóa thần kinh Alzheimer. Có sự đồng thuận là sự phá vỡ hay hoạt động quá mức con đường NOTCH đều có thể thúc đẩy sự phát triển ung thư.

Giống như con đường WNT và SHH, con đường NOTCH cũng kiểm soát các thành phần của TB tiền thân và TB gốc. Chính xác hơn là chức năng đặc trưng của nó là điều hòa việc quyết định số mệnh TB nhị phân (binary cell). Vấn đề này bao gồm việc quyết định hoặc là TB duy trì ở dạng tiền thân của mô hoặc là tiếp tục biệt hóa. Tín hiệu NOTCH cũng liên quan tới việc quyết định hoặc là các TB đường ruột biệt hóa thành một TB đường ruột (enterocyte) hoặc tế bào Paneth tiết hay TB goblet hoặc là một TB trong dòng lympho để trở thành các dưới dòng tế bào T hay dưới dòng tế bào B. Theo lý thuyết thì loại quyết định này được gọi là  sự rẽ đôi "bifurcation" và việc kiểm soát nó đòi hỏi một sự cân bằng siêu bền để tiến tới một trong hai trạng thái đối nghịch nhẹ, giống như để một đồng xu sát mép bàn. Sự so sánh này nhằm mô tả một kiểu chức năng được tạo ra bởi hệ thống tín hiệu NOTCH.

Có 4 receptor NOTCH khác nhau, từ NOTCH1 đến NOTCH4 đã được biết đến biểu hiện trên bề mặt TB. Chúng được kích hoạt bởi các ligand biểu hiện trên bề mặt TB của các TB lân cận. Có 2 loại ligand khác nhau đã được biết đến. Ở người thì bao gồm 3 thành phần DLL1, DLL3, DLL4 "giống delta" và các ligand JAG1 và JAG2 "giống jag". Các ligand hơi khác nhau về việc gợi ra các đáp ứng và đáng kể hơn là trong sự nhạy cảm của chúng đối với sự biến đổi của các receptor NOTCH nhờ enzyme PRINGE glycosylase. Những thành phần này kéo dài chuỗi glycosyl trên receptor NOTCH ngăn chặn việc liên kết của JAG (chứ không phải là các protein DLL).

Điều quan trọng là sự biểu hiện của các receptor NOTCH cũng như các ligand của chúng có sự ức chế chéo lẫn nhau vì thế mà có khuynh hướng loại trừ nhau. Do đó trong một tổ chức mô, các dạng khác nhau của các TB biểu hiện một trong 2 yếu tố đó hoặc là receptor hay ligand đặc hiệu. Ví dụ như một quần thể TB tiền thân có thể biểu hiện receptor, trong khi đó các TB khác lại thực hiện một bước để tiến tới biểu hiện một ligand đặc biệt hoặc ngược lại. Trường hợp sau đã được phát hiện ở biểu bì người, nơi mà các TB đáy biểu hiện các ligand NOTCH và các TB ở phía trên lại biểu hiện NOTCH1.

Các receptor NOTCH là các heterodimer được hình thành do việc phân cắt proteolytic từ một tiền thân đơn (Hình 7.14). Protease này có liên quan tới γ- - secretase presenilin mà sự rối loạn chức năng của nó là một nguyên nhân gây nên bệnh Alzheimer. Domain ngoại bào của NOTCH gắn với các ligand trên các TB lân cận có chứa các lặp giống như EGF và  domain giầu cysteine có tên là LN. Tiểu đơn vị thứ 2 vẫn còn gắn với nó bởi domain ngoại bào nhỏ, nó tiếp tục qua màng TB để vào sâu hơn trong nội bào. Phân khúc này có chứa các lặp ankyrin làm trung gian cho các tương tác protein – protein, tín hiệu định vị nhân, domain kích hoạt sao chép và trình tự PEST có thể đáp ứng cho việc điều hòa thoái hóa phân giải proteolytic.

Sau khi kích hoạt bởi các ligand, domain NOTCH nội bào (đôi khi gọi là TAM) trở nên tự do hơn để di chuyển vào nhân để hoạt hóa các gen đích của nó. Sự hoạt hóa receptor NOTCH lộ diện thêm các sự kiện độc lập CSL, điều này vẫn chưa được giải nghĩa một cách đầy đủ. Các gen đích NOTCH dường như là khác nhau trong các dạng TB khác nhau. Như vậy, trong các tiền thân thần kinh thì tín hiệu NOTCH l gây ức chế sự biểu hiện của các gen đặc hiệu thần kinh. Nhưng ở các tiền thân keratinocyte nó lại cảm ứng các marker biệt hóa và các tác nhân ức chế $p21^{PICI}$ CDK gây nên dừng chu kỳ tế bào. Tín hiệu NOTCH thường ức chế con đường tín hiệu WNT/β-Catenin, SHH và tín hiệu AP1, ngược lại nó lại trợ giúp cho sự hoạt hóa NKκB.

Sự điều hòa xuống NOTCH1 và NOTCH2 thường thấy ở các ung thư TB đáy, mặc dầu mức độ mà nó góp phần vào khối u này thì vẫn còn tranh cãi. Vì tín hiệu NOTCH ức chế con đường SHH, nên sự mất mát của nó có thể làm trầm trọng thêm sự hoạt động quá mức của con đường này và gây nên ung thư. Tương tự như vậy, mất chức năng NOTCH có thể là điều kiện tiên quyết cho việc hình thành ung thư phổi TB nhỏ

Trong các ung thư khác, protein NOTCH chắc chắn có chức năng như là các tác nhân gây ung thư. Một dạng của bệnh bạch cầu cấp tế bào T (T-ALL) được đặc trưng bởi sự chuyển vị giữa nhiễm sắc thể 7 và 9, t(7;9), (q34; q34.3) dẫn đến sự biểu hiện qúa mức của domain tế bào chất NOTCH1 dưới ảnh hưởng của enhancer receptor β tế bào T. Tín hiệu NOTCH kích hoạt liên tục làm xuất hiện một cách bất thường nhiều tiền lympho bào theo hướng tế bào T. Các TB này trở nên ác tính bởi các đột biến khác. Trong phương thức tương tự, sự hoạt động quá mức của NOTCH dường như là song song và hợp tác với các protein ung thư như kháng nguyên SV40 T trong ung thư biểu mô, HPV E6 và E7 trong ung thư cơ quan sinh dục. Ở đây, hiệu ứng ức chế của tín hiệu NOTCH lên chu kỳ TB bị bãi bỏ bởi protein ung thư của virus, trong khi đó chức năng duy trì TB tiền thân của nó vẫn hoạt động và góp phần vào việc mở rộng của khối u.

## *TÓM TẮT*

❖ *Sự tăng sinh, biệt hóa và sống sót của các tế bào bình thường được điều hòa bởi một số giới hạn các con đường mà giữa chúng phần nào có sự liên kết với nhau. Chúng truyền và hợp nhất các tín hiệu đi từ các yếu tố tăng trưởng, hormone và các tương tác tế bào - chất gian bào (matrix) và tế bào - tế bào. Những con đường dẫn đến ung thư do mất sự điều hòa, kích hoạt không đúng trong một số trường hợp và sự bất hoạt trong các trường hợp khác là rất quan trọng đối với việc phát sinh và phát triển ung thư trên người. Đặc biệt là các gen tiền ung thư và các chất kiềm chế ung thư tác động bên trong hoặc bên trên các con đường ung thư.*

❖ *Con đường MAP kinase chuyển đổi các tín hiệu từ màng tế bào vào nhân, cũng như bộ máy phiên dịch và bộ khung tế bào. Con đường MAPK kinh điển được hoạt hóa bởi receptor tyrosine kinase, tiếp tục thông qua protein RAS, RAF, MEK và protein kinase ERK. Nó thúc đẩy một cách đặc biệt sự tăng sinh trong đáp ứng với các yếu tố tăng trưởng. Hoạt tính của nó được điều chỉnh bởi một tín hiệu khác được phát ra từ các phân tử kết dính. Các con đường MAPK khác thì làm trung gian cho các đáp ứng stress và có thể làm lộ ra sự apoptosis. Trong khi các chức năng của các con đường MAPK khác nhau có sự trùng lắp thì rõ ràng là con đường ERK là con đường quan trọng nhất trong kiểm soát tăng sinh tế bào.*

❖ *Đích thường xuyên khác của receptor màng là phospholipase C, nó hoạt hóa isoenzyme PKC, isoenzyme này có thể kích thích tín hiệu MAPK và các quá trình tế bào khác. Các enzyme PKC khác cũng là đích của các yếu tố khác, bao gồm cả ester phorbol thúc đẩy khối u.*

❖ *Nhiều yếu tố tăng trưởng thông qua receptor tyrosine kinase và các protein RAS mà hoạt hóa PI3K, do đó kích hoạt thác protein kinase PDK/PKB/AKT sẽ nâng cao sự sống sót của tế bào, sự tổng hợp protein và sự tăng sinh tế bào. Các chất kiềm chế khôi u PTEN và TSC là các chất đối kháng của thác này. Trong nhiều trường hợp, con đường PI3K lại tác động hiệp đồng cùng với con đường MAPK kinh điển.*

❖ *Tín hiệu MAPK thúc đẩy sự tiến triển của chu kỳ tế bào tại một số bước riêng biệt, cuối cùng dẫn tới sự phosphoryl hóa và bất hoạt tạm thời RB1 bởi các CDK. Các CDK, cyclin, CDK phosphatase và các protein ức chế CDK, hình thành nên một mạng lưới nhiều lớp đảm bảo cho sự tăng sinh tế bào có trật tự, tích hợp các tín hiệu tăng sinh và ức chế nhận được bởi tế bào và phúc đáp tới trạm kiểm soát tế bào, giám sát sự tiến triển chu kỳ tế bào và tính toàn vẹn của hệ gen. Trong các ung thư trên người, sự kích thích không phù hợp chu kỳ tế bào bởi những thay đổi ở các con đường "thượng nguồn- upstream) và/ hoặc các đột biến trong điều hòa tức thời chu kỳ tế bào là rất cần thiết đối với sự tăng sinh không kiểm soát.*

❖ *Nhiều tín hiệu từ các trạm kiểm soát tính toàn vẹn di truyền được chuyển đi thông qua TP53 làm dừng chu kỳ tế bào, apoptosis hoặc lão hóa sao chép. Bất hoạt hoặc làm mất chức năng TP53 bởi một trong nhiều cơ chế khác nhau là điều kiện tiên quyết cho sự bất ổn định di truyền trong ung thư người.*

❖ *Giới hạn khác đối với sự mở rộng carcinoma được cung ứng bởi các tín hiệu TGFβ. Như một quy luật, các yếu tố TGFβ kích thích sự tăng sinh của các tế bào trung mô, nhưng lại ức chế sự tăng sinh các tế bào biểu mô. Trong đáp ứng với kích hoạt receptor TGFβ, các yếu tố sao chép SMAD được phosphoryl hóa và rời chỗ tới nhân, ở đó chúng kích thích sự biểu hiện các gen mã hóa ví dụ như các chất ức chế CDK hoặc các protein liên quan tới sự hình thành và tu sửa các chất gian bào ngoại bào. Các yếu tố SMAD khác tác động như là các chất ức chế phản hồi (feedback). Sự gián đoạn con đường này rất quan trọng trong quá trình tiến triển nhiều loại carcinoma. TGFβ được tổng hợp bởi các tế bào carcinoma không đáp ứng, nó kích hoạt chất nền khối u và ức chế các tế bào miễn dịch.*

❖ *Kích thích sự tăng sinh TB bởi các cytokine thường được thực hiện thông qua con đường JAK/STAT trong các TB tạo máu và các TB lympho, và với mức độ thấp hơn ở các TB biểu mô. Khi con đường này hoạt động quá mức thì sẽ làm tăng sinh trong các ung thư máu. Vai trò của nó trong các carcinoma không rõ ràng lắm. Trong một số trường hợp, thậm chí nó còn điều hòa xuống. Trong con đường ngắn ngủi này, các protein kinase JAK được tuyển mộ bởi các receptor cytokine làm phosphoryl hóa các yếu tố sao chép STAT, bản thân yếu tố này lại rời chỗ tới nhân để kích hoạt sự sao chép. Con đường JAK/STAT được tự điều hòa nhờ các protein SOCS.*

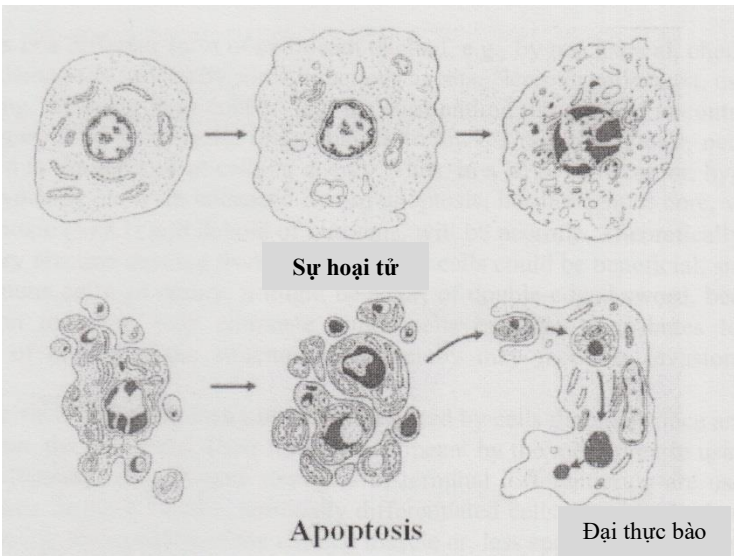
❖ *Tín hiệu thông qua NFκB cũng điều hòa sự hoạt hóa và tăng sinh các TB miễn dịch. Trong các TB biểu mô, con đường này có thể kháng lại apoptosis khi TB bị stress. Vì thế, sự kích hoạt của nó có thể góp phần vào việc phòng ngừa apoptosis trong các TB ung thư.*

❖ *Mẫu hình (patterning) của các mô trong thời kỳ phát triển thai nhi liên quan tới một vài hệ thống điều hòa chuyên biệt, đặc biệt là WNT, Hedgehog (SHH) và các ligand NOTCH, các receptor cũng như các cọn đường. Những con đường này rất quan trọng đối với việc bảo trì các thành phần TB gốc và điều khiển vận mệnh TB ở các mô trưởng thành. Những rối loạn ở các con đường này là nền tảng cho sự phát triển các TB ung thư chuyên biệt ở người. Vì thế, các ung thư kết tràng luôn luôn thể hiện sự kích hoạt cấu thành con đường WNT, con đường SHH trong ung thư tế bào đáy của da và con đường NOTCH trong các bệnh bạch cầu tế bào T xác định. Biến đổi đáp ứng sẽ làm đột biến các gen tiền ung thư và các gen kiềm chế khối u.*

# CHƯƠNG VIII: SỰ CHẾT THEO CHƯƠNG TRÌNH CỦA TẾ BÀO (APOPTOSIS) VÀ LÃO HÓA SAO CHÉP

## 8.1. GIỚI HẠN SỰ TĂNG SINH TẾ BÀO

Nhiều TB ở các mô bình thường cũng như trong các khối u đã xác định được số lượng TB mới được tạo ra do tăng sinh và phân chia cũng như số lượng TB chết hoặc nếu không thì đã bị mất đi (ví dụ do trầy da). Có 2 mô hình chính về sự chết của TB, đó là sự chết theo chương trình (apoptosis) và hoại tử với những biến đổi và các hình thức trung gian (Hình 8.1). Tốc độ tăng trưởng nói chung của một mô cũng phụ thuộc vào tỷ lệ các TB có chu kỳ TB hoạt động, tức là bộ phận tăng sinh. Sự biệt hóa cuối cùng và lão hóa sao chép là 2 cơ chế không thuận nghịch nhằm loại bỏ những TB ở phần tăng sinh, mặc dầu các TB này vẫn chưa bị phá hủy ít nhất là trong ngắn hạn.




**Hình 8.1** *So sánh hình thái học giữa apoptosis và hoại tử*

Đây là các đại diện chuẩn về apoptosis và hoại tử

(Theo Wyllie, Kerr và cộng tác. Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Apoptosis là một quá trình xảy ra nhanh trong đó các tế bào bị hủy hoại trong một phương thức được kiểm soát một cách triệt để trong vòng vài giờ. Các TB phát triển

nhiều bong bóng trên bề mặt của chúng, mất liên lạc với các TB khác cũng như với chất nền ngoại bào, nhân nhạt dần và sau đó toàn bộ TB bị vỡ ra từng mảnh nhỏ thành những hạt bao xung quanh màng. Những mảnh DNA bị cắt ra đầu tiên có độ dài trên 50 kb và sau đó thành những mảnh nhỏ hơn tương ứng với nhiều đơn vị nucleosome. Như vậy, những điểm cuối (end) DNA tự do có thể là "đánh dấu" cho các TB apoptosis và nó được phát hiện bằng phương pháp tế bào, khi đó các DNA được phân lập từ các TB apoptosis thường xuất hiện như các ô vuông nucleosome trên gel agarose. Trong quá trình apoptosis không phức tạp thì tất cả các TB còn sót lại sẽ được thực bào hoặc bị loại khỏi mô, ví dụ chui vào phần bên trong (lumen) của tổ chức mà không gây nên phản ứng viêm.

Apoptosis có thể được gây nên bởi các tín hiệu bên trong hoặc bên ngoài. Nó được sử dụng để tạo hình các mô trong quá trình phát triển, loại bỏ các TB miễn dịch không cần thiết hoặc tự phản ứng, để duy trì sự cân bằng nội mô của các mô có sự quay vòng nhanh và hủy bỏ các TB đã bị thâm nhiễm bởi virus. Việc giảm tuyệt đối hay tương đối apoptosis hoặc thất bại đáp ứng với các tín hiệu apoptosis là đặc tính chung nhất của các TB người. Các cơ chế apoptosis vì thế cần phải được xem xét kỹ lưỡng để hiểu rõ hơn sự phát triển cũng như tiến triển của ung thư và tìm ra những góc nhìn mới cho việc trị liệu.

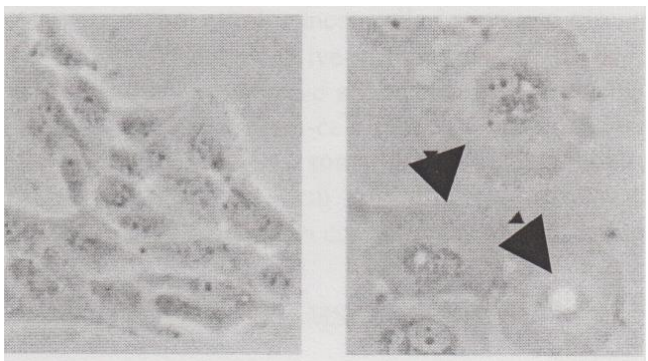
Hoại tử là một dạng khác của sự chết TB, ví dụ do hủy hoại bởi nhiệt, hoá chất hoặc cơ học cũng như một số tác nhân thâm nhiễm. Hoại tử thường xảy ra sau khi TB khi bị sung lên, giải phóng các thành phần của chúng vào các mô lân cận với phương thức mất kiểm soát (Hình 8.1), thường là sau một viêm nhiễm. Không giống như apoptosis, hoại tử có thể xảy ra không cần tới năng lượng của TB. Vì thế, trong một khối u đặc lớn thì tại những vùng thiếu oxy thường biểu hiện tăng tốc độ apoptosis, nhưng ở phần trung tâm gần như là thiếu oxy và không có chất dinh dưỡng nên xảy ra sự hoại tử. Về lý thuyết, phản ứng viêm xảy ra sau khi các TB khối u bị hoại tử là có lợi vì nó thu hút các TB miễn dịch. Nhưng trong thực tế nó có thể là con dao hai lưỡi vì sự viêm nhiễm chẳng những chỉ loại thải các TB khối u mà còn góp phần vào việc hủy hoại các cấu trúc của các mô bình thường và vì thế mà tạo thuận lợi cho sự xâm lấn và di căn.

Chức năng đặc biệt của nhiều mô được thiết lập chỉ một lần bởi các TB. Việc hình thành chúng là do việc sử dụng nhiều hơn "sự biệt hóa cuối cùng". Sự đa dạng của các chiến lược biệt hóa cuối cùng được sử dụng ở nhiều mô khác nhau. Trong nhiều mô, các TB biệt hóa cuối cùng là các TB đa bội và/hoặc đa nhân, ví dụ như hợp bào của xương hoặc kém hơn một chút là các TB gan đa bội (tứ bội hoặc bát bội) hoặc các TB hình ô của biểu mô tiết niệu (urothelium). Sự biệt hóa cuối cùng mạnh nhất cũng có thể đạt được một cách hiệu quả ở các TB lưỡng bội bình thường có nhân rất kích hoạt như đã

được chứng minh ở các neuron. Tuy nhiên, trong một số mô nhân của các TB biệt hóa cuối cùng lại co lại và/hoặc bị trục xuất ra ngoài hay bị giải thể. Những TB ở phần ngoại bì, võng mạc của mắt và các dòng hồng cầu đã cung cấp các ví dụ về chiến lược này. Trong một số trường hợp, sự phá hủy cấu trúc của nhân giống như một quá trình apoptosis và thực sự là được thực hiện bởi các cơ chế tương tự. Trên thực tế, sự biệt hóa cuối cùng trong một số mô là khúc dạo đầu đi tới apoptosis thực sự, ví dụ như ở trong ruột. Trong quá trình biệt hóa, các TB ruột chuyển từ dạng tiểu nang sang dạng nhọn của các nhung mao, ở đó nó được trải qua apoptosis và phần còn lại bên trong của chúng cũng bị mất đi.

Giảm tốc độ biệt hóa cuối cùng là một đòi hỏi cơ bản đối với sự tăng trưởng khối u. Nhiều ung thư được đặc trưng bởi sự thiếu hoàn chỉnh của nó, khi một số sản xuất ra các TB biệt hóa cuối cùng với tỷ lệ thấp. Theo đó, trong nhiều ung thư các protein chỉ biểu hiện ở những tế bào biệt hóa cuối cùng nhưng lại không phát hiện được. Nói một cách khác, một số protein như thế chỉ được biểu hiện ở một bộ phận các TB ung thư vẫn còn biệt hóa hoặc các TB ung thư biểu hiện một số protein của bản sao mô biệt hóa nhưng không thoát khỏi chu kỳ TB.

Lão hóa sao chép cũng có thể được xác định do sự rời khỏi chu kỳ TB một cách không đảo ngược, sau đó các TB vẫn sống sót một thời gian dài. Sự lão hóa sao chép đặc biệt này đi từ apoptosis, nhưng ranh giới theo hướng biệt hóa cuối cùng không phải luôn luôn được vẽ ra một cách dễ dàng. Những TB nuôi cấy đang trải qua quá trình lão hóa sao chép thường có hình thái học đặc trưng là phẳng (Hình 8.2), nhân lớn và nhiều hạt nhỏ. Chúng biểu hiện một số protein đặc trưng như SAβ- GAL, một β-galactosidase có pH tối ưu tương đối acid và mức cao chất ức chế CDK như $p21^{CIPI}$ hoặc $p16^{INK4A}$. Ngược lại, các TB lão hóa biểu lộ ít hoặc không biểu lộ các marker được chẩn đoán là các TB biệt hóa cuối cùng. Tuy nhiên cũng có sự chồng chéo như các nguyên bào sợi lão hóa đã được xem xét như là được biệt hóa cuối cùng. Trong mô người, sự lão hóa sao chép khó mà xác định được một cách chắc chắc mặc dầu đã quan sát được các TB có hình thái học rõ rệt có biểu hiện Saβ-GAL.



**Hình 8.2**. *Các đặc trưng hình thái học của các TB có kiểu hình (phenotype) lão hóa.*

Một dòng TB có chứa các TB có kiểu hình lão hóa tiêu biểu (bên phải, đầu các mũi tên)

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Trong các TB nuôi cấy thì sự lão hóa sao chép có thể xác định được rõ ràng hơn và nó được gợi ra bởi 2 ví dụ rất khác nhau. Phương thức "cổ điển" của cảm ứng xảy ra sau sự cấy truyền các TB người bình thường nhiều lần. Nó được thực hiện theo từng bước. Ở nguyên bào sợi, hiện tượng đầu tiên được mô tả là có thể xảy ra sau khi nhân đôi 50-60 lần. Ở các TB biểu mô nuôi cấy thì xuất hiện sớm hơn. Điều này có thể được ngăn chặn bằng cách cho thâm nhiễm với các virus DNA xác định, đặc biệt là papovavirus SV40 hoặc kháng nguyên T lớn (large T-antigene). Như vậy, sự lão hóa sao chép hiện diện một giới hạn về sự sống của các TB sinh dưỡng người bình thường.

Lão hóa sao chép cũng có thể được cảm ứng với một cách thức nhanh trước đó rất xa khi TB cạn kiệt tuổi thọ, do các tín hiệu tăng sinh không thích hợp, đặc biệt là do biểu hiện quá mức các protein RAS đột biến. Không giống như apoptosis và sự biệt hóa cuối cùng, sự lão hóa sao chép dường như là không được tận dụng trong cơ thể người vì có sự cân bằng nội mô. Hơn nữa, dường như là nó tác động với tư cách là một cơ chế không an toàn. Chức năng bình thường của nó có thể là thiết lập một trạng thái tối đa cho tuổi thọ con người.

Rõ ràng là, các TB trong dòng mầm thì không bị lão hóa sao chép. Hơn thế nữa, rất có thể là các TB gốc của mô và/hoặc các TB tiền thân sớm chịu sự lão hóa sao chép với mức độ thấp hơn so với các TB soma biệt hóa vì trong đời sống của con người, các mô phải sao chép liên tục, chúng sẽ phải trải qua hơn 100 lần phân chia.

Sự lão hóa sao chép bị gạt bỏ ở nhiều ung thư. Các TB ung thư tăng trưởng trong môi trường nuôi cấy hoặc như ghép ngoại lai ở các động vật thí nghiệm thì thường đạt được nhiều hơn 100 lần nhân đôi TB và dường như là *chẳng bao giờ "tự giới thiệu"* kháng nguyên T hoặc các chất tương tự. Vì thế mà chúng *được coi như là "bất tử"*. Tất nhiên thật khó mà xác định được sự bất tử như vậy trong một mô ung thư người. Còn trên *in vitro* thì dễ dàng thực hiện hơn, nhưng vấn đề lại là không phải tất cả các ung thư người đều có thể tăng trưởng trong nuôi cấy hoặc ghép ngoại lai. Vì thế, cũng không chắc chắn là tất cả các ung thư ở người đều thật sự bất tử. Sự tăng trưởng vô định không phải là điều kiện cần thiết làm cho ung thư giết chết túc chủ của nó, bởi vì về mặt lý thuyết 50 TB nhân đôi đã tạo được số TB nhiều hơn số TB của toàn bộ cơ thể con người.

Tuy nhiên, những cơ chế cho phép các TB ung thư đánh lừa *in vitro* sự lão hóa sao chép cũng hoạt động trong nhiều ung thư. Trong các trường hợp khác, các TB khối u có thể trốn tránh sự lão hóa sao chép bằng cách giành được một kiểu đặc tính TB gốc. Điều này thật rõ ràng trong các ung thư dòng mầm, ví dụ ở tinh hoàn hay buồng trứng. Ngoài ra, một số ung thư khởi sự ở các mô sinh dưỡng có thể đạt được (hoặc duy trì) các đặc tính TB gốc của mô tương ứng hoặc các TB tiền thân sớm, ví dụ carcinoma TB đáy của da và carcinoma đại tràng.

## 8.2. CÁC CƠ CHẾ APOPTOSIS

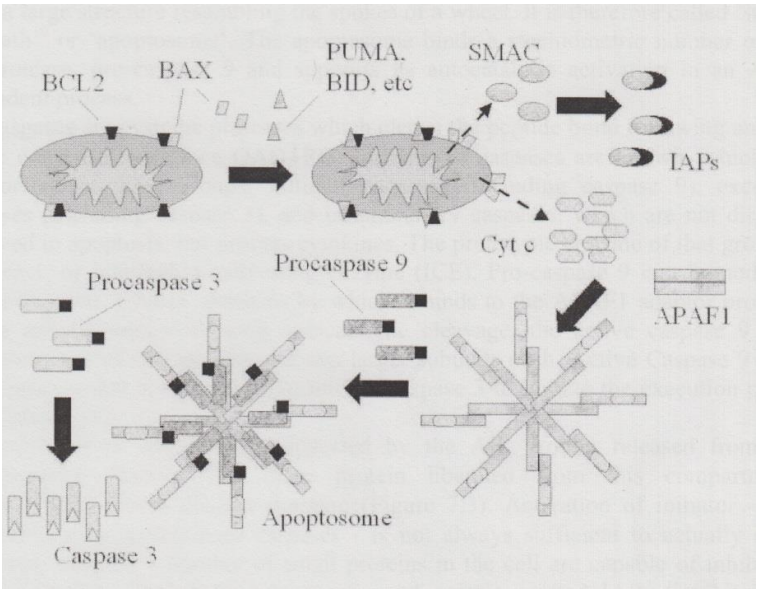
Apoptosis có thể phân chia ra thành một số giai đoạn, nghĩa là có giai *đoạn khởi đầu, giai đoạn thực hiện* và *loại bỏ các phần còn lại của TB* (phần bị chôn vùi). Việc khởi đầu có thể được thực hiện bằng 2 con đường tách biệt, thường được biểu thị là "nội tại" và "ngoại sinh" và đều hội tụ tới một con đường "thực hiện" thông thường. Con đường nội tại đáp ứng các tín hiệu bên trong, ví dụ do sự hủy hoại DNA, trong khi đó con đường ngoại sinh lại đáp ứng với các tín hiệu bên ngoài, ví dụ bởi các tế bào T gây độc TB. Trong một số TB, con đường ngoại sinh có thể được tiến hành theo hướng "thực hiện" trên chính TB đó, trong khi đó các TB khác lại cần có sự góp phần từ con đường nội tại. Tất cả các bước trên những con đường này đều được xác định và kiểm soát rất chặt chẽ. Như vậy có thể coi apoptosis là "sự chết theo chương trình của TB" là hoàn toàn hợp lý.

Bước quyết định của con đường nội tại (Hình 8.3) xảy ra ở ty thể. Những yếu tố điều hòa quan trọng nhất là các thành viên của họ BCL2. Có khoảng 20 thành viên đã được biết đến, một số trong đó là các tiền apoptosis, còn số khác lại là kháng apoptosis (Bảng 8.1). Chúng đều có các domain bao gồm từ BH1 đến BH4. Thành viên nền tảng của BCL2 được phát hiện với tư cách là một oncogene ở vị trí chuyển vị đặc trưng t (characteristic translocation site t) trong nang u lympho tế bào B. Sự chuyển vị này đặt gene BCL2 dưới sự kiểm soát của enhancer chuỗi nặng của immunoglobulin. Sự biểu hiện quá mức BCL2 sẽ ngăn chặn apoptosis của các nang tế bào B và là sự kiện khởi đầu cho tăng trưởng ung thư tương đối chậm.

Cảm ứng apoptosis bằng con đường nội tại đòi hỏi sự bất hoạt của BCL2 và các protein kháng apoptosis khác như BCL2- $X_L$. Những protein này định vị ở màng ty thể, nó có thể tạo heterodimer với BAX và BAK. Chúng là các thành viên tiền apoptosis của họ BCL2. Nó phân biệt với các thành viên khác của họ này vì chỉ chứa domain BH3 và không có motif khác. Chúng cũng không có domain vận chuyển màng. Các tín hiệu tiền apoptosis khác nhau này được chuyển tới ty thể (Bảng 8.1).

Các loại stress TB khác nhau đều có thể cảm ứng apoptosis. Trong một số trường hợp, sự hoạt hóa TP53 cũng có liên quan, ví dụ các vết gãy DNA chuỗi kép được tạo nên do bức xạ. TP53 kích hoạt sẽ cảm ứng sự sao chép của một hoặc một vài protein truyền tín hiệu BCL2 tiền apoptosis như NOXA hoặc PUMA, nó cũng làm tăng BAX, khi đó BCL2 được điều hòa xuống. Những cơ chế chính xác có thể sẽ khác nhau tùy thuộc vào dạng TB và dạng stress TB. Các protein tiền apoptosis được cảm ứng bởi các tín hiệu kháng apoptosis hủy hoại TP53 để khởi đầu bước tiếp theo trong con đường apoptosis nội tại, tức là hình thành các lỗ trên ty thể.

BID làm trung gian cho sự "hợp tác" con đưởng nội tại ở các TB, cần cho sự khuếch đại con đường ngoại sinh. Trong trường hợp đó, 2 thể ngắn hơn của BID là p15 và p13 được tạo ra do sự phân cắt proteolytic một protein tiền thân bất hoạt bởi Caspase 8 hoặc Caspase 10. Những enzyme này sau đó lại hoạt hóa lần lượt BAX hoặc BAK.




**Hình 8.3** *Con đường apoptosis nội tại*

Con đường này bắt đầu ở góc phải phía trên, dẫn đến quá trình từ Procaspase 3 tới Caspase 3 ở góc trái phía dưới.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Bước tiếp theo trong con đường nội tại được trung gian bởi BAX và BAK, bao hàm thay đổi về cấu trúc ty thể và chức năng chuyển đổi tính thấm ty thể (mitochondria permeability transition –**MPT**). Ở các vị trí tiếp xúc giữa màng trong và màng ngoài ty thể hình thành các lỗ do một phức hợp protein, theo đó các protein từ mọi bộ phận của ty thể đều góp phần. Một thành phần quan trọng là adenine nucleotide translocator làm nhiệm vụ trao đổi ADP + Pi kháng lại việc ATP đi qua màng trong ty thể. Các lỗ cho phép các phân tử < 1500D đi qua. Điều này dẫn đến việc phá vỡ điện thế vận chuyển màng của ty thể vì proton và các ion khác kể cả $Ca^{+2}$ đến lúc này đều có thể di chuyển tự do qua màng. Như vậy, ty thể là cơ quan tử đầu tiên bị bất hoạt chức năng trong con đường apoptosis nội tại.

Cùng với việc chuyển đổi tính thấm của ty thể thì ty thể cũng giải phóng ra một số protein, chủ yếu từ các bộ phận thuộc màng trong ty thể như cytochrome c và protein SMAC/Diablo. Yếu tố cảm ứng apoptosis (apoptosis-inducing factor – AIF) là một flavoprotein được giải phóng từ chất gian bào ty thể (mitochondrial matrix). Trong huyết tương, 8 phân tử cytochrome c kết hợp với số lượng ngang bằng các protein APF1

để hình thành một cấu trúc lớn giống như những nan hoa của bánh xe đạp. Vì thế mà nó được gọi là *"bánh xe của sự chết"* (whell of death) hoặc a*poptosome*. Apoptosome gắn với một số lượng stoichiometric các tiền protease (pro-protease), tiền Caspase 9 (pro-Caspase 9) và trợ giúp cho sự tự hoạt hóa trong các quá trình phụ thuộc ATP.

***Caspase*** là *protease cysteine* phân cắt liên kết peptide theo sau bởi Asp trong trình tự đồng thuận (consensus sequence) QAD↓ RG. *Ở người có 14 caspase* đã được biết đến, chúng được phân thành *3 nhóm* là *caspase khởi đầu* (casapse 9), *caspase thực hiện* (executor caspase) (caspase 3) và *caspase gây viêm* (inflammatory caspase), những enzyme này không trực tiếp liên quan đến apoptosis, trừ quá trình cytokine. Enzyme protolytic của nhóm đó là caspase 1, hoặc enzyme chuyển đổi interleukine (interleukine –converting enzyme –ICE). Tiền caspae 9 là một homodimer có chứa 2 domain 'CARD' nhờ vậy mà nó liên kết được với các protein chuyển đổi APAF1 trong apoptosome. Sau sự phân cắt tự xúc tác thì caspase 9 hoạt động như là một heterotetramer của 2 dưới tiểu đơn vị nhỏ hơn và 2 dưới tiểu đơn vị lớn hơn. Caspase 9 hoạt động đi vào quá trình và hoạt hóa *caspase "đao phủ" (executioner)* để khởi đầu pha thực hiện apoptosis.

***Bảng 8.1.*** *Họ BCL2 các chất điều hòa apoptosis*

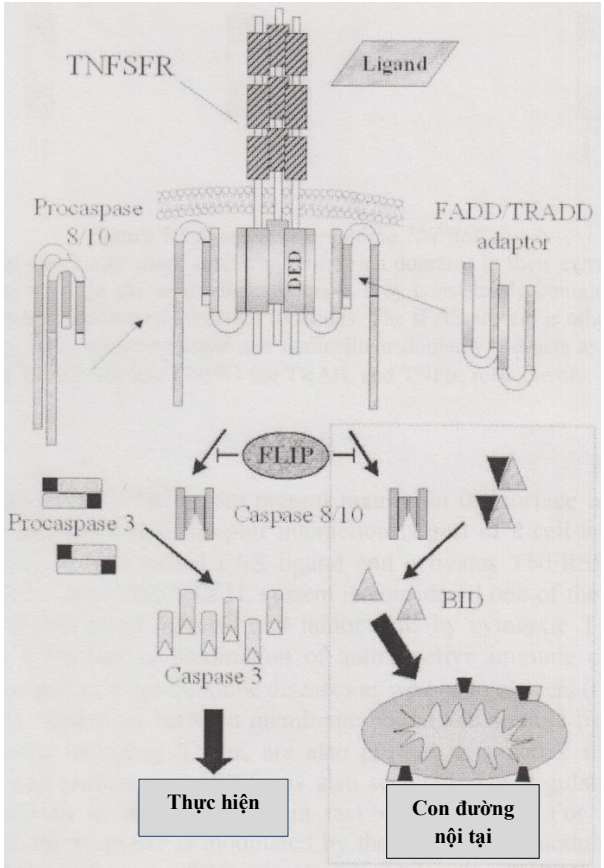
| **Dưới họ** | **Các yếu tố cấu trúc*** | **Thành viên đại diện** | **Điều hóa **** | **Các thành viên khác** |
|---|---|---|---|---|
| Kháng apoptosis | BH4-BH3-BH1-BH2-TM | BCL2, BCL-XL | P53 ↑ | BCL-W, MCL-1 A1 |
| | | | NFκB ↓ | NRF3 |
| Tiền apoptosis*** | BH3-BH1-BH2-TM | **BAX** | TP53 ↑ | **BAX** |
| | | | AKT ↓ | BOX |
| Tiền apoptosis chỉ có BH3 | BH3-TM hoặc BH3 | BID, BAD, NOXA PUMA, NIX | Caspase 8 ↑ (do phân cắt) TP53 ↑ | BAD, BIK, BLK, BMF |
| | | NIX | Thiếu oxy | BMF |

Ghi Chú *BH.BCL2 homology domain; TM: transmembrane domain
***BAX và BAK chữ đậm chỉ các hiệu ứng ở ty thể

Sự hoạt hóa caspase được sự trợ giúp của protein AIF giải phóng từ gian bào ty thể. Các protein khác cũng được giải phóng từ bộ phận này. SMAC/Diablo có chức năng rất riêng biệt (Hình 8.3). Sự kích hoạt caspase khởi đầu và đôi khi cả với caspase đao phủ không phải luôn luôn đủ để gây nên sự apoptosis một cách thực sự, bởi vì nhiều protein nhỏ trong TB có khả năng ức chế các protease này. Những protein này thuộc nhóm protein có tên là *chất cức chế apoptosis - IAP* (Inhibitor of apoptosis). IAP chủ yếu là các protein nhỏ được đặc trưng bởi một hoặc một vài domain 'BIR'. XIAP và survivin ức chế con đường nội tại ở bước caspase 9 kích hoạt và ngay cả caspase 3. Chúng gắn với các caspase thông qua các domain BIR và ức chế hoạt tính protease của

chúng. SMAC/Diablo liên kết và thâu tóm các IAP như survivin và XIAP, do đó loại bỏ các trở ngại khác đối với apotosis. Thật thú vị là một số virus gây ung thư hoặc không biểu hiện các IAP của chính mình để phòng ngừa cho TB khỏi bị apoptosis trong khi chúng sao chép.

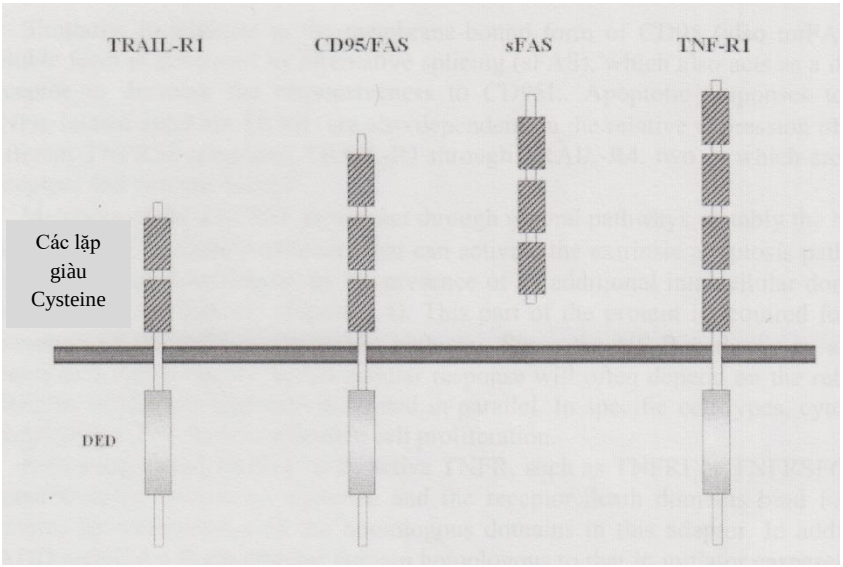
Con đường nội tại (Hình 8.4) được khởi đầu khi có sự tham gia của các receptor bề mặt đặc biệu của TB nhờ các ligand đặc hiệu của chúng. Như một quy luật, "những receptor chết" này đều thuộc siêu họ receptor TNF (Hình 8.5). Yếu tố hoại tử khối u α (TNFα) là một trong số các ligand cytokine của siêu họ receptor này. Peptide này được tiết ra bởi các bạch cầu đơn nhân, đại thực bào và các TB khác của hệ miễn dịch khi có các phản ứng viêm và trong đáp ứng với các stress TB. Nó biểu lộ các phản ứng khác nhau bao hàm cả apoptosis ở một số TB có chứa đựng các receptor TNFR1.




***Hình 8.4*** *Con đường nội tại của apoptosis*

Caspase 8 và/hoặc Caspase 10 có thể được hoạt hóa tùy thuộc vào dạng TB và receptor. Sự hoạt hóa BID để kết nối với con đường nội tại là không bắt buộc ở mọi dạng TB

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)




**Hình 8.5** *Một số thành viên trong họ TNFRSF*

Tất cả các thành viên của họ này đều có các domain giàu cysteine tại các domain ngoại bào của chúng, số lượng của chúng cũng thay đổi. Trong các domain nội bào, chúng luôn chứa domain DED. Một số thành viên có các chức năng tín hiệu phụ. Protein sFAS giống hệt CD95/FAS, nhưng không có domain vận chuyển màng và domain nội bào đồng thời tác động như là receptor mồi. Các ligand của TRAIL-R1 và TNFR1 lần lượt là TRAIL và TNFα.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Các ligand khác của TNFRSF hiện diện chủ yếu trên bề mặt các TB miễn dịch, chẳng hạn như CD95 và tương tác ligand - receptor là một bộ phận của tương tác TB-TB. CD95L cũng được gọi là ligand FAS, nó hoạt hóa TNFRSF6, cách gọi khác của CD95 là FAS hoặc APO-1. Hệ CD95/CD95L được đánh giá là thành phần quan trọng nhất trong việc tiêu diệt các TB khối u và các TB đã bị thâm nhiễm bằng các tế bào T gây độc tế bào. Nó cũng được sử dụng để loại thải có chọn lọc các TB miễn dịch tự kích hoạt. Sự khiếm khuyết chức năng CD95 xảy ra trong các bệnh tự miễn và ung thư.

Trên thực tế, ranh giới giữa ligand liên kết màng và ligand hòa tan rất không rõ ràng. Một số cytokine bao hàm cả TNFα cũng hiện diện với tư cách là thể liên kết màng kích hoạt trên bề mặt TB và CD95L là một loại thể tiết. Việc điều hòa tương tác receptor-ligand  trong hệ thống này trên thực tế rất phức tạp. Chẳng hạn như ở các đầu tiếp nhận cuối thì đáp ứng này được điều chỉnh bởi sự hiện diện của các rceeptor nhử (cò mồi) và receptor điều khiển. Đáp ứng với TNFα được điều khiển bởi receptor TNFRII. Khi hiện diện ở bề mặt TB, dường như TNFRII gắn với cytokine và chuyển thành TNFR1 để làm trung gian cho đáp ứng hiện hành. Khi TNFRII bị kéo ra khỏi TB thì nó tác động như là một receptor cò mồi, cô lập ligand và ngăn chặn nó tác động lên TNFR1.

Tương tự như vậy, ngoài thể liên kết màng của CD95 (cũng gọi là tmFAS), một thể hòa tan cũng được tạo ra do sự nối luân phiên (sFAS), nó cũng tác động như là một receptor cò mồi để làm giảm đáp ứng với CD95. Các đáp ứng apoptosis đối với các TRAIL liên quan đến TNFα cũng phụ thuộc vào sự biểu hiện của 4 TNFRSF khác nhau, từ TRAIL- R1 tới TRAIL-R4, 2 trong số đó là rceeptor thật còn 2 là receptor cò mồi.

Các thành viên của họ TNFRSF tác động thông qua một số con đường, đáng chú ý là con đường NFαB. Các thành viên của họ có thể hoạt hóa con đường apoptosis nội tại khác với các tương đồng của chúng do sự hiện diện của domain nội bào bổ sung, gọi là *'domain chết'* (Hình 8.4). Thành phần này của protein cần cho việc hoạt hóa con đường apoptosis nội tại. Vì con đường NFαB theo quy luật nó sẽ kháng lại apoptosis, đáp ứng TB bây giờ sẽ phụ thuộc vào cường độ tương đối của 2 con đường hoạt hóa song song. Trong một số TB đặc biệt, các đáp ứng cytokine như TNFR1 cũng làm kích thích tăng sinh tế bào.

Tiếp sau việc gắn ligand với một TNFR kích hoạt như TNFR1 hoặc TNFRSF6, các phức hợp ligand/receptor sẽ được trimer hóa và các domain receptor chết sẽ gắn với các protein FADD nhờ sự tương tác với các domain tương đồng trong bộ chuyển đổi (adaptor) này. Ngoài ra, các FADD còn chứa một domain effector chết tương đồng với nó trong caspase khởi đầu. Do gắn với receptor chết nên domain này được phơi bày và gắn được với tiền caspase khởi đầu, thường là với tiền caspase 8 hoặc tiền caspase 10. Phức hợp được hình thành này đôi khi xuất hiện trên các tài liệu với tư cách là *''phức hợp tín hiệu cảm ứng chết*'' (death inducing signaling complex – DISC). Chức năng của nó trong apoptosis là chuyển các phân tử tiền caspase tới trạng thái dimer hóa và kích hoạt lẫn nhau. Các caspase 8 hoặc 10 kích hoạt khởi đầu sau đó sẽ kích hoạt caspase thực hiện như casapse 3 làm cho phức hợp thực hiện hoạt động. Protein FLIP tác động như một chất ức chế đối với con đường nội tại bằng cách can thiệp vào sự dimer hóa caspase khởi đầu.

Trong một số TB, việc hoạt hóa con đường nội tại bởi một số ligand receptor chết xác định đã đủ để bộc lộ apoptosis. Trong những trường hợp như thế thì mức độ biểu hiện của BCL2 và BCLX1 không còn ý nghĩa. Còn trong các trường hợp khác thì việc cảm ứng apoptosis đòi hỏi phải có sự tham gia của con đường nội tại. Trong đáp ứng với các tín hiệu bên ngoài lại thường được kích thích thông qua protein BID đã bị phân cắt bởi caspase 8. Ngược lại, con đường nội tại cũng ảnh hưởng tới con đường ngoại sinh. Chẳng hạn như TP53 gây cảm ứng các activator của con đường nội tại, nhưng cũng làm tăng sự biểu hiện CD95, vì thế mà làm mẫn cảm các TB với các tín hiệu bên ngoài gây tiền apoptosis.

Nhiều biến đổi về hóa học và hình thái xảy ra trong phase thực hiện apoptosis là do sự phân cắt proteolytic >300 protein TB bởi caspase 3 và các caspase thực hiện khác

như caspase 6 (Bảng 8.2). Các cơ chất bao gồm các tác nhân điều hòa chu kỳ TB như RB1, các protein sửa chữa DNA như DNA-PK và poly –ADP-ribosyl polymerase (PARP) và các protein khung TB như actin, lamin và keratin 18. Các phân đoạn DNA nucleosome bậc thang đặc trưng (characteristic nucleosomal ladder) được tạo ra bởi một số DNase, nổi bật là CAD (caspase activated DNase), nó được giải phóng do việc cắt bỏ các protein ức chế mà chúng thường bị ràng buộc. Việc phân cắt FAX (focal adhesion kinase), PAK2 (p21-associated kinase) và gelsolin cũng đóng góp vào việc làm mất sự kết dính và thay đổi các đặc tính của màng như bị phồng lên và có sự phân bổ lại các protein và phosphalipid của màng. Sự phân bổ lại tạo nên các tín hiệu cho phase "chôn cất sau" (subsequent burial phase). Điều quan trọng là phosphatidylserine thường bị giới hạn một cách nghiêm ngặt ở phía màng trong của lớp màng kép phospholipid, nó sẽ được lộn ra phía màng ngoài và được nhận ra bởi các receptor trên các đại thực bào được thu hút bởi các tín hiệu hóa học khuếch tán ra từ các TB chết.

***Bảng 8.2.*** *Các cơ chất protein của caspase trong quá trình thực hiện apoptosis*

| Thể loại | Ví dụ |
|---|---|
| Khung TB và cấu trúc | Fordrin, β- Catenin, Plakoglobin, actin, Gelsolin, cytokeratin, lamin |
| Chu kỳ TB và sao chép | MCM3, MDM2/HDM2, RB1, $p21^{CIPI}$, $P21^{KIPI}$, $p27^{KIPI}$, WEEL, CDC2, Cyclin A |
| Sửa chữa DNA và sao chép | Topoisomerase 1, poly-adp-ribosyl polymerase (DNA-PK), chất ức chế DNase hoạt hóa caspase (ICAD) |
| Phiên mã và ghép nối | Protein gắn yếu tố điều hòa sterol (SREBP), yếu tố phiên mã STAT1, NFαB(P65, P50) và SP1, IκB, các SNRNP khác nhau. |
| Chuyển nạp tín hiệu( signal transduction) | Protein kinase PKCδ, PKCθ, MEKK1, FAK và các protein khác, PP2A, RAS-GAP, PLA2 |
| Protease và các chất ức chế | Tiền caspase, Calpastatin, Huntingtin, presenilin, ataxin, BCL2, $BCL\text{-}X_L$ |
| Protease và các chất điều hòa apoptosis | |

## 8.3. CÁC CƠ CHẾ LÀM SUY GIẢM APOPTOSIS TRONG UNG THƯ

Sự suy giảm apoptosis của các TB ung thư rất quan trọng vì nhiều lý do:

1) Trong một số ung thư, giảm apoptosis là nguyên nhân chính làm tăng trưởng khối u, ví dụ như u nang lympho tế bào B (follicular B-cell lymphoma) và có lẽ trong các ung thư tiền liệt tuyến giai đoạn sớm. Trong những khối u này, các TB dù phải trải qua apoptosis trong quá trình cân bằng nội mô bình thường nhưng vẫn tồn tại, điều đó dẫn đến nhiều mô bị phá vỡ tổ chức và quá khổ về kích cỡ.

2) Tốc độ suy giảm apoptosis sẽ làm tăng cực độ sự tăng sinh ở nhiều ung thư khác nhau.

3) Apoptosis là một cơ chế không an toàn trong đáp ứng với tín hiệu tăng sinh không thích hợp (như sự lão hóa sao chép chẳng hạn) cũng như sau khi có sự tổn hại DNA rõ rệt, ví dụ gãy chuỗi kép không sửa chữa được. Vì thế, giảm đáp ứng với các tín hiệu tiền apoptosis "nội tại" (internal) sẽ cho phép TB tăng sinh mặc dù các tín hiệu tăng sịnh là không thích hợp hoặc tổn hại DNA là rất nghiêm trọng. Điều này xảy ra ở nhiều dạng ung thư tại giai đoạn tiến triển muộn.

4) Các tế bào T gây độc TB từ hệ miễn dịch có nhiệm vụ bảo vệ, kháng lại ung thư và các phản ứng viêm là do cảm ứng apoptosis, đó là một cơ chế giết chết TB. Giảm đáp ứng đối với các tín hiệu tiền apoptosis bên ngoài vì thế là một trong số các cơ chế mà theo đó các TB khối u trấn áp đáp ứng miễn dịch. Khía cạnh này liên quan đặc biệt tới sự xâm lấn và di căn. Ở giai đoạn sớm hơn của phát triển ung thư, một số virus như Epstein-Barr hoặc HHV 8 biểu hiện các yếu tố kháng apoptosis, do đó làm giảm apoptosis trong đáp ứng với cả các tín hiệu bên trong và bên ngoài, vì thế mà tạo nên một quần thể các TB nhạy cảm hơn với việc sinh ung thư.

5) Nhiều thuốc gây độc TB được sử dụng trong hóa trị cũng như xạ trị đều tác động bằng cách gây cảm ứng apoptosis. Giảm đáp ứng apoptosis vì thế đã góp phần vào sự đề kháng sơ cấp và thứ cấp đối với hóa trị và xạ trị.

Trong các ung thư người, giảm apoptosis có thể do các biến đổi ở nhiều bước khác nhau bởi rất nhiều cơ chế (Bảng 8.3). Các protein làm nhiệm vụ chuyển tiếp các tín hiệu tiền apoptosis có nguồn gốc bên trong hoặc bên ngoài có thể bị bất hoạt, vì thế con đường ngoại sinh hoặc nội tại sẽ trở nên mất hoạt hóa hoặc mất nhạy cảm và cản trở ngay cả giai đoạn thực hiện. Ở một số ung thư, nó có thể bị ảnh hưởng tại một số giai đoạn khác nhau. Tuy nhiên, giảm apoptosis trong các TB ung thư thường là do sự hoạt động quá mức của các con đường tín hiệu sống sót (survival) hơn là do các biến đổi sơ cấp ở con đường apoptosis. Tuy nhiên, mức độ apoptosis xảy ra ở các ung thư người lại không ở cùng một tốc độ. Những sự thay đổi điển hình làm giảm tốc độ apoptosis ở ung thư người bao gồm:

❖ ***Mất nhạy cảm của các receptor chết***. Hệ thống CD95/CD95L bị bất hoạt hoặc mất nhạy cảm xảy ra ở nhiều loại ung thư người khác nhau, các ung thư huyết cũng như các carcinoma. Thỉnh thoảng cũng quan sát thấy đột biến gen TNFRSF6 mã hóa cho CD95, trong hầu hết các trường hợp việc điều hòa xuống sự biểu hiện receptor có thể là cơ chế đáp ứng chủ đạo. Trong một số ung thư xảy ra sự thay đổi biểu hiện từ receptor vận chuyển màng sang receptor (cò mồi) hòa tan. Thay đổi biểu hiện protein FADD, giảm biểu hiện caspase 8 và biểu hiện quá mức FLIP làm ức chế casapase ở DISC đã được xác định là các nguyên nhân gây ra sự khiếm khuyết receptor hậu (post receptor defects) trong một số ung thư. Trong những trường hợp như thế thì hậu quả

chung là giảm đáp ứng với các TB miễn dịch gây độc TB cũng như các tác nhân hóa trị liệu, qua đó làm cảm ứng phần nào apoptosis thông qua việc tăng biểu hiện cả DP95 cũng như các ligand của chúng. Các thành viên khác của họ TNFRSF như các receptor TRAIL cũng bị bất hoạt bởi các cơ chế tương tự.

***Bảng 8.3.*** *Các cơ chế làm giảm apoptosis trong các ung thư người*

| **Các cơ chế** |
|---|
| Mất nhạy cảm của các receptor chết (sự khởi đầu và tín hiệu của con đường ngoại sinh) |
| Sự phản công (tránh né các tín hiệu receptor chết) |
| Mất chức năng của TP53 |
| Mất nhạy cảm hoặc bất hoạt con đường nội tại |
| Biểu hiện quá mức các IAP |
| Hoạt hóa con đường kháng apoptosis |

❖ ***Sự phản công:*** Thêm vào đó, giảm biểu hiện receptor CD95/FAS trong một số ung thư cũng đi kèm với việc tăng biểu hiện ligand CD95 hòa tan. Người ta cho rằng, việc tiết CD95L thường góp phần vào việc thiết lập các vị trí "đặc quyền miễn dịch" trong cơ thể con người. Những vị trí đặc quyền miễn dịch được thiết lập trong các cơ quan như khoang mắt trước (anterior eye chamber) hoặc tinh hoàn không thể có các TB thích đáng với chức năng lympho, vì thế mà chúng bị đẩy ra ngoài. Hậu quả là, tăng sản xuất CD95 có thể giúp cho ung thư ngăn ngừa được các đáp ứng miễn dịch và thậm chí còn tiêu diệt cả các tế bào T và các TB khác biểu hiện CD95. Sự tấn công này có thể làm cho một số mô bị hư hại do sự xâm lấn của ung thư và điều này có thể xảy ra ở các cơ quan xa hơn như gan.

❖ ***Mất TP53:*** Khi điều hòa xuống hoặc có đột biến CD95 thì sẽ làm bất hoạt tín hiệu tiền apoptosis có nguồn gốc bên ngoài, bất hoạt TP53 có thể là sự biến đổi thông thường nhất để thỏa hiệp với tín hiệu tiền apoptosis. TP53 làm trung gian cảm ứng apoptosis trong đáp ứng với sự tổn hại DNA cũng như cường tăng sinh. Có một số vấn đề là việc mất chức năng tiền apoptosis của nó có thể là hệ quả quan trọng nhất của sự bất hoạt TP53.

❖ ***Bất hoạt con đường nội tại:*** Trong hầu hết các thể loại biến đổi có ảnh hưởng đến con đường apoptosis thì BCL2 được phát hiện như là một protein sinh ung thư được kích hoạt bởi sự chuyển vị đặc trưng nhất trong u nang lympho (follicular lymphoma). Nó cũng biểu hiện quá mức với khá nhiều ung thư khác nhau, bao gồm các dạng khác nhau của carcinoma, nổi bật là ung thư vú và ung thư tuyến tiền liệt. Còn một phương thức khác đối với BCL2 đó là các ung thư chứa BCL2 $–X_L$ với mức cao sẽ bị cảm ứng

bởi con đường NFκB. Ngược lại, các thành viên tiền apoptosis của họ BCL2 như BAD hoặc NOXA (Bảng 8.2) lại bị điều hòa xuống ở nhiều ung thư khác nhau, trong một số trường hợp do cường methyl hóa promoter và không bị cảm ứng bởi bất hoạt TP53 hoặc các tín hiệu khác. Thành viên điều hòa xuống thông thường nhất của họ này có thể là BAX, có lẽ do chức năng efector của nó tại ty thể. Ngay cả việc ngăn chặn apoptosis mạnh hơn nữa cũng có thể được đảm bảo khi sự biểu hiện APAF1 được điều hòa xuống, đặc biệt là bởi cường methyl hóa promoter. Nói tóm lại, trong hầu hết các ung thư, sự cân bằng giữa các thành viên tiền apoptosis và kháng apoptosis của họ này đã bị lệch đi. Kết qủa tổng thể của sự mất cân bằng này là giảm nhạy cảm với các tín hiệu apoptosis, đặc biệt là nó được thể hiện bằng sự cường tăng sinh và dị bội (aneuploidy), nhưng cũng còn do cả việc hóa trị liệu nữa.

❖ ***Biểu hiện quá mức IAP:*** Cả 2 con đường nội tại và ngoại sinh đều bị ảnh hưởng bởi sự biểu hiện quá mức của các protein IAP, nó ngăn chặn các tín hiệu qua caspase cũng như  các caspase thực hiện thực tế như caspase 3. Ví dụ như survivin biểu hiện cao trong quá trình phát triển bào thai, nhưng hầu như không phát hiện được trong các mô bình thường. Một số biểu hiện phát hiện thấy có liên quan tới các quá trình tăng sinh và tái sinh bình thường như trong sự sửa chữa các vết thương. Tuy nhiên, trong nhiều ung thư người thì mức các protein IAP là rất cao và tăng một cách nhất quán, các protein này đang được phát triển như là một marker khối u. Các IAP cũng có thể được biểu hiện hoặc bị cảm ứng bởi các virus có mặt trong các TB khối u như EBV, hoặc HBV. Sự biểu hiện quá mức của các IAP sẽ ngăn chặn phase thực hiện có thể dẫn đến kết quả là các TB ung thư rơi vào tình trạng hỗn loạn, điều đó có nghĩa là việc hoạt hóa một phần caspase là chưa đủ để thực thi việc giết chết TB. Hậu quả của sự hoạt hóa một phần như thế có thể làm thay đổi về hình thái học TB và sự kết dính cũng như làm mất tính ổn định của hệ gen. Sự biểu hiện của các IAP khác hoặc c-FLIP sẽ làm ngăn trở chủ yếu phase tín hiệu của con đường ngoại sinh do ức chế tín hiệu từ FADD tới casapse 8 hoặc 10.

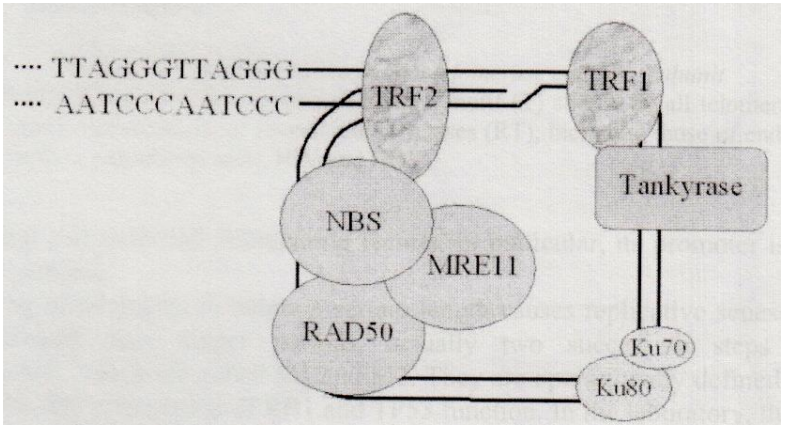
❖ ***Hoạt hóa con đường kháng apoptosis:*** Các khiếm khuyết về tín hiệu apoptosis thực sự và thác thực thi xảy ra trong các TB ung thư hầu hết được điều hòa bổ sung nhờ gia tăng sự hoạt động của các con đường truyền tín hiệu sống sót. Có lẽ quan trọng nhất là con đường PI3K và NFκB. Con đường PI3K được hoạt hóa trong nhiều ung thư, gián tiếp qua các yếu tố tăng trưởng, các đột biến sinh ung thư của receptor tyrosine kinase, các đột biến RAS hoặc trực tiếp bởi việc làm bất hoạt các yếu tố điều hòa âm trong con đường PTEN hoặc do biểu hiện quá mức PI3Kα. Con đường này kích thích tăng sinh và đặc biệt là tăng trưởng TB, nhưng trong nhiều ung thư điểm quan trọng chủ yếu của sự hoạt hóa nó là ở chỗ tiếp sau đó là sự ức chế apoptosis. Vấn đề này được trung gian qua sự hoạt động của AKT/PKB làm nhiệm vụ phoshoryl hóa BAX ngăn chặn chúng kích hoạt con đường apoptosis nội tại. Enzyme kinase cũng

phosphoryl hóa và hoạt hóa yếu tố chạc ba sao chép FKHR-L1 chống lại apoptosis ở mức độ sao chép. So sánh giữa con đường PI3K, NFκB thấy nó ít khi phụ thuộc vào việc kích hoạt trực tiếp do đột biến trong các ung thư người. Tuy nhiên, trong nhiều dạng ung thư nó lại làm giới hạn mức độ cảm ứng apoptosis do hoạt hóa các receptor chết TNFRSF. Vì thế, sự hoạt hóa gián tiếp của nó trong các TB khối u có thể đạt được nhờ các cytokine và các tín hiệu stress, chúng đều góp phần vào việc kháng lại cảm ứng apoptosis bởi các tín hiệu bên ngoài như TNFα hoặc CD95.

## 8.4. LÃO HÓA SAO CHÉP VÀ SỰ PHIỀN NHIỄU CỦA NÓ TRONG CÁC UNG THƯ NGƯỜI

Apoptosis thường là một quá trình xảy ra nhanh chóng khoảng từ 1 giờ tới 1 ngày. Hơn nữa, thường do các tín hiệu nhanh như sự liên kết của các cytokine với các receptor chết ở màng TB hoặc bởi hoạt hóa TP53 do ATM sau khi chuỗi kép DNA bị bẻ gãy. Ngoài ra các TB còn buộc phải trải qua apoptosis rồi mới hoàn toàn bị biến mất trong thực bào. Xét về tất cả các khía cạnh thì sự lão hóa sao chép hoàn toàn khác hẳn. Nó được thiết lập một cách chậm chạp và thường được gây nên bởi các tín hiệu được tích lũy dần dần và các TB ít nhất là vẫn còn tồn tại trong một thời gian ngắn. Sự lão hóa sao chép có thể được khơi dậy bởi 2 tín hiệu khác nhau được sử dụng chồng chéo lên nhau để thực thi nhiệm vụ. Một dạng tín hiệu xuất phát từ các telomere ngắn, còn dạng thứ hai từ các chất ức chế CDK.

Telomere ở các TB người có chiều dài khoảng 5-30 kb và tạo nên 1000-5000 các lặp hexamere TTAGGG. Mỗi telomere bao gồm các DNA chuỗi kép, nhưng 75-150 nt ở các đầu mút lại là chuỗi đơn. Thông thường thì những chuỗi đơn này được cuộn lại thành các chuỗi kép, tạo nên các vòng T (T-loop) (Hình 8.6). Cấu trúc này tương tự như các vòng D được tạo nên khi sửa chữa DNA bằng tái tổ hợp tương đồng. Ở người, DNA tomeric bao quanh các nucleosome. Vì thế, tuy ở lõi là histone nhưng lại có một bộ phận bất thường là các protein khác. Protein TRF2 (telomeric repeat binding factor 2) làm nhiệm vụ cảm ứng và đóng kín lại các các vòng T. Nó cũng thực thi như một chiếc neo đối với nhiều protein khác được định vị tại telomere dưới các điều kiện bình thường, đặc biệt là phức hợp RAD50/NBS/MRE11. Phức hợp này làm nhiệm vụ xử lý các vết gãy chuỗi kép trong khi sửa chữa DNA. Protein KU 70 và KU 80 cũng có mặt và làm nhiệm vụ bao kín lại và bảo vệ các vết gãy chuỗi kép DNA khi sửa chữa tại telomere. Như vậy, một mặt các telomere xuất hiện như là một "thùng chứa" (reservoir) các protein này, nhưng mặt khác thì các protein sửa chữa được lắp vào một cách chiến lược để đối phó với sự tổn hại của chính các telomere. Một protein khác là TRF1 tương đồng với TRF2 lại làm giới hạn chiều dài của telomere vì nó được điều tiết bởi tankyrase- một poly-adenosine diphosphate ribosylase và protein nhân 2 tương tác TRF1 (TRF1- interacting nuclear protein 2). TRF1 cũng trợ giúp cho việc duy trì phức hợp RAD50/NBS/MRE11 ở telomere.




**Hình 8.6** *Cấu trúc của telomere người*

Cấu trúc vòng T của telomere người có một số protein định vị tại đó. Sự sắp xếp của chúng chủ yếu là theo giả thuyết.

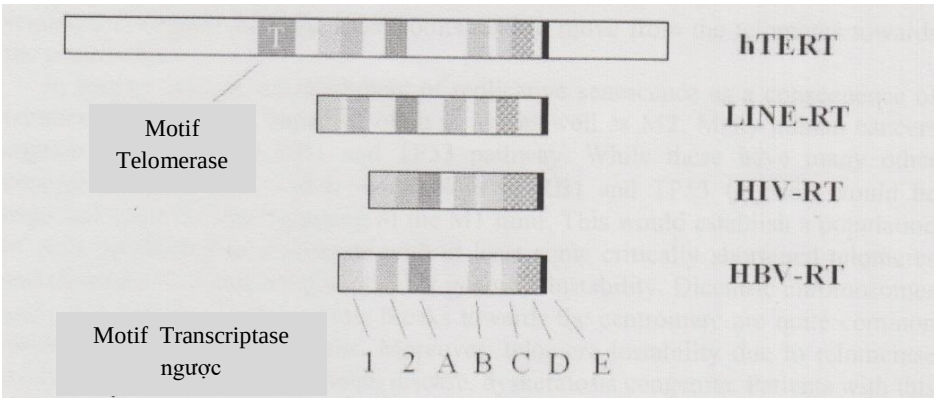
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Cứ mỗi lần sao chép DNA ở các TB soma thì telomere lại ngắn đi một chút. Đây là nguyên nhân gây nên việc kết thúc sao chép. Chuỗi đỉnh (top strand) (đuôi 5' ở telomere) được sao chép do sự kéo dài của primer RNA ở gần đuôi. Sau khi tổng hợp DNA thì nó được loại bỏ bởi RNase, kết quả là lỗ hổng không được lấp đầy vì DNA polymerase hoạt động theo hướng cố định từ 5' đến 3'. Tình trạng khó xử về sự sao chép ở đầu cuối (end-replication) này, về lý thuyết có thể tiên đoán tối thiểu là có sự mất đi các trình tự telomere trong mỗi quá trình sao chép. Trong thực tế về mặt mức độ có thể sẽ còn lớn hơn nữa và nó lại được điều tiết bởi TRF1.

Trong các TB dòng mầm, việc giảm chiều dài telomere được ngăn chặn bởi một enzyme chuyên biệt là telomerase (Hình 8.7). Theo đó, telomerase trong các TB mầm có chiều dài gấp đôi so với telomerase của các TB soma. Telomerase là một transcriptase ngược chuyên biệt được dùng như là khuôn RNA (AAUCCC) được cung cấp bởi tiểu đơn vị hTERC của nó để kéo dài telomere. Trong khi tiểu đơn vị hTERC được biểu hiện ở hầu hết các TB soma người thì tiểu đơn vị xúc tác lại bị hạn chế với một số ít TB có tiềm năng sao chép cao như các TB dòng mầm, các TB gốc mô và các TB ghi nhớ miễn dịch. Sự biểu hiện của gen *TERC* được cảm ứng bởi một số yếu tố kích thích tăng sinh và duy trì TB gốc. Đặc biệt là các promoter của nó lại là đích của các protein MYC.

Việc thu ngắn telomere với một chiều dài nhất định sẽ làm lão hóa sao chép. Ở các TB nuôi cấy với thời gian dài hơn thực sự là có 2 bước kế tiếp phân biệt là M1 và M2. Có thể loại bỏ M1 bằng cách làm mất chức năng của RB1 và TP53. Trong phòng thí nghiệm điều này có thể được thực hiện bằng việc đưa vào các protein virus như SV40 kháng nguyên T lớn. Sau 40-50 lần nhân đôi thì bộ (set) lão hóa chỉ dừng ở điểm

M2. Để giải thoát điểm M2 thì phải hoạt hóa telomerase. Tuy nhiên, người ta chưa hiểu một cách chính xác là cái gì đã xảy ra ở M1 và M2. Các telomere người thay đổi rất nhiều, vì vậy có ý kiến cho rằng khi M1 được kích hoạt bởi telomere đầu tiên đã đạt tới một chiều dài xác định. Sau đó là việc hoạt hóa đáp ứng trạm kiểm soát thông qua con đường RB1 và TP53. Tại M2, một telomere khác bị thu ngắn lại. Một số telomere sẽ trở nên quá ngắn đến mức chúng không còn đủ dài để hình thành nên vòng T. Hơn nữa cũng có thể là do không còn khả năng tích trữ các protein sửa chữa DNA nữa. Vì thế, một số kiểu đáp ứng sửa chữa chuỗi kép DNA có thể được khởi đầu, có khả năng là thông qua ATM lại gây cảm ứng lão hóa sao chép một lần nữa. Trong khi đó, có một số ý kiến chưa được minh chứng đầy đủ là tín hiệu tổn hại DNA có liên quan xác định tới sự lão hóa sao chép.




**Hình 8.7** *Cấu trúc của tiểu đơn vị xúc tác telomerase người.*

Enzyme hTERC người 127 kDa có chứa một motif (T) giống như tất cả các telomerase và một số motif đặc trưng của transcriptase ngược (RT), bao gồm cả retrotransposome LINE -1 người nội sinh cũng như HIV và HBV.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

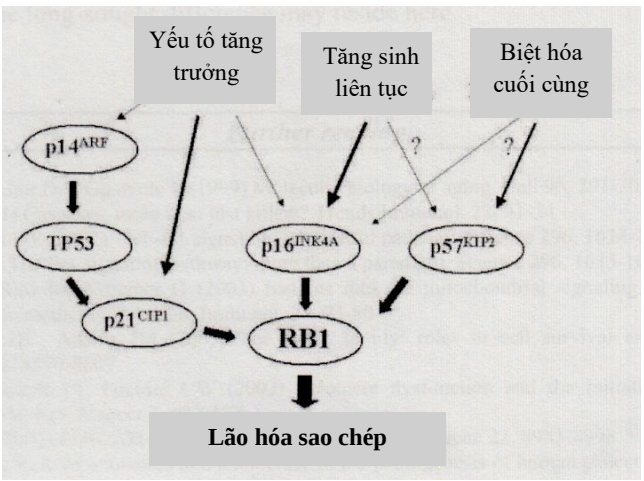
Sự ngắn lại của telomere sẽ dẫn đến mất tính ổn định nhiễm sắc thể. Dĩ nhiên là, các telomere bị rút ngắn sẽ trở thành cơ chất cho các exonuclease, điều đó sẽ làm suy thoái dần dần NST. Trên thực tế, mối nguy hiểm lớn hơn đối với sự toàn vẹn của hệ gen có thể là sự tái tổ hợp giữa các telomere của 2 NST tạo nên NST hai tâm (dicentric). Trong quá trình phân bào mitosis điều này dẫn đến sự phân chia sai lệch hoặc bị kéo về phía ngược lại với trục quay và bị gián đoạn. Việc gián đoạn sẽ tạo nên 2 đầu mút NST mở (two open chromosome ends), do vậy có thể dính với các NST khác và tạo thành các nhị tâm khác để tiếp tục chu kỳ. Lưu ý là trong trình tự breakage- fusion-brigde cổ điển thì các trạm kiểm soát có xu hướng thay đổi vị trí từ telomere sang centromere.

Trong các ung thư người, việc thiết lập lão hóa sao chép được coi như là hệ quả của sự ngắn lại telomere đã bị cản trở, thường là ở M1 cũng như M2. Nhiều ung thư người có khiếm khuyết ở con đường RB1 và TP53. Vì lý do này nên thiết lập một quần thể TB tăng sinh liên tục ít nhất là với một số telomere đã ngắn đi nghiêm trọng sẽ làm

tăng tiềm năng bất ổn định hệ gen. Những NST nhị tâm và sự di động của các mảnh gãy NST về hướng centromere vẫn thường quan sát thấy ở các TB carcinoma. Tuy nhiên, sự bất ổn định của telomere làm rối loạn chức năng của telomerase sẽ là nguyên nhân gây nên một bệnh trên người có tên là loạn tạo sừng bẩm sinh (dyskeratosis congenita). Những bệnh nhân mắc bệnh di truyền hiếm gặp này không chỉ có các khuyết tật ở da, tóc, hệ thống tạo máu mà còn có thể dẫn đến ung thư.

Ngoài các khiếm khuyết ở con đường RB1 và TP53, nhiều ung thư người còn biểu hiện cả hTERC điều đó thể hiện rõ ràng là có sự hoạt hóa một cách enzyme ở các dịch chiết mô. Trong một số mô, sự biểu hiện hay hoạt tính của hTERC vì thế được coi như là một biomarker ung thư. Trong các ung thư có biểu hiện hTERC thì chiều dài của telomere ít nhất là được ổn định ở mức thấp mặc dầu không phải lúc nào nó cũng được hồi phục.

Có bằng chứng một cơ chế khác về sự ổn định hóa telomere có tên là ALT ở một số ung thư người và ở ngay cả các mô bình thường - nơi mà các telomere được ổn định hóa hoặc thậm chí còn được dài ra khi vắng sự hoạt động của telomerase. Cơ chế ALT vạch rõ, cơ chế này hiện nay chủ yếu là dựa trên phóng đoán với các gợi ý từ các cơ chế khác được sử dụng trong các sinh vật không có telomerase. Ở các sinh vật đó sự biểu hiện của telomere có thể được thực hiện theo kiểu sửa chữa chuỗi kép bằng tái tổ hợp tương đồng. Thực sự thì cũng đã có một số bằng chứng cho cơ chế này ở người và đặc biệt là có thể có liên quan tới WRN helicase.




**Hình 8.8** *Các yếu tố ức chế CDK với tư cách là các yếu tố điều hòa lão hóa sao chép.*
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Sự "xói mòn" telomere chắc chắn tác động rất nhiều đến tuổi thọ của các TB người trong nuôi cấy. Nó có thể được coi như là một cơ chế đếm số chu kỳ mà một TB đã trải qua. Cơ chế thứ 2lại nằm ở các protein ức chế CDK, đặc biệt là $p16^{INK4A}$, $p21^{CIPI}$ và $p57^{KIP2}$ (Hình 8.8).

Trong số các chất ức chế CDK thì $p21^{CIPI}$ bị cảm ứng mạnh bởi TP53 và có thể đáp ứng mạnh với việc dừng chu kỳ TB sau khi telomrer bị ngắn đi. Tuy nhiên, người ta lại cho rằng $p21^{CIPI}$ cũng được tích tụ trong các TB tăng sinh liên tục, không phụ thuộc vào TP53 vì nó được cảm ứng bởi nhiều chất kích thích tăng sinh. Điều này là chắc chắc đối với $p16^{INK4A}$, nó không bị điều tiết bởi TP53. Trong một số TB soma người $p16^{INK4A}$ được cảm ứng bởi các yếu tố E2F và các yếu tố sao chép khác đã được hoạt hóa trong tiến trình chu kỳ TB. Vì protein này có đời sống bán phần tương đối dài nên nó được tích tụ lại nhanh chóng khi các chu kỳ TB xảy ra nối tiếp nhau. Trong một số dạng TB có biểu hiện $p57^{KIP2}$ thì chất ức chế này tác động theo chu kỳ với phong cách tương tự. Vì thế, mức độ của sự ức chế CDK xác định như chiều dài của telomere phụ thuộc vào số chu kỳ TB nối tiếp nhau. Đây có thể lại là một cơ chế đếm thứ hai.

Tuy nhiên, trong cơ chế này thì nó không những phụ thuộc vào số chu kỳ TB hiện thời mà nghiêm trọng hơn là việc chúng nối tiếp nhau nhanh như thế nào, đồng thời cũng phụ thuộc vào tín hiệu gây nên sự tăng sinh. Trường hợp cực đoan là cường tăng sinh được cảm ứng bởi các các gen sinh ung thư như *RAS* và *MYC*. Trong các TB người, sự như thế không những cảm ứng $p14^{ARF1}$ nhạy cảm TP53 mà còn cảm ứng cả $p16^{INK4A}$. Các protein này làm dừng chu kỳ TB khá nhanh chóng, chắc chắn là nhanh hơn cơ chế rút ngắn telomere. Cơ chế này có thể giải thích được sự khác nhau về tuổi thọ của các dạng TB người khác nhau trong nuôi cấy, vì các TB biểu mô có thể nhạy cảm hơn nên lão hóa tương đối. Nói chung, nó liên can tới cả $p14^{ARF1}$ và $p16^{INK4A}$ trong đáp ứng với cường tăng sinh ở các TB người, điều đó có thể giải thích được tại sao locus *CDKN2A* là đích thường xuyên cho sự bất hoạt ở rất nhiều ung thư người. Đặc biệt là, nó có thể giải quyết được điều bí ẩn là tại sao $p16^{INK4A}$ lại là một chất kiềm chế khối u quan trọng nhất.

Các cơ chế liên quan đến điều hòa sao chép đã thiết lập được những khác biệt khá quan trọng giữa người và gặm nhấm trong ung thư. Bởi vì những cơ chế này có thể liên quan đến sự lão hóa của cơ thể. Một con chuột 2 năm đã tiếp cận với tuổi già, trong khi đó một người 2 tuổi thì vẫn là một đứa trẻ mới biết đi và còn lâu mới tới lúc trưởng thành. Tuy nhiên, những người nặng 70 kg sống 70 năm rồi lại đòi hỏi phải có thêm các cơ chế bảo vệ kháng lại ung thư hơn là một con chuột nặng 50g đã 30 tháng tuổi. Trong một tranh luận gián tiếp, quan sát một thời gian dài người ta thấy các TB người rất khó biến nạp so với các TB gặm nhấm. Phải mất một thời gian dài quan sát mới có thể hiểu được một cơ chế phụ để bảo vệ chúng khỏi ung thư. Ngày nay người ta đã thiết lập được các TB soma ở các loài gặm nhấm có biểu hiện telomerase và telomere dài hơn so với người. Tuy nhiên, sự điều hòa của các chất ức chế CDK thì lại khác, đặc biệt là $p16^{INK4A}$. Có một lý do thú vị để tin rằng sự khác biệt mà ta tìm kiếm bấy lâu nay lại có thể cư trú ngay tại đây.

## *TÓM TẮT*

❖ *Ở các mô bình thường sự tăng sinh TB bị giới hạn lại là do sự biệt hóa cuối cùng và được đối trọng bằng việc mất TB, thường là thông qua apoptosis. Sự tổn hại TB cũng gây nên apoptosis hoặc hoại tử. Tuy nhiên, apoptosis có thể được cảm ứng trong đáp ứng với sự tăng sinh không thích hợp hoặc được tạo bởi các TB miễn dịch gây độc TB.*

❖ *Lão hóa sao chép đã tạo ra một kiểu giới hạn tăng sinh TB khác. Các TB tuy sống sót nhưng lại rời khỏi chu kỳ tế bào một cách không đảo ngược trong lúc biệt hóa cuối cùng. Lão hóa sao chép được thiết lập sau khi TB đã trải qua rất nhiều chu kỳ sao chép hoặc do đáp ứng nhanh hơn với các tín hiệu tăng sinh không thích hợp.*

❖ *Apoptosis có thể được cảm ứng bởi 2 con đường tín hiệu lớn tách biệt hội tụ thành một thác thực hiện (thường trực) thông thường. Việc truyền tín hiệu và thực hiện do các enzyme protease có tên là caspase. Con đường nội tại được gây nên bởi các tín hiệu tổn hại mạnh DNA hoặc bởi các oncogene kích hoạt, tạo ra sự thay đổi trạng thái thấm của ty thể, cuối cùng dẫn đến việc thiết lập phức hợp protein "apoptosome" để hoạt hóa các caspase thường trực. Con đường nội tại được khởi đầu bởi các receptor bề mặt TB, các receptor "chết" đánh dấu. Những receptor này được hoạt hóa bởi các ligand cytokine và các protein bề mặt của các TB miễn dịch gây độc TB. Các "domain chết" nội bào của các receptor kích hoạt gắn với các protein chuyển đổi FADD trong phức hợp "DISC" đưa các caspase khởi đầu riêng biệt vào hoạt động. Những sự kiện này sẽ làm khởi động thác thường trực có hoặc không có sự trợ giúp của con đường nội tại.*

❖ *Apoptosis được điều hòa tại một số bước ở cả 2 con đường. Họ BCL2 ngăn chặn các protein liên quan tới tiền apoptosis là BAX hoặc BAK do tác động tại ty thể. Chúng được điều hòa bởi các thành viên họ BCL2 qua trung gian là các tín hiệu tiền apoptosis hoặc kháng apoptosis. FLIP ức chế con đường nội tại ở các receptor, trong khi đó các IAP như survivin lại tác động vào các caspase ức chế apoptosome. Đến lượt mình, chúng lại bị cản trở bởi SMAD/Diablo được giải phóng trong quá trình thay đổi trạng thái thấm của ty thể.*

❖ *Sự lão hóa sao chép lần đầu tiên quan sát thấy trong nuôi cấy nguyên bào sợi người đã trải qua trên 50 lần nhân đôi nhưng sau đó dừng tăng sinh với những thay đổi khác biệt về hình thái học và sự biểu hiện gen. Vì một số bằng chứng về lão hóa sao chép đã được phát hiện ở các mô lão hóa nên sự lão hóa có thể liên quan tới tuổi tác con người. Rõ ràng hơn là, sự lão hóa sao chép tác động như một cơ chế không an toàn (fail-safe mechanism) kháng lại sự tăng sinh không thích hợp, cuối cùng dẫn tới apoptosis.*

❖ *Các tế bào ung thư phải vượt qua được các rào cản do apoptosis và lão hóa sao chép. Đáp ứng apoptosis trong ung thư là ít hoặc đã bị ngăn chặn. Hơn nữa, các tế bào ung thư nói chung là bất tử và tăng sinh vượt ra khỏi giới hạn của lão hóa sao chép.*

❖ *Giảm apoptosis trong các TB khối u có thể nhờ một số phương sách. Điều hòa xuống các receptor chết hoặc tiết ra các receptor mồi làm "im lặng" con đường nội tại. Một số ung thư thậm chí có thể sử dụng cả những ligand receptor chết để phản công lại hệ thống miễn dịch. Việc làm bất hoạt sự đột biến TP53 cũng như sự yên lặng hoặc đột biến các mediator tiền apoptosis hạ nguồn làm giảm đáp ứng đối với các tín hiệu hoạt hóa con đường nội tại. Tuy nhiên, con đường PI3K hoặc NFκB làm cho các tín hiệu sống sót thường được hoạt hóa quá mức. Sự biểu hiện quá mức của các protein BCL2, survivin và IAP xảy ra ở hầu hết các ung thư. Hiếm khi quan sát thấy sự bất hoạt các gen tác động ở thác thường trực.*

❖ *Sự lão hóa sao chép được cảm ứng sau nhiều lần nhân đôi tế bào, khi mà chiều dài của các telomere đã đạt tới kích cỡ tới hạn tối thiểu. Nó được thiết lập bởi các cơ chế tương tự như các cơ chế hoạt hóa trạm kiểm soát chu kỳ TB do hệ quả của sự bẻ gãy DNA chuỗi kép.*

❖ *Các telomere của người gồm hàng trăm các lặp hexanucleotide TTAGGG. Chúng tạo nên một cấu trúc vòng hình chữ T chuyên biệt được bảo vệ nhờ gắn với một số protein khác nhau. Trong hầu hết các TB soma, các telomere cứ ngắn lại dần sau mỗi lần phân chia. Ngược lại, các TB mầm và rất có thể cả các TB tiền thân của mô đều biểu hiện transcriptase ngược chuyên biệt hTERT (specialized reverse transcriptase) và tiểu đơn vị RNA của nó là hTR hoạt động với tư cách là một khuôn (template) trong quá trình kéo dài telomere nhờ hTERT. Nhiều ung thư biểu hiện telomerase và vì thế mà nó làm ổn định hóa cho chiều dài của telomere. Một cơ chế khác hiếm hơn (ở đây là ALT) làm ổn định chiều dài của telomere mà hiện nay ít người biết tới. Nó có thể được sử dụng để tái tổ hợp DNA.*

❖ *Việc cảm ứng sự lão hóa sao chép có thể qua trung gian các mediator của RB1 hoặc TP53. Sự tăng sinh TB sẽ tích tụ dần dần các chất ức chế CDK như $p21^{CIPI}$, $p57^{KIP2}$ và đặc biệt là $p16^{NK4A}$ cảm ứng dừng chu kỳ TB thông qua RB1. Một cảm ứng mạnh hơn đối với sự lão hóa sao chép được trung gian bởi cảm ứng $p14^{INK4A}$ do các oncogene hoặc thâm nhiễm virus và hoạt hóa TP53 cũng như RB1. Vì thế, những khiếm khuyết ở RB1, TP53 cùng các chất ức chế CDK trong các TB ung thư cũng ngăn chặn sự lão hóa sao chép.*

❖ *Việc làm ngắn đi các telomere sẽ làm tăng tiềm năng sự tái tổ hợp cũng như sự kết nối lại với nhau. Nếu sự lão hóa sao chép không được thiết lập thì các telomere phản ứng sẽ góp phần làm mất tính ổn định của NST trong ung thư.*

# CHƯƠNG IX: UNG THƯ EPIGENETIC

## 9.1. CÁC CƠ CHẾ DI TRUYỀN EPIGENETIC

Một cách thông thường có thể nói rằng, ung thư là do các biến đổi di truyền trong các TB, nhưng thực ra nó không phải hoàn toàn như vậy. Nhiều tính chất của các TB khối u đã được xác định qua các mẫu biểu hiện gen của chúng không nhất thiết phải có những biến đổi về cấu trúc của các sản phẩm gen do đột biến hoặc do các biến đổi trong cấu trúc các yếu tố điều hòa gen hay có sự biến đổi về lượng (dosage) của gen. Rõ ràng là, rất nhiều mẫu khác nhau về sự biểu hiện gen đã được thiết lập trong các TB bình thường của cơ thể người và có thể trong nhiều trường hợp nó còn được duy trì một cách ổn định trong quá trình tăng sinh.

Chẳng hạn như các TB gốc của mô vẫn còn lưu giữ các kiểu hình của chúng qua hàng ngàn lần phân chia trong suốt đời sống con người. Tương tự như vậy, sự biệt hóa TB ở người nhìn chung đạt được mà không cần sự biến đổi nào ở các trình tự cũng như hàm lượng DNA, dĩ nhiên là cũng có ngoại lệ. Sự biệt hóa của các tế bào lympho B và T có liên quan đến sự sắp xếp lại gen nhưng không hề bị mất đi một mảnh DNA nhỏ nào các gen globulin miễn dịch cũng như gen receptor tế bào T. Trong một số mô, các TB biệt hóa tận cùng là đa bội.

Vì thế, về mặt lý thuyết thì kiểu hình của TB khối u có thể đạt được bởi các cơ chế tương tự như các cơ chế xác định các trạng thái biệt hóa bình thường. *Nói chung, các cơ chế dẫn đến kiểu hình di truyền ổn định mà* ***không có sự thay đổi nào trong các trình tự DNA cũng như những thứ chứa đựng trong một TB*** *thì được xác định là* ***"epigenetic"***. Trên thực tế, không có khối u ác tính nào trên người tuyệt đối do các cơ chế epigenetic. Thay vào đó, trong hầu hết các ung thư, những biến đổi epigenetic chỉ bổ sung thêm cho các biến đổi di truyền, và trong nhiều trường hợp sự xuất hiện của chúng cũng rất cần thiết.

Định nghĩa cái gì được coi là epigenetic đã trải qua nhiều biến động trong suốt hơn một thập kỷ qua (Bảng 9.1). Nhìn chung, người ta đều đồng ý rằng ***in dấu hệ gen*** (genomic imprinting) và sự ***bất hoạt nhiễm sắc thể X*** là những ví dụ quan trọng. Trong cả 2 trường hợp, những trình tự DNA giống hệt nhau nhưng lại biểu hiện khác nhau trong phương thức di truyền một cách ổn định. Một cơ chế liên quan đến việc cố định sự biểu hiện biệt hóa này là việc ***methyl hóa DNA*** ở các gốc cytosine, đó là một cơ chế epigenetic mẫu mực khác. Sự methyl hóa DNA cũng là phương tiện cho các trường hợp

khác về sự yên lặng gen và sự hình thành dị nhiễm sắc ngẫu nhiên. Những cơ chế khác cũng góp phần, đáng chú ý là ***những biến đổi sau phiên dịch*** (tổng hợp) histone, đặc biệt là ***sự methyl hóa*** các gốc lysine đặc hiệu. Khi so sánh ta thấy, sự acetyl hóa histone chắc chắn là điều hòa hoạt tính của gen, nhưng không chắc chắn là sự biến đổi này có được coi như là một cơ chế epigenetic hay không, bởi vì nó có thể đảo ngược một cách dễ dàng ngay cả khi không có sự phân chia tế bào.

Vì sự methyl hóa DNA và các cơ chế liên quan đến epigenetic rất quan trọng đối với sự yên lặng gen di truyền một cách ổn định nên *các cơ chế khác sẽ đáp ứng cho sự hoạt hóa gen di truyền một cách ổn định*. Hoạt hóa gen đòi hỏi có sự biến đổi của chất nhiễm sắc (chromatin) trong vùng điều hòa của gen và sự lắp ráp của một phức hợp protein bao gồm các yếu tố sao chép gắn với DNA ở các vị trí đặc hiệu cũng như các đồng yếu tố hoạt hóa (co-activator). Phức hợp này tương tác với các yếu tố sao chép cơ bản và RNA polymerase để khởi đầu sao chép, nhưng cũng có những biến đổi khác nữa về chất nhiễm sắc khu vực. Vẫn chưa rõ hoàn toàn là trạng thái gen hoạt hóa đã được nảy sinh như thế nào thông qua sao chép DNA và mitosis. Sự phosphoryl hóa histone thiết nghĩ là cũng giữ một vai trò nào đó. Yếu tố khác trong sự nảy sinh này là sự biệt hóa tế bào cũng thường đạt được thông qua thác yếu tố sao chép bao gồm cả các bước khuếch đại tự điều hòa làm cho các quá trình thiết yếu không thể đảo ngược. Điều này chắc chắn có thể được coi như là một cơ chế epigenetic.

Trong khi tất cả những cơ chế trên đều xảy ra chủ yếu trong nhân của một TB đơn thì người ta có thể mở rộng khái niệm epigenetic tới các hiện tượng ở bên ngoài nhân và thậm chí tới cả các tương tác ổn định xác thực giữa các TB khác nhau. Chẳng hạn như, tín hiệu từ một TB có thể gây nên một đáp ứng bắt nguồn từ một TB khác phản ứng đầu tiên và v.v... Những tín hiệu như thế thực ra là có sự trao đổi về kiểu cách hoặc là homotype hay heterotype trong chức năng bình thường của mô, cũng như trong quá trình sửa chữa và thích ứng của mô. Các vòng (loop) giữa các TB rất quan trọng trong việc điều hòa tăng sinh và biệt hóa mô và có thể là duy trì một cách ổn định suốt cả cuộc đời. Khái niệm này có thể được mở rộng, ngoại trừ việc coi sự phát triển phôi như là hệ quả của các sự kiện epigenetic. Khi xâm phạm vào mỗi cơ chế trên thì sẽ góp phần vào việc kiến tạo ung thư cho người.

***Bảng 9.1.*** *Một số ví dụ về các quá trình epigenetic ở người*

| Phổ biến | Xem xét |
|---|---|
| In dấu hệ gen | Biến đổi histone sau sao chép, acetyl hóa histone một cách đặc hiệu |
| Bất hoạt nhiễm sắc thể X | Điều hòa bởi các protein răng lược (polycomb) và protein trithorax |
| Điều hòa gen bởi sự methyl hóa | Tu sửa lại chất nhiễm sắc (chromatin) |
| Biến đổi histone hậu sao chép, | Mạng lưới các yếu tố sao chép tự điều hòa |
| Methyl hóa histone một cách đặc hiệu | Mạng lưới tương tác TB-TB cận tiết paracrine tương hỗ… |

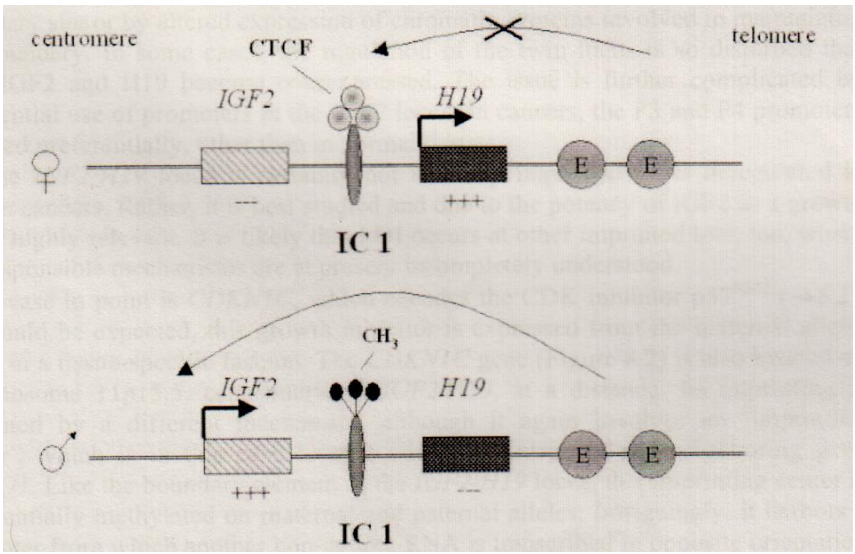
## 9.2. SỰ IN DẤU VÀ BẤT HOẠT NHIỄM SẮC THỂ X

Hầu hết các gen trên người đều biểu lộ cả 2 allele ngang bằng nhau. Tuy nhiên chỉ có khoảng *50 gen được in dấu hệ gen*. Chúng thường xảy ra ở một số cụm, ví dụ một số gen in dấu định vị bên trong một vùng của NST. Sự biểu hiện của các gen in dấu là khác nhau giữa các allele được di truyền từ mẹ và bố. Tùy thuộc vào gen mà những khác biệt biểu hiện giữa các allele của mẹ và của bố có thể phát hiện được ở tất cả các mô hoặc ở một mô chọn lọc, và chúng có thể được xác định một cách định tính cũng như định lượng. Hầu hết những khác biệt rõ nét đều phát hiện được trong các mô thai nhi và trong nhau thai. Sự quan sát này đã đặt nền tảng cho các 'trận chiến" của các giả thuyết giới tính. Theo sự giải thích này thì *các gen biểu hiện một cách ưu tiên các allele của bố để thúc đẩy sự tăng trưởng của thai nhi và nhau thai*, vì thế mà có sự "biến dạng" về nguồn lực của phía mẹ. Ngược lại, việc *biểu hiện gen có nguồn gốc từ các allele của mẹ lại có xu hướng làm giới hạn sự tăng trưởng*. Sự giải thích này phù hợp một cách ngạc nhiên với tất cả các quan sát. Ít nhất là nó cũng giúp ích cho việc ghi nhớ những gen nào đã được biểu hiện một cách ưu tiên từ allele đó.

Ví dụ rõ nhất về sự nghiên cứu các gen in dấu có liên quan đến một cụm nhỏ bao gồm *IGF2* và *H19* định vị gần đỉnh nhiễm sắc thể 11 và 11p15.5 (Hình 9.1). Chúng được in dấu theo cách đối nghịch. *IGF2* mã hóa cho một yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc từ họ insulin và được biểu hiện từ allele di truyền của bố. *H19* nằm trong telomere của IGF2 và mã cho một RNA không mã hóa (non-coding RNA) chỉ biểu hiện từ allele của mẹ. Chưa rõ là liệu H19 RNA có chức năng hay không. Mỗi gen đều có promoter của nó, nhưng cả hai đều chia sẻ cùng một enhancer có trong telomere của gen *H19*. Trên allele bố thì enhancer tương tác với promoter *IGF2*. Trên allele mẹ thì nó tương tác với promoter của *H19*. Việc lựa chọn giữa chúng được ấn định bởi *yếu tố đường biên* (boundary element) *định vị trong một intron của gen IGF2*. Đây là *"trung tâm in dấu"* của gen. Trình tự DNA này có thể gắn với protein chất nhiễm sắc CTCF ngăn trở sự tương tác giữa enhancer và promoter ngang qua đường biên. Liên kết của CTCF rất nhạy cảm với sự methyl hóa cytosine nằm bên trong các trình tự nhận dạng của nó. Sự methyl hóa của yếu tố đường biên trên allele mẹ vì thế mà hướng enhancer tới promoter *H19*, làm giảm sự biểu hiện của gen *IGF2*. Ngược lại, vùng gắn kết của CTCF lại bị methyl hóa trên allele bố, cho phép sự biểu hiện của *IGF2*.

Hệ thống điều hòa bị xáo trộn trong nhiều ung thư. Thường xuyên nhất là biểu hiện quá mức yếu tố tăng trưởng IGF2. Điều này tương ứng với việc *mất in dấu* (đôi khi được viết tắt là *LOI* – loss of imprinting). LOI có thể do một số nguyên nhân. Trong một số ung thư ở trẻ em, đáng lưu ý là bệnh khối u Wilms và ung thư dòng mầm thì sự in dấu có thể không có vì nó chưa bao giờ được thiết lập một cách thích đáng trong quá trình phát triển. Trong một số ung thư ở người lớn, allele của mẹ bị mất đi do đứt đoạn

hay do tái tổ hợp. Nói một cách khác là việc *in dấu có thể bị xáo trộn do mất sự methyl hóa DNA ở vị trí đường biên hoặc do thay đổi sự biểu hiện của các protein chất nhiễm sắc có liên quan đến việc duy trì đường biên*. Trong một số trường hợp, việc điều hòa locus kép (twin locus) bị xáo trộn làm cho cả IGF2 và H19 trở nên biểu hiện quá mức. Vấn đề phức tạp hơn là do việc sử dụng một cách khác nhau các promoter ở locus *IGF2*. Trong các ung thư, promoter P3 và P4 thường được ưu tiên sử dụng hơn là trong các mô bình thường.




**Hình 9.1** *Sự điều hòa của locus in dấu IGF2 và H19*

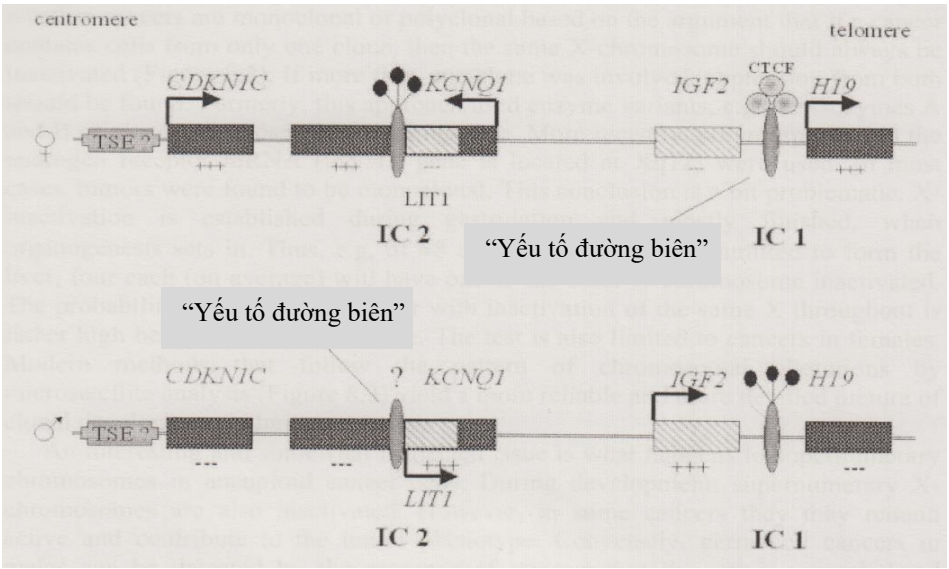
Sơ lược về một cơ chế theo đó nó làm thay đổi sự hoạt hóa của *IGF2* và *H19* đạt được từ các allele mẹ (ở đỉnh) và bố (ở đáy)

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Chắc chắn không chỉ locus *IGF2/H19* là các locus in dấu bị mất điều hòa trong các ung thư người. Hơn nữa, đây là một công trình nghiên cứu tốt nhất chứng minh rõ ràng rằng do tiềm năng của *IGF2* như là một yếu tố tăng trưởng. Có khả năng là LOI lại xảy ra ở cả các locus in dấu khác nữa, nơi mà các cơ chế đáp ứng cho đến nay vẫn chưa được hiểu rõ đầy đủ.

Như trường hợp tại điểm *CDKNIC* mã hóa cho chất ức chế CDK là $p57^{KIP2}$. Như dự kiến thì chất ức chế tăng trưởng này được biểu hiện từ allele của mẹ, mặc dù với phong cách đặc hiệu mô. Gen *CDKNIC* (Hình 9.2) cũng định vị trên nhiễm sắc thể 11p15.5, cách centomere của *IGF2 /H19* một khoảng nào đó. Sự in dấu của nó được điều hòa bởi một cơ chế khác mặc dù nó cũng liên quan đến "trung tâm in dấu", mà trong trường hợp này là định vị bên trong một intron của gen bên cạnh *KCNQ1*. Cũng như yếu tố đường biên trong locus *IGF2/H19*, trung tâm in dấu này lại bị methyl hóa theo một kiểu khác trên các allele của mẹ và bố. Điều thú vị là nó lại chứa chấp một

promoter mà từ đó một RNA khác không được mã hóa lại được sao chép theo hướng đối nghịch với *KCNQ1*. Hiện nay, người ta vẫn chưa hiểu được vấn đề đó sẽ dẫn đến việc kiểm soát sự biểu hiện *CDKNIC* như thế nào. Tuy nhiên, sự gián đoạn của vùng lân cận vật lý giữa trung tâm in dấu và CDKNIC là do sự chuyển vị sẽ dẫn đến LOI. Những sự chuyển vị như thế là nguyên nhân của hội chứng Beckwith-Wiedemann ở người, nó đặc trưng bởi sự tăng trưởng quá mức của bào thai và có xu hướng gây các khối u ngay từ thời niên thiếu như u nguyên bào thận (nephroblastoma) và u nguyên bào gan (hepatoblastoma). Một biến thể của hội chứng này là do các đột biến ở *CDKNIC*. Tuy nhiên, $p57^{KIP2}$ lại được điều hòa xuống trong một số carcinoma.



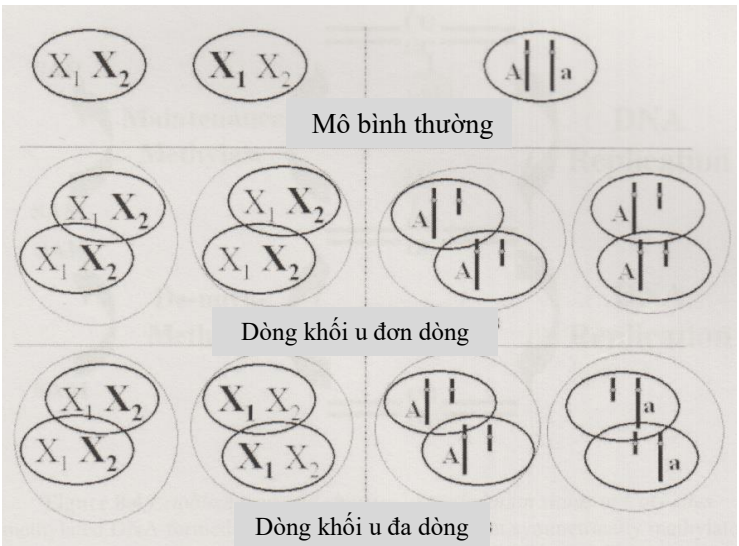

**Hình 9.2** *Sự điều hòa của gen in dấu CDKNIC*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Các cơ chế rất tương tự như các cơ chế đáp ứng in dấu hệ gen được sử dụng trong việc làm bất hoạt nhiễm sắc thể X. Cũng như trong các động vật có vú khác, nhiễm sắc thể X thứ hai ở nữ giới phần lớn là bất hoạt và bị dị nhiễm sắc hóa (chromatized), ngoại trừ vùng "NST giả" (pseudo-autosome) nhỏ tương đồng với kích cỡ của nhiễm sắc thể Y. Ở người, việc lựa chọn nhiễm sắc thể X để bất hoạt là hoàn toàn ngẫu nhiên, ngay cả trong các mô bào thai đặc biệt (extrafetal tissue). Sự bất hoạt được khởi động trong quá trình hình thành phôi dạ (gastrulation) là do tăng biểu hiện XIST RNA không mã hóa từ trung tâm bất hoạt X trên nhiễm sắc thể dành cho việc bất hoạt. Sự gia tăng đạt được ban đầu này chủ yếu là do sự ổn định hóa hậu sao chép dẫn đến việc bao phủ (coat) NST làm cho XIST RNA trở nên bất hoạt. Chất nhiễm sắc sẽ được sửa chữa và histone bị hypoacetyl hóa và cường methyl hóa. Các protein chất dị nhiễm sắc như HP1 thì liên kết và DNA methyltransferase sẽ methyl hóa các vùng promoter của gen, vì thế cố định trạng thái bất hoạt. Ngược lại, gen XIST lại trở nên bất hoạt và sự methyl hóa được thực

hiện trên nhiễm sắc thể X kích hoạt của cả nam giới và nữ giới. Hành động này của NST cốt là để được duy trì qua nhiều thế hệ tế bào.

Trong nghiên cứu ung thư thì sự hiện diện của bất hoạt nhiễm sắc thể X được sử dụng để xét xem liệu các ung thư này là đơn dòng hay đa dòng dựa trên lý do là nếu một ung thư mà chứa các TB chỉ từ một dòng thì sau đó NST giống nhau sẽ luôn luôn bị bất hoạt (Hình 9.3). Còn nếu liên qua đến nhiều hơn một dòng thì tất cả đều phải biểu hiện. Trước đây, phương pháp này sử dụng các biến thể enzyme, ví dụ các isozyme A và B của gluco-6-phosphate dehydrogenase. Gần đây hơn thì người ta sử dụng sự đa hình trong các mRNA receptor androgen (gen AR định vị ở Xq12). Trong hầu hết các trường hợp, các khối u đều được phát hiện là đơn dòng. Kết luận này là một vấn đề hết sức sắc bén. Sự bất hoạt X được thiết lập trong thời kỳ phát triển phôi dạ và phần lớn được kết thúc khi các tổ chức đã được hình thành. Vì thế khoảng 8 TB trong cơ quan tiêu hóa nguyên thủy sẽ hình thành nên gan, thì cứ mỗi 4 TB trong số đó (tính trung bình) sẽ có một nhiễm sắc thể X này hay khác bị bất hoạt. Có thể phát hiện ung thư gan với sự bất hoạt của cùng một nhiễm sắc thể X với tỷ lệ khá cao. Tuy vậy, test này cũng chỉ giới hạn với các ung thư ở phụ nữ. Các phương pháp hiện đại hơn là mẫu biến đổi NST qua phân tích microsattelite (Hình 9.3) cho độ tin cậy cao hơn và sẽ cho bức tranh chi tiết hơn về phát triển dòng trong các ung thư ở người..




**Hình 9.3** *Phân tích dòng đối với ung thư*

Bên trái: Xét nghiệm truyền thống dựa trên sự bất hoạt nhiễm sắc thể X

Bên phải: Xét nghiệm dựa trên sự phân tích LOI.

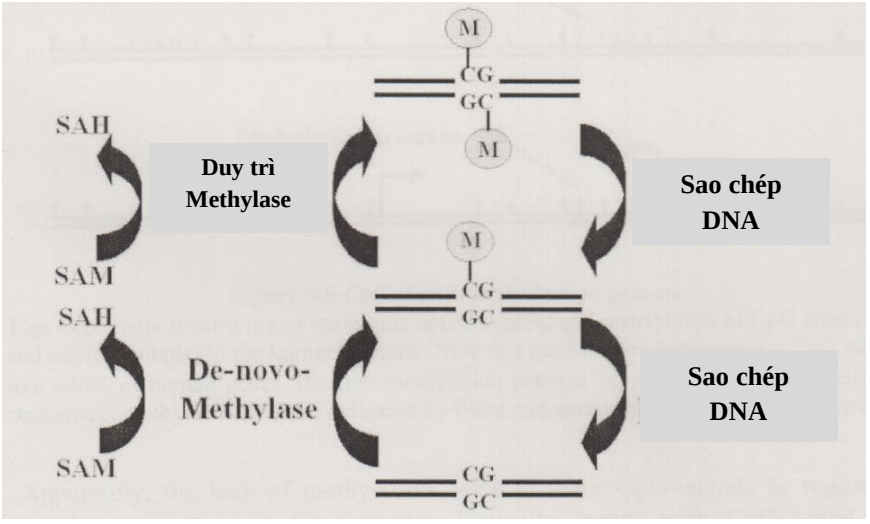
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Một vấn đề thú vị nhưng hơi bị lãng quên là những gì đã xảy ra đối với các NST dư thừa (supernumerary) ở các TB ung thư dị bội. Trong quá trình phát triển thì các nhiễm sắc thể X dư thừa cũng bị bất hoạt. Tuy nhiên, trong một số ung thư chúng có thể

vẫn ở trạng thái hoạt hóa và nó cũng góp phần vào hình thành kiểu hình khối u. Ngược lại, với các ung thư TB mầm ở nam giới cũng có thể được phát hiện qua sự hiện diện của các trình tự XIST hoạt hóa sao chép chưa bị methyl hóa.

## 9.3. SỰ METHYL HÓA DNA

Methyl hóa DNA là công cụ cho cả in dấu và bất hoạt NST. Ở động vật có vú, sự methyl hóa sinh lý học DNA được giới hạn từ vị trí số 5 của các gốc cytosine và chỉ đạt được ở dinucleotide CpG. Vì CpG là một trình tự xuôi ngược (palindromic) nên vị trí CpG có thể sẽ không bị methyl hóa hay hemi-methyl hóa, tức là được methyl hóa toàn bộ hay chỉ trong một chuỗi, ví dụ như sự đối xứng ở cả 2 chuỗi (Hình 9.4). Ngoại trừ trong quá trình sao chép, trạng thái thông thường của vị trí methyl hóa ở DNA người là sự methyl hóa đối xứng. Sau sao chép sẽ tạo nên vị trí hemi-methyl hóa, sự methyl hóa đối xứng sẽ được tái thiết lập do duy trì DNA methyltransferase. Nếu không xảy ra sự tái methyl hóa thì vị trí đó vẫn còn ở dạng hemi-methyl hóa và có thể trở nên không methyl hóa ở chuỗi con gái (daughter strand) trong quá trình sao chép ở chu kỳ tiếp theo. Như vậy, bình thường vẫn đòi hỏi có sự loại bỏ methyl hóa DNA ít nhất là qua 2 chu kỳ tế bào.



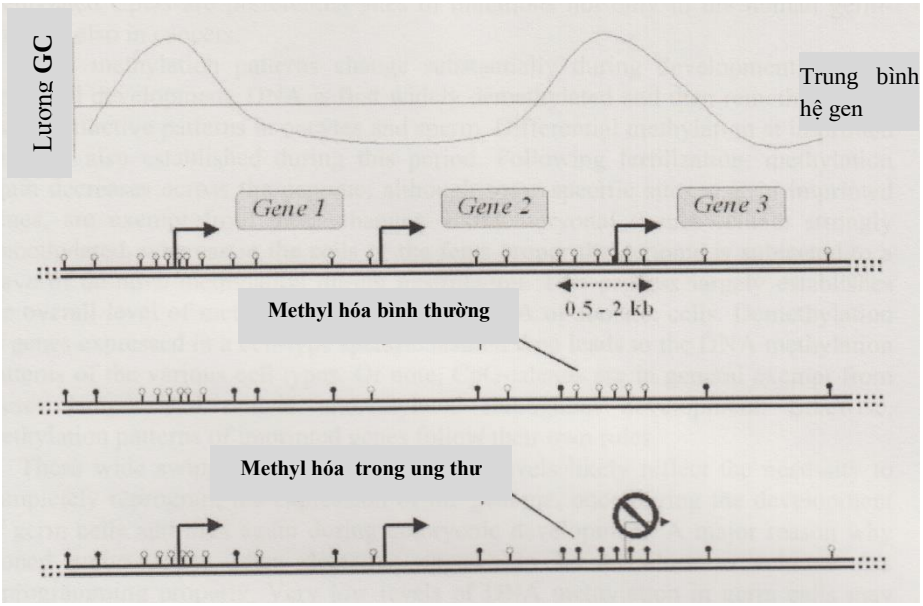

**Hình 9.4** *Sự thiết lập và những biến đổi trạng thái methyl hóa ở các vị trí CpG*

Hemi-methyl hóa DNA được hình thành khi sao chép DNA từ các DNA methyl hóa đối xứng được chuyển đổi lại do methylase bảo trì (thường là DNMT1). Nếu hoạt tính của enzyme không đủ thì có thể dẫn đến mất sự methyl hóa sau 2 vòng sao chép. Những vị trí chưa bị methyl hóa có thể bị methyl hóa do sự tác động tiếp theo cuả các de-novo methylase (thường là DNMT3A hoặc DNMT3B) và enyme bảo trì. Tất cả các enzyme đều sử dụng S-adenosylmethyionine (SAM) với tư cách là nhóm cho methyl, chuyển nó thành S- adenosylhomocysteine (SAH).

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Mức độ methyl hóa thay đổi đôi chút giữa các mô bình thường, trong quá trình phát triển phôi và TB gốc thì có những thay đổi rõ rệt. Ở một số TB soma điển hình có tới 3,5 - 4% tổng số các cytosine bị methyl hóa, Đây là giá trị trung bình vì sự methyl hóa DNA bị xáo trộn không đồng đều qua cả hệ gen. Hầu hết các methylcytosine đều được giữ trong các trình tự lặp như retrotransposon LINE và SINE xen kẽ trong hệ gen và trong các satellite giầu CpG tập trung ở các vùng ven và lân cận tâm động (peri-and juxtacentromeric). Các gen và các vùng giữa các gen (intergenic) cũng hầu hết đều bị methyl hóa.

Trái lại, các vùng điều hòa của các gen hoạt hóa nói chung là bị methyl hóa quá ít, đặc biệt trong < 50% tất cả các gen của người, trải dài 0,5-2kb quanh vị trí bắt đầu sao chép, bao gồm cả promoter cơ bản, giầu dinucleotide hơn những phần còn lại của hệ gen với tần suất > 0,6 phát hiện/trình tự ngẫu nhiên và có hàm lượng GC giầu hơn các phần còn lại của hệ gen (Hình 9.5). Những trình tự này được gọi là "*các đảo CpG"*. Như một quy luật, chúng vẫn chưa bị methyl hóa trong suốt quá trình phát triển cũng như trong tất cả các mô. Ngoại lệ nổi bật là đảo CpG trên nhiễm sắc thể X bất hoạt đã bị methyl hóa và các gen tương ứng đã yên lặng.




**Hình 9.5** *Các đảo CpG trong hệ gen người.*

Trên cùng: Sơ đồ về những biến đổi GC và sự phân phối của các vị trí CpG (được đánh dấu vòng tròn) trong hệ gen người. Lưu ý rằng, gen 2 không có đảo CpG chiếm khoảng 40% các gen của người.

Dưới cùng: Các mẫu methyl hóa ở các TB ung thư và các TB bình thường. Theo thông lệ, các vị trí methyl hóa được biểu thị bằng vòng kín còn các vị trí không bị methyl hóa là các vòng mở.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Rõ ràng là, thiếu sự methyl hóa sẽ giúp cho việc đánh dấu *các đảo CpG* với tư cách là các *vùng sao chép tiềm năng trong hệ gen*. Đặc biệt là các gen có promoter dạng đảo CpG có thể được sao chép trong một số dạng TB khác nhau. Việc methyl hóa DNA cũng điều hòa sự sao chép của một số gen khác không có các đảo CpG, bao gồm cả một số có biểu hiện đặc hiệu về dạng TB.

Đảo CpG nổi bật so với những phần còn lại của hệ gen, bởi vì chúng chứa nhiều dinucleotide CpG. Chính xác hơn là, những phần còn lại của hệ gen thì chứa CpG ít hơn do hệ quả của việc mất cytosine trong quá trình tiến hóa. Sự deamin hóa thủy phân của cytosine xảy ra một cách tự nhiên và thường xuyên, hoặc được cảm ứng bởi các chất hóa học và tạo nên uracil. Base này nhận biết một cách hiệu quả những sửa chữa nào là vô lý và những sự sửa chữa nào là phù hợp. Trái lại, methylcytosine lại tạo ra methyluracil ví dụ như thymine, mặc dù có sự không phù hợp G-T. Những sự không phù hợp như thế sẽ được ưu tiên sửa chữa thành G-C với sự trợ giúp của protein MBD4, nó nhận dạng được methylcytosine trong chuỗi đối nghịch của CpG ngược xuôi.

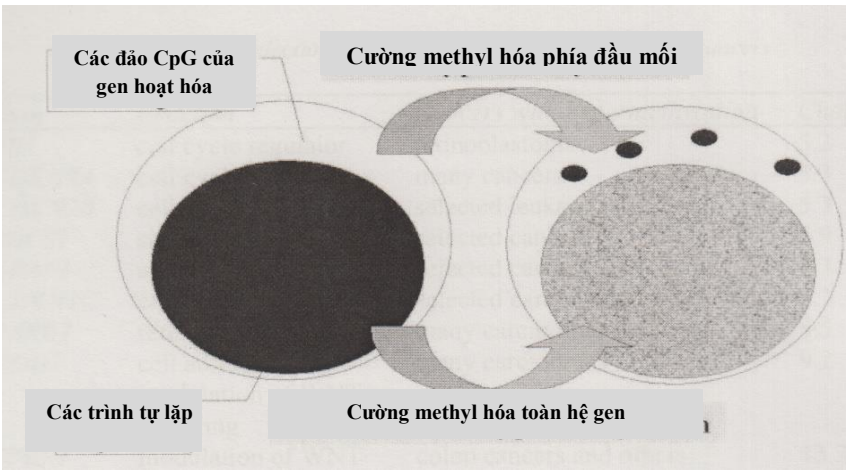
Mặc dầu các cơ chế phòng ngừa như thế đã trải qua các thời kỳ tiến hóa nhưng các CpG vẫn trở nên cạn kiệt do các trình tự bị methyl hóa nặng nề bởi những đột biến của TpG (hoặc CpG). Trên thực tế, tỷ lệ đột biến hiện nay ở các cytosine vẫn cao hơn. Vì thế, các CpG đã bị methyl hóa hay bị đột biến chẳng những có ở dòng mầm mà còn cả trong các ung thư.

Các mẫu methyl hóa thay đổi đáng kể trong quá trình phát triển. Trong quá trình phát triển TB gốc thì DNA bị demethyl hóa rộng rãi trước tiên rồi lại tái methyl hóa để tạo ra các mẫu khác biệt trong TB trứng và tinh trùng. Sự methyl hóa biệt hóa ở các gen in dấu cũng được thiết lập trong thời kỳ này. Sau thụ tinh thì sự methyl hóa lại giảm ở cả hệ gen, mặc dầu một số vị trí đặc biệt, ví dụ như các gen in dấu không chịu sự biến đổi này. Các mô phụ của phôi (extraembryonal tissue) thì bị demethyl hóa mạnh, trong khi đó ở các TB bào thai thích hợp với hệ gen lại hứng chịu sự methyl hóa de-novo trong quá trình phát triển phôi dạ. Quá trình này thiết lập mức methyl hóa tổng thể nói chung phát hiện thấy trong các DNA của các TB soma. Sự demethyl hóa của các gen được biểu hiện dưới phương thức đặc hiệu dạng TB, sau đó dẫn tới mẫu methyl hóa DNA của các dạng TB khác nhau. Lưu ý rằng, các đảo CpG nói chung là không chịu sự thay đổi và vẫn duy trì ở trạng thái không methyl hóa trong suốt quá trình phát triển. Tương tự như vậy, các mẫu methyl hóa của các gen in dấu cũng phải tuân thủ những quy luật của chúng.

Những dao động lớn này về các mức độ methyl hóa tổng thể có khả năng phản ánh sự cần thiết đối với việc lập trình lại một cách đầy đủ sự biểu hiện của hệ gen trong quá trình phát triển của các TB gốc rồi sau đó là quá trình phát triển phôi. Lý do chính tại sao các phôi nhân bản vô tính thường bị khiếm khuyết là do không tái lập trình một

cách hoàn hảo. Tuy nhiên, các mức rất thấp của methyl hóa DNA trong các TB mầm có thể có ý nghĩa về trạng thái của chất nhiễm sắc tạo thuận lợi cho sự tái tổ hợp trong quá trình tái tổ hợp meiosis.

Với nền tảng này thì chẳng có gì bất ngờ là biến đổi trạng thái của các TB ung thư cũng thường đi kèm với những thay đổi trong sự methyl hóa DNA. Về cơ bản, có 2 dạng biến đổi phân biệt (Hình 9.6). Cả 2 đều xảy ra trong cùng một TB. Trong nhiều ung thư, mức methyl hóa tổng thể giảm đến 70% so với dạng TB bình thường tương ứng. Sự giảm sút này ảnh hưởng chủ yếu đến methylcytosine chứa đựng trong các trình tự lặp và vì thế mới có tên là hypomethyl hóa toàn cầu [toàn hệ thống] (global) hay hypomethyl hóa cả hệ gen "genomic –wide". Trái lại, các vị trí đặc biệt có thể trở nên cường methyl hóa. Đặc biệt là ở các đảo CpG chưa hề bị methyl hóa. Cũng tương tự như hypomethyl hóa, cường methyl hóa cũng khác nhau rất nhiều giữa các ung thư ngay cả với cùng một tổ chức. Trong một số ung thư, chỉ các CpG cá thể mới trở nên cường methyl hóa. Tuy nhiên, cường methyl hóa cũng ảnh hưởng đến các gen khác nhau ở các ung thư khác nhau (Bảng 9.2). Những biến đổi về methyl hóa DNA cũng có thể ảnh hưởng đến sự biểu hiện của các gen in dấu.




**Hình 9.6** *Những biến đổi của sự methyl hóa DNA ở các ung thư người*

Trong các tế bào soma hầu như hệ gen bị methyl hóa dày đặc, đặc biệt ở các trình tự lặp. Các đảo CpG tạo nên một lớp rõ ràng các trình tự được miễn trừ methyl hóa. Trong các TB ung thư, có đến hàng trăm đảo CpG cường methyl hóa (chấm đen nhỏ), trong khi đó các trình tự lặp thì lại là hypomethyl hóa.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Cường methyl hóa các đảo CpG hầu như luôn gắn liền với sự yên lặng ổn định của các gen bị ảnh hưởng. Vì thế, cường methyl hóa là một phương tiện rất hiệu quả đối với việc bất hoạt gen trong các ung thư. Hiện nay nó được quan tâm như là một cơ chế bất hoạt gen kiềm chế khối u có thể so sánh được với cơ chế đột biến và đứt đoạn. Chẳng hạn như locus *CDKN2A* bị bất hoạt nhiều trong các ung thư người. Trong hầu hết

các dạng ung thư thì đột biến, đứt đoạn và cường methyl hóa promoter đều được quan sát như các cơ chế của sự bất hoạt, mặc dầu sự đóng góp của chúng tương đối khác nhau. Tuy nhiên, một khác biệt quan trọng đối với đột biến, đảo đoạn là cường methyl hóa về nguyên lý có thể đảo ngược được nhờ các chất ức chế sự methyl hóa DNA. Dĩ nhiên là trong các ung thư thì có hàng trăm gen bị bất hoạt do cường methyl hóa, nhưng không phải đều là các gen kiềm chế khối u như *CDKN2A*. Hơn nữa, sự yên lặng gen thông qua sự methyl hóa DNA có thể phản ánh được hiện tượng giảm sự biểu hiện gen.

Nếu so sánh thì thấy hypomehtyl hóa toàn cầu [toàn hệ thống] (global hypomethylation) sẽ làm tăng sự biểu hiện gen trong cả hệ gen. Thực sự là có một số bằng chứng về hypomethyl hóa làm tăng mức "ồn sao chép" (transcriptional noise) và gây nên sự biểu hiện không thích hợp của một số gen xác định, ví dụ như các trình tự retrotransposon và các kháng nguyên ung thư tinh hoàn, tức là các gen mà thông thường làm giới hạn sự phát triển các TB mầm của nam giới. Có lẽ điều quan trọng hơn là sự hypomethyl hóa toàn cầu lại có liên quan tới việc làm tăng sự bất ổn định của NST. Cơ chế cơ bản này vẫn đang được nghiên cứu. Cũng có thể là do giảm sự methyl hóa ở các lặp gần centromere (pericentromeric) cũng như các trình tự lặp xen kẽ tạo thuận lợi cho việc tái tổ hợp không đúng luật và làm mất NST trong quá trình mitosis.

***Bảng 9.2.*** *Sự chọn lọc các gen cường methyl hóa trong các ung thư trên người*

| Gen | Chức năng | Các ung thư có cường methyl hóa |
|---|---|---|
| *RB1* | Điều hòa chu kỳ TB | U nguyên bào võng mạc |
| *CDKN2B* | Điều hòa chu kỳ TB | Nhiều TB |
| *CDKN2B* | Điều hòa chu kỳ TB | Bệnh bạch cầu chọn lọc |
| *SOCS1* | Truyền tín hiệu | Các ung thư chọn lọc |
| *APAF1* | Apoptosis | Các ung thư chọn lọc |
| *CDKNIC* | Điều hòa chu kỳ TB | Carcinoma chọn lọc |
| *RARB2* | Tín hiệu acid retinoic | Nhiều carcinoma |
| *CDH1* | Kết dính tế bào, điều tiết tín hiệu WNT | Nhiều carcinoma |
| *SFRP1* | Điều tiết tín hiệu WNT | Ung thư trực tràng và các ung thư khác |
| *MLH1* | Điều hòa sửa chữa bất hợp DNA đối | Nhiều ung thư, carcinoma TB thận |
| VHL | với đáp ứng thiếu oxy | |
| *RASSF1A* | Chất đối vận RAS | Nhiều Carcinoma |
| *ESR1* | Đáp ứng estrogen | Ung thư vú và các ung thư khác |
| ESR2 | Điều hòa đáp ứng estrogen | Ung thư vú và các ung thư khác |
| *GSTP1* | Giải độc, bảo vệ tế bào | Carcinoma tuyến tiền liệt và các carcinoma chọn lọc khác |
| *MGMT* | Hoàn nguyên sự alkyl hóa trong DNA | Nhiều ung thư |

Các mẫu mthyl hóa được thiết lập bởi các enzyme đặc biệt, trong đó DNA methyltransferase là đặc trưng hơn cả, trong khi đó DNA demethylase thì vẫn chưa xác định được rõ ràng. Trong các TB soma, hoạt động chủ yếu là DNA methyltransferase 1 (DNMT1). Enzyme này ưa hemimethyl hóa trên các DNA chưa bị methyl hóa với tỷ lệ lớn. Các DNA hemimethyl hóa bắt nguồn từ các DNA methyl hóa đối xứng trong quá trình sao chép (Hình 9.4), bởi vì DNA polymerase chỉ chèn vào các cytidine chưa bị biến đổi. Sở thích của các DNA hemimethyl hóa là tạo ra một enzyme DNMT1 lý tưởng để mở rộng một cách ổn định trạng thái methyl hóa DNA trong quá trình tăng sinh TB. Những vị trí chưa bị methyl hóa thì vẫn giữ nguyên trạng thái, trong khi đó những vị trí đã methyl hóa thì trở nên tái methyl hóa ở cả 2 chuỗi chị em. Theo đó thì, DNMT1 có liên quan chặt chẽ với replisome, ở đó nó gắn với PCNA và biểu hiện ưu tiên ở phase S cũng như ở các TB tăng sinh. Việc thiết lập sự methyl hóa ở các vị trí chưa methyl hóa trước đây hay sự methyl hóa de- novo (Hình 9.3) có khả năng còn đòi hỏi thêm các enzyme khác nữa. Methyltransferase DNMT3A và DNMT3B có thể đáp ứng với hầu hết sự methyl de-novo xảy ra trong quá trình phát triển.

Cơ chế dẫn đến demethyl hóa thì vẫn còn khá bí ẩn. Một cơ chế rõ ràng là thụ động (Hình 9.4). Nếu DNA methyltransferase vẫn lưu giữ DNA mới được sao chép thì chu kỳ nối tiếp của tăng sinh TB sẽ sản sinh ra được DNA chưa methyl hóa. Trong quá trình phát triển phôi, cơ chế này có khả năng được bổ sung bởi sự demethyl hóa enzyme hoạt hóa (active enzymatic demethylation). Protein nào đáp ứng cho vấn đề đó thì vẫn còn đang tranh luận. Một ứng cử viên là glycosylase đặc hiệu methylcytosine tác động tương tự như một enzyme sửa chữa.

Các tính chất đã biết về các DNMT đã giải thích được những biến đổi trong sự methyl hóa nói chung xảy ra như thế nào. Tuy nhiên, ở đây vẫn chưa cân nhắc tới các mẫu methyl hóa ở các gen và các vị trí đặc biệt. Đặc biệt vẫn chưa rõ là tăng và giảm merthyl hóa ở các TB ung thư là như thế nào. Có khả năng là, các DNMT được hướng tới hoặc bị ngăn cản khỏi các gen và các vị trí xác định do sự tương tác với các protein khác. Như đã thảo luận ở trên, những biến đổi của histone và các protein làm nhiệm vụ thiết lập và phiên dịch này có thể cũng định hướng cho các DNMT. Trái lại, các phức hợp sao chép kích hoạt dường như là để loại các DNMT ra khỏi vùng promoter. Điều này làm rõ phần nào cơ chế theo đó các đảo CpG vẫn được miễn trừ khỏi sự methyl hóa DNA.

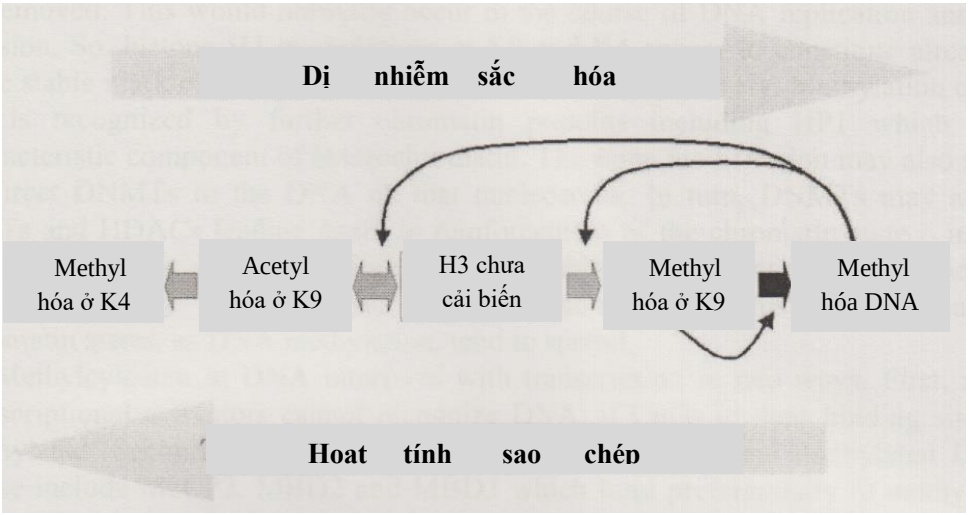
Các TB ung thư có xu hướng biểu hiện quá mức DNA methyltransferase. Nếu so sánh với các mô bình thường thì sự biểu hiện của DNMT1 hầu như lúc nào cũng tăng. Tuy nhiên, vì DNMT1 được điều hòa song song với quá trình tổng hợp DNA trong các TB bình thường nên phần lớn trong sự tăng đó có thể chỉ phản ánh một cách đơn thuần là gia tăng sự tăng sinh. Mặc dầu có thể chứng minh được trong các mô hình thực

nghiệm, nhưng vấn đề là liệu việc thay đổi sự biểu hiện của DNMT1 như vậy có phải là để đáp ứng cho sự methyl hóa khác thường ở các TB ung thư hay không. Trái lại, tăng biểu hiện DNT3A và DNMT3B quan sát thấy ở một số ung thư là rất ý nghĩa vì những enzyme này thường biểu hiện với mức thấp trong các TB soma. Tuy nhiên, vẫn chưa rõ ràng là bộ phận nào chịu trách nhiệm về cường methyl hóa.

Việc duy trì các mức và các mẫu methyl hóa DNA chuẩn không những phụ thuộc vào yếu tố chất nhiễm sắc và DNA methyltransferase mà còn phụ thuộc vào sự có sẵn của chất cho nhóm methyl là S-adenosylmethionine (SAM, Hình 9.4). Chính xác hơn là, các phản ứng được xúc tác bởi DNA methyltransferase và nhiều methyltransferase khác trong TB bị ảnh hưởng bởi tỷ lệ cơ chất và sản phẩm, SAM và S-adenosylhomocysteine (SAH). SAM được tổng hợp từ amino acid cần thiết methionine, nó sẽ được tái chế thông qua một số bước từ SAH. Hiệu quả của sự tái chế bị ảnh hưởng bởi các yếu tố thức ăn, nổi bật là việc cung cấp acid folic, vitamin B12 như là hệ quả của sự đa hình di truyền trong các enzyme liên quan đến sự chuyển hóa của folate và 'chu trình methyl'. Những khiếm khuyết trong chế độ ăn và kiểu gen đều tác dụng hiệp đồng lên mức methyl hóa DNA ở các TB quay vòng nhanh. Vì thế, những đa hình phổ biến này có thể góp phần vào việc tiên đoán ung thư và một số biến đổi trong methyl hóa DNA quan sát thấy ở ung thư người có thể có liên quan đến hiệu ứng hiệp đồng của chế độ ăn và khuynh hướng di truyền.

## 9.4. CẤU TRÚC CHẤT NHIỄM SẮC CHROMATIN

Khi methyl hóa promoter thì một dấu hiệu dễ thấy là sự yên lặng gen và methyl hóa DNA chắc chắn không phải là cơ chế duy nhất có liên quan. Nhiều động vật có xương sống đạt được sự yên lặng gen đều không có sự methyl hóa DNA và ngay cả ở động vật có vú thì không phải các gen yên lặng đều trở nên methyl hóa. Hơn nữa, sự methyl hóa DNA nói chung chỉ đại diện cho những bước cuối cùng trong một chuỗi các sự kiện dẫn đến việc kiềm chế gen một cách ổn định (Hình 9.7) và nó thường phục vụ để cố định trạng thái của một gen yên lặng bởi các tác nhân khác. Vì thế, nó có thể được coi như là một 'cơ chế khóa' (lock-in), nhưng vẫn còn ẩn ý trong một số trường hợp như trong quá trình bất hoạt nhiễm sắc thể X và cánh cửa lớn dường như đã bị khóa lại bởi các cơ chế khác, còn sự methyl hóa DNA chỉ tác động với tư cách là một chốt cửa phụ. Điều quan trọng là, chuỗi các sự kiện được trình bày ở Hình 9.7 lại không phải là một quá trình chuyển đổi dần dần. Hơn nữa, các cơ chế hồi sau (feed-back) và hồi trước (feed-forward) lại có xu hướng áp chế và ổn định hóa trạng thái kích hoạt và bất hoạt của một gen.




***Hình 9.7*** *Sự tương tác của histone H3 chưa biến đổi và sự methyl hóa DNA dưới sự kiểm soát của việc làm yên lặng và hoạt hóa gen.*

Một cách đơn giản là, chỉ có một số biến đổi của H3 chứ không phải ở H4 được biểu lộ. Cũng như không có các protein làm nhiệm vụ thiết lập, di chuyển và nhận dạng các biến đổi khác nhau ở H3, H4 và DNA. Những yếu tố này hay những yếu khác sẽ làm trung gian cho các tương tác phản hồi (mũi tên) trong đó chỉ có những protein nào được thiết lập rõ nhất thì mới được thể hiện.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Những cơ chế dẫn đến sự yên lặng gen có liên quan đến những biến đổi của histone cũng như những biến đổi trong việc liên kết của protein không histone với DNA (Hình 9.7). Các gen kích hoạt sao chép được đặc trưng bởi sự acetyl hóa histone H3 và H4 cũng như sự methyl hóa H3 ở Lys4 (K4). Những sự biến đổi này có xu hướng làm nới lỏng sự gắn kết của DNA với nucleosome, cho phép việc tu chữa và gắn kết của các yếu tố hoạt hóa (activator) sao chép. Các yếu tố hoạt hóa sao chép chiêu mộ các đồng yếu tố hoạt hóa (co-activator) và loại trừ các chất đồng kiềm chế (co-repressor). Các chất đồng hoạt hóa điển hình biểu lộ hoạt tính của histone transferase (HAT) hoặc thu hút các protein bổ sung làm nhiệm vụ acetyl hóa và methyl hóa histone để có được một cấu trúc nucleosome hoạt hóa. Theo cách này thì trạng thái hoạt hóa của một gen có xu hướng tiến tới tự tăng cường (self-reinforcing). Chưa rõ hoàn toàn là trạng thái kích hoạt này được tăng trưởng qua phase S và mitosis như thế nào. Trong số các cơ chế đã được bàn luận thì sự phosphoryl hóa histone ở các vị trí đặc hiệu là đặc trưng nhất.

Dãy các sự kiện dẫn tới sự yên lặng gen bắt đầu với việc mất protein yếu tố hoạt hóa sao chép và/hoặc thay thế chúng bằng các chất kiềm chế. Những sự thay đổi này sẽ gây nên sự deacetyl hóa bởi histone deacetylase (HDAC). Các protein này tác động với tư cách là các chất kiềm chế (repressor) sao chép chiêu mộ các deacetylase và histone methyltransferase (HMT) có các domain SET đảm nhiệm việc methyl hóa, ví dụ như

H3 ở vị trí K9. Một số đồng kiềm chế (co-repressor) thể hiện hoạt tính HDAC hoặc HMT. Một lớp chuyên hóa các chất kiềm chế gắn kết DNA được kiến tạo bởi các protein hình răng lược (polycomb). Hai phức hợp của các protein như thế tác động trên người, thể hiện hoạt tính của HMT.

Sự acetyl hóa và deacetyl hoá dường như là khá nhanh và có thể dễ dàng đảo ngược ngay cả trong các TB không tăng sinh. Trái lại, sự methyl hóa histone chắc chắn là không đảo ngược nhanh chóng và có thể đòi hỏi cả sự thay thế một nucleosome. Điều này thường xảy ra trong tiến trình sao chép DNA và phân chia TB. Vì thế, sự methyl hóa histone ở K9 và K4 dường như là để kiến tạo một dấu hiệu khá ổn định về sự bất hoạt hay kích hoạt gen. Sự methyl hóa của H3K9 được nhận ra bởi các protein chất nhiễm sắc khác bao gồm cả HP1-một thành phần đặc trưng của dị nhiễm sắc (heterochromatin). Những biến đổi tương tự cũng hướng các DNMT tới DNA trên nucleosome đó. Đến lượt mình, DNMT lại thu hút HMT và HDAC và lại dẫn đến việc củng cố trạng thái chất nhiễm sắc - trong trường hợp này là sự bất hoạt. Tuy nhiên, sự hội tụ của các protein tại các nucleosome biến đổi có thể đích được các nucleosome bên cạnh. Vì lý do này nên trạng thái bất hoạt chất nhiễm sắc như sự methyl hóa DNA có xu hướng lan rộng.

Methylcytosine trong DNA can thiệp vào sự sao chép theo 2 con đường. Con đường thứ nhất, một số yếu tố hoạt hóa sao chép không nhận dạng được DNA nếu các CpG ở các vị trí liên kết của chúng đã bị methyl hóa. Con đường thứ 2, các protein chất kiềm chế chuyên biệt nhận dạng được các DNA đã methyl hóa. Những vấn đề này bao gồm MCP2, MBD2 và MBD3 gắn ưu tiên với các DNA đã methyl hóa, ngăn chặn các lối đi vào, đồng thời chiêu mộ các phức hợp sửa chữa chất nhiễm sắc (chromatin) và HDAC chống trọi lại với trạng thái kiềm chế (Hình 9.7). Trạng thái chromatin yên lặng được thiết lập theo phương thức này có số lượng dị nhiễm sắc tùy ý. Đây là một sự di truyền ổn định thông thường và không dễ đảo ngược nếu không có sự sửa chữa mở rộng chromatin và sự demethyl hóa DNA vẫn thường phải có trong một số chu kỳ TB. Những sự sửa chữa mở rộng như thế thường quan sát được trong quá trình phát triển. Một hệ quả thông thường khác của dị nhiễm sắc hóa là nó có thể trợ giúp để đảm bảo cho sự mở rộng của nó làm đổi chiều sự sao chép trong các bộ phận muộn hơn của phase S.

Những cơ chế phức tạp và rắc rối có liên quan đến những biến đổi histone và sự sửa chữa lại chromatin vẫn chưa hiểu rõ hoàn toàn. Vì thế, có vẻ như là những xáo trộn ở các cơ chế này góp phần đáng kể vào việc phát triển các ung thư ở người. Những biến đổi trong methyl hóa DNA được phát hiện tương đối dễ và đã phát hiện thấy trong rất nhiều ung thư người.

Thực sự thì một số protein có liên quan đến sự biến đổi chromatin, trừ các DNMT còn đều biểu hiện một cách bất thường hoặc bị đột biến trong các ung thư người. HAT, HSAC và HMT, tất cả đều được phát hiện như là các bộ phận của các protein liên hợp (fusion) trong các bệnh bạch cầu và u lympho. Sự lạc hướng của các protein đồng kiềm chế (co-repressor) là một sự kiện quan trọng, ví dụ trong các bệnh bạch cầu dòng tủy (promyelocytic). Dĩ nhiên, sự lạc hướng như thế cũng là để đáp ứng cho cường methyl hóa DNA ở các carcinoma.

Sự biểu hiện quá mức các protein kiềm chế hình răng lược EZH2 đã được phát hiện trong các ung thư tuyến tiền liệt và ung thư vú. Những protein răng lược BM11 cũng biểu hiện quá mức trong một số ung thư, nổi bật là các bệnh bạch cầu cấp nảy sinh từ các TB gốc tạo máu. Việc duy trì các quần thể TB gốc trong các ung thư này đòi hỏi phải có các chất kiềm chế BM11. Đặc biệt là, BM11 lại ngăn cấm sự hoạt hóa sao chép $p16^{INK4A}$ trong đáp ứng với sự tăng sinh liên tục của các TB ung thư.

Ngược lại, mất các chất kiềm chế cũng cũng góp phần làm phát triển ung thư. Protein kiềm chế nổi bật là RB1 làm nhiệm vụ hướng sự deacetyl hóa vào các promoter bằng việc liên kết với các yếu tố E2F. RB1 cũng gây nên sự tu chữa lại các promoter phụ thuộc E2F, đó có thể là nguyên lý làm bất hoạt một cách không đảo ngược các promoter này. Vì thế khi so sánh với các protein khác trong họ RB như p130 và p107 thì RB1 có thể là căn nguyên lâu bền và trong một số trường hợp lại làm bất hoạt không đảo ngược các promoter như thế, thiết lập một cách hiệu quả sự lão hóa sao chép hoặc là thực thi sự biệt hóa cuối cùng. Những mối liên quan này có thể giải thích được lý do tại sao chức năng của RB1 lại đại diện cho nhiều bước tiến tới ung thư và tại sao RB1 – một trong số 3 protein có mối quan hệ gắn bó lại hay bị đột biến trong ung thư.

Chức năng và cơ chế chính xác của việc sửa chữa lại chromatin cũng mới hiểu được bước đầu. Chắc chắn là, việc sửa chữa lại chromatin, ví dụ như tái tổ chức các nucleosome dọc theo trình tự DNA là cần thiết khi trạng thái hoạt động của gen về cơ bản đã bị đổi hướng. Vì thế, cơ chế này có thể là cần thiết cho cả sự biểu hiện quá mức cũng như sự yên lặng epigenetic trong ung thư người. Về phạm vi liên quan của vấn đề thì vẫn chưa rõ. Một thành phần đặc biệt của phức hợp tu sửa SW1/SFN là hSNF5/IN11 được mã hóa bởi một gen ở nhiễm sắc thể 22q11 ứng xử như một chất kiềm chế khối u trong các ung thư hiếm gặp thời niên thiếu của hệ thần kinh. Hiển nhiên là, trong những ung thư này thì sự biệt hóa tiêu chuẩn bị thất bại do việc tu sửa chưa được thực hiện một cách đầy đủ.

## 9.5. EPIGENETIC CỦA SỰ BIỆT HÓA TẾ BÀO

Những biến đổi di truyền như mất chức năng của protein sửa chữa chromatin hSNF5/IN11 đã gây nên ung thư vì các cơ chế epigenetic liên quan đến những protein này đã bị xóa đi. Có lẽ không có sự cố các ung thư gây nên chủ yếu do thất bại trong biệt hóa. Người ta có thể đi những bước xa hơn và suy ngẫm liệu một số ung thư có phải được gây nên bởi các cơ chế hoàn toàn là epigenetic hay không? Trên thực tế, ý tưởng này là cốt lõi của một lý thuyết lâu đời mà nay đã lỗi thời, vì người ta đã phát hiện được vô số những biến đổi di truyền hiện diện ở phần lớn các ung thư người. Vì thế, nếu bất kỳ một ung thư nào trên người mà lại được gây nên hoàn toàn bởi các cơ chế epigenetic thì quả thật là hiếm. Nhiều khả năng chúng là các ung thư của thời niên thiếu đặc trưng bởi sự thất bại trong biệt hóa. Một số trường hợp của khối u Wilms có thể gần là như vậy.

Tuy nhiên, lý thuyết này vẫn chứa đựng một cốt lõi quan trọng của một sự thật có liên quan mà bây giờ người ta mới hiểu. *Biệt hóa TB và phát triển ung thư đều có sự giống nhau là có một lượng lớn các mẫu biểu hiện "đặc hiệu dạng TB",* bao gồm sự kích hoạt mạnh cũng như sự yên lặng nghiêm ngặt phải được thiết lập một cách ổn định. Sự thật là, các cơ chế giống nhau có thể hoạt động trong cả 2 quá trình. Những cơ chế về sự yên lặng gen trong các TB ung thư ngày nay đã hiểu được phần nào. Nếu so sánh thì khó lòng mà hiểu được sự biểu hiện quá mức của các gen trong các TB ung thư đã được thiết lập bởi các cơ chế epigenetic như thế nào.

Chẳng hạn, sự biểu hiện quá mức của EGFR là một bước quan trọng trong tiến trình của nhiều carcinoma. Trong một số trường hợp, sự biểu hiện quá mức này là do giành được nhiễm sắc thể 7p hoặc có sự khuếch đại vùng tại 7p12, những biến đổi này nhìn chung là không phát hiện thấy ở các ung thư có biểu hiện quá mức protein. Như vậy, sự biểu hiện quá mức có khả năng gây nên bởi việc mất điều hòa biểu hiện gen thứ cấp đối với các biến đổi trong các gen khác. Chẳng hạn như mất điều hòa EGFR là do thiếu protein CBL hoặc protein được ổn định hóa như là hệ quả của sự biến đổi phosphoryl hóa bởi các enzyme PKC. Còn khả năng khác là, gen *EGFR* mã hóa cho receptor đã bị khóa lại trong  trạng thái kích hoạt do các cơ chế epigenetic, có thể so sánh với trạng thái yên lặng của gen kiềm chế khối u được thiết lập bởi cường methyl hóa promoter.

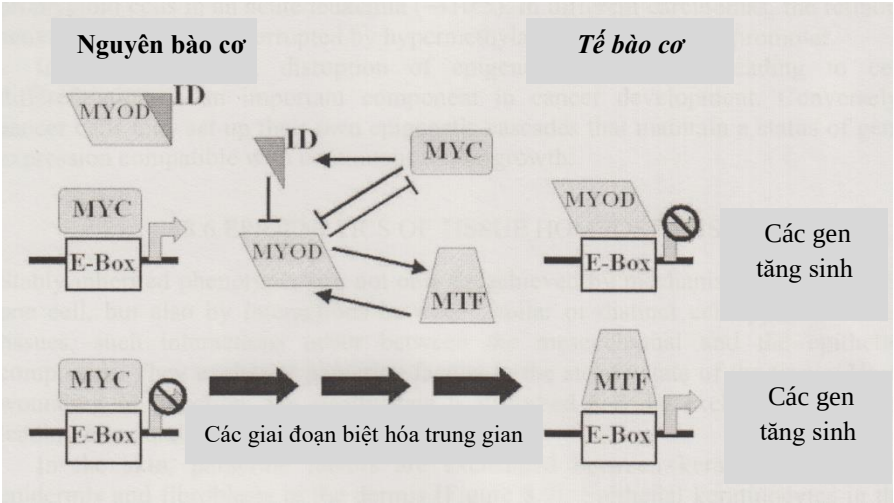
Để thiết lập và duy trì trạng thái kích hoạt trong phân bào thì sự hiện diện liên tục của các yếu tố hoạt hóa sao chép là rất cần thiết. Hiện nay người ta biết rằng, các yếu tố hoạt hóa sao chép gắn với trình tự promoter và enhancer chiêu mộ các đồng yếu tố hoạt hóa để hình thành nên một phức hợp protein lớn đó là transcriptosome, nó làm biến đổi chất nhiễm sắc cục bộ và dẫn dắt bộ máy sao chép thật sự bao gồm cả RNA polymerase.

Trạng thái chromatin cục bộ này được truyền qua mitosis với một phương thức mà người ta vẫn chưa hiểu được nhiều.

Trong bất kỳ trường hợp nào, trạng thái biệt hóa của một TB phụ thuộc một cách nghiêm ngặt vào mẫu biểu hiện của các yếu tố hoạt hóa sao chép. Sự biệt hóa TB thường liên quan đến thác các yếu tố sao chép, chúng liên tục kích thích lẫn nhau. Những thác này thường liên quan đến các vòng (loop) tự điều hòa làm cho quá trình về cơ bản là không thể đảo ngược. Một ví dụ được nghiên cứu kỹ lưỡng là sự biệt hóa nguyên bào cơ (Hình 9.8). Nó được khởi đầu và thực hiện thông qua các yếu tố sao chép đặc hiệu cơ (MSTF hoặc MRF) thuộc họ basic helix-loop helix (bHLH) như các protein MYC. Tương tự như vậy, chúng gắn với các trình tự DNA đặc hiệu gọi là hộp E (E-boxe). Hiểu rõ nhất về các yếu tố này là MYOD; E-boxe có mặt trong các gen mã hóa cho các protein đặc hiệu của các TB cơ, nhưng cũng có mặt trong các enhancer của các gen mã hóa cho MRF. Như vậy, việc hoạt hóa vượt ngưỡng các MRF sẽ dẫn đến một thác xúc tự tác, trong đó một số MRF được biểu hiện ở các mức cao cho đến khi đạt được sự biệt hóa hoàn toàn. Ngưỡng này có thể được xác định do sự biểu hiện của các yếu tố MYC, cũng như các protein ức chế chuyên biệt có tên là ID. Bốn protein ID nhỏ này đều thuộc cùng một lớp protein giống với tư cách là các protein MRF và MYC, nhưng không có domain gắn DNA. Hơn nữa, chúng lại heterodimer hóa với các yếu tố sao chép bHLH đặc hiệu dạng TB và ngăn chặn sự tác động của nó. Sự biểu hiện quá mức của các protein ID đôi khi như là một hệ quả của sự khuếch đại gen vẫn thường quan sát thấy trong các ung thư người, đặc biệt là trong các carcinoma.

Quan trọng là, thác các yếu tố sao chép không những dẫn đến biểu hiện quá mức các sản phẩm đặc hiệu dạng TB trong quá trình biệt hóa bình thường của TB mà còn ngăn chặn sự tăng sinh TB do tương tác với các yếu tố điều hòa chu kỳ TB trong các TB cơ, chúng ta cũng biết rằng tăng sinh và biệt hóa TB là sự loại trừ lẫn nhau. MYOD không những cạnh tranh với MYC mà còn kìm hãm sự sao chép các yếu tố FOS và JUN của AP1 trong các TB biệt hóa, trong khi đó sự tăng sinh của các nguyên bào cơ xảy ra một cách không đảo ngược. Vì thế, hệ thống này có xu hướng hoặc là ở trạng thái tăng sinh hay biệt hóa. Hơn nữa, RB1 lại bị kích hoạt trong quá trình biệt hóa cơ và làm bất hoạt các promoter phụ thuộc E2F đòi hỏi trong quá trình tăng sinh TB, trong khi đó nó cũng trợ giúp cho sự tác động của MOD.

Các mạng lưới yếu tố sao chép tương tự cũng thông qua sự tác động trong biệt hóa các dạng TB khác. Chẳng hạn như trong biệt hóa các TB gan thì các TB sản xuất insulin của tụy và các TB giống như hình ống của thận, các yếu tố hoạt hóa sao chép HNF4 và HNF1 có thể được tổ chức trong một vòng tự xúc tác yếu tố hoạt hóa một cách tương hỗ làm ổn định hóa kiểu hình biệt hóa.




**Hình 9.8** *Thác các yếu tố sao chép tự xúc tác trong quá trình biệt hóa tế bào*

Sự bất hoạt của các chất tiền tăng sinh (MYC hoặc ID) và các protein basic helix-loop-helix (MYOD, MTF) điều hòa sự biệt hóa cuối cùng của các nguyên bào cơ. Vòng tự xúc tác (đã được đơn giản hóa) giữa MYOD và các yếu tố sao chép đặc hiệu nguyên bào cơ khác (MTF) ở giữa hình vẽ có thể chịu trách nhiệm về việc không đảo ngược của quá trình.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

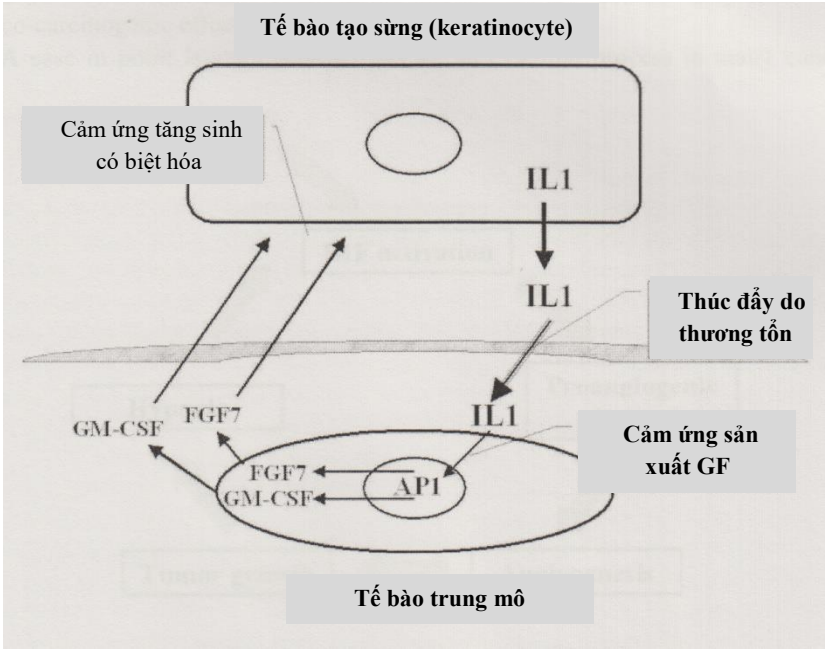
Ở nhiều dạng TB, retinoid cũng góp phần vào việc làm đình chỉ sự biệt hóa và tăng trưởng. Retinoid kích hoạt một trong số các receptor của acid retinoic có tên là RARα, β hoặc γ, chúng được tổ chức trong thác tự xúc tác. Promoter của gen *RARB2* có chứa một trình tự có tên là RARE (retinoic acid responsive element – yếu tố đáp ứng acid retinoic), theo đó receptor acid retinoic có thể liên kết và làm tăng sự sao chép của gen. Trong quá trình biệt hóa được cảm ứng bởi acid retinoic thì một trong số các receptor khác (γ hoặc γ tùy thuộc vào dạng TB) sẽ khởi đầu sự sao chép RARβ và chính nó lại khuếch đại sự cảm ứng của chính mình. Mất RAR khởi đầu hoặc bất hoạt gen *RARB* thì thác này sẽ bị ngăn chặn lại. Theo đó, một RARα liên kết chuyển vị đối với một domain kiềm chế sẽ ngăn chặn sự biệt hóa của các TB dòng tủy (promyeloid cell) trong bệnh bạch cầu cấp. Trong các carcinoma khác, thác hoạt yếu tố hoạt hóa retinoid bị gián đoạn do cường methyl hóa promoter *RARB2*.

Nói tóm lại, sự gián đoạn của cơ chế epigenetic dẫn đến biệt hóa TB là một bộ phận quan trọng trong quá trình phát triển ung thư. Ngược lại, các TB ung thư có thể thiết lập nên các thác epigenetic để duy trì trạng thái biểu hiện gen tương thích với sự tăng trưởng liên tục của khối u.

## 9.6. EPIGENETIC CỦA CÂN BẰNG NỘI MÔ

Các kiểu hình di truyền một cách ổn định chẳng những có thể đạt được bởi các cơ chế tác động bên trong TB mà còn bởi những sự tương tác giữa các dạng TB tương tự

và khác biệt. Trong nhiều mô, những sự tương tác như thế thường xảy ra giữa trung mô và biểu mô. Chúng trao đổi các yếu tố cận tiết (paracrine) trong trạng thái ổn định của mô. Đối với các vết thương hay sự thâm nhiễm thì trạng thái ổn định này bị xáo trộn, đồng thời có sự tăng cường trao đổi dẫn đến các đáp ứng miễn dịch và làm lành vết thương.

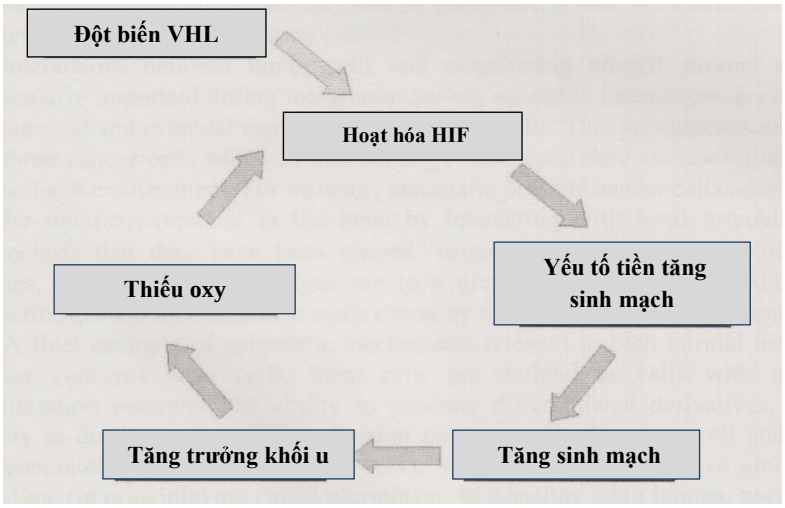



**Hình 9.9** *Sự điều hòa paracrine của lành vết thương ở da*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Trên da thì các tế bào tạo sừng (keratinocyte) ở ngoại bì, nguyên bào sợi ở hạ bì có sự trao đổi các yêu tố cận tiết (Hình 9.9). Các tế bào tạo sừng biểu mô trong lớp biểu bì sản xuất ra cytokine interleukine 1 (IL-1), mà thường thì chỉ có một phần nhỏ đến được mô da nằm ở phía dưới (underlying dermal tissue). Các TB trung mô sản xuất và tiết ra một lượng thấp yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi 7 (fibroblast growth factor 7-FGF7), nó cũng được gọi là yếu tố tăng trưởng các TB tạo sừng (keratinocyte growth factor –KGF), vì nó kích thích sự tăng sinh của các TB tạo sừng và các TB biểu mô khác. Hơn nữa, chúng còn sản xuất ra một lượng nhỏ GM-CSF – một yếu tố kích thích tăng sinh và đột biến của các TB dòng tủy. Nó cũng tác động lên các TB tạo sừng, thúc đẩy sự tăng sinh, và còn thúc đẩy mạnh hơn nữa sự biệt hóa của chúng. Trước sự tổn hại ngoại bì thì khi IL-1 được giải phóng và liên kết với các receptor của nó trên nguyên bào sợi. Điều này làm hoạt hóa con đường JNK và p38 MAPK và dẫn đến làm tăng hoạt tính của các yếu tố hoạt hóa sao chép ở các promoter của gen *FGF7* và *GMCSF*, kích thích sự tăng sinh và biệt hóa của thành phần tế bào tạo sừng cho đến khi vết thương được chữa lành và nồng độ IL-1 lại trở về mức bình thường. Dĩ nhiên, đây chỉ là sự mô tả đơn giản vì nó còn liên quan đến nhiều yếu tố khác nữa. Hơn nữa, trong quá trình làm

lành vết thương còn diễn ra sự tổ chức lại một cách đáng kể chất nền ngoại bào (extracellular matrix), ví dụ bởi các protease được tiết ra từ các nguyên bào sợi và sự xâm lấn của TB miễn dịch trong đáp ứng với IL-1 và GM-CSF. Các TB miễn dịch cũng bị lôi cuốn bởi các cytokine, chemokine và các yếu tố khác có nguồn gốc nguyên bào sợi kích hoạt. Cấp độ khác của sự điều hòa đòi hỏi phải giới hạn sự viêm nhiễm.




**Hình 9.10** *Vòng luẩn quẩn của sự hình thành mạch trong ung thư*
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Vấn đề được tranh luận chủ yếu trong ví dụ này là việc sử dụng các tương tác cận tiết của mô bình thường để đạt được sự cân bằng nội mô và phản ứng một cách thích hợp với những xáo trộn. Điều này chắc chắn có thể được coi như như là một cơ chế epigenetic. Điều quan trọng là, trong các ung thư thì kiểu tương tác này cũng xảy ra giữa các TB khối u và chất nền khối u. Tuy nhiên, trong các ung thư các tương tác này hiển nhiên là bị xáo trộn và không thể trở lại trạng thái ổn định mà còn tiếp tục mở rộng khối lượng khối u. Những sự mất cân bằng về các tương tác cận tiết cũng liên quan một cách đặc biệt đến hiệu ứng đồng sinh carcinoma (co-carcinogenic) của HIV.

Trong trường hợp tạo mạch, một quá trình thiết yếu trong nhiều ung thư có thể được kích hoạt do các cơ chế di truyền và epigenetic (Hình 9.10). Một số ung thư có mang các đột biến dẫn đến sản xuất các yếu tố tăng trưởng tiền tạo mạch như VEGF và bFGF (FGF2) kích thích sự phân nhánh của các mao mạch và sự tăng sinh của các tế bào nội mô. Trong các tế bào u lành và carcinoma tế bào thận nảy sinh trong hội chứng Von-Hippel-Lindau thì việc sản xuất kiến tạo này là do các đột biến ở một yếu tố điều hòa đáp ứng TB đối với sự thiếu oxy. Như một hệ quả, các yếu tố sao chép (yếu tố cảm ứng thiếu oxy) (hypoxia- induced factor – HIF) được hoạt hóa quá mức và làm gia tăng việc sản xuất các yếu tố tăng trưởng tiền tạo mạch. Như vậy, trong nhiều trường hợp, biến đổi di truyền đặc hiệu là nhằm đáp ứng cho việc tăng cường sự tạo mạch.

Các ung thư khác không mang các khiếm khuyết di truyền thích hợp. Thay vì, khi khối lượng khối u đã vượt quá kích cỡ cho phép (trong điều kiện được cung cấp đủ oxy bằng khuếch tán) thì tất nhiên các TB khối u sẽ trở nên thiếu oxy. Điều này lại gây nên một đáp ứng sinh lý học bình thường là cảm ứng các yếu tố sao chép HIF do đó sẽ dẫn đến sản xuất các yếu tố tăng trưởng tạo mạch. Theo đó, việc cung cấp oxy (và các chất dinh dưỡng khác) lại càng cho phép sự mở rộng hơn nữa của khối u và lại một lần nữa dẫn đến sự cảm ứng các yếu tố tăng trưởng tạo mạch HIF và sự tạo mạch lại tiếp tục. Cái vòng epigenetic luẩn quẩn này thường trầm trọng hơn do các khiếm khuyết di truyền trong các TB ung thư, ví dụ như các đột biến của TP53 làm giảm việc sản xuất các yếu tố kháng tạo mạch.

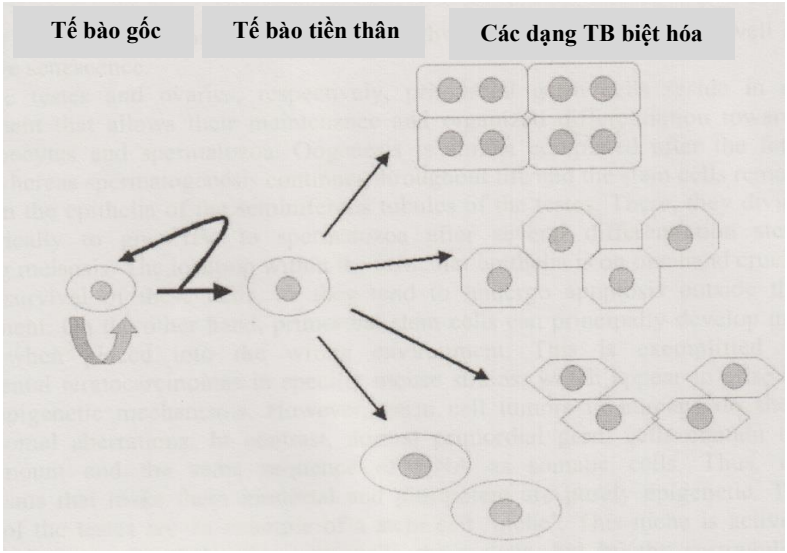
Điều quan trọng là phải nhận ra rằng do các tương tác cận tiết như thế nên các TB ung thư đã làm biến đổi các tính chất của các TB bình thường. Trong khi những TB này không cần phải có các biến đổi di truyền (mặc dầu điều này thính thoảng cũng đã được báo cáo) thì chúng lại bị kích hoạt, điều đó có thể làm thay đổi đáng kể các tính chất của chúng. Trong thực nghiệm người ta có thể chứng minh được rằng các TB đệm từ các khối u ác tính đã thu nhận được *"sự ghi nhớ epigenetic*", ví dụ như trạng thái kích hoạt của nó có xu hướng kéo dài ngay cả khi các TB ung thư thực sự đã được loại bỏ. Điều này có thể tin tưởng được nếu người ta xem xét đến vai trò của epigenetic trong sự biệt hóa tế bào.

Sự tương tác giữa các TB khối u và các TB đệm bình thường là đặc biệt quan trọng trong quá trình di căn. Việc thiết lập những sự tương tác ổn định rất quan trọng đối với sự sống sót và mở rộng cuối cùng của các TB di căn. Điều này phỏng đoán được một sự chọn lọc các TB ung thư hợp với mô đích và sự thích ứng thành công đối với môi trường địa phương (cục bộ). Chẳng hạn như, các TB di căn của tuyến tiền liệt thích ứng rất tốt với vi môi trường ở xương nhờ có sự tương tác với nguyên bào xương cục bộ và các nguyên bào xương có tên là 'osteomimetic'. Vì trong các mô bình thường những sự tương tác này là một thỏa thuận tuyệt vời được trung gian bởi sự trao đổi của các yếu tố tăng trưởng cận tiết và với một chừng mực nào đó là do sự tương tác tế bào – tế bào.

Ví dụ sau chót về các cơ chế epigenetic có liên quan cả với các mô bình thường cũng như các TB gốc liên quan đến ung thư. Các TB gốc được xác định là các TB có tiềm năng tăng sinh vô hạn, có khả năng tạo ra các TB biệt hóa và có khả năng thực hiện điều này bằng cách phân chia bất đối xứng để tạo nên các TB gốc khác và các TB con cháu biệt hóa xa hơn (Hình 9.11). Các TB gốc có thể tạo ra bất kỳ dạng TB nào (về nguyên lý) thì gọi là các TB đa năng (pluripotent). Ở người trưởng thành khỏe mạnh có 2 dạng TB gốc hiện diện đó là TB dòng mầm và TB gốc mô. Các TB gốc mô có khả năng không phải là đa năng. Hơn nữa, chúng có thể tạo ra các một lượng giới hạn các dạng TB khác nhau. Vì thế, chúng cũng được gắn với tên là các TB *'tiền thân mô'*

(tissue precursor) và với tư cách là đa (multi) hoặc đơn (oligopotent) tiềm năng. Vì các DNA của TB gốc không khác biệt với DNA trong các TB soma nên chúng phải được xác định bằng các cơ chế epigenetic. Trên thực tế, nó liên quan tới cả cơ chế có tính chất nội bộ trong một TB cũng như giữa các TB.

Cơ chế nội bào bao gồm sự biểu hiện của hTERT và telomerase kích hoạt cho phép tránh né khỏi sự lão hóa sao chép. Một cơ chế khác lại cảm ứng sự lão hóa sao chép khi sự tăng sinh TB vẫn tiếp tục, nghĩa là việc cảm ứng các chất ức chế CDK có khả năng bị kiềm chế. Đặc biệt là, sự tích lũy của $p16^{INK4A}$ được ngăn chặn bởi phức hợp kiềm chế hình răng lược có BM11 vì nó là một thành phần quan trọng. Không thật chính xác là, tính đa năng được duy trì như thế nào. Trong các TB mầm, nó có liên quan đến sự biểu hiện của các yếu tố sao chép đặc hiệu. Chẳng hạn như, yếu tố hoạt hóa sao chép OCT3/4 mà hiện nay gọi là POUF5 được biểu hiện trong dòng mầm và trong các giai đoạn sớm của phôi. Sự biểu hiện của nó sẽ mất đi khi các TB đa năng ở ngoại phôi bì (epiblasst) trở nên tận tụy (commited) đối với các mô đặc hiệu. Nó cũng biểu hiện mạnh trong các ung thư TB mầm và cũng rất cần thiết đối với sự tăng sinh liên tục của chúng. Các TB mầm và có thể cả các TB tiền thân của mô cũng có các mẫu methyl hóa DNA khác với các mẫu tượng trưng cho các TB soma. Những vấn đề này cũng được phản ánh một cách phù hợp trong các ung thư TB mầm. Hơn nữa, các tế bào mầm trong các ung thư TB mầm thì mức độ biểu hiện của cả RB1 và TP53 đều có thể là tương đối thấp. Điều này có thể làm ngăn cản sự ủy thác đối với các con đường đặc hiệu của sự biệt hóa cũng như lão hóa sao chép.




**Hình 9.11** *Các tính chất của tế bào gốc*

Các TB gốc được đặc trưng bởi khả năng tự làm mới, phân chia bất đối xứng và tạo ra các dạng TB biệt hóa khác nhau.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

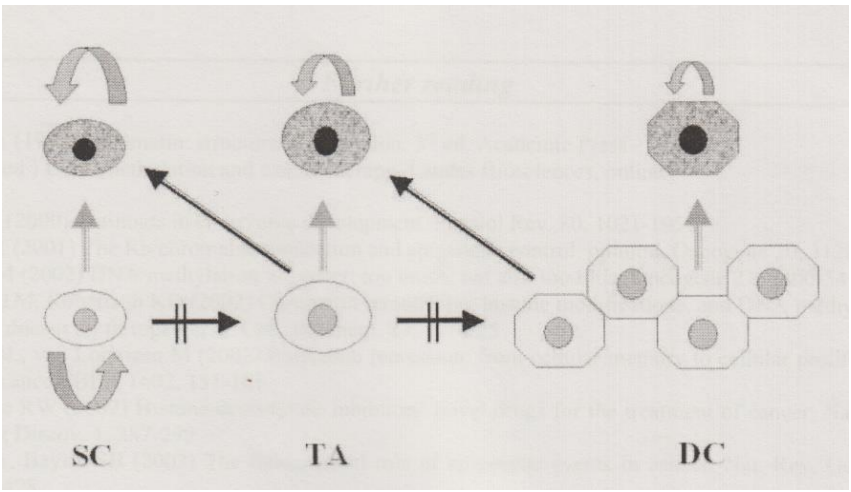
Trong tinh hoàn và buồng trứng, các TB gốc nguyên thủy cư trú trong một môi trường cho phép chúng được duy trì và tổ chức sự biệt hóa để trở thành tế bào trứng và tinh trùng trưởng thành. Sự sinh trứng gần như hoàn tất sau thời kỳ thai nhi, trong khi

đó việc sinh tinh thì vẫn tiếp tục trong suốt cả cuộc đời và các TB gốc vẫn được hiện diện ở biểu mô ống sinh tinh của tinh hoàn. Tại đó, chúng được phân chia một cách bất đối để tạo ra các tinh trùng sau một vài bước biệt hóa, bao gồm cả meiosis. Sự định vị bên trong biểu mô tinh hoàn là quan trọng, một mặt là do sự sống sót của các TB này, vì chúng có xu hướng phải trải qua apoptosis nếu ở bên ngoài môi trường này. Mặt khác, các TB gốc nguyên thủy lại có thể phát triển chủ yếu thành các khối u khi được đặt vào trong môi trường không đúng. Điều này được minh họa bởi carcinoma quái thai (teratocarcinoma) thực nghiệm ở các giống chuột đặc biệt, nó được tạo ra hoàn toàn bởi các cơ chế epigenetic. Tuy nhiên, các khối u TB mầm ở người có thể biểu hiện những bất thường NST. Trái lại, các TB gốc nguyên thủy lại chứa cùng một lượng của cùng một trình tự DNA như các TB soma. Do đó, cơ chế làm cho chúng bất tử và đa năng hoàn toàn là epigenetic. Các ống của tinh hoàn là một ví dụ về hiện tượng "trở về ngôi nhà của mình" (niche) của TB gốc. Sự trở về này không được duy trì quá nhiều là do chính các TB mầm cũng như các mô xung quanh tinh hoàn. Các TB trong mô này cung cấp các yếu tố TB gốc (stem cell factor –SCF), một ligand cho receptor tyrosine kinase KIT.

Các TB gốc (tiền thân) của mô thì không rõ ràng và chúng chỉ đặc trưng ở người. Tuy nhiên, cũng như các TB gốc nguyên thủy, chúng không có sự khác biệt về hàm lượng DNA hoặc về trình tự so với các con cháu đã biệt hóa của chúng. Thay vì, trạng thái của chúng dường như là được xác định bởi sự định vị của chúng ở các "niche" đặc biệt bên trong mô, ví dụ gần với basis of crypt trong tinh hoàn hoặc gần chân các bọng tóc ở da. Việc duy trì trạng thái của chúng có thể đạt được phần nào nhờ các yếu tố tăng trưởng được sản xuất bởi các TB trung mô xung quanh. Các yếu tố WNT ở ruột và các yếu tố WNT cũng như SHH ở da là cần thiết. Vẫn còn biết rất ít về các cơ chế nội bào duy trì các đặc tính TB gốc của chúng. Tương tự như vậy, vấn đề này cũng liên quan đến sự biểu hiện của telomerase và nó cũng bị kích thích thông qua MYC qua con đường WNT và con đường phụ thuộc SHH.

Trái lại, đối với các TB gốc nguyên thủy hay các TB của ngoại phôi bì, TB gốc của mô có thể là không đa năng. Hơn nữa, chúng có thể phải tuân thủ một cách giới hạn sứ mệnh biệt hóa, tuy nhiên nó có thể liên quan tới khá nhiều dạng TB. Chẳng hạn như, các TB gốc của ruột già là các tiền thân của các TB ruột, TB nội tiết (enteroendocrine), tế bào Paneth và goblet, chúng phơi bày các chức năng khá khác biệt. Tuy nhiên, nếu đem cấy ghép vào một môi trường khác thì các TB gốc mô có thể biểu lộ tính mềm dẻo rất lớn. Vì thế, các TB gốc tủy xương chẳng những có thể sinh ra nhiều dạng khác nhau của các TB máu và hệ miễn dịch mà còn sản sinh ra một số loại TB biểu mô như các TB gan hoặc các TB nội mô. Một lần nữa, những tiềm năng khác biệt này đã bị áp đặt bởi các cơ chế epigenetic, điều mà hiện nay chúng ta còn chưa biết nhiều.

Rõ ràng là, hầu hết các ung thư đều phát triển một số loại kiểu hình TB gốc do các cơ chế khác nhau (Hình 9.12). Tuy nhiên, những con đường ung thư cũng liên quan đến việc duy trì các TB gốc mô đã kích hoạt do các đột biến trong các bộ phận của những con đường ung thư này hoặc do các cơ chế tự tiết (autocrine). Cơ chế này có khả năng là đáp ứng về kiểu hình TB tiền thân của các ung thư trực - kết tràng và carcinoma TB đáy của da. Bệnh bạch cầu dòng tủy mạn tính (chronic myelocytic leukemia - CML) cũng rõ ràng là bệnh của TB gốc do sự hoạt động quá mức của các con đường ung thư.




**Hình 9.12** *Mối quan hệ giữa các tế bào ung thư và các tế bào gốc*

Các tế bào ung thư có thể bắt nguồn trực tiếp từ các TB gốc (SC) vẫn duy trì các đặc tính của chúng, nhưng ít nhất là bị ngăn chặn một phần về biệt hóa (trái), từ các TB được khuếch đại chớp nhoáng (transient amplifying –TA) không thực hiện được sự biệt hóa cuối cùng và/hoặc không thu nhận được một cách thứ cấp kiểu hình TB gốc (giữa), hoặc từ các dạng TB biệt hóa nhưng không dừng được sự tăng sinh và/hoặc quay ngược lại giai đoạn tiền thân biệt hóa kém.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Các ung thư khác cũng giống với các TB gốc trong việc sở hữu tiềm năng tăng sinh vô hạn và nhất là việc biểu hiện telomerase. Trong một số ung thư, đã có bằng chứng về một tiểu quần thể sinh ra nhiều TB khối u biệt hóa xa hơn. Tuy nhiên, dường như là trong nhiều ung thư các tính chất của TB gốc thu được là thứ cấp. Do đó, các ung thư không cần phải phát triển một cách trực tiếp từ các TB gốc, mặc dầu có một số ung thư thì chắc chắn phải đi từ TB gốc. Các ung thư khác cũng có thể được phát triển từ các TB ở giai đoạn biệt hóa hơn nên lấy lại được kiểu hình của TB tiền thân của chúng. Tuy nhiên, vẫn còn những trường hợp khác lại chỉ thu nhận được các khía cạnh chọn lọc của kiểu hình TB gốc, như việc biểu hiện telomerase. Trong khi các đặc tính TB gốc của các ung thư thường được gây nên do những sự bất thường về gen thì kiểu hình TB gốc lại có thể được thiết lập hoàn toàn bởi các cơ chế epigenetic, điều này có thể rất quan trọng trong một số ung thư.

## *TÓM TẮT*

❖ *Ở người, sự biệt hóa TB không liên quan đến những biến đổi về trình tự base hoặc số lượng DNA, trừ một số ít ngoại lệ. Chính xác hơn là 'các cơ chế epigenetic' đã được sử dụng để thiết lập các mẫu biểu hiện gen ổn định. Trong trường hợp này 'cơ chế epigenetic' là cơ chế thiết lập nên các mẫu biểu hiện di truyền một cách ổn định sự biểu hiện gen trong các TB soma không có những biến đổi về hàm lượng hay trình tự của DNA hệ gen.*

❖ *Các cơ chế epigenetic đặc hiệu có liên quan đến sự bất hoạt nhiễm sắc thể X ở các TB nữ giới và sự in dấu hệ gen (genomic imprinting), ví dụ như sự biểu hiện chọn lọc của các allele được di truyền lại từ bố hoặc mẹ. Sự in dấu bất thường hệ gen là nguyên nhân gây nên các khối u xác định ở trẻ em, ví dụ như các khối u Wilms. Mất in dấu cũng quan sát thấy ở nhiều carcinoma của những người lớn tuổi.*

❖ *Bộ phận quan trọng của các cơ chế epigenetic là sự methyl hóa DNA ở gốc cytosine trong trình tự dinucleotide CpG xuôi ngược. Trong các TB soma bình thường của người, các dinucleotide cpG chủ yếu được methyl hóa tại các trình tự lặp ở phần thân các gen (body of genes) và vùng điều hòa của các gen không biểu hiện. Trái lại, trong nhiều gen của người các trình tự tương đối giầu CpG lại có sự có sự chồng chéo vị trí bắt đầu sao chép, được gọi là 'các đảo CpG' và thường tránh được sự methyl hóa.*

❖ *Trong nhiều khối u của người, một số đảo CpG trở nên methyl hóa một cách bất thường. Như một quy luật, sự cường methyl hóa này có liên quan đến sự yên lặng của các gen cường methyl hóa. Mặc dù có sự gia tăng methyl hóa như thế ở các vị trí đặc hiệu, nhưng sự methyl hóa tổng thể lại giảm ở nhiều TB khối u vì chỉ có sự de-methyl hóa phần nào ở các trình tự lặp và các vùng mã hóa gen. Hiện tượng này được gọi là 'hypomethyl hóa toàn hệ thống' (global hypomethylation). Điều này cũng có thể liên quan đến sự bất ổn định NST. Cả hai sự biến đổi này đều đã được phát hiện tương đối rõ ràng và có thể được sử dụng cho việc chẩn đoán các khối u.*

❖ *Methyl hóa là một trong số các các cơ chế tương tác nhằm điều hòa xuống sự biểu hiện gen theo kiểu ổn định tăng dần. Động học (dynamic) chủ chốt của các cơ chế này là deacetyl hóa histone trong nucleosome của vùng điều hòa gen. Sự acetyl hóa được tăng cường nhờ các yếu tố hoạt hóa sao chép gắn với DNA cũng như các đồng yếu tố hoạt hóa sao chép có hoạt tính histone acetylase (HAT). Ngược lại, deacetyl hóa lại được xúc tác bởi histone deacetylase (HDAC) được chiêu mộ bởi các chất kiềm chế (repressor) hoặc đồng kiềm chế (co-repressor). Sự methyl hóa histone ở các vị trí đặc biệt, nổi bật là K9 của H3 nhờ histone methyltransferase (HMT) là bước khác có liên quan đến sự bất hoạt, trong khi đó sự methyl hóa ở các vị trí khác, ví dụ K4 của H3 thì*

*lại làm ổn định hóa sự kích hoạt gen. Những sự biến đổi tại K9 lại thu hút các protein kiềm chế, ví dụ như HP1 cũng như các DNA methyltranssferase (DNMT), làm 'ngăn chặn' sự yên lặng của gen. Sự methyl hóa DNA ức chế trực tiếp sự liên kết của một số yếu tố hoạt hóa sao chép và thúc đẩy sự liên kết của các phức hợp protein kiềm chế nhận dạng được methylcytosine thông qua các protein MBD. Các DNMT cũng tương tác với các HDAC và HMT, vì thế mà củng cố cho sự yên lặng. Sự hoạt hóa gen cũng như bất hoạt gen có sử dụng các phức hợp tu sửa nhiễm sắc (chromatin remodeling complex), trong đó các yếu tố hoạt hóa và chất kiềm chế có sự tương tác tương hỗ.*

❖ *Sự yên lặng gen bất thường bởi các cơ chế epigenetic trong các TB khối u thường hay xảy ra, nhưng không phải lúc nào cũng đồng hành với cường methyl hóa DNA. Những quy luật cơ bản của vấn đề này vẫn chưa được rõ. Nhiều HAT, HAD, HMT và các yếu tố tu sửa chất nhiễm sắc đều có liên quan với tư cách là các gen gây ung thư hay chất kiềm chế khối u trong các ung thư người.*

❖ *Trạng thái gen kích hoạt cũng được tăng lên bởi các cơ chế epigenetic, bao gồm cả những biến đổi chất nhiễm sắc đặc hiệu. Trong khi các cơ chế epigenetic dẫn đến sự biểu hiện quá mức gen không thích đáng ở các ung thư người vẫn chưa được rõ so với các cơ chế dẫn đến sự yên lặng gen thì một điều rõ ràng là cơ chế genepigenetic đã góp phần vào việc làm biểu hiện không thích đáng các protein oncogene.*

❖ *Khái niệm 'epigenetic' có thể được mở rộng đến các hiện tượng ngoài phạm vi nhân, thậm chí ngoài phạm vi một TB đơn. Có khả năng là, những cơ chế như thế đã góp phần vào việc thiết lập các mẫu di truyền một cách ổn định về sự biểu hiện gen ở các mô bình thường cũng như trong các khối u. Chúng có thể bao gồm các vòng tự điều hòa trong mạng lưới các yếu tố sao chép hoặc các con đường chuyển tải tín hiệu yếu tố tăng trưởng tác động bên trong tế bào, cũng như các vòng tương tác ổn định giữa các dạng TB khác nhau, đặc biệt là các TB trung mô và biểu mô hoặc giữa các TB đệm và TB carcinoma.*

# CHƯƠNG X: SỰ XÂM LẤN VÀ DI CĂN

## 10.1. SỰ XÂM LẤN VÀ DI CĂN ĐƯỢC XEM NHƯ LÀ CÁC QUÁ TRÌNH GỒM NHIỀU BƯỚC

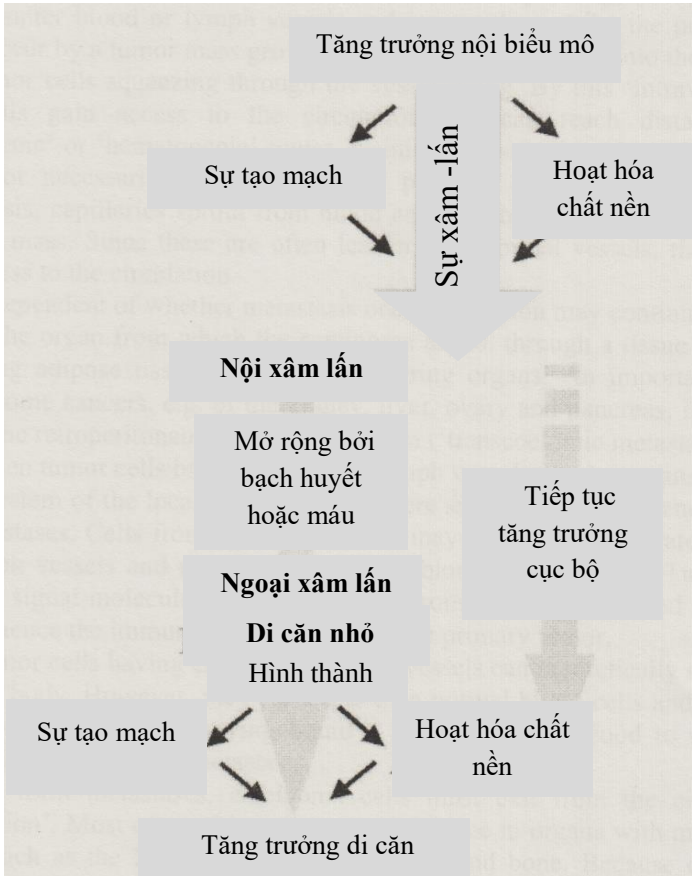
Mức độ xâm lấn cục bộ và sự di căn xa sẽ xác định kết quả lâm sàng của ung thư, đặc biệt là các ung thư đặc (solid cancer) như carcinoma. Xâm lấn và di căn có thể coi như là các quá trình gồm nhiều bước. Khi sự xâm lấn đến một giai đoạn xác định thì kiến tạo được điều kiện tiên quyết để di căn. Mỗi bước đều có sự đòi hỏi và lựa chọn các tính chất xác định của các TB khối u. Mặc dầu về chi tiết thì khác nhau nhưng xâm lấn và di căn của một carcinoma nói chung có thể được mô tả một cách phỏng chừng theo từng bước như sau (Hình 10.1):

**(1)** Trong khi carcinoma tăng sinh và mở rộng sang hai bên và theo chiều ngang bên trong biểu mô thì các TB khối u lại trở nên ít kết dính với nhau cũng như với các TB biểu mô bình thường lân cận.

**(2)** Chất nền cơ bản trở nên kích hoạt và viêm nhiễm có thể xảy ra. Màng cơ bản phân cách biểu mô với mô liên kết trung mô nằm dưới (underlying mesencymal connective tissue) bị phá huỷ một phần hay toàn bộ.

**(3)** Khối u tiếp tục tăng trưởng trong mô liên kết. Đây là một trong số các bước có nhiều biến đổi. Một số carcinoma tiếp tục tăng trưởng như một khối rắn, kết lại gây chèn ép mô liên kết liền kề hoặc phát triển các quá trình nhằm mở rộng vào bên trong, phá vỡ chất nền ngoại bào (extracellular matrix - ECM). Đối với các carcinoma khác thì nhóm nhỏ các TB hay các TB đơn tách ra và di cư vào mô nằm ở dưới, đôi khi trong các mẫu "indian file" hoặc là các cụm kết dính. Những sự di cư này ngay cả với TB khối u đơn cũng đều liên quan đến sự sửa chữa của ECM.

**(4)** Trên thực tế, sự xâm lấn của chất nền bởi các TB ung thư xuất hiện không phải là một phía. Nó đi kèm cùng với sự hoạt động của các gen đã bị biến đổi trong các TB đệm, một số thay đổi thì làm thúc đẩy và một số khác lại ức chế xâm lấn. Dạng phản ứng đệm có thể là một trong số các yếu tố quan trọng nhất xác định khả năng tiến tới di căn của khối u. Thường thì các TB của hệ miễn dịch được thu hút bởi các tín hiệu phát ra từ chất nền và các TB khối u. Điều này có thể dẫn đến sự viêm nhiễm rõ rệt. Giống như phản ứng đệm, hiệu ứng của các viêm nhiễm là không rõ ràng, điều đó có thể gây cản trở hay thúc đẩy xâm lấn.




**Hình 10.1** *Các bước của xâm lấn và di căn*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

**(5)** Bước quan trọng trong xâm lấn đạt được khi các TB khối u đang di cư hoặc đang tăng trưởng chạm trán với mạch máu hay mạch bạch huyết để rồi xâm lấn chúng. Cũng giống như các bước trước, điều này có thể xảy ra do tăng trưởng khối lượng của khối u xuyên qua thành mạch để vào tới phần bên trong (lumen), hoặc do các TB khối u đơn ép vào phần lót của mạch. Nhờ bước "nội xâm lấn" (intravasation) này mà các TB khối u tiến được vào hệ tuần hoàn và có thể tới được các tổ chức ở xa nhờ "con đường" mạch bạch huyết hoặc mạch máu. Việc tiếp cận mạch máu và mạch bạch huyết cũng không nhất thiết phải là quá trình một hướng (one-direction), vì nhiều khối u cũng gây cảm ứng tạo mạch, nẩy chồi các mao mạch từ mạch máu và bạch huyết theo sự chỉ đạo của việc gia tăng khối lượng u. Vì những nơi này thường bị rò hơn các mạch bình thường nên chúng có thể dễ dàng xâm nhập để rồi vào hệ tuần hoàn.

**(6)** Không rõ liệu có xảy ra việc di căn độc lập hay không, nhưng sự xâm lấn có thể vẫn tiếp tục vào các lớp khác của cơ quan nảy sinh ra carcinoma, thông qua "viên nang mô" (tissue capsule), đi vào mô mỡ bao quanh rồi tiến vào các cơ quan lân cận. Con

đường mở rộng quan trọng của một số ung thư, ví dụ ung thư thận, ung thư gan, ung thư buồng trứng và ung thư tụy được cho là đi qua phần lumen của sau màng bụng (retroperitoneum) hoặc màng bụng (peritoneum) (di căn qua khoang cơ thể) (transcoelomic metastasis).

**(7)** Khi các TB khối u đã tiến vào bên trong mạch bạch huyết thì chúng được vận chuyển tới một hệ thống lọc của hạch bạch huyết cục bộ, tại đó một số có thể được sống sót và bắt đầu di căn vào hạch bạch huyết. Các TB từ các di căn này cuối cùng có thể xuyên qua các mạch bạch huyết lớn rồi tới máu qua con đường này. Các TB khối u hoặc các mảnh vỡ và các phân tử tín hiệu từ các TB khối u hoặc TB đệm được vận chuyển tới hạch bạch huyết gây ảnh hưởng tới các phản ứng miễn dịch đối với khối u nguyên phát.

**(8)** Các TB khối u khi vào đến mạch máu, về lý thuyết nó có thể được phát tán tới mọi bộ phận của cơ thể. Tuy nhiên, vì chúng lớn hơn các TB máu bình thường và không thích ứng tốt với việc sống sót trong chất lỏng di động nên những TB sống sót trong máu muốn đi đến các mô ở xa để di căn có thể bị hạn chế.

**(9)** Để hình thành di căn, các TB sarcoma phải ra khỏi hệ tuần hoàn bằng con đường "ngoại xâm lấn" (extrvasation). Dường như vấn đề này xảy ra thường xuyên nhất ở các cơ quan có hệ thống vi mao mạch như gan, phổi, thận và xương. Do kích thước của chúng nên các TB sarcoma (và các cụm TB xác định) bị kẹt tại các mao mạch nên chưa đủ điều kiện để thiết lập được các di căn nhỏ.

**(10)** Trong môi trường mô mới, các TB carcinoma một lần nữa buộc phải tới phần gian bào để được sống sót, sau một số giai đoạn mở rộng, cuối cùng chúng bắt đầu bành chướng thành các di căn nhỏ, có thể nằm im nhiều năm. Sau tất cả các bước phức tạp kể trên, điều ngạc nhiên là đây có thể là bước quan trọng nhất, tức là bước hiệu quả nhất trong sự hình thành di căn.

**(11)** Bước cuối cùng trong di căn là mở rộng các di căn nhỏ thành các khối u tăng trưởng tích cực. Vấn đề này đòi hỏi phải thiết lập được hệ thống cung cấp dinh dưỡng đầy đủ và sự tương tác với các dạng chất nền khác nhau, thường bao hàm việc cảm ứng một lần nữa sự tạo mạch và xâm lấn cục bộ khác.

Mặc dầu xâm lấn và di căn là một quá trình quan trọng như thế trong liệu trình tiến triển ung thư, nhưng chúng vẫn chưa được hiểu rõ hoàn toàn. Đây là vấn đề rất phức tạp vì hầu như mọi bước đều liên quan đến những tương tác giữa các dạng TB khác nhau và các thành phần mô ngoại bào. Ngoài ra, các bước di căn sớm trên người có thể hiếm khi được quan sát thấy. Hơn nữa, các mẫu di căn lại không phải lúc nào cũng có thể được khảo sát, đặc biệt với carcinoma vì chúng rất hiếm khi được xử lý

bằng phẫu thuật. Vì thế, nhiều kiến thức của chúng ta về vấn đề này thường là được suy ra từ các mô hình thực nghiệm trên động vật, mà bản thân vấn đề này cũng đủ phức tạp rồi. Vì thế, đến giai đoạn này thì nhiều yếu tố cá thể liên quan đến xâm lấn và di căn đã được xác định và việc chọn lọc những tương tác cũng đã được xác định một cách chính xác. Tuy nhiên, vẫn còn những thiếu hụt đáng kể trong sự hiểu biết của chúng ta liên quan đến các yếu tố quan trọng này cũng như sự tương tác lẫn nhau giữa chúng như thế nào.

Một vấn đề đặc biệt quan trọng là cái gì thúc đẩy tổng thể quá trình xâm lấn và di căn? Có hai ý kiến khác nhau đã được cân nhắc. Một giả thuyết cho rằng các TB khối u thu được các đặc tính sau khi chúng thực hiện các bước như đã kể trên. Tại mỗi bước, các TB khối u thích ứng tốt nhất sẽ được chọn lọc từ nhiều biến thể được tạo ra do sự bất ổn định hệ gen di truyền. Giả thuyết khác lại cho rằng, chương trình "xâm lấn và di căn" là các đặc tính di truyền của các ung thư xác định, nó được bộc lộ rất sớm trong quá trình phát triển của chúng. Giả thuyết thứ 2 này có thể dự đoán được rằng, các ung thư nguyên phát giống các di căn của chúng hơn. Vì thế, hiện nay người ta nghiêng về giả thuyết thứ 2. Điều thú vị là, có lẽ không có gì bất ngờ rằng, sự khác biệt nổi bật nhất đã phát hiện được giữa ung thư di căn và không di căn là mẫu biểu hiện gen của TB đệm chứ không phải là của TB khối u. Sự tách bạch giữa 2 giả thuyết này rất quan trọng đối với việc chẩn đoán ung thư. Tiên lượng của ung thư chỉ có thể được xác định từ một mẫu tại vị trí nguyên phát, nếu khả năng di căn thành công thì phải được phản ánh qua những thông số phân tử về ung thư nguyên phát. Điều này sẽ rất khó bởi vì nếu ung thư nguyên phát là hỗn hợp các TB với những khả năng khác nhau đối với sự di căn hóa và/hoặc những khả năng này được phát triển dần dần.

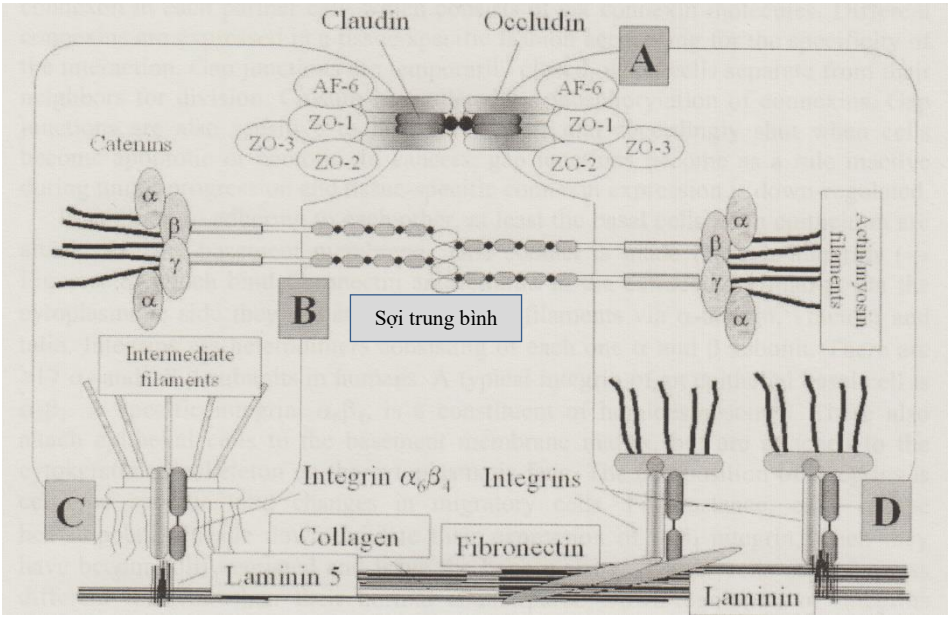
## 10.2. CÁC GEN VÀ PROTEIN LIÊN QUAN ĐẾN SỰ KẾT DÍNH TẾ BÀO - TẾ BÀO VÀ TẾ BÀO - CHẤT NỀN

Các TB biểu mô kết dính với nhau và tương tác với nhau thông qua một số dạng tiếp xúc (Hình 10. 2). Sự khác biệt về mặt hình thái học và những tiếp xúc quan trọng về mặt chức năng bao gồm các *khớp kết dính* (adherens junctions), *khớp hổng* (gap junctions) và *khớp khít* (tight junctions) (bị nút lại).

Sự bít lại các khớp sẽ làm bịt kín biểu mô và xác định được các thành phần của màng đỉnh (apical) và màng bên (lateral) của một TB biểu mô. Vì thế, việc mất đi của chúng trong một tế bào carcinoma có liên quan đến việc mất tính phân cực của tế bào.

Khớp kết dính có sự sắp xếp cấu hình giống như chiếc dây lưng (do đó mới gọi là thể nối dây lưng) giữa các biểu mô lân cận và là sự kết nối nội bào với các sợi actin. Các protein làm trung gian thực sự cho các tương tác cùng dạng (homotypic) giữa các TB biểu mô lân cận là cadherin, trong đó E-cadherin là đại diện điển hình (Hình 10.3).

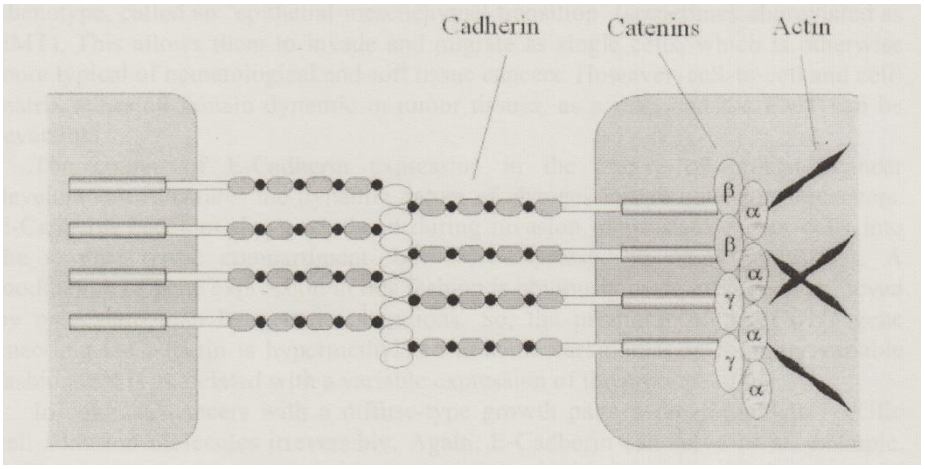
Tương tác giữa các phân tử E-cadherin phụ thuộc vào $Ca^{2+}$. Trên bề mặt tế bào chất của màng TB thì E-cadherin gắn với các sợi actin nhờ α-catenin và β-catenin. Việc điều hòa xuống hay đột biến E-cadherin thường thấy ở các ung thư người và thường xảy ra trong quá trình tiến triển của khối u. Trong một số khối u xâm lấn, E-cadherin được thay thế bằng các thành viên khác của họ có đặc tính kết dính phù hợp hơn với sự di cư của TB, ví dụ N-cadherin. Sự kiện này được "dán nhãn" là "sự chuyển đổi cadherin".




**Hình 10.2** *Những tiếp xúc tế bào – tế bào và tế bào – chất nền của các tế bào biểu mô.*

A: Khớp nối chặt; B: Khớp nối kết dính; C: Hemidesmosome; D: Tiếp xúc Integrin/ chất nền ngoại bào. Các integrin khác nhau ưa thích các protein chất nền khác nhau.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)




**Hình 10.3** *Cấu trúc và tương tác của E-cadherin*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Trong các TB biểu mô, các thể nối nhỏ được kết nối với các sợi keratin TB bởi desmoplakin và plakoglobin. Sự tiếp xúc thực sự giữa các TB lại được tạo ra bởi các cadherin chuyên hóa.

Khớp hổng (gap junction) cũng góp phần vào sự kết dính giữa các TB, nhưng chủ yếu là các kênh thông tin kết nối các TB cùng dạng (type) ở biểu mô hoặc các mô khác, ví dụ như hệ thần kinh. Chúng cho phép các phân tử có trọng lượng nhỏ đi qua (khoảng 1000 Da), đặc biệt là các cation như $Ca^{2+}$ và $K^{+}$, cũng như các phân tử tín hiệu nhỏ khác như AMP vòng. Khớp hổng được hình thành từ một connexon trong mỗi cặp đôi tế bào, bao gồm 6 phân tử connexin. Các connexin khác nhau được biểu hiện với phương thức đặc hiệu mô đặc trưng cho tính đặc hiệu của sự tương tác. Khớp hổng tạm thời bị đóng khi các tế bào tách khỏi các TB lân cận để phân chia. Việc đóng kín được điều tiết bởi sự phosphoryl hóa các connexin. Khớp hổng rất nhạy cảm với nồng độ $Ca^{2+}$ cao và nó đóng lại một cách phù hợp khi các TB trở nên apoptosis hoặc hoại tử. Như một quy luật, trong các ung thư thì khớp hổng trở nên bất hoạt trong quá trình tiến triển của u và sự biểu hiện của connexin đặc hiệu mô được điều hòa xuống.

Ngoài việc kết dính với nhau, ít nhất là các TB đáy ở biểu mô được gắn vào màng cơ bản. Sự tiếp xúc này được thực hiện thông qua các integrin, nó gắn fibronectin với laminin trong chất nền ngoại bào. Về phía tế bào chất, chúng được gắn với các sợi actin thông qua α-actin, vinculin và talin. Integrin ở người là các heterodimer bao gồm các tiểu đơn vị α và β, có > 17α và >8β. Một integrin điển hình của TB đáy biểu mô là α2β1. Một integrin đặc hiệu α6β4 là một thành phần của thể nối hemidesmosome. Những thành phần này cũng gắn TB biểu mô với chất nền màng cơ bản, nhưng lại gắn vào cytokeratin khung TB trên bề mặt tế bào chất. Thành phần của các integrin là đặc hiệu dạng TB và có sự biến đổi trong các TB di cư. Chẳng hạn như, các TB dòng tạo máu điều hòa xuống sự biểu hiện integrin α4β1 của chúng, khi chúng trở nên biệt hóa và rời khỏi tủy xương. Các TB khối u thường biểu hiện các integrin khác nhau hơn là các bản sao bình thường của chúng. Đối với việc điều hòa xuống integrin ví dụ do sự thất bại của các TB gây bệnh bạch cầu dòng tủy mạn nhằm duy trì chúng ở lại đủ lâu trong tủy xương để hoàn tất sự biệt hóa. Trong các carcinoma cũng vậy, những thay đổi trong thành phần của integrin có thể là cần thiết đối với sự xâm lấn và di căn, có một số integrin thì tạo thuận lợi, số khác thì lại gây ức chế xâm lấn.

Sự kết dính tế bào - tế bào và tế bào - chất nền gây nên các tín hiệu bên trong TB, ví dụ các integrin thông qua protein kinase như FAK, ILK và họ tyrosine kinase SRC gây ảnh hưởng tới một số con đường điều hòa tăng trưởng và sự sống sót của TB. Trong các TB biểu mô, việc thiếu thể kèm (attachment) sẽ có xu hướng gây nên *anoikis*-một loại apoptosis đặc biệt. Những biến đổi tín hiệu được coi như là hệ quả của sự biến đổi

kết dính ở các TB sarcoma vì thế mà cần phải được đền bù. Đây có thể là lý do tại sao việc biến đổi sự biểu hiện của SRC thường thấy ở các ung thư.

Điều quan trọng là, khả năng di cư không phải thu được một cách đơn giản là làm mất đi các đặc tính kết dính. Thay vì, sự di cư TB đòi hỏi một mẫu năng động (dynamic) về tiếp xúc kết dính mà về tổng thể có thể phức tạp hơn một TB định cư trong một mô. Một TB đơn di cư qua một mô cần phải có sự kết dính đúng mức với chất nền ngoại bào, tức là đủ khít để kéo chính mình ra khỏi mô, nhưng không phải khít đến mức trở nên mất khả năng giải thoát bản thân. Hơn nữa, nếu muốn đạt được sự di động thực (net) thì phải thiết lập các thể kèm (attachment) ở cạnh dẫn (leading edge) và được tháo gỡ ra ở cạnh sau nhờ sự phân giải proteolytic cục bộ và phải có sự phối hợp với việc co lại của khung TB. Sự hoạt hóa cục bộ của các protease tại các điểm xác định trên bề mặt TB vì thế là điều kiện tiên quyết đối với sự di cư trong mô. Một số TB khối u và TB bình thường cũng được di chuyển theo kiểu amip với ít thể kèm cùng với sự hoạt động kém của actin bộ khung TB.

Trên thực tế, các TB carcinoma thường di chuyển nhiều hơn các dãy hoặc cụm TB hoặc thậm chí mở rộng như một tấm chắn (sheet) TB trong quá trình phát triển phôi. Tuy nhiên, những cách thức di cư này lại đòi hỏi có sự tổ chức lại sự kết dính TB-TB cũng như bộ khung TB so với các TB trong biểu mô tĩnh (resting epithelium). Chẳng ghạn như, chúng có thể đi kèm với những biến đổi isotype của integrin cũng như kiểu hiện diện của cadherin. Một số carcinoma cũng trải qua sự thay đổi hình thái học để có kiểu hình trung mô hơn, được gọi là "*quá trình chuyển đổi trung mô-biểu mô"* (epithelial-mesenchymal transition - **EMT**). Điều này cho phép chúng xâm lấn và di cư với tư cách như là các TB đơn, điển hình là với các ung thư máu và ung thư mô mềm. Tuy nhiên, như một quy luật - sự kết dính TB-TB và TB-chất nền vẫn năng động trong các mô khối u và EMT có thể được đảo ngược.

Quá trình biểu hiện của E-cadherin trong tiến trình phát triển ung thư tuyến tiền liệt đã vẽ lên bức tranh tự nhiên sinh động về những biến đổi trong kết dính tế bào ở các ung thư. E-cadherin được điều hòa xuống trong qua trình xâm lấn của các TB ung thư tuyến tiền liệt vào trong các thành phần mô đệm, nhưng nó được tái biểu hiện trong nhiều di căn. Cách điều tiết sự biểu hiện gen theo phương thức này rõ ràng là qua epigenetic thì đạt hiệu quả cao hơn là qua những biến đổi di truyền. Như vậy, promoter của gen CDH1 mã hóa cho E-cadherin bị cường methyl hóa trong một số carcinoma trong phương thức biến đổi cao liên quan đến sự biểu hiện biến thiên protein này.

Trái lại, các ung thư với mẫu tăng trưởng dạng khuếch tán lại điều hòa xuống các phân tử kết dính TB đặc hiệu một cách không thể đảo ngược. Một lần nữa, E-cadherin được sử dụng như một ví dụ. Ung thư dạ dày dạng khuếch tán được đặc trưng bởi sự

xâm lấn cao của các nhóm nhỏ TB ung thư không biệt hóa gắn kết một cách lỏng lẻo. Trong dạng ung thư này, E-cadherin thường bị bất hoạt do đột biến và đứt đoạn gen. Trên thực tế, các đột biến dòng mầm ở CDH1 đáp ứng cho các trường hợp có tính chất gia đình hiếm hoi của dạng ung thư này.

Những đột biến ở E-cadherin là một trong số ít những thay đổi di truyền làm biến đổi các phân tử kết dính TB trong các tế bào carcinoma. Rất nhiều thay đổi trên bề mặt của các TB khối u (Bảng 10.1) thu nhận được nhờ các cơ chế epigenetic. Chúng bao gồm, sự methyl hóa bất thường của các gen như CDH1 và các gen khác liên quan nhiều hoặc ít tới sự điều hòa xuống một cách mạnh mẽ sự biểu hiện. Trong các trường hợp khác, sự điều hòa lên, biến đổi ghép nối hoặc biến đổi việc xử lý của các protein khung và màng tế bào đã được quan sát thấy. Thường thì những sự thay đổi này trong các TB khối u xâm lấn đã tạo nên một ấn tượng về sự chuyển đổi phối hợp ở gen và sự biểu hiện của protein hướng tới "chương trình xâm lấn" chứ không phải là tích tụ những biến đổi ở các gen cá thể chọn lọc để thu được kiểu hình xâm lấn.

***Bảng 10.1.*** *Một số biến đổi về protein bề mặt tế bào trong các ung thư người*

| **Protein** | **Chức năng** | **Những biến đổi trong ung thư** |
|---|---|---|
| E-cadherin | Kết dính TB cùng loại | Đột biến, điều hòa xuống |
| H-cadherin | Kết dính TB cùng loại | Điều hòa xuống |
| N-cadherin | Kết dính TB cùng loại | Điều hòa lên hoặc xuống |
| CAM(s) | Kết dính TB cùng loại | Điều hòa xuống |
| Connexins | Hình thành khớp trống | Điều hòa xuống |
| Integrins | Kết dính với màng cơ bản và chất nền ngoại bào | Biến đổi mẫu (pattern) |
| KAI1 | Kết dính TB | Điều hòa xuống |
| CD9 | Lọc sạch và trình diện các yếu tố tăng trưởng | Điều hòa xuống |
| CD44 | Đính vào acid hyaluronic, trở về nhà (homing) | Biến đổi kết nối, điều hòa xuống |
| MHC | Tương tác với các TB miễn dịch, trình diện kháng nguyên | Điều hòa xuống |
| MICA, MICB | Đồng receptor (co-receptor) cho các TB giết tự nhiên | Điều hòa xuống |
| FAS | Receptor cho ligand FAS độc TB | Điều hòa xuống dạng màng trans, điều hòa lên dạng hòa tan |
| uPAR | Gắn và kích hoạt protease | Điều hòa lên |
| MMP14 | Protease, hoạt hóa tiền protease | Điều hòa lên |

Tuy nhiên, một số trong vô số những thay đổi trên bề mặt các TB ung thư có thể là quan trọng hơn và có ý nghĩa quyết định đối với xâm lấn và di căn. Đặc biệt là sự điều hòa xuống của các gen đặc hiệu dường như là một đòi hỏi đối với việc di căn ở các khối u xác định, mặc dầu những gen này không hề ảnh hưởng tới sự tăng trưởng của các khối u nguyên phát. Những gen như thế được biểu thị là *"gen kiềm chế di căn"*

(metastasis suppressor gene). Hầu hết các gen này đều mã hóa cho các protein bề mặt TB, nhưng cũng có một số lại là các protein kinase làm nhiệm vụ chuyển tiếp các tín hiệu từ bề mặt, ví dụ như MEKK4.

Chẳng hạn như, KAI1 là một phân tử kết dính TB, được mã hóa bởi một số gen định vị tại nhiễm sắc thể 11p12. Mặc dầu vùng NST này chịu sự mất dị hợp tử (LOH) trong các carcinoma khác nhau nhưng gen này không bao giờ bị đột biến hoặc bị ảnh hưởng bởi cường methyl hóa promoter. Tuy nhiên, sự biểu hiện của KAI1 bị điều hòa xuống ở nhiều carcinoma xâm lấn (aggressive carcinoma).

Một gen khác trong thể loại này là CD9, mã hóa cho một protein màng TB làm nhiệm vụ cô lập các yếu tố tăng trưởng giống EGF. Việc giảm sự biểu hiện CD9 hoặc KAI1 ở các khối u nguyên phát thể hiện khả năng cao về sự hiện diện của di căn.

Trường hợp phức tạp hơn là CD44. Cũng giống như tất cả các protein CD, lần đầu tiên được phát hiện như là một kháng nguyên bề mặt lympho bào, nhưng lại biểu hiện trên nhiều dạng TB khác nhau. Nó nhận dạng và gắn với acid hyaluronic. Trong phương thức này nó có chức năng như là một receptor kết dính điều khiển các lympho bào tới các mô đặc hiệu. Gen CD44 được ghép nối ở một số con đường khác. Như một hệ quả, biến đổi sự biểu hiện ở các carcinoma có thể mang hình thức của việc điều hòa xuống hoàn toàn sự cường methyl hóa promoter hay sự biểu hiện của các biến thể CD44 mà có thể góp phần vào việc "đích" các tế bào di căn.

## 10.3. CÁC GEN VÀ PROTIEN LIÊN QUAN TỚI VIỆC SỬA CHỮA CHẤT NỀN NGOẠI BÀO TRONG QUÁ TRÌNH XÂM LẤM CỦA KHỐI U

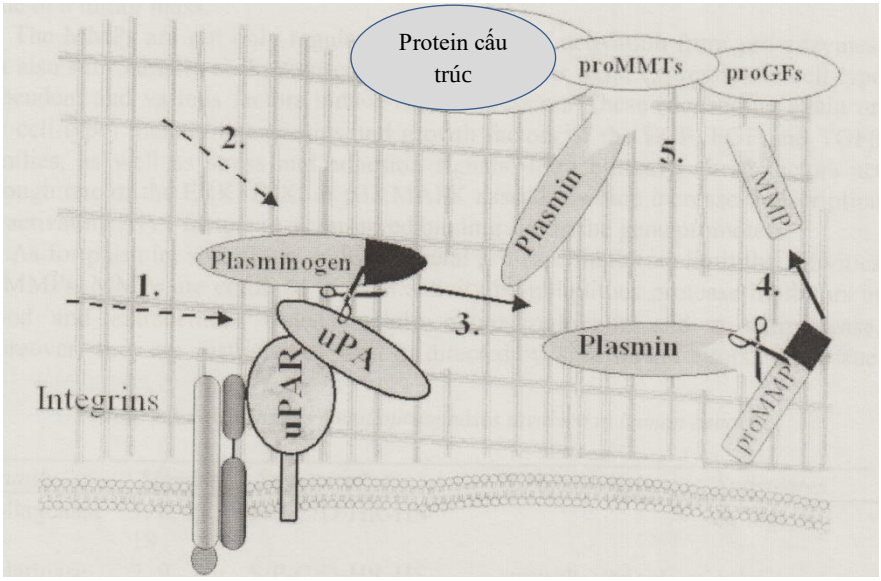
Cấu trúc của chất nền ngoại bào được tạo ra bởi bộ khung các protein sợi và proteoglycan. Chất nền này ở trạng thái động (dynamic). Các protein cấu trúc được tổng hợp bởi các TB nguyên bào sợi và các TB khác gắn vào mô liên kết. Những TB này cùng với các TB của hệ miễn dịch và các TB từ mạch máu đáp ứng cho sự quay vòng của các chất liệu ngoại bào. Sự quay vòng và sửa chữa ECM được tăng cường trong quá trình viêm nhiễm và sửa chữa vết thương, cũng như là trong quá trình xâm lấn khối u. Trên thực tế, về cơ bản các cơ chế và enzyme cùng tham gia vào từng tình huống.

Các enzyme chính trong số nhiều enzyme có liên quan đến việc tu sửa ECM là các protease, trong số này có *thác protease plasminogen activator (PA)* và *mettaloproteinase chất nền ( MMP).* Những protein này phân giải các thành phần của màng cơ bản cũng như các protein và proteoglycan của chất nền ngoại bào mô liên kết. Chúng xử lý các protein và enzyme khác cũng như các yếu tố tăng trưởng và giải phóng ra các yếu tố tăng trưởng "tiềm ẩn" từ các vị trí dự trữ trong chất nền ngoại bào. Những yếu tố tăng trưởng này sau đó lại tác động lên một số dạng TB khác nhau, gây cảm ứng

hoặc ức chế sự tăng sinh hoặc gây nên apoptosis trong một số trường hợp. Trong số các yếu tố được hoạt hóa theo phương thức này có yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi (FGF--fibroblast growth factor), yếu tố tăng trưởng TB gan (HGF - hepatocyte growth factor) và TGFβ. Rõ ràng là, các protein trên bề mặt TB cũng có thể là những cơ chất cho các enzyme.

Kết quả cuối cùng của thác plasminogen actvator (Hình 10.4) là kích hoạt cục bộ plasmin gần bề mặt các TB đặc hiệu. Các tiền thân bất hoạt của plasmin, plasminogen được tổng hợp và tiết ra chủ yếu ở gan và có mặt khắp cơ thể. Nó được phân cắt một cách đặc hiệu thành một protease hoạt hóa nhờ plasminogen activator, viết tắt là uPA (urokinase type plasminogen activator). Hoạt tính của uPA bị hạn chế trên bề mặt TB do sự liên kết của nó với một receptor màng đặc hiệu, uPAR (urokinase receptor). Đến lượt mình, uPAR lại bị hạn chế trên bề mặt TB do sự tương tác với các integrin đặc hiệu. Như vậy, sự biểu hiện phụ thuộc dạng TB của uPAR là một cơ chế điều khiển sự hoạt động của plasmin đối với một vị trí cụ thể. Hoạt tính của plasmin lại bị hạn chế khác do sự liên kết của uPAR với các integrin trên bề mặt tế bào.

Trái lại, sự biểu hiện của chất ức chế plasminogen activator (PAI-1) lại ngăn chặn sự phân cắt của plasminogen và do đó loại trừ được plasmin khỏi môi trường TB mà nó được biểu hiện. Hơn nữa, chất ức chế protein protease α2-antiplasmin lại làm giới hạn hoạt tính của plasmin trong dịch ngoại bào nói chung. Plasmin được biết rõ nhất là nó có khả năng tiêu hóa fibrin, nhưng nó cũng có khả năng tiêu hóa nhiều protein ECM cũng như phân cắt và hoạt hóa các yếu tố tăng trưởng tiềm ẩn, các tiền MMP và tiền uPA.




**Hình 10.4** *Thác plasminogen*

Các bước nối tiếp của thác (1…5) dẫn đến hạn chế sự kích hoạt plasmin và mettaloproteinase chất nền.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Rất nhiều chất có thể được tiêu hóa bởi mettaloproteinase chất nền (MMP). Có ít nhất 23 thành viên họ MMP ở người (Bảng 10.2). Chúng có thể phân giải mọi protein trong chất nền ngoại bào, mặc dầu mỗi MMP thể hiện sự ưu tiên với những cơ chất xác định. A11 MMP có cấu trúc cơ bản tương tự như ion $Zn^{2+}$ cần cho hoạt tính xúc tác. Theo đó, các hợp chất phức $Zn^{2+}$ như hydroxycarbamate hoặc tetracycline đều là các chất ức chế mặc dầu nó thường không đặc hiệu cho một thành viên của họ. Nhiều chất ức chế đã được thiết lập và đã được thử nghiệm lâm sàng.

Như thường lệ với protease, các MMP được tổng hợp với tư cách là các tiền protease (zymogen), và vì thế mà hầu hết chúng đều là các thể tiết, khởi đầu là một peptide tín hiệu. Các MMP dạng màng khác với tất cả các thành viên khác ở chỗ nó có chứa một domain vận chuyển màng tại đầu cuối C của chúng. Vì lý do này mà chúng được định vị ở bề mặt tế bào. Vì các tiền MMP, mà chủ yếu là MMP-2 là một trong những cơ chất của chúng cũng góp phần vào việc định vị một cách chính xác hoạt tính động protease, vì thế đòi hỏi phải ở dìa các TB di cư hoặc ở nón tăng trưởng của khối u.

Các MMP chẳng những điều hòa các mức hoạt hóa đối với tiền enzyme mà còn điều hòa một cách đáng kể ở mức sao chép. Sự biểu hiện của chúng về cơ bản phụ thuộc dạng TB và có nhiều yếu tố cảm ứng sự biểu hiện của chúng, bao gồm các interleukin và các yếu tố tăng trưởng: EGF, FGF và họ TGFβ cũng như các stress và các tín hiệu kết dính. Về mặt nội bào, những yếu tố này tác động thông qua ERK, JNK hoặc thác p38 MAPK làm tăng sự sao chép do việc kích hoạt các yếu tố AP-1 ở một vị trí gắn bảo tồn trong các promoter của gen.

Đối với các chất ức chế protease nói chung, đặc biệt là plasmin đã làm hạn chế sự tác động của các MMP. Các MMP bị hạn chế hoạt tính cục bộ bởi các chất ức chế protease phổ biến trong máu và các dịch ngoại bào, chủ yếu là α2-macroglobulin và α1 –antiprotease. Tuy nhiên, chúng bị giới hạn cũng như bị điều khiển bởi các chất ức chế đặc hiệu, các chất ức chế mô của mettaloproteinase (TIMP). Có 4 thành viên thuộc họ này từ TIMP-1 đến TIMP-4. Chúng gắn với vị trí liên kết cơ chất của các MMP, nhưng có thể không bị phân cắt bởi trung tâm xúc tác của chúng. TIMP cũng ngăn chặn sự kích hoạt các tiền MMP. Các chất ức chế TIMP được sản xuất từ nhiều dạng TB hơn so với các protease và ít nhất là TIMP-2 thường được biểu hiện. Tuy nhiên, sự biểu hiện của hầu hết các TIMP được điều hòa bổ sung ở mức sao chép. Nói chung, đều liên quan đến các yếu tố cảm ứng MMP, nhưng các cytokine bổ sung như TNFα cũng như glucocorticoid và retinoid hoạt động ít nhất trong việc điều hòa TIMP-1.

Sự hoạt động của các MMP trong mô phụ thuộc một cách tương đối vào mức MMP và TIMP vì 2 lý do: (1) TIMP gây nên một số hiệu ứng (chưa chắc chắn) lên các TB ngoài việc ức chế các MMP. Điều đặc biệt là TIPM-3, dường như nó tác động với tư cách là một yếu tố tiền apoptosis. Nó được điều hòa xuống một cách phù hợp trong

nhiều TB khối u, thường là do cường methyl hóa promoter. (2) Như một quy luật, ngoại lệ vẫn có những sự đối lập giữa TIMP và MMP. Một trong số đó đã được xác định rõ là TIMP-2 là đồng yếu tố (cofactor) trong việc kích hoạt MMP2 bởi các MMP dạng màng. Ví dụ này đã vẽ được bức tranh về vai trò của các TIMP trong việc tu sửa mô một cách sinh lý học. MMP được sản xuất từ các dạng TB đặc hiệu, nhưng với TIMP thì hầu hết bởi các TB khác. Điều đó có nghĩa là, hoạt tính của MMP bị giới hạn tại các vị trí đặc hiệu bên trong các TB mô lân cận thực hiện việc tu sửa, trong khi đó thì các TB khác vẫn được bảo vệ (Hình 10.5). Trên thực tế, ngay cả sự hoạt động của MMP xung quanh các TB đang được tu sửa tích cực cũng có thể không được phân bổ một cách đồng nhất, đặc biệt rõ ràng là trong quá trình di cư của tế bào.

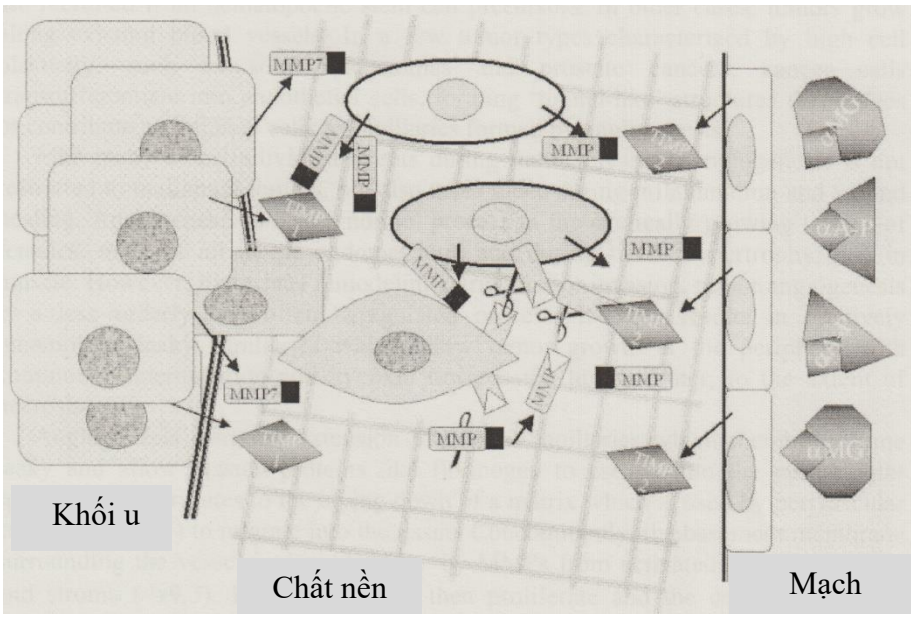
***Bảng 10.2.*** *Một số mettaloproteinase có liên quan trong các ung thư người*

| **Họ** | **Thành viên** | **Cấu trúc** | **Đặc tính** | **Cơ chất** |
|---|---|---|---|---|
| Collagenase | 1,8,13,18 | S/P-C/D-HR-HS | Domain xúc tác khác biệt với các collagenase trong tiền domain. | Collagen, gelatin, laminin, các protein khác, proteoglycan, tiền MMP, các chất ức chế protease |
| Gelatinase | 2,9 | S/P-C/D-HR-HS | | |
| Stromelysin | 3,19,11,12 | S/P-C/D-HR-HS | | |
| Dạng màng | 14,15,16,17 | S/P-C/D-HR-HS-TM | Domain HS không liên kết màng | Tiền MMP, collagen, gelatin, fibronectin |
| Matrilysin | 7 | S/P-C/D-HR | | |

Những sự biến đổi trong biểu hiện protease và các chất ức chế protease xảy ra trong quá trình xâm lấn của khối u phải được xem xét trên nền tảng này. Trong nhiều ung thư người, sự biểu hiện và hoạt tính của protease tăng lên trong quá trình tiến triển và xâm lấn của khối u. Điển hình là mức mRNA và protein của một số protease được nâng lên, ví dụ MMP-2, MMP-7, MMP-9 và MMP-11 cũng như uPA. Trái lại, TIMP lại có xu hướng điều hòa xuống, nhất quán nhất là TIMP-3. Tăng biểu hiện của MMP và uPA/plasmin hầu hết đều liên quan đến một kết quả sấu về lâm sàng, ví dụ như các khối u nguyên phát có gia tăng những biểu hiện thì có nhiều khả năng là đã di căn.

Mối quan hệ giữa sự biểu hiện của TIMP và cách ứng xử của khối u là không nhất quán. Trong khi thường thấy có sự điều hòa xuống của TIMP-3 ở nhiều ung thư xâm lấn thì việc giảm biểu hiện các chất ức chế khác không phải lúc nào cũng là tiên đoán của một liệu trình lâm sàng rõ nét và trong một số ung thư thì mối quan hệ này là trái ngược. Chẳng hạn như, tăng biểu hiện TIMP-1 có thể biểu thị cho tiên lượng xấu trong ung thư vú. Việc giải thích cho nghịch lý này có thể nằm trong một câu hỏi, đó là sự biểu hiện của protease hay chất ức chế chính xác là ở đâu. Trong nhiều carcinoma, tăng biểu hiện MMP phát hiện thấy ở phần mô đệm của khối u. Đôi khi các TB khối u phần lớn không có sự bắt màu với mRNA và protein của MMP, thường chỉ biểu hiện MMP-7, các TB

đệm, nguyên bào sợi và đặc biệt là sự xâm nhập của đại thực bào và tế bào đơn nhân, biểu hiện đầy đủ các protease hoạt hóa. Trong trường hợp này có thể hình dung là sự biểu hiện của TIMP có thể bảo vệ một cách thực sự các tế bào carcinoma. Kiểu phân phối này của sự biểu hiện protease giữa các tế bào carcinoma và TB đệm, dường như rõ ràng nhất là trong adenocarcinoma và các ung thư khác phát sinh từ các cấu trúc giống như hạch. Trong khi đó các carcinoma khác, ví dụ từ biểu mô vảy thì biểu hiện với phạm vi rộng chính các MMP.




**Hình 10.5** *Các cơ chế làm giảm sự hoạt động của MMP.*

Một số tế bào của khối u (bên trái) xâm lấn mô liên kết (giữa) trải qua sự chyển tiếp trung mô-biểu mô (tế bào hình con suốt ở chính giữa). Các tế bào ung thư trong trường hợp này tiết ra MMP-7 cũng như TIMP-1. Các tế bào nội mô (phải) tiết ra TIMP-2 đủ để trung hòa các MMP được tiết ra bởi các tế bào đệm. Những chất này chỉ kích hoạt xung quanh dìa chính của tế bào ung thư di cư nhờ MMP dạng màng. Trong một số mạch (phía bên phải) α-macroglobulin và α-antiprotease làm bất hoạt bất kỳ MMP nào đến được dòng máu.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Do đó, sự tu sửa mô trong quá trình xâm lấn của u khác xa với các sự việc có tính chất một chiều và trong hầu hết các trường hợp nó đòi hỏi phải có sự góp phần tích cực của chất nền khối u. Điều này phần nào giải thích được tại sao "chữ ký" sự biểu hiện "chất nền kích hoạt" trong các nghiên cứu về số liệu biểu hiện lại tương quan với sự hiện diện của di căn.

## 10.4. SỰ TẠO MẠCH

Khi khối u đã vượt quá kích cỡ tối thiểu thì các chất dinh dưỡng như glucose và amino acid cũng như oxy có thể không còn tới được chính giữa khối u bằng khuếch tán. Trái lại, các sản phẩm cuối của sự chuyển hóa như lactate, $NH_4$ và bicarbonate không

thể khuếch tán ra ngoài một cách dễ dàng. Trên thực tế, kích cỡ tối thiểu này có thể không quá vài lớp tế bào với đường kính khoảng 70μm. Khi vượt quá kích cỡ này thì các khối u cũng như các di căn phải nằm im, tan rã hoặc đòi hỏi phải có thêm mạch máu. Trong quá trình tiến triển của nhiều khối u, việc phát triển mạch máu cung ứng là một bước quan trọng và được biểu thị như là *"sự chuyển đổi tạo mạch*" (angiogenic witch). Trong các khối u tiên phát, sự chuyển đổi này thường xảy ra trong quá trình xâm lấn hoặc trước khi xâm lấn. Trong các di căn thì nó thường là dấu hiệu của quá trình chuyển đổi từ di căn thành các khối u tăng trưởng tích cực.

Hầu hết các khối u đều phát triển mạch máu nhờ sự tạo mạch (angiogenesis), nghĩa là đâm chồi và tăng sinh mao mạch. Trong một số trường hợp, sự tạo mạch được bổ sung bằng việc nảy sinh các mạch nhỏ, sự hình thành de- novo các mạch từ nguyên bào tạo máu (hemangioblast) được chiêu mộ từ các tiền thân tế bào gốc. Trong các trường hợp khác, các khối u tăng trưởng cùng mạch máu. Ở số ít dạng khối u được đặc trưng bởi tính mềm dẻo tế bào cao, như một số melanoma và ung thư tuyến tiền liệt, các TB ung thư biệt hóa trans (transdifferentiated) thành các TB nội mô, hình thành các cấu trúc "giống hình ống" hoặc góp phần hình thành mao mạch trong các tế bào nội mô với sự tạo mạch.

Giống như các sự kiện cá thể trong quá trình xâm lấn của khối u, sự tạo mạch không bị giới hạn đối với các khối u ác tính, nhưng nó cũng xảy ra trong quá trình viêm nhiễm và làm lành vết thương. Sự tạo mạch cũng là một quá trình bình thường ở các mô tăng trưởng theo chu kỳ của phụ nữ, hầu hết đều ở nội mạc tử cung cũng như trong sự phì đại mô, ví dụ như ở các cơ. Tuy nhiên, cũng giống như sự tu sửa mô trong quá trình xâm lấn của khối u, sự tạo mạch khối u kém trật tự và thường là một quá trình mất điều hòa. Nó thường dẫn đến kết cục không trọn vẹn, các mao mạch bị rò rỉ cho phép tăng trưởng khối u ở ngoại vi, cùng với việc tiếp tục bị thiếu dinh dưỡng và thiếu oxy ở trung tâm khối u rồi lại dẫn đến hoại tử.

Quá trình tạo mạch bắt đầu bằng việc kéo dài thêm các mao mạch bình thường do vậy mà trở nên rò rỉ và cho phép các protein huyết tương như fibrinogen chảy vào không gian quanh mạch. Điều này góp phần làm giảm một lượng chất nền được sử dụng bởi các TB quanh mạch (pericyte) để di chuyển vào mô. Đồng thời màng cơ bản quanh mạch bị phân giải bởi các MMP từ các TB biểu mô kích hoạt và chất nền. Các TB biểu mô sau đó tăng sinh và các mao mạch phân nhánh kéo dài vào mô lân cận hoặc vào các khối u. Trong khi tăng sinh của các TB nội mô là thoáng qua trong quá trình tạo mạch bình thường thì trong sự tạo mạch khối u lại luôn được thường trực. Tuy nhiên, trong quá trình tạo mạch bình thường thì các mao mạch mới được tạo ra cuối cùng sẽ được bao phủ bởi các TB quanh mạch (pericyte) và màng cơ bản của mạch, nhưng trong quá

trình tạo mạch khối u thì giai đoạn này thường không được hoàn tất. Những mao mạch khối u cũng lộ ra những hình thù bất thường cùng những định hướng bất thường.

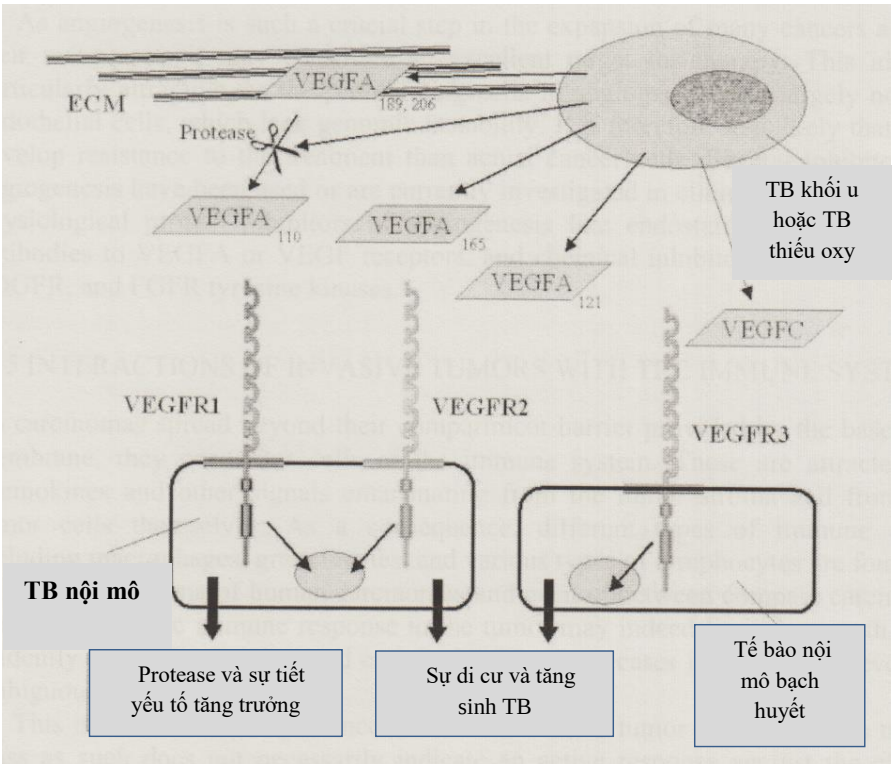
Sự tăng trưởng, hình dạng và chức năng của các mao mạch khối u là bất thường so với các mao mạch bình thường, có khả năng là hệ quả của những khác biệt giữa sinh mạch khối u và sinh mạch bình thường - đó là sự điều tiết. Sự điều hòa tạo mạch đạt được là nhờ một mạng lưới các yếu tố, một số trong đó là tiền tạo mạch và một số là kháng tạo mạch (Bảng 10.3). Sự tác động tương hỗ giữa chúng thường được mô tả là cân bằng, trong đó cũng có yếu tố này hay yếu tố khác nghiêng về phía kháng tạo mạch. Tuy nhiên, cần phải coi sự tạo mạch (giống như sự di cư của TB) là một quá trình xảy ra theo thứ tự. Để có được sự tạo mạch đặc thù thì những yếu tố này phải tác động với phương thức trật tự. Do đó cả sự cân bằng tổng thể và cân bằng cục bộ đều liên quan đến nhau. Một số yếu tố tiền tạo mạch và kháng tạo mạch được sản xuất theo phương thức cục bộ. Chẳng hạn như trong số các yếu tố tiền tạo mạch là các FGF, ví dụ bFGF (FGF2) được lắng đọng ở ECM và được giải phóng bởi các protease như MMP-2 và plasmin. Ngược lại, một số sản phẩm bị phá vỡ của collagen chất nền lại được tạo ra bởi các MMP và các protease khác như endostatin và arrestin đều là các chất ức chế tiềm năng với sự tạo mạch và làm giới hạn mức độ của nó trong hoàn cảnh bình thường. Sự rối loạn tổ chức học của mô khối u và chất nền khối u vì thế có thể lại kiến tạo ra một yếu tố gây rối loạn ở các mao mạch khối u.

Khác biệt thứ hai giữa sự tạo mạch khối u và tạo mạch bình thường liên quan đến các yếu tố tăng trưởng. Mặc dù vậy, hầu hết các khối u không tạo ra được kiểu "cân bằng" tương tự đối với các yếu tố tăng trưởng để kích thích sự tạo mạch như thường thấy ở các mô bình thường. Các khối u tiết ra rất nhiều loại FGF, các yếu tố giống FGF và PDGF cũng như angiopicrins ANG-1 và ANG-2 và các cytokine như IL8 kích thích sự mọc chồi mao mạch và tăng sinh TB nội mô hoặc kích thích việc sản xuất (tổng hợp và giải phóng) các yếu tố như thế từ các TB đệm. Đặc biệt là các TB gây viêm lại tiết ra các prostaglandin thúc đẩy sự tạo mạch. Điều này liên quan tới việc gia tăng enzyme sinh tổng hợp prostaglandin là cyclooxygenase 2 (COX2).

Tuy nhiên, yếu tố chính biểu lộ sự tạo mạch trong khối u là yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu (VEGF -vascular endothelial growth factor), nó biểu hiện quá mức trong nhiều ung thư người (Hình 10.6). Do vậy, trong nhiều ung thư, yếu tố tăng trưởng tạo mạch "cocktail" thiên về VEGF và các yếu tố khác như FGF1 và FGF2. Trong thực tế, có một số gen VEGF liên quan (từ VEGFA đến VEGFD). Protein VEGFC và VEGFD có lẽ là đáp ứng chính cho việc cảm ứng sự hình thành các mạch bạch huyết (lymphangiogenesis) bởi các khối u. Gen VEGFA tổng hợp nên một số protein khác nhau từ các mRNA ghép nối khác. Protein VEGFA làm tăng tính thấm của mao mạch và tăng sinh TB nội mô chủ yếu thông qua receptor tyrosine kinase VEGFR2 được biểu

hiện bởi các TB nội mô. Một số TB khối u cũng biểu hiện VEGFR1 hoặc VEGFR2, như vậy các VEGF có thể tác động bổ trợ như là các yếu tố tự tiết.

Tăng biểu hiện VEGFA trong các khối u có thể là hệ quả của một số sự kiện di truyền hay epigenetic. Một số gen ung thư cũng kích hoạt như họ RAS cảm ứng biểu hiện VEGF. Trái lại, TP53 điều hòa xuống VEGFA và một số yếu tố tiền tạo mạch khác, ít nhất là trong một số hoàn cảnh, đồng thời cũng làm tăng sự biểu hiện của các yếu tố kháng tạo mạch. Trong số các gen được cảm ứng thường xuyên bởi TP53 là TSP1 mã hóa cho thrombospondin 1- một trong số các chất ức chế tạo mạch tiềm năng nhất. Như vậy, một số thay đổi thích hợp nhất trong ung thư người như các đột biến RAS và mất chức năng TP53 có lẽ sẽ làm tăng biểu hiện VEGFA cũng như sự tạo mạch.




**Hình 10.6** *VEGF và các receptor của nó*

Các dạng khác nhau của VEGFA (đặt tên theo số của amino acid) được tổng hợp (phiên dịch) từ các mRNA ghép nối khác biệt được tiết ra bởi các tế bào bình thường thiếu oxy hoặc bởi các tế bào khối u. Chúng gắn với heparin và các thành phần khác của chất nền ngoại bào (ECM) với các mức độ khác nhau và có thể được xử lý rồi giải phóng ra bởi các protease, ví dụ như plasmin. Tất cả các dạng VEGFA cũng như VEGFB đều gắn với receptor VEGFR1 và VEGFR2, biểu hiện nổi trội trên các tế bào nội mô. Lưu ý rằng, sự kích hoạt của VEGFR1 hoặc VEGFR2 gây nên các hệ quả khác nhau. VEGFR3 biểu hiện chủ yếu trên các tế bào nội mô bạch huyết (lymphendothelial) và được kích hoạt bởi VEGFC hoặc VEGFD. Tất cả VEGFR đều tương tự nhau về cấu trúc với 7 domain lặp giống immunoglobulin ngoại bào và domain tyrosine kinase phân chia (split) nội bào.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

***Bảng 10.3.*** *Một số yếu tố kháng tạo mạch và tiền tạo mạch quan trọng*

| Tiền tạo mach | Kháng tạo mạch |
|---|---|
| VEGFA, VEGFB-D | Thrombospondin (TSP1) |
| PDGF | Angiostatin (đoạn plasminogen) |
| FGF, đặc biệt là FGF2 và FGF1 | Arrestin (đoạn collagen IV) |
| Angiopoetin ANG1, ANG2 | Canstatin (đoạn collagen IV) |
| IL8 | Endostatin (đoạn collagen XVIII), Tumstatin (đoạn collagen IV) |

Trong các TB bình thường, sự biểu hiện VEGFA được kiểm soát bởi áp xuất riêng phần của oxy. Thiếu oxy sẽ dẫn đến tăng tính bất ổn định của các yếu tố hoạt hóa sao chép đặc hiệu, cảm ứng các yếu tố HIF. Sự tích tụ yếu tố HIF1α hoặc HIF2α (phụ thuộc vào dạng tế bào) kết hợp cùng với cofactor, ARNT (HIFβ) làm hoạt hóa sự sao chép một bộ (set) gen có chứa các yếu tố gắn đặc hiệu trong các promoter cơ sở của chúng. Một trong số những gen chịu trách nhiệm chủ chốt là VEGFA. Sự kích hoạt cấu thành các yếu tố HIF do các khiếm khuyết di truyền trong việc điều tiết của chúng là nguyên nhân gây nên bệnh Von-Hippel-Lindau mở đường tới carcinoma tế bào thận và các khối u kém ác tính khác. Tuy nhiên, ở nhiều ung thư khác, hoạt tính HIF cũng tăng cao, đặc biệt là hậu quả của sự thiếu oxy và VEGFA bị cảm ứng.

Vì tạo mạch là một bước quan trọng trong việc mở rộng của nhiều khối u và di căn nên nó có thể được thiết lập như là một đích trị liệu tuyệt vời. Một số chất ức chế sự tạo mạch đã được sử dụng hoặc đang được đánh giá trong các thử nghiệm lâm sàng, bao gồm các protein ức chế sự tạo mạch một cách sinh lý như endostatin và angiostatin, các kháng thể với VEGFA hoặc các receptor VEG cũng như các chất ức chế hóa học của VEGFR, PDGFR và FGFR tyrosine kinase.

## 10.5. SỰ TƯƠNG TÁC CỦA KHỐI U XÂM LẤN VỚI HỆ MIỄN DỊCH

Khi các carcinoma mở rộng vượt quá giới hạn cấu thành của chúng thì sẽ đụng độ với các TB của hệ miễn dịch. Những TB này được thu hút bởi các chymokine và các tín hiệu khác phát ra từ chất nền khối u cũng như từ chính các TB khối u. Như một quy luật, các dạng TB miễn dịch khác nhau bao gồm đại thực bào, bạch cầu hạt và nhiều dạng lympho bào khác đã phát hiện thấy có trong chất nền kích hoạt của carcinoma người và thậm chí ngay tại giữa các khối carcinoma nhỏ. Thực sự thì khi có đáp ứng miễn dịch với khối u có thể sẽ làm giới hạn sự tăng trưởng của nó, điều đó rất rõ ràng trong các ung thư tiến triển, tuy nhiên trong một số trường hợp thì vẫn chưa rõ ràng. Vấn đề này sở dĩ như vậy vì sự hiện diện của các TB miễn dịch trong chất nền khối u cũng như trong khối u như thế chưa chắc đã là dấu hiệu của một đáp ứng tích cực kháng

lại các TB ung thư, mặc dù đã có bằng chứng rõ ràng là các đáp ứng miễn dịch kháng lại ung thư vẫn được khởi xướng thường xuyên. Ở các bệnh nhân ung thư thì các tế bào lympho B cũng như lympho T thường được phát hiện kháng lại trực tiếp các kháng nguyên trình diện trên các TB khối u. Chẳng hạn như nhiều bệnh nhân ung thư giai đoạn tiến triển đều có mang các kháng thể kháng lại protein TP53 đột biến. Hơn nữa, các tế bào T gây độc tế bào (CTL) và các TB giết tự nhiên (NK) được phân lập ra từ các bệnh nhân giết đặc hiệu các TB khối u *in vitro*.

Người ta thường giả định rằng, đáp ứng miễn dịch tế bào thường trái ngược với đáp ứng thể dịch và nó rất cần thiết cho việc loại bỏ khối u. Việc giết các TB khối u có thể được thực hiện bởi các tế bào T gây độc TB kháng lại trực tiếp các kháng nguyên được trình diện bởi hệ thống hòa hợp mô chính (MHC) và chúng cũng nhận dạng được các phân tử đồng kích thích (co-stimulary molecule) trên mặt TB khối u. Ngược lại, các TB không biểu hiện MHC hoặc được đánh dấu bởi các kháng thể là các đích cho các tế bào NK. Tuy nhiên, *in vivo* thì các TB gây độc TB này thường không thành công trong việc loại trừ các TB ung thư (Bảng 10.4).

❑ ***Khả năng tiếp cận***

Các khối u nhỏ có thể sẽ không tiếp cận tốt với các TB miễn dịch. Trong vấn đề này thì sự thiếu thốn về hệ thống mạch máu có thể làm lợi cho ung thư. Như trong các ung thư giàu chất nền thì chất nền có thể sản sinh ra một lớp đệm kháng lại các đáp ứng miễn dịch.

❑ ***Sự trình diện bởi các tế bào khối u***

Các tế bào khối u có thể điều hòa xuống các protein cần thiết cho việc xử lý và trình diện các peptide kháng nguyên, ví dụ như các protein proteasome, TAP transporter và thường nhất là các MHC của nó.

❑ ***Sự hoạt hóa các tế bào T***

Đây có thể là một trong những cơ chế phổ biến nhất, vì nhiều TB khối u bao gồm các TB khối u và TB đệm tiết ra các cytokine làm hạn chế hoạt tính của các tế bào T gây độc TB. Trái lại, các cytokine kích hoạt các tế bào T như IL2 có thể bị suy giảm hoặc bị cô lập trong môi trường khối u. Nhiều carcinoma tiến triển, mất đáp ứng với TGFβ, nhưng lại tiết ra một lượng lớn các yếu tố được giải phóng từ chất nền ngoại bào và được xử lý theo hướng hoạt hóa nhờ các protease trong chất nền kích hoạt. TGFβ kích thích sự tăng sinh của các TB đệm và sản xuất ra các protein chất nền, đồng thời cũng ức chế việc hoạt hóa và tăng sinh các tế bào T. Điều này góp phần vào đặc tính ‘‘mất sinh lực’’ (anergy) của các tế bào T được phân lập từ các khối u thực thụ.

❑ ***Sự nhận dạng các tế bào ung thư***

Điều hòa xuống sự biểu hiện của MHC ở bề mặt TB khối u sẽ làm yếu đi sự nhận dạng bởi các tế bào T gây độc TB. Các TB có sự điều hòa xuống MHC sẽ là những mục tiêu ưa thích cho các tế bào NK, nhưng các tế bào khối u cũng có thể sẽ điều hòa xuống các receptor dành cho các tế bào NK như MICA và MICB, trong khi đó vẫn tiếp tục duy trì các receptor KIR ức chế.

❑ ***Hiệu lực giết tế bào***

Các TB ung thư trở nên kháng các cơ chế giết bởi các tế bào T, thường là một số kiểu apoptosis. Chẳng hạn như, nhiều TB khối u điều hòa xuống receptor chết FAS (CD95) được kích hoạt bởi ligand FAS biểu hiện trên bề mặt các tế bào T gây độc TB hoặc thể hiện một dạng hòa tan làm lạc hướng các TB miễn dịch. Sự khiếm khuyết của post-receptor cũng giống như sự biểu hiện quá mức FLIP hoặc các đột biến của caspase 8 có thể cũng góp phần làm cho các con đường kháng apoptosis và NFκB hoạt động mạnh hơn.

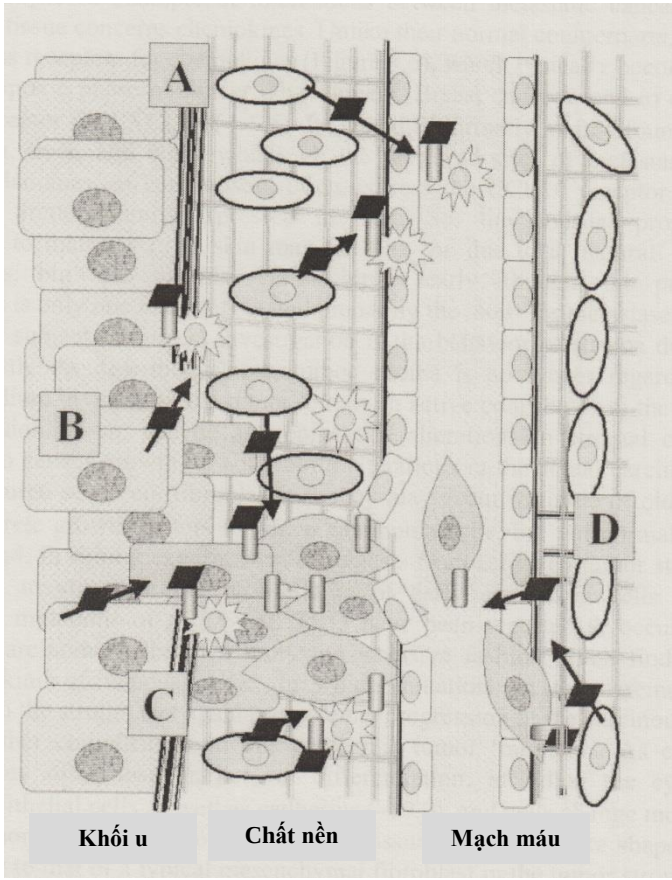
***Bảng 10.4.*** *Các cơ chế làm giới hạn đáp ứng miễn dịch đối với ung thư*

| |
|---|
| Khả năng tiếp xúc của các khối u với các tế bào hiệu ứng miễn dịch |
| Trình diện kháng nguyên và tiết cytokine bởi các tế bào trình diện kháng nguyên |
| Trình diện kháng nguyên bởi các tế bào khối u |
| Mất năng lượng (anergy) của các tế bào T gây độc tế bào |
| Tái tổ hợp của các tế bào khối u |
| Hiệu ứng giết tế bào |
| Sự tấn công của khối u kháng lại các tế bào miễn dịch |

❑ ***Sự tấn công lại***

Các TB khối u không những góp phần vào việc làm mất sinh lực (anergy) của các tế bào T mà còn hủy hoại chúng một cách tích cực. Ví dụ, chính một số TB ung thư lại tiết ra ligand FAS/CD95 và tấn công lại các TB miễn dịch.

Khi đáp ứng miễn dịch hướng về các TB khối u thực sự thường bị mài mòn bởi cơ chế này hay khác thì sự hiện diện của các TB miễn dịch trong khối u và chất nền của nó lại góp phần đáng kể vào việc hủy hoại mô. Ví dụ, các protease được tiết ra từ đại thực bào và bạch cầu hạt làm phân hủy chất nền ngoại bào, các cytokine tiết ra từ các TB miễn dịch kích thích sự tăng sinh các TB khối u và TB đệm cũng như việc tạo mạch, và các mẫu oxy phản ứng được tạo ra bởi đại thực bào có thể góp phần gây đột biến gen. Enzyme COX2 có lẽ giữ vai trò kép trong vấn đề này do sản sinh ra đồng thời các prostaglandin và oxy phản ứng.




**Hình 10.7** *Các chức năng của chemokine và receptor chemokine trong các ung thư người.*

A: Như là hệ quả của sự viêm nhiễm hoặc biến đổi bởi các tế bào khối u (hình chữ nhật bên trái), các tế bào đệm (hình trái xoan) tiết ra các chemokine (hình thoi đen) lôi cuốn các tế bào miễn dịch (được minh họa giống như đại thực bào) biểu hiện các receptor chemokine thích hợp (cylinder).

B: Các tế bào khối u tiết ra các chemokine kích thích các tế bào miễn dịch góp phần vào việc phân giải màng cơ bản và tu sửa lại chất nền ngoại bào.

C: Chính các tế bào khối u lại bắt đầu biểu hiện receptor cho các chemokine cho phép chúng phản ứng với các đầu mối từ các tế bào chất đệm và kích thích sự di cư của chúng.

D: Tại một vị trí xa hơn, các tế bào khối u biểu hiện receptor chemokine được lôi cuốn bởi các chemokine và thoát mạch để hình thành các di căn.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Đáp ứng miễn dịch hướng tới khối u được thông qua bởi một số tín hiệu. Trong đó, quan trọng hơn cả là các chemokine (Hình 10.7). Chemokine là các peptide 8-20 kDa, có tới >50 loại ở người. Chúng được sản xuất ra từ các đại thực bào và bạch cầu hạt kích hoạt nhằm lôi kéo các TB miễn dịch khác tới vị trí thâm nhiễm hoặc tới những chỗ bị hủy hoại khác của mô. Vì thế, chẳng có gì ngạc nhiên là các chemokine lại được sản xuất và tiết ra bởi các TB đệm trong nhiều ung thư. Điều ngạc nhiên hơn được nghĩ

đến trước tiên là chính các TB ung thư cũng thường sản xuất ra các chemokine, ví dụ như CXCL12. Chemokine này hoạt hóa một receptor đặc hiệu là CXCR4 trên mặt các TB miễn dịch cũng như các tiền thân tạo máu và tiền thân nội mô. Receptor này cũng biểu hiện trên một số TB ung thư. Như vậy, việc sản xuất CXCL12 có thể có một số hệ quả, tạo điều kiện cho sự tăng trưởng của ung thư. (1) Thu hút các TB miễn dịch có thể dẫn đến hủy hoại mô và tạo điều kiện cho xâm lấn và di căn. (2) Yếu tố này thúc đẩy tăng trưởng và sự sống sót của các TB ung thư biểu hiện receptor CXCR4. (3) CXCL12 có thể thúc đẩy việc chiêu mộ các TB tiền thân sinh mạch. (4) Việc hoạt hóa CXCR4 dẫn đến tăng sản xuất TNFα, mà chính nó lại có thể ức chế nhiều hiệu ứng khác. Do vậy, cũng giống như các quá trình sinh lý học bình thường, có thể là sự đồng lựa chọn (coopted) trong quá trình xâm lấn của khối u. Các đáp ứng miễn dịch với các TB khối u thường bị bóp méo và dường như là thường chuyển hướng sang thúc đẩy mở rộng ung thư thay vì hủy hoại nó.

## 10.6. TẦM QUAN TRỌNG CỦA TƯƠNG TÁC KHỐI U - CHẤT NỀN

Trong liệu trình xâm lấn của ung thư, một số dạng TB bình thường như nguyên bào sợi, TB nội mô, và các TB miễn dịch đều bị ảnh hưởng bởi các TB ung thư, đồng thời cũng góp phần làm tăng trưởng và mở rộng khối u. Hiện nay người ta cho rằng, trong nhiều trường hợp việc kích hoạt chất nền đã làm hạn chế tỷ lệ xâm lấn của khối u.

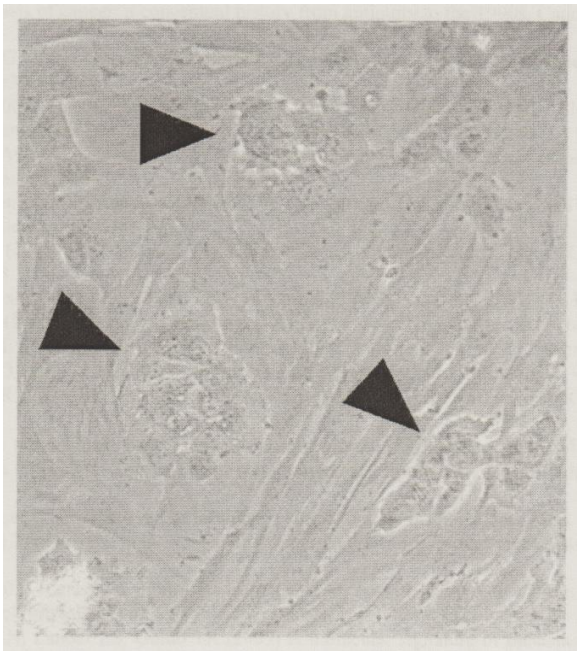
Những tương tác tương tự có thể được lặp lại trong quá trình di căn. Tuy nhiên, có một khác biệt là trong quá trình xâm lấn thì các TB ung thư lại tương tác với các TB cùng loại với tư cách là các đối tác bình thường. Vì thế, sự tương tác giữa khối u và chất nền địa phương (cục bộ) có thể giống sự tương tác trong quá trình cân bằng nội mô của các mô bình thường và đặc biệt là những sự tương tác trong quá trình sửa chữa vết thương, mặc dù chúng đã bị mất kiểm soát và bị bóp méo. Tuy nhiên, trong quá trình di căn thì các TB ung thư lại phải đi vào một môi trường mới. Để mở rộng thành các khối u thứ cấp thì chúng cần phải kích hoạt môi trường mới này, ví dụ phải cung cấp thêm chất dinh dưỡng và các yếu tố tăng trưởng. Khả năng đạt được sự tương tác này phụ thuộc cả vào các TB ung thư cũng như môi trường mới của chúng. Những sự tương tác như thế có thể xác định được những vị trí di căn hơn là mối liên quan về giải phẫu học.

Chẳng hạn như, các ung thư của động vật có vú cũng như ung thư tuyến tiền liệt có xu hướng di căn tới xương hình như là được xác định bởi khả năng thiết lập các tương tác cận tiết (paracrine) với các TB tủy xương hoặc nguyên bào tủy xương ở mô này. Cũng giống như nhiều khía cạnh khác của di căn, mối quan hệ chuẩn xác thì vẫn chưa hiểu rõ và vẫn là chủ đề cho các khảo sát đương thời. Hầu hết các nghiên cứu đều dựa trên giả thuyết là di căn được xác định bởi sự tương tác cân xứng giữa các TB khối

u và mô đích. Vấn đề này hiện nay vẫn là phiên bản của giả thuyết "giống và đất" (seed –and-soil) được Paget đưa ra từ thế kỷ 19.

Một ví dụ bất ngờ về các tương tác giữa các TB ung thư di căn và mô đích của chúng là có liên quan đến các chemokine. Tuy nhiên, không chắc chắn là các đối tác bình thường của chúng, các tế bào carcinoma biểu hiện các receptor cho các chemokine (Hình 10.6) có trở nên cảm ứng một cách đặc biệt trong phase phát triển ung thư khi thiếu oxy hay không. Các ung thư vú có xu hướng biểu hiện receptor CXCR4 cho CXCL12. Ligand của nó thường phát hiện thấy ở các hạch bạch huyết, phổi, gan và xương - đó là các vị trí ưa thích cho sự di căn của ung thư này. Khi so sánh với melanoma thì nó thường biểu hiện receptor CCR10. Các ligand CCL27 biểu hiện nổi trội ở da. Do vậy, thiên hướng bất thường của melanoma đối với việc di căn tới da có thể do ái lực "tự nhiên' của các melanocyte và do mối liên hệ này nữa. Rõ ràng là, sự hiện diện của các chemokine chỉ mới là một yếu tố trong số các vấn đề chuẩn bị "đất" cho sự di căn.

Một chủ đề khác của các khảo sát đương thời là phản ứng của chất nền trong quá trình tăng trưởng khối u cục bộ. Như đã trình bày ở trên, *chất nền khối u không nên coi là môi trường thụ động bị xâm lấn bởi khối u mà là một thành viên đóng góp tích cực vào sự thành công của việc xâm lấn của khối u*. Những biến đổi di truyền và epigenetic nếu có trong các TB đệm có thể góp phần làm tăng trưởng ung thư, ngoài các biến đổi ở các TB carcinoma thực thụ. Trong các thí nghiệm tương tự, các nguyên bào sợi từ chất nền khối u kích hoạt, người ta đã phát hiện được chúng kích thích sự tăng sinh của các TB carcinoma giai đoạn sớm. Trong các carcinoma vú, các đột biến PTEN và TP53 đã được báo cáo là có xảy ra hoặc ở các TB carcinoma hoặc ở chất nền trong phương thức loại trừ lẫn nhau. Những sự phát hiện như thế đã vạch ra một vòng luẩn quẩn, trong đó các đột biến ở carcinoma lại kéo theo các đột biến ở chất nền để rồi lại thúc đẩy sự tiến triển của carcinoma v.v..



**Hình 10.8** *Một tế bào ung thư bàng quang nuôi cấy đang trải qua EMT in vitro.*

Các TB ung thư được nắm giữ nhiều trên biểu mô (đầu mũi tên) hoặc có hình thái học nguyên bào sợi.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Thêm một phức tạp khác trong bối cảnh này là "sự bắt chước" của khối u. Khi các carcinoma tiến triển chúng thường mất đi các marker của sự biệt hóa bao gồm cytokeratin điển hình của các TB biểu mô và cadherin cũng như hình thái học của sự biến đổi TB. Một số tế bào carcinoma trong nuôi cấy *in vivo* có hình dáng giống như hình con quay (spindle-like-shape) rất giống nguyên bào sợi trung mô điển hình trong chất nền khối u (Hình 10.8). Sự thay đổi này đôi khi được gọi là EMT, đặc biệt thường xuyên trong các TB mất biểu hiện E-cadherin và các protein kết dính biểu mô khác. Nếu chỉ dựa đơn thuần trên hình thái học của chúng hay nhuộm màu cytokeratin và các marker biểu mô khác thì rất khó phân biệt trong số những TB này thì TB nào bắt nguồn từ ung thư. Tuy nhiên, một số khối u lại hiện diện với kiểu hình tế bào gốc và có thể được biệt hóa thành một số dạng TB khác nhau. Đặc trưng này điển hình cho các khối u 'phôi thai' xác định như teratocarcinoma và các khối u Wilm. Tuy nhiên, việc "bắt chước" của các dạng TB khác nhau cũng đã được ghi nhận rất nhiều đối với các ung thư. Do đó, các TB khối u có thể xuất hiện với tư cách như là các thành phần nguyên bào sợi của chất nền, các TB nội mô trong các mao mạch khối u hoặc các TB giống nguyên bào xương trong di căn xương. Điều này có nghĩa là, một số ung thư có thể không phụ thuộc hoàn toàn vào việc chiêu mộ chất nền cho việc xâm lấn hoặc di căn, nhưng chính nó lại được tạo ra nhờ sự "bắt chước" biệt hóa trans (transdifferentiation).

***TÓM TẮT:***

❖ *Sự mở rộng của các khối u đặc (solid cancer) vượt ra ngoài phạm vi mô của chúng để đi vào các bộ phận khác của cùng một mô và đi tiếp vào các mô lân cận (xâm lấn) và các cơ quan xa hơn (di căn) được xác định là đặc tính của sự xâm lấn và di căn ác tính, nó quyết định liệu trình lâm sàng của hầu hết các ung thư.*

❖ *Xâm lấn và di căn là các quá trình phức tạp, đặc biệt là trong carcinoma bởi vì biểu mô bình thường thì kết dính rất chắc và được giới hạn bởi một lớp màng cơ bản. Trước hoặc trong quá trình xâm lấn thì carcinoma kích hoạt mô liên kết bao xung quanh, gây viêm và hình thành mạch. Sự xâm lấn thực sự bởi các tế bào carcinoma liên quan đến việc giảm sự kết dính TB và tăng tính di động cũng như phá hủy màng cơ bản và sửa chữa lại chất nền ngoại bào. Hơn nữa, di căn là sự đòi hỏi của các TB ung thư nhằm tiến vào mạch máu và bạch huyết để tồn tại ở đó rồi thoát mạch, tái gắn kết (reattach) và tăng sinh ở một mô khác. Hơn nữa, trong khi xâm lấn và di căn thì các TB ung thư cần phải tránh né các TB gây độc TB của hệ miễn dịch như các tế bào gây độc tế bào T (CTL) và các tế bào giết tự nhiên (NK).*

❖ *Xâm lấn và di căn đòi hỏi một sự tái tổ chức rộng lớn các TB sarcoma, đặc biệt là bộ khung và bề mặt TB của chúng. Có khả năng, sự tái tổ chức này có liên quan đến những thay đổi song hành cả về biến đổi gen cũng như biến đổi cấu trúc cấu TB gây ảnh hưởng với tư cách là "các chương trình" xâm lấn và di căn. Những chương trình này chủ yếu là các hệ quả thứ cấp của các đột biến ở các gen ung thư và kiềm chế khối u, nhưng được hỗ trợ bởi các biến đổi đặc biệt, ví dụ như các phân tử kết dính tế bào.*

❖ *Những biến đổi trong các phân tử bề mặt TB thường đi cùng với các biến đổi về sự tương tác TB-TB và TB-chất nền trong quá trình xâm lấn và di căn. Các phân tử làm trung gian cho các tương tác cùng loại (homotypic) như E-cadherin và connexin bị điều hòa xuống hoặc đột biến. Các mẫu biểu hiện protein làm trung gian cho các tương tác với chất nền ngoại bào như integrin cũng bị thay đổi. Các protein khác nhau trên bề mặt TB bao gồm cả phân tử kết dính, glycoprotein kháng nguyên và các protein nhận dạng các TB miễn dịch thể hiện có sự biến đổi về cách ghép nối, sự xử lý hoặc bị đột biến.*

❖ *Việc xâm lấn thành công phụ thuộc một cách đặc biệt vào sự tương tác với các TB "đệm" không u, ví dụ như các TB trung mô, nội mô và các TB gây viêm, những TB này đều phơi bày những thay đổi trong biểu hiện gen và cách ứng xử của chúng. Sự lộ diện của chất nền kích hoạt (activated stroma) có thể là dấu hiệu để phân biệt đó là carcinoma ác tính cao.*

❖ *Sự phá hủy màng cơ bản và các thành phần chất nền ngoại bào khác ở mô liên kết bao quanh carcinoma thường đi cùng với các protease được tiết ra từ các TB đệm và các TB khối u, đáng chú ý là các mettaloproteinase và plasmin. Các thành viên khác của họ mettaloproteinase chất nền (MMP) biểu hiện quá mức ở các mô khối u và các chất ức chế của chúng (TIMP) thường bị điều hòa xuống. Các protease cũng kích hoạt các yếu tố tăng trưởng tiềmẩn từ các vị trí dự trữ của chúng trong chất nền ngoại bào, tác động lên các TB đệm và carcinoma.*

❖ *Tạo mạch là điều kiện tiên quyết cho sự tiến triển của nhiều khối u đặc. Sự di cư và tăng sinh của TB nội mô đã tạo ra các mao mạch, đồng thời mạch bạch huyết lại được kích thích bởi một số yếu tố tiết ra bởi các TB khối u và chất nền phản ứng như VEGF, PDGF và một số FGF.*

❖ *Những bằng chứng hiện nay chỉ rõ, những sự thay đổi về biểu hiện gen trong quá trình xâm lấn của khối u là ngẫu nhiên với việc kích hoạt tổng thể sự tổng hợp protein trong các khối u cũng như các TB đệm, rõ ràng là để tăng sự biểu hiện các yếu tố khởi đầu phiên dịch (tổng hợp) và phosphoryl hóa các protein vừa mới được tổng hợp.*

❖ *Tương tác cận tiết (paracrine) giữa các TB khối u và TB đệm rất dồi dào trong carcinoma, ít nhất là trong các giai đoạn sớm của quá trình tiến triển. Các TB carcinoma có thể vẫn phải phụ thuộc rất nhiều vào các yếu tố tăng trưởng bắt nguồn từ chất nền đối với sự sống sót và tăng sinh của chúng. Đến lượt mình, các TB carcinoma lại kích thích sản xuất các yếu tố tăng trưởng từ chất nền, tác động lên các TB carcinoma, TB đệm, TB miễn dịch và TB nội mô. Ngoài ra, các TB khối u lại tiết ra các yếu tố như TGFβ kích thích sự tăng sinh của các TB mô liên kết, nhưng lại ức chế các lympho bào.*

❖ *Những sự tương tác với các TB đệm có lẽ quan trong hơn trong việc thiết lập di căn. Khi các mô có các hệ thống mao mạch như gan, phổi và xương thì chúng rõ ràng là mục tiêu ưa thích cho các di căn vì các lý do cơ học, mẫu di căn thực sự không những phụ thuộc vào những yếu tố giải phẫu và cơ học mà đối với các TB khối u di căn thì sự sống sót và mở rộng khối u cần phải thiết lập cả các tương tác tương hỗ với các TB đệm trong mô đích. Đây là cơ sở phân tử của giả thuyết "hạt giống và đất" (seed-and -soil).*

❖ *Các TB của các khối u nguyên phát và di căn là các đích tiềm năng của hệ miễn dịch. Nhiều cơ chế đã làm giới hạn khả năng của nó đối với việc loại trừ các TB khối u, bao gồm việc sản xuất các cytokine ức chế, sự điều hòa xuống các phân tử nhận dạng và các receptor chết được sử dụng bởi các TB miễn dịch gây độc TB và ngay cả những pha phản công mạnh mẽ bằng việc biểu hiện các ligand receptor chết.*

*PHẦN THỨ HAI*

# SINH HỌC PHÂN TỬ
# CÁC DẠNG UNG THƯ CHUYÊN BIỆT

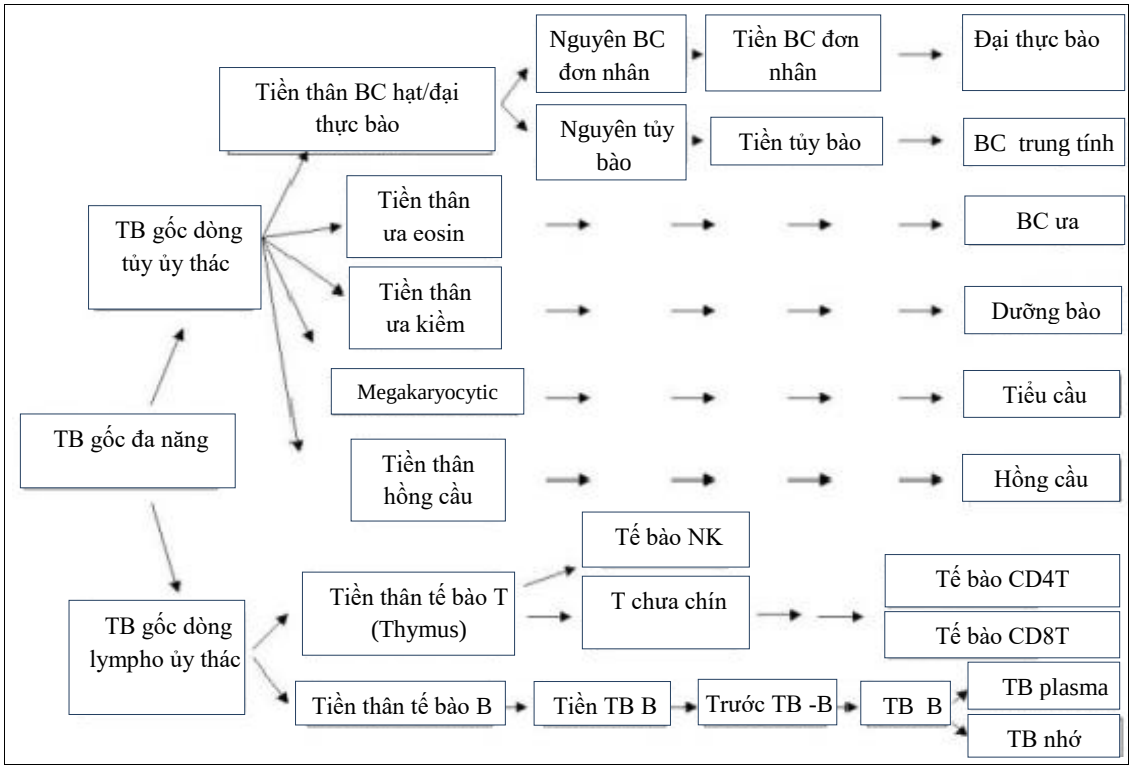
# CHƯƠNG XI: BỆNH BẠCH CẦU VÀ U LYMPHO

## 11.1. ĐẶC TÍNH THÔNG THƯỜNG CỦA UNG THƯ MÁU

Ung thư máu bao gồm các bệnh bạch cầu và u lympho nảy sinh từ các dòng tạo máu. Tất cả các TB trong dòng này đều có nguồn gốc từ các TB gốc, ở người thì sau khi sinh chúng định cư cở tủy xương sau khi cư trú ở gan trong hầu hết các giai đoạn của thai nhi. Tại đây, các TB đệm và các chất nền ngoại bào thích ứng đã hỗ trợ cho việc duy trì các TB gốc và giúp cho việc điều hòa sự biệt hóa. Các TB gốc tạo máu ở tủy xương và lưu thông trong máu có thể xác định được do sự biểu hiện kháng nguyên bề mặt CD34 của chúng.

Bước đầu tiên của sự biệt hóa các TB gốc tạo máu đa năng hiếm đã phân biệt ra dòng lympho và dòng tủy/hồng cầu (Hình 11.1) và dẫn đến một quần thể lớn hơn các TB tiền thân "tận tụy" (committed progenitor cells). Các dòng này lại phân chia xa hơn nữa và dẫn đến nhiều dạng TB biệt hóa khác nhau như các dưới type (subtype) tế bào B và T ở nhánh lympho, cũng như hồng cầu và tiểu cầu (dòng hồng cầu và megakaryocytic) và các dưỡng bào, các bạch cầu hạt, bạch cầu đơn nhân và đại thực bào (dòng tủy).

Sự tăng sinh và biệt hóa của các TB tạo máu được điều khiển và kiểm soát bởi một dãy (panoply) các yếu tố tăng trưởng trong môi trường tủy xương (Bảng 11.1) còn trong nội bào (intracellularly) thì bởi mạng lưới các dòng và các yếu tố sao chép dạng tế bào. Ở mỗi nhánh trong một dòng thì các lựa chọn biệt hóa đang dần bị hạn chế và các tế bào ngày càng hướng tới chức năng chuyên biệt. Như một quy luật, song song với nó là tiềm năng tăng sinh của chúng cũng ngày càng bị hạn chế, rõ ràng nhất là trong trường hợp hồng cầu còn mất hết cả nhân. Đặc biệt là, các giai đoạn muộn của sự biệt hóa ở dòng tủy và dòng hồng cầu được đặc trưng bởi sự kết đôi chặt chẽ giữa biệt hóa và mất tiềm năng tăng sinh đến nỗi mà số tế bào được sản xuất ra bị hạn chế. Đối với các ung thư phát sinh ở dòng này thì tính độc lập bị phá vỡ hoặc các kích thích là sự bắt chước. Hơn nữa, vì sự biệt hóa làm giảm tiềm năng tăng sinh nên những thay đổi dẫn đến carcinoma bị ngăn chặn lại hoặc ít nhất là giảm đáng kể tỷ lệ biệt hóa tế bào.




**Hình 11.1** *Tóm tắt các dòng tế bào trong hệ thống tạo máu*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

***Bảng 11.1**. Một số yếu tố tăng trưởng quan trọng trong hệ thống tạo máu*

| **Yếu tố tăng trưởng** | **Trọng lượng phân tử** | **Nguồn gốc** | **Các tế bào đích** |
|---|---|---|---|
| SCF | Khoảng 30 | Chất nền tủy xương, các TB trung mô khác | Các TB tiền thân và TB gốc của nhiều dòng |
| GM-CSF | 22 | Đại thực bào, dưỡng bào Tế bào T, TB nội mô, nguyên bào sợi | TB gốc đại thực bào, bạch cầu hạt, nhiều dạng TB biệt hóa |
| G-CSF | Khoảng 22 | BC đơn nhân, ĐTB | Các TB dòng neutrophil |
| IL3 (M-CSF) | 28 | Tế bào T, dưỡng bào | Tổ tiên và tiền thân ở nhiều dòng |
| IL6 | 25 | Các TB trung mô và miễn dịch kích hoạt | Đại thực bào, BC đơn nhân, tế bào T, B, TB biểu mô |
| Erythropoetin | Khoảng 25 | Thận | Tiền thân dòng hồng cầu |
| Thrombopoetin | 76 | Gan, thận | Tiền thân megakaryocyte |
| IL1 | 17 | Nhiều TB trung mô và miễn dịch | Nhiều TB miễn dịch, trung mô và biểu mô |
| IL2 | 15 | Tế bào T kích hoạt | Tế bào T + TB miễn dịch khác và các tiền thân của chúng |
| IL8 | 7 (tiểu đơn vị dimer) | Đại thực bào, BC đơn nhân, chất nền kích hoạt | BC hạt, tế bào T, biểu mô và các tế bào tiền thân |

Mối quan hệ giữa tăng sinh và biệt hóa có khác nhau đôi chút ở dòng lympho bởi vì các TB lympho trưởng thành vẫn còn thẩm quyền tăng sinh trong đáp ứng với sự thâm nhiễm. Tuy nhiên, sự nhân lên nhiều lần của chúng thường phụ thuộc vào sự kích thích bởi các kháng nguyên và các yếu tố cận tiết, đặc biệt là các cytokine. Hơn nữa, khi sự thâm nhiễm đã giảm nhẹ thì số lượng lympho bị kiềm chế do apoptosis và chỉ có các TB nhớ mới sống sót dài hạn. Kiểm soát apoptosis cũng liên quan đến việc lựa chọn phương thức kháng lại các TB lympho tự phản ứng. Vì thế, các ung thư ở dòng lympho có thể được nảy sinh không chỉ ở các TB chưa trưởng thành do thất bại trên con đường biệt hóa mà còn ở cả những TB đã biệt hóa do đạt được sự độc lập với các kích thích tăng sinh bên ngoài hoặc tránh né được apoptosis và trong trường hợp xấu là do cả hai.

Kiểu hình của các bệnh bạch cầu và u lympho cá thể vì thế mà phụ thuộc rất lớn vào giai đoạn mà dòng bị ảnh hưởng trước tiên. Ung thư máu có thể bắt nguồn từ một TB gốc như trong bệnh bạch cầu dòng tủy mạn, bắt nguồn từ một TB biệt hóa một phần như trong bệnh bạch cầu tiền tủy cấp, hoặc bắt nguồn từ một TB ở giai đoạn biệt hóa cao như ở đa u tủy các tế bào B và T (u lympho tế bào B). Nhiều dưới type khác nhau của các tế bào B và T, đặc biệt là có các chức năng và phân phối ở mô khác nhau có thể cho ra rất nhiều thể u lympho.

Tên của một ung thư máu thường chỉ ra dạng tế bào cốt yếu. Rõ ràng là, tế bào của một gốc không phải lúc nào cũng có thể xác định được ngay, bởi vì các TB ung thư thường đi lệch khỏi quỹ đạo của các TB nguyên gốc. Ở nhiều dạng bệnh bạch cầu và u lympho ngay từ các thập kỷ trước chỉ cần đưa vào các marker phân tử là đã xác định được nguồn gốc tế bào của chúng, trong một vài trường hợp còn có thể nhận dạng được các bệnh có hình thái học tương tự. Các marker phân tử dùng cho mục đích này bao gồm các kháng nguyên bề mặt đặc trưng cho dòng và giai đoạn biệt hóa cũng như những bất thường NST đặc biệt. Tất nhiên là, để xác định thật chính xác thì phải có các dự đoán tiên lượng và cuối cùng là phải lựa chọn được các phương pháp điều trị thích hợp.

## 11.2. NHỮNG BẤT THƯỜNG DI TRUYỀN TRONG BỆNH BẠCH CẦU VÀ U LYMPHO

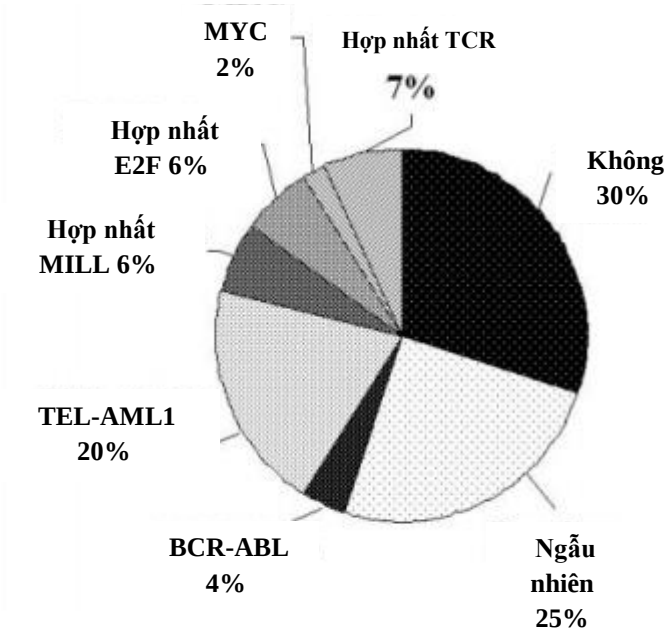
Tính trung bình thì các bệnh bạch cầu và u lympho có số bất thường di truyền ít hơn carcinoma. Thường là bản đồ NST của chúng gần lưỡng bội (near-dipoloid) với một số ít các biến đổi NST. Tuy nhiên, những bất thường được hiện diện ấy là đặc trưng cho một dạng đặc biệt của bệnh bạch cầu hay u lympho. Mặc dầu cũng thường thấy có sự mất đi hay thêm vào NST nhưng nhiều ung thư máu còn được đặc trưng bởi những chuyển vị đặc biệt (Bảng 11.2)

***Bảng 11.2**. Một số chuyển vị đặc trưng trong bệnh bạch cầu và u lympho*

| Chuyển vị | Các gen liên quan | Hệ quả | Dạng ung thư |
|---|---|---|---|
| t(8;14) (q24;q32) | MYC, locus Ig | Mất điều hòa MYC | U lympho Burkitt |
| t( 2;8) (p12;q24) | | | |
| t(8;22) (q24;q11) | MYC, TCRA | Mất điều hòa MYC | T-ALL |
| t(14 ;18) (q32 ;q21) | IGH, TCRA | Mất điều hòa BCL2 | U nang lympho |
| t(11 ;14) (q13 ;q32) | IGH, CCND1 | Mất điều hòa cyclin D1 | B-CLL |
| t(9 ;22) (q34 ;q11) | ABL, BCR | Biểu hiện protein liên hợp BCR-ABL | CML |
| t(15 ;17) | PML, RARA | Biểu hiện protein liên hợp | APL |
| (q22 ;q21) | | PML-RARA | |
| t(11 ;17) | PLZF, RARA | Biểu hiện protein liên hợp | APL |
| (q22 ;q21) | | PLZF-RARA | |
| t(7 ;9) (q35 ;34.3) | TCRB, NOTCH | Biểu hiện quá mức protein NOTCH1 | T-ALL |
| t(3 ;14) (q27 ;q32) | BCL6, locus Ig | Mất điều hòa BCL6 | U lympho tế bào B |
| t(2 ;3) (q12 ;q27) | | | |
| t(3 ;22) (q27 ;q11) | | | |
| t(8 ;16) (p11 ;q13) | MOZ/CBPA | Biểu hiện protein liên hợp kiềm chế MOZC/EBPα | AML |

Trong một số ung thư máu, những chuyển vị này đặc trưng đến mức có thể dùng chúng để phân loại các bệnh một cách thích hợp. Như vậy >90% bệnh bạch cầu dòng tủy mạn đều chứa một chuyển vị đặc trưng giữa cánh tay dài của NST 9 và 22, t(9 ;22) (q34 ;q11). Mặt khác, có những bệnh tương tự nhau nhưng lại do những chuyển vị khác biệt. Vì vậy người ta phát hiện được 25% bệnh bạch cầu nguyên bào lympho đều là chuyển vị t(9 ;22). Tuy nhiên, trong nhóm bệnh này thì cũng phát hiện thấy nhiều chuyển vị khác nữa (Hình 11.2).

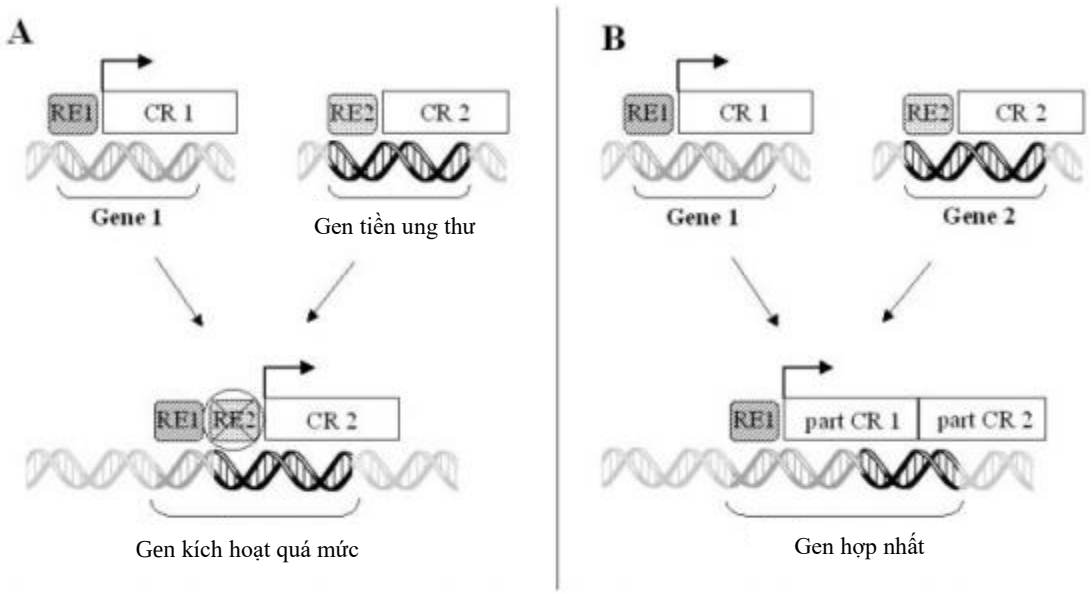
Không như các đứt đoạn thấy ở 6q hoặc 13q trong một số bệnh bạch cầu, các chuyển vị không chỉ đơn giản là phá hủy gen và các chức năng của chúng mà còn làm biến đổi  chúng. Có 2 cơ chế phân biệt (Hình 11.3).




**Hình 11.2** *Các chuyển vị đặc trưng trong bệnh bạch cầu dòng lympho cấp.*

Các khu vực trong vòng tròn phản ánh tỷ lệ của các ALL với các biến đổi khác nhau. TCR là reptor tế bào T; F2A là yếu tố hoạt hóa sao chép; MLL là một chất kiềm chế (repressor) sao chép; TEL và AML1 cũng giống như các protein chất nhiễm sắc; MYC và BCR-ABL đã được bàn luận ở trên. ALL với các chuyển vị MYC là u lympho Burkitt. Lưu ý rằng các ALL có BCR-ABL cũng chứa đựng cùng các chuyển vị như CML nhưng lại là một bệnh khác.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)




**Hình 11.3** *Các cơ chế chính trong sự chuyển vị.*

(A) Mất điều hòa gen; (B) Hình thành một gen hợp nhất (hỗn hợp); RE: Yếu tố điều hòa; CR: vùng mã hóa.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

**(1)** Vùng mã hóa của gen tại vị trí chuyển vị vẫn còn nguyên vẹn, nhưng việc điều hòa nó thì đã bị biến đổi vì chuyển vị đã loại bỏ đi một số vùng điều hòa của chính nó và/hoặc đặt các gen dưới ảnh hưởng của các yếu tố điều hòa mới. Trong hầu hết các trường hợp, sự điều này đều dẫn đến làm sai lệch vị trí hoặc mất điều hòa biểu hiện một sản phẩm gen tác động với tư cách là một protein sinh ung thư. U lympho Burkitt có các chuyển vị làm hoạt hóa gen MYC là một trường hợp điểm. Một chuyển vị thường xuyên khác t(14;18) (q32;21) dẫn đến mất điều hòa và biểu hiện quá mức protein điều hòa kháng apoptosis BCL2 trong u lympho. Ở đây locus BCL2 chịu sự kiểm soát của một enhancer immunoglobulin chuỗi nặng (Hình 11.3).

**(2)** Sự chuyển vị đã tạo nên protein hợp nhất (liên hợp) biểu hiện một gen mới được hình thành từ các đoạn của 2 gen đóng bên sườn các vị trí chuyển vị. Protein liên hợp có thể được biểu hiện với các mẫu (pattern), định vị nội bào, điều hòa và hoạt động (hoặc tổ hợp các đặc tính này) khác với các thành phần gốc. Tuy không thường xuyên nhưng việc phá hủy một hoặc cả 2 gen gốc cũng là các vấn đề cần quan tâm. Hai trong số nhiều ví dụ về cơ chế này là protein liên hợp BCR-ABL trong bệnh bạch cầu dòng tủy mạn và các protein liên hợp receptor acid retinoic trong bệnh bạch cầu dòng tiền tủy cấp.

Các chuyển vị đặc trưng có quan hệ nhân quả liên quan đến sự phát triển của mỗi dưới type ung thư đặc biệt. Bức tranh ấn tượng về mối quan hệ này được phát hiện trong bệnh bạch cầu dòng tủy cấp (AML). Những chuyển vị trong AML thường gây gián đoạn các gen mã hóa các yếu tố sao chép liên quan đến việc biệt hóa của các TB tủy, như các gen mã hóa cho C/EBPα và tạo nên protein liên hợp thay vì hoạt hóa các gen đích kiềm chế chúng. Một số trường hợp không có các chuyển vị đặc trưng này. Trong số những trường hợp này là các đột biến điểm ở gen CBPA dẫn đến tạo nên protein bị cắt ngắn tác động như là một chất ức chế âm trội của protein được biểu hiện từ một allele còn nguyên vẹn.

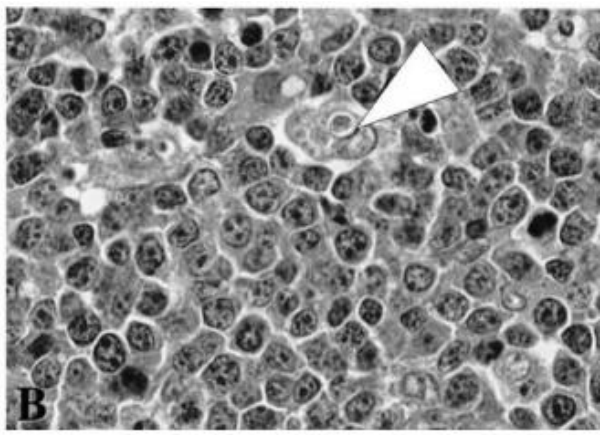
AML thuộc về các ung thư máu không đồng nhất trong lâm sàng. Liệu trình của bệnh và sự đáp ứng với trị liệu ở mức độ nhất định có thể tiên đoán được từ sự hiện diện của dạng chuyển vị (hoặc đột biến). Nói chung, việc xác định các chuyển vị đặc trưng là rất hữu ích trong việc chẩn đoán và điều trị căn bệnh này.

Vẫn chưa được rõ hoàn toàn là còn những thay đổi di truyền nào nữa ngoài các chuyển vị đặc biệt ở các giai đoạn đầu của bệnh bạch cầu và u lympho và chúng đòi hỏi phải phát triển đến mức độ nào. Tuy nhiên, chắc chắn là nhiều bệnh bạch cầu và u lympho sẽ tiến triển đến một trạng thái mà hệ gen bị bất ổn định hơn với bản đồ NST lệch bội (aneuploid), đột biến điểm phụ và những thay đổi trong việc methyl hóa DNA. Những gen gây ảnh hưởng ở giai đoạn này cũng bao hàm một số gen ung thư và kiềm

chế khối u như RAS, TP53, RB1, CDKN2A và CDKN2B. Sự bất ổn định hệ gen này không những làm cho khối u càng hiếu chiến hơn mà còn trở ngại đáng kể đối với trị liệu hóa học do việc cho phép phát triển các dòng TB đề kháng, ví dụ thông qua các đột biến điểm hay khuếch đại gen.

## 11.3. SINH HỌC PHÂN TỬ CỦA U LYMPHO BURKITT

U lympho Burkitt (BL) là một u rất ác tính bao gồm các tế bào B tăng sinh cao xâm nhập vào các hạch bạch huyết và các cơ quan khác. Các TB khối u được được phân biệt là các tế bào B do sự biểu hiện IgM và các chuỗi nhẹ κ và λ của chúng cũng như bởi các marker bề mặt như CD19 và CD20. Tốc độ tăng sinh cao rõ ràng là do phân bào nhiều. Sự bắt màu đối với các marker như Ki67 hoặc PCNA đặc trưng của các TB quay vòng (cycling cells), điều đó thể hiện rằng hầu hết tất cả các TB ung thư đều đang tham gia vào sự tăng sinh. Sự tăng sinh nhanh ở ung thư này chỉ bù lại được phần nào vì tốc độ apoptosis rất cao, bằng chứng rõ ràng nhất là quá trình thực bào của đại thực bào đâu đó một tế bào khối u đã bị apoptosis (Hình 11.4).



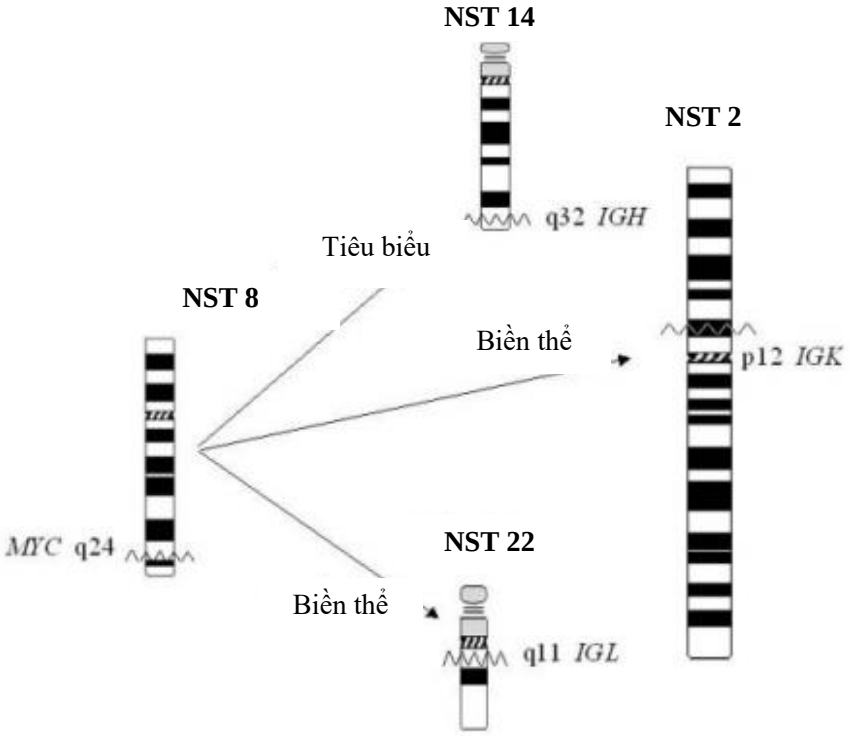

**Hình 11.4** Tổ chức học của u lympho Burkitt

Lưu ý quá trình thực bào của đại thực bào đối với một tế bào đã bị apotosis

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

BL lần đầu tiên được mô tả như là một khối u ở những người trẻ, ở một số vùng thuộc xích đạo châu Phi. Nó rất hiếm thấy ở Âu châu và Bắc Mĩ, mặc dầu các nước này có nhiều AIDS và các bệnh miễn dịch khác. Ở các vùng nhiệt đới, hầu hết các BL đều chứa virus Epstein Barr, virus này không phải lúc nào cũng gắn liền với các bệnh ở vùng ôn đới. Điều trị bằng hóa trị và cấy ghép tế bào gốc có thể thành công trong một số trường hợp.

Ba chuyển vị đặc trưng ở BL đều liên quan đến locus MYC ở 8q24.1. Chuyển vị "chính" thường gặp nhất liên hệ chặt chẽ với locus IGH ở 14q32 mã hóa cho chuỗi nặng của các Ig. Những chuyển vị "phụ" liên quan đến locus IGL (Igλ) ở 22q11 hoặc locus IGK (Igκ) ở 2p12 (Hình 11.5). Những locus này mã hóa cho 2 chuỗi nhẹ của Ig, cả 2 chuỗi nhẹ này đều được các tế bào B sử dụng. Một trong 3 chuyển vị này đều thấy ở các trường hợp BL. Vì thế việc chẩn đoán BL phụ thuộc vào sự hiện diện của chúng. Ngược lại, những chuyển vị này chỉ phát hiện thấy ở các u lympho khác mà tất cả đều rất "hiếu chiến".




**Hình 11.5** *Những chuyển vị ở u lympho Burkitt*

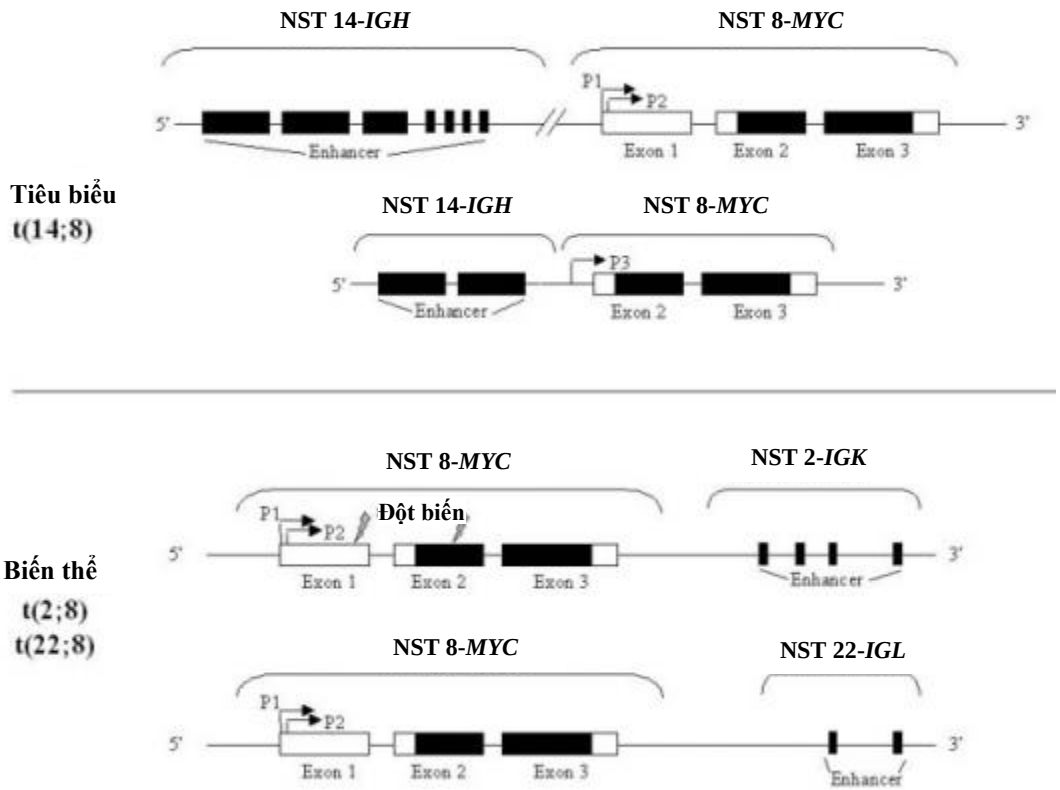
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Ở mỗi chuyển vị, gen MYC đều chịu ảnh hưởng của một enhancer gen globulin miễn dịch, kích hoạt rất mạnh ở giai đoạn biệt hóa tế bào B. Vì vậy, BL là một ví dụ quan trọng của cơ chế kích hoạt gen do chuyển vị (Hình 11.3A). Những chuyển vị ở BL làm mất điều hòa và biểu hiện quá mức gen ung thư tiềm năng mà bình thường thì đáng lẽ ra nó phải được điều hòa xuống ở các tế bào B trưởng thành. Xét về kết quả tổng thể thì như nhau, nhưng những cơ chế dẫn đến mất điều hòa thì lại khác nhau về chi tiết giữa các chuyển vị khác nhau (Hình 11.6).

Trong hầu hết các chuyển vị chủ chốt thì điểm dừng của chuyển vị nằm ở một số thượng nguồn xa của gen MYC vẫn còn nguyên vẹn. Sự chuyển vị của locus IGH định hướng theo hướng nghịch đảo giữa vị trí enhancer và gen MYC. Cấu hình này dường như là kết quả của cơ chế kích hoạt enhancer "cổ điển", trong đó enhancer mạnh kích hoạt các promoter MYC chưa bị biến đổi.

Trong một số chuyển vị chủ chốt, điểm ngừng lại ở intron thứ nhất của gen MYC, làm cho exon thứ nhất với promoter P1 và P2 bị loại bỏ. Gen được phiên mã từ một promoter P3 "cryptic" khác (không được sử dụng) định vị ở intron đầu tiên. Trong cấu hình này tất cả các yếu tố trong vùng thượng nguồn của MYC kiểm soát sao chép đã bị xóa đi. Đặc biệt là, sự chuyển vị làm kích hoạt cơ chế yếu ở intron đầu tiên tạo nên sự

sao chép gen tùy thuộc vào sự kích thích liên tục. Ở những chuyển vị này việc thay thế enhancer IGH bên cạnh gen dường như là không hoàn toàn cần thiết cho sự hoạt hóa MYC, nhưng việc đòi hỏi có sự hiện diện của gen IGH kích hoạt có lẽ là để đảm bảo cho một cấu trúc mở chất nhiễm sắc (chromatin).




**Hình 11.6** *Các cơ chế kích hoạt MYC ở u lympho Burkitt*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Trong các chuyển vị nhỏ, các điểm ngừng lại nằm ở hạ nguồn của gen MYC, đôi khi với một khoảng xa đáng kể (>100kb). Vùng điều hòa của gen MYC vẫn còn nguyên vẹn nhiều, với các trường hợp ngoại lệ yếu tố điều hòa âm được cho là nằm ở hạ nguồn của gen. Locus chuỗi nhẹ định vị theo hướng ngược với enhancer hạ nguồn hướng tới MYC. Những vấn đề này dường như chủ yếu là để đáp ứng cho việc điều khiển sự biểu hiện quá mức MYC. Ở  locus IGH có thể có các yếu tố khác nữa góp phần, trong đó có cả trong tất cả các chuyển vị thì chuyển vị gen MYC trở nên nhạy cảm với các đột biến làm tăng hiệu ứng của các enhancer. Trong các chuyển vị vẫn còn các vùng điều hòa MYC, các đột biến được phát hiện là gây bất hoạt các yếu tố điều hòa âm ở exon 1 và itron thứ nhất, vì thế mà làm trầm trọng thêm sự biểu hiện quá mức.

Trong tất cả các chuyển vị, các đột biến cũng được phát hiện ở vùng mã cho N tận cùng của MYC. Nhìn chung, là để ổn định protein. Ví dụ như đột biến điểm thường thấy ở Thr58 ngăn chặn sự phosphoryl hóa một cách có điều hòa nhắm vào gen phân giải proteosome. Điều thú vị là sự đột biến này cũng thường thấy ở các gen ung thư v-myc thuộc các retrovirus.

Những biến đổi di truyền ở locus MYC phát hiện thấy ở u lympho Burkitt có thể hiểu như là các tai nạn xảy ra trong quá trình trưởng thành của các tế bào B. Trong quá trình biệt hóa tế bào B thì tái tổ hợp V(D)J của IGH và các gen globulin miễn dịch IGL hoặc IGK sẽ được sử dụng để tạo nên các tiết tấu kháng thể cần thiết cho các đáp ứng miễn dịch đối với nhiều kháng nguyên khác nhau. Sau đó, sự kiện tái tổ hợp khác đi kèm là sự chuyển đổi từ biểu hiện IgM sang IgG. Hơn nữa, ở các trung tâm mầm của các tổ chức lympho lại có cường đột biến soma nhằm hướng tới việc sắp xếp lại các gen globulin miễn dịch để tạo nên các biến thể kháng thể phụ có ái lực cao hơn và cải thiện tính đặc hiệu với các kháng nguyên. Những quá trình này có thể nhận thấy ở BL, mặc dầu không chuẩn mực.

Các enzyme RAG recombinase làm trung gian cho việc sắp xếp lại V(D)J nhận dạng các motif trình tự đặc biệt ở các gen Ig thấy ở phần phụ cận các điểm ngừng trong các chuyển vị ở gen Ig, mặc dầu không phải là phổ biến ở gen MYC. Vì thế, có thể là các chuyển vị đã được khởi đầu bởi bẻ gãy chuỗi kép một cách sinh lý trong các gen Ig bởi các enzyme recombinase đặc hiệu tế bào B. Vì tai nạn này nên những bẻ gãy sau đó kết nối sai với gen MYC. Tương tự như vậy, việc thay thế gen MYC trong cụm gen Ig có thể được thiết lập với tư cách là cái đích cho sự cường đột biến soma. Tai nạn làm khởi đầu BL dường như là rất hiếm ngay cả khi có sự ân huệ bởi các tác nhân chưa được biết rõ gây nên BL một cách đặc hữu. Tuy nhiên, việc kích hoạt MYC đã tạo nên các kích thích tăng sinh mạnh có thể tạo ra một kho lớn các tế bào B mà từ đó nảy sinh ra các u lympho, cũng có thể do các biến đổi khác nhưng không rõ ràng bằng các chuyển vị. Vì BL thường thấy ở các cá thể ức chế miễn dịch nên có thể vẫn có sự phòng vệ miễn dịch thường là loại bỏ các tế bào B có các gen Ig được sắp xếp lại một cách bất thường.

Việc hoạt hóa MYC thành một gen sinh ung thư cũng cần phải cân nhắc tới nhiều đặc tính của các tế bào BL. MYC kích thích nhiều khía cạnh thuộc tăng sinh và tăng trưởng TB (Bảng 11.3). Đặc biệt là ở nhiều dạng TB biểu hiện quá mức MYC đủ để kích hoạt chúng trong chu kỳ tế bào mà không cần các yếu tố tăng trưởng. Vì thế cần phải cân nhắc tới bộ phận có tốc độ tăng sinh cao ở BL. MYC được cho là tác động lên telomerase, cũng có thể góp phần vào sự bất tử hóa. Tuy nhiên, một số protein được điều tiết bởi MYC lại liên quan đến sự kết dính TB, ví dụ như LFA-1 trong các TB lympho. Điều này có thể dẫn đến làm thay đổi sự tương tác giữa các tế bào BL với các TB miễn dịch khác.

***Bảng 11.3.*** *Hiệu ứng của MYC lên các chức năng tế bào khác nhau*

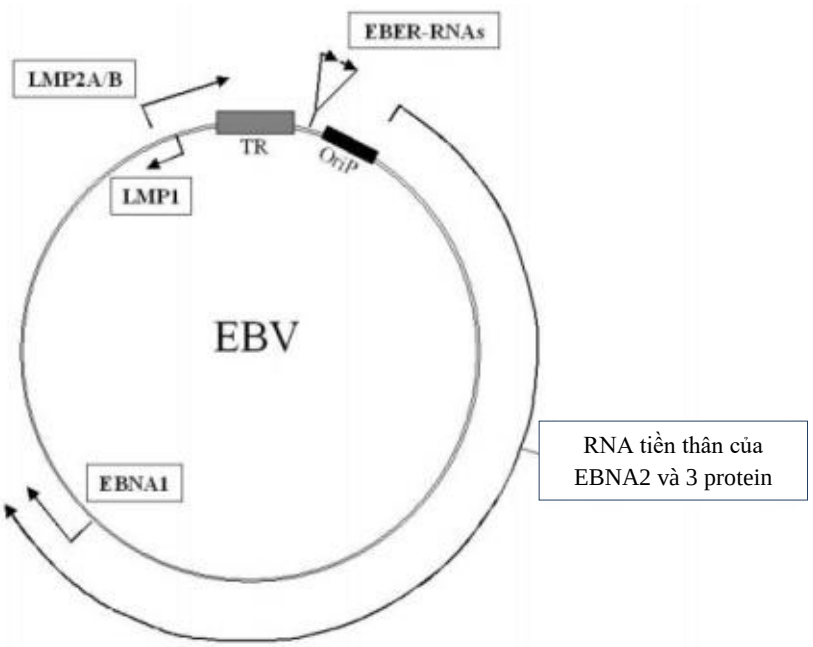
| **Chức năng** | **Một số protein được điều tiết bởi *MYC*** |
|---|---|
| Tăng trưởng tế bào | Tăng RNA polymersae, protein nhân, protein robosome, các yếu tố kết nối, protein eIF, CAD, polyamine sinh tổng hợp (ODC, spermidine synthase), các chaperone |
| Tăng sinh tế bào | Tăng cyclin d2, cyclin B1, CDK4, CDC25A, E2F1, CUL1, hTERT. Giảm $p21^{CIPI}$, $p27^{KIPI}$, MYC |
| Biệt hóa tế bào | Giảm activator sao chép bHLH đặc hiệu dạng tế bào, protein ID |
| Chuyển hóa | Tăng LDH, PFK, enolase |
| Sự kết dính | Giảm LFA1, PAI1 |
| Apoptosis | Tăng E2F1 ($p14^{ARF}$), BAX |

Tiềm năng sinh ung thư của MYC thường bị hạn chế bởi 2 yếu tố: (1) Gen và protein được điều tiết rất chặt chẽ bởi nhiều cơ chế mà hay bị phá vỡ bởi sự chuyển vị và đột biến ở BL. (2) MYC là một chất cảm ứng apoptosis mạnh. Sự cảm ứng này, ít nhất là một phần được trung gian bởi cảm ứng $p14^{ARF}$ do E2F1 là đích sao chép của MYC. $p14^{ARF}$ sau đó lại ngăn chặn HDM2/MDM2 kích hoạt TP53 để gây nên apoptosis. Tốc độ apoptposis cao thấy ở BL cho thấy cơ chế theo kiểu này thực sự đang được kích hoạt, nhưng vẫn chưa đủ để bù lại với mức độ tăng cao trong tăng sinh.

Vì thế người ta nghĩ rằng, sự phát triển của BL đòi hỏi ít nhất là một một biến đổi di truyền khác nữa làm giới hạn apoptosis. Do vậy cần phải quan sát mọi biến đổi di truyền hồi quy (tái diễn) khác nhau ở mỗi bộ phận của BL. Khoảng 1/3 tất cả các đột biến là ở TP53 và LOH ở 17p, còn các trường hợp khác là mất TP73, một protein có liên quan và một chất trung gian (mediator) tiềm năng của TP53 cảm ứng apoptosis. Gen BLC6 ở 3q27 bị ảnh hưởng trong các BL cũng như các u lympho khác do các chuyển vị và đột biến, có thể bắt nguồn từ cường đột biến soma. Chức năng của chất kiềm chế (repressor) sao chép BCL6 có thể đặc hiệu với các tế bào B ở giai đoạn xác định của sự biệt hoạt các trung tâm mầm. Nó được điều hòa xuống trong quá trình biệt hóa cuối cùng. Các chuyển vị khác, đặc biệt là sự thay thế promoter là để giữ cho gen hoạt động vượt thời gian. Điều quan trọng là, BCL6 không kích thích tăng sinh TB nhưng lại gây ảnh hưởng tới sự biểu hiện của các protein của tế bào B đồng thời làm giảm apoptosis.

Vì EBV được phát hiện ở quá nhiều BL nên người ta cho rằng virus herpes này có thể tạo ra được chức năng bổ cứu cho MYC trong việc phát triển khối u. Tuy nhiên, mối quan hệ này cũng xuất hiện nhiều uẩn khúc. EBV có ở >90% người lớn, nhưng chỉ có

một bộ phận các tế bào B là xảy ra BL. Vì nó có khả năng bất tử hóa dạng TB này, nên được dùng trong phòng thí nghiệm để tạo ra các dòng lympho bào vĩnh cửu. Virus này tồn tại như một episome, việc duy trì và sao chép của chúng đòi hỏi tối thiểu sự biểu hiện của protein EBNA-1 (Hình 11.7). Trong các dòng lympho và các TB thâm nhiễm dài hạn *in vivo*, các gen khác được biểu hiện là để điều hòa xuống apoptosis và giúp cho việc tránh khỏi sự phát hiện của hệ miễn dịch. Những gen này rõ ràng là các ứng cử viên hiệp lực cùng MYC trong BL, nhưng hầu hết chúng đều biểu hiện yếu hơn bình thường trong những bệnh thực tiễn. EBER RNA của virus cũng là các ứng cử viên tốt cho việc hợp tác với MYC. Trái lại, cũng có bằng chứng chỉ rõ việc biểu hiện mạnh MYC sẽ giúp cho việc duy trì của virus.




**Hình 11.7** *Cấu trúc hệ gen EBV*

Hệ gen DNA vòng 172 kb của virus với các đặc thù quan trọng. Đặc biệt là chỉ các đơn vị sao chép quan trọng nhất ở các tế bào thâm nhiễm ổn định mới được thể hiện. TR: các lặp tận cùng (terminal repeat); LMP: Các protein màng muộn (laten membrane protein); OriP: Gốc sao chép của virus (viral origin of replication)

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Vì thế một số giải thích khác có thể chấp nhận được là nên xem xét các mối liên quan hiển nhiên giữa virus và bệnh tật. Ví dụ, các TB thâm nhiễm EBV có thể nhạy cảm hơn với các tai nạn xảy ra trong quá trình tái tổ hợp V(D)J hoặc các tế bào B có thể được bảo vệ trước tiên khỏi apoptosis và sự loại trừ bởi hệ miễn dịch nhờ các protein EBV, với lý do sau thì các chức năng giống nhau có thể được tạo ra do những biến đổi khác như các chuyển vị hay đột biến của BCL6.

## 11.4. SINH HỌC PHÂN TỬ BỆNH BẠCH CẦU DÒNG TỦY MÃN (CML)

Bệnh bạch cầu dòng tủy mạn (cũng gọi là bệnh bạch cầu mạn được tạo nên ở tủy, thường vắn tắt gọi là CML) là bệnh bạch cầu thường gặp mức vừa phải, xảy ra ở người lớn, hầu hết từ 40-50 tuổi. Trong khi các nguyên nhân gây ra bệnh chưa được rõ thì người ta đã quan sát thấy nó thường xuất hiện sau khi tiếp xúc với bức xạ ion hóa liều cao.

CML phát sinh từ các TB gốc tạo máu. Như một hệ quả, khi việc sản xuất nhiều dạng TB khác nhau tăng lên một cách tổng thể thì các TB trưởng thành cũng như các TB tổ tiên của nhiều hoặc tất cả các dòng tạo máu đều hiện diện trong máu, nổi bật nhất là các TB dòng tủy, vì thế mới đặt tên bệnh là bệnh bạch cầu dòng tủy. Hầu hết các trường hợp đều gây nên bởi một biến đổi di truyền đặc hiệu – *gen liên hợp BCR-ABL thường hiện diện ở một nhiễm sắc thể 22 nhỏ, bất thường có tên là* ***nhiễm sắc thể Philadelphia.***

Nếu không điều trị, CML tiếp tục kéo dài thêm vài năm nữa với các triệu chứng không đặc hiệu, nhưng sau đó tiến triển qua phase thần tốc rồi tới giai đoạn cuối cùng khủng hoảng (crisis) tăng cao các TB bạch cầu bất thường, giết chết bệnh nhân trong vòng vài tháng.

Cho đến thời gian gần đây, CML đã được điều trị bằng hóa trị liệu và/hoặc bằng interferon α (IFNα) làm giảm các TB máu, tức là làm bình thường hóa việc phân phối tế bào trong máu, với khoảng 70% các trường hợp. Trong 10% các trường hợp đạt được thuyên giảm "di truyền tế bào", nghĩa là không có phase trung kỳ (metaphase) với NST Philadelphia đã được phát hiện khi hút tủy. Tuy nhiên, những phương pháp điều trị này cũng không chữa trị được dứt điểm bệnh và ung thư thường bị tái phát.

Cơ hội tốt hơn cho việc chữa trị là cấy ghép TB gốc đồng loại. Ở đây là ghép các TB gốc tạo máu từ một người cho hòa hợp về HLA. Việc cung cấp những TB bình thường này rất cần thiết về mặt chức năng cho máu và hệ miễn dịch, nhưng cũng nảy sinh các đáp ứng miễn dịch với khối u. Tuy nhiên, trong một số trường hợp những TB miễn dịch nguồn gốc từ ghép tủy xương không những tấn công các TB khối u mà tấn công cả các mô bình thường, dẫn đến bệnh kháng lại túc chủ cấp hay mạn tính (GVHD) có thể gây chết người. Vì thế, mặc dầu đã được chọn lọc kỹ càng về kiểu gen của người cho nhưng việc cấy ghép TB gốc vẫn còn những tồn tại nhiều nguy cơ.

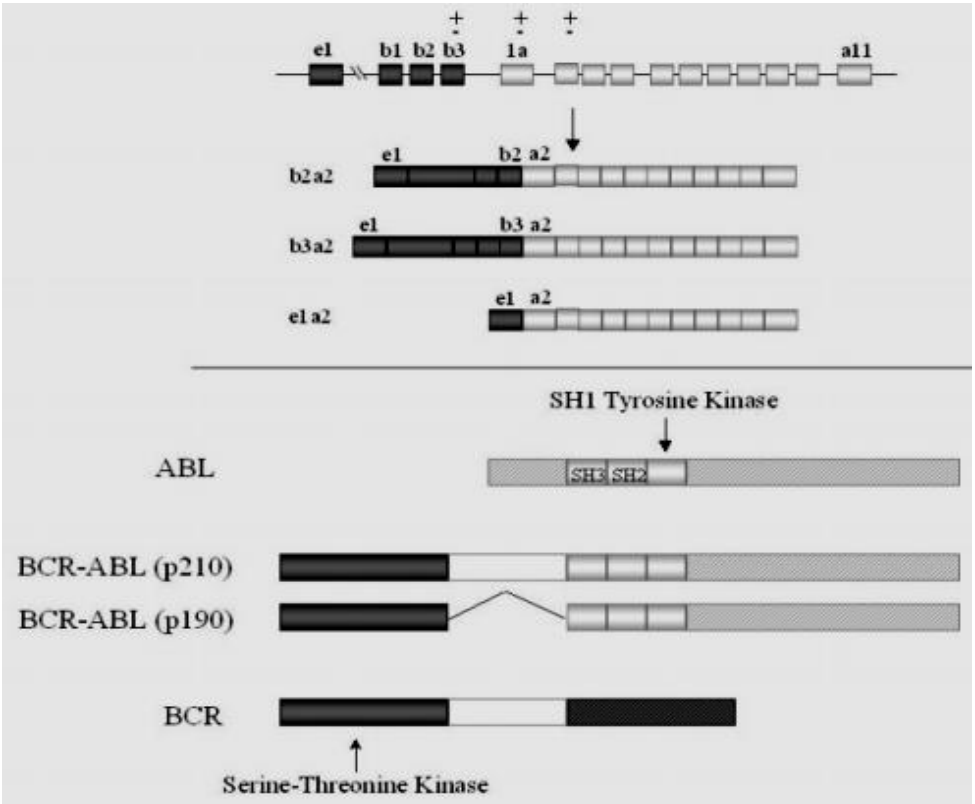
Kích thích đáp ứng miễn dịch kháng lại các TB ung thư là cách dùng INFα để điều trị CML. Sự gia tăng tần suất u lympho Burkitt ở các cá thể ức chế miễn dịch đã chỉ rõ vai trò của hệ miễn dịch trong việc phòng ngừa ung thư bằng một số thể loại giám sát miễn dịch. Hiệu ứng này rõ ràng là nên được áp dụng cho việc trị liệu trong một số trường hợp. Bằng chứng về sự giám sát miễn dịch đặc hiệu u đối với CML thực sự là

mạnh hơn đôi chút so với BL, bởi vì virus có thể có liên quan đến sinh bệnh học của BL, vì thế đáp ứng miễn dịch thực tế là có thể kháng lại trực tiếp các kháng nguyên từ bên ngoài, tuy nhiên vẫn chưa có bằng chứng về các tác nhân thâm nhiễm ở CML.

Nhiều tính chất của CML có thể được giải thích như là hệ quả của sự biến đổi gen đơn, nghĩa là việc tạo ra gen BCR-ABL do sự chuyển vị giữa NST 9q34 và 22q11 (Hình 11.3B). Sự chuyển vị này tạo nên một gen mới biểu hiện protein liên hợp với các tính chất khác nhau so với các gen cội nguồn.

Trong hầu hết các CML, là sự chuyển vị đối xứng và giữa NST $9q^+$ và $22q^-$ (hoặc $Ph^+$), kết quả là làm biến đổi bản đồ NST của nhiều tế bào CML ở phase mạn tính. Tất nhiên là có sự cân bằng, nghĩa là sự chuyển vị sẽ tạo nên 2 gen liên hợp, nhưng chúng ta biết rằng, chỉ có BCR-ABL liên hợp trong tất cả các protein là có liên quan. Ở đây, promoter của BCR từ NST 22 điều khiển sự biểu hiện của protein liên hợp có chứa vùng N tận cùng lớn bắt nguồn từ BCR và hầu hết các protein ABL gốc đều được mã hóa trên NST 9 (Hình 11.8). Điểm dừng ở BCR và ABL có thể định vị ở các exon khác nhau nên dẫn đến có một số gen và protein hỗn hợp khác nhau với trọng lượng phân tử khác nhau. Tuy nhiên, tất cả đều duy trì hoạt tính serine/threonine kinase của BCR và hoạt tính tyrosine kinase của ABL, trong khi đó lại thiếu domain kiểm soát hoạt tính của các kinase này trong các protein cội nguồn. Tuy nhiên, protein liên hợp cũng định vị chủ yếu ở tương bào thay vì ở trong nhân. Chức năng của protein BCR và ABL bình thường vẫn chưa được xác định một cách rõ ràng. ABL kinase thường liên quan với tư cách là phân tử tín hiệu trong sửa chữa DNA và apoptosis, tương tác với DNA-PK. Mặc dầu cơ chế chính xác thì vẫn chưa rõ, nhưng chắc chắn nó không phải là một protein kích thích tăng trưởng. Cần lưu ý là, gen abc cũng được tuyển mộ bởi virus bệnh bạch cầu Abelson với tư cách là một gen gây ung thư. Trong virus chuột thì domain cuối N của gen tế bào này được thay thế một phần bằng protein gag của virus.

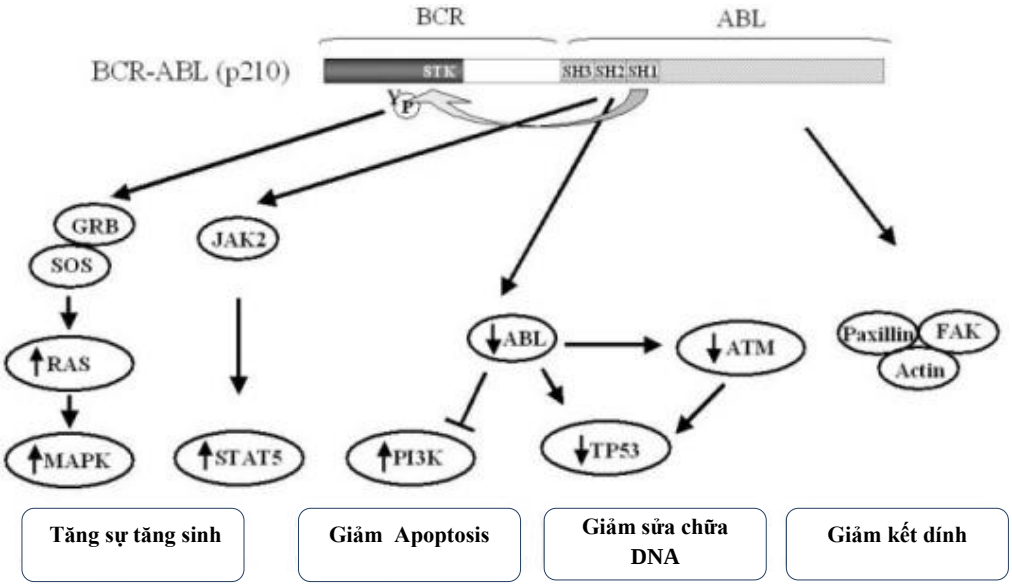
Protein liên hợp BCR-ABL tác động theo kiểu đa hướng nên làm thay đổi hoạt tính của một số con đường tín hiệu và các phức hợp protein trong tế bào (Hình 11.9). Nó can thiệp vào việc kiểm soát sự tăng sinh, apoptosis, sự kết dính và sửa chữa DNA. RAS được kích hoạt và con đường MAPK được kích thích bởi sự liên kết GRB/SOS với một tyrosine đã phosphoryl hóa (Y177) ở domain BCR, domain này được tạo ra do sự hoạt động của ABL tyrosine kinase. Kinase này cũng phosphoryl hóa và hoạt hóa JAK2 và vì thế mà con đường STAT kích thích tăng sinh ở dòng tạo máu. Sự phosphoryl hóa STAT5 cũng có thể góp phần vào việc ức chế apoptosis. Hiệu ứng này có thể được tăng cường do sự kích hoạt của PI3K, trái lại nó lại bị ức chế bởi ABL bình thường




**Hình 11.8** *Gen và protein hỗn hợp ở CML*

Trên cùng: Các exon của BCR và ABL liên quan đến các chuyển vị khác nhau. Dưới cùng: Các protein nảy sinh từ các gen liên hợp.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)




**Hình 11.9** *Các hiệu ứng của protein liên hợp BCR-ABL*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Yếu tố quan trọng trong bệnh sinh học CML là giảm sự kết dính, điều đó giải thích cho việc xuất hiện các tiền thân tế bào tạo máu trong máu. Do bị mất môi trường thích hợp nên các TB chưa trưởng thành không được tiếp xúc với các yếu tố tăng trưởng cũng như tương tác với ECM của tủy xương hướng dẫn sự biệt hóa của chúng. Biến đổi sự kết dính gây nên do sự hoạt động sai hướng của ABL tyrosine mà trong tương bào nó được gắn với actin và phosphoryl hóa các protein tổ chức nên bộ xương tế bào như paxillin và kinase kết dính đầu mối (JAK). Chức năng integrin cũng bị cản trở và CBL bị kích hoạt dẫn đến thay đổi sự quay vòng của các protein màng.

Tuy nhiên, cũng có bằng chứng cho thấy BCR-ABL cũng can thiệp vào việc sửa chữa DNA, tác động chủ yếu theo kiểu trái ngược với protein ABL bình thường, tức là điều hòa xuống tín hiệu TP53 và ATM. Tác động thứ hai của protein gây ung thư này có thể tạo điều kiện cho bệnh tiến triển tới pha "thần tốc" và khủng hoảng.

Có thể không chỉ là sự biến đổi di truyền ở phase mạn của CML mà sự hình thành gen liên hợp BCR-ABL chắc chắn cũng được xem như là một sự kiện nhất quán và có khả năng là bắt buộc. Điều này rất hữu ích cho việc chẩn đoán bệnh, thậm chí cả theo dõi  điều trị. Nó cũng tạo ra được một đích rõ ràng cho can thiệp trị liệu.

Việc phát hiện BCR-ABL có thể đạt được nhờ một số kỹ thuật với các độ nhạy khác nhau. Về mặt di truyền tế bào, NST Philadelphia có thể phát hiện ở trung kỳ hoặc bằng FISH với độ nhạy cao hơn. Các kỹ thuật phân tử có độ nhạy cao hơn đặc biệt là RT-PCR có thể phát hiện được các bản sao liên hợp.

Trước khi trị liệu, hàng triệu TB bệnh bạch cầu ở máu được hiện lên rõ ràng dưới kính hiển vi. Sau khi trị liệu, số lượng TB đã giảm và các tiền thân tạo máu cũng biến mất. Điều này được gọi là "sự thuyên giảm huyết học" (hematological remission). Rất tiếc là, cũng không có nhiều người được cứu chữa bởi vì ung thư thường bị tái phát sau một thời gian nhất định, với CML là sau vài năm. Thực sự thì các phương pháp di truyền TB thường phát hiện các TB khối u ở tủy xương của các bệnh nhân có những bất thường rõ ràng về số lượng TB cũng như các thành phần của máu. Vì thế nếu không phát hiện thấy các bất thường thì có thể nói rằng đó là sự "thuyên giảm di truyền trọn vẹn". Tuy nhiên, điều này cũng không có ý nghĩa lắm về mặt điều trị, bởi vì có hàng triệu hậu duệ của các TB gốc khối u trong tủy xương vẫn còn ẩn náu giữa các TB bình thường trong máu. Hậu duệ của các TB gốc này có thể được phát hiện bằng RT-PCR ở các mẫu máu ngoại biên. Vì thế, khái niệm "thuyên giảm phân tử" trong huyết học hiện đại là biểu thị tình trạng mà trong đó ngay cả các phương pháp có độ nhạy cao cũng không phát hiện được các TB bệnh bạch cầu. Các bệnh nhân có "thuyên giảm phân tử" thường là chữa trị được.

Như vậy rất nhiều phương pháp có độ nhạy cao đã được phát triển, nó có khả năng phát hiện chỉ với số lượng rất ít tế bào NST Philadelphia. Thật ngạc nhiên là, người ta đã phát hiện thấy có sự hiện diện của chúng ở những người không có bằng chứng nào về bệnh tật và cũng không có bằng chứng nào về tăng số lượng tế bào. Việc giải thích cho phát hiện này vẫn còn gây tranh cãi. Điều đó có nghĩa là, cần phải có thêm một sự kiện di truyền thứ 2 để phát triển CML hoặc phải cung cấp bằng chứng khác về việc giám sát thành công của hệ miễn dịch.

Việc làm sáng tỏ vai trò của BCR-ABL ở CML cũng dẫn đến phát triển một thuốc đặc hiệu - một chất ức chế ABL kinase, đó là imatinib (STI-571). Thuốc này gần đây đã được chứng minh là kháng lại CML, rất hiệu quả trong việc cảm ứng sự thuyên giảm ngay cả ở giai đoạn khủng hoảng (blast crisis) của CML và được sử dụng như là một trị liệu dòng đầu (bước 1) đối với các bệnh nhân mạn tính. Tuy nhiên, trong khi có sự thuyên giảm kéo dài ở phần lớn các bệnh nhân mạn tính thì cũng phát triển hiện tượng kháng lại của các khối u ở các bệnh nhân cấp tính. Điều quan trọng là các cơ chế về sự đề kháng này đã chỉ rõ rằng nó đã chọn ra được một đích tốt. Trong một số trường hợp, sự đề kháng này do các đột biến điểm tại domain gắn ATP của ABL kinase ở protein liên hợp BCR-ABL làm giảm sự tác động của chất ức chế. Trong những trường hợp khác của việc đề kháng thì do gen hợp nhất trở nên khuếch đại.

Tỷ lệ khác nhau về sự kháng lại imatinib ở các bệnh nhân giai đoạn tiến triển so với các bệnh nhân mạn đã phác họa nên bức tranh về sự phát triển của tính bất ổn định hệ gen trong quá trình tiến triển của CML tiến tới giai đoạn tiến triển. Các tế bào giai đoạn tiến triển là dị bội với nhiều biến đổi NST bao gồm việc thêm vào hay mất đi của NST, những chuyển vị và khuếch đại khác.

Trong số các gen chịu ảnh hưởng của những biến đổi này có RB1 và TP53 cũng như CDKN2A, chúng bị bất hoạt do mất gen, đột biến hay trong trường hợp CDKN2A là do cường methyl hóa promoter. Mất TP53 do đột biến chắc chắn là góp phần vào việc kháng lại hóa trị ở những bệnh nhân này cũng như trong các ung thư nói chung. Một ví dụ đáng ghi nhớ về cường methyl hóa là việc duy trì gen ABL nguyên vẹn, nền tảng chức năng kiềm chế khối u của một gen bình thường. Trái lại, gen MYC biểu hiện quá mức là do hệ quả của trisomy 8 hoặc khuếch đại hoàn toàn gen ở giai đoạn tiến triển, chứ không phải ở phase mạn tính.

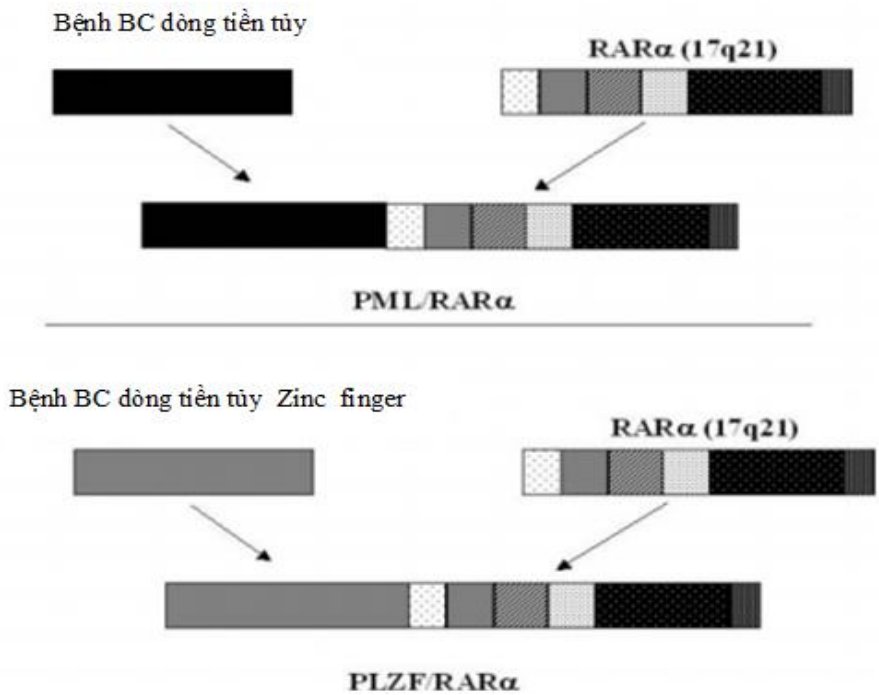
Bệnh bạch cầu dòng tủy cấp khác với các bệnh bạch cầu phát triển từ CML là cũng biểu hiện các chuyển vị đặc trưng dẫn đến các protein liên hợp. Một trong số đó là sự kiện t(3;21) tạo nên gen và protein liên hợp AML/EVI1. Sự chuyển vị này cũng phổ biến ở bệnh bạch cầu giai đoạn tiến triển phát triển từ CML. Cũng giống như sự biểu hiện quá mức MYC được cho là để tiếp tục kích thích tăng sinh, nhưng nó cũng làm trầm trọng thêm việc ngăn chặn biệt hóa vốn đã tương đối yếu ở CML mạn. Cuối cùng, dấu hiệu đặc trưng của phase tăng tốc có vai trò quan trọng hơn phase tiến triển là tăng

số bản sao gen BCR-ABL, thường trở nên rõ ràng như sự nhân đôi NST Philadelphia. Như vậy lại một lần nữa nói lên vai trò quan trọng đặc biệt của các biến đổi di truyền ở CML ngay cả trong giai đoạn cuối.

## 11.5. SINH HỌC PHÂN TỬ BỆNH BẠCH CẦU DÒNG TIỀN TỦY

Bệnh bạch cầu dòng tiền tủy giống như phase cuối cùng của CML, một bệnh bạch cầu cấp và vì thế mà được viết tắt là APL hoặc PML (hoặc hệ thống nhất là AMLM3). Tuy nhiên, nó không phải là một bệnh của tế bào gốc mà là các TB từ giai đoạn trung gian của sự biệt tới bạch cầu hạt, ký hiệu là tế bào tiền tủy (promyelocyte) (Hình 11.1). Những TB này rõ ràng là đã dừng lại tại giai đoạn này nhưng sẽ tiếp tục tăng sinh. So sánh với CML thì PML là một bệnh hiếm gặp, chỉ chiếm một phần nhỏ trong tất cả các AML. Tuy nhiên, cũng giống như CML, PML đã trở thành kiểu mẫu cho sự tìm hiểu về các bệnh bạch cầu và hơn thế nữa nó là một ví dụ điển hình về sự trị liệu "biệt hóa" thành công và gần đây hơn là những biến đổi chất nhiễm sắc trong ung thư.

Một chuyển vị đặc biệt t(15;17) (q22; q21) phát hiện được với trên 90% tất cả các PML, có sự nối gen PML ở NST 15q22 với gen RARA ở 17q21. Các chuyển vị biến thể luôn bao gồm RARA, trừ dung hợp với gen PLZF (promyelocytic leukemia Zinc finger) ở 11q23, với gen NPM (nucleophosmin) ở 5q35 hoặc gen NUMA (nuclear matrix asociated) ở 11q13 (Hình 11.10).




**Hình 11.10** *Hai chuyển vị quan trọng nhất ở APM*

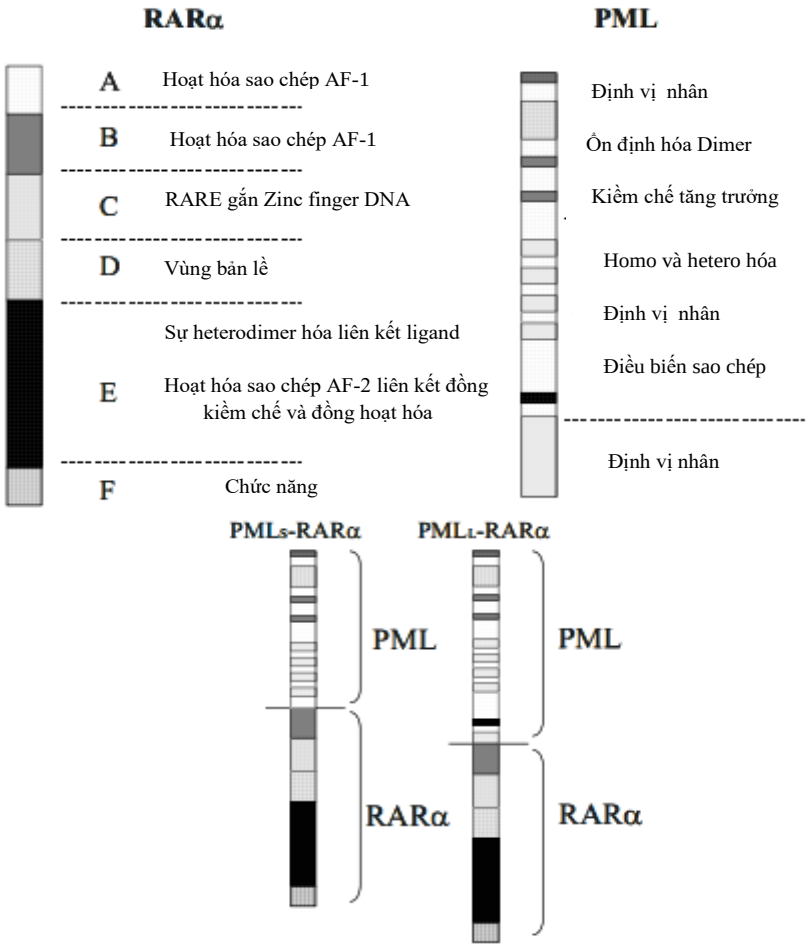
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Nói chung, sự liên quan của receptor acid retinoic RARα trong chuyển vị PML là rất ấn tượng, vì trong những năm 1980 tất cả các ligand trans acid retinoic (ATRA) đã được phát hiện đều cảm ứng sự thuyên giảm huyết học một cách đáng kể PML. Đáp ứng với ATRA là đặc hiệu đối với PML, nhưng không quan sát thấy ở các các AML khác. PML cũng đáp ứng tốt với một số thuốc xác định vẫn thường dùng trong hóa trị như anthracyclin. Như vậy, việc chẩn đoán chính xác là điều kiện tiên quyết cho việc điều trị tối ưu bệnh này. Tuy nhiên, cũng như trong CML, các kỹ thuật phân tử và di truyền tế bào cần phải được áp dụng để theo dõi việc điều trị, phát hiện bệnh ngay từ sớm và lựa chọn các bệnh nhân để cấy ghép tế bào gốc.

Cả thuốc kiềm chế tăng sinh cũng như ATRA đều có hiệu lực trong PML và thường được kết hợp sử dụng. Các thuốc kiềm chế tăng sinh tác động thông qua apoptosis và làm dừng chu kỳ tế bào dùng trong PML cũng giống như với các bệnh bạch cầu khác. Trái lại, ATRA lại làm giảm nhẹ việc ngăn chặn biệt hóa ở bệnh này, cho phép sự biệt hóa cuối cùng tiến tới bạch cầu hạt, đồng thời làm giảm tăng sinh. Một vài mức độ apoptosis cũng đã xảy ra. Kiểu điều trị này vì thế mới gọi là "trị liệu biệt hóa".

Protein liên hợp PML-RARα (Hình 11.11) trong PML tác động như là chất ức chế của cả 2 protein đã sinh ra nó. Nó cũng có thể có thêm các chức năng bổ sung mới, receptor acid retinoic thuộc nhóm receptor có liên quan chặt chẽ với các acid retinoic - một bộ phận của siêu họ receptor hormone steroid. Acid retinoic được tạo ra từ vitamin A với tư cách là một hormone tác động cục bộ, điều hòa tăng trưởng và biệt hóa của nhiều mô, nổi bật nhất là da, các cơ quan tái sinh và một số tuyến. Theo đó thì các protein RARβ và RARγ liên quan chặt chẽ thường bị bất hoạt trong các ung thư khác, ví dụ như RARβ ở ung thư vú và ung thư tuyến tiền liệt.

Cấu trúc cơ bản của RARα cũng giống như cấu trúc của các receptor hormone steroid (Hình 11.11). Domain kích hoạt sao chép cuối N (AF-1) được theo sau bởi domian gắn DNA, vùng bản lề và domain gắn ligand (LBD) có chứa đựng chức năng kích hoạt sao chép thứ cấp (AF-2), với một vùng cuối C ngắn. Domain LBD/AF-2 quan trọng nhất bởi vì liên kết ligand ở vùng này gây nên heterodimer hóa và chiêu mộ các đồng yếu tố hoạt hóa sao chép như CBP trong trao đổi với chất kiềm chế N-CoR/SMRT. Domain gắn DNA tương tác với một vị trí nhận dạng đặc hiệu trong DNA được gọi là yếu tố đáp ứng retinoacid - RARE (retinoacid responsive element) có một motif đặc biệt cho các yếu tố hoạt hóa sao chép giống receptor hormone steroid, AGGTCA. Các vị trí của RARE thực chất chỉ bao gồm một lặp trực tiếp của trình tự này được tách ra từ 5 nucleotide độc đoán. Vị trí nửa thứ hai bị chiếm giữ bởi một trong số các receptor RXR có quan hệ xa hơn hình thành nên các heterodimer với RAR, như chúng thực hiện với một số receptor khác của siêu họ này. Việc gắn RARα vào promoter gen thường dẫn đến sự mở rộng cấu trúc NST do sự tu sửa và sự acetyl hóa histone cũng như kích hoạt sao chép.



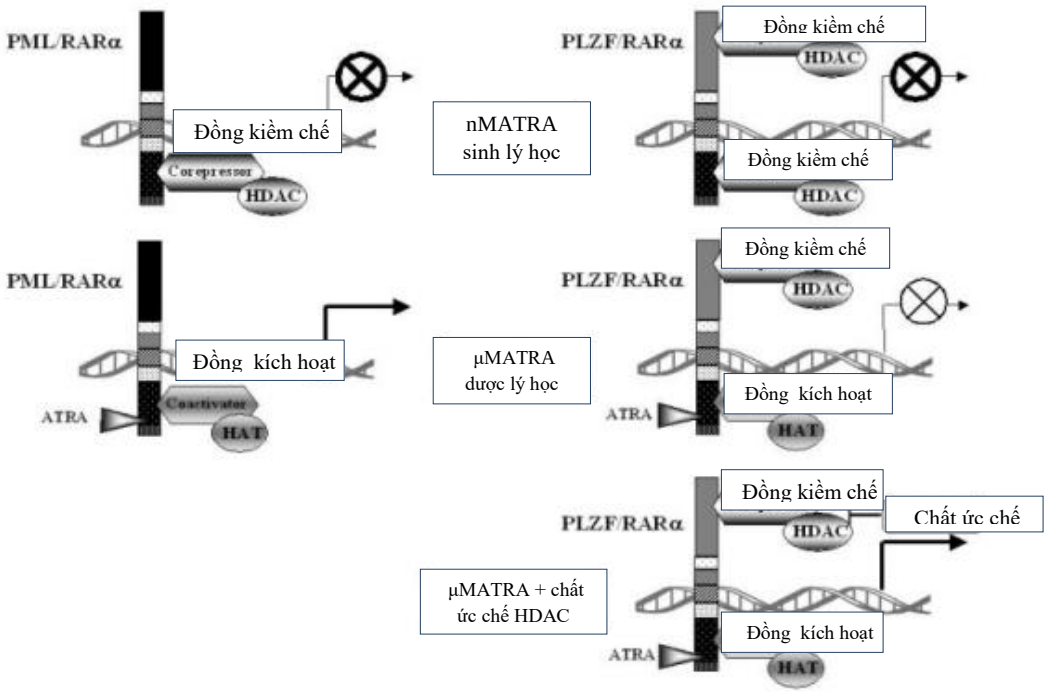

**Hình 11.11** *Cấu trúc của RARα, PML (trên cùng) và các protein hợp nhất (dưới cùng) ở APL*
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Trong sự tạo máu thì việc điều tiết gen bởi acid retinoic dường như là đặc biệt quan trọng trong quá trình hình thành bạch cầu hạt ở giai đoạn biệt hóa dòng tiền tủy. Ở bước biệt hóa này thì các gen kích thích tăng trưởng như MYC cần phải điều hòa xuống và các chất ức chế chu kỳ tế bào như $p21^{CIPI}$ phải điều hòa lên. Các gen của các yếu tố sao chép liên quan đặc biệt hơn trong biệt hóa dòng tủy như C/EBPε và HOXA cũng là các đích của RARα. Điều thú vị nhất là gen RARα được kích hoạt bởi chính sản phẩm của nó. Vòng tự điều hòa này có thể tạo nên một bước khuếch đại quan trọng đối với các tín hiệu tạo nên sự biệt hóa bất thuận nghịch.

Protein PML được gọi theo tên của bệnh thường định vị trong 10-30 thể nhân (nuclear bodies) PML, một tiểu ngăn phụ (subcompartment) của nhân bao gồm một tập hợp protein có thể nhận dạng được một cách hình thái học với kích cỡ 0,2 - 1μm. Sự lắp ráp của 1000.000 protein trong các thể nhân này phụ thuộc vào PML (sự tổ chức và điều hòa). Chức năng của các thể nhân vẫn chưa được rõ hoàn toàn, rất có thể chúng tác

động với tư cách là một "kho chứa" và tương tác cấu trúc đối với các protein liên quan đến các đáp ứng stress tế bào, sửa chữa DNA, apoptosis và cấu trúc chất nhiễm sắc. Các protein được phát hiện có liên quan với PML và các thể nhân bao gồm protein tiền apoptosis DAXX, helicase hội chứng Bloom (BLM) và TP53 cũng như protein liên kết mRNA mũ (mRNA-cap-bindind protein) EIF-4E. Thật thú vị là, sự hình thành và chức năng của các thể nhân có thể có liên quan đến sự SUMO hóa (SUMOlation), tức là một liên kết cộng hóa trị của một protein SUMO đối với PML và các cấu trúc khác. Tác nhân điều hòa khác của các thể nhân là HNK1 kinase. Bản thân PML sau đó cũng có thể làm trung gian cho sự SUMO hóa các protein bao gồm cả TP53. Chức năng của PML được phản ánh trên cấu trúc của nó là có chứa đựng một số motif liên quan đến sự tương tác protein - protein như RING finger và domain cuộn.

Protein liên hợp PML-RARα vẫn giữ lại hầu hết các bộ phận của cả 2 cặp đôi. PML chủ yếu là thiếu domain cuối C giầu Ser-Pro, trong khi đó RARα lại thiếu phần domain tương tác AF-1 (Hình 11.11). Tuy nhiên, những sự thay đổi này cũng đủ để chuyển protein liên hợp thành một chất kiềm chế sao chép ở các nồng độ sinh lý của acid retinoic và tiêu hủy các thể nhân cũng như can thiệp vào chức năng của chúng. Việc kiềm chế sao chép được trợ giúp bởi sự dimer hóa của protein liên hợp rồi sau đó gắn vào vị trí promoter RARE dimer, đồng thời tuyển mộ các đồng kiềm chế (co-repressor) để kiềm chế chứ không phải là hoạt hóa các gen quan trọng cho sự biệt hóa dòng tủy.




**Hình 11.12** Những khác biệt trong tương tác với all-trans retinoic acid (ATRA) giữa (PML-RARα) tiêu chuẩn (trái) và APL biến thể (PZLF-RARα) (phải)

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Thật may mắn là, protein biến thể vẫn có thể quay trở lại là một yếu tố hoạt hóa sao chép nhờ các nồng độ vi phân tử của acid retinoic, tức là các nồng độ dược lý học cao gấp 10-100 lần mức sinh lý. Trong đáp ứng với trị liệu ATRA thì các đồng kiềm chế phân ly, cho phép sự sao chép các gen cần cho sự biệt hóa bạch cầu hạt. Bản thân protein liên hợp cũng bị phân giải nhanh chóng sau trị trị liệu ATRA, như vậy việc sao chép cũng có thể hoặc thậm chí được thúc đẩy chủ yếu bởi RARα bình thường, đó là sự tự cảm ứng trong quá trình biệt hóa. Cũng giống như chức năng của RARα, chức năng của PML dường như là được hồi nguyên vì có bằng chứng về việc tái xuất hiện của các thể nhân.

Hiệu ứng tổng thể của trị liệu ATRA ở mức tế bào là đưa sự biệt hóa tiến tới tế bào hạt trưởng thành cùng với việc dừng tăng sinh và apoptosis một cách ý nghĩa. Lưu ý rằng, kế tiếp sau sự biệt hóa các TB chưa biệt hóa thì không có sự ung thư hơn nữa, nhưng các chức năng bình thường bị mất và có thể xảy ra các vấn đề đối với túc chủ. Tuy nhiên, acid retinoic ở các nồng độ siêu sinh lý cũng vẫn có một số tác dụng phụ. Vì thế việc trị liệu biệt hóa là hiệu quả, và dường như là tốt hơn là hóa trị, điều đó thật là vất vả và nguy hiểm đối với bệnh nhân.

Cũng giống như dạng trội của PML do chuyển vị t(15;17), các PML với các chuyển vị biến thể t(5;17) và t(11q;17) cũng đáp ứng với trị liệu ATRA. Tuy nhiên, một chuyển vị hiếm t(11q23;17) lại không tạo nên gen liên hợp PLZF-RARα. Sự khác biệt này nằm ở cặp đôi hợp nhất. Bản thân PLZF là một chất kiềm chế sao chép có khả năng chiêu mộ các đồng kiềm chế và histone deacetylase. Vì thế, trong protein liên hợp này chẳng những RARα ngăn chặn sự sự hình thành chất kiềm chế mà cả cặp đôi của nó cũng góp phần vào việc kiềm chế ít nhất là với cùng một mức độ (Hình 11.12). Tuy nhiên, ít nhất là về mặt thực nghiệm đã cho thấy vẫn có khả năng tái kích hoạt RARα bằng việc xử lý kết hợp giữa ATRA và các chất ức chế histone deactylase. Những vấn đề này có thể làm mất chức năng kiềm chế của PZLF. Vì có khả năng có nhiều hơn và tốt hơn các chất ức chế nên dường như là có cơ hội để điều trị thành công cho các bệnh nhân có các chuyển vị này.

Cuối cùng, một vấn đề hiển nhiên là liệu các chuyển vị RARα đã đủ để cảm ứng PML hay chưa. Vấn đề này cho đến nay vẫn chưa có câu trả lời. Vì sự thiếu hụt vitamin A và các bệnh khác nữa làm cho chức năng của RARα thiếu không hiệu quả, cũng chỉ gây ảnh hưởng nhẹ tới sự hình thành bạch cầu hạt, hầu hết là sự tăng sản nhẹ các TB tiền tủy. Mặc dù về chi tiết thì vẫn còn tranh cãi nhưng chức năng điều hòa apoptosis và lão hóa sao chép của PML nói chung là được chấp nhận. Tuy nhiên, protein liên hợp rõ ràng là có một hiệu ứng âm trội ít nhất ở một số khía cạnh thuộc chức năng của PML. Vì thế, việc ức chế biệt hóa và apoptosis có thể là một hiệu ứng gây ung thư rõ nhất được tạo ra bởi protein liên hợp. Điều này dẫn đến sự biến đổi di truyền gây cường tăng

sinh. Ứng cử viên tốt nhất cho vấn đề này là sự đột biến của FLT3. Protein FLT3 là một receptor tyrosine kinase được kích hoạt bởi yếu tố tăng trưởng tạo máu M-CSF, nó bị kích hoạt một cách đặc biệt ở dòng tủy (Bảng 11.1). Các đột biến ở gen FLT3 quan sát thấy ở một số dưới typ (subtype) khác nhau của AML và ít nhất là 1/3 số bệnh nhân PML.

## *TÓM TẮT*

❖ *Bệnh bạch cầu và u lympho là các bệnh ung thư nảy sinh từ các TB dòng tạo máu (vì thế nên gọi là ung thư máu - hematological cancer). Bênh bạch cầu bắt nguồn từ các TB gốc tạo máu ở các giai đoạn khác nhau của sự biết hóa dạng tủy hay dạng hồng cầu lưu thông khắp cơ thể. U lympho phát triển từ các TB lympho biệt hóa xa hơn trong các tổ chức lympho và có thể hiện diện như là các khối TB cục bộ. Ung thư máu có thể được phân loại theo nguồn gốc của chúng là từ hồng cầu, tủy hay các TB lympho ở các giai đoạn đặc biệt của sự phát triển do được xác định bởi hình thái học và các prptein marker của chúng.*

❖ *Ung thư máu cũng được đặc trưng bởi những bất thường NST xảy ra thường xuyên, mà trong các giai đoạn khởi đầu có thể chúng chỉ đại diện cho một sự thay đổi rõ nét về di truyền. Những sự bất thường này cũng bao hàm cả việc thêm hoặc mất NST, nhưng sự chuyển vị đặc hiệu là khác biệt nhất.*

❖ *Những chuyển vị gây nên các ung thư máu do một trong 2 cơ chế sau. Chúng hoạt hóa các gen tiền ung thư bằng cách phá hủy các yếu tố điều hòa âm và/hoặc đặt nó dưới ảnh hưởng của các enhancer kích hoạt, hoặc chúng liên hợp 2 gen từ các vị trí chuyển vị để tạo nên các protein liên hợp với các tính chất mới. Hoặc bằng cách nhờ các sản phẩm gen từ vị trí chuyển vị điều khiển sự phát triển khối u. Trong quá trình tiến triển của khối u, như giai đoạn cuối của bệnh bạch cầu dòng tủy mạn thì có sự tích tụ những thay đổi di truyền và epigenetic khác như thường thấy ở carcinoma.*

❖ *Bệnh bạch cầu dòng tủy mạn (CML) là một bệnh của các TB gốc tạo máu đặc trưng bởi cường tăng sinh, thường của các TB dòng tủy chưa trưởng thành, dòng megakaryocytic và dòng hồng cầu. Sự thay đổi NST chẩn đoán của nó là "nhiễm sắc thể Philadelphia"- kết quả của sự chuyển vị giữa 2 nhiễm sắc thể 9 và 22 tạo nên gen liên hợp (hỗn hợp) BRC-ABL. Sản phẩm của gen là một protein liên hợp vẫn duy trì hoạt tính protein kinase của cả 2 protein gốc, nhưng mất điều hòa và không định vị ở bào tương. Protein BCR-ABL hoạt hóa một số con đường tín hiệu thúc đẩy tăng sinh TB, ngăn chặn apoptosis và làm giảm sự kết dính TB, vì thế mà ngăn chặn sự trưởng thành (sự chín) và gây nên việc giải phóng các TB chưa trưởng thành vào máu. Sau một vài năm, CML chuyển thành blast crisis (giai đoạn cuối của CML), một bệnh gây*

*chết người nhanh chóng giống như các bệnh bạch cầu cấp. Sự tiến triển này được thúc đẩy do có sự can thiệp của protein BCR-ABL kiểm soát tính ổn định của hệ gen. Phase cấp của bệnh này được đặc trưng bởi sự bất ổn định NST rõ rệt hơn cùng với việc mất các gen kiềm chế khối u như TP53 và $p16^{INK4A}$.*

❖ *CML được trị liệu bằng interferon, hóa trị và ghép tế bào gốc đồng loại. Một thành phần quan trọng của trị liệu hiện đại là các chất ức chế đặc hiệu ABL kinase mà imatinib là đại diện cho một trong số những chất đạt được thành công lớn trong nghiên cứu ung thư phân tử. Các phương pháp di truyền tế bào và phân tử phát hiện sự chuyển vị BCR-ABL giúp ích rất nhiều cho việc chẩn đoán và giám sát điều trị.*

❖ *Hiệu quả của trị liệu interferon và cấy ghép tế bào gốc đồng loại trong CML có ý nghĩa vượt ra khỏi phạm vi bệnh đặc hiệu này. Người ta cho rằng, các TB ung thư có thể được nhận dạng và lưu giữ dưới sự kiểm soát thông qua việc giám sát bởi hệ miễn dịch. Các phương pháp phân tử độ nhạy cao chứng thực giả định này do việc minh chứng được sự hiện diện của nhiễm sắc thể Philadelphia ở người khỏe mạnh.*

❖ *U lympho Burkit (BL) là một dạng ung thư "hiếu chiến" bắt nguồn từ các TB lympho B, đặc hiệu ở một số khu vực nhiệt đới xác định trên thế giới và nó xảy ra một cách rải rác ở các cá thể bị tổn thương miễn dịch. Những u lympho này có tốc độ tăng sinh cực kỳ cao mà không thể lấy lại cân bằng nhờ tốc độ apoptosis cao. Có 3 bất thường nhiễm sắc thể chẩn đoán khác luôn làm cho gen tiền sinh ung thư MYC trên nhiễm sắc thể 8q24.1 chịu sự ảnh hưởng của các enhancer gen globulin miễn dịch từ nhiễm sắc thể 14 (chuyển vị chính), NST 22 hoặc NST 2 (chuyển vị phụ). Thường thì những sự chuyển vị này cũng làm phá hủy các yếu tố điều hòa âm làm hạn chế gen ung thư tiềm năng này. Hoạt tính của MYC có thể còn tăng cao hơn nữa do các đột biến điểm.*

❖ *Epstein Barr virus (EBV) hiện diện ở một số tế bào của hầu hết mọi người, nhưng trong đa số các dòng BL, nó tác động với tư cách là một đồng yếu tố (cofactor), có lẽ do giảm apoptosis. Một biến đổi di truyền phụ ở BL làm giảm apoptosis để bệnh trầm trọng thêm là nhờ sự chống lại xu hướng gây cảm ứng apoptosis của MYC ngoài việc làm tăng trưởng tế bào. Ngoài hóa trị và cấy ghép tế bào gốc đồng loại thì không còn cách nào khác có thể điều trị đặc hiệu BL.*

❖ *Trái lại, bệnh bạch cầu tiền tủy (promyelocytic leukemia –PML), một bệnh bạch cầu cấp (vì vậy cũng gọi là APL) là một ví dụ về sự thành công của trị liệu đích phân tử, bệnh này thường nảy sinh từ sự chuyển vị liên quan đến NST 15 và 17, t(15;17) (q22;21), tạo nên một protein liên hợp từ chất điều phối nhân PML và receptor α acid retinoic (RARα). Protein liên hợp này ngăn chặn sự biệt hóa và apoptosis của các TB*

*dòng tủy đã biệt hóa một phần (khối u nảy sinh từ đó). Không giống như RARα, nó không đáp ứng với các mức acid retinoic sinh lý. Thật may mắn là, liều lượng dược lý học làm cho acid retinoic kích hoạt protein liên hợp, gây nên sự biệt hóa và apoptosis khối u. Trị liệu "biệt hóa này không có hiệu quả trong các trường hợp PML gây nên bởi sự liên hợp của RARα với chất kiềm chế chất nhiễm sắc (chromatin) PLZF. Tuy nhiên, vì PLZF tác động bằng cách chiêu mộ chất ức chế histone deacetylase nên việc kết hợp điều trị cùng với các chất ức chế retinoid và histone deacetylase là có khả năng. PML đã vẽ lên bức tranh về tầm quan trọng của sự biến đổi chất nhiễm sắc trong việc phát triển ung thư người và tiềm năng trị liệu của sinh lý bệnh học ung thư ở mức phân tử.*

# CHƯƠNG XII: U WILMS (CARCINOMA NGUYÊN BÀO THẬN)

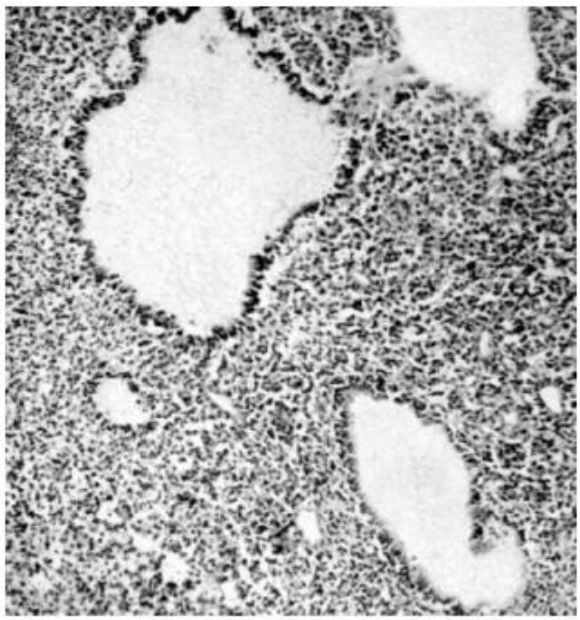
## 12.1. TỔ CHỨC HỌC, BỆNH CĂN VÀ ĐẶC TÍNH U WILMS

Sự phát triển của thận là một trong số các quá trình khác thường hơn xảy ra trong quá trình phát triển cá thể của động vật có xương sống, bởi vì nó liên quan đến quá trình chuyển đổi từ cấu trúc trung mô thành cấu trúc biểu mô ưu thế hơn. Chồi niệu quản xâm lấn vào phần nguyên bào hậu thận dày đặc làm hình thành các ống với các TB biểu mô biệt hóa từ từ. Đồng thời các nhánh niệu quản hình thành nên các phân đoạn bể thận và các ống góp. Quá trình này liên quan đến hàng chuỗi những thay đổi trong biểu hiện các gen liên quan ở nguyên bào và các TB niệu quản được điều hòa bởi các yếu tố cận tiết và sự tiếp xúc tế bào - tế bào liên quan chặt chẽ với sự tăng sinh khác của chúng. Chẳng có gì ngạc nhiên về sự tổ chức tuyệt vời này trong sinh học phát triển. Như một hệ quả, dị tật bẩm sinh thận và niệu quản thường hay gặp ở nam giới. Một số xuất hiện như là một tai nạn, một số khác lại được thúc đẩy bởi các khiếm khuyết gen di truyền. Đặc biệt, báo cáo này được áp dụng cho trường hợp khối u Wilms.

U Wilms là một u nguyên bào phôi phát hiện được với tỷ lệ 1/10.000 trẻ em, rất hiếm khi xuất hiện sau 6 tuổi. Khối u đặc biệt này bao gồm các nguyên bào tăng sinh chưa biệt hóa (vì thế mới gọi là u nguyên bào thận) hòa trộn cùng các thành phần biệt hóa với các mức độ khác nhau, thường là một phần biểu mô ống và một phần là chất nền trung mô (Hình 12.1). Trong một số u, chất nền có chứa các cấu trúc nằm sai vị trí có thể nhận dạng được như các mô trung mô khác, ví dụ như cơ, sụn, xương và mô mỡ. Thường thì các u đều liên quan với những phần còn lại của thận phôi, nghĩa là các nguyên bào hậu thận còn lại chưa biệt hóa. Bởi vậy, u Wilms rõ ràng là do các TB tiền thân của thận không biệt hóa, thay vì lại tiếp tục tăng sinh. U Wilms có nhiều khả năng nảy sinh từ một số hội chứng, đặc trưng bởi các dị dạng đường sinh dục và tăng trưởng không phù hợp (Bảng 12.1), cần phải nhấn mạnh rằng, gốc tích của chúng như là hệ quả của sự phát triển khiếm khuyết.

Về mặt tổ chức học, người ta có thể phân biệt được các dưới type của u Wilms, tùy thuộc vào các thành phần mà chúng chứa đựng. Dưới type phổ biến nhất là *triphasic* gồm 3 thành phần là nguyên bào, chất nền và biểu mô ống. Việc nảy sinh các dưới type này thường có sự phối hợp của các phần còn lại của tiểu thùy (intralobular) thận phôi (nephrogenic) cũng như các khối u giàu chất nền có các mô trung mô sai lệch vị trí. Các u Wilms bắt nguồn từ các phần còn lại quanh tủy có thể được khởi sự ở giai đoạn muộn

hơn của sự phát triển và bao hàm chủ yếu là các nguyên bào. Các khối u không phân hóa là dưới type hiếu chiến nhất, không biểu lộ dấu hiệu nào về sự biệt hóa. Ngày nay các khối u Wilms được xem như là hoàn toàn tách biệt với các ung thư tế bào thận khác của trẻ em phát triển từ các thành phần mô liên kết như *rhadomyosarcoma* hoặc *sarcoma* tế bào sáng. Cũng giống như khối u Wilms, những u này được đặc trưng bởi việc thất bại biệt hóa. Ví dụ rhadomyosarcoma phát triển từ các tiền thân của các tế bào cơ.



**Hình 12.1** *Tổ chức học của u Wilms*

Đây là một khối u thuộc dưới type trong đó các nguyên bào chưa trưởng thành (chưa chín) chiếm ưu thế, trong trường hợp này nó bao quanh các cấu trúc nang.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

***Bảng 12.1.*** *Một số hội chứng có sự tăng cao tần suất u Wilms*

| **Hội chứng** | **Các triệu chứng khác** | **Các cơ chế gen** | **Nguy cơ u Wilms** |
|---|---|---|---|
| WAGR | Tật không mống mắt, khiếm khuyết đường sinh dục, chậm phát triển tâm thần | WT1/PAX6 | 50% |
| Frasier | Khiếm khuyết thận, vô sinh và u tuyến sinh dục | WT1 | Thấp |
| Denys-Drash | Khuyết tật thận, hình thành không đầy đủ hệ sinh dục | Đột biến ghép nối WT1 đột biến mất nghĩa trong zinc finger | 90% |
| ICNS/DMS | Khuyết tật thận | WT1 | Cao |
| Beckwith-Wiedemann | Tăng trưởng quá mức, mất điều hòa chuyển hóa glucose, khuyết tật hình thái học chọn lọc | Cụm gen WT2 ở 11p15.5 bao gồm cả chuyển vị CDK1C, epigenetic | Tới 5% |

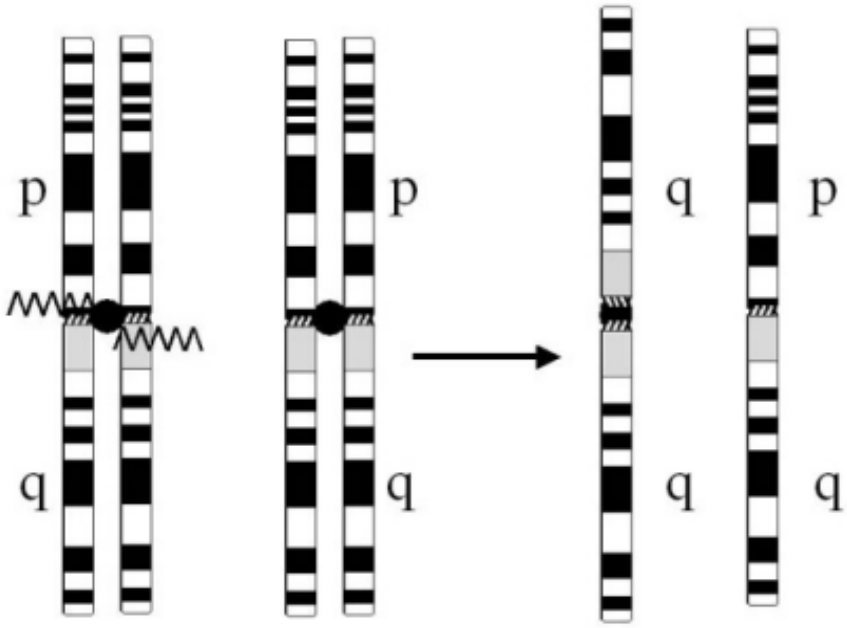
Theo như kết quả của một số nghiên cứu quốc tế thì việc điều trị u Wilms hiện nay vẫn dựa trên nền tảng kết hợp giữa hóa trị và phẫu thuật. Trên 85% trẻ em đã được cứu chữa, mặc dầu vậy ung thư này vẫn gây chết người ở một số trường hợp vì những biến chứng cục bộ và di căn.

Giống như u nguyên bào võng mạc, u Wilms có thể phát triển ở một hoặc hai thận. Cũng giống như u nguyên bào võng mạc, một số u Wilms xảy ra có tính chất gia đình, mặc dù số trường hợp này chỉ chiếm vài phần trăm. Thật dễ dàng thấy rằng, yếu tố tuổi tác xuất hiện với 2 đỉnh, đỉnh thứ nhất quanh 2 tuổi và đỉnh thứ hai xung quanh 4 tuổi. Những trường hợp có tính chất gia đình thường rơi vào nhóm thứ nhất. Mặc dù có những tương đồng như thế với u nguyên bào võng mạc nhưng về mặt di truyền phân tử u Wilms thì nó phức tạp hơn và mô hình Knudson chỉ áp dụng được phần nào.

## 12.2. DI TRUYỀN HỌC CỦA U WILMS VÀ GEN WT1

Sự phát triển u ở một số trẻ không thể là kết quả của sự tích lũy các biến đổi di truyền, không giống như các ung thư ở người già. Thực sự thì, như một quy luật các u Wilms đều chứa đựng một số lượng giới hạn các biến đổi di truyền rõ rệt. Nhiều TB có bản đồ NST (karyotype) là lưỡng bội hay gần lưỡng bội. Trong những trường hợp khác thì các NST 1, 11, 16 và 22 thường hay bị ảnh hưởng nhất. Trên NST 1, cánh tay ngắn có xu hướng bị mất đi, trong khi đó cánh tay dài thì thường được gia tăng. Điều này có thể được giải thích là do sự hình thành một NST đồng dạng (isochromosome) 1q với sự mất đi của 1p (Hình 12.2). 16q và 22 q cũng có thể bị mất. Các đột biến ở TP53 và việc mất dị hợp tử (LOH) tại locus của nó ở 17p đã được phát hiện trong một số ít trường hợp, thường là với tổ chức học không phân hóa. Chúng báo trước cho một đáp ứng yếu với hóa trị. Nhiễm sắc thể 11 cũng bị ảnh hưởng do bị mất đi, trong khi đó NST 6, 7, 8, 12 hoặc 13 lại được tăng thêm trong một số trường hợp.

Nguyên nhân của những biến đổi NST này vẫn chưa được rõ. Mất hay được toàn bộ NST vạch rõ những khiếm khuyết về sự phân ly NST trong quá trình phân bào mitosis. Các NST 1, 16 thường bị ảnh hưởng, được phân biệt bởi nó có chứa một tỷ lệ lớn các trình tự satellite giàu GC (SAT1-SAT3) trong hệ gen người. Chúng được sắp xếp như là các lặp song song trong phần chất dị nhiễm sắc juxtacentromeric ở 1q và 16q. DNA satellite giàu CpG thường bị methyl hóa cao trong một số TB soma, nhưng ở các u Wilms thì lại là thiểu methyl hóa (hypomethylation), điều đó có thể làm cho nó nhạy cảm hơn với sự bẻ gãy hay tái tổ hợp.

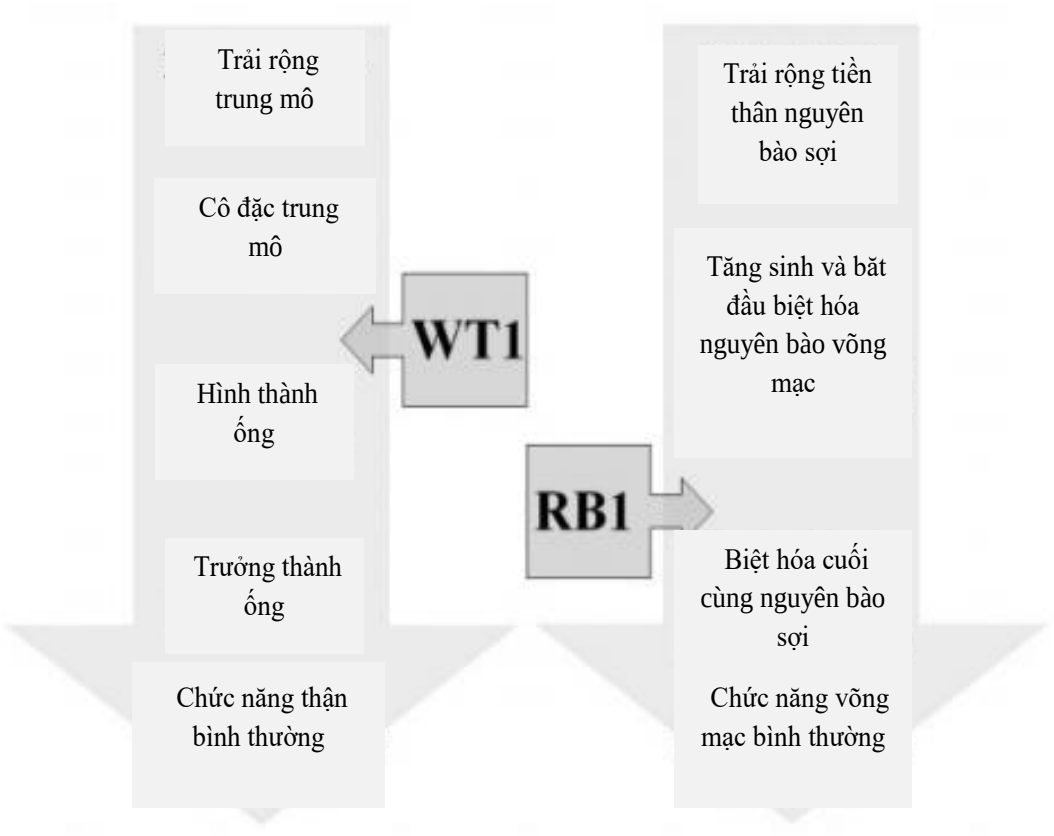



**Hình 12.2** *Sự hình thành của một nhiễm sắc thể đồng dạng (isochromosome)*
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Một số locus cá lẻ có liên quan đặc biệt trong u Wilms mà WT1 là đặc trưng nhất. Gen WT1 định vị ở 11p13 và được xác định lần đầu tiên ở các bệnh nhân có hội chứng WAGR (Bảng 12.1). WAGR là tập hợp của u Wilms (Wilms tumor), thiếu mống mắt (aniridia), dị tật sinh dục và chậm phát triển tâm thần. Hội chứng do xóa bỏ một số gen liên tiếp trên NST 11p13 bao hàm cả WT1, lý giải cho các dị tật sinh dục và u Wilms, còn các gen yếu tố sao chép hộp ghép đôi (pired –box) PAX6 giải thích cho bệnh thiếu mống mắt. Đặc biệt là với các bệnh nhân thiếu mống mắt mà không có sự xóa bỏ gen WT1 thì không phát triển u Wilms. Ở các u Wilms bắt nguồn từ WAGR thì allele thứ hai của WT1 cũng bị bất hoạt, thường do các đột biến vô nghĩa.

Hội chứng WAGR rất hiếm, chỉ chiếm khoảng 15% các u Wilms, trong đó cả 2 allele của gen WT1 đều bị bất hoạt. Điều này thường xảy ra nhất là do một allele bị đột biến và allele thứ hai bị mất do tái tổ hợp, những vấn đề này có thể được phát hiện do LOH ở 11p13. Trong ít nhất 1/3 số bệnh nhân này có đột biến đầu tiên hiện diện ở dòng mầm và các bệnh nhân có xu hướng phát triển khối u ở cả 2 thận. Còn trong các trường hợp khác thì đột biến đầu tiên cũng là đột biến soma và các khối u của chúng là đơn phương. Vì thế trong vấn đề này WT1 ứng xử giống như là một gen kiềm chế khối u cổ điển như RB1. Tuy nhiên, cho đến tận bây giờ các khối u do các đột biến WT1 vẫn chưa quan sát thấy trong các thế hệ kế tiếp. Lý do chủ yếu là ở chỗ các đột biến WT1 có biểu hiện triệu chứng lâm sàng thấp hơn so với các đột biến RB1. Cũng có thể là các đột biến dòng mầm ở WT1 không tiềm ẩn gia tăng nguy cơ cho các u khác.

Lý do cho những khác biệt này vẫn chưa được rõ. Có thể chúng có liên quan đến các chức năng khác nhau của protein và sự khác biệt trong "của sổ cơ hội" (window of opportunity) để ung thư nảy sinh. Protein WT1 dường như là một nhu cầu đòi hỏi ở một giai đoạn đặc biệt trong quá trình phát triển thận, tức là để cho nguyên bào bắt đầu có sự chuyển đổi trung mô - biểu mô. Một khi các TB đã tiến vượt xa giai đoạn này thì việc mất chức năng WT1 có thể là không qua trọng nữa và trên thực tế gen đã bị điều hòa xuống. Như vậy, trong một chất mang của đột biến dòng mầm, cú hích (hit) thứ 2 đã thu được tại thời điểm đó. Trái lại, sự đòi hỏi về RB1 chức năng có thể quan trọng nhất vào thời điểm cuối biệt hóa nguyên bào võng mạc, cho phép chúng thoát khỏi vĩnh viễn chu kỳ TB, tức là biệt hóa kết thúc. Theo đó, các nguyên bào võng mạc có thể có nhiều thời gian hơn để có được cú hích quyết định thứ hai (Hình 12.3). Cách giải thích thứ 2 có tính chất suy đoán nhiều hơn là do tính bán dị hợp tử (hemizygosity) - không giống như WT1 - đã làm tăng phần nào nguy cơ ung thư, có lẽ vì các chức năng phụ của nó vẫn bảo trì được tính ổn định hệ gen.



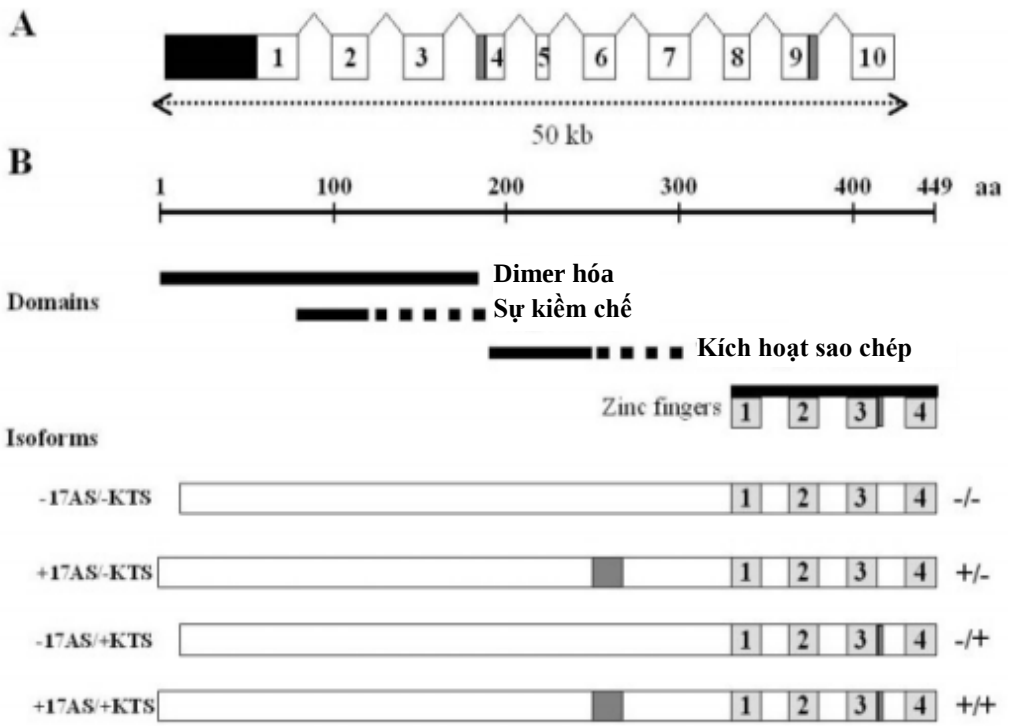

**Hình 12.3** *Một giả thuyết giải thích về sự thấm nhập khác nhau của các đột biến WT1 và RB1 có thể được di truyền lại.*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Tuy nhiên, cũng giống như RB1, WT1 liên quan một cách đặc biệt đến việc điều khiển sự biệt hóa, chắc chắn là trong quá trình phát triển thận cũng như tuyến sinh dục, lách và trung biểu mô (mesothelium) cũng phát hiện thấy có sự biểu hiện của WT1. Ở thận người trưởng thành, sự biểu hiện của nó được giới hạn đến mức podocyte (tế bào biểu mô nội tạng), trong đó các TB biểu mô là các thành phần chủ chốt của cầu thận. Điều quan trọng là, trong quá trình phát triển thận, nổi trội nhất là sự biểu hiện của WT1 tại thời điểm khởi đầu của sự chuyển đổi trung - biểu mô. Ở các tế bào trung mô thích hợp, việc thâm chuyển WT1 có thể gây cảm ứng quá trình chuyển đổi theo kiểu này.

Gen WT1 50kb mã hóa cho protein yếu tố sao chép (Hình 12.4) có 4 domain gắn DNA zinc finger tương tự như các domain yếu tố hoạt hóa sao chép EGFR được phân phối một cách rộng rãi và nhận dạng motif trình tự DNA giống nhau. Tuy nhiên, WT1 lại có cả 2 domain yếu tố hoạt hóa và yếu tố kìm hãm. Hơn nữa, protein này lại gắn với RNA và có thể điều tiết được sự kết nối. Trên thực tế có một số isoform của protein WT1 có khác nhau về những khả năng này. Việc phiên dịch (tổng hợp) WT1 có thể được khởi đầu ở 2 codon khác nhau. Hơn nữa lại có 2 vị trí được dùng cho việc kết nối luân phiên. Sự có mặt hay vắng mặt exon 5 đều làm thay đổi kích cỡ của domain hoạt hóa do 17 amino acid và có khả năng làm thay đổi cả chức năng của nó nữa. Khi sử dụng 2 chất cho kết nối luân phiên (alternative spice donnors) 9 bp riêng rẽ ở cuối exon 9 sẽ dẫn đến 2 isoform khác nhau do 3 amino acid trong zinc finger và được biểu thị là +/- KTS. Hơn nữa, bản sao WT1 là đối tượng để biên tập (editing). Như vậy về tổng thể gen WT1 mã hóa cho cả 16 protein với TLPT 52-56 kDa. Những protein này khác nhau về khả năng kiềm chế hoặc kích hoạt sao chép cũng như liên kết với DNA. Chúng cũng được biểu hiện với các mẫu hình khác nhau ở các mô khác nhau.

Ý nghĩa của nhiều biến thể thì vẫn chưa được rõ, nhưng ít nhất với biến thể KTS là rất quan trọng vì các đột biến ghép nối sẽ gây nên việc mất trình tự này. Điều này đã phát hiện thấy ở các trẻ em mắc hội chứng Frasier (Bảng 12.1). Còn với hội chứng Denys-Drashm là do các đột biến mất nghĩa dòng mầm de novo ở exon 8 hoặc 9 của gen WT1. Những vấn đề này dẫn đến các thay đổi amino acid trong WT1 zinc finger tương tác với DNA. Đặc trưng của hội chứng này là các khiếm khuyết trong cầu thận (glomerule) gây nên hư thận, sự biệt hóa không hoàn toàn bộ phận sinh dục và tăng nguy cơ u Wilms. Các khiếm khuyết phát triển do đột biến dòng mầm, trong khi đó việc hình thành u Wilms lại đòi hỏi cả sự bất hoạt của allele thứ 2. Đột biến mất nghĩa ở WT1 zinc finger cũng phát hiện thấy ở các u Wilms rải rác, nhưng tại đó các đột biến cắt xén là phổ biến. Trái lại, các đột biến cắt xén không được phát hiện với tư cách là nguyên nhân của hội chứng Denys-Drash, điều đó cho thấy các đột biến zinc finger đặc trưng trong bệnh này tác động với tư cách là các chất âm trội (dominant negatives) hoặc bởi cơ chế "thêm chức năng".




**Hình 12.4** *Gen WT1 và các protein mà chúng mã hóa*

A: Cấu trúc của gen: chỉ các exon mới được vẽ theo kích cỡ (vì nó có sự quan hệ lẫn nhau); những phần kết nối lựa chọn được đánh dấu màu đen. B: Các domain và isoform của protein WT1. Trình tự là kết quả của sự kết nối khác nhau được đánh dấu giống như ở phần A.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Vậy có thể tóm gọn như sau: Trong khi các đột biến WT1 có thể là thông qua dòng mầm ở một số gia đình thì đôi khi nguyên nhân gây u Wilms cũng không phải chủ yếu là như thế. Thay vì các locus thích hợp đã được lập bản đồ nhờ các phân tích liên kết giữa các NST 17q12-21 và 19q13 và dự kiến đặt tên là FWT1 và FWT2 (cho các u Wilms có tính chất gia đình). Những locus bị nghi ngờ trước đây ở 16q và 11p15 ngày nay đã được minh oan vì đã từng được cho là nguyên nhân của các u Wilms có tính chất gia đình, tuy vậy chúng cũng có vai trò xác định trong một số trường hợp rải rác.

## 12.3. EPIGENETIC CỦA CÁC U WILMS VÀ LOCUS WT2

Hội chứng Beckwith-Wiedemann (BWS) chuyển tải nguy cơ gia tăng u Wilms và các u ác tính khác ở trẻ em, do các khiếm khuyết di truyền hoặc epigenetic ở vùng NST

11p15.5. Vùng này bao gồm 2 cụm gen in dấu, bao hàm cả locus kép IGF2/H19 và một cụm gen lớn được kiểm soát rõ ràng bởi một trung tâm in dấu (IC) định vị ở gen KCQN1. Những trẻ mắc hội chứng BWS khi sinh có kích thước quá khổ và thừa cân, thường biểu hiện tăng trưởng quá mức về một phía của cơ thể (cường phì đại bán phần) (hemihyperthrophy) hoặc tăng trưởng quá mức các cơ quan nội tạng như gan. Hơn nữa, sự cân bằng nội mô glucose có thể bị mất điều hòa nghiêm trọng trong quá trình sinh đẻ (quanh lúc sinh). Hội chứng này do một trong số các khiếm khuyết sau: (1) Các chuyển vị cân bằng hoặc đảo ngược ở vùng 11p15.5 trên NST được di truyền từ mẹ; (2) disomy thuộc bố hoặc mẹ (uniparental disomy), trong đó vùng vùng này có nguồn gốc từ bố trên cả 2 nhiễm sắc thể 11; (3) đột biến điểm ở gen CDKNIC mã hóa cho chất ức chế CDK inhibitor $p57^{KIP2}$.

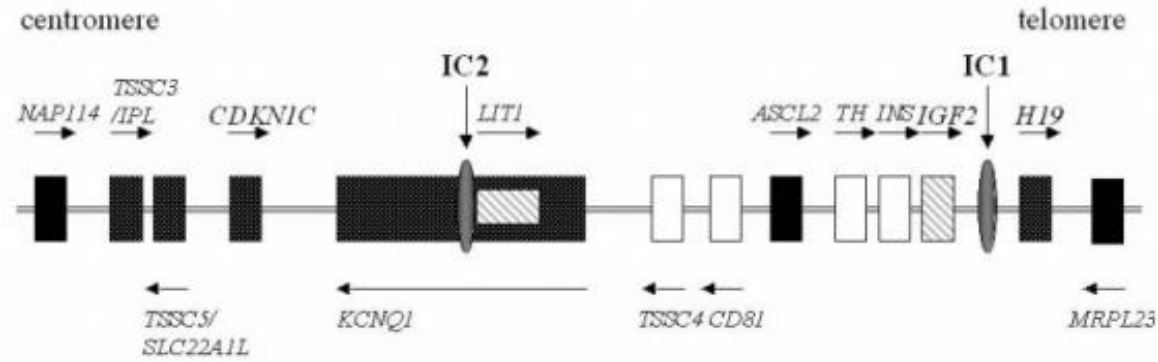
Hầu hết các biến đổi phát hiện thấy ở BWS đều có điểm chung là chức năng CDKNIC bị tổn thương. Vì gen chỉ sao chép một cách đáng kể từ allele mẹ nên các bất thường NST và disomy thuộc cha hoặc mẹ sẽ làm giảm mạnh sự biểu hiện của nó, trong khi đó các đột biến điểm lại làm bất hoạt sản phẩm gen là CD inhibitor protein $p57^{CIP2}$.

Tuy nhiên, kiểu hình của BWS rất có khả năng không chỉ do mất chức năng CDKNIC. Đặc biệt là, các u Wilms không xảy ra ở trẻ mà ở đó BWS được gây nên bởi các đột biến ở gen này. Thực sự là, hầu hết các biến đổi đều ảnh hưởng đến các gen khác, thường là từ cả 2 cụm gen in dấu ở 11p15.5. Chẳng hạn như, một số chuyển vị đã tách rời trung tâm in dấu IC2 ở KCQN1 khỏi CDKNIC và các gen khác, gây xáo trộn các mẫu in dấu thuộc mẹ của chúng.

Về tổng thể, có 6 gen hoặc hơn trong cụm KCQN1/CDKIC (Hình 12.5). Một số trong đó có thể có chức năng đóng góp vào kiểu hình của BWS như điều hòa sao chép (ASCL2/MASH2), tương tác tế bào-tế bào (CD81), truyền tín hiệu (TSSC3/IPL/BWR1C) và điều hòa apoptosis (TSCC5/BWR1A). Một cách rõ ràng là, sự tương tác của chúng có thể gây khó khăn cho việc giải quyết vấn đề, thậm chí còn nhiều hơn thế nữa, do vậy mà các mô hình động vật bị hạn chế sử dụng vì các mẫu in dấu của một số gen có sự khác nhau giữa các mẫu động vật có vú, đặc biệt là giữa chuột và người. Tuy nhiên, chuột "knock out" CDKN1C lại thể hiện một số khiếm khuyết phát triển giống như trong BWS bao hàm cả sự tăng trưởng quá mức. Gen IGF2/H19 cũng gây rối loạn trong nhiều trường hợp BWS. Chẳng hạn như disomy thuộc bố hoặc mẹ với cả 2 NST đều có nguồn gốc từ bố thì sẽ dẫn đến tăng biểu hiện IGF2, mà theo dự đoán thì sẽ có 2 bản sao gen kích hoạt chứ không phải là một.

Trong các u Wilms, mất in dấu ở cụm IGF2/H19 là thường xuyên chứ không chỉ ở các khối u nảy sinh trong các bệnh nhân BWS. Mẫu biểu hiện sẽ thuộc về bố với cả 2 allele, kèm theo là  tăng peptide IGF2 và giảm H19 RNA. Tăng biểu hiện IGF2 – một

yếu tố sống sót và tăng trưởng tiềm năng cũng có thể giải thích được cho việc tăng quá mức các TB nguyên bào thận. Hơn nữa, IGF2 cũng có thể là một gen đích của WT1 và ngược lại, điều đó cho thấy có một con đường liên quan đến sự sinh u Wilms. Tuy nhiên, những số liệu liên quan đến vấn đề này vẫn còn nhiều tranh cãi và có khả năng là sự điều hòa xuống H19 có thể là có ý nghĩa hơn cả. Chẳng hạn như sự biểu hiện quá mức H19 RNA ở dòng tế bào u nguyên bào thận đã làm dừng sự tăng trưởng của nó.




**Hình 12.5** *Các gen in dấu ở locus WT2 tại 11p15.5*

Phần màu đen: không in dấu, phần có chấm nhỏ là biểu hiện allele mẹ, phần trắng: số liệu không xác định.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Các sự kiện epigenetic khác cũng ảnh hưởng đến sự phát triển cũng như tiến triển của u Wilms. (1) Như đã trình bày ở trên, một thay đổi di truyền thường thấy ở u Wilms là mất NST 1p. Thường thì toàn bộ cánh tay NST đều có liên quan, còn bản đồ các khu vực phổ biến bị xóa trong u Wilms cũng như các ung thư trẻ em khác đã vạch rõ rằng có một gen kiềm chế khối u ở vùng 1p36, ở đó một số gen cũng in dấu. Vì thế nên chỉ cần mất một bản sao đơn của vùng này cũng đủ để làm bất hoạt gen kiềm chế khối u. (2) Trong khi bản thân gen WT1 là không in dấu nhưng nó lại chồng chéo một phần với gen sao chép RNA theo hướng ngược lại có tên là WIT1, nhưng chỉ từ allele bố. Mất hợp tử LOH liên quan nhiều đến NST 11p, phần lớn thiên về mất bản sao thuộc mẹ, làm giảm chức năng của gen in dấu thuộc mẹ ở đầu NST. Tuy nhiên, điều này cũng tiềm ẩn sự tăng liều lượng của WIT1. Tuy vậy, chức năng của nó thì vẫn chưa rõ.

Vì nhiều trường hợp u Wilms vẫn duy trì lưỡng bội nên có một vấn đề lý thú là liệu những biến đổi epigenetic trong một số trường hợp có đủ để hình thành nên dạng u này không thì vẫn chưa được rõ.

Sự hiểu biết của chúng ta về u Wilms chắc chắn tới thời điểm hiện tại vẫn chưa đầy đủ. Tuy nhiên, các nhà nghiên cứu cũng như các nhà lâm sàng đều nhất trí rằng

bệnh ung thư có thể gây chết người này sẽ được cứu chữa với phần lớn các trẻ em bị bệnh mặc dù vẫn còn ít nhiều tác dụng phụ.

***TÓM TẮT***

❖ *U Wilms là carcinoma nguyên bào thận (nephroblastoma) nảy sinh ở trẻ em từ những phần còn lại của thận phôi, những bộ phận của thận đang phát triển nhưng không hoàn tất biệt hóa. Theo đó thì khối u bao gồm một số thành phần giống như cấu trúc mô ở thận thai nhi như các nguyên bào (blastema), chất nền trung mô và các cấu trúc hình ống. Hầu hết các trường hợp đều được điều trị bằng cách kết hợp hóa trị với phẫu thuật.*

❖ *Cũng giống như u nguyên bào võng mạc, các u Wilms có thể là một thận hoặc hai thận, trong trường hợp hai thận thì hay xảy ra các đột biến dòng mầm. Tuy nhiên, đây là một bệnh di truyền phức tạp và mô hình "2 hích" (two –hit) không được áp dụng một cách nghiêm ngặt.*

❖ *U Wilms thường là một bệnh hiếm, chỉ xảy ra với tỷ lệ 1/10.000 trẻ em, nhưng phổ biến hơn là các hội chứng gây rối loạn phát triển đường sinh dục như hội chứng WAGR, Denys-Drash và Beckwith-Wiedemann.*

❖ *Trong nhiều trường hợp, đã quan sát thấy một số lượng giới hạn các biến đổi di truyền và các tế bào khối u vẫn duy trì ở gần trạng thái lưỡng bội hoặc là lưỡng bội. Nhiễm sắc thể 1, 11, 16 và 22 thường hay bị ảnh hưởng nhất. Các khối u với nhiều biến đổi NST phổ biến hơn ở những trẻ đã lớn. Ở những trẻ nhỏ, thường phát hiện thấy các đột biến dòng mầm. Các đột biến ở TP53 đặc trưng cho một nhóm nhỏ các khối u thoái biến (anaplastic) (biệt hóa kém).*

❖ *Các đột biến ở một số locus mở đường cho khối u Wilms. Locus đặc trưng nhất là WT1 trên NST 11p13, có nhiều đặc tính của một gen kiềm chế khối u mặc dù biểu hiện triệu chứng lâm sàng (penetrance) còn chưa đầy đủ. Các đột biến dòng mầm của WT1 mở đường cho sự phát triển sớm và cả hai thận u Wilms, trong đó allele thứ 2 của gen cũng bị bất hoạt do mất đi hoặc tái tổ hợp. Một số trường hợp rải rác cũng thấy có sự bất hoạt cả 2 allele WT1. Tuy nhiên, do tỷ lệ các cá nhân có đột biến đã biểu hiện triệu chứng lâm sàng (penetrance) thấp nên WT1 chỉ đại diện cho một phần nhỏ các trường hợp có tính chất gia đình. Những sự thay thế vào các locus ở 17q và 19q vẫn chưa được xác định. "Locus u Wilms" rõ ràng nhất được gọi là WT2 định vị ở 11p15.5.*

❖ *WT1 mã cho một yếu tố sao chép có liên quan đến sự phát triển và biệt hóa đường sinh dục. Đặc biệt là sự biểu hiện và chức năng của WT1 là rất cần thiết ở thời điểm khi mà trung mô hậu thận (metanephric mesenchyme) hình thành các ống thận dưới*

*ảnh hưởng của chồi nhánh niệu quản (branching ureter bud). Hiểu được chức năng của WT1 là vấn đề rất phức tạp vì ở đây có sự hiện diện của một số isoform khác nhau - kết quả do sự khởi đầu của các chuyển vị và kết nối là khác nhau. Theo đó, hệ quả của các đột biến ở các gen WT1 phụ thuộc một cách khác nhau trên các vị trí của chúng. Trong khi một số đột biến chỉ mở đường cho u Wilms thì các đột biến khác lại gây nên các dị tật ở đường sinh dục.*

❖ *Trong khi WT1 có vẻ như là một locus phức hợp thì WT2 lại có thể là một locus đơn. WT2 liên quan tới locus gây hội chứng Beckwith-Wiedemann, một bệnh phát triển quá mức của thai nhi, mất điều hòa chuyển hóa và có khuynh hướng tạo các u ngay từ thời niên thiếu, mặc dầu mối liên quan chính xác thì vẫn chưa rõ. Một số trường hợp của hội chứng này do chuyển vị ở vùng 11p15.5, còn các trường hợp khác lại nảy sinh do hậu quả của uniparental disomy. Một trong 2 trường hợp, sự biểu hiện của gen in dấu định vị trong vùng này bị xáo trộn. Thực sự thì cả 2 cụm gen khác nhau đều có liên quan, một cụm bao gồm locus song song H19/IGF2 và một cụm bao gồm các gen khác như CDKN1C và BWR1C. Những xáo trộn trong in dấu IGF2 có thể là những biến đổi có liên quan đến gây u Wilms, trong khi đó những biến đổi ở CDKN1C dường như là thích hợp hơn đối với sự phát triển quá mức khác trong hội chứng Beckwth-Widemann. Tuy nhiên, mối quan hệ này rất phức tạp. Điều lý thú là không loại trừ một số trường hợp u Wilms lại được khởi đầu bởi những biến đổi epigenetic.*

# CHƯƠNG XIII: UNG THƯ DA

## 13.1. SỰ SINH UNG THƯ (CARCINOMA) Ở DA

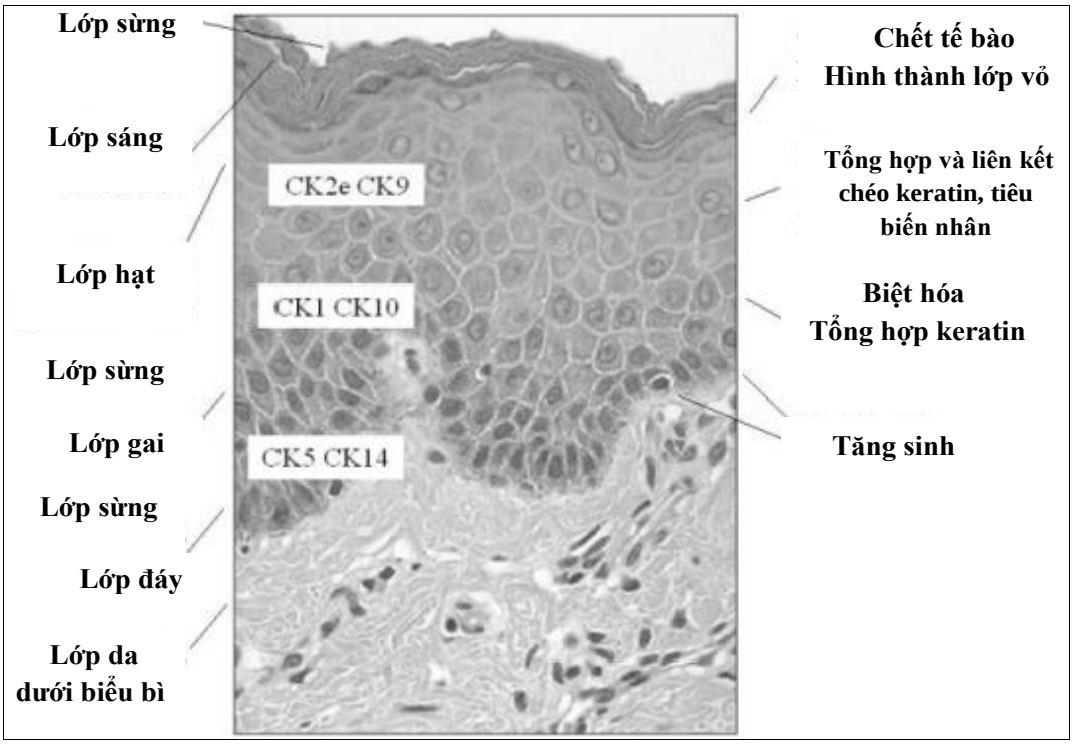
Da là tổ chức lớn nhất ở người. Vì da che phủ và bảo vệ mặt ngoài nên là đối tượng dễ bị tổn hại do cơ học, đồng thời da cũng tiếp xúc với nhiều chất sinh ung thư như các chất hóa học, các tác nhân thâm nhiễm và bức xạ. Do đó, bắt buộc da phải có khả năng sửa chữa và tái sinh mạnh mẽ. Đòi hỏi này được đáp ứng nhờ sự quay vòng liên tục lớp biểu bì với việc sắp lại cấu trúc và tối thiểu hóa tác động của các tác nhân sinh ung thư cũng như bảo vệ cơ thể nói chung và da nói riêng khỏi bị ung thư (Hình 13.1).

Lớp ngoài cùng của biểu bì (sừng) bao gồm các TB sừng chết liên kết ngang được lấp đầy với các protein hình sợi. Lớp này hình thành nên một hàng rào để loại đi nhiều tác nhân thâm nhiễm, phản ứng với các chất hóa học và hấp thụ bức xạ. Các lớp phía dưới (tầng hạt và gai) được hình thành bởi các TB sống không biệt hóa tận cùng. Vì thế, những biến đổi di truyền ảnh hưởng đến các TB này sẽ là các thông số hiếm, bởi vì các TB sẽ trở nên mất khả năng tăng sinh, mất nhân và thực chất là bị loại trừ do rơi rụng đi. Ngay cả lớp biểu mô ở da thì hoạt tính tăng sinh cũng bị giới hạn mạnh, lớp này bao gồm chủ yếu là các TB có tiềm năng sao chép giới hạn. Chúng hình thành nên một bộ phận (compartment) khuếch đại nhất thời. Các TB gốc thật sự của da rất hiếm và có lẽ là tăng sinh bình thường rất chậm, ngoại trừ trong quá trình sửa chữa vết thương.

Yếu tố khác trong việc bảo vệ kháng lại sự thâm nhiễm và sinh ung thư là hệ thống miễn dịch của da. Các *tế bào Langerhans chính là các tế bào tua (dendritic cell)* trình diện các kháng nguyên tới tế bào T để được nhận diện rồi sinh ra đáp ứng miễn dịch kháng lại các tác nhân gây thâm nhiễm và các tế bào ung thư.

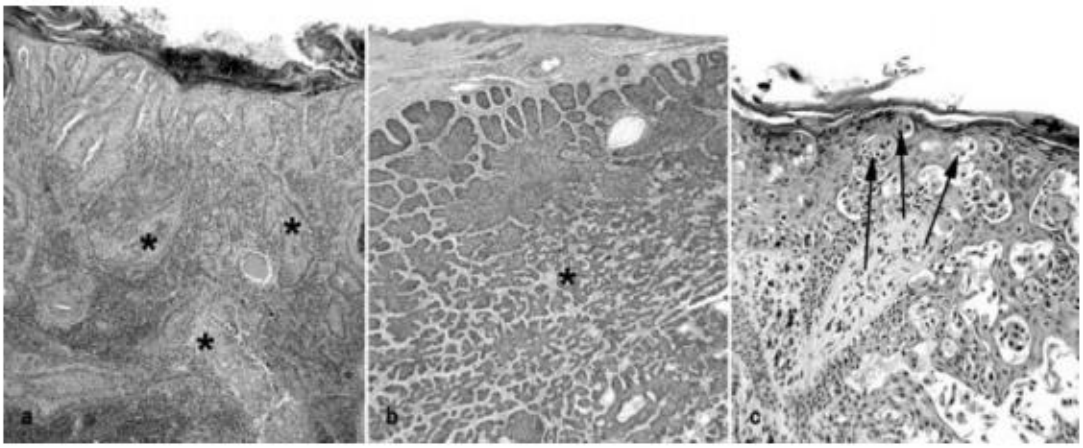
Các TB tạo sắc tố (melanocyte) trợ giúp cho việc bảo vệ một cách đặc biệt kháng lại ánh sáng vì nó tạo ra sắc tố melanin rồi "gửi" vào các tế bào tạo sừng. Khi chúng biệt hóa thì mang theo cả các sắc tố tới các lớp trên của da. Mức sắc tố là yếu tố rõ ràng nhất điều biến các nguy cơ ung thư da.

Mặc dầu hệ thống bảo vệ của da rất phức tạp, nhưng da lại là nơi hay bị ung thư nhất ở người. Nguy cơ tổng thể trong suốt thời gian sống đối với tất cả các bệnh nhân ung thư da được xác định là 30-40% với những người châu Âu (Tây Bắc). Có 3 dạng ung thư da phổ biến khác nhau là carcinoma TB đáy (BCC), carcinoma TB vảy (SCC) và melanoma (Hình 13.2). Melanoma cho đến hiện giờ vẫn là bệnh nguy hiểm nhất trong số các ung thư này, chiếm khoảng 20% tất cả các trường hợp. SCC cũng hiếm khi di căn, còn BCC thì hầu như là không.




**Hình 13.1** *Tổ chức bảo vệ của da*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)




**Hình 13.2** *Tổ chức học của ung thư da*

Các khía cạnh về tổ chức học của (A): carcinoma tế bào vảy; (B): carcinoma tế bào đáy; (C): melanoma. Ở (C) các tế bào ung thư trong biểu bì được chỉ bằng các mũi tên.

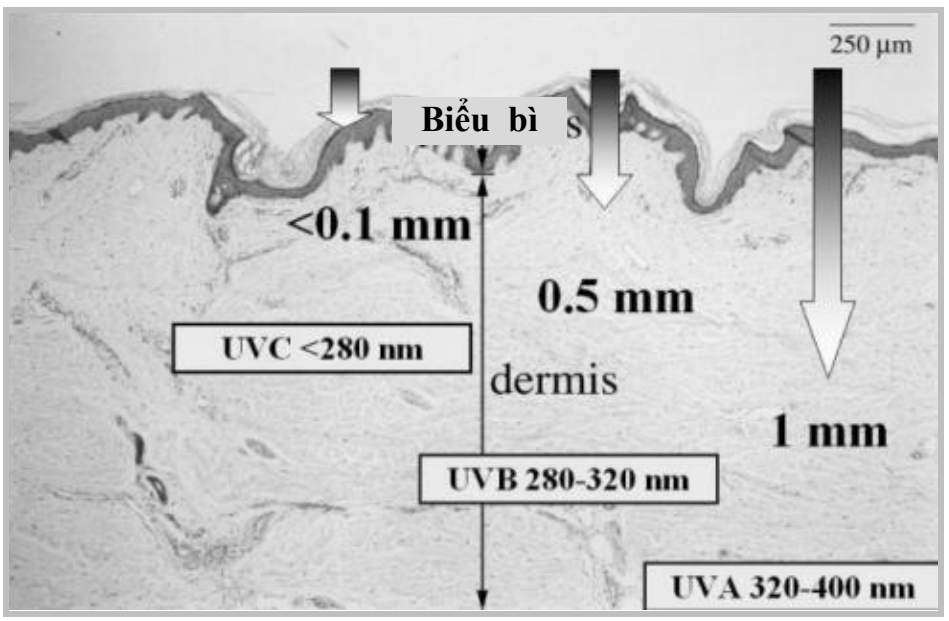
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Tần suất của 3 dạng ung thư này tăng lên trong những thập kỷ qua, thường theo một đường dốc. Điều đặc biệt lo ngại ở đây là những trường hợp melanoma đe dọa tới đời sống. Nguyên nhân của việc nảy sinh ung thư da là do tăng tiếp xúc với ánh sáng mặt trời giàu UV. Trong khi, nguy cơ của các ung thư da được điều biến bởi nhiều yếu

tố di truyền, thì ánh sáng sóng ngắn là nguyên nhân sinh ung thư quan trọng nhất từ bên ngoài đối với da. Phù hợp với quy luật đó, hầu hết các ung thư da SCC và BCC- mức độ thấp hơn melanoma đều phát triển ở những vùng da có tiếp xúc nhiều với ánh sáng.

Các tia cực được phân loại theo chiều dài bước sóng là UVC (200-300nm), UVB (280-320nm) và UVA (320-400nm). UVC không xuyên qua được lớp trên của da, nhưng khoảng 4% UVB và vài % UVA tới được lớp đáy của biểu bì (Hình 13.3). Một số UVA thậm chí còn xuyên qua biểu bì, như phần lớn các ánh sáng có thể nhìn thấy được. Mức độ UVA và ánh sáng nhìn thấy tới được các lớp sâu hơn của da là tùy thuộc vào cường độ tạo sắc tố.

Có hàng loạt hiệu ứng trên da khi tiếp xúc với ánh sáng mặt trời. Với liều vừa phải thì rất ích lợi, nhưng với liều cao hơn của ánh sáng giàu UV lại là một vấn đề. Với DNA thì UVC có thể cảm ứng bẻ gãy chuỗi đơn và chuỗi kép thậm chí còn ion hóa các base do sự tác động trực tiếp. Giống như bức xạ ion hóa, nó cũng tạo ra các mẫu oxy phản ứng như các gốc hydroxyl gây tổn hại DNA do phản ứng với các base và deoxyribose-phosphate. Vì thế, hậu quả điển hình là làm chết các tế bào khi tiếp xúc với UVC.




**Hình 13.3** *Tác động của các bức xạ sóng dài khác nhau trên da*
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Hiệu ứng của UVB thì tinh tế hơn và vì thế cũng nguy hiểm hơn. UVB có thể được DNA hấp thụ mặc dù với mức độ yếu, dẫn đến tạo thành các sản phẩm của phản ứng quang hóa như dimer thymine và các sản phẩm cộng 6-4 thymine-cytosine. Thường thì những chất này vẫn được loại bỏ thông qua sửa chữa cắt bỏ nucleotide. Do vậy,

những khiếm khuyết di truyền trong sửa chữa cắt bỏ nucleotide gây nên bệnh khô da sắc tố, đặc trưng bởi tăng nhạy cảm với ánh sáng cũng như gia tăng các nguy cơ ung thư da.

Sự tổn hại lớn của DNA do bức xạ UV sẽ làm hoạt hóa trạm kiểm soát tế bào và kích hoạt TP53 có thể khởi đầu apoptosis. Điều này xảy ra với tỷ lệ lớn khi bị cháy nắng. Vì thế, trong nhiều ung thư da việc bất hoạt TP53 là bước khởi đầu cần thiết, nó xảy ra trước các đột biến khác. Thực sự thì các đột biến TP53 có thể phát hiện được qua sự biến đổi hình thái học, trừ những vùng da chưa bị ung thư hóa.

UV chỉ gây đột biến nhẹ nhưng lại cảm ứng các phản ứng TB ở các dạng TB da khác nhau như điều biến đáp ứng miễn dịch, thay đổi việc sản xuất cytokine và kích hoạt các đáp ứng stress và con đường tín hiệu tăng sinh. Hiện nay người ta cho rằng những biến đổi về các tương tác tế bào cũng đóng góp vào hiệu ứng ung thư do bức xạ UV, gây ra bởi UVA và UVB. Giảm giám sát miễn dịch bởi các TB Langrhans dendritic và các tế bào T gây độc TB có thể là đặc biệt quan trọng. Trên thực tế, ngay cả khi đã biểu hiện carcinoma da thì vẫn có thể điều trị được bằng các tác nhân kích thích tế bào T như "imiquimod".

Mô hình phức hợp về sự tác động của UV cho thấy việc sinh ung thư đòi hỏi phải có nhiều đột biến ở DNA. Đặc biệt là liên quan đến sự biến đổi môi trường của mô, ở đó các TB ung thư có thể tăng sinh một cách dễ dàng, thoát khỏi các tương tác với các TB lân cận và lẩn tránh được các đáp ứng miễn dịch. Vì thế, các chất sinh ung thư mạnh đã gây ra các phản ứng mô và tỷ lệ đột biến cao. Chẳng hạn như khói thuốc lá hít vào phổi cũng tác động theo một số phương thức, tất nhiên trước hết là với tư cách chất gây đột biến do các polyamomate như benzopyrene, nhưng sự chết của tế bào còn liên quan đến quá trình sửa chữa mô, viêm nhiễm mạn tính do các hạt nhựa đường (tar) và các hạt bụi nhỏ khác cũng như hiệu ứng ức chế trực tiếp (không đột biến) của nicotine lên các TB bình thường trong mô.

## 13.2. CARCINOMA TẾ BÀO VẢY (SCC)

Carcinoma TB vảy (SCC) bao gồm các TB biểu mô biệt hóa thể hiện nhiều marker đặc trưng của các TB tạo sừng biệt hóa như keratin, invocrin và các protein cấu trúc. Tuy nhiên, không giống như các TB tạo sừng bình thường, các tế bào SCC không ngừng tăng sinh mà không bị chết, đồng thời mô trở nên mất trật tự nghiêm trọng. SCC phát triển từ các tổn thương "tiền thân" như dày sừng quang hóa (actinic keratose). Đôi khi chúng tiến triển tới xâm lấn và thậm chí là di căn.

Hầu như không thay đổi, SCC thể hiện các đột biến ở gen TP53 và thường mất dị hợp tử ở 17p, nơi định vị của gen. Những đột biến như thế cũng rất phổ biến ở dày sừng quang hóa. Khi bị cháy nắng thì có sự kích hoạt TP53 làm cho các TB biểu bì chết vì apoptosis.

Những TB sống sót có thể cũng sẽ phản ứng như vậy bởi vì chúng đã có các đột biến ở gen. Điều này có thể thiết lập nên giai đoạn phát triển trong tương lai của ung thư da.

Đặc biệt là, các đột biến TP53 ở da và carcinoma da như SCC định vị tại dinucleotide pyrimidine- pyrimidine, điều đó đã xác định được rằng chúng do bức xạ UV. Sự hấp thụ UVB bởi DNA tạo nên dimer Py-Py, hoặc cyclobutane hoặc các sản phẩm quang hóa 6-4. Những chất này thường bị loại bỏ nhờ cơ chế sửa chữa cắt bỏ nucleotide, nhưng trong một số hiếm trường hợp chúng lại được bỏ qua do lỗi trong tổng hợp DNA, tức là khi sử dụng polymerase η . Trong kiểu sửa chữa này, nếu dipyrimidine đã bị tổn hại không thể đọc được thì trình tự AA sẽ được cài thêm vào theo mặc định. Điều đó làm cho chúng ta đến tận bây giờ vẫn có cảm giác dimer thymine-thymine là phổ biến nhất. Tuy nhiên, các dinucleotide TC và CC thì không được sửa chữa trong chiến lược này. Vì thế, UBV cảm ứng các đột biến TC→TT hoặc CC→TT ở các vị trí dimer pyrimidine. Chính xác là, các đột biến thường hay được phát hiện nhất ở TP53 trong SCC và các carcinoma da khác do nó có liên quan đến UBV đáp ứng với tư cách là tác nhân gây carcinoma.

Mối liên hệ này là một ví dụ về dịch tễ học phân tử. Nếu một biến đổi phân tử đặc biệt có liên quan đến một chất gây ung thư đặc hiệu thì có thể xác định được mức độ ung thư  do các chất gây ung thư đó. Chẳng hạn như, aflatoxin là một chất gây ung thư lại cộng thêm guanine đặc hiệu ở gen TP53 thì sẽ gây đột biến 249G→T. Bởi vậy, theo sau sự biến đổi này người ta có thể chứng minh được rằng aflatoxin đã góp phần đáng kể vào ung thư gan ở châu Phi và châu Á chứ không phải là châu Âu và Bắc Mỹ. Tuy nhiên, cách tiếp cận này cũng bị hạn chế bởi vì nhiều chất sinh ung thư không để lại dấu vân tay đặc hiệu hoặc một số chất sinh ung thư có thể lại cùng có một loại dấu. Chẳng hạn như, trong một thời gian các đột biến C→T ở các vị trí CpG chủ yếu là do tăng tỷ lệ đột biến của các cytosine methyl hóa sau sự deamin hóa tự phát, do vậy mà đổ oan cho các chất sinh ung thư ngoại sinh. Tuy nhiên, gần đây hơn các cytosine methyl hóa được chỉ rõ là ưu tiên cho việc phản ứng với một số chất gây ung thư kích hoạt, và nó lại mở ra các vấn đề tranh cãi.

Bất hoạt TP53 ở SCC có lẽ sẽ dẫn đến giảm apoptosis và là dấu hiệu của bất ổn định hệ gen. Một biến đổi phù hợp thứ 2 trong ung thư này là mất NST 9, đặc biệt là cánh ngắn có chứa gen CDKN2A. Việc mất $p16^{IK4A}$ rõ ràng là có liên quan đến sự tiến triển của dày sừng quang hóa tới carcinoma. Điều đó có thể góp phần làm mất điều hòa chu kỳ tế bào dẫn đến tăng sinh liên tục và thất bại trong biệt hóa cuối cùng của các TB ung thư. Trong một số SCC, việc mất 13q nghi là sẽ dẫn đến giảm hoặc thủ tiêu chức năng của RB1, hệ quả sinh học về cơ bản là tương tự như mất $p16^{INK4A}$. Mất $p16^{INK4A}$ hoặc RB1 cũng được phát hiện ở nhiều carcinoma người, đặc biệt là các carcinoma có kiểu hình biệt hóa hơn.

Trong khi CDKN2A nói chung được chấp nhận là đại diện cho đích quan trọng của mất 9q ở SCC, thì các gen liên quan bị ảnh hưởng bởi mất 9q thường xuyên thì vẫn chưa rõ. Trong carcinoma TB đáy của da và một số ung thư khác, sự mất mát này cũng góp phần làm giảm chức năng của PTCH1. Sự thay đổi này rõ ràng là không liên quan đến sự phát triển của SCC. Thay vì, locus dự kiến được đặt tên là ESS1 ở vùng 9q22-31 là có liên quan qua phân tích liên kết với số lượng ít các gia đình và dường như nó là một chất kiềm chế khối u cổ điển.

*Một số biến đổi khác trong SCC (Bảng 13.1) đặc trưng cho nhiều ung thư biểu mô:*

(1) Mất 3p không chỉ phát hiện thấy ở SCC của da mà còn thấy ở SCC vùng đầu và cổ do các nguyên nhân khác nhau cũng như trong các ung thư phổi. Trong các dạng ung thư này thường là có biến đổi NST. Mất 3p thậm chí còn được chẩn đoán cho carcinoma TB sáng của thận, ở đó nó góp phần vào việc làm mất chức năng của gen VHL kiến tạo nên sự kiện người gác cổng trong dạng u này. VHL vẫn còn chức năng trong các ung thư khác, bao gồm cả SCC da. Vì thế, các gen kiềm chế khối u tiềm năng khác trên 3p được cho là quan trọng hơn ở SCC. Các ứng cử viên tốt là RASSF1A và RARB2. RARB2 là receptor cho acid retinoic được biết đến là đóng vai trò điều hòa tăng sinh và đặc biệt là biệt hóa lớp biểu bì.

(2) KRAS hoặc HRAS bị đột biến ở SCC với tần suất vừa phải. Có lẽ sự bất hoạt của RASF1A sẽ chuyển tiếp một tín hiệu làm giới hạn sự tác động của RAS, xảy ra với tư cách là một thay đổi bổ cứu cho những đột biến này. Việc kích hoạt RAS do đột biến chắc chắn là đa dạng và có thể lại sinh ra tín hiệu tăng sinh thông qua con đường MAPK và/hoặc tín hiệu kháng apoptosis thông qua con đường PI3K. Trong cả 2 trường hợp chúng đều góp phần vào sự không phụ thuộc các yếu tố tăng trưởng ngoại sinh.

(3) Sự hoạt động quá mức của EGFR như là hệ quả của sự khuếch đại gen hoặc kích thích tự tiết (autocrine stimulation) bởi các yếu tố giống EFGR dự kiến là sẽ có những hệ quả tương tự. Lại một lần nữa, đây là một sự thay đổi rất phổ biến ở carcinoma người, xảy ra tại giai đoạn sớm của sự phát triển, liên quan tới sự tiến triển và di căn ở một số ung thư khác. SCC dường như là thuộc nhóm thứ hai. Người ta suy đoán như sau: sự tăng sinh ở biểu bì bình thường được được điều hòa bởi các tương tác cận tiết (paracrine) với các tế bào trung mô ở lớp hạ bì phía dưới (cơ bản). Tăng hoạt tính của EGFR có thể làm giảm sự phụ thuộc của các TB ung thư lên các kích thích cận tiết và cho phép chúng sống sót được ở nhiều môi trường, vì thế mà tạo nên được điều kiện tiên quyết cho sự xâm lấn và di căn.

Vậy là SCC dường như ít ác tính hơn các carcinoma khác nhưng nó lại thể hiện có sự ráp nối các biến đổi ở các ung thư này. Những biến đổi này bao gồm sự bất hoạt hệ thống điều hòa TP53 và RB1, kích hoạt con đường phụ thuộc RAS, hoạt động quá mức của EGFR và mất 3p.

***Bảng 13.1.*** *Những biến đổi di truyền phổ biến ở các ung thư da khác nhau*

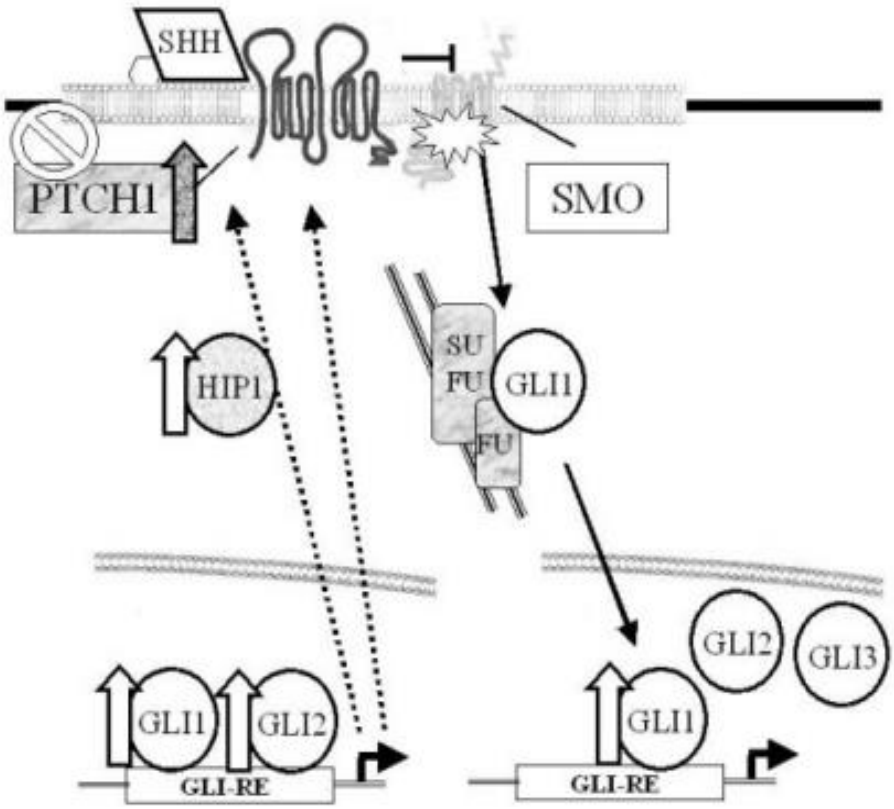
| Carcinoma tế bào vảy | Carcinoma tế bào đáy | Melanoma |
|---|---|---|
| Đột biến TP53 và mất dị hợp tử LOH | Đột biến TP53 và mất dị hợp tử LOH | Đột biến TP53 và mất dị hợp tử |
| Bất hoạt CDKN2A | Bất hoạt PTCH1 hoặc kích hoạt SMO sinh ung thư | Bất hoạt CDKN2A |
| Mất nhiễm sắc thể 9q | Đột biến HRAS | Đột biến HRAS hoặc BRAF |
| Mất nhiễm sắc thể 13q | | Mất nhiễm sắc thể 6q |
| Mất nhiễm sắc thể 3p | | Bất hoạt PTEN |
| Đột biến HRAS hoặc KRAS | | Mất đáp ứng TGFRβ |
| Biểu hiện quá mức EGFR | | |

## 13.3. CARCINOMA TẾ BÀO ĐÁY (BCC)

Trong số những carcinoma rất khác biệt với SCC da là carcinoma tế bào đáy (BCC). Trong khi các TB ung thư ở SCC giống như các TB tạo sừng biệt hóa thì trong BCC lại giống như các tế bào lớp đáy (cơ bản) và thực sự là có mang các marker điển hình như cytokeratine tế bào đáy (CK5 và CK14) và các integrin (α2β1). Tuy nhiên trong khi tăng sinh như các TB đáy nhưng chúng lại không biệt hóa. Hơn nữa, sự tăng sinh trong khối u là không giới hạn đối với các tế bào ở lớp đáy.

Các biến đổi di truyền quan trọng ở BCC dẫn đến kích hoạt kiến tạo con đường hedgehog (SHH). Con đường này thường bị kích hoạt ở da do có sự gắn kết của SHH (sonic hedgehopg) với protein ráp nối (patche) PTCH1 (Hình 13.4). Điều này dựa trên cơ sở là do ức chế của SMO (smoothened) bởi PTCH khởi động thác nội bào SHH. Các bước tiếp sau sự hoạt hóa SMO hiện chưa rõ, nhưng có thể là có liên quan đến kích thích protein G và phải tuân thủ một số hình thức điều hòa bởi protein kinase A. Các thành phần tiếp theo được biết chính xác là Fused và SUFU (suppressor of Fused) - một bộ phận của phức hợp protein định vị ở các vi ống. Phức hợp này gắn với *các yếu tố sao chép GLI* để duy trì chúng ở trạng thái bất hoạt.

Có 3 protein GLI đã được biết ở người. Trong đó, GLI1 và GLI2 được kích hoạt bởi SHH ở các TB đáy của da. Các yếu tố này sẽ dịch chuyển tới nhân để kích hoạt các gen đích của con đường. Trong số các protein cảm ứng trực tiếp hay gián tiếp có các yếu tố hoạt hóa sự tăng trưởng và tăng sinh TB như cyclin D1 và MYC, các gen yếu tố sao chép FOXM1 và PTCH1 cũng như các protein màng khác HIP1, hoạt động với tư cách là một chất ức chế phản hồi của con đường, cùng với PTCH1. GLI1 và GLI2 cũng được điều hòa bởi tín hiệu SHH.




**Hình 13.4** *Những biến đổi trong con đường SHH ở SCC của da*

Hầu hết các BCC ở da đều chứa đựng hoặc các đột biến kiến tạo kích hoạt SMO (sao vỡ) hoặc bất hoạt cả 2 allele của PTCH1 (tín hiệu tiền ức chế). Kết quả là, hoạt tính của con đường tăng lên và các gen đích bị cảm ứng, bao gồm GLI1, GLI2, HIP1 và PTCH1 (mũi tên).

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Hoạt tính của con đường SHH thường bị hạn chế trong một tập hợp nhỏ các TB đáy ở biểu bì và các TB này được xác định như là các tế bào tiền thân tạo sừng có các đặc trưng của TB gốc. Không rõ là việc giới hạn đối với tập hợp nhỏ này đạt được như thế nào. Có thể là con đường NOTCH có khả năng kiềm chế các tín hiệu hedgehog. Vậy thì lý do tại sao mà con đường NOTCH lại có xu hướng bị bất hoạt ở BCC?, đó là những câu hỏi cần có sự trả lời một cách chuẩn xác.

Sự kích hoạt kiến tạo con đường SHH trong SCC có thể xảy ra bởi một trong số các cơ chế sau. Thường gặp nhất là mất chức năng PTCH1 do bất hoạt cả 2 allele. Gen PTCH1 định vị ở 9q22. Nhiều BCC bộc lộ mất dị hợp tử ở khu vực này và có sự bất hoạt các đột biến trong allele còn lại. Không có gì ngạc nhiên vì UVB cũng có liên quan với tư cách là chất gây ung thư BCC, một số đột biến ở PTCH1 cũng bộc lộ dấu ấn đặc trưng của chất gây ung thư này.

Vì sự bất hoạt của PTCH1 dẫn đến tăng hoạt tính con đường SHH, mà trong đó bản thân nó đã là một đích sao chép nên BCC sẽ biểu hiện quá mức mRNA của PTCH1 đột biến. Thực tế là, đặc trưng của sự kích hoạt con đường SHH là sự biểu hiện quá mức một số gen đích bao gồm cả những gen mã hóa cho yếu tố GLI và HIP1.

PTCH1 cũng là gen đột biến dòng mầm trong các bệnh nhân có hội chứng ung thư biểu mô tế bào đáy dạng nốt ruồi (nevoid basal cell carcinoma) (NBCCS hoặc hội chứng Gorlin), một bệnh di truyền trội hiếm gặp trên NST thường. Các bệnh nhân phát triển nhiều nốt ruồi và BCC ở lứa tuổi tương đối trẻ, ngay cả lúc còn đang ở thời niên thiếu hoặc thường xung quanh tuổi dậy thì. Giống như BCC rải rác, các bệnh nhân có hội chứng Gorlin cũng thường phát triển bệnh ở những vùng có tiếp xúc với ánh sáng. Tuy nhiên, LOH ở 9q22 cũng phát hiện thấy ở các khối u này. Như vậy, PTCH1 cũng là một gen kiềm chế khối u theo như định nghĩa của Knudson và thuộc lớp "người gác cổng". Các bệnh nhân có hội chứng Gorlin cũng có nguy cơ của một số ung thư chọn lọc khác, bao gồm cả u nguyên bào tủy (medulloblastoma). Thực sự thì nhiều trường hợp rải rác của dạng u não này, nhưng không phải là u thần kinh đệm cũng chứa các đột biến trong các gen thuộc con đường SHH.

Có cả một bộ các hội chứng Gorlin lạ, khác với các hội chứng ung thư "người gác cổng". Các bệnh nhân thường thể hiện nhiều đặc trưng về các bất thường phát triển, chủ yếu là với hệ xương khớp. Những hội chứng này dường như là không đòi hỏi phải có sự bất hoạt allele thứ 2 của PTCH1 hoặc chức năng âm trội của sản phẩm gen đột biến. Vì tín hiệu hedgehog đặc biệt quan trọng trong quá trình phát triển nên trong một số cơ quan việc biểu hiện một allele PTCH1 nguyên vẹn có thể là vẫn chưa đủ để đảm bảo chắc chắn cho việc điều hòa thích hợp con đường này. Do đó, PTCH1 có thể biểu lộ có sự thiếu hụt đơn bội (haploinsufficiency) liên quan đến chức năng của nó trong quá trình phát triển con người. Rõ ràng là, vấn đề này sẽ đặt ra câu hỏi liệu haploinsufficiency của gen có thể xảy ra trong ngữ cảnh phát triển khối u hay không?

Biến đổi thường gặp nhất thứ hai dẫn đến kiến tạo tín hiệu SHH ở BCC – cũng như trong u nguyên bào tủy là các đột biến ở SMO1. Những biến đổi này xảy ra ở các vị trí đặc biệt và dẫn đến việc kiến tạo hoạt tính của protein. Đặc biệt là chúng "thủ tiêu" sự điều hòa của SMO bởi PTCH1. Trong một thời gian người ta nghĩ rằng, các đột biến này gây ảnh hưởng tới sự tương tác giữa 2 protein. Nhưng ngày nay người ta lại cho rằng PTCH1 điều hòa SMO một cách gián tiếp với phương thức non-stochiometric bằng cách hướng tới một chất ức chế phân tử thấp. Như vậy, các đột biến đã phòng ngừa được sự gắn kết của chất ức chế "chưa biết" này. Vì PTCH1 được coi như là một chất kiềm chế khối u nên SMO rõ ràng là gen tiền ung thư bị kích hoạt bởi các đột biến điểm đặc hiệu.

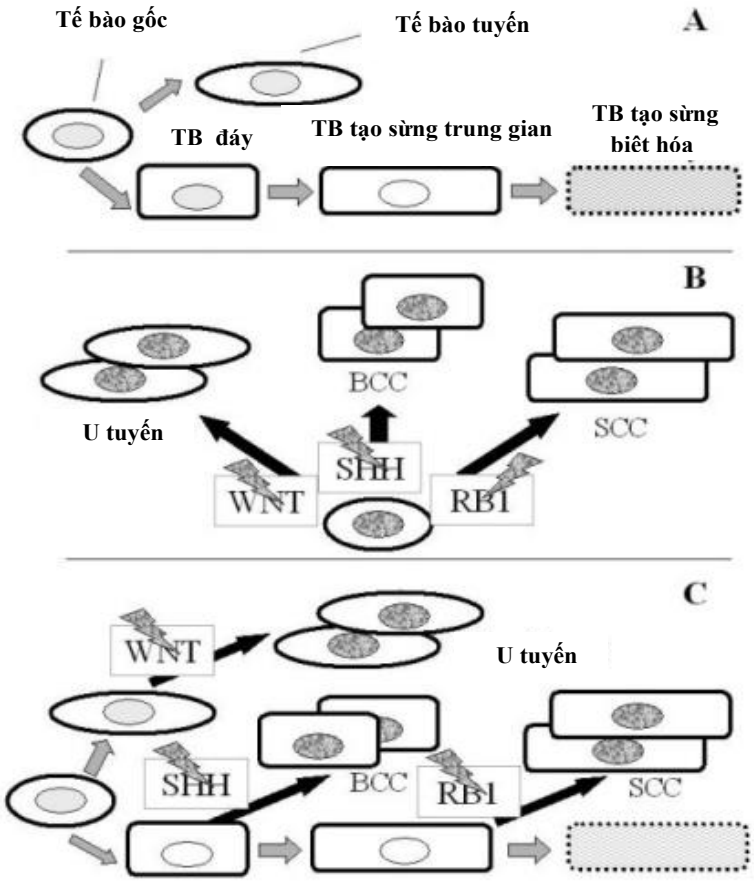
Việc bất hoạt PTCH1 và kích hoạt gen ung thư của SMO rất có khả năng không phải là các biến đổi duy nhất dẫn đến sự hoạt động quá mức của SHH ở BCC. Các biến đổi ở PTCH12 cũng có thể sẽ quan sát thấy, bởi vì con đường này vẫn chưa được sáng tỏ hoàn toàn. Tuy nhiên, các cách thức riêng biệt của sự kích hoạt cũng xảy ra ở các ung thư khác. Chẳng hạn như sự khuếch đại vùng 12q nơi GLI1 định vị gần với HDM2 có thể không chỉ dẫn tới biểu hiện quá mức HDM2 mà cả GLI1 nữa.

Một cơ chế hoàn toàn khác hoạt động ở ung thư phổi TB nhỏ (SCLC). SCLC cũng được coi như là một loại ung thư tế bào gốc, trong một chừng mực nào đó nó bao gồm cả các tế bào nội thần kinh (neuroendocrine) mà người ta nghĩ rằng nó được tạo ra do sự kích hoạt các TB gốc của mô. Tuy nhiên, trong trường hợp này vòng SHH tự tiết có thể là để đáp ứng cho sự hoạt động quá mức của con đường này. Cơ chế này cũng quan sát thấy ở một số carcinoma tụy.

Tất nhiên, ở BCC không chỉ có sự thay đổi về sự kích hoạt con đường SHH (Bảng 13.1). Những sự biến đổi gen khác cũng có xảy ra và có khả năng là cần cho việc phát triển và tiến triển của ung thư này. Trong SCC, cũng quan sát thấy các đột biến của RAS và TP53 rất hay bị bất hoạt. Tuy nhiên, đáng kể là những biến đổi ở con đường RB1 dường như là cũng cần thiết với BCC như là với SCC.

Ngoài BCC và SCC, còn có các ung thư khác được bắt nguồn từ dòng tế bào tạo sừng. Các TB tạo sừng cùng chung TB tiền thân với các TB chân tóc (hair bulge) và các tuyến nhờn nơi mà hiếm khi nảy sinh ra các khối u. Lại một lần nữa khẳng định nó được đặc trưng bởi các mẫu hình  khác nhau của sự biến đổi di truyền, như sự kích hoạt con đường WNT ở u nang tóc chẳng hạn.

Điều này gợi ý rằng có 2 khả năng luân phiên nhau để nhiều khối u có thể phát sinh (Hình 13.5). Có khả năng là, mỗi một dạng ung thư được hình thành bởi các đột biến khác nhau ở TB tiền thân của mô bình thường. Các đột biến gây trở ngại cho hệ thống điều hòa RB1 có thể dẫn đến SCC bởi vì các TB tạo sừng có thể biệt hóa nhưng không rời khỏi chu kỳ tế bào, trong khi đó các đột biến lại kích hoạt con đường SHH làm dừng sự phát triển của các TB tạo sừng ở giai đoạn tế bào đáy, điều đó có nghĩa là khả năng thứ 2 - các TB sẽ ở giai đoạn "phạm tội" cao hơn đồng thời sự biệt hóa cần đòi hỏi các dạng biến đổi di truyền khác nhau để chuyển chúng thành các TB ung thư. Chẳng hạn như, việc hoạt hóa con đường SHH sẽ không thể cảm ứng sự hình thành khối u một lần nữa sau một thời gian nhất định đã đạt tới sự biệt hóa các TB tạo sừng. Nhờ có được các phương tiện hiện đại đã làm sáng tỏ cơ sở phân tử của các ung thư da và khẳng định được rằng trị liệu phân tử đặc hiệu cần được hướng vào các đích khác nhau ở BCC, SCC cũng như các ung thư da khác.




**Hình 13.5** *Các dòng tế bào, các con đường và nguồn gốc của các ung thư da khác nhau*

A: Các dòng tế bào ở da bình thường (đơn giản hóa). Một giả thiết được minh họa ở B cho rằng, những biến đổi trong các con đường điều hòa khác nhau dẫn đến các dạng ung thư khác nhau, tức là những biến đổi của con đường WNT gây nên các u tuyến, biến đổi của con đường SHH dẫn đến carcinoam tế bào đáy (BCC), trong khi rối loạn chức năng RB1 gây nên carcinoma tế bào vảy biệt hóa. Một giả thiết khác được thể hiện ở C cho rằng, những biến đổi trong những con đường này xảy ra ở các nhánh khác nhau ở các giai đoạn khác nhau của dòng tế bào.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

## 13.4. U HẮC SẮC TỐ (MELANOMA)

Ung thư da thứ ba thường gặp nhất là u hắc tố (melanoma), bắt nguồn từ các tế bào hắc tố (melanocyte). Những tế bào này thuộc dòng tế bào phân biệt tương tự như các tế bào tạo sừng (keratinocyte). Trong quá trình phát triển, các tiền thân melanocyte di cư khỏi mào thần kinh tới lớp đáy của da. Các melanocyte chuyên tổng hợp sắc tố melanin từ tyrosine. Các enzyme tổng hợp melanin như tyrosinase chỉ biểu hiện ở dạng tế bào này. Sắc tố không hòa tan này được vận chuyển bởi quá trình phân nhánh (dendritic) tới các tế bào tạo sừng biểu bì lân cận và "gửi" chúng vào đó. Các tế bào tạo sừng biệt hóa sẽ vận chuyển melanin tới các lớp trên của da, ở đó nó làm nhiệm vụ hấp thụ các ánh sáng nhìn thấy cũng như các UV để bảo vệ các tế bào sống của da.

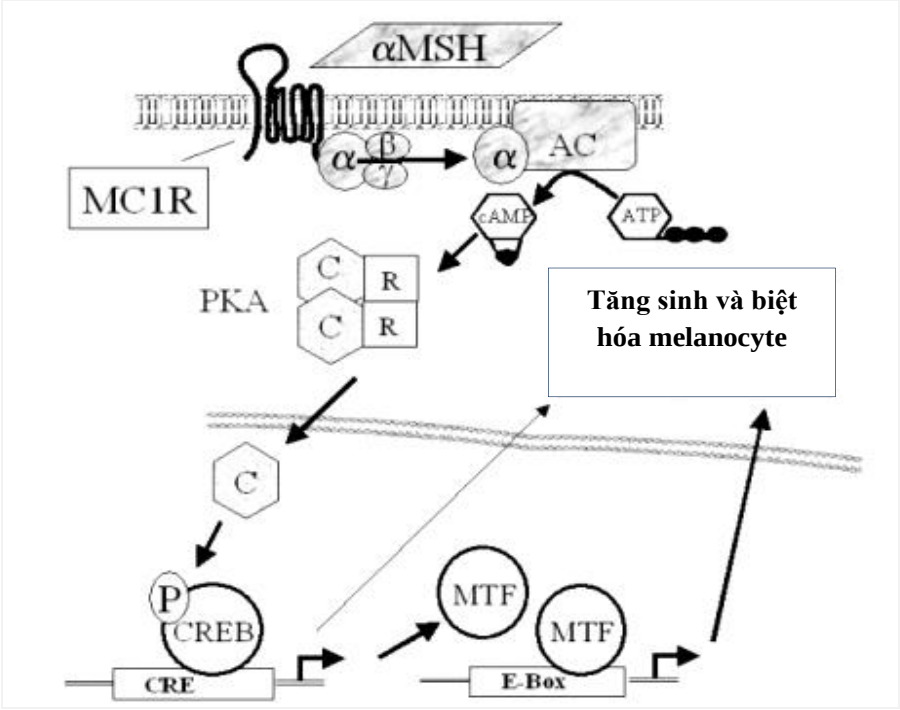
Sự hình thành sắc tố da ở người biến đổi rất nhiều từ mất hoàn toàn do đột biến ở tyrosinase (‘albino’) tới rất tập trung, ví dụ như ở các cư dân châu Phi xích đạo. Ở hầu hết mọi người sắc tố có thể bị cảm ứng khi tiếp xúc với ánh sáng mặt trời. Tuy nhiên, được điều tiết bởi sự tương tác giữa các melanocyte với các tế bào tạo sừng xung quanh cũng như hormone αMSH (melanocyte stimulating hormone).

Những sự khác biệt về sắc tố và tính cảm ứng của nó theo các nhà da liễu thì tùy thuộc vào thể loại (type) da. Chẳng hạn như, những người type da I có sắc tố thấp và rất ít bị cảm ứng, trong khi đó những người type da II có nước da tương đối tái (không sáng) nhưng lại phát triển một số sắc tố để đáp ứng với ánh sáng mặt trời. Da type I phổ biến ở các cư dân Bắc và Tây Bắc Âu, có lẽ đó là sự tiến hóa thích nghi khi tiếp xúc với ánh sáng mặt trời kém gay gắt. Vì thế những người Bắc Âu đi du lịch hay di cư tới các vùng có tiếp xúc với ánh sáng mặt trời gay gắt thì đó là yếu tố chủ chốt báo động về sự nảy sinh ung thư da. Thể loại da chủ yếu gây nên bởi các đa hình αMSH receptor MC1R. Như vậy, MC1R là gen có khuynh hướng ung thư.

Melanoma gây chết người nhiều hơn BCC và SCC bởi vì tiềm năng xâm lấn và di căn mạnh hơn. Tuy nhiên, nhiều biến đổi di truyền trong ung thư này cũng không khác các ung thư khác, đặc biệt là SCC (Bảng 13.1). Mất NST thường ảnh hưởng ở NST 9p và 17p và +cũng góp phần vào việc làm bất hoạt CDKN2A và TP53, allele thứ 2 của những gen này có thể chịu sự đột biến điểm. Những ung thư này đôi khi cũng mang “giai điệu” sinh ung thư UBV nhưng không thường xuyên như ở BCC và SCC. Trong nhiều trường hợp, CDKN2A bất hoạt là do sự xóa bỏ đồng hợp tử làm mất sự biểu hiện của $p14^{ARF1}$ ngoài $p16^{INK4A}$ và trong nhiều trường hợp còn có cả $p15^{INK4B}$. Hiệu ứng tổng thể của những biến đổi này là mất chức năng của hệ thống điều hòa TP53 và RB1 góp phần vào việc bất tử hóa, mất kiểm soát chu kỳ tế bào và bất ổn định hệ gen.

Trong melanoma, mất chức năng $p16^{INK4A}$ có thể là quan trọng đặc biệt. Trong một số gia đình phát triển melanoma có phát hiện thấy các đột biến dòng mầm ở CDKN2A qua các phân tích hóa sinh. Trên thực tế, trong một số gia đình có khuynh hướng bị melanoma thì các đột biến cũng được phát hiện ở CDK4, luôn ảnh hưởng phần nào đến kinase gắn kết với chất ức chế $p16^{INK4A}$. Cần lưu ý rằng, trong một số gia đình dễ bị melanoma đều có mối quan hệ giữa tiếp xúc UV và phát triển ung thư. Như vậy, vấn đề này có thể được coi là một trường hợp đường biên (border-line) giữa các đột biến gen nguy cơ cao và các đột biến điều biến sự nhạy cảm với các tác nhân bên ngoài.

Các đột biến dòng mầm ở CDKN2A cũng quan sát thấy ở các bệnh nhân ung thư tụy, và melanoma cũng xảy ra ở những gia đình này. Tuy nhiên, các đột biến dòng mầm ở CDKN2A không dẫn đến hội chứng ung thư nghiêm trọng như hội chứng Li-Fraument do các đột biến TP53. Điều này chắc chắn là bất ngờ trong bối cảnh có sự bất hoạt thường xuyên hàng loạt locus trong các ung thư người.




**Hình 13.6** *Các cơ chế tác động của αMSH*

C và R: các tiểu đơn vị xúc tác và điều hòa của protein kinase A (PKA).

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Những sự mất NST khác trong melanoma xảy ra ở NST 3p, 6q và 10q. Ở 10q thì dường như là có liên quan đến gen PTEN và trong nhiều ung thư khác ở người, đây có thể là một bước quan trọng trong quá trình tiến triển.

Một bộ biến đổi khác ở melanoma gây kích hoạt con đường MAPK kinh điển. Kích hoạt các đột biến ở gen NRAS xảy ra ở một dưới bộ (subset) melanoma. Trong phương thức bổ cứu, gen NRAS có chứa các đột biến dẫn đến tăng hoạt tính của protein kinase. Có nhiều con đường hiện lên từ RAS cùng 3 gen và protein RAF khác nhau ở người. Tính chất bổ cứu của những đột biến này chỉ rõ rằng, con đường MAPK đặc biệt quan trọng trong sự hình thành u do kích hoạt RAS và BRAS, trong số 3 protein thì có một protein truyền tín hiệu phù hợp nhất.

Cũng có một số bằng chứng về những biến đổi đáp ứng đối với các yếu tố tăng trưởng đặc hiệu melanocyte giống như αMSH ở melanoma.

Vấn đề cấp bách nhất vẫn là cái gì đã làm cho melanoma xâm lấn hơn rất nhiều SCC và BCC? Một số vấn đề liên quan là: (1) Các tế bào tạo sắc tố có quá trình phát triển hữu cơ bắt nguồn từ một dạng tế bào di cư và di động cao, do đó chúng dễ dàng rơi vào cách ứng xử theo mẫu hình (pattern) "thai nhi". (2) Các tế bào melanocyte định vị rất khác thường. Khi chúng là các tế bào đơn ở đáy biểu mô thì duy trì các tiếp xúc tế

bào - tế bào với các tế bào tạo sừng, những tế bào này rất linh hoạt. Do vậy mà nó tách khỏi biểu mô một cách dễ dàng và tăng trưởng hoặc di cư tới lớp hạ bì. (3) Có nhiều biến đổi phân tử ở melanoma liên quan một cách đặc biệt với sự xâm lấn và di căn. Melanoma dường như là biểu hiện cao các metalloproteinase xác định, chúng bộc lộ nhất quán hơn sự điều hòa xuống của đáp ứng với TGFβ, và chúng cũng biểu hiện các receptor chemokine và cytokine cho phép sự "homing" tới các vị trí di căn xác định.

## 13.5. CÁC KHÁNG NGUYÊN KHỐI U

Giảm đáp ứng miễn dịch đối với các tế bào khối u do bức xạ UV được cho là tạo điều kiện để kiến tạo thành phần tác động khởi đầu sinh ung thư. Tuy nhiên, trong quá trình tiến triển của khối u thì các đáp ứng miễn dịch vẫn rất quan trọng. Trong melanoma đã phát hiện thấy các tế bào miễn dịch kháng lại trực tiếp các kháng nguyên tế bào khối u. Một số dạng kháng nguyên khối u đã được trình bày Bảng 13.2.

***Bảng 13.2*** *Các lớp kháng nguyên khối u*

| Dạng kháng nguyên khối u | Ví dụ |
|---|---|
| Đặc hiệu tế bào | Tyrosinase, protein bề mặt melanocyte gp 100 |
| Virus | Các protein virus gây u nhú |
| Oncofetal (ung thư phôi) | Kháng nguyên phôi gây ung thư, α-fetoprotein |
| Ung thư tinh hoàn | Kháng nguyên melanoma (MAGE) |

❑ ***Các kháng nguyên đặc hiệu dạng tế bào:*** Các tế bào melanocyte biểu hiện các protein đặc hiệu mà không thấy ở các dạng tế bào khác. Tất nhiên là bao gồm các enzyme và protein trong sản xuất melanin như tyrosinase cũng như các protein bề mặt như gp 100.

❑ ***Các kháng nguyên virus:*** Một số tế bào khối u có chứa hệ gen virus. Ví dụ SCC da thường chứa hệ gen HPV và vì thế mà hiện diện các kháng nguyên virus trên bề mặt của chúng. Trong khi đó vai trò của HPV trong bệnh nguyên của BCC thì vẫn đang còn tranh cãi, sự biểu hiện các protein virus có thể giúp cho việc duy trì các ung thư này.

❑ ***Biểu hiện gen ung thư phôi:*** Nhiều ung thư biểu hiện các protein sai vị trí. Một số trong đó thường chỉ biểu hiện ở các mô phôi thai tương ứng vì thế nên gọi là kháng nguyên ung thư phôi thai (oncofetal antigen). Các kháng nguyên sinh ung thư phôi thai (CEA) trong các khối u đường tiêu hóa và AFP ở ung thư gan thuộc thể loại này.

❑ ***Các kháng nguyên ung thư tinh hoàn:*** Các tế bào melanocyte biểu hiện mạnh một dạng marker sai chỗ hơi khác được gọi là các "kháng nguyên ung thư tinh hoàn". Những protein này bao gồm một số MAGE, GAGE v.v.., thường thì các protein này chỉ

biểu hiện ở mô tinh hoàn người lớn. Cũng chưa rõ tại sao những kháng nguyên này cũng bị kích hoạt ở melanoma hoặc trong một số ung thư khác. Việc tái kích hoạt thường liên quan đến cường methyl hóa promoter, nhưng như thế có thể là vẫn chưa đủ.

Trong nhiều trường hợp, rõ ràng là các tế bào miễn dịch kháng lại trực tiếp các kháng nguyên như thế nhưng vẫn không thể loại trừ hoàn toàn được ung thư. Tuy nhiên, người ta lại cho rằng chúng cũng giới hạn được sự tiến triển của ung thư và hy vọng rằng các đáp ứng miễn dịch hướng vào các kháng nguyên ung thư có thể được khai thác cho mục đích trị liệu miễn dịch.

***TÓM TẮT:***

❖ *Da là tổ chức lớn nhất và là nơi thường bị ung thư nhất ở người. Nguy cơ ung thư da (UTD) đối với các cá thể lên đến 40%. Nhưng may mắn là 2 dưới type thường gặp nhất là carcinoma tế bào đáy (BCC) và carcinoma tế bào vảy (SCC) hiếm khi đe dọa tính mạng. U hắc tố (melanoma) là loại u hiếm nhưng tần suất hiện tăng đến mức đáng báo động.*

❖ *Tác nhân gây UTD quan trọng nhất là bức xạ cực tím do có sự tương quan rõ rệt giữa tần suất tiếp xúc và những đột biến điển hình thấy ở các UTD, tức là các đột biến điểm ở các trình tự dipyrimidine. Đây là một ví dụ kiểu mẫu về dịch tễ học phân tử nhằm xác định các nguyên nhân ung thư từ các mẫu đột biến đã được quan sát. Trong UTD thì bức xạ cực tím tác động không chỉ với tư cách là chất gây đột biến mà còn làm biến đổi sự biểu hiện gen trong các tế bào tạo sừng ở biểu bì cũng như các tế bào da trung mô. Đồng thời nó cũng điều tiết các đáp ứng miễn dịch ở da.*

❖ *Nguy cơ của UTD bị ảnh hưởng mạnh mẽ bởi các biến đổi di truyền. Ở mức quần thể, sắc tố da là yếu tố rõ rệt nhất điều biến nguy cơ. Những cá thể có những khiếm khuyết di truyền cần được sửa chữa vì DNA bị tổn hại bởi UV có nguy cơ ung thư cao hơn, đặc biệt là các bệnh nhân khô da sắc tố (xeroderma pigmentosum). Trong một mẫu hình khác được xác định là PTCH1 ở BCC và ESS1 ở SCC và có lẽ cả CDKN2 ở melanoma, trong một số hiếm trường hợp chúng là chất kiềm chế khối u cổ điển - "người gác cổng" đối với ung thư da.*

❖ *Carcinoma tế bào đáy bao gồm các TB tạo sừng chưa biệt hóa giống như các TB đáy của biểu bì. Những TB này thường mang các đột biến TP53, điều đó cho thấy chúng được chẩn đoán là do bức xạ cực tím. Những đột biến phù hợp khác dẫn đến kích hoạt kiến tạo con đường hegehog. Con đường này thường giúp cho việc duy trì các TB đáy ở trạng thái tiền thân. Việc kích hoạt nó giải thích cho sự xuất hiện hình thái học của BCC. Các tế bào BCC biểu lộ các đột biến trong cả bộ phận ức chế cũng*

*như kích hoạt của con đường hegehog. Hầu hết các các đột biến bất hoạt đều ảnh hưởng tới PTCH1 - một chất kiềm chế khối u cổ điển. Các đột biến dòng mầm ở PTCH1 xảy ra ở hội chứng Gorlin thường hay dẫn đến BCC và các ung thư chọn lọc khác. Hội chứng này bao gồm các khiếm khuyết phát triển xảy ra không cần phải có các đột biến ở bản sao thứ 2 của PTCH1, tức là do sự thiếu hụt đơn bội (haploinsufficiency). Một nguyên nhân khác là sự hoạt động quá mức của con đường hedgehog ở BCC vì các đột biến đã kích hoạt protein màng SMO. Do vậy, SMO là một gen gây ung thư.*

❖ *Ở da bình thường, kho chứa chủ yếu các tế bào tạo sừng tăng sinh bao gồm các TB đáy từ đó các lớp bảo vệ phía trên của da được hình thành do sự biệt hóa tận cùng. Phần "khuếch đại nhất thời" này của các TB có thể được bổ sung từ các TB gốc. Thường thì hoạt tính của hedgehog bị giới hạn với các TB tiền thân. Nhưng việc kích hoạt cấu trúc của nó ở BCC sẽ đưa kiểu hình TB tiền thân thành các TB khối u.*

❖ *Trong SCC, sự biệt hóa của các TB tạo sừng tăng cao, nhưng sự tăng sinh lại bị ngừng lại. Các đột biến TP53 do UV được phát hiện với việc mất dị hợp tử (LOH) trên 17p. Các LOH phụ cũng phát hiện thấy trên NST 9 và/hoặc 13q và có thể biểu hiện mất sự kiểm soát chu kỳ TB do $p16^{INK4A}$ và RB1. Nhìn chung, những biến đổi này có thể giải thích được việc ngăn chặn thoát khỏi chu kỳ tế bào cũng như sự bất tử hóa ở SCC.*

❖ *U hắc tố (melanoma) phát triển từ các melanocyte (TB tạo sắc tố) tổng hợp các sắc tố bảo vệ. Chúng có nguồn gốc phát triển khác với TB tạo sừng, tức là từ các tế bào mào thần kinh di cư tới biểu bì trong quá trình phát triển thai nhi. Melanoma thường có độ xâm lấn cao và hình thành di căn dễ dàng hơn rất nhiều so với BCC và SCC. Các tế bào melanoma vẫn duy trì sự biểu hiện các kháng nguyên biệt hóa đặc hiệu cho melanocyte như gp 100 và tyrosinase. Ngoài ra chúng còn biểu hiện "kháng nguyên ung thư tinh hoàn" mà đúng ra chỉ ở các tế bào mầm của nam giới. Những kháng nguyên này có thể là đích của các đáp ứng miễn dịch kháng ung thư của vật chủ và nó đã được khai thác trong trị liệu miễn dịch (thực nghiệm), dường như đó là một đích hứa hẹn đối với melanoma.*

❖ *Mặc dầu về mặt dịch tễ học không thấy có sự liên quan rõ rệt đến nguyên nhân gây melanoma là do tiếp xúc với UV như trong trường hợp SCC và BCC, nhưng các đột biến điểm đặc trưng cũng được phát hiện trong nhiều trường hợp. Chúng kích hoạt gen NRAS hoặc BRAS, có khả năng là kích thích tăng sinh TB cũng như sự di cư TB. Những đột biến này cũng có thể được bổ sung bởi các đột biến ở TP53, CDKN2A, CDK4 và PTEN làm bất hoạt các cơ chế mà theo đó sự tăng sinh không thích hợp sẽ cảm ứng apoptosis hoặc lão hóa sao chép. Biến đổi đáp ứng với các yếu tố tăng trưởng đặc hiệu melanocyte có thể góp phần vào việc phát triển melanoma.*

# Chương XIV: UNG THƯ ĐẠI TRÀNG

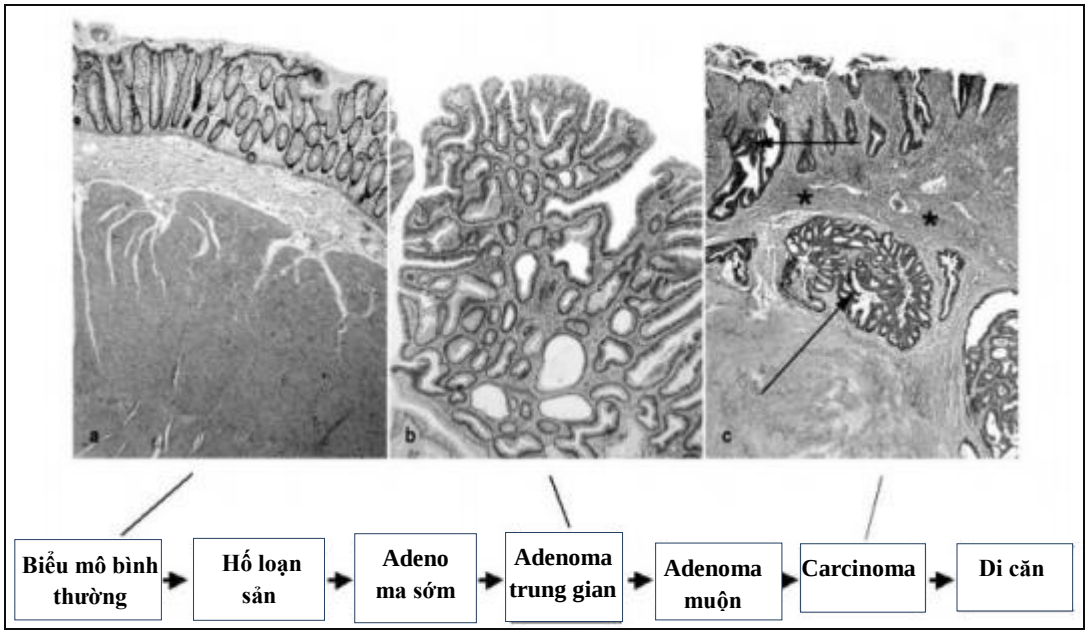
## 14.1. LỊCH SỬ TỰ NHIÊN CỦA UNG THƯ ĐẠI TRÀNG

Ung thư trực, kết tràng có thể phát triển ở tất cả các phân khúc của ruột già. Mặc dầu vậy các vị trí của nó cũng có ảnh hưởng phần nào đến tiên lượng và rõ ràng nhất là đến cách tiếp cận phẫu thuật. Theo sự nhìn nhận sinh học thì ung thư đại tràng (UTĐT) là một tiêu đề đáng chú ý. Điều thú vị là, các ung thư ở ruột non rất hiếm và chắc chắn nó là đại diện cho một bệnh khác biệt.

Có bằng chứng rõ ràng về di truyền phân tử và hình thái học là UTĐT phát triển qua nhiều giai đoạn tiền thân (Hình 14.1). Những biến đổi tiền ung thư có thể nhận biết được sớm nhất là các hốc (crypt) tăng sản hoặc loạn sản. Có một số tranh cãi là thể loại nào hoặc cả 2 thể loại kể trên đều có thể nảy sinh adenoma và carcinoma. Trái lại, người ta đều nhất trí là các polyp adenoma là giai đoạn tiền thân của nhiều carcinoma. Chúng thường được phát hiện như là các khối u lành tính đơn ở lòng ống (lumen) của đại tràng và bao gồm các TB biểu mô mỏng, rối loạn tổ chức ít hay nhiều. Nhiều polyp được phát hiện trong những tình huống xác định, ví dụ trong các polyp adenoma do coli có tính chất gia đình (thuộc các hội chứng ung thư có tính chất gia đình - FAP) sẽ được đề cập dưới đây. Những khối u polyp này được xem xét với tư cách là một dạng adenoma và được xếp loại thành một số "tiểu giai đoạn" (substages) tùy theo cấp độ tăng trưởng và loạn sản.

Sự xâm lấn của các TB khối u qua màng cơ bản vào tới lớp trung mô ở giữa là dấu hiệu chẩn đoán của carcinoma. Một số giai đoạn khối u được phân biệt theo thường quy bệnh học dựa trên mức độ xâm lấn và sự lan rộng của khối u. Các carcinoma đại tràng cục bộ không di căn có thể chữa khỏi bằng phẫu thuật. Trong nhiều trường hợp còn thêm cả hóa trị sau khi phẫu thuật để tiêu diệt nốt các TB khối u còn sót lại. Tiên lượng của carcinoma đại tràng thường xấu và việc điều trị sẽ rất khó khăn nếu các khối u đã lan tới các hạch bạch huyết vùng hoặc di căn tới gan, phổi và các cơ quan khác. Phẫu thuật và hóa trị vẫn có thể cứu chữa được, nhưng thường chỉ là kéo dài sự sống.

Tần suất UTĐT thay đổi đáng kể trên toàn thế giới, cao nhất thuộc về các quốc gia công nghiệp phương Tây. UTĐT thường là bệnh của người cao tuổi, tuy nhiên tần suất này cũng khác nhau giữa các nước tùy thuộc chỉ số dân số trung bình là trẻ hay già. Nguyên nhân của những khác biệt về tần suất vẫn chưa được hiểu rõ một cách thực sự. Bằng chứng rõ nhất có lẽ là các yếu tố thuộc về chế độ ăn.




**Hình 14.1** *Các giai đoạn phát triển ung thư đại tràng*

Tổ chức học chỉ rõ các niêm mạc bình thường (trái), một polyp adenoma với mức loạn sản trung bình (giữa) và một adenoma xâm lấn với các u tuyến (mũi tên) trong lớp dưới niêm mạc.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

## 14.2. ĐA POLYP ADENOMA DO COLI CÓ TÍNH CHẤT GIA ĐÌNH VÀ CON ĐƯỜNG WNT

Đa polyp adenoma do coli có tính chất gia đình (FAP) là bệnh phổ biến nhất trong số các hội chứng liên quan, mang nguy cơ cao UTĐT (Bảng 14.1). Các tai họa liên quan bao gồm hội chứng Gardners, hội chứng Turcots và thể nhẹ của FAP. Những hội chứng này được phân biệt dựa vào thể loại của các u và các khiếm khuyết phát triển xuất hiện ở các cơ quan khác bên cạnh đại tràng.

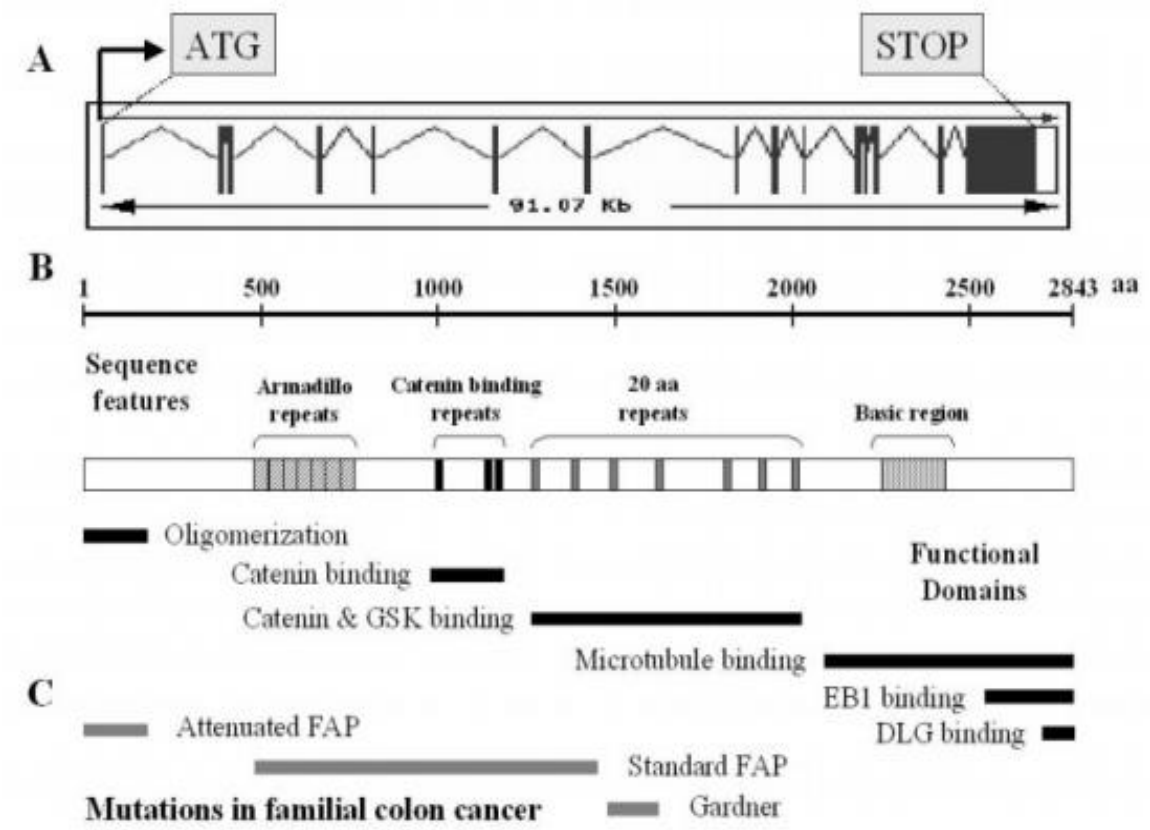
Tiêu chuẩn đặc trưng của FAP là phát triển hàng trăm polyp adenoma ở trực tràng, kết tràng, tá tràng cũng như các polyp tuyến ở dạ dày ngay thời gian đầu của cuộc sống. Một cách bẩm sinh, chúng biểu hiện phì đại biểu mô sắc tố võng mạc. Mặc dầu các polyp là adenoma, tức là các u lành nhưng cuối cùng thì polyp này hoặc polyp khác sẽ tiến triển ác tính thành carcinoma, đặc biệt là trong độ tuổi 30 - 40. Nguy cơ về thời gian sống đối với phát triển carcinoma là 100%. Vì thế, cắt bỏ đại tràng được sử dụng như một biện pháp phòng ngừa. FAP là một bệnh di truyền trội NST thường. Với hàng chùm các khối u trên cùng một cơ quan, carcinoma thường phát triển rất sớm và với cách thức di truyền trội NST thường. FAP là một ví dụ hoàn hảo về một bệnh khối u có thể được di truyền phù hợp với mô hình Knudson.

***Bảng 14.1*** *Một số hội chứng di truyền dễ đi đến ung thư đại tràng*

| Hội chứng và gen ảnh hưởng | Triệu chứng đại tràng | Các u khác |
|---|---|---|
| Đa polyp adenoma do coli có tính chất gia đình (FAP), APC | Đa polyp adenoma, carcinoma | Polyp và ung thư tá tràng và dạ dày, tăng sản võng mạc |
| Gardner, APC | Đa polyp adenoma, carcinoma | Polyp và ung thư tá tràng và dạ dày, tăng sản võng mạc các u liên kết, u xương |
| FAP thể giảm độc lực, APC | Số ít polyp, tăng nguy cơ carcinoma | |
| Ung thư trực kết tràng MSH2<br>Không polyp di truyền MLH1 (HNPCC), PMS2 | Carcinoma, thường nhiều tiêu điểm với ít polyp | Các ung thư màng trong tử cung buồng trứng, dạ dày, đường tiết niệu trên, não |
| Cowden PTEN | Các u mô thừa (hamartomas), tăng nguy cơ carcinoma | U mô thừa trong nhiều cơ quan, vú, tuyến giáp và các ung thư khác |
| Đa polip coli Juvenile, LKB1 | U mô thừa hoặc polip, tăng nguy cơ carcinoma | U mô thừa, polyp và tăng nguy cơ ung thư dạ dày |
| Peutz-jeghrs (STK11) | U mô thừa, polyp, carcinoma | Polyp u mô thừa và carcinoma tất cả các bộ phận đường tiêu hóa |

Gen đột biến ở FAP đã được xác định năm 1991 và đặt tên là APC, bắt nguồn từ "adenomatous polyposis coli". Gen này định vị ở NST 5q21. Hóa ra APC là một gen lớn (Hình 14.2) bao gồm một số protein khác nhau gắn kết với nhau trong quá trình oligomer hóa. Domain oligomer hóa định vị ở gần các N tận cùng (N-terminus). Một số lặp được nhận ra dọc theo chiều dài protein, trong đó các lặp catenin và lặp 20 aa có liên quan đến việc lắp ráp phức hợp protein có chứa β-catenin, glycogen synthase 3β (GSK3β) và protein giàn giáo axin hoặc conductin (hay Axin 2). Phức hợp protein này liên quan đến sự điều hòa tín hiệu WNT. Vùng cơ sở ở APC nằm xa hơn về phía các tận C (C-terminus) tương tác với các vi ống. Vùng tận C thực sự thì gắn với EB1 và DLG, 2 protein tương tác với trục phân bào. Có một số bằng chứng cho thấy APC có chức năng trong sự phân ly NST. Mất chức năng này sẽ tạo điều kiện phát triển dị bội ở ung thư đại tràng.

Những bệnh nhân với FAP di truyền có một đột biến ở allele APC. Hầu hết là các đột biến vô nghĩa dẫn đến một protein bị cắt xén hoặc không ổn định và hầu hết đều định vị ở nửa thứ nhất của gen. Theo như dự đoán của mô hình Knudson, các adenoma và carcinoma đều chứa đựng các đột biến ở allele thứ 2 cũng như mất allele nguyên vẹn do sự xóa bỏ 5q hoặc do tái tổ hợp, được nhận ra bởi LOH ở vùng 5q21.




**Hình 14.2** *Gen APC và protein mà nó mã hóa*

A: Tổ chức của gen với toàn bộ các dữ liệu base. Có một promoter thứ 2 khác cùng với exon phụ thứ nhất không mã hóa khoảng 15 kb thượng nguồn của exon 1 được thể hiện ở đây.

B: Những nét đặc trưng về trình tự và các domain chức năng của protein APC.

C: Sự định vị của các đột biến (vô nghĩa) dòng mầm ở các ung thư đại tràng có tính chất gia đình. Những đột biến điểm trong những trường hợp rải rác phổ biến nhất ở vùng ảnh hưởng trong hội chứng Gardner.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

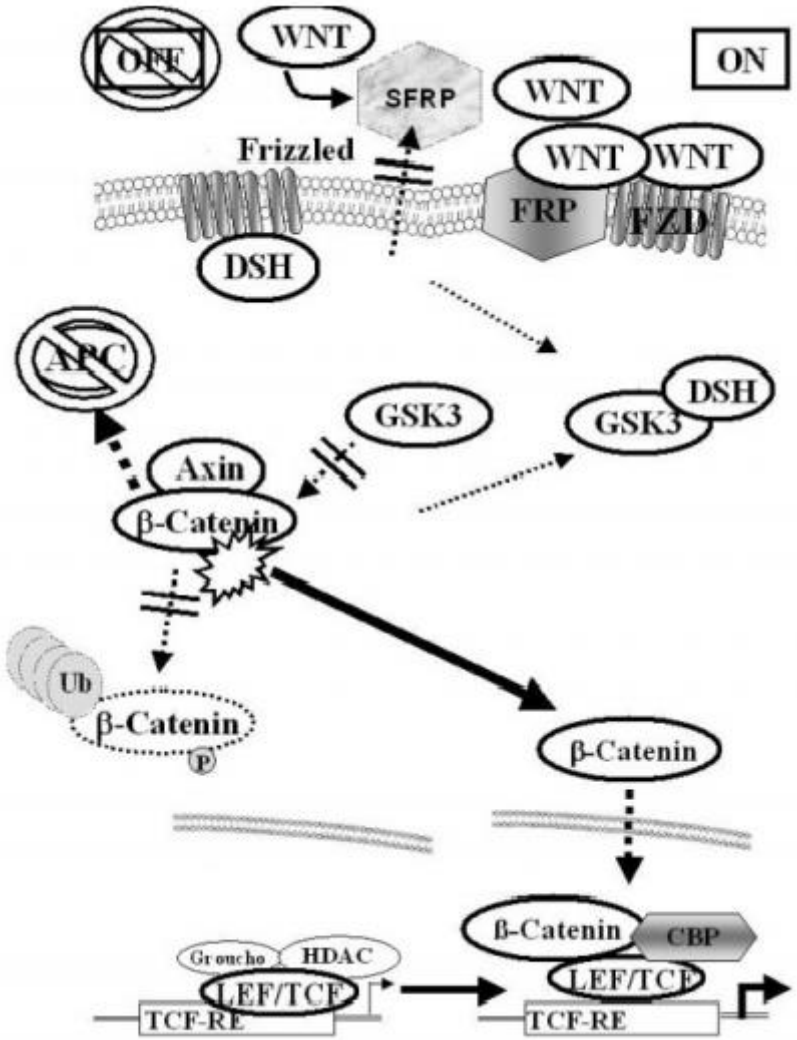
Gen đột biến trong hội chứng Gardner và Turcot cũng như trong nhiều FAP thể nhẹ (attenuated) cũng là APC. Các hội chứng khác nói chung đều được phân biệt bằng vị trí đột biến, qua đó xác định được chuỗi các cơ quan có tăng sản và nảy sinh khối u. Chẳng hạn như, các đột biến cắt xén giữa codon 463 và 1387 (Hình 14.2) có liên quan đến sự phì đại bẩm sinh biểu mô sắc tố võng mạc, đặc trưng của FAP chuẩn, trong khi đó các đột biến giữa codon 1403 và 1578 thường thấy ở ở các gia đình có hội chứng Gardner. Điều thú vị là, các đột biến cắt xén ở 20 aa đầu tiên lại gây nên FAP thể nhẹ, tức là kiểu hình ôn hòa (milder). Các đột biến vô nghĩa gần vị trí bắt đầu sao chép

dường như thường gây mất toàn bộ protein, trong khi đó các đột biến ở các exon sau dường như thường hay dẫn đến các protein cắt xén nhưng ổn định. Vì thế, có thể hình dung được rằng protein cắt xén được sản xuất bởi các đột biến ở hạ nguồn gen APC, có thể làm trầm trọng thêm phần nào của bệnh, có lẽ do có sự tương tác với các chức năng của các protein APC bình thường được mã hóa bởi allele nguyên bản. Mặc dầu các mối quan hệ có tính chất cơ học này chưa được hiểu rõ đầy đủ, nhưng danh mục các mối quan hệ kiểu hình – kiểu gen như thế rất quan trọng trong việc tối ưu hóa trị liệu và tư vấn cho các bệnh nhân và gia đình bị ảnh hưởng.

Vì sự xóa bỏ hay mất dị hợp tử của NST 5q thuộc những biến đổi thường thấy nhất trong UTĐT nói chung nên sau khi xác định được APC là gen đột biến ở FAP thì cũng cần phải sàng lọc một cách rộng rãi các đột biến của gen này trong các carcinoma rải rác. Hiện nay người ta cho rằng, cả 2 allele của gen đều bị bất hoạt bởi đột biến điểm và xóa bỏ/tái tổ hợp hoặc đôi khi do cường methyl hóa promoter, có tới 70-80% UTĐT không phân biệt được chúng có tính chất gia đình hay là rải rác. Tuy nhiên, tần số đột biến của APC gần như là giống nhau đối với các ung thư giai đoạn sớm cũng như giai đoạn muộn. Như vậy, APC là một chất kiềm chế khối u nguyên mẫu. Vì sự bất hoạt của nó dường như là bắt buộc đối với sự phát triển của các khối u trực kết tràng nên nhiều khả năng nó xảy ra ở một giai đoạn sớm và cái tên "người gác cổng" là hoàn toàn thích hợp.

Vai trò quan trọng của APC được đánh giá cao nhờ các phân tích của 20 UTĐT, trong đó protein APC đầy đủ chức năng vẫn được biểu hiện ở mức bình thường. Hầu hết tất cả các ung thư này đều chứa các đột biến ở các bộ phận khác nhau của phức hợp APC/β-catenin/axin/GSK3β. Phổ biến nhất là các đột biến ở gen CTNNB1 mã hóa cho β- catenin. Chính xác hơn là, tiếp sau là một sự xáo trộn tín hiệu WNT, điều đó rất quan trọng đối với sự phát triển của UTĐT.

Có trên 20 protein WNT khác nhau ở người. Chúng thường được sản xuất và tiết ra bởi mô trung mô và tác động lên các TB biểu mô lân cận trong phương thức cận tiết. Hầu hết chúng đều là hiệp đồng nhưng cũng có một số là kháng hiệp đồng. Trong con đường kinh điển (Hình 14.3), các yếu tố WNT gắn với một trong số các receptor bề mặt TB có tên là Frizzled (FZD). Những receptor này thuộc lớp "serpentine" lớn của các receptor được đặc trưng bởi 7 vòng xoắn vận chuyển màng và tương tác với protein G trimeric. Kích hoạt receptor FZD sẽ làm hoạt hóa protein DSH (dishevelled), đến lượt mình nó lại ức chế GSK3β. Trong một tế bào bình thường thì protein kinase này lắp ráp với axin và APC trong phức hợp protein tương bào. Phức hợp này gắn với β-catenin. Trong sự thiếu vắng của tín hiệu WNT thì β-catenin bị phosphoryl hóa bởi GSK3β ở một vài vị trí gần các tận N của nó. Sự phosphoryl hóa này cho phép nhận ra được β-catenin nhờ phức hợp ubiquitin ligase, trong đó βTRCP thực hiện thực tế việc nhận diện.




**Hình 14.3** *Những biến đổi của con đường WNT trong ung thư đại tràng*

Con đường WNT thường hay bị kích hoạt nhất trong các UTĐT do các đột biến ở APC (tín hiệu tiền ức chế) dẫn đến phân rã phức hợp phosphoryl hóa β- catenin. Trong những trường hợp khác, các đột biến của β- catenin ngăn chặn sự bất hoạt của nó. Kích hoạt kiến tạo con đường có thể thường bị trầm trọng thêm do mất SFRP thường cạnh tranh với FRP để đồng liên kết các yếu tố của WNT.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Việc ức chế GSK3β được xem như là hệ quả của tín hiệu WNT dẫn đến tích lũy β- catenin. Protein này di chuyển vào nhân, ở đó nó kiên kết và kích hoạt các yếu tố sao chép TCF, đặc biệt là TCF4 trong các tế bào đại tràng. Có 4 thành viên họ TCF đã được biết đó là TCF1, LEF1, TCF3 và TCF4, mà trong trạng thái bất hoạt thì chúng tạo phức với các protein kiềm chế sao chép, thường là từ họ Groucho. Sự kiềm chế này được giảm nhẹ bởi β- catenin và sự sao chép của các gen đích TCF. Trong số các gen đích này có một số tác động trực tiếp lên sự tăng trưởng và sống sót của TB như CCDN1 và MYC.

Trước khi trở nên liên quan trong tín hiệu WNT, β- Catenin đã được biết đến bấy lâu nay như là một protein khung tế bào gắn với E-Cadherin làm trung gian cho các tương tác tế bào cùng dạng. Vì thế, nồng độ của β- Catenin hoạt tính cũng được điều tiết bởi E-Cadherin. Điều này có thể cho phép tích hợp thông tin từ các tín hiệu WNT và sự kết dính tế bào. Một số yếu tố khác điều tiết hoạt tính WNT, ví dụ SFRP (secreted Frizzled – related protein) gây nhiễu sự liên kết của WNT với các receptor và LRP trợ giúp sự liên kết WNT với rceeptor FZD.

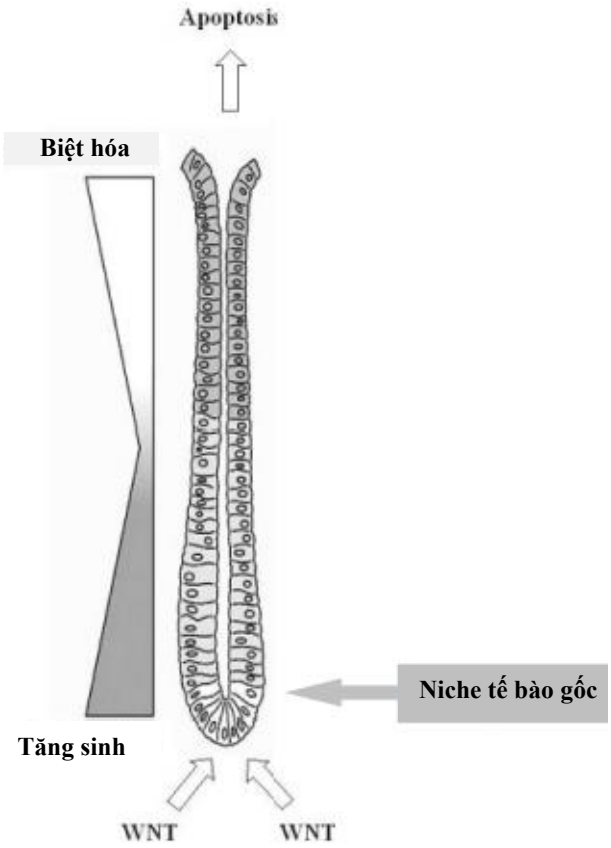
Mạng lưới phức tạp này về cơ bản là bị hỗn loạn trong UTĐT (Hình 14.3). Xóa bỏ chức năng APC - biến đổi thường gặp nhất gây nên tín hiệu WNT vĩnh viễn ở nhân, vì phức hợp protein điều hòa không thể được lắp ráp nên β-catenin không trở nên phosphoryl hóa. Kết quả là β-catenin được tích lũy và gây nên sự kích hoạt kiến tạo của gen đích TCF. Các đột biến ở CTNNB1 làm thay đổi amino acid ở trình tự nhận dạng của GSK3β tiền ức chế sự phosphoryl hóa β-catenin, gây hệ quả tương tự. Những xóa bỏ hiếm hơn của Axin dường như cũng gây rối loạn tới sự phosphoryl hóa một cách hiệu quả β-catenin do loại bỏ nền tảng tương tác của protein. Bất hoạt các đột biến cũng được báo cáo vì βTRCP gây cản trở ubiquitin ligase khởi đầu sự phân giải proteolytic β-catenin. Những sự biến đổi chủ yếu này ở con đường WNT có thể phức tạp thêm do các biến đổi ở các yếu tố điều tiết. Trong quá trình tiến triển khối u, nhiều carcinoma biểu hiện E-cadherin, điều đó làm trầm trọng thêm sự tích lũy β- catenin. Tương tự như vậy, tín hiệu WNT có thể được tăng cao hơn do sự điều hòa xuống SFRP.

Nhiều dạng ung thư khác ngoài UTĐT đã được khảo sát về các đột biến ở APC và các gen nó tương tác. Có 2 kết luận quan trọng là:

(1) Những đột biến ở các thành phần của con đường tín hiệu WNT được phát hiện thấy ở nhiều carcinoma khác với các tần suất khác nhau. Phổ biến từ cao đến trung bình quan sát thấy ở u gan, u nguyên tủy bào và ung thư vú; tần số thấp hơn ở carcinoma tuyến tiền liệt, carcinoma thận và u nguyên bào bọt (glioblastoma). Lưu ý rằng, một số ung thư này cũng thường thấy trong các hội chứng Gardner và Turcot. Rõ ràng là, một số dạng ung thư lại không có các đột biến ở con đường này; mặc dầu rất khó loại trừ biến cố đột biến do yếu tố kỹ thuật hiện hành. Tuy nhiên, một promoter của gen APC có xu hướng cường methyl hóa ở nhiều carcinoma; mặc dầu vậy, không rõ là liệu đây có phải là một dấu hiệu của việc sử dụng promoter biệt hóa hay là giảm tổng thể sự sao chép?

(2) Trong khi APC là đích chính trong ung thư trực kết tràng thì trong các ung thư khác các đột biến ở CTNNB1 lại là nổi trội. Không rõ hoàn toàn tại sao lại như vậy. Có khả năng là chỉ sự sinh ung thư trực kết tràng mới đòi hỏi sự xóa bỏ các chức năng khác của APC. Khả năng khác là, sự khác biệt này có liên quan đến các cơ chế liên quan đến việc sinh ung thư trong các cơ quan khác nhau. Các chất sinh ung thư rõ ràng có thể liên quan đến các vị trí đích ưu tiên xác định trong các gen xác định.

Sự đòi hỏi phải kích hoạt kiến tạo con đường WNT trong UTĐT có quan hệ chặt chẽ với việc tổ chức của mô này (Hình 14.4). Biểu mô đại tràng không ngừng đổi mới. Các TB biểu mô đại tràng có nguồn gốc từ một số nhỏ - có thể là 5 các TB gốc của mô định vị gần hầm chứa (crypt) trong một "niche" tế bào gốc. Khi những TB này phân chia mất đối xứng, một TB con vẫn duy trì các đặc tính của TB gốc trong khi đó các TB khác thì được biệt hóa. Những TB này di chuyển lên trên hầm chứa, biệt hóa dần dần đồng thời mất chức năng tăng sinh. Khi những TB tiến đến bề mặt thì sẽ được lột xác hoặc chết do apoptosis.




**Hình 14.4** *Tổ chức của tăng sinh và biệt hóa trong ung thư đại tràng*

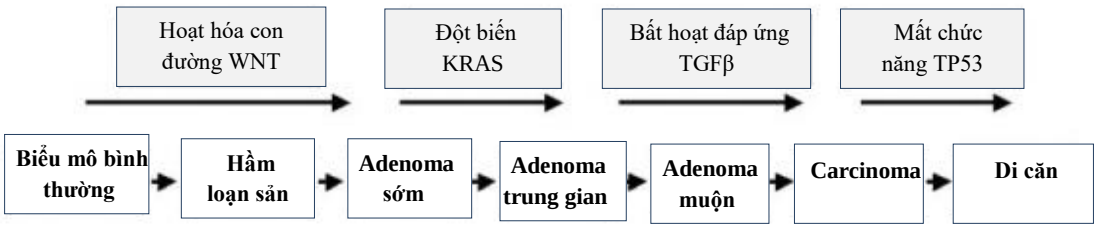
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Hình như là con đường WNT là trung tâm điều hòa chiến lược đổi mới này. Các yếu tố WNT được sản xuất bởi các TB trung mô gần "niche" TB gốc, cho phép tái sinh và duy trì tính bất tử của quần thể TB gốc. Khi các TB biệt hóa tận tụy với sự biệthóa di chuyển ra khỏi nguồn yếu tố tăng trưởng, thì sự biệt hóa và chương trình apoptosis được bật lên. Các protein tín hiệu liên quan đến tế bào có tên là Ephrin và các receptor có liên quan đến việc thiết lập trạng thái biệt hóa và được điều hòa xuống bởi tín hiệu WNT. Như vậy các TB biểu mô đại tràng không tiếp xúc với tín hiệu WNT có thể sẽ đi vào trạng thái mặc định của biệt hóa hoặc apoptosis. Tín hiệu WNT kiến tạo do mất chức năng APC hoặc do hoạt động quá mức của β-catenin, ngăn trở sự biệt hóa và apoptosis và việc thiết lập một trạng thái giống TB gốc, không phụ thuộc vào vị trí trong mô.

Một hiệu ứng tương tự được cho là do kích hoạt con đường Hedgehog trong carcinoma TB đáy của da. Thật hấp dẫn mà suy đoán rằng, hàng loạt ung thư trong đó các đột biến của con đường WNT đã quan sát thấy có thể liên quan đến chiến lược tăng sinh của các mô tương ứng. Tuy nhiên, vẫn còn quá ít dữ liệu để có thể phán quyết cho giả thuyết này.

## 14.3. QUÁ TRÌNH TIẾN TRIỂN CỦA UNG THƯ ĐẠI TRÀNG VÀ MÔ HÌNH NHIỀU BƯỚC CỦA SINH UNG THƯ

Theo như chứng minh về hội chứng FAP thì việc bất hoạt cả 2 allele là đủ để hình thành nên các polyp adenoma ở đại tràng. Để chuyển đổi thành khối u ác tính, tức là xâm lấn và di căn thì cần đòi hỏi thêm cả các biến đổi di truyền. Thực sự thì, các UTĐT tiến triển đều chứa đựng nhiều biến đổi gen và epigenetic ngoài việc mất NST 5q và đột biến APC hoặc CTNNB1. Ba sự biến đổi này là phù hợp và rất đặc trưng. Trên thực tế, dường như là chúng có liên quan với các bước đặc biệt trong quá trình phát triển của UTĐT (Hình 14.5). Cụ thể là (1) hoạt hóa KRAS do đột biến điểm, (2) bất hoạt TP53 do đột biến điểm và xóa bỏ allele, (3) mất đáp ứng với tín hiệu TGFβ do mất chức năng của yếu tố sao chép SMAD hoặc do các đột biến ảnh hưởng tới các tiểu đơn vị của receptor TGFβ.




***Hình 14.5*** *Tiến triển về tổ chức học của ung thư đại tràng và sự tích lũy các biến đổi di truyền*.
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

**(1)** Protein RAS tác động với tư cách là một chất truyền tín hiệu trong một số con đường. Chúng chuyển tiếp các tín hiệu từ các yếu tố tăng trưởng phân bào qua thác MAPK để tới nhân, điều hòa cấu trúc khung TB đồng thời tác động lên con đường tín hiệu PI3K nâng cao sự tăng trưởng và sống sót TB. Trong UTĐT, gen tiền ung thư KRAS bị kích hoạt bởi các đột biến điểm tiêu biểu ở codon 12, 13 hoặc 61, gây trở ngại cho sự hoạt động của RAS GTPase và kéo dài trạng thái kích hoạt trong quá trình mà protein giữ vai trò chuyển tiếp tín hiệu. Những đột biến này phát hiện được với 30-70% ở tất cả các UTĐT và carcinoma thì phổ biến hơn là adenoma. Có khả năng là, những đột biến KRAS này sẽ kích thích xa hơn sự tăng sinh của các tế bào UTĐT, trợ giúp cho sự tiến triển từ adenoma tới carcinoma. Hơn nữa, hiệu ứng tín hiệu RAS lên khung tế bào và sự tổng hợp protein có thể góp phần vào tiềm năng xâm lấn của các TB biến nạp.

**(2)** Sự hoạt động không không thích đáng của các gen như RAS và MYC là đối trọng trong các TB bình thường thông qua việc cảm ứng sự lão hóa hoặc apoptosis của TB. Có một cơ chế quan trọng liên quan đến sự cảm ứng $p14^{ARF1}$ bởi các gen ung thư này hay khác dẫn đến sự ổn định hóa và kích hoạt TP53. Vì thế, không có gì ngạc nhiên là,

nhiều carcinoma đại tràng tiến triển đã mất TP53 chức năng. Thường thì, một bản sao của gen TP53 bị bất hoạt do đột biến điểm, nổi bật nhất là ở domain gắn DNA trung tâm của protein, và bản sao thứ 2 thì bị xóa bỏ hoặc bị trao đổi do mất allele, có thể phát hiện được với tư cách là LOH ở 17p. Mất chức năng TP53 cũng làm giảm đáp ứng TB đối với các dạng khác của stress TB, bao gồm đáp ứng với tổn hại DNA, dị bội, mất cân bằng nucleotide. Trong UTĐT, mất chức năng TP53 dường như là có liên quan đến sự tiến triển của khối u. Có khả năng là mất TP53 đã làm giảm bớt việc kiểm soát các đột biến KRAS và tạo thuận lợi cho sự phát triển tính bất ổn định hệ gen ngày càng cao ở các UTĐT tiến triển.

**(3)** Trong các TB biểu mô, con đường này được kích thích bởi TGFβ, làm giảm tăng sinh TB, ví dụ như do cảm ứng các chất ức chế CDK và thúc đẩy sự tương tác tế bào – gian bào. Rất phù hợp là, đây là sự bất hoạt rất thường xuyên trong các ung thư xâm lấn cao ở người. Hơn nữa, việc tiết ra TGFβ bởi các TB carcinoma là để điều tiết sự tương tác của chúng với các TB đệm và các TB miễn dịch ở các vị trí u nguyên phát cũng như trong quá trình di căn. Trong UTĐT, một số biến đổi di truyền có thể làm giảm tín hiệu TGFβ. Các đột biến cắt xén của receptor TGFβ RII thường thấy ở các dưới type HNPCC của UTĐT. Trong nhiều UTĐT giai đoạn tiến triển, mất allele được phát hiện thấy ở vùng gen SMAD2 và SMAD4 định vị trên NST 18q. Trên thực tế, mất 18q là một trong số các biến đổi NST nhất quán nhất trong carcinoma đại tràng tiến triển cùng với việc mất 5q và 17p. Phù hợp với sự trông đợi, các đột biến điểm và thậm chí cả sự xóa bỏ việc duy trì allele SMAD 2 và SMAD4 cũng đã được phát hiện. Tuy nhiên, tần số của chúng dường như là khá thấp và vẫn còn nhiều vấn đề đặt ra về tầm quan trọng của chúng trong UTĐT.

Như vậy, trong quá trình tiến triển của carcinoma đại tràng tới xâm lấn và di căn có rất nhiều biến đổi di truyền được tích lũy. Đòi hỏi tối thiểu cũng là kích thích kiến tạo con đường WNT, kích hoạt tín hiệu RAS, mất chức năng TP53 và bất hoạt tín hiệu TGFβ. Những sự biến đổi này có thể cần hơn là một biến đổi di truyền hay epigenetic. Chẳng hạn như sự kích hoạt con đường WNT ở UTĐT rải rác có thể đòi hỏi các đột biến điểm ở APC và mất 5q, cùng với những biến đổi phụ ở SFRP hoặc ở các modulator khác. Như vậy, tối thiểu nhất cũng cần tới 5-7 biến đổi di truyền, nhưng con số thực tế thì có thể còn cao hơn.

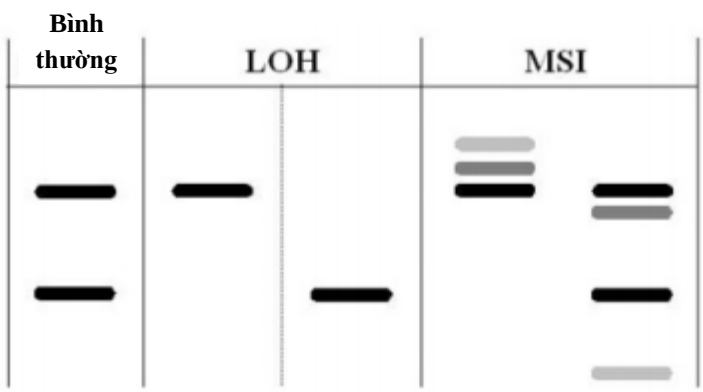
## 14.4. CARCINOMA ĐẠI TRÀNG KHÔNG POLYP CÓ THỂ DI TRUYỀN

Trong FAP và các bệnh liên quan di truyền, nhiều polyp phát triển ở đại tràng rồi từ đó mà xuất hiện các carcinoma cá lẻ. Trong các gia đình khác lại phát hiện thấy có sự công kích sớm của UTĐT được di truyền theo phương thức trội NST thường, không polyp. Tuy nhiên, phạm vi của các khối u liên quan đến các cơ quan khác thì khác biệt

so với các hội chứng bắt nguồn từ đột biến APC di truyền (Bảng 14.1). Thay vì, nó bao gồm các khối u nội mạc tử cung và buồng trứng ở phụ nữ cũng như các ung thư dạ dày, gan, túi mật và đường tiết niệu trên ở cả 2 giới tính. Hội chứng này được chỉ định là carcinoma đại tràng không polyp di truyền (HNPCC) và ngày nay được biết là thường xuyên hơn FAP và các hội chứng khác của nó. Cũng giống như FAP, việc khảo sát nó đã đem lại cái nhìn sâu sắc về các cơ chế sinh ung thư không những ở đại tràng mà còn ở các ung thư khác nữa trên người.

Các UTĐT trong bối cảnh HNPCC thường định vị ở những đoạn phía trên của đại tràng, thường có có tiên lượng khá tốt. Tuy nhiên, sự khác biệt khác chủ yếu lại là dạng đột biến phát hiện được trong các carcinoma HNPCC. Hầu hết tất cả các đột biến di truyền ở carcinoma HNPCC là do các đột biến điểm, sự trao đổi các base, xóa bỏ hoặc cài thêm các đoạn nhỏ, trong khi đó những biến đổi NST là không thường xuyên lắm.

Các đột biến trong hội chứng này phát hiện dễ dàng nhất là trong các trình tự microsattelite bao gồm các lặp 1, 2 hoặc 3 nucleotide. Vì các microsattelite đa hình cao nên các cá thể thường dị hợp tử tại một locus đã cho. Vì thế các microsattelite có thể được sử dụng như các marker allele trong các "nghiên cứu liên kết" cũng như mất NST hoặc tái tổ hợp trong các TB khối u (Hình 14.6). Đặc biệt là mất allele do xóa bỏ hay tái tổ hợp được xem như là mất hoặc giảm mạnh cường độ một band do khuếch đại PCR của microsattelite. Trong các khối u HNPCC còn xuất hiện các band phụ ngoài 2 band vẫn hiện diện ở mô bình thường. Những vấn đề này là kết quả của sự mở rộng hoặc co lại của lặp microsattelite, tương ứng với việc chèn thêm hay xóa bỏ đột biến. Hiện tượng này có tên là *"sự bất ổn định microsattelite" (viết tắt là MSI).*




**Hình 14.6** *Những biến đổi microsattelite trong các trường hợp mất dị hợp tử (LOH) hoặc bất ổn định microsattelite*

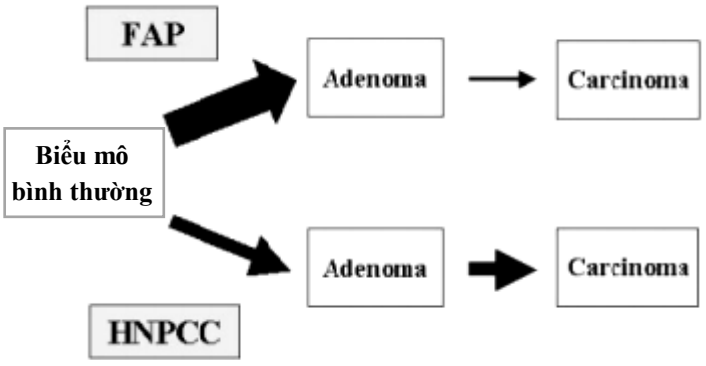
Mẫu bình thường được thể hiện ở góc tận cùng bên trái. Nếu LOH xảy ra thì allele này hay allele khác bị mất đi, dẫn đến mất band tương ứng (ô 2 và 3). Nếu bất ổn định microsattelite xảy ra thì sẽ phát hiện thấy các band nhỏ hơn hoặc lớn hơn, điều này không xảy ra ở mô bình thường. Các band bình thường có thể vẫn được lưu giữ (ô 5) hoặc không xuất hiện (ô 4).

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Bất ổn định microsattelite và tăng tần suất đột biến điểm ở HNPCC do bất hoạt gen có liên quan đến việc sửa chữa không phù hợp. Những sự không phù hợp giữa các chuỗi DNA có thể xảy ra như là hậu quả của một số cơ chế và được sửa chữa bởi các cơ chế tương ứng. Một hệ thống sửa chữa tích cực nhất trong quá trình sao chép DNA bao gồm một số protein khác nhau nhận dạng ra sự không tương xứng base và khác biệt về số lượng base giữa các chuỗi DNA đối nghịch, như xảy ra do mất sự tổ chức base hoặc sự "trượt" DNA polymerase. Sự không tương xứng này được nhận ra trước tiên bởi protein heterodimer bao gồm MSH2 và MSH6 hoặc MSH3 và MSH6. Các thành phần khác của phức hợp bao gồm PMS1, PMS2 và MLH1, sau đó hướng tới việc loại bỏ các nucleotide không tương xứng. DNA polymerase sửa chữa được chiêu mộ để tổng hợp và chỉnh sửa trình tự, còn DNA ligase thì gắn lại các chuỗi đã được chỉnh sửa.

Các bệnh nhân HNPCC có mang các đột biến ở một gen mã hóa cho các thành phần của hệ thống sửa chữa này. Phổ biến nhất là các đột biến ở gen MSH2 và MLH1, hiếm hơn là gen PMS1, PMS2 hoặc MSH6. Trong các trường hợp hiếm hơn thì gen MYH hoặc BBD4 cũng bị ảnh hưởng, nhưng chỉ khoảng 30% tất cả các bệnh nhân là có thể hiện các đặc trưng HNPCC, các đột biến nền tảng thì chưa biết. Rõ ràng là, chúng có thể gây các ảnh hưởng phụ, nhưng cho đến nay vẫn chưa biết các thành phần của hệ thống sửa chữa này.

Điều quan trọng là, đột biến có thể được di truyền trong một allele thì vẫn chưa đủ để tạo nên kiểu hình MSI. Chính xác hơn là, sự đột biến hay bất hoạt epigentic của allele còn lại lại xảy ra trước khi chức năng của hệ thống sửa chữa bị tổn thương nghiêm trọng. Do đó, bước đầu tiên trong sự hình thành khối u có lẽ là sự mất tình cờ của allele thứ 2 này. Trong các TB bị ảnh hưởng thì nó tạo nên một trạng thái đột biến tăng cường mạnh mẽ, đặc biệt là tăng mạnh tỷ lệ đột biến điểm. Cuối cùng, những đột biến điểm này lại gây ảnh hưởng lên các gen quan trọng đối với sự phát triển của UTĐT. Hậu quả của các sự kiện này sẽ giải thích một cách thuyết phục tại sao chỉ một hoặc một số ít carcinoma phát sinh ở HNPCC và quá trình này không dừng lại ở hầu hết các trường hợp tại giai đoạn adenoma như trong FAP (Hình 14.7).




**Hình 14.7** *So sánh sự phát triển ung thư ở FAP và HNPCC*

Chiều rộng của mũi tên phản ánh mức độ gia tăng của quá trình.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Thật thú vị là, MSI cũng quan sát thấy ở các ung thư rải rác nảy sinh ở các bệnh nhân không có tiền sử gia đình. Những ung thư này cũng khiếm khuyết trong sửa chữa không tương xứng. Trong nhiều trường hợp như thế thì việc bất hoạt hệ thống sửa chữa không tương xứng là do bất hoạt gen MLH1 thông qua sự cường methyl hóa promoter.

Về mặt khái niệm, người ta có thể coi các gen có các đột biến di truyền trong HNPCC là chất kiềm chế khối u "người chăm sóc" (caretaker), vì các đột biến trong các gen này không dẫn đến tăng trưởng khối u một cách trực tiếp nhưng làm tăng nguy cơ đột biến ở các gen kiểm soát tăng sinh, biệt hóa và sống sót của TB. Vì thế, với một mức độ nào đó các ung thư HNPCC cũng chứa các đột biến tương tự như trong carcinoma kết tràng khác. Ví dụ như các gen kiềm chế khối u APC và TP53 thì bất hoạt còn các gen tiền ung thư KRAS và CTNNB1 thì kích hoạt đều do các đột biến điểm.

Tuy nhiên, một số gen lại là các đích đột biến ưu tiên trong UTĐT nảy sinh trong bối cảnh HNPCC và MSI rải rác so với các UTĐT khác. Một ví dụ nổi bật là gen TGFBRII có chứa 11 adenine nối tiếp nhau ở các vùng mã hóa của nó. Các đột biến trượt đặc biệt ở lặp nhỏ (minirepeat) này dẫn đến đột biến khung đọc, phổ biến cao ở các ung thư HNPCC. Một gen khác cũng thường bị ảnh hưởng bởi các đột biến khung đọc, mã hóa cho protein tiền apoptosis BAX.

## 14.5. BẤT ỔN ĐỊNH HỆ GEN TRONG CARCINOMA ĐẠI TRÀNG

Ước tính khoảng 15% tất cả các UTĐT (có tính chất gia đình và rải rác) biểu lộ kiểu hình MSI. Sự phát triển và tiến triển của những khối u này được thúc đẩy là do tăng tỷ lệ đột biến. Quan trọng là, chỉ có một dạng đặc biệt của các đột biến mới xảy ra với tần số tăng cao ở các ung thư này, tức là các đột biến điểm mà trong các tế bào bình thường nó sẽ được loại bỏ nhờ hệ thống sửa chữa không tương xứng (không phù hợp).

Trái lại, những biến đổi NST ở các ung thư MSI ít phổ biến hơn các carcinoma khác của người và một số ung thư MSI thậm chí vẫn còn duy trì lưỡng bội. Một giải thích (giả thuyết) cho sự quan sát này là do sự tái tổ hợp không đúng luật trong những ung thư này bị kiềm chế. Những sự tái tổ hợp như thế thường liên quan đến tính tương đồng chứ không phải là sự giống hệt nhau về trình tự. Vì thế, trong quá trình tái tổ hợp xuất hiện những sự không thích hợp nhỏ giữa các trình tự này. Trừ khi chúng được sửa chữa bởi quá trình sửa chữa không thích hợp, nếu không sự tái tổ hợp có thể không hiệu quả.

Trái lại, các UTĐT khác lại trở nên dị bội sớm trong quá trình tiến triển, mất hoặc thêm toàn bộ hay từng phần NST. Những sự thay đổi này sẽ làm tăng hoặc giảm số bản sao cũng như những sự sắp xếp lại NST điều khiển sự tiến triển của khối u, cùng với một lượng nhỏ các đột biến điểm. Dạng bất ổn định di truyền này gọi là *sự bất ổn định NST* và đôi khi viết tắt là *CIN*. Đây là dạng bất ổn định hệ gen nổi trội ở UTĐT cũng như nhiều carcinoma của các cơ quan khác. Tuy nhiên, cơ chế gây nên CIN thì vẫn chưa rõ chẳng hạn như cơ chế nào gây nên kiểu hình MSI. Đặc biệt là, trong UTĐT thì mất

chức năng APC có thể góp phần vào kiểu hình CIN, vì protein này có liên quan đến trục phân bào và các domain gần các C tận cùng liên quan đến những tương tác này, nó thường bị xóa bỏ do các đột biến cắt xén phổ biến. Nếu đúng thì lời giải thích này sẽ cắt nghĩa cho sự nổi trội của các đột biến ở APC cao hơn CTNNB1 trong các UTĐT. Thật thú vị là, chức năng kiểm soát sự phân ly phân bào mặc nhiên được công nhận là RB1. Tất nhiên, mất TP53 thì ít nhất cũng chấp nhận là dị bội.

Như vậy, có ít nhất 2 dạng bất ổn định hệ gen trong carcinoma đại tràng và các ung thư khác của người. Một dạng dẫn đến tăng tỷ lệ biến đổi NST và một dạng dẫn đến tăng tỷ lệ đột biến điểm. Một giả thuyết quan trọng cho rằng, sự phát triển nhiều giai đoạn của các khối u người đòi hỏi phải có một số kiểu (sort) tăng tỷ lệ đột biến, với "kiểu hình mutator" thì 2 dạng ung thư này có thể được tạo ra do tăng tỷ lệ đột biến điểm hoặc biến đổi NST. Sau hết là, muốn phát triển UTĐT bắt buộc ít nhất phải có 5-7 biến đổi di truyền trong một dòng tế bào, và có lẽ đây là một ước tính rất thận trọng.

Có một bổ sung thú vị cho câu chuyện này mới xuất hiện gần đây. Khi nghiên cứu về những biến đổi methyl hóa DNA ở UTĐT cho thấy, những biến đổi này rất phổ biến ở những UTĐT cá thể hơn là các ung thư khác. Như vậy, có một tập hợp nhỏ UTĐT thể hiện kiểu hình "cường methyl hóa". Cơ chế gây nên kiểu hình này thì vẫn chưa rõ. Tuy nhiên, mẫu (pattern) gen bị ảnh hưởng bởi các đột biến trong tập hợp nhỏ UTĐT dường như là rất đặc biệt. Ngoài tần số cao của biến đổi KRAS thì cũng quan sát thấy tỷ lệ cao sự bất hoạt gen CDKN2A do cường methyl hóa promoter. Gen này trong UTĐT không thường xuyên biến đổi như các ung thư khác của người. Dạng UTĐT này được chỉ định là $CIMP^+$ (CpG-island methylation phenotype). Lưu ý rằng, tập hợp nhỏ này không thực sự khác biệt với MSI và các ung thư CIN. Lý do là sự cường methyl hóa có thể đã làm bất hoạt gen cần cho sự sửa chữa không thích hợp hoặc sự ổn định NST. Đặc biệt là gen MLH1 thường xuyên là đích của sự cường methyl hóa .

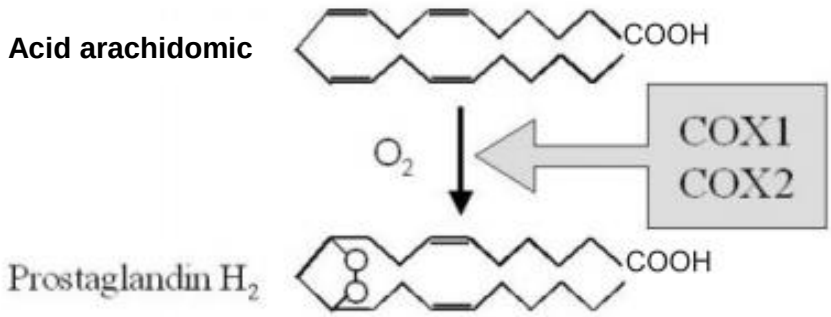
Việc phân loại ung thư đại tràng theo cơ chế về sự bất ổn định di truyền hay epigenetic không chỉ là sự hấp dẫn một cách trí tuệ mà nó còn có thể xác định được các dưới lớp ung thư khác nhau với các tiên lượng lâm sàng khác nhau. Như vậy, các ung thư MSI phổ biến mức trung bình này hiếu chiến hơn các ung thư CIN đôi chút. Tuy nhiên, việc phân loại này dường như là có ý nghĩa nhất là trong dự đoán các phản ứng của ung thư đặc biệt với các can thiệp trị liệu. Như vậy, ung thư MSI và CIN có thể có sự khác biệt trong đáp ứng với hóa trị và các ung thư $CIMP^+$ có thể tiên đoán được là nhạy cảm một cách đặc biệt với các chất ức chế methyl hóa DNA.

## 14.6. VIÊM NHIỄM VÀ UNG THƯ ĐẠI TRÀNG

Tăng tần suất UTĐT cũng quan sát thấy ở những bệnh nhân mắc bệnh viêm ruột mạn tính. Các bệnh nhân viêm loét đại tràng đã xác định rõ ràng là có nguy cơ UTĐT

tăng cao 4-20 lần. Lý do của việc tăng nguy cơ ở những bệnh nhân này phức tạp. Chẳng hạn như, sự tổn thương mạn tính của niêm mạc có thể đẩy nhanh tiến độ quay vòng của các TB gốc của mô, điều đó có khả năng làm tăng nguy cơ biến nạp ác tính của chúng. Việc tạo thuận lợi cho sự tiếp cận của các chất gây đột biến bắt nguồn từ ruột cũng có thể có liên quan. Tuy nhiên, những sự viêm nhiễm như thế thường được xem như là thủ phạm chính làm tăng nguy cơ ung thư.

Các tế bào gây viêm như đại thực bào, các TB lympho kích hoạt giải phóng ra các mẫu oxy phản ứng gây đột biến một cách tiềm tàng và rất nhiều cytokine, protease và các enzyme khác điều tiết cấu trúc mô, tăng sinh tế bào và apoptosis. Vì thế không có gì ngạc nhiên khi các nghiên cứu dịch tễ học đã chỉ rõ rằng các thuốc kháng viêm thông thường như acid acetyl salicylic (aspirin) lại làm giảm tần suất UTĐT. Tuy nhiên, mức độ của hiệu ứng lên đến 40% thì thật là ngạc nhiên, và cũng không giới hạn đối với các bệnh nhân bị viêm đại tràng mạn tính.




**Hình 14.8** Phản ứng chủ chốt được xúc tác bởi cyclooxygenase.
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Các đích quan trọng nhất của acid acetyl-salicylic và các thuốc liên quan (nói tóm gọn là các thuốc kháng viêm không steroid -NSAID) là cyclooxygenase, enzyme chuyển đổi acid arachidonic thành prostaglandin (Hình 14.8). Phản ứng này cũng tạo nên các mẫu oxy phản ứng với tư cách là một sản phẩm phụ. Prostaglandin tác động như là các phân tử tín hiệu cận tiết lên các TB đệm cũng như các TB biểu mô.

Trên thực tế có 2 loại cycooxygenase, COX1 là một enzyme kích hoạt cấu hình, trong khi đó COX2 là enzyme được cảm ứng bởi các cytokine trong quá trình viêm nhiễm. Promoter của gen COX2 bị kích hoạt bởi các con đường JNK và p38 MAPK cũng như NFκB. COX2 cũng có thể bị cảm ứng bởi RAS đột biến. Các thuốc đích đặc hiệu isozyme COX2 cảm ứng hóa ra là hiệu quả nhất. Người ta cũng phát hiện thấy COX2 bị cảm ứng trong các UTĐT, chủ yếu là trong các TB đệm như bạch cầu đơn nhân, nguyên bào sợi, các TB nội mô cũng như một số TB carcinoma. Sự biểu hiện mạnh COX2 sẽ làm thay đổi tính kết dính TB và làm giảm apoptosis của các TB làm nảy sinh và thiết lập UTĐT. Hiệu ứng này có thể được trung gian bởi các hiệu ứng cận tiết.

Chưa bao giờ các loại thuốc như sulindac và celecoxib được chứng minh là có hiệu ứng đáng kể trong việc làm giảm nhẹ tần suất UTĐT và làm chậm lại quá trình tiến triển của nó trong các quần thể có nguy cơ, bao gồm cả các bệnh nhân FAP. Tuy nhiên, sự tác động của sulindac không chỉ do việc ức chế COX2 mà nó còn cảm ứng apoptosis trong các TB carcinoma đại tràng thiếu enzyme này. Những mối liên hệ này vẫn đang được nghiên cứu, nếu hiểu rõ vấn đề này chúng ta sẽ có các biện pháp phòng ngừa hữu hiệu.

Dòng nghiên cứu này rõ ràng vẫn chưa kết thúc và thậm chí có thể còn tạo ra được các phương thức tốt hơn cho việc can thiệp trong tương lai gần, các kết quả từ các thử nghiệm là rất kỳ vọng. Một khái niệm lý thú khác từ các nghiên cứu về thuốc kháng viêm và UTĐT là các cây cỏ có thể chứa các hợp chất tác động với cách thức tương tự như NSAID, ví dụ như curcumin- một chất màu vàng sáng có trong gia vị. Do đó, theo các nghiên cứu dịch tễ học thì hiệu ứng bảo vệ của rau quả rõ ràng là do các hiệu ứng này.

## *TÓM TẮT*

❖ *Carcinoma trực tràng và kết tràng (gọi chung là đại tràng) là một trong số các ung thư phổ biến nhất ở các nước công nghiệp phát triển. Cùng với ung thư phổi, ung thư vú ở phụ nữ và ung thư tuyến tiền liệt ở nam giới, chúng đã kiến tạo nên nhiều ung thư nguy hiểm chết người ở các nước này và là một vấn đề lớn đối với y tế cộng đồng. Giống như ung thư vú và ung thư tuyến tiền liệt, ung thư đại tràng (UTĐT) ít phổ biến ở những nước đang phát triển, cũng như các nước giàu hơn ở châu Á và Bắc Âu. Những sự khác biệt này được chỉ rõ là các yếu tố thuộc lối sống - nguyên nhân quan trọng của bệnh. Bằng chứng hiển nhiên là các yếu tố thuộc chế độ ăn uống.*

❖ *Một số giai đoạn tiền thân khác biệt có thể được phân biệt bằng tổ chức học. Vì thế, các giai đoạn phát triển ung thư đi từ tăng sản tới adenoma lành tính rồi tới carcinoma xâm lấn cục bộ và cuối cùng là di căn có tính chất hệ thống.*

❖ *Một số hội chứng ung thư di truyền làm gia tăng nguy cơ carcinoma đại tràng đặc hiệu ít hoặc nhiều, trong đó có bệnh polyp adenoma có tính chất gia đình do coli (familial adenomatous polyposis coli – FAP), carcinoma đại tràng không polyp có thể di truyền (heriditary non-polyposis colon caarcinoma – HNPCC), hội chứng Peutz-Jeghrs (PJS) và bệnh Cowden. Việc nghiên cứu các hội chứng rất hiếm với sự phổ biến vừa phải sẽ góp phần rất lớn vào sự hiểu biết của chúng ta về các UTĐT rải rác.*

❖ *Trong khi theo nguyên lý chung thì carcinoma người nảy sinh từ các biến đổi ở một số gen và các con đường điều hòa riêng biệt thì trong UTĐT nhiều biến đổi này đã được xác định một cách thực sự. Tuy nhiên chúng lại ở những giai đoạn đặc biệt của*

*quá trình phát triển khối u và có liên quan tới những biến đổi tổ chức học đặc hiệu. Mô hình phân tử của sinh UTĐT đã nâng cao sự hiểu biết về các quá trình sinh học cơ bản. Người ta cũng nỗ lực chuyển giao mô hình này vào các nghiên cứu các ung thư khác. Theo nghĩa này thì UTĐT sẽ trở thành một kiểu mẫu cho ung thư phân tử.*

❖ *Bước cơ bản của "người gác cổng" trong quá trình phát triển UTĐT chủ yếu dẫn đến adenoma là sự kích hoạt kiến tạo con đường tín hiệu WNT. Nó thường do mất chức năng của chất kiềm chế khối u cổ điển APC, ít thường xuyên bởi các đột biến trong β-catenin kích hoạt sinh ung thư CTNNB1, và hiếm khi bởi các biến đổi khác trong con đường này. Việc kích hoạt dường như đã "trao" kiểu gen "tế bào gốc" cho các tế bào carcinoma.*

❖ *Các bước khác trong quá trình tiến triển ung thư có liên quan đến các đột biến kích hoạt KRAS, mất chức năng TP53 và bất hoạt đáp ứng tế bào với TGFβ.*

❖ *Ung thư đại tràng chứng minh rằng, sự phát triển khối u có thể được điều khiển bởi một số cơ chế khác nhau. Các nghiên cứu phân tử đã vạch rõ, việc tích lũy các biến đổi phân tử ở các UTĐT cá thể có thể được thúc đẩy chủ yếu là do tăng cao các đột biến điểm cố định, do sự bất ổn định nhiễm sắc thể hoặc tăng tỷ lệ biến đổi epigenetic. Những dưới lớp phân tử xác định này chỉ khác nhau chút ít về hình thái học cũng như cách ứng xử lâm sàng của chúng, nhưng việc phân loại nó sẽ rất hữu ích cho việc chẩn đoán và xác định các đích trị liệu.*

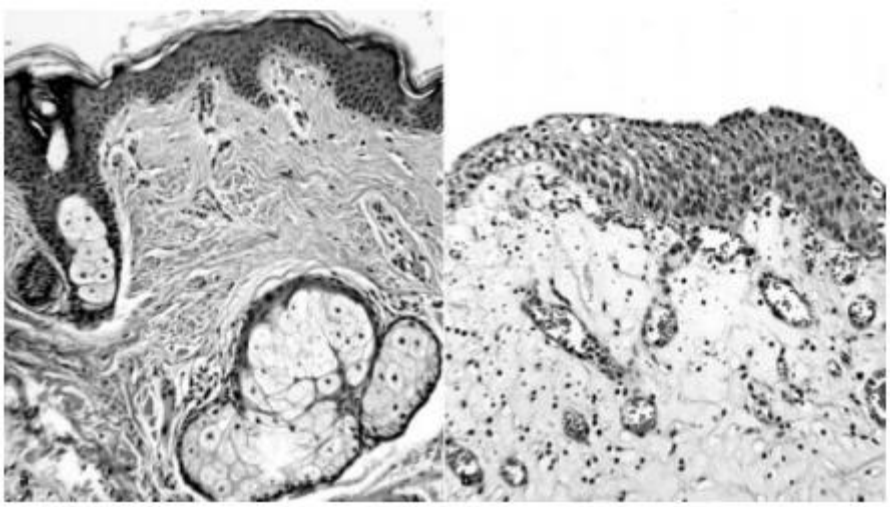
❖ *Đặc biệt là, một dưới nhóm UTĐT được đặc trưng bởi tăng tỷ lệ đột biến điểm, rõ ràng nhất là các đột biến thường thấy ở các lặp microsattelite. Sự bất ổn định microsattelite này gây nên bởi các khiếm khuyết ở hệ thống sửa chữa không phù hợp DNA. Nó cũng có thể nảy sinh một cách tự phát do sự bất hoạt di truyền hoặc epigenetic các gen mã hóa cho các thành phần của hệ thống hoặc do hệ quả của các biến đổi có thể di truyền được ở các gen này trong các hội chứng HNPCC di truyền trội.*

❖ *Ung thư đại tràng cũng xảy ra trong ngữ cảnh của các bệnh viêm ruột mạn tính như viêm loét đại tràng. Các thuốc kháng viêm không steroid làm giảm các nguy cơ UTĐT ở những bệnh nhân này, nhưng dường như cũng có hiệu quả với các bệnh nhân UTĐT khác. Vì thế, UTĐT cũng là một ví dụ tiên phong trong việc phòng chống một cách hóa học (chemopreventation).*

# CHƯƠNG XV: UNG THƯ BÀNG QUANG

## 15.1. LỊCH SỬ VÀ NGUYÊN NHÂN CỦA UNG THƯ BÀNG QUANG

Từ bể thận qua bàng quang vào niêu đạo, đường tiết niệu được lót bằng một lớp biểu mô "chuyển tiếp" chuyên hóa gọi là biểu mô niệu (urothelium) (Hình 15.1), cấu trúc biểu mô niệu khác biệt so với biểu mô các cơ quan khác. Biểu mô niệu hình thành nên một hàng rào (barrier) kém thấm để ngăn chặn nước tiểu thậm chí cả nước thấm trở lại cơ thể. Trong biểu mô chuyển tiếp, các TB từ một số lớp vẫn duy trì sự tiếp xúc với màng cơ bản. Điều này cho phép chúng chuyển chỗ cho nhau tùy thuộc vào trạng thái thấm. Lớp TB trên cùng hình thành nên một hàng rào thực sự bao gồm các TB hình dù biệt hóa tận cùng được gắn kết bởi các khớp nối khít. Tính thấm thấp ở biểu mô niệu có được là do hàng loạt các protein dày đặc ở màng đỉnh (apical membrance), được tạo ra bởi các uroplakin. Những protein này là các marker đặc biệt của sự biệt hóa biểu mô thận. Sự quay vòng của biểu mô thường rất chậm, nhưng có thể tăng sinh nhanh và nhiều để đáp ứng khi tổn thương hoặc thâm nhiễm do vi khuẩn nhằm thay thế những vùng bị tổn hại.



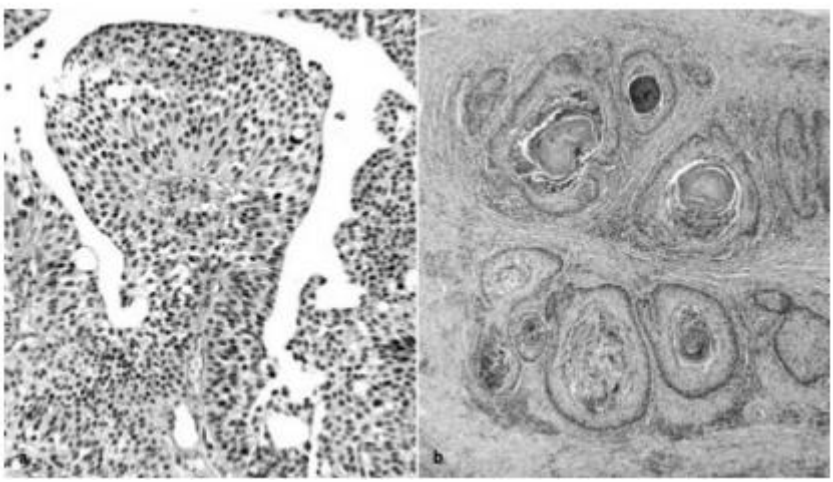
**Hình 15.1** *Tổ chức học của carcinoma tế bào chuyển tiếp (trái) và carcinoma tế bào vảy (phải) nảy sinh từ biểu mô niệu*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Ung thư bàng quang hay carcinoma, phát triển từ biểu mô niệu. Thực sự thì, hầu hết các các ung thư biểu mô niệu tăng trưởng ở bộ phần này hay phần khác của đường tiết niệu, nhưng đều có đặc tính tương tự, dĩ nhiên sự quy định này thường rất lỏng lẻo.

Hầu hết các carcinoma đều nảy sinh từ biểu mô niệu vẫn còn các marker hình thái học và hóa sinh cấu trúc gốc của nó. Đặc biệt là, chúng biểu hiện các marker biệt hóa biểu mô niệu như uroplakin và các cytokeratin đặc hiệu (ví dụ như CK7). Những ung thư này được xếp loại như là carcinoma tế bào chuyển tiếp.

Ung thư bàng quang (UTBQ) xếp hàng thứ 5 trong số các ung thư thường gặp nhất và phổ biến hơn ở nam giới. Carcinoma TB chuyển tiếp đại diện cho một dạng tổ chức học nổi trội ở các nước công nghiệp. Ở các nước có bệnh sán máng lưu hành, thì dạng thứ hai của UTBQ là carcinoma tế bào vảy, khá phổ biến (Hình 15.2). Mặc dầu cũng có nguồn gốc từ các TB biểu mô niệu, nhưng carcinoma này đôi khi còn bao hàm cả các các lớp tế bào được tổ chức chặt chẽ giống như biểu mô vảy. Theo đó, các tế bào ung thư biểu hiện các marker của biểu mô đó chứ không phải biểu mô niệu, ví dụ như cytokeratin CK14 hoặc ngay cả involucin. Đây là một ví dụ rõ ràng về dị sản vì trong đường tiết niệu bình thường không có biểu mô vảy nào tồn tại ở phần xa của niệu đạo.

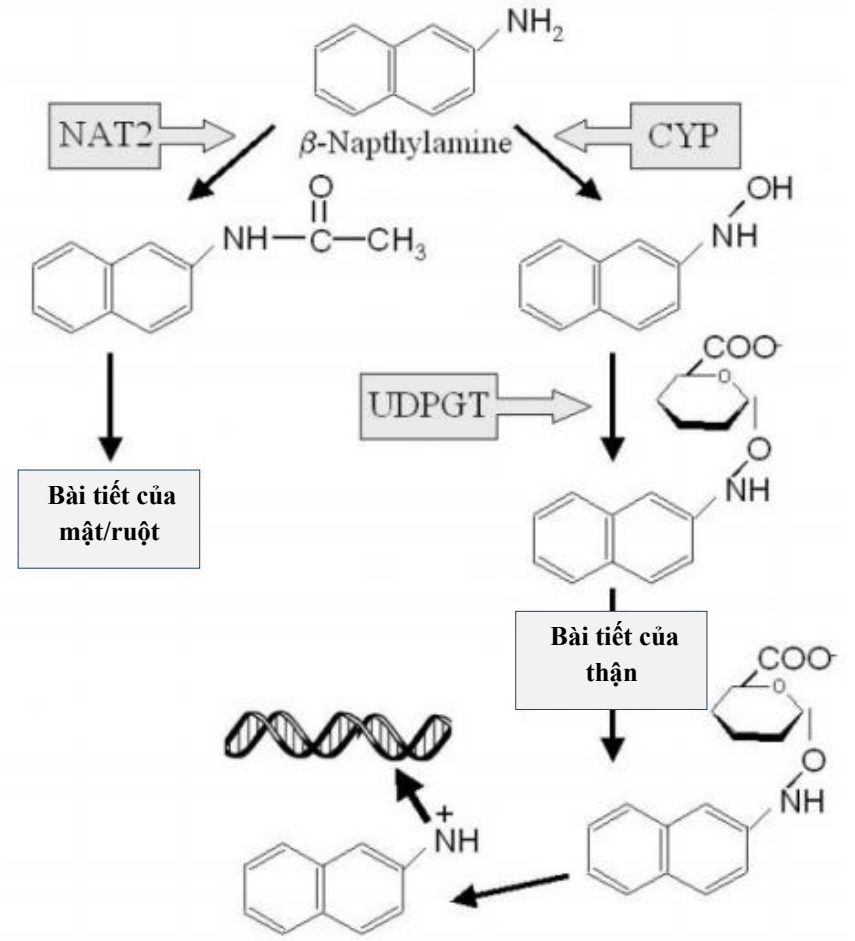


**Hình 15.2** *Tổ chức học của carcinoma tế bào chuyển tiếp (trái) và carcinoma tế bào vảy (phải) nảy sinh từ biểu mô niệu.*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Carcinoma TB chuyển tiếp có thể được cảm ứng do các chất sinh ung thư hóa học. Điều này được chứng minh đầu tiên bởi bác sĩ phẫu thuật Ludwig Rhehn - người mà vào cuối thế kỷ 19 đã điều trị cho những công nhân chuyên sản xuất thuốc nhuộm azo ở một nhà máy hóa học tại ngoại ô Frankfurk, Đức. Những công nhân này thường xuyên tiếp xúc với aniline, benzidine và các thuốc nhuộm trong quá trình sản xuất, và phát triển UTBQ sớm và với tỷ lệ cao. Ngày nay, mặc dầu đã được bảo hộ tốt nhưng các nguy cơ nghề nghiệp đối với UTBQ vẫn còn tiếp diễn ở các ngành công nghiệp hóa học, nơi mà người công nhân vẫn thường phải tiếp xúc với các amine thơm hoặc các dẫn xuất chuyển hóa của chúng.

Các chất hóa học khác như nitrosamine, nitro-aromate, polyaromate và thuốc kiềm chế tăng sinh tế bào cyclophosphamide cũng như arsenic cũng liệt vào danh sách các chất có khả năng sinh UTBQ. Một loại cocktail (hỗn hợp) các chất gây ung thư được hít vào cùng khói thuốc lá đã làm nguy cơ UTBQ tăng gấp 4 lần ở những người hút thuốc. Tỷ lệ UTBQ cũng ngày càng tăng cao ở các nước Tây Âu, nơi bị nhiễm xạ cesium từ thảm họa Chernobyl.




**Hình 15.3** *Kích hoạt chuyển hóa β-naphtylamine thành chất sinh ung thư*

Có lẽ vai trò quan trọng là NAT1 không được thể hiện ở đây vì còn đang tranh cãi. Vì vậy người ta cho rằng ở thận và mô biểu mô thận thì enzyme này sẽ thúc đẩy sự sinh ung thư do acetyl hóa glucuronidate N-OH –arylamide.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Thực tế là, tính sinh ung thư do các amine thơm rõ ràng là tùy thuộc rất nhiều vào các cơ quan. Để trở thành một chất sinh ung thư, các amine thơm phải được kích hoạt bằng sự hydroxyl hóa ở nhóm amino (Hình 15.3). Đây là phản ứng được thực hiện bởi

các isoenzyme thuộc họ *monooxygenase P450 có gen tương ứng là CYP*. Việc gắn thêm một proton của nhóm N-hydroxyl này dẫn đến sự phân ly của phân tử nước và hình thành nên một ion arenium phản ứng cao. Sự hydroxyl hóa ở nhóm này sẽ bị ngăn chặn bởi sự acetyl hóa. Phản ứng được xúc tác bởi các N-acetyltransferase, chủ yếu bởi enzyme NAT2. Tuy nhiên, hiệu ứng của sự bài tiết các amine hydroxyl hóa vào nước tiểu, ruột còn phụ thuộc vào mức độ glucuronyl hóa và sulfate hóa được thực hiện bởi UDP- glucuronyl transferase và sulfotransferase.

Vì nhiều enzyme liên quan đến chuyển hóa của các arylamine trên người rất đa hình (Bảng 15.1) nên tính sinh ung thư của các amine thơm trong từng cá thể không những phụ thuộc vào mức độ tiếp xúc mà còn phụ thuộc vào cấu trúc gen. Những công nhân tiếp xúc với các amine thơm, thì NAT2 tạo điều kiện để kiến tạo nên yếu tố di truyền trội. Phụ thuộc hàng chục tổ hợp các allele khác nhau, con người biểu lộ 2 kiểu hình acetylator khác nhau là kiểu hình "chậm" và "nhanh", điều này cũng quan trọng trong việc đáp ứng với hàng loạt các thuốc dùng trong y học. Các acetylator nhanh thì nhạy cảm ít hơn nhiều với sinh carcinoma bàng quang do các amine thơm, mặc dầu chúng có thể tiết ra nhiều sản phẩm chuyển hóa vào ruột dẫn đến làm tăng nguy cơ ung thư đại tràng.

Trong số các bệnh nhân UTBQ nói chung thì kiểu gen NAT2 có xu hướng là một yếu tố ít trội bởi vì ở đây còn có sự góp phần của các chất sinh ung thư khác cũng như các quá trình nội sinh. Tuy nhiên, nguy cơ của những người hút thuốc lá đối với việc phát triển UTBQ thậm chí còn cao hơn cả những người không có GSMT1 glutathione transferase, làm nhiệm vụ chuyển hóa các chất sinh ung thư hóa học có liên quan đến benzopyrene. Sự thiếu hụt này do tính đồng hợp tử của việc xóa bỏ allele "null" của gen GSTM1 (Bảng 15.1).

Trong khi carcinoma TB chuyển tiếp thường bị cảm ứng bởi các chất sinh ung thư hóa học thì carcinoma TB vảy thường nảy sinh sau khi bị viêm bàng quang mạn tính. Điều này thể hiện rõ ràng nhất trong UTBQ liên quan sán máng. Ký sinh trùng sán máng đi vào cơ thể con người qua đường nước nhiễm bẩn tới phổi, gan và bàng quang. Tại bàng quang, sán máng mansoni gây nên *viêm nhiễm mạn tính* làm hư hỏng mô vĩnh viễn còn ký sinh trùng thì lại được tái sinh. Đây là thời kỳ "chuẩn bị mặt bằng" cho việc phát triển carcinoma vảy. Mối quan hệ này làm cho UTBQ trở thành một trong những ung thư thường gặp nhất ở các nước có khí hậu ấm áp có bệnh sán lá trematode lưu hành.

Ở các nước công nghiệp phía Bắc, khoảng 90% UTBQ thể hiện tổ chức học carinoama TB chuyển tiếp, trong khi đó hầu hết số còn lại đều là carcinoma TB vảy. Carcinoma TB chuyển tiếp bao gồm 2 dưới type với các đặc trưng khác nhau. Type thường gặp nhất là các u nhú, tăng trưởng chủ yếu tại phần chính giữa bàng quang và nhận dạng rõ ràng là bắt nguồn từ biểu mô niệu. Mặc dù chúng là các khối u ác tính

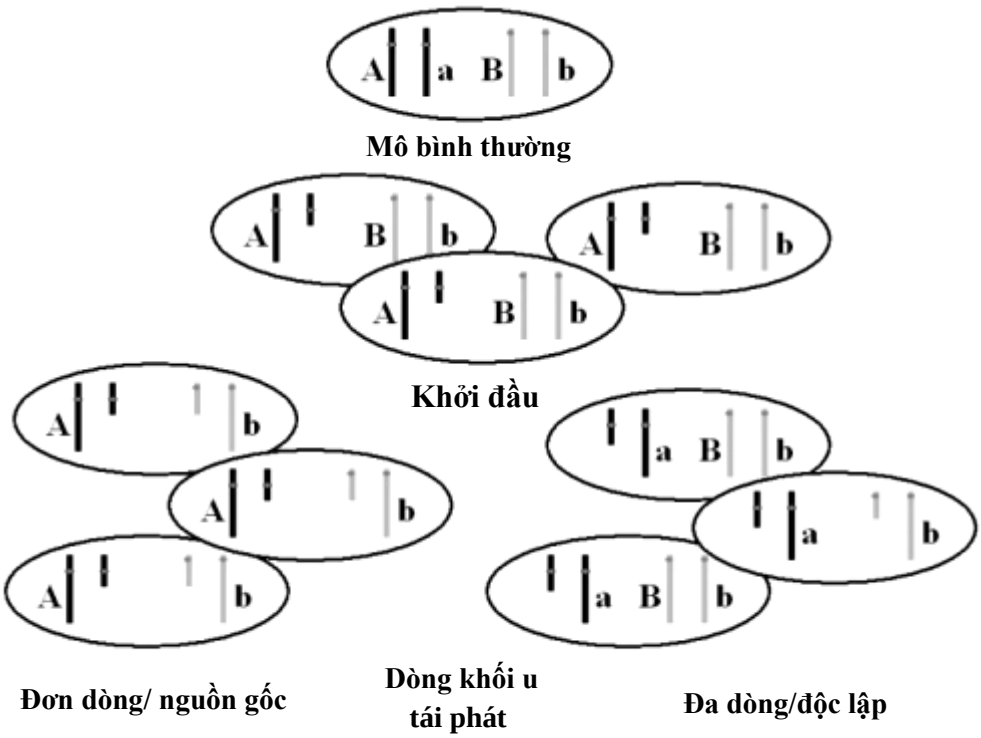
nhưng chỉ khoảng 20% các khối u này mới thực sự tiến triển tới giai đoạn xâm lấn và xa hơn nữa là di căn. Hầu hết nhưng không phải tất cả các khối u này cuối cùng trở nên xâm lấn đều có sự biệt hóa khởi đầu kém. Các khối u thể nhú thường có thể loại bỏ bằng phẫu thuật cắt bỏ cục bộ, nhưng có xu hướng tái phát ở các vị trí khác trong biểu mô niệu, đôi khi cũng tiến triển tới trạng thái biệt hóa ít hơn hoặc cao hơn nữa là đến trạng thái xâm lấn.

UTBQ thường được xem như là một ví dụ của "phạm vi ung thư hóa" (field cancerization), bởi vì nhiều khối u nảy sinh ở những chỗ khác nhau trong cùng một thời điểm hay nối tiếp sau, tức là nó là đồng bộ (synchronously) hay không đồng bộ (metachronously). Điều này có nghĩa là, toàn bộ mô đã bị biến nạp tới giai đoạn tiền ung thư, có lẽ do hệ quả của việc tiếp xúc với các chất sinh ung thư, hoặc do kích thích hay viêm nhiễm mạn tính hoặc do hệ quả của các yếu tố được giải phóng bởi các TB ung thư thực sự.

***Bảng 15.1.*** *Các gen và enzyme đa hình trong chuyển hóa sinh ung thư*

| **Gen** | **Đa hình** | **Hoạt tính enzyme** | **Cơ chất** |
|---|---|---|---|
| CYP1A1 | 1462V vị trí MspI ở 3'-UTR | Monooxygenase (hydroxylase) | Hydrocarbon polyaromatic |
| CYP1A2 | Yếu tố điều hòa ở intron 1 | Monooxygenase (hydroxylase) | Arylamine, amine dị vòng |
| CYP2D6 | > 16 allele bao gồm cả gen nhân đôi | Monooxygenase (hydroxylase) | Debrisoquine (thuốc thử nghiệm) và nhiều thuốc trị liệu và tái tạo |
| CYP2E1 | Vùng mở, cảm ứng | Monooxygenase (hydroxylase) | Ethanol và các chất khác |
| GSTM1 | Xóa bỏ | glutathione transferase | Epoxide từ hydrocarbon polyaromtic và các chất khác |
| GSTP1 | V1041 | Glutathione transferase | Rất nhiều các hợp chất ưa điện tử |
| GSTT1 | Xóa bỏ | Glutathione transferase | Alkene ngắn, đặc biệt là chlorinate |
| mEH | Y113H | Epoxide hydrolase | Expoxide từ sự chuyển hóa Hợp chất thơm chưa bão hòa |
| NAT1 | Vị trí polyadenylate hóa khác | N-acetyl transferse | Arylamine |
| NAT2 | >20 biến thể ở vùng mã hóa | N-acetyl transferse | Arylamine |
| NQO1 | Thay đổi base/aa với tính ổn định của protein | Quinone reductase | Quinone |
| DHEAST (SULT) | D186V | Sulfotransferase | Các hợp chất hydroxyl hóa bao gồm cả N-oxide |

So sánh về mặt phân tử giữa các ung thư "đồng bộ" và "không đồng bộ" nhờ việc sử dụng các marker microsatellite (Hình 15.4) đã chỉ rõ rằng, một số yếu tố tổ hợp với nhau tạo nên "dấu in" (impression) trong phạm vi biến đổi (field change). (1) Thực sự thì, một số UTBQ là oligoclonal, ví dụ các khối u ở các vị trí khác nhau hoặc ở các thời điểm khác nhau có những biến đổi di truyền loại trừ lẫn nhau (Hình 15.4) điều đó cho thấy chúng có nguồn gốc độc lập phù hợp với khái niệm ban đầu về sự biến đổi phạm vi. (2) Một số ung thư có các mẫu microsatellite quan hệ gần gũi, vậy chúng phải là đại diện cho các hậu duệ của một số dòng. Trong trường hợp này, chúng được mở rộng là do di cư tới niêm mạc hoặc xuyên vào phần lõi bên trong. (3) Đặc biệt là, một số khối u tái phát có thể được chứng minh là giống hệt như các khối u gốc (original), trong khi đó các khối u khác là hoàn toàn độc lập. Ở nhóm thứ nhất, việc cắt bỏ sẽ là không hoàn thiện hoặc khối u có thể lan rộng ra trong quá trình phẫu thuật.



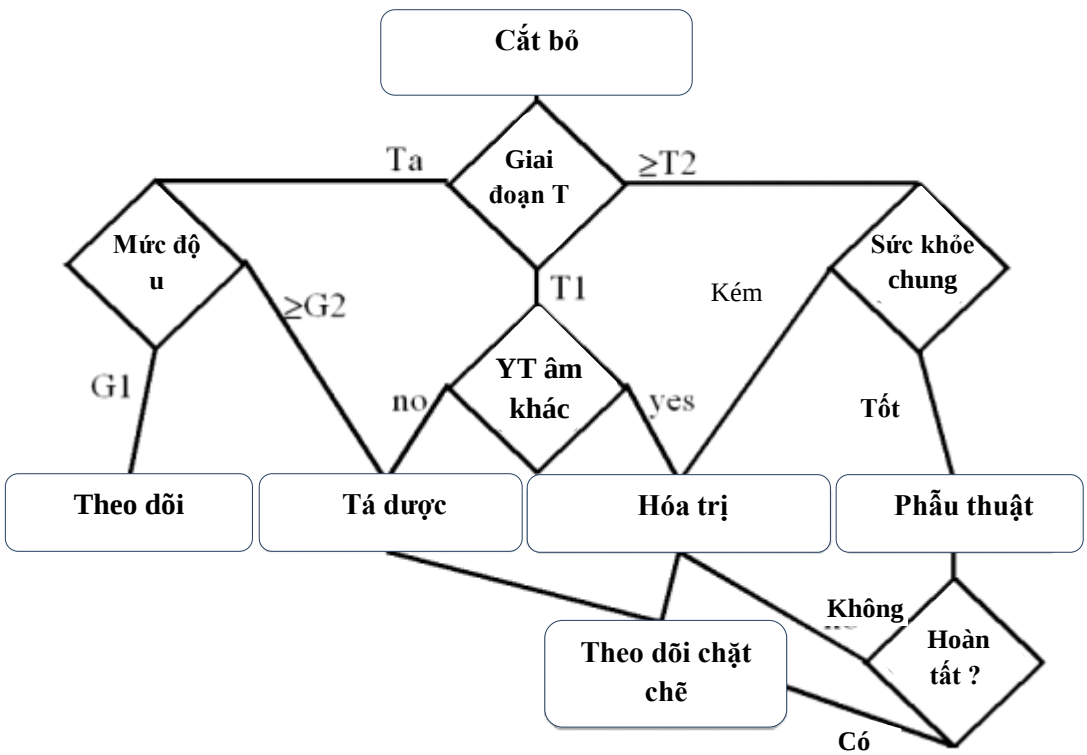

**Hình 15.4** *Sử dụng các marker microsatellite để xác định khả năng tạo dòng (clonality) của ung thư bàng quang*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Sự tái phát có thể được ngăn chặn phần nào bằng cách nhỏ các thuốc kiềm chế tế bào như mitomycin C hoặc vaccine BCG. Vaccine này bao gồm các vi khuẩn lao bất hoạt có khả năng cảm ứng các phản ứng miễn dịch để tiêu diệt các TB khối u cùng với một phần các TB biểu mô niệu. Biểu mô niệu sau đó được thay thế bằng sự tái sinh.

Mặc dù có thể đo đếm được khả năng phòng ngừa phụ trợ (adjuvant), nhưng bệnh nhân cũng cần được theo dõi tái phát nhiều năm sau phẫu thuật.

Dạng UTBQ xâm lấn hơn phát hiện được khoảng 20% bệnh nhân. Ở những bệnh nhân này, các khối u tăng trưởng ít mở rộng vào phần lõi và tăng trưởng nhiều hơn ở các lớp sâu của mô và vượt ra bên ngoài với xu hướng di căn hóa. Những ung thư xâm lấn có khả năng phát triển từ carcinoma *in situ*, một tổn thương loạn sản phẳng nghiêm trọng. Loạn sản trong trường hợp này liên quan tới cả hình thái học và cấu trúc mô và nhân, chúng là đa hình và bất thường, điều đó chứng tỏ mức độ dị bội là đáng kể. UTBQ xâm lấn cần phải được điều trị tận gốc bằng cắt bỏ bàng quang ngay khi tiến triển tới các lớp cơ của mô. Cắt bỏ bàng quang đại diện cho sự can thiệp phẫu thuật chính, ít nguy cơ tử vong nhưng tỷ lệ biến chứng cao và thường gây hậu quả nghiêm trọng đối tới chất lượng cuộc sống. Cho đến nay vẫn chưa điều trị thành công các bệnh ung thư. Trong một số trường hợp, hóa trị thường được kết hợp với phẫu thuật. Trong một số trường hợp bắt buộc thì phẫu thuật là cách duy nhất. Nhìn chung, hóa trị kiềm chế tế bào trong UTBQ chỉ có hiệu lực trung bình và chắc chắn không thể nào điều trị khỏi hẳn các ung thư di căn.



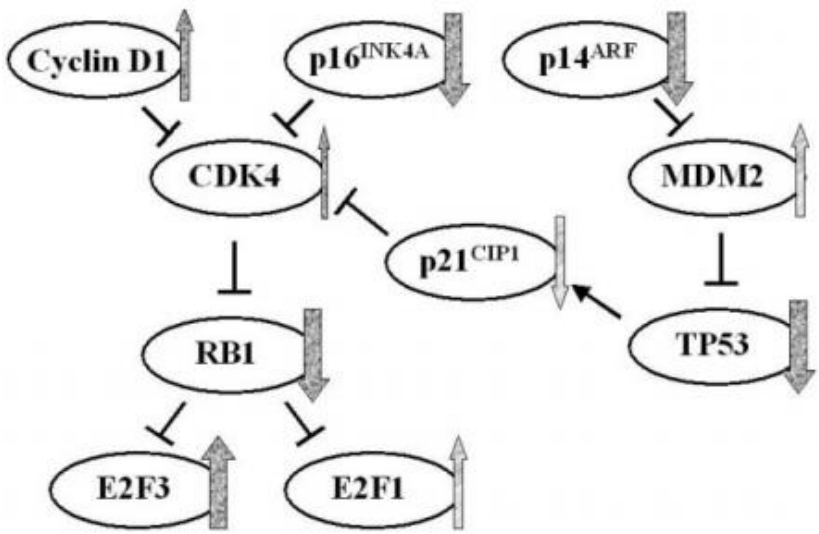

**Hình 15.5** *Cây trị liệu tối ưu trong điều trị ung thư bàng quang*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Như vậy khi so sánh với ung thư trực kết tràng mà sự phát triển dường như theo một trình tự tuyến tính thì UTBQ lại chia ra thành nhiều loại khác nhau với các đặc tính khác nhau. Trong lâm sàng, vấn đề này đặt ra câu hỏi vậy thì việc điều trị đối với mỗi bệnh nhân như thế nào là tối ưu (Hình 15.5). Đối với việc nghiên cứu ung thư, vấn đề thách thức ở đây là xác định được cơ chế sinh học nào làm nền tảng cho sự khác nhau ấy. Đối với việc nghiên cứu "phiên dịch" (tổng hợp) (translation) nhiệm vụ chủ chốt là phải xác định được các marker cho những khác nhau và dự đoán được đặc tính lâm sàng cũng như đáp ứng của chúng đối với trị liệu và phải tìm ra đích phân tử nào mà chúng hiện diện đối với các trị liệu mới.

## 15.2. BIẾN ĐỔI PHÂN TỬ TRONG UNG THƯ BÀNG QUANG XÂM LẤN

Tất cả các UTBQ xâm lấn đều khiếm khuyết rõ ràng 2 hệ thống điều hòa quan trọng, ví dụ như hệ thống điều hòa chu kỳ tế bào bởi RB1 và hệ thống kiểm soát tính toàn vẹn hệ gen bởi TP53. Kết hợp cả 2 khiếm khuyết này sẽ cho phép tăng sinh không kiểm soát, gia tăng bất ổn định hệ gen và tăng trưởng vượt giới hạn do lão hóa sao chép. Thực sự thì telomerase nói chung bị kích hoạt trong các UTBQ xâm lấn. Sự hợp thành của những thay đổi này là đặc trưng cho nhiều ung thư trên người, ví dụ như ung thư phổi, tụy, carcinoma TB vảy đầu và cổ, u nguyên bào xốp cũng như carcinoma da tế bào vảy. Lưu ý rằng, nói chung nó không giống như các cơ chế đối với ung thư trực tràng. Trong các dạng ung thư khác nhau thì có các cơ chế khác nhau đóng góp với các mức độ khác nhau dẫn đến bất hoạt 2 hệ thống điều hòa này (Hình 15.6).




**Hình 15.6** *Những thay đổi trong mạng lưới RB1 và TP53 ở ung thư bàng quang*

Với chiều rộng của mũi tên cho phép phân biệt những thay đổi thường xuyên hay không thường xuyên. Mũi tên lên: Kích hoạt do biểu hiện quá mức hay đột biến; mũi tên xuống: Bất hoạt do xóa bỏ, đột biến và/hoặc cường methyl hóa.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Trong các UTBQ tiến triển, bất hoạt con đường RB1 là do mất RB1 hoặc $p16^{INK4A}$, ít khi do biểu hiện quá mức kiến tạo cyclin D1 do khuếch đại gen CCND1 và rất hiếm trường hợp do biểu hiện quá mức CDK4 do sự khuếch đại gen. Đối với những thay đổi này thì ngay cả việc mất RB1 cũng thường do mất và xóa bỏ một allele hoặc trong các trường hợp khác là do các đột biến cắt xén, dường như gây nên những hậu quả nghiêm trọng nhất. Các UTBQ mất protein RB1 có thể phát hiện bằng hóa tổ chức miễn dịch. Tuy nhiên, tất cả các chất ức chế CDK như $p21^{CIPI}$, $P27^{KIP1}$ và $p57^{KIP2}$ đều biểu hiện ở các TB biểu mô niệu tăng sinh bình thường và trong nhiều ung thư có tính chất bề mặt thì xu hướng là biến mất trong các UTBQ tiến triển. Sự điều hòa xuống của chúng có khả năng làm trầm trọng thêm sự khiếm khuyết trong điều hòa chu kỳ tế bào. Những cơ chế về sự biến mất này vẫn chưa hoàn toàn rõ, nhưng có khả năng chủ yếu là do các cơ chế epigenetic.

Mất chức năng TP53 trong UTBQ thường do đột biến điểm trong gen và mất allele chức năng thứ 2 do tái tổ hợp hoặc xóa bỏ ảnh hưởng của NST 17p. Các đột biến điểm của TP53 mở rộng sang cả phần trung tâm của gen và không hiện diện một manh mối rõ ràng nào là liên quan đến các chất sinh ung thư, mặc dầu các đột biến do "thuốc lá" là điển hình quá mức. Sự biểu hiện quá mức MDH2/HDM2 cũng quan sát thấy trong một số trường hợp. Thường xuyên hơn là mất $p14^{ARF1}$. Cũng giống như mất $p16^{INK4A}$, sự kiện này xảy ra thường do sự xóa bỏ đồng hợp tử bao gồm cả locus CDKN2A. Về mặt kỹ thuật, khó mà xác định được tần số thực của các xóa bỏ đồng hợp tử trong các mô khối u, nhưng ước tính thì vào khoảng 40% là xóa bỏ cả 2 allele CDKN2A trong các UTBQ tiến triển, ngoài ra cũng có một số nhỏ các trường hợp còn có các đột biến mất nghĩa hoặc cường methyl hóa promoter.

Thật thú vị là, mất $p14^{ARF}$ và đột biến TP53 không loại trừ lẫn nhau, nhưng mất $p16^{INK4A}$ và RB1 lại là loại trừ lẫn nhau. Điều này quan sát thấy ở nhiều ung thư người, mặc dù vẫn lý do tại sao thì vẫn chưa rõ. Tuy nhiên, rõ ràng là mất RB1 đã điều hòa sự biểu hiện của $p16^{INK4A}$, bởi vì RB1 kiềm chế promoter của nó. Do đó, việc tăng biểu hiện chất ức chế chu kỳ TB $p16^{INK4A}$ ở các ung thư người có thể phát hiện được bằng hóa tổ chức miễn dịch và thường là một dấu hiệu xấu, bởi vì nó thường phản ánh sự bất hoạt nghiêm trọng của RB1. Một nghịch lý là, các mức cao hơn của protein P53 trong ung thư thường chỉ rõ sự bất hoạt bởi vì chỉ có sự tích tụ các protein đột biến thì mới có thể phát hiện được bằng hóa tổ chức miễn dịch. Theo đó thì các UTBQ mà phát hiện thấy TP53 bằng hóa tổ chức miễn dịch là xâm lấn hơn bình thường. Rõ ràng là, nhóm có đột biến TP53 và mất RB1 có tiên lượng xấu.

Đặc tính đáng chú ý của UTBQ phân biệt với ung thư trực tràng là vắng mặt thật sự các đột biến kích hoạt con đường WNT/β-catenin. Sự biểu hiện và chức năng của Apc dường như không bị ảnh hưởng và các đột biến kích hoạt β-catenin là rất hiếm. Tất

nhiên là, các gen đích của con đường WNT kinh điển như CNND1, MYC và MMP cũng bị cảm ứng trong UTBQ, nhưng rõ ràng là theo các phương thức khác. Tương tự như vậy, cũng có ít bằng chứng về tầm quan trọng của con đường SHH mà với carcinoma TB đáy của da thì rất quan trọng mặc dầu gen PTCH1 thường là bán hợp tử (hemigygous). Thay vì những biến đổi di truyền trong UTBQ cũng giống như những biến đổi trong carcinoma TB vảy của da.

Có 2 giả thuyết không loại trừ lẫn nhau giải thích về những sự khác biệt này. (1) Ung thư đại tràng và carcinoma TB đáy dường như là nảy sinh từ các TB tiền thân của mô nhờ sự kích thích kiến tạo các con đường tương ứng duy trì các đặc tính TB gốc của chúng. UTBQ phát sinh từ các TB biệt hóa xa hơn, trong đó những con đường này hoàn toàn không bị kích hoạt. Tất nhiên có sự tương thích với việc biểu hiện các marker của sự biệt hóa biểu mô niệu giai đoạn tiến triển như uroplakin hay cytokeratin CK7 và CK20 trong carcinoma TB biểu mô niệu. Đối với dị sản carcinoma TB vảy thì vẫn là bí ẩn trong giả thuyết này. (2) Biểu mô niệu được xem như là một mô được tổ chức với một cách thức rất khác biệt so vơi ruột và da. Trong khi những mô này quay vòng liên tục thì biểu mô niệu chỉ tăng sinh một cách ý nghĩa khi bị tổn thương. Sự tổ chức của việc tăng sinh và biệt hóa ở mô biểu mô niệu vì thế mà có liên quan với các hệ thống điều hòa hơn là với các con đường WNT/β-catenin và SHH.

Tuy nhiên, mất điều hòa chu kỳ tế bào và mất chức năng TP53 chắc chắn không chỉ là các biến đổi di truyền trong các ung thư bàng quang tiến triển. Hầu hết các UTBQ tiến triển đều dị bội cao và gần như mọi NST trong trường hợp này hay trường hợp khác đều tùy thuộc vào số những biến đổi cấu trúc hoặc biến đổi về số lượng. Trong danh mục phát triển ung thư đại tràng thì chúng được chỉ định thuộc lớp CIN. Rối loạn chức năng trạm kiểm soát tế bào - hệ quả của sự bất hoạt RB1 và TP53 chắc chắn là một yếu tố trợ giúp cho cách ứng xử hỗn loạn. Ngoài ra, nhiều khiếm khuyết đặc hiệu trong việc duy trì tính ổn định NST có thể có liên quan, nhưng trong nhiều carcinoma thì chưa thật rõ ràng.

Tuy nhiên, trong UTBQ thì rõ ràng là sự bất ổn định hệ gen nảy sinh rất sớm ở một số ít các khối u, bởi vì nhiều thay đổi đã được phát hiện trong các carcinoma *in situ* cũng như trong giai đoạn xâm lấn sớm. Trái lại, nhiều ung thư thể nhú hiện diện với một số lượng giới hạn các biến đổi NST. So sánh với ung thư đại tràng thì sự bất ổn định microsatellite hiếm khi phát hiện thấy trong các UTBQ. Các UTBQ không xảy ra ở những bệnh nhân HNPCC với tỷ lệ cao, nhưng có phần hơi bí ẩn đối với đường tiết niệu trên, ví dụ ở bể thận và niệu quản. Chưa có sự giải thích mạch lạc về tính chất đặc biệt này, hơn thế nữa vì các biến đổi di truyền nói chung là tương tự nhau giữa các ung thư bắt nguồn từ các khu vực khác nhau của biểu mô niệu. Có lẽ do nồng độ của các chất sinh ung thư hoặc thời gian tiếp xúc ở bể thận và niệu quản là cao hơn.

Do hệ quả của sự bất ổn định hệ gen ngày càng mở rộng trong UTBQ nên khó mà xác định được biến đổi nào là quan trọng đối với việc phát triển khối u vì nó trái ngược với các trường hợp xảy ra do hệ quả của bất ổn định hệ gen và nó được "truyền bá" là "các biến đổi lãng qua" (pasenger alteration) trong các dòng TB khối u mở rộng thành công. Một cách tiếp cận với vấn đề này là tập trung vào các biến đổi NST thường hay tái xuất hiện trong nhiều trường hợp khác nhau hoặc trong một tập hợp nhỏ ung thư đặc trưng một cách đặc hiệu. Chẳng hạn như mất 13q và 17p thường xuyên ở các ung thư tiến triển và có khả năng là có liên quan đến việc bất hoạt RB1 và TP53.

Mất NST tái diễn khác trong quá trình tiến triển ung thư lên quan đến NST 8p, 16q và 11p trong một tập hợp nhỏ các trường hợp. Hiện nay người ta chỉ có thể phỏng đoán được gen nào có thể bị ảnh hưởng bởi những sự mất mát này. Gen CDH1 mã cho E-cadherin ở 16q và CDKN1C mã hóa cho $p17^{KIP2}$ trên 11p là các ứng cử viên sáng giá. Trái lại, thường thì việc thêm vào của NST 7p và 8q có thể liên quan đến ERBB1 mã hóa cho EGFR và MYC, vì trong một số hiếm các trường hợp đã quan sát thấy có sự khuếch đại chọn lọc 7p12 và 8q24.1. Hệ quả của những vấn đề này thường là do đồng thời cả sự thêm vào và khuếch đại ở 5p, 6p và 20q, điều đó thật là khó hiểu.

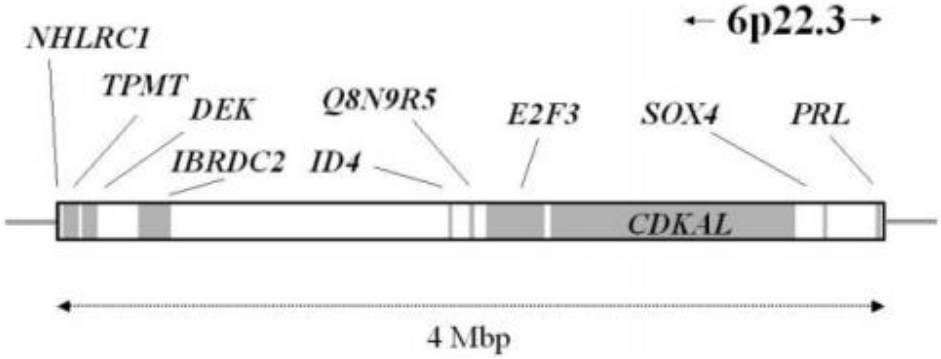
Có một vấn đề thuộc về khái niệm cũng như thực tiễn liên quan ở đây trong việc thu hẹp khoảng cách giữa các biến đổi NST cũng như việc xác định các gen quan trọng bị kích hoạt hay bất hoạt bởi chúng. Những vấn đề này sau đó có thể được sàng lọc, các đột biến bất hoạt (trong trường hợp kiềm chế khối u) hoặc đột biến kích hoạt (trong trường hợp là gen ung thư) trong các TB bình thường của các bệnh nhân từ các gia đình bị ảnh hưởng.

Trong các ung thư không có các hội chứng có sẵn thì nhiệm vụ càng khó khăn hơn và càng trầm trọng thêm do bất ổn định hệ gen. Trong các ung thư có bất ổn định hệ gen rõ ràng như UTBQ tiến triển thì bước đầu tiên là phải xác định được các mối liên quan từ các biến đổi lãng du (pasenger alteration). Điều này liên quan đến một khó khăn thuộc về ý niệm, bởi vì có một "vùng xám" (grey zone) các biến đổi ảnh hưởng tới các đặc tính của ung thư, mặc dù chúng có thể là không cần thiết đối với sự tăng trưởng. Tuy nhiên, vấn đề chính nảy sinh từ thực tế là những biến đổi di truyền hay epigenetic trong các ung thư không chỉ liên quan về mặt chức năng mà nó còn được chọn lọc bởi sự tác động chức năng của chúng lên sự mở rộng của dòng TB khối u, đồng thời nó cũng được xác định và giới hạn bởi các cơ chế gây nên, đặc biệt bởi type bất ổn định hệ gen hiện diện trong một ung thư. Hai ví dụ từ các UTBQ xâm lấn có thể minh họa khá đầy đủ sự tranh luận này.

**(1)** Khuếch đại thường xuyên nhất trong các UTBQ liên quan đến vùng NST 6p22. Việc cài thêm 6p được quan sát thấy ở phần lớn các khối u tiến triển và khoảng 25%

biểu lộ khuếch đại thật sự ở một đoạn nhỏ của 6p22. Đoạn được khuếch đại vẫn có khả năng biến đổi và thường bao gồm một số gen (Hình 15.7). Một trong số chúng mã hóa cho yếu tố hoạt hóa sao chép E2F3 có thể kích hoạt gen ở phase S và nó được điều hòa bởi RB1. Vì thế, sự khuếch đại của nó có thể dẫn đến biểu hiện quá mức và mất kiểm soát chu kỳ TB bởi RB1. Tuy nhiên, vùng khuếch đại trong một số trường hợp còn bao gồm cả gen SOX4 mã hóa cho protein chất nhiễm sắc không histone được biết đến là để điều hòa sự biệt hóa và số phận của TB, hoặc gen DEK mã hóa cho protein kinase điều hòa cấu trúc nhiễm sắc thể và có liên quan đến một cặp đôi liên hợp sinh ung thư (oncogenic fusion) trong các ung thu máu cũng như các gen phụ. Như vậy thì gen nào trong số những gen này chịu trách nhiệm hay là một số gen sẽ chịu trách nhiệm?

Những vấn đề tương tự cũng bắt gặp trong các trường hợp khác của sự khuếch đại ở các ung thư khác, ví dụ 12q13 amplicon bao gồm HDM2/CDK4/GLI1 và 11q13 amplicon bao gồm CCND1/GSTP1/FGF1. Lý do của những khó khăn xuất phát từ các cơ chế nền tảng của sự khuếch đại. Chúng có thể được tạo ra như một hệ quả của việc bẻ gãy NST không nảy sinh một cách hoàn toàn ngẫu nhiên. Theo sau việc bẻ gãy khởi đầu, một đoạn DNA được thay thế với một kích cỡ tối thiểu. Trên thực tế kích cỡ tối đa cũng có thể chịu ảnh hưởng bởi các đặc trưng cấu trúc, có thể là kích cỡ của amplicon tương ứng với một số chủng loại (sort) của đơn vị sao chép DNA. Thường thì các amplicon có kích cỡ vài Mbp. Vì trong hệ gen người thì trung bình một gen là 100kb, có thể tương ứng với một vài chục gen. Do vậy, trong ung thư ở người thì sự khuếch đại của một gen đơn dành được là một ngoại lệ chứ không phải là một quy luật.




**Hình 15.7** *Khuếch đại 6p22 trong ung thư bàng quang*

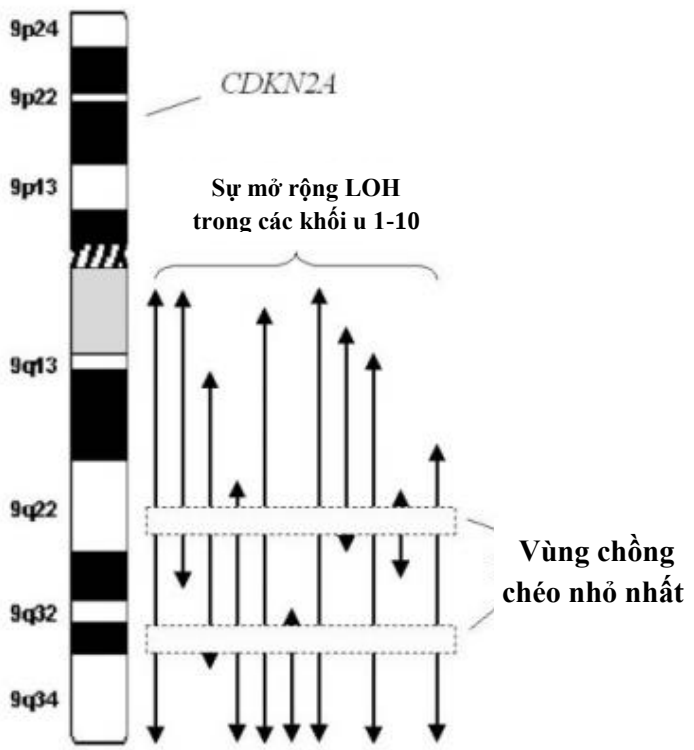
Các gen được chỉ định là màu xám, chia theo tỷ lệ. Các đoạn khác nhau của vùng này được khuếch đại với các mức độ khác nhau ở bộ phận quan trọng của các UTBQ giai đoạn tiến triển. Tuy nhiên, NST 6p thường được thêm vào với tư cách toàn bộ.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

**(2)** Trong UTBQ các dưới type của nó khá độc lập, LOH ở NST 9 xảy ra với khoảng 50% các trường hợp. Thường là nó phản ánh sự xóa bỏ NST. Chắc chắn là, những sự

thay đổi này cũng góp phần làm bất hoạt CDKN2A định vị ở 9p21. Tuy nhiên, cánh tay dài của NST9 cũng thường bị ảnh hưởng không kém, điều đó khẳng định chắc chắn rằng có ít nhất một gen kiềm chế ung thư quan trọng khác định vị ở đây. Tuy nhiên, cho đến nay vẫn chưa xác định được nó.

Việc xác định một chất kiềm chế khối u cổ điển được phỏng đoán là cả 2 allele của gen đều bị bất hoạt một cách nhất quán. Cho đến nay chưa có hội chứng có tính chất gia đình nào về UTBQ mà những biến đổi ở các mô ung thư đã được khảo sát. Tuy nhiên, với UTBQ thì LOH ở NST 9 gây nên bởi việc mất hoàn toàn NST 9, tức là monosomy hay là toàn bộ cánh tay. Trong những trường hợp như thế này là không có lợi. Thậm chí hạn chế LOH ở 9q cũng thường được nới rộng qua một trình tự lớn hơn, thường hay thay đổi giữa các ung thư khác nhau (Hình 15.8). Một cách lý tưởng là, gen kiềm chế khối u sẽ định vị ở vùng có sự chồng chéo nhỏ nhất. Tuy nhiên, vì hầu hết các vùng LOH đều lớn nên việc xác định một cách xác thực vùng chồng chéo là dựa vào các trường hợp ngoại lệ với các xóa bỏ nhỏ, có thể là không đặc trưng. Kiểu chiến lược này có thể dẫn đến những vị trí nơi mà NST bị bẻ gãy xảy ra thường xuyên nhất chứ không phải là những nơi mà các gen quan trọng nhất về chức năng định vị, đặc biệt là trong các ung thư có sự bất ổn định NST rõ ràng.




**Hình 15.8** *Mất dị hợp tử (LOH) ở 9q trong ung thư bàng quang*

Phác họa các kết quả đặc biệt về các phân tích LOH ở 9q ở hàng loạt UTBQ. Trong hầu hết các trường hợp LOH cũng được phát hiện ở 9p bao gồm cả locus CDKN2A.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Vì thế, sự thành công của chiến lược phụ thuộc một cách đặc biệt vào việc phát hiện những biến đổi làm kích hoạt allele thứ 2 của gen kiềm chế khối u được suy đoán.

Nhiễm sắc thể 9 trong UTBQ là trường hợp "ương ngạnh" đặc biệt, nhưng những vấn đề tương tự được đặc biệt quan tâm là việc xác định các chất kiềm chế khối u ở nhiều ung thư người. Vì thế mà phải rất khôn khéo và thận trọng trong việc xác định các chất kiềm chế khối u mới.

Cuối cùng, có thể mường tượng được rằng, mô hình hích kép "two- hit" đối với chức năng kiềm chế khối u không thể áp dụng được cho mọi trường hợp. Thực sự là, với NST 9 trong UTBQ thì "haploinsufficiency" cũng đã được đề cập, ví dụ như sự xóa bỏ một allele của một gen cũng đủ để thúc đẩy sự phát triển của khối u. Một khả năng khác là sự ưu thế của các vùng LOH lớn hơn có thể có liên quan đến nguyên do chức năng. Có lẽ những sự xóa bỏ hay tái tổ hợp lớn này đã đích vào 2 hoặc nhiều gen cùng một lúc. Đây có thể là một trường hợp về sự hợp tác trong kiềm chế khối u.

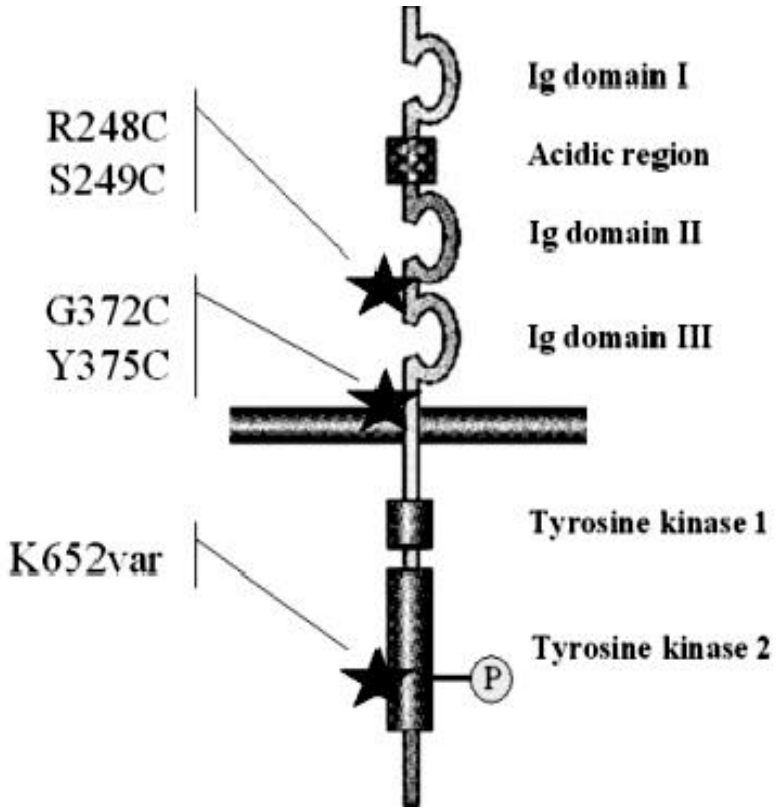
## 15.3. BIẾN ĐỔI PHÂN TỬ TRONG UNG THƯ BÀNG QUANG THỂ NHÚ

Trái ngược với UTBQ xâm lấn, carcinoma thể nhú TB chuyển tiếp có chứa một lượng giới hạn các biến đổi NST. Điều này đặc biệt đúng đối với các khối u biệt hóa tốt và thường là không xâm lấn, mặc dầu tăng sản một cách rõ ràng cùng với giảm biệt hóa tận cùng. Tính trung bình thì số biến đổi di truyền trong dạng khối u này tăng theo mức độ của u.

Tuy nhiên, không phụ thuộc vào mức độ u, việc mất NST 9 vẫn thường xuyên xảy ra. Kết quả là, $p16^{INK4A}$ và $p14^{ARF}$ có thể không có chức năng và gen kiềm chế khối u bí ẩn ở 9q có thể bị ảnh hưởng. Sự biểu hiện của cyclin D1 cũng như MYC thường tăng. Có nhiều khả năng đây là những "dấu hiệu" của tăng hoạt tính chu kỳ TB hơn là nguyên nhân sinh ra nó.Trong một số ít phần trăm các trường hợp các đột biến kích hoạt HRAS đã được phát hiện, có thể là để đáp ứng cho sự cường tăng sinh. Các đột biến TP53 hiếm hơn ở UTBQ xâm lấn và chủ yếu phát hiện thấy ở các khối u ở mức độ cao sắp trở nên xâm lấn.

Bình thường thì biểu mô niệu là một mô yên lặng, quay vòng chậm. Nhưng sau khi mô bị hư hại thì sự tái sinh được kích thích bởi các yếu tố tăng trưởng sản sinh bởi các TB trung mô cơ bản, ví dụ như các FGF. Các TB biểu mô niệu cũng sản xuất ra các yếu tố tự tiết, chủ yếu là các yếu tố tăng trưởng bì liên kết heparin và các peptide liên quan của họ EGF. Những yếu tố này tác động lên các biểu mô niệu bình thường thông qua EGFR, biểu hiện chủ yếu ở các TB đáy. Các thành viên của họ FGF có thể cũng điều hòa chiều dày lớp biểu mô trong quá trình phát triển mô.

Nhiều ung thư biểu mô niệu biểu hiện quá mức EGFR do hệ quả của việc cài thêm NST 7p. Mức độ biểu hiện quá mức EGFR khá song song với tốc độ tăng sinh được phát hiện bởi các marker hóa tổ chức miễn dịch như DNA replisome của tiểu đơn vị PCNA hoặc protein ki67 cần cho việc nâng cao hoạt tính nhân (nucleolar) trong các TB tăng sinh. Trong các UTBQ thì EGFR hiếm khi bị kích hoạt do đột biến




**Hình 15.9** *Các đột biến của FGFR3 thường thấy ở ung thư (nhú) bàng quang.*

Trái lại, khoảng 60% ung thư thể nhú biểu mô niệu có chứa các đột biến mất nghĩa trong receptor FGFR3 gây tác động tới các hoạt động cơ bản của nó. Các đột biến ở FGFR3 xảy ra tại các vị trí đặc biệt (Hình 15.9) và dường như là để kéo dài đời sống bán phần của receptor cũng như trạng thái kích hoạt của nó. Các đột biến ở domain gắn ligand ngoại bào của FGFR3 cũng có thể làm thay đổi tính chất đặc hiệu của nó với trên 20 thành viên họ FGF. Các đột biến FGFR3 chỉ phát hiện thấy ở các ung thư cổ tử cung. Tuy nhiên, những đột biến này hay đột biến khác cũng bắt gặp ở các chứng loạn sản sụn di truyền. Trong hội chứng này, các đột biến điểm ở các receptor dẫn đến việc làm ngắn lại của xương, đặc biệt là xương đùi và các chi trên vì có sự hoạt động quá mức của FGFR3 gây nên sự biệt hóa sớm của mô sụn ở vùng tăng trưởng. Những đột biến giống nhau trong UTBQ thường gây tăng sinh chứ không phải là sự biệt hóa của TB biểu mô niệu.

Điều ngạc nhiên là, các u bàng quang có các đột biến FGFR3 lại có nguy cơ tiến triển ung thư thấp hơn so với các ung thư không mang đột biến .

## 15.4. CÁC DƯỚI TYPE UNG THƯ BÀNG QUANG

Vậy thì làm thế nào để phân biệt được u nhú bề mặt với UTBQ xâm lấn tiến triển? Trước hết là phải xét đến tính bất ổn định hệ gen. Một khi đã được thiết lập thì các khối u có thể phát sinh liên tục các dòng TB khác nhau trong đó có một số có tiềm năng xâm lấn và di căn. Thực sự thì các khối u cấp độ cao, đặc biệt là các khối u có đột biến TP53 thì tích tụ nhiều biến đổi NST và có tiềm năng xâm lấn cao hơn.

Thứ 2 là sự khác biệt về cơ chế điều khiển sự tăng sinh TB khối u. Nhiều khối u thể nhú dường như tăng trưởng bằng các cơ chế rất giống các cơ chế tác động trong quá trình phát triển và tái sinh các mô biểu mô niệu bình thường. Những quá trình này chủ yếu được kích thích bởi các peptide giống như EGF và các thành viên họ FGF. Các yếu tố khác cũng trợ giúp cho việc cảm ứng biệt hóa. Sự giống nhau của những cơ chế này là do sự hoạt động quá mức ở các ung thư thể nhú. Tuy nhiên, cách thức tăng trưởng này của u dường như có thể được giới hạn hoặc ít nhất là vẫn kiểm soát được giới hạn tăng trưởng của lớp biểu mô. Có khả năng là, những giới hạn đối với sự tăng sinh được kiềm chế bởi TP53 và RB1 chỉ chiếm một phần nhỏ các ung thư này, ví dụ do mất chức năng $p16^{INK4A}$ và $p14^{ARF}$, chứ không phải do TP53 và RB1.

Những điểm kiểm soát này rõ ràng bị mất trong những khối u xâm lấn, trong đó việc tăng trưởng dường như là xảy ra độc lập hơn với các tín hiệu ngoại sinh cũng như nội sinh từ màng TB. Vấn đề này ít nhất một phần do hệ quả của sự hủy bỏ các trạm kiểm soát chu kỳ TB do mất RB1 và có thể cả TP53 nữa. Một vấn đề ngỏ là, liệu sự hủy bỏ này đã đủ để kiểm soát sự tiến triển của khối u hay chưa?

Cuối cùng, vẫn chưa rõ là sự thay đổi nào điều khiển các TB biểu mô niệu đi tới biệt hóa (transdifferentiate) trong quá trình hình thành carcinoma TB vảy. Cho đến bây giờ vẫn chưa có sự khác biệt về chất nào trong các biến đổi di truyền đã được phát hiện để có thể phân biệt được đâu là TCC và đâu là SCC.

Mặc dầu đây là những câu hỏi mở, nhưng có khả năng việc phân loại phân tử UTBQ đã cho phép nâng cao chất lượng chẩn đoán cũng như chọn lọc được những cách điều trị thích hợp cho nhiều bệnh nhân.

## *TÓM TẮT*

❖ *Ung thư bàng quang mà gọi là carcinoma biểu mô niệu (urothelium) thì không chính xác lắm về mặt di truyền vì nó là lớp biểu mô chuyên hoá lót đường tiết niệu, bắt nguồn từ bể thận vào niệu đạo. Vì thế chính xác hơn phải là ung thư biểu mô niệu.*

❖ *Hầu hết các ung thư bàng quang (UTBQ) vẫn còn giữ các marker tế bào chuyển tiếp đặc trưng của biểu mô niệu vì thế mới gọi là carcinoma TB chuyển tiếp (TCC). Một dạng của TCC hình thành nên các cấu trúc nhú (papillary) tăng trưởng chủ yếu vào phần lõi (lumen) đường tiết niệu. TCC chưa trở thành xâm lấn nhưng có xu hướng tái phát. TCC xâm lấn hiếu chiến hơn thường phát triển từ carcinoma loạn sản, phẳng in situ. Một dưới type tổ chức học khác phổ biến ở các nước có bệnh sán máng lưu hành (schistosomiasis) là mất biệt hóa biểu mô niệu và hiện diện với tư cách là carcinoma TB vảy. Đây là một ví dụ về sự dị sản (metaplasia). Do sự đa dạng về type và đặc trưng lâm sàng của các UTBQ nên vấn đề quan trọng là phải lựa chọn được cách điều trị tối ưu đối với từng bệnh nhân.*

❖ *Các ung thư biểu mô niệu thường do các chất sinh ung thu nguồn gốc hóa học, đặc biệt là các amin thơm, trong khi đó carcinoma TB vảy bàng quang thường phát sinh trong bối cảnh viêm nhiễm mạn tính. Các đa hình di truyền trong các gen có liên quan đến sự chuyển hóa sinh carcinoma điều biến nguy cơ UTBQ phụ thuộc vào việc tiếp xúc, trong khi đó hội chứng di truyền nguy cơ không cao được biết là sẽ dẫn đến ung thư này.*

❖ *Ung thư biểu mô niệu có khuynh hướng phát triển ở nhiều vị trí tại cùng một thời điểm hoặc kế tiếp nhau. Đây là một ví dụ về "phạm vi ung thư hóa". Trên thực tế, có một số yếu tố đáp ứng bao gồm sự phân dòng oligo (olioclonality) xác thực, sự di cư của các TB ung thư bên trong biểu mô và sự mở rộng ra khắp hệ tiết niệu.*

❖ *Các UTBQ xâm lấn thể hiện rõ ràng sự bất ổn định NST và các biến đổi trong một số "con đường ung thư". Hầu như mặc định, 2 hệ thống điều hòa quan trọng bị bất lực là: (1) Điều hòa chu kỳ tế bào bị gián đoạn do mất RB1, mất $p16^{INK4A}$, hoặc khuếch đại CCND1, và được nâng cao do điều hòa xuống các protein chất ức chế CIP/KIP CDK. (2) Sự kiểm soát tính toàn vẹn hệ gen bởi TP53 bị xáo trộn thông qua các đột biến trong gen, mất $p14^{ARF1}$, hoặc biểu hiện quá mức HDM2. Những sự biến đổi này đã xuất hiện trong carcinoma in situ hoặc trong các ung thư thể nhú giai đoạn cao.*

❖ *Trái lại, các TCC nhú biệt hóa tốt cũng thể hiện một số ít các biến đổi di truyền, như mất NST 9, đột biến RAS hoặc đột biến ở các receptor yếu tố tăng trưởng FGFR3 dẫn đến kích hoạt kiến tạo. Những sự khác biệt đặc biệt đối với các ung thư xâm lấn, đặc biệt là các đột biến FGFR3 đặc trưng cho các khối u có nguy cơ tiến triển thấp.*

❖ *Sự biến đổi thích hợp nhất ở tất cả các dưới type UTBQ là mất NST 9, phát hiện được ở trên nửa các trường hợp. Sự mất mát này nhắm vào các chất kiềm chế khối u CDKN2A trên 9p mã cho 2 protein điều hòa* $p16^{INK4A}$ *và* $p14^{ARF1}$*. Tuy nhiên, mất dị hợp tử (LOH) và sự đứt đoạn cũng thấy trên NST 9q, điều đó khẳng định chắc chắn rằng có các gen kiềm chế khối u bổ sung định vị ở đó. Nhưng rõ ràng là khó mà xác định được chúng. Điều đó cho thấy con đường từ biến đổi NST tái diễn đến việc xác định một gen có liên quan không phải lúc nào cũng dễ dàng.*

❖ *Các khối u thể nhú bàng quang có thể tăng trưởng chủ yếu là do hệ quả của sự hoạt động quá mức con đường kích thích tăng sinh của các TB biểu mô thận bình thường trong quá trình tăng trưởng bù hoặc tái sinh mô. Trái lại, UTBQ xâm lấn phần lớn đã tách sự điều hòa tăng trưởng của chúng ra khỏi các tín hiệu ngoại sinh. Hơn nữa, các cơ chế duy trì sự ổn định NST trong quá trình tăng sinh TB cũng là những xáo trộn trong UTBQ xâm lấn. Vì vậy, những sự khác biệt trong các đặc tính lâm sàng của UTBQ là dựa trên những khác biệt về các đặc trưng phân tử của chúng.*

# CHƯƠNG XVI: CARCINOMA TẾ BÀO THẬN

## 16.1. TÍNH ĐA DẠNG CỦA CÁC UNG THƯ THẬN

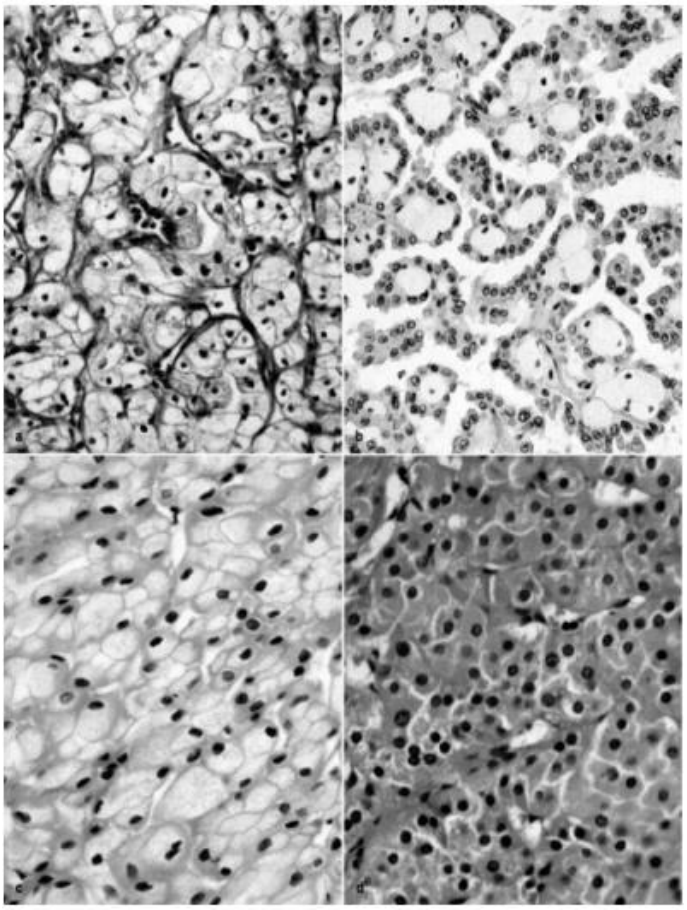
Ung thư thận chỉ chiếm vài phần trăm trong tổng số các u ác tính. Tuy nhiên lại có những thay đổi rất lớn về các khối u ở cơ quan này, điều này nói lên tính đa dạng của các khối u ở người (Bảng 16.1).

***Bảng 16.1.*** *Một số u lành tính và u ác tính phát hiện thấy ở thận*

| **Dạng khối u (đáng lưu ý)** |
|---|
| Angiomyolipoma (lành tính) |
| Chromophobic carcinoma (ác tính) |
| Carcinoma TB sáng ( ác tính) |
| Fibrosarcoma (ác tính, trưởng thành) |
| U nang cường tăng sinh (lành tính) (hyperproliferative cysts) |
| Lymphoma (u lympho) (ác tính) |
| Carcinoma tủy (ác tính) (medullary caarcinoma) |
| Các khối u di căn (ác tính) |
| Metanephric adenoma (lành tính) |
| Oncocytoma (lành tính) |
| Carcinoma thể nhú type I (ác tính) |
| Carcinoma thể nhú type II (ác tính) |
| Adenoma ống thể nhú (lành tính) |
| Rhabdomyosarcoma (ác tính, trẻ em) |
| Carcinoma biểu mô thận của bể thận (ác tính) |
| U Wims (ác tính, trẻ em) |

Hầu hết các ung thư thận là carcinoma được phân biệt một cách truyền thống bằng các hình ảnh tổ chức học (Hình 16.1). Tỷ lệ mắc carcinoma TB thận (RCC) ở các nước công nghiệp vào khoảng 10/100.000 người/năm. Hầu hết đều khởi đầu từ các phần khác nhau của niệu. Carcinoma TB sáng - dưới type phổ biến nhất được cho là khởi đầu từ các ống gần tâm, định vị ở phần vỏ của thận. Vì là dưới type phổ biến nhất (70-80% tất cả các trường hợp) nên nó cũng được gọi là carcinoma TB thận một cách "truyền thống". Các ung thư thể nhú cũng nảy sinh từ cùng một vùng, có lẽ từ những phần còn

lại của niệu (nephrogenic) vẫn còn lưu lại từ thời phát triển thai nhi. Về phương diện này, chúng giống như các u Wilms, nhưng carcinoma thận thể nhú lại bắt nguồn từ các TB trưởng thành hơn ở giai đoạn muộn hơn trong quá trình phát triển.



**Hình 16.1** *Tổ chức học của các ung thư thận.*

Các khía cạnh về tổ chức học ung thư TB sáng (trái, trên cùng), ung thư thể nhú (phải, trên cùng) và carcinoma TB thận chromophobic (trái, dưới cùng) và oncocytoma không ác tính (phải, dưới cùng).

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Carcinoma chromophobic rất có khả năng bắt nguồn từ các ống ở ngoài biên, lành tính được gọi là oncocytoma. Carcinoma Ductus-Bellini ít hiếu chiến hơn bắt nguồn từ ống góp trong phần tủy của thận. Vì bể thận được lót bằng biểu mô niệu giống như bàng quang nên các ung thư biểu mô niệu cũng có thể phát triển trong thận. Cũng có các khối u bắt nguồn từ trung mô như angiomyolipoma, lành tính thường gặp với mức trung bình và là các carcinoma ít ác tính hơn. Tuy nhiên, với một cơ quan có hệ thống mao mạch mở rộng thì thận là nơi di căn của các carcinoma từ các tổ chức xa cũng như các u lympho.

Nhiều ung thư ở thận tạo nên những khó khăn nhất định cho việc trị liệu. Hiện nay, các khối u của thận được phát hiện bằng các kỹ thuật hình ảnh như siêu âm, chụp

cắt lớp. Những kỹ thuật này cho các dấu hiệu tốt về sự mở rộng của khối u, nhưng không cho các thông tin xác định về dạng khối u. Vấn đề này lại phải dựa vào các khảo sát phân tử và tổ chức học.

Theo cách truyền thống, khi xuất hiện khối u thì toàn bộ phận phải được loại bỏ. Nhưng hiện nay việc cắt bỏ một phần thận vẫn có thể được thực hiện nếu các marker phân tử và tổ chức học cho thấy việc tái phát khối u là khó xảy ra. Đây rõ ràng là một lựa chọn tốt cho các u lành tính như oncocytoma. Việc cắt bỏ một phần thận cũng có thể được thực hiện với các bệnh nhân có các khối u ác tính nhỏ và một thận khác cũng có nguy cơ hư hỏng, ví dụ như các ung thư thận di truyền. Để lựa chọn cách điều trị thì bắt buộc phải xác định chính xác các khối u.

Đối với carcinoma thận cục bộ thì việc loại bỏ bằng phẫu thuật thường rất hữu hiệu. Trái lại, cơ hội cứu sống trở nên mong manh khi carcinoma thận đã di căn và tất cả đều đáp ứng xấu với hóa trị. Ở mỗi cá thể bệnh nhân, việc trị liệu bằng cách kích thích trực tiếp hệ miễn dịch có thể dẫn đến các đáp ứng tuyệt vời, nhưng cũng khó mà đoán trước được.

## 16.2. DI TRUYỀN TẾ BÀO CỦA CARCINOMA TẾ BÀO THẬN

Nhiều dưới type carcinoma TB thận (RCC) được phân loại theo cách truyền thống chỉ dựa trên các xuất hiện về tổ chức học. Thực sự thì, đây là chỉ là một trong nhiều trường hợp đặc biệt (Hình 16.1). Carcinoma TB thận đặc trưng lớn bởi các TB sáng, nhân đậm màu và rất nhiều mao mạch máu, biểu lộ rõ ràng sự tăng sinh mạnh. Carcinoma thể nhú, như tên gọi của nó được phân biệt bởi cấu trúc mô liên kết như hình ngón tay được lót bởi các TB khối u biểu mô nhỏ, nổi bật với nhân bắt màu mạnh. Carcinoma chromophobic thoạt nhìn trước tiên rất giống như carcinoma TB sáng, nhưng khi xem xét kỹ lưỡng hơn thì các TB khá bất thường, với nhiều cấu trúc bên trong và nhân ít dày đặc, các mạch máu cũng không phong phú.

Tất nhiên, những sự mô tả này đã được đề cập trong y văn nhưng trong thực hành lâm sàng không thể phân biệt một cách chắc chắn với từng trường hợp. Chẳng hạn như cách phân loại RCC cổ hơn thường phân biệt một dưới type đặc trưng bởi các TB hình con quay. Dưới type này hiện nay được cho là phát sinh từ các type khác do sự chuyển đổi trung mô - biểu mô. Các thể loại khác của ung thư (ví dụ như các di căn) cũng không phải lúc nào cũng luôn được loại trừ mà không cần đến các đặc trưng phân tử xa hơn.

Trong những tình huống như vậy thì các khảo sát về di truyền TB là hết sức hữu ích, nó được chứng thực bởi các nghiên cứu phân tử và vạch rõ được những sự khác biệt giữa các dưới type. Mỗi type carcinoma thận đều biểu lộ các mẫu đặc trưng về mất và thêm NST (Bảng 16.2). Sự tương hợp chặt chẽ như thế giữa bản đồ NST (caryotype) và

tổ chức học dưới type là rất đáng kể trong carcinoma, bởi vì những biến đổi NST đặc trưng trong các carcinoma thường bị che khuất bởi rất nhiều biến đổi khác. Rõ ràng là, việc chẩn đoán định kỳ về những biến đổi NST đã chỉ ra được mối quan hệ có tính chất nhân quả. Tuy nhiên, theo một hệ quả tất yếu thì sự bất ổn định NST rõ ràng có xu hướng là một sự kiện tương đối muộn trong carcinoma thận.

Biến đổi đặc trưng trong RCC tế bào sáng là mất NST 3p, phát hiện được với >90% tất cả các trường hợp. Vị trí điển hình của việc bẻ gãy mặc dầu không chỉ ở một nơi, nhưng vị trí gãy chủ yếu là ở 3p14 (FRA3B), vị trí này dễ bị gãy trong các điều kiện dưới tối ưu đối với việc sao chép DNA. Đặc biệt là trong quá trình tiến triển thì mất 3p có đi kèm cả những biến đổi NST khác, bao gồm cả thêm và mất NST.

Trái lại, carcinoma thể nhú điển hình thể hiện nổi bật là việc thêm vào các NST đặc biệt chủ yếu ở NST 7, 17 và 3 cũng như 8, 12, 16 và 20 cùng với mất các NST giới tính.

Carcinoma chromophobic đặc trưng bởi tình trạng nặng hơn là mất toàn bộ NST, ảnh hưởng tới NST 1, 2, 6, 10, 13, 17 và nhiễm sắc thể Y ở nam giới.

Oncocytoma được xem như là một u lành tính và hầu hết là không bao giờ di căn, có lẽ có chứa một số lượng giới hạn các biến đổi di truyền. Thực sự thì khối u này được đặc trưng bởi mất đặc hiệu các NST 1 và 14 do sự chuyển vị như t(14;11). Một số trong số này có thể có sự kích hoạt gen CCDN1.

***Bảng 16.2.*** *Biến đổi NST điển hình ở các dưới type khác nhau của carcinoma TB thận*

| **Dưới type** | **Nguồn góc giả định** | **Những biến đổi NST** |
|---|---|---|
| Carcinoma tế bào sáng | Các ống gần tâm | -3p, và các NST khác |
| Carcinoma thể nhú | Các ống gần tâm(những phần còn lại của nephrogenic) | +7, +17, +3 |
| Carcinoma chromophobic | Các ống xa tâm | -1 ; -10, -2 ; -6 ; -13 ; -17 |
| Oncocytoma (lành tính) | Các ống gần tâm | -1, t(11 ;14) ? |
| Carcinoma Ductus-Bellini | Ống góp | Dị bội cao |

## 16.3. SINH HỌC PHÂN TỬ CỦA CÁC UNG THƯ THẬN DI TRUYỀN

Có một số hội chứng di truyền ở người mở đường cho các ung thư thận với nhiều mức độ thâm nhập khác nhau (Bảng 16.3) Tương tự như vậy, có những khác biệt rõ rệt trong các hội chứng này mở đường cho các ung thư thận.

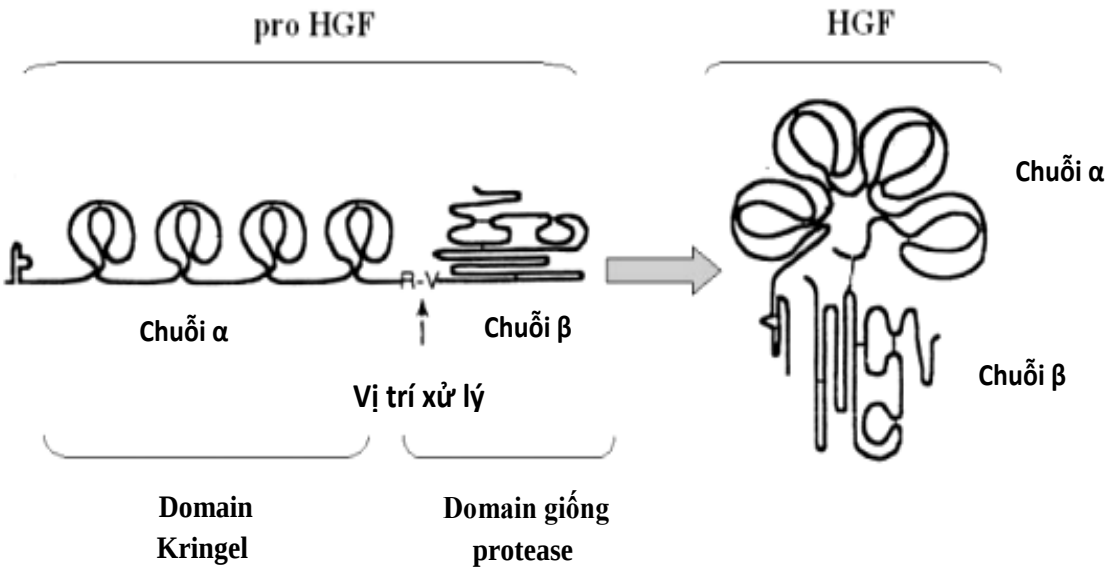
***Bảng 16.3.*** *Các hội chứng di truyền mở đường cho các u thận*

| Hội chứng | Gen | Các dạng ung thư thận | Hội chứng khác |
|---|---|---|---|
| Bệnh thận đa nang trội NST thường (ADPKD) | PKD1, PKD2 | Thường là carcinoma thận TB sáng | Đa nang thận, u nang gan khiếm khuyết mạch máu |
| Xơ cứng dạng nốt | TSC1, TSC2 | Angiomyolipoma, carcinoma thận | Các u lành tính ở các mô không biểu mô |
| Carcinoma thận thể nhú di truyền (HPRC) | MET | Carcinoma thể nhú type 1 | Carcinoma hiếm gặp ở;gan |
| Carcinoma TB thận leiomyoma di truyền thường gặp | FH | Carcinoma thể nhú type II | Leiomyoma ở tử cung |
| Burt- Hogg-Dube' (BHD) (fibrofolliculomas) | BHD | Oncocytoma, carcinoma | Đa u nhú da |
| Carcinoma thận TB sáng di truyền (HRC) | t(3;8) (p14;q24) | Carcinoma TB sáng | Các carcinoma khác |
| Von-hippel-Lindau hemangioblastoma | VHL | Carcinoma TB sáng, adenoma | Ung thu thượng thận, Angioma, Adenoma, và các u nang của các cơ quan khác như tụy |

❑ ***Bệnh thận đa nang trội nhiễm sác thể thường (ADPKD).*** ADPKD có thể đại diện cho hầu hết các bệnh di truyền thường gặp nhất trên toàn thế giới với tần suất khoảng 1/1000 và vì thế mà nó là nguyên nhân chính gây suy thận. Các bệnh nhân này phát triển nhiều nang chứa đầy dịch, được lót bởi các TB biểu mô thận biệt hóa khác thường, cường tăng sinh, cuối cùng dẫn đến suy thận. Các khiếm khuyết cũng phát hiện được ở gan và hệ thống huyết quản. Các carcinoma thận xuất hiện với tần số cao trong hội chứng này, nhưng chỉ là một trong số các biến chứng. Bệnh có thể mở đường cho RCC trong phương thức gián tiếp, ví dụ như nó có thể làm tăng nguy cơ carcinoma thận do rối loạn kiến trúc mô. Có lẽ là các TB biểu mô biệt hóa không đầy đủ trong các nang này đã tạo ra một quần thể TB tiền thân mà từ đó các khối u được phát triển bởi các đột biến khác.

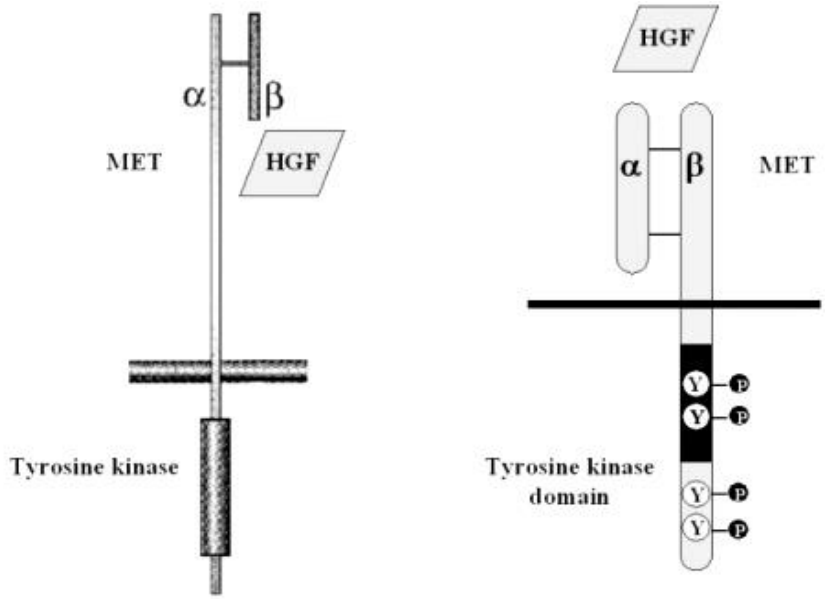
❑ ***Xơ cứng dạng nốt (TSC).*** Thận thường bị ảnh hưởng trong các bệnh xơ cứng dạng nốt, mặc dù carcinoma thận thường không phải là u lành tính như angiomyolipoma và các u nang thận. Hội chứng trội NST thường này do đột biến di truyền ở các gen TSC1 hoặc TSC2. Các sản phẩm tương ứng ''hamartin'' và ''tuberin'' tương tác với nhau và làm ức chế hoạt hóa tổng hợp protein bởi con đường PI3K (cần để nâng cao tăng sinh tế bào).

❑ ***Carcinoma tế bào thận thể nhú di truyền (HPRC).*** Không giống như ADPKD và TSC, HPRC dường như mở đường cho các khối u thể nhú đặc hiệu hơn của thận. Trong hội chứng di truyền trội thấm nhập cao này hàng trăm carcinoma thể nhú có thể phát triển ở cả 2 thận. Nhưng thật may là chúng không có xu hướng di căn sớm. Vì thế có khả năng quan sát được chúng một cách cặn kẽ và loại bỏ các khối u lớn hơn bằng phẫu thuật cắt bỏ thận từng phần (nephrectomy), do vậy mà trì hoãn được việc cắt bỏ cả 2 thận nhưng vẫn đảm bảo nhu cầu lọc máu một cách bình thường.




**Hình 16.2** *Cấu trúc và sự kích hoạt yếu tố tăng trưởng tế bào gan*
*(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)*

Gen bị ảnh hưởng trong bệnh này là MET, định vị ở 7p31. Nó mã hóa cho receptor yếu tố tăng trưởng TB gan (HGF) - một receptor tyrosine kinase (Hình 16.2). Không như tên gọi của nó, HGF (Hình 16.3) lại kích thích tăng trưởng không những các TB gan mà nhiều dạng TB khác nữa, đặc biệt là các TB có nguồn gốc biểu mô. HGF rất quan trọng trong quá trình hình thành tổ chức thận vì có sự kích thích tăng sinh của các TB tiền thân biểu mô trong quá trình hình thành ống thận. Nó vẫn cần thiết trong việc duy trì và sửa chữa mô ở thận khi đã trưởng thành. Trên thực tế, cũng phải tính đến việc điều hành trị liệu HGF để phòng ngừa sự xơ hóa sau khi thận bị tổn thương. Tuy nhiên, trong khi HGF có thể thúc đẩy sự hình thành và tái sinh dưới những điều kiện xác định thì nó lại gây nên sự tự tách ra khỏi nhau của các TB biểu mô. Chức năng này của HGF có tên là "yếu tố làm tan" (scatter factor) (do vậy cũng gọi là HGF/SF). Dường như nó cũng đóng góp chức năng trong việc hình thành hình thái học của mô.




**Hình 16.3** *Receptor tyrosine kinase MET*

Hai đại diện của protein thông lệ đã được ghi chép. Một đại diện ở phía bên phải chỉ rõ các vị trí tự phoshoryl hóa (bắt chéo). Cấu trúc tiểu đơn vị của receptor thường không so sánh được với các receptor tyrosine kinase khác.

*(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)*

Các hiệu ứng khác nhau của HGF đều thông qua trung gian MET, kích hoạt các con đường MAPK và PI3K. Ngoài ra, nó còn điều hòa các protein liên quan đến sự kết dính và sự di động của TB, rõ ràng là nó mạnh hơn các receptor tyrosine kinase khác. Các đột biến MET phát hiện thấy ở HPRC định vị tại vòng (loop) điều hòa kinase của domain nội bào và dẫn đến kích hoạt kiến tạo tyrosine kinase (Hình 16.2). Đây là cơ chế chung phát hiện được ở receptor tyrosine kinase đột biến gây ung thư.

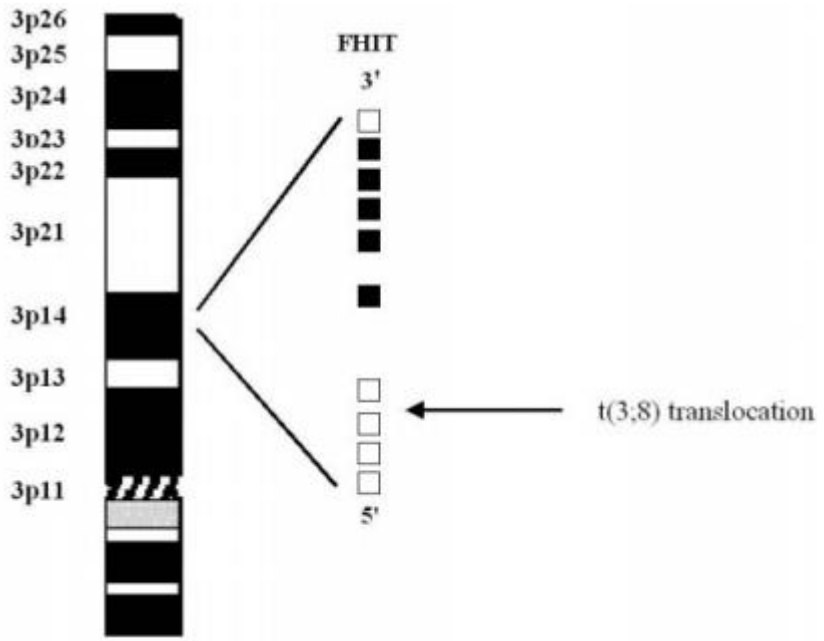
Ở HPRC, việc kích hoạt MET nhằm ngăn chặn sự biệt hóa cuối cùng của các TB ống thận và tạo nên việc thay thế các cấu trúc bất thường của các u nhú mô liên kết được lót bởi các TB biểu mô tăng sinh đặc trưng của bệnh. Bởi vì không cần phải có cú hích (hit) ở allele MET thứ 2 nên đây là một trong số ít các hội chứng ung thư trội NST thường gây nên bởi các đột biến kích hoạt gen ung thư. Tuy nhiên, vì trong các bệnh nhân HPRC thì thận (và các cơ quan khác) thể hiện về cơ bản không có các khiếm khuyết về phát triển nên có khả năng là cần phải có các sự kiện khác nữa để khởi đầu cho sự hình thành khối u, ngoài đột biến MET di truyền. Cũng có khả năng là có sự kiện thêm vào NST 7 dẫn đến việc tăng liều (dose) gen ung thư MET cũng như các yếu tố tăng trưởng khác và các receptor của chúng như EGFR. Rõ ràng là, hiệu ứng của một allele MET đột biến có thể bị thủ tiêu rất nhiều bởi các tín hiệu cân bằng nội mô khác. Thêm NST 7 cũng thường gặp trong các ung thư thận thể không u nhú.

❑ ***Carcinoma tế bào thận leiomyoma di truyền (HLRCC).*** Một số đặc trưng phân biệt HPRC với các hội chứng khác như HLRCC là HLRCC cũng bao hàm cả các nguy cơ

carcinoma thể nhú có hình thái học khác nhau. Các carcinoma này được biểu thị là type II và hiếu chiến hơn. Điều quan trọng là, chúng phát triển di căn ở giai đoạn sớm hơn. Trong hội chứng HLRCC thì carcinoma thận thể nhú type II thường đi cùng leiomyoma tử cung. Trái lại, HPRC đặc hiệu cao với thận, làm tăng phần nào nguy cơ ung thư gan. Gen nằm tại 1q42.1 bị đột biến trong HLRCC như là một chất kiềm chế khối u cổ điển và allele thứ 2 của nó bị bất hoạt trong quá trình phát triển u trong hội chứng này. Điều ngạc nhiên là, gen của hội chứng HLRCC lại mã hóa cho fumalate hydratase - một enzyme của chu trình acid citric. Không rõ tại sao khi mất chức năng của enzyme này lại dẫn đến carcinoma và leiomyoma thận.

❑ ***Hội chứng Burt-Hogg- Dube' (BHD)***. Trong hội chứng BHD thì thận là một trong số các cơ quan trong đó các khối u được nảy sinh với tỷ lệ cao. Trong các gia đình bị ảnh hưởng đều quan sát thấy carcinoma cũng như oncocytoma. Nó do các đột biến gen nằm ở vùng pericentromere 17p11.

❑ ***Carcinoma thận tế bào sáng di truyền (HCCRCC) hoặc đơn giản hóa là HRC***. Tính mẫn cảm di truyền đối với carcinoma thận TB sáng có được là do các đột biến làm biến đổi NST 3p. Trong một số gia đình và các cá nhân, RCC tế bào sáng do các chuyển vị cân bằng di truyền hoặc bẩm sinh liên quan đến NST này, đặc biệt là t(3;8)(p14;q24). Vị trí chuyển vị trên cụm 3p tại vị trí gãy FRA3B (Hình 16.4).




**Hình 16.4** *Vị trí gãy FRA3B và gen FHIT*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Vị trí này bắc ngang qua gen FHIT vì thế mà nó bị cản trở do các chuyển vị. FHIT đại diện cho bộ ba histidine vị trí gãy, điều đó chỉ rõ vị trí và motif đặc trưng trong protein của nó. Protein FHIT giống như $Ap_4A$ phosphorylase - là các enxyme đáp ứng cho sự chuyển đổi (đóng, mở) chuyển hóa trong các vi sinh vật. Mất chức năng FHIT dường như sẽ tạo thuận lợi cho sự tăng sinh TB, nhưng hiện chưa rõ. Do đó, điều cần tranh luận là liệu các biến đổi ở FHIT trong carcinoma tế bào thận có phải là các sự kiện thuộc nguyên nhân hay là "người ngoài cuộc"? Câu hỏi này được mở rộng ra ngoài phạm vi RCC bởi vì các đứt đoạn và chuyển vị của 3p liên quan đến FRA3B cũng xảy ra ở nhiều ung thư khác, nổi bật nhất là trong carcinoma phổi. Gen ở 8q24 bị ảnh hưởng do sự chuyển vị t(3;8) là TRC8 cũng tương tự như PTCH1. Sự biến đổi chức năng của nó rõ ràng là có liên quan.

Ngoài những biến đổi gen tại các vị trí chuyển vị thì sự hình thành khối u ở RCC có thể còn liên quan đến một cơ chế khác lạ nữa. Vì các NST chuyển vị rất dễ dàng mất bị phân ly trong quá trình phân bào mitosis nên mất 3p có thể được tăng cao. Vì mất 3p dường như là một bước làm giới hạn tốc độ hình thành RCC tế bào sáng nên sự chuyển vị có thể làm tích lũy sự phát triển carcinoma tế bào sáng, đơn giản chỉ là do tạo thuận lợi cho việc mất NST này.

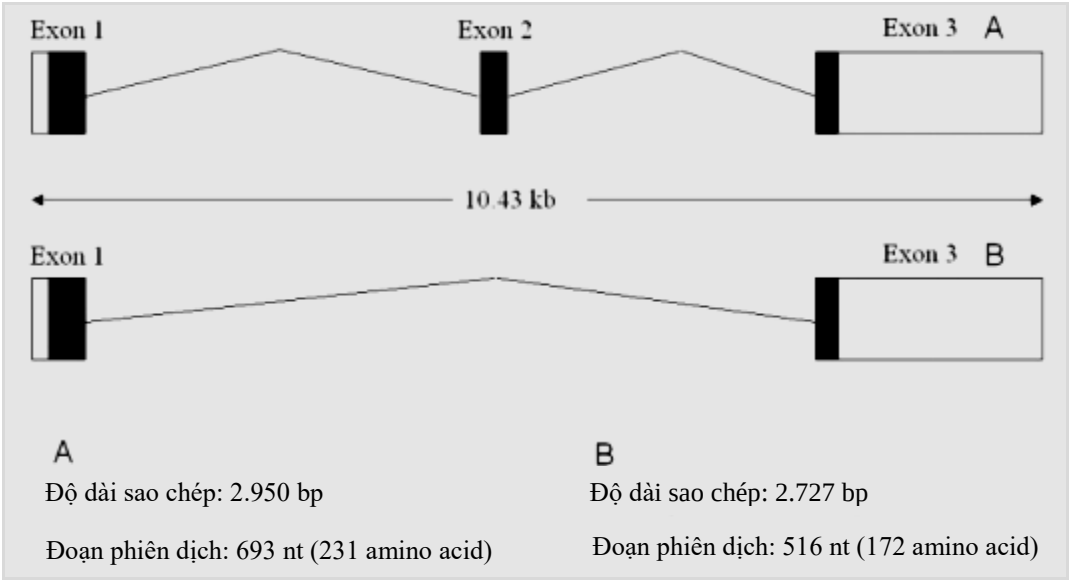
❑ ***Hội chứng Von-Hippel- Lindau (VHD).*** Ở thận, hội chứng này duy nhất mở đường tới carcinoma tế bào sáng. Việc làm sáng tỏ điều này không chỉ nâng cao sự hiểu biết của chúng ta về carcinoma thận mà còn cả các ung thư người nói chung**.**

## 16.4. HỘI CHỨNG VON-HIPPEL-LINDAU VÀ CARCINOMA THẬN

Hội chứng von-Hippel-Lindau (VHL) là hội chứng di truyền trội NST thường với sự thấm nhập cao, nhưng kiểu hình thay đổi. Tổn thương khác biệt nhất trong hội chứng đa tổ chức này là u mạch (angioma) và u nguyên bào mạch máu (hemangioblastoma) trong võng mạc mắt và tiểu não. Thường thì bệnh nhân cũng phát triển adenoma và u nang tụy, u mào tinh hoàn và u thận. Tất cả các khối u này đều là lành tính, nhưng khoảng 30% bệnh nhân VHL là phát triển RCC có thể là hai thận hay nhiều tiêu điểm. Tuy nhiên, nó luôn luôn là type tế bào sáng. Một dưới type của bệnh VHL hiện nay chỉ định là type II được phân biệt bởi sự tăng cao nguy cơ pheochromocytoma - một khối u phát sinh từ phần tủy của thượng thận và vẫn có khả năng sản xuất ra các catecholamine. Việc tiết adrenalin và noradrenalin một cách mất kiểm soát do pheochromocytoma gây nên sự tăng áp lực máu và rối loạn chuyển hóa có thể đe dọa tính mạng.

Mặc dầu nhiều khối u có thể phát triển ở hội chứng von-Hippel-Lindau, nhưng chúng đều có chung các đặc tính thông thường như tạo mạch mạnh mẽ và xuất hiện

thành phần tế bào sáng, đặc trưng bởi tăng tốc độ chuyển hóa đường phân và tăng tích lũy glycogen và lipid. Đây là các đặc trưng rõ ràng đã quan sát thấy trong carcinoma thận tế bào sáng nói chung cũng như trong các trường hợp rải rác.




**Hình 16.5** *Gen VHL và các sản phẩm của nó*

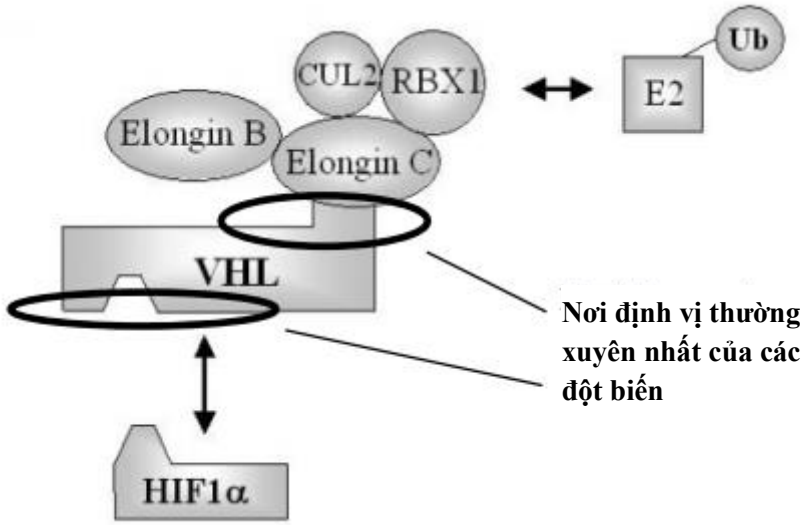
Gen VHL cho ra 2 mRNA chủ chốt (A,B) và các protein do sự ghép nối khác nhau

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Hội chứng VHL do đột biến dòng mầm ở một gen định vị tại 3p25, phù hợp với chỉ định của gen VHL, một gen kiềm chế khối u cổ điển. Vì thế mỗi khối u cá lẻ nảy sinh trong hội chứng VHL đều mất chức năng allele VHL thứ 2, do đột biến, cường methyl hóa promoter, tái tổ hợp hoặc xóa bỏ 3p- đặc trưng của RCC tế bào sáng.

Gen VHL mã hóa ở 3 exon 6,0 kb và các bản sao 6,5 kb có chứa vùng mã hóa nhỏ hơn rất nhiều, được phiên dịch chủ yếu thành protein 213 amino acid (Hình 16.5). Các biến thể protein ngắn hơn được hình thành thông qua việc sử dụng một codon khởi động khác và sự ghép nối khác của exon 2.

Protein VHL tạo nên một bộ phận quan trọng cho module nhận dạng cơ chất của phức hợp protein E3 ubiquitin ligase đặc hiệu (Hình 16.6). Các thành viên khác của phức hợp là Elongin B và Elongin C, Cullin 2 và RBX1 gắn với bộ phận E2 - ubiquitin. Có một số phức hợp E3 khác nhau trong tế bào, mỗi phức hợp đặc hiệu cho một dãy cơ chất khác nhau. Mặc dầu tất cả đều có thành phần cơ bản tương tự, nhưng các bộ phận riêng biệt của chúng lại khác nhau, quyết đoán nhất là module nhận dạng cơ chất, vì thế mà thường đặt tên theo chúng.




**Hình 16.6** *Phức hợp ubiquitin ligase VHL*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Phức hợp protein VHL E3 cho đến nay không chỉ là một ubiquitin ligase quan trọng trong ung thư người (Bảng 16.4) mà phức hợp SCF-$\beta^{TRCP}$ E3 còn điều khiển cả việc bẻ gãy β-Catenin. Sự thất bại của nó rất quan trọng trong carcinoma đại tràng và nhiều ung thư gan. Sản phẩm gen tiền ung thư HDM2 kiến tạo nên protein nhận dạng E3 ubiquitin ligase phân giải TP53 và chức năng của nó được mô phỏng theo protein gây ung thư HPV E6. $SCF^{SKP2}$ E3 ubiquitin ligase trung gian phân giải $p27^{KIPI}$ làm giảm sự ức chế của holoenzyme CSK2/Cyclin E ở cuối phase G1 và cho phép chu kỳ tế bào tiến đến phase S. Sự biểu hiện quá mức của bất kỳ chất nào Cyclin E, SKP2 hoặc MYC đều làm tăng hoạt tính của nó, điều đó không thích hợp trong một số khối u người (bao gồm cả carcinoma thận).

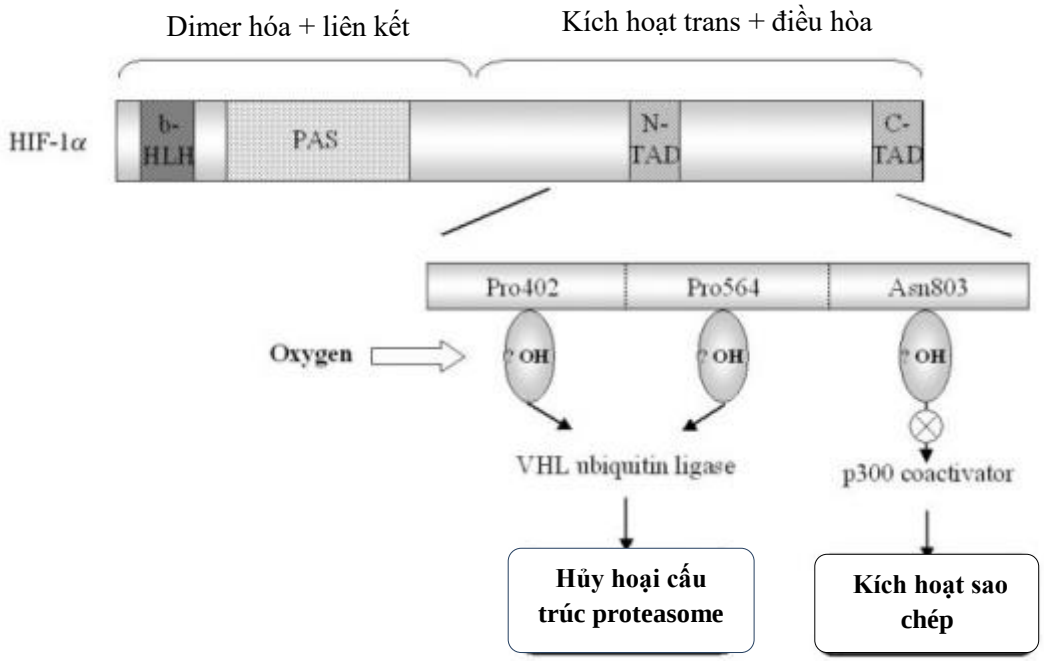
***Bảng 16.4.*** *Một số ubiquitin ligase quan trọng trong các ung thư người*

| Ubiquitin ligase | Chức năng |
|---|---|
| CBL | Phân giải các receptor tyrosine kinase |
| CDH1 | Điều hòa sự phân bào (phức hợp thúc đẩy hậu kỳ) |
| MDM2/HDM2 | Phân giải TP53 |
| SKP2 | Phân giải $p27^{KIPI}$ |
| β TRCP | Phân giải β- Catenin |
| VHL | Phân giải protein HIFα |

Như chúng ta biết, các cơ chất chủ yếu của VHL E3 ubiquitin ligase là 2 protein có quan hệ gần gũi đó là HIF1α và HIF2α, ở đây HIF là viết tắt của "hypoxia indicible factor" (yếu tố cảm ứng thiếu oxy). Các đột biến mất nghĩa ở cụm protein VHL chiếm

lĩnh 2 lĩnh vực, một mặt nó tạo nên sự tiếp xúc với các protein HIFα, mặt khác nó lại tương tác với elongin. Dạng đột biến có thể được di truyền ở gen VHL có quan hệ với dưới type của bệnh. Chẳng hạn như pheochromocytoma (hội chứng VHL type II) chỉ phát hiện được ở những bệnh nhân có các đột biến điểm xác định như 505C>T hoặc 712C>T. Trái lại, việc cài thêm và xóa bỏ đột biến (được cho là dẫn đến biến đổi khung đọc) sẽ làm tăng nguy cơ RCC.

Protein HIFα là các yếu tố sao chép gây cảm ứng mẫu đặc biệt (particular pattern) sự biểu hiện gen trong đáp ứng với oxy thấp, ví dụ như trong quá trình giảm oxy huyết (Hình 16.7). Dưới những điều kiện bình thường, ví dụ như normoxia (mức oxy bình thường) thì protein HIF1α và HIF2α sẽ quay vòng nhanh với đời sống bán phần chỉ vài phút. Áp suất riêng phần của oxy hiện hành được báo hiệu thông qua proline hydroxylase đặc hiệu gây hydroxyl hóa cho một proline ở domain phân giải phụ thuộc oxy của HIFα (ODD). Đây là những enzyme thuộc họ EGLN và khác biệt với enzyme có liên quan đến sinh tổng hợp collagen, nhưng lại chứa ion sắt và đòi hỏi phải có oxy và 2-oxo-glutarate với tư cách là cơ chất. Với proline hydroxyl hóa thì domain HIFα ODD sẽ được nhận ra bởi VHL và protein HIFα ubiquitin hóa sẽ được đích cho việc phân giải bởi proteasome.




**Hình 16.7** *Cấu trúc và sự điều hòa của protein HIFα theo nồng độ oxy*

TAD: transactivation domain; bHLH: basic helix-loop-helix; PAS: Per-ARNT-Sim homoholy domain.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Khi áp lực riêng phần oxy giảm, proline trong domain ODD vẫn chưa bị hydroxyl hóa và các protein HIFα tích tụ trong bào tương. Chúng kết hợp với HIF1β - cũng được hiểu là ARNT - là cặp đôi dimer hóa đối với một số yếu tố nhân, bao gồm cả receptor dioxin AhR. Heterodiner HIFα/ARNT đi vào nhân và gắn vào các vị trí nhận dạng đặc biệt ở promoter để kích hoạt gen mà các sản phẩm của nó (gen) sẽ giúp tế bào thích nghi được với lượng oxy được cung cấp thấp đồng thời làm tăng hiệu lực của oxy. Các vị trí gắn HIF được gọi là các thành phần đáp ứng thiếu oxy hoặc ngắn gọn là HRE. Sự hoạt động của các yếu tố HIFα được điều hòa xa hơn bởi sự hydroxyl hóa phụ thuộc oxy của asparagine ở domain kích hoạt sao chép (Hình 16.7) ngăn chặn việc liên kết của protein đồng yếu tố hoạt hóa (co-actvator) p300/CBP.

Khi áp suất riêng phần của oxy đã bình thường thì các protein HIFα bị phân giải và đáp ứng sao chép với thiếu oxy sẽ kết thúc. Vì thế, trong bệnh von-Hippel-Lindau thì mất VHL sẽ dẫn đến tích lũy protein HIFα và kích hoạt kiến tạo chương trình sao chép đối với đáp ứng thiếu oxy, không phụ thuộc việc cấp oxy.

Các gen được kích hoạt bởi HIF cần hết sức quan tâm khi xem xét nó trong ngữ cảnh carcinoma TB sáng và các khối u khác nảy sinh trong hội chứng VHL (Bảng 16.5).

***Bảng 16.5.*** *Sự lựa chọn các protein cảm ứng bởi các HIF*

| **Chức năng** | **Các ví dụ** |
|---|---|
| Sự cung ứng oxy và tăng sinh mạch | 1 (endothelin-1), ET2, iNOS, COX2, heme oxygenase, ferritin receptor transferin, VEGF, PDGF, ANG-2, VEGER1, TIE1, (angiopoetin receptor), IL8, PAI1, erythropoetin |
| Chuyển hóa glucose | LDH, pyruvate kinase, PGK, GAPDH, aldolase, PFK (glycolutic isoenzyme), hexokinase, GLUT1, GLUT3 |
| Yếu tố tăng trưởng và tín hiệu yếu tố tăng trưởng | TGFα, TGFβ, HGF, PDGF, FGF3, VEGFA, EGFR, PI3K, IL6, IL8, $p27^{KIPI}$, $p21^{CIPI}$ |
| Sửa chữa DNA và bảo vệ tế bào | HSF (heat-shock factor), HIF1α, HIF2α, GADD153, HAP1 (AP- Endonuclease), thioredoxin, KU70, KU80 |
| Apoptosis | NIX, NIP3, PI3K hoạt tính, IGFBP3, $NF_{\kappa}B$, spermidine acetyltransferase |
| Điều hòa pH | Carbonic anhydrase IX và XII(CA9, CA12) |
| Kết dính tế bào và tu sửa chất nền ngoại bào | Collgen đặc hiệu, metalloproteinase, CAM đặc hiệu (cell adhesion molecules), proline 4-hydroxylase, uPAR, vimentin, integrin đặc hiệu |

❑ ***Cung ứng oxy:*** cải thiện việc cung ứng oxy đạt được là nhờ một số cơ chế. Chẳng hạn như endothelin - 1 và inducible NO synthase (iNOS) dẫn đến tăng lưu lượng máu và VEGF cùng với PAI-1 kích thích sự tạo mạch. Quá trình này đã cho ra lời giải thích rõ ràng về sự tạo mạch trong các khối u nảy sinh trong hội chứng VHL. Các protein vận

chuyển sắt như transferin và các receptor của nó cũng bị cảm ứng. Hơn nữa, thiếu oxy cũng làm kích thích việc sản xuất erythropoetin trong các TB thích hợp. Yếu tố tăng trưởng này kích thích sự tăng sinh và trưởng thành (chín) của các tiền thân hồng cầu trong tủy xương, dẫn đến ‘‘đa hồng cầu’’ (polycythemia). Việc sản xuất erythropoetin do thận đều trong đáp ứng với những thay đổi về áp suất riêng phần của oxy, ví dụ khi áp suất tăng cao. Việc kích hoạt kiến tạo đáp ứng thiếu oxy trong các TB khối u thận vì thế có thể dẫn đến gia tăng sản sinh hồng cầu, đó là một trong số các hội chứng cận u phát hiện thấy ở các bệnh nhân carcinoma thận. Những triệu chứng như thế có thể gây nhiễu cho việc chẩn đoán bởi vì chúng gợi ý tới các bệnh hoàn toàn khác.

❑ ***Chuyển hóa glucose và lipid***

Yếu tố sao chép HIF làm thay đổi sự chuyển hóa glucose và lipid. Các gen đích trong quá trình này là GLUIT1- chất vận chuyển glucose và nhiều enzyme đường phân như LDH, aldolase và PGK. Đối với nhiều enzyme đường phân thì một số isoenzyme được biểu hiện trong phương thức đặc hiệu mô, tùy thuộc vào việc mô thực hiện đường phân hay tạo mới glucose (gluconeogenesis). Thiếu oxy sẽ cảm ứng bất biến isoenzyme đường phân hơn là tạo mới glucose. Với thận, đặc biệt là ở các ống lượn gần thì có khả năng chuyển đổi từ tạo mới glucose sang phân giải glucose (đường phân) cũng như dự trữ glycogen và lipid. Nhiều sự chuyển đổi chuyển hóa làm tăng sự tạo mạch, điều này có thể được giải thích là do sự kích hoạt cấu thành của HIF.

❑ ***Các yếu tố tăng trưởng***

Ngoài VEGF ra, HIF kích hoạt cũng cảm ứng các yếu tố tăng trưởng khác với phương thức cận tiết, ví dụ ở các TB nội mô, cũng như với phương thức tự tiết bởi chính TB đó. Đó là các yếu tố PDGF, TGFβ và có lẽ ý nghĩa nhất đối với các TB biểu mô thận là TGFα, một ligand quan trọng của EGFR. Ở trong tế bào thì con đường PI3K có thể được kích hoạt không phụ thuộc vào các tín hiệu của yếu tố tăng trưởng.

❑ ***Apoptosis***

Khi thiếu oxy làm lộ ra các tín hiệu yếu tố tăng trưởng tiềm năng, nó cũng thúc đẩy cả apoptosis. Số phận của các TB bị thiếu oxy vì thế mà được định đoạt bởi sự cân bằng tương đối giữa các tín hiệu này. TP53 bị kích hoạt không những làm thúc đẩy apoptosis thông qua sự điều hòa lên BAX mà còn ngăn cản đáp ứng tiền sinh mạch. Các protein NIP3 và NIX tiền apoptosis có thể kiến tạo nên các chất trung gian đặc hiệu cho apoptosis cảm ứng bởi thiếu oxy.

❑ ***Điều hòa pH***

Carbonic anhydrase CA9 và CA12 nằm trong số các protein cảm ứng HIF1 mạnh nhất. Những protein này chủ yếu định vị ở màng TB và làm nhiệm vụ điều hòa pH do việc

đẩy nhanh tiến độ phản ứng giữa $CO_2$ và $H_2O$ (theo cả 2 chiều). Trong môi trường thiếu oxy chúng tạo điều kiện cho việc thiết lập pH thấp thông qua sự phân ly acid carbonic.

## 16.5. SINH HỌC PHÂN TỬ CỦA CARCINOMA TẾ BÀO THẬN

Những biến đổi NST tái diễn thấy ở nhiều dưới type RCC đã chỉ ra những mối quan hệ nhân quả. Tuy vậy, ý nghĩa của chúng vẫn chưa được hiểu rõ thực sự. Chẳng hạn như RCC thể nhú biểu lộ chắc chắn sự thêm vào các NST có chứa các gen yếu tố tăng trưởng và các receptor của chúng như HGF/MET, các yếu tố tăng trưởng giống EGF là EGFR/ERBB2 định vị trên NST 7 và 17. Tuy nhiên, trong các trường hợp rải rác các receptor tyrosine kinase này hiếm khi bị đột biến không giống như MET trong HPRCC. Do đó người ta có thể mặc nhận rằng tăng liều lượng gen của cả receptor và ligand có thể tạo nên vòng yếu tố tăng trưởng tự tiết có thể điều khiển được sự tăng trưởng của carcinoma thận thể nhú. Như vậy, những sự thay đổi về lượng hơn là chất trong biểu hiện gen có thể là quan trọng đối với sự phát triển của ung thư này. Những sự biến đổi về lượng được xem như là nguyên nhân gây ung thư rất khó xác định, tuy nhiên những bằng chứng từ các hệ thống mô hình cũng đã chứng minh được tầm quan trọng của chúng. Chẳng hạn như sự tăng trưởng của một số type u lympho phụ thuộc một cách đặc biệt vào liều lượng MYC mà bản thân nó có thể gây nên những thay đổi về lượng hơn là chất trong biểu hiện gen.

Trong carcinoma thận TB sáng, mất 3p rõ ràng là rất quan trọng vì nó được phát hiện với >90% tất cả các trường hợp. Một gen rõ ràng được nhắm tới bởi sự mất mát này là VHL. Mất 3p sẽ làm loại bỏ một bản sao (copy) của gen. Allele thứ 2 bị bất hoạt khoảng 80% trong các trường hợp carcinoma TB thận rải rác do đột biến điểm, đứt đoạn nhỏ hoặc cường methyl hóa promoter. Như vậy, VHL là một gen kiềm chế khối u cổ điển thậm chí đến mức carcinoma thận TB sáng cả 2 thận cũng được phát hiện chủ yếu trong các trường hợp là bệnh VHL di truyền.

Tuy nhiên, chức năng của protein VHL đã giải thích được một số khía cạnh thuộc kiểu hình hiển nhiên của dạng u  này, đặc biệt là sự tạo mạch mạnh mẽ và sự xuất hiện TB sáng khác biệt. Tuy vậy, mối quan hệ giữa việc bất hoạt VHL và các tính chất khác của RCC tế bào sáng không phải đơn giản (Bảng 16.5). Mất chức năng VHL không gây cản trở cho việc điều hòa chu kỳ tế bào, nhưng nó cũng có thể dẫn đến việc sản xuất quá mức TGFα và các receptor EGFR của nó. Ngay cả MET cũng được cho là một đích của HIFα, hoặc ít nhất là bị cảm ứng thứ cấp do kích hoạt gen cảm ứng bởi thiếu oxy. Tuy nhiên, còn lâu mới rõ được là liệu những thay đổi này đã đủ để điều khiển sự tăng sinh carcinoma TB sáng hay chưa, đặc biệt là sự tiến triển của nó tới giai đoạn cao. Tương tự như vậy, các HIF gây ảnh hưởng tới sự tổng hợp chất nền ngoại bào và việc xuất hiện VHL là để tương tác trực tiếp với fibrinectin. Tuy nhiên, về tổng thể thì mất VHL có thể

làm thúc đẩy sự lắng đọng của ECM. Trong khi sự tổng hợp ECM có thể trợ giúp cho sự tạo mạch thì có thể nó cũng ức chế (chứ không phải tăng cường) sự xâm lấn. Nếu so sánh thì thấy hoạt tính của các carbonic anhydrase màng như CA9 và CA12 thực sự là có thể hỗ trợ cho việc xâm lấn do việc thay đổi pH ngoại bào. Một đặc trưng của RCC tế bào sáng là thay đổi rõ rệt mẫu (pattern) các phân tử kết dính TB, điều đó khó có thể gán hoàn toàn chỉ do những biến đổi ở VHL/HIF.

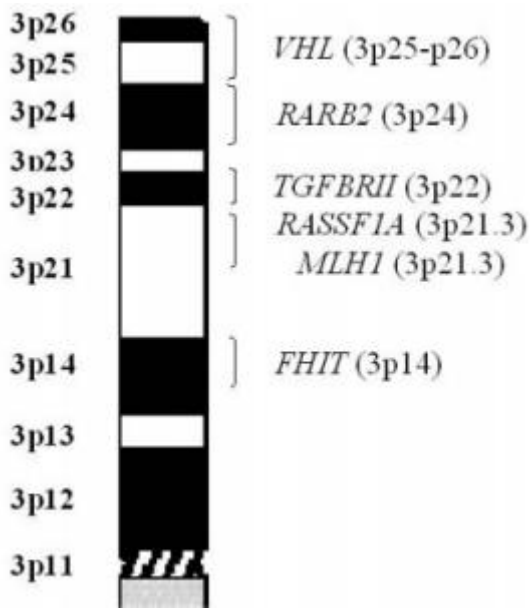
Có lẽ vấn đề quan trọng nhất là liên quan đến apoptosis. Vì đáp ứng TB với thiếu oxy có liên quan tới sự cảm ứng các protein tiền apoptosis (Bảng 16.5) nên việc kích hoạt kiến tạo của nó do mất VHL cuối cùng có thể sẽ dẫn đến chết tế bào. Trong các khối u VHL và carcinoma TB thận rải rác thì nhánh đáp ứng thiếu oxy này rõ ràng là chưa đủ hoàn toàn hiệu lực.

Vì thế, trong sự phát triển của carcinoma TB sáng, mất VHL và biểu hiện kiến tạo đáp ứng thiếu oxy có khả năng phức tạp là do các biến đổi di truyền và epigenetic. Một số biến đổi được biết là nhắm vào các chất kiềm chế khối u. Các LOH ở NST 17p13 và 9p21 thường có liên quan tới TP53 và CDKN2A và các đột biến phụ ở những gen này thực sự đã quan sát thấy ở các trường hợp tiến triển. Sự điều hòa xuống và mất PTEN - một chất đối kháng trong con đường PI1K do mất 10q có thể là sự biến đổi đáng kể khác trong các trường hợp tiến triển. Như trong RCC thể nhú, việc thêm vào một NST xác định có thể dẫn đến tăng biểu hiện các yếu tố tăng trưởng và các receptor của chúng, đặc biệt là EGFR và MET. Trái lại, các đáp ứng với TGFβ lại giảm, rất có khả năng là thông qua việc điều hòa xuống TGFβRII. Như một quy luật, trong các protein kháng apoptosis RCC như IAP survivin thường biểu hiện quá mức và các receptor chết như FAS/CD95 thì bị điều hòa xuống. Tuy nhiên cơ chế mấu chốt của những thay đổi này trong sự cân bằng apoptosis thì vẫn chưa được hiểu rõ.

Mặc dù những thay đổi là như vậy nhưng với từng bộ phận của RCC tế bào sáng thì sự biến đổi phù hợp nhất trong carcinoma tế bào sáng là mất 3p. Hiện nay người ta nghĩ rằng, không chắc việc mất allele VHL là hệ quả liên quan duy nhất. Hầu hết các nhà nghiên cưu đều nhất trí rằng, mất 3p chẳng những là hậu quả của việc bẻ gãy thường xuyên tại FRA3B mà nó còn có chức năng chọn lọc bởi vì nó dẫn đến mất gen kiềm chế khối u thứ 2. Vấn đề này vẫn còn nhiều điểm chưa được nhất trí (Hình 16.8).

(1) FHIT tại vị trí gãy rõ ràng là một ứng cử viên. (2) Gen RASSF1A định vị tại 3p21 mã hóa cho một protein được kích hoạt bởi RAS có thể làm giới hạn các đáp ứng TB đối với sự kích thích RAS, có lẽ do ngăn chặn sự phân bào hoặc với tư cách là một sự ức chế phản hồi biểu hiện gen, cảm ứng bởi RAS. Đó là sự bất hoạt sao chép ở nhiều ung thư người, bao gồm cả RCC do cường methyl hóa promoter. Locus RASSF1A rất phức tạp, ngoài việc mã hóa cho protein RASSF1A nó còn mã hóa cho cả protein RASSF1B và RASSF1C và như thế thì có thể làm giảm RASSF1A. (3) Gen của receptor

acid retinoic RARβ2 có quan hệ chặt chẽ với protein RARα liên quan đặc biệt với bệnh bạch cầu tiền tủy, gen này định vị ở 3p24. Thành viên này của họ xuất hiện là để chuyển tiếp và khuếch đại các tín hiệu biệt hóa trong các TB biểu mô nhờ vòng tự điều hòa đặc hiệu. Gen RARB2 có chứa trình tự RARE mà các receptor acid retinoic có thể gắn được vào. Việc liên kết này do RARγ kích hoạt ligand, nó có thể kích thích sự sao chép RARBβ2, tăng hoạt tính của gen khác cho đến khi gen đích cảm ứng được sự biệt hóa cuối cùng. Giống như RASSF1A, RARB2 cũng phát hiện thấy cường methyl hóa ở một số dạng carcinoma. Cũng như truường hợp RASSF1A, locus này rất phức tạp và các isoform khác nữa cũng là một vấn đề. Tất nhiên, ngay cả khi mọi chuyện đã rõ ràng thì danh mục các ứng cử viên cũng chưa thể kết thúc được tại đây.




**Hình 16.8** *Một số gen kiềm chế khối u tiềm năng tại nhiễm sắc thể 3p*

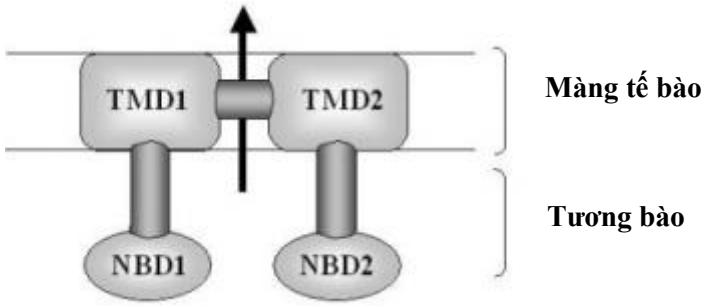
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

## 16.6. TRỊ LIỆU HÓA HỌC VÀ TRỊ LIỆU MIỄN DỊCH CARCINOMA THẬN

Carcinoma TB thận rất khó điều trị bằng hóa chất hay xạ trị. Một số yếu tố góp phần vào sự đề kháng "sơ cấp" này là:

**(1)** Carcinoma TB thận không tăng trưởng nhanh một cách đặc biệt, hiện diện các đích trị liệu nhắm vào sự tăng sinh cao của tế bào rất nghèo nàn.

**(2)** Sự bài tiết các hợp chất độc là chức năng quan trọng của thận bình thường. Mô khối u từ cơ quan này vẫn tiếp tục sử dụng các hệ thống bảo vệ của thận và đặc biệt là hệ thống bài tiết liên quan đến PDG glycoprotein MDR1 (Hình 16.9). MDR1 là một protein vận chuyển phụ thuộc ATP (ABC transporter) giúp cho việc trao đổi lipid lá trong và lá ngoài của màng. Phản ứng này cũng cho phép bài tiết vô số thuốc kiềm chế TB ưa lipid ra khỏi TB. Trong phương thức này thì protein góp phần vào sự kháng đa thuốc ở nhiều ung thư người. Trong các ung thư khác thì sự biểu hiện của nó là do thu đươc hoặc cảm ứng sau hóa trị dẫn đến kháng lại hóa trị thứ cấp. Trái lại, ở thận thì protein MDR thường biểu hiện ở mức cao có khả năng là để trợ giúp cho sự bài tiết các hợp chất độc ra khỏi cơ thể. Vì thế, protein này hiện diện ngay từ khi khởi đầu RCC nên dạng ung thư này phơi bày sự đề kháng sơ cấp (primary).




**Hình 16.9** *Cấu trúc và chức năng của MDR1 (PGP)*
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

**(3)** Sự biến đổi quyết định trong sự phát triển của RCC là giảm apoptosis. Mặc dầu cơ chế vẫn chưa rõ hoàn toàn, nhưng có khả năng là sẽ dẫn đến giảm sự nhạy cảm với hóa trị và xạ trị.

**(4)** Trong carcinoma thận tiến triển, thường xuyên mất chức năng TP53 và PTEN. Những mất mát này nhìn chung là có liên quan đến sự đáp ứng yếu kém với hóa trị và xạ trị do giảm apoptosis và tăng dung nạp với việc bẻ gãy chuỗi DNA.

Do vậy cũng khá tuyệt vọng với việc giải thích tại sao RCC lại có thể trở thành một trong số các đối tượng của trị liệu miễn dịch. Tất nhiên là có nhiều nguyên do liên quan chặt chẽ với khoa học. Nghiêm trọng nhất là sự thoái bộ ‘‘tự phát’’của carcinoma đã ghi nhận được trong các trường hợp cá lẻ. Nó thường là do sự thành công của đáp ứng miễn dịch. Tuy nhiên, phù hợp với những trường hợp như thế, việc điều trị khỏi ‘‘một cách thần kỳ’’ với các cytokine và kích thích các tế bào T dẫn đến đáp ứng một phần hay toàn bộ ở 15-30% bệnh nhân carcinoma tế bào sáng (mặc dầu với các dưới type khác thì không) là rất hiếm hoi. Vì thế, việc điều trị với interrleukin 2 (IL2) và/hoặc interferon α (IFNα) là một trong số các lựa chọn trị liệu cho các bệnh nhân đã di căn. Việc điều trị này đôi khi cũng có các đáp ứng khả quan, nhưng hiếm khi chữa khỏi hoàn toàn. Tuy nhiên, các tác dụng phụ có thể rất quyết liệt, có khả năng do bệnh nhân đã từng bị cúm nặng. Có lẽ họ sẽ tiếp nhận được tốt hơn nếu dự đoán được hiệu lực của việc điều trị, điều này quả thật là khó. Do đó, những cách tiếp cận trị liệu miễn dịch đối với carcinoma thận cần phải nỗ lực hơn nữa.

Trong melanoma, một đích hứa hẹn khác với trị liệu miễn dịch là các đáp ứng miễn dịch kháng lại trực tiếp các protein đặc hiệu cho các TB tạo sắc tố (melanocyte) và các kháng nguyên ung thư tinh hoàn. Trong carcinoma thận thì các kháng nguyên ung thư phôi thai, ví dụ như các protein thường chỉ biểu hiện trong quá trình phát triển phôi và được điều hòa xuống ở thận trưởng thành có thể đại diện cho một dạng đích. Phổ

biến hơn là các kháng nguyên được nhận dạng bởi các tế bào miễn dịch trong RCC bắt nguồn từ các protein với tư cách là một bộ phận của đáp ứng kiến tạo do thiếu oxy (Bảng 16.5), đặc biệt ở các dạng thông thường. Chẳng hạn như, một kháng nguyên màng TB kỳ vọng được nhận dạng bởi kháng thể đơn dòng G250 biểu hiện trên bề mặt tất cả các TB carcinoma thận (nhiều dưới type), nhưng không phải đều phát hiện được ở thận bình thường. Kháng nguyên này hóa ra lại là một bộ phận của enzyme carbonic anhydrase CA9 được cảm ứng vài trăm lần trong RCC tế bào sáng - đó là hệ qủa của sự kích hoạt kiến tạo HIF1.

## *TÓM TẮT*

❖ *Một số dạng ung thư được tạo ra từ thận trưởng thành. Ngoài ra nó lại là cơ quan di căn của các khối u từ những nơi khác tới. Ở thận, các khối u có thể bắt nguồn từ các dạng TB khác nhau. Các khối u có nguồn gốc trung mô có thể là lành tính hoặc ác tính, ví dụ angiomyolipoma là khối u lành tính trái ngược với sarcoma. Trong bể thận, carcinoma biểu mô niệu cũng giống như ở bàng quang. Carcinoma TB thận thực sự (RCC) bắt nguồn từ những phần khác nhau của ống sinh niệu. Chúng được phân biệt bằng hình ảnh tổ chức học, theo đó thì bao gồm carcinoma chromophobic, chromophilic, TB sáng và các u nhú. Thường gặp nhất là dạng TB sáng (vì vậy thường gọi là RCC). Cũng có khối u biểu mô niệu lành tính như oncocytoma.*

❖ *Các nghiên cứu về di truyền TB và phân tử đã chỉ rõ rằng, về mặt tổ chức học thì các dưới type RCC khác nhau đều mang các biến đổi NST điển hình. Cách nhìn nhận này đã giúp ích cho việc loại ra những trường hợp không rõ ràng. Như vậy, phân loại học hiện đại carcinoma TB thận phải dựa trên sự tổ hợp các thông số phân tử và tổ chức học.*

❖ *Một số hội chứng di truyền làm tăng nguy cơ carcinoma thận, nổi bật là bệnh von-Hippel-Lindau (VH) và carcinoma TB thận thể nhú di truyền (HPRCC). Các gen gây ảnh hưởng trong hội chứng này nói chung là các gen kiềm chế khối u, trừ các đột biến trong carcinoma thể nhú di truyền tiêu chuẩn lại kích hoạt gen tiền ung thư MET. Đây là một trong số các trường hợp ngoại lệ, trong đó hội chứng ung thư di truyền ở nam giới là do đột biến sinh ung thư trội.*

❖ *Gen VHL liên quan đến hầu hết các trường hợp carcinoma TB và các RCC rải rác của dưới type này. Vì thế nên nó thuộc về gen kiềm chế khối u "cổ điển". Trong khi việc bất hoạt các allele VHL có thể xảy ra thông qua nhiều cơ chế khác nhau, bao gồm đứt đoạn (xóa bỏ), đột biến điểm và cường methyl hóa promoter thì theo quy luật, một allele sẽ bị xóa đi do mất NST 3p. Sự mất mát này đặc trưng cho RCC tế bào sáng. Sự*

*nhất quán này có thể gặp thuận lợi do sự hiện diện vị trí chủ chốt của sự bất ổn định hệ gen (FRA3B) ở 3p14/1, nhưng nhiều khả năng là do sự hiện diện của gen kiềm chế khối u thứ 2 trên cánh của NST này.*

❖ *Việc làm rõ ràng chức năng của VHL đã đem lại cái nhìn sâu sắc về sinh học khối u. Protein VHL là một chất điều hòa đa hình về sinh lý học và tăng trưởng TB. Quan trọng nhất là nó có liên quan đến đáp ứng TB với trạng thái thiếu oxy. Mất chức năng VHL gây nên sự chuyển đổi (tắt bật công tắc) trong sinh lý học TB và biểu hiện gen - thường hay xảy ra một cách chớp nhoáng trong quá trình tiến tới trạng thái thiếu oxy. Điều này cho phép giải thích được nhiều đặc tính về hình thái học và sinh học của kiểu hình carcinoma TB sáng, bao gồm cả việc chuyển đổi đường phân và nổi bật là sự tạo mạch. VHL là một module nhận dạng đích của phức hợp protein E3 ubiquitin-ligase, phức hợp này bị mất chức năng trong carcinoma TB thận. Phát hiện này nhấn mạnh hơn nữa về những sự "hỗn loạn" quan trọng của sự phân giải protein là để phát triển các khối u ở người.*

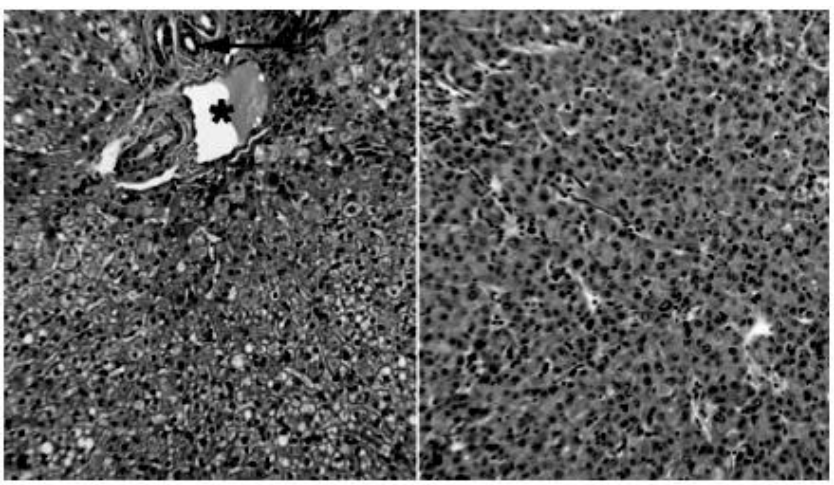
❖ *RCC vẫn là một thách thức đối với trị liệu. Trong khi các khối u cục bộ có thể điều trị khỏi bằng phẫu thuật thì hóa trị đối với các ung thư di căn rõ ràng là không hiệu lực. Các cytokine như interferon α và interleukin 2 làm giảm nhẹ bệnh trong một số trường hợp, nổi bật nhất là sự thuyên giảm tự nhiên đã được ghi nhận ở một số cá thể. Những sự kiện này có lẽ là do đáp ứng miễn dịch kháng lại khối u, trong đó RCC là đích chủ yếu cho trị liệu miễn dịch thực nghiệm.*

# CHƯƠNG XVII: UNG THƯ GAN

## 17.1. NGUYÊN NHÂN

Mặc dù gan thường là nơi di căn của các cơ quan khác, nhưng ngày nay ung thư gan nguyên phát là một trong số các u ác tính hiếm gặp ở các nước công nghiệp phương Tây. Dưới type về tổ chức học chủ yếu là carcinoma TB gan (HCC) bắt nguồn từ một dạng TB chủ chốt ở gan đó là TB biểu mô gan.

Trên con đường dài phát triển, các tế bào HCC cũng tương tự như các TB gan bình thường. Trong giai đoạn sớm các TB ung thư này khó có thể phân biệt về mặt hình thái với các TB nhu mô bình thường hoặc adenoma lành tính (Hình 17.1). Một số TB tiết ra một tương đồng albumin gây ung thư thuộc phôi thai α-fetoprotein, đây là một marker rất hữu ích cho những trường hợp như vậy. Các kỹ thuật tổ chức học như lai huỳnh quang in situ (FISH) có thể được sử dụng để phát hiện các biến đổi NST và hỗ trợ cho việc chẩn đoán ung thư.

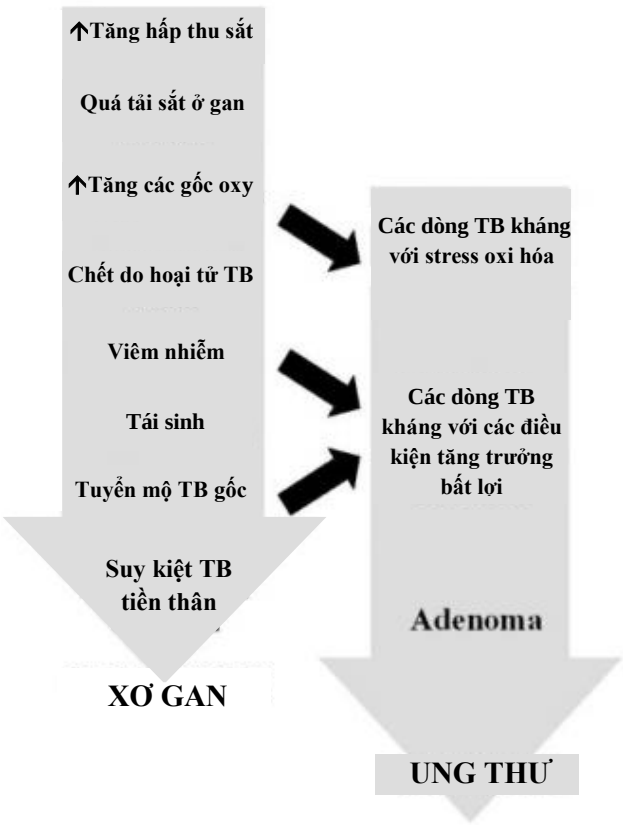


**Hình 17.1** *Tổ chức học của carcinoma tế bào gan khi so sánh với gan bình thường*
Các khía cạnh của gan bình thường (trái) với cổng thông tin (sao) và carcinoma tế bào gan (phải)
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Mặc dù khác nhau về hình thái học nhưng carcinoma TB gan vẫn là các ung thư gây chết người cao. Tuy đã có những tiến bộ trong phẫu thuật và ngay cả việc sử dụng công nghệ ghép gan thì nhìn chung sự sống sót cũng chỉ là <20% sau 2 năm được chẩn đoán. Theo quy luật, chỉ những khối u nhỏ với đường kính <2cm thì mới chữa khỏi bằng phẫu thuật. Hiện nay hóa trị vẫn chưa thành công với ung thư gan.

Ở nhiều nước đang phát triển thì tình trạng còn xấu hơn. Carcinoma TB gan nguyên phát là một vấn đề lớn về y tế đối với các nước Đông Nam Á cũng như Trung và Bắc Phi, nhiều bệnh nhân có xu hướng trẻ hóa rất nhiều so với phương Tây, thậm chí trẻ em cũng bị ung thư TB gan. Ở nhiều nước khả năng điều trị bị hạn chế rất nhiều so với thế giới phương Tây. Như một quy luật, HCC vẫn chiếm 1/5 các ung thư thường gây chết người trên toàn thế giới.

Độc lập với các yếu tố địa lý và xã hội, HCC thường nảy sinh khi bị viêm gan mạn tính và xơ gan. Chẳng hạn như bệnh thừa sắt phát triển viêm nhiễm dẫn đến xơ gan và cuối cùng là HCC trong một số trường hợp (Hình 17.2).




**Hình 17.2** *Chuỗi bệnh lý học của HCC phát triển trong bệnh thừa sắt*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Bệnh thừa sắt là một bệnh tồn dư sắt do đột biến mất nghĩa ở gen HFE. Sản phẩm của gen là một protein màng tương tự như protein MHC, điều hòa sự hấp thu và vận chuyển sắt. Chức năng HFE không đầy đủ dẫn đến tình trạng quá tải sắt ở gan. Bình thường sắt dự trữ ở gan được liên kết với các protein như ferritin. Trong bệnh thừa sắt thì khả năng tồn trữ protein bị vượt quá giới hạn và ion sắt tự do gây nên tổn hại cho mô. Các ion sắt liên kết protein ($Fe^{2+}$) tương đối vô hại, trong khi đó $Fe^{2+}$ tự do trong dung dịch hay liên kết với các ligand phân tử thấp thì có thể dễ dàng bị oxy hóa hơn thành sắt hóa trị 3 ($Fe^{3+}$) trong phản ứng Fenton(Hình 17.3) tạo nên các gốc hydroxyl phản ứng cao. Các gốc hydroxyl gây tổn hại các đại phân tử và lipid làm cho TB bị hoại tử và chết, gây viêm nhiễm mạn tính. Chúng cũng phản ứng với các base của DNA và đường deoxy-ribose gây nên sự bẻ gãy chuỗi và đột biến base.

$$Fe^{2+} + H_2O \rightarrow Fe^{3+} + OH^{*} + OH^{-}$$

**Hình 17.3** *Phản ứng Fenton chuẩn*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Các đột biến HFE phổ biến cao ở những người Âu châu. Trong quần thể này có 10% là dị hợp tử với đột biến 282Cys>Tyr và có tới 20% với đột biến 63His>Asp. Chỉ các dị hợp tử hoặc các dị hợp tử phức hợp (ví dụ như những người mang 2 đột biến khác nhau ở các allele HFE) mới phát triển thành bệnh thừa sắt. Trên thực tế, không phải tất cả mà chỉ có một bộ phận nhỏ trong số này mới tiến tới xơ gan và ung thư TB gan (Hình 17.2). Điều này chứng minh rằng còn có các yếu tố khác nữa điều biến sự viêm nhiễm và ung thư. Hiện nay các bệnh nhân có các dấu hiệu sớm về bệnh thiếu sắt có thể được điều trị bằng các chelator sắt để ngăn ngừa tổn hại cơ quan, xơ gan và ung thư.

Bệnh thừa sắt là một bệnh hiếm, nhưng sinh lý bệnh học đã được hiểu rõ. Các bệnh quan trọng nhất là viêm gan virus HBV và HCV và sự lạm dụng rượu và đồ uống có cồn (Bảng 17.1). Trong một quần thể đặc trưng ở Trung Âu khoảng 3% tất cả các trường hợp HCC có thể liên quan đến bệnh thừa sắt và 30% do HBV, HCV và rượu, số còn lại là do những nguyên nhân khác chưa rõ. Việc tăng cao tỷ lệ mắc bệnh HCC ở các nước công nghiệp trong các thập kỷ trước chủ yếu là do m nhiễm HCV. Đây là cơ hội để phát triển xơ gan và ung thư gan.

***Bảng 17.1.*** *Các nguyên nhân gây nên ung thư tế bào gan ở người*

| **Các yếu tố cá thể gây nên ung thư tế bào gan ở người** |
|---|
| Rượu |
| Virus viêm gan B |
| Virus viêm gan C |
| Gan nhiễm mỡ |
| Các bệnh di truyền dẫn đến hủy hoại gan mạn tính |
| Bệnh thừa sắt và các bệnh khác dẫn đến quá tải sắt và đồng |
| Các nguyên nhân khác của xơ gan |
| Aflatoxin |

Trong viên gan virus mạn tính, các TB gan bị hủy hoại liên tục do các tế bào T muốn loại trừ virus và thay thế lại bằng các TB mới. Việc thay thế các TB gan một phần đạt được là do sự tăng sinh của các TB gan biệt hóa và một phần là do khi bị hủy hoại liên tục thì có sự tuyển mộ các TB gốc của gan. Những TB này được cho là nằm trong ống Herring tại ống mật chủ. Sự kích hoạt chúng có thể được nhận biết thông qua sự lan rộng của các TB giống biểu mô nhỏ không biệt hóa, nhân hình oval (các tế bào oval) trong cấu trúc nhu mô tế bào gan. Trong trường hợp lạm dụng rượu thì sự hủy hoại TB gan được khởi đầu do các hợp chất hữu cơ và các chất chuyển hóa.

Trong quá trình viêm nhiễm và hủy hoại mô mạn tính, các tế bào không phải là biểu mô trong gan sẽ trở nên kích hoạt và tăng sinh. Trong quá trình khởi đầu kích hoạt và tăng sinh thì nó "phục vụ" với tư cách trợ giúp cho các đáp ứng miễn dịch và tái sinh mô, nhưng khi gan bị hủy hoại mạn tính cộng với viêm nhiễm, thì những tế bào này

thắng thế, càng ngày càng lan rộng và thay thế dần các cấu trúc biểu mô trong cơ quan. Quá trình này cuối cùng dẫn đến xơ gan, trong đó mô trung mô được tổ chức tốt thể hiện sự rối loạn tổ chức, bị xơ và mất chức năng.

Trong mô hỗn độn này, ung thư TB gan có thể phát triển từ các TB gốc của gan hoặc từ các TB gan đã biệt hóa xa hơn kháng lại mạnh hơn với các điều kiện bất lợi trong cơ quan. Các TB ung thư gan thường có sự đề kháng lại cao hơn so với nhiễm virus, lưu trữ sắt, ít hoặc khó nảy sinh apoptosis bởi các TB miễn dịch gây độc TB. Như vậy, có thể chúng đã được chọn lọc về khả năng sống sót trong môi trường mô bị xơ. Đặc biệt là chúng tăng sức đề kháng với apoptosis, ví dụ do con đường CD95. Đó có thể là một lý do đối với sự đề kháng nguyên phát của HCC với hóa trị.

Carcinoma TB gan được báo trước bởi một số biến đổi hình thái học nhu biểu mô. Những sự biến đổi này được xác định trước tiên trên các động vật thí nghiệm sau đó mới là ở trên người. Trong một số trường hợp, sự tăng sinh của các TB gốc của gan thực chất có thể được quan sát thấy. Giai đoạn hình thái học đầu tiên là các ổ loạn sản nhỏ, chúng tăng kích cỡ để hình thành nên các bướu nhỏ với các TB bất thường lũy tiến. Khi ở giai đoạn tiền thân này thì khối u vẫn bị hạn chế bởi nhu biểu mô, khi đã là HCC thực sự thì nó xâm lấn mô kẽ (intestitia) cũng như mạch máu và có thể hình thành các di căn ở những phần xa gan hoặc sang các cơ quan khác. Đến giai đoạn quan trọng thì cả về hóa sinh và lâm sàng đều xác định là thể tích khối u khoảng 1 $cm^3$. Tại đây có sự tăng sinh mạch vì các nhánh động mạch gan và các mao mạch đều bị kích hoạt và các TB khối u trở nên xâm lấn hơn. Quá trình chuyển đổi này xảy ra nhanh và theo sau đó là sự lan rộng của các TB ung thư đi khắp gan và tới các cơ quan khác.

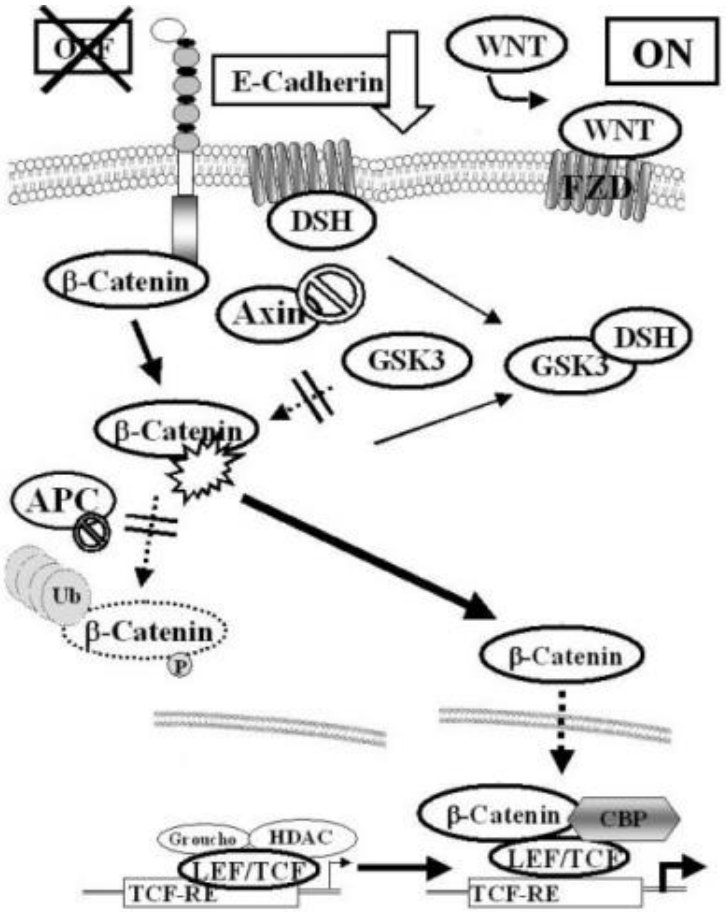
## 17.2. BIẾN ĐỔI DI TRUYỀN TRONG CARCINOMA TẾ BÀO GAN

Các TB carcinoma TB gan là dị bội với số lượng biến đổi NST phù hợp. Một cách ngắn gọn, phổ biến là thêm vào 1q, 6p, 8p, 11q và toàn bộ NST 7, trong khi đó lại mất chủ yếu là 4q, 6q, 8p, 13q, 17p và các cánh tay của NST 16. Con đường "ung thư" đích bởi những biến đổi này và những biến đổi di truyền và epigenetic là mạng lưới RB1 điều hòa chu kỳ TB, con đường WNT, con đường STAT và mạng lưới TP53. Ngoài ra, vòng các yếu tố tăng trưởng cận tiết và tự tiết cũng được thiết lập. Trong khi thúc đẩy tăng sinh TB thì các quá trình này cũng góp phần làm giảm apoptosis cùng với việc biến đổi các đáp ứng với các ligand receptor chết và biểu hiện quá mức các protein kháng apoptosis.

Điều hòa chu kỳ TB thông qua RB1 bị phá vỡ ở hầu hết các HCC do mất và đột biến RB1, cường methyl hóa, đột biến hay đứt đoạn CDKN2A và có lẽ thường gặp hơn so với các carcinoma khác là biểu hiện quá mức cyclin D1 do hệ quả của sự khuếch đại gen CCD1 của nó ở 11q13. Gen MYC ở 8q24.1 cũng thường bị khuếch đại, làm thúc

đẩy sự tiến triển của chu kỳ TB cũng như tăng trưởng TB. Những sự biến đổi này dẫn đến mất điều hòa chu kỳ TB giống như ở nhiều carcinoma khác, ví dụ như carcinoma TB vảy ở da và các ung thư bàng quang.

Con đường WNT cũng bị kích hoạt trong nhiều carcinoma TB gan, mặc dầu không thường xuyên như các ung thư đại tràng. Trên thực tế, cách thức kích hoạt thường là khác nhau (Hình 17.4). Trong ung thư đại tràng, kích hoạt kiến tạo con đường thường do sự bất hoạt cả 2 allele của gen kiềm chế khối u APC và một số ít các trường hợp do đột biến điểm ở CTNNB1 làm cho β-catenin biến thành một protein sinh ung thư. Những đột biến này xảy ra ở một bộ phận của protein được nhận dạng bởi GSK3β và nó gây ức chế sự phosphoryl hóa, cho phép nhận dạng β-catenin bởi phức hợp βTRCP ubiquitin ligase.




**Hình 17.4** *Những cơ chế hoạt hóa con đường WNT trong HCC*

Con đường WNT thường bị kích hoạt nhất trong carcinoma tế bào gan do đột biến gen ung thư β-catenin. Cách khác là các đột biến ở axin và hiếm hơn ở APC (dấu hiệu ức chế) dẫn đến việc tách ra phức hợp phosphoryl hóa β-catenin. Sự kích hoạt kiến tạo con đường này thường trầm trọng thêm do mất E-cadherin mà thường thì β-catenin vẫn hay duy trì ở màng tế bào.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

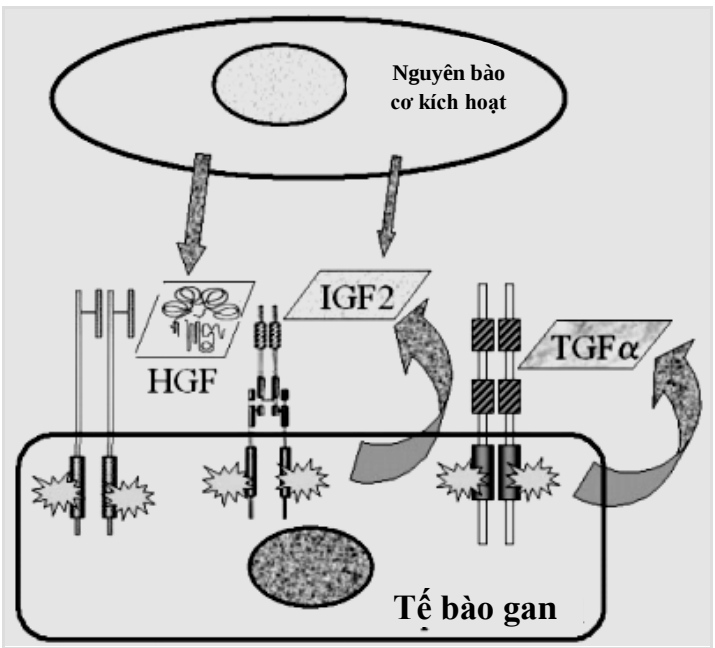
Dạng đột biến này của CTNNB1 cũng phổ biến ở HCC với tần suất 25-30%, trong khi đó việc bất hoạt APC là ngoại lệ chứ không phải là quy luật. Thay vì, trong một số trường hợp lại có 2 biến đổi khác thúc đẩy sự hoạt động quá mức con đường này. Các đột biến của axin 1, một protein giúp cho việc lắp ráp phức hợp APC/GSK3β/β-catenin phát hiện được với mức gần 5% HCC. Theo đó thì LOH ở 16p13 – nơi định vị của gen AXIN1 là tương đối thường xuyên. Trong nhiều HCC, có sự mất cánh tay dài của NST này, ví dụ 16q cùng với đột biến và cường methyl hóa promoter dẫn đến giảm hoạt tính của E-Cadherin. Mất protein này từ màng TB sẽ làm giảm sự kết dính giữa các TB biểu mô lân cận và nhờ đó mà "ủng hộ" cho sự xâm lấn và di căn. Tuy nhiên, ở phía tương bào của màng thì E-cadherin lại neo một mạng lưới các sợi thông qua protein α-catenin và β- catenin. Trong phương thức này, trong một số dạng TB thì E-cadherin dường như là tác động với tư cách là một loại "đệm" cho β-catenin và điều tiết sự hoạt động con đường tín hiệu WNT phụ thuộc protein này. Đặc biệt là, trong HCC việc mất E-cadherin dường như cũng góp phần làm tăng nồng độ β-catenin ở nhân.

HCC là một trong các u đặc trong đó đã quan sát thấy hoạt tính của STAT tăng lên. Trong số các khiếm khuyết dẫn đến sự hoạt động quá mức của STAT ở những trường hợp này là cường methyl hóa promoter SOCS1 kết hợp cùng với LOH ở 16p13 (ở cùng khu vực chứa AXIN1). SOCS1 là một chất ức chế phản hồi của JAK2 chuyển tiếp các tín hiệu tăng trưởng và sống sót từ các cytokine như IL6. Khi vắng mặt SOCS1, các tín hiệu thông qua con đường STAT có thể bị kéo dài và thúc đẩy mạnh hơn sự đề kháng, đặc biệt với apoptosis. Điều quan trọng cần phải nhớ là trong vấn đề này mặc dầu IL6 được "dán nhãn" 'cytokine' bởi vì nó gây ảnh hưởng đến sự tăng sinh và chức năng của nhiều dạng TB của hệ miễn dịch nhưng nó cũng ảnh đến cả sự tăng trưởng và điều tiết chức năng của một số dạng TB biểu mô, đặc biệt là các tế bào gan.

Chức năng của TP53 bị hỗn loạn trong hầu hết các HCC thường là do các cơ chế phổ biến nhất đối với tất cả các ung thư, ví dụ như các đột biến ở một allele và mất allele thứ 2 do đứt đoạn hoặc tái tổ hợp. Trong HCC ở Âu châu và Mỹ cũng như Nhật Bản và Đài Loan thì những đột biến này còn trải rộng tới cả domain gắn DNA trung tâm của protein TP53. Trong HCC ở châu Phi và các nước châu Á thì "điểm nóng" đột biến quan sát thấy ở codon 249. Sự đảo đoạn ở base thứ 3 làm thay đổi AGG thành AGT và vì vậy mà Arg thành Ser ở protein TP53. Đột biến đặc biệt này có thể được cảm ứng một cách thực nghiệm bởi aflatoxin B1. Các thực phẩm bẩn có chứa nấm *Aspergillus flavus* này sẽ sản xuất ra chất gây ung thư. Những thực phẩm này được tiêu thụ chủ yếu ở các vùng nóng và ẩm của thế giới, ở những nơi đây đột biến này rất phổ biến. Như vậy cũng giống như các đột biến dimer pyrimidine, nó cũng được dùng để chẩn đoán về sự tổn hại DNA do UBV, đột biến G→T ở codon 249 vạch rõ ảnh hưởng của chất gây

ung thư đặc biệt này. Hơn nữa, đột biến này chủ yếu phát hiện được ở những bệnh nhân nhiễm HBV mạn tính, do đó rõ ràng là một số đột biến là do virus.

Trong tất cả các HCC, các đột biến của TP53 đều có xu hướng xảy ra cùng với việc biến đổi tín hiệu β-catenin. Cơ chế cơ bản của sự kết hợp này vẫn chưa được rõ hoàn toàn, nhưng đáng chú ý là những sự thay đổi này cũng xảy ra ở carcinoma đại tràng. Một sự giải thích có thể thừa nhận được là tín hiệu kiến tạo WNT/β-catenin đã kích hoạt TP53 thể hoang dã bởi vì nó cảm ứng MYC và Cyclin D1 làm tăng (trực tiếp hay gián tiếp) sự sao chép của $p14^{ARF1}$. Trong phương thức này, áp lực chọn lọc đối với đột biến ở TP53 có thể bị tác động. Giống như trong nhiều ung thư khác, mất chức năng TP53 có thể góp phần làm giảm apoptosis và tăng tạo mạch trong HCC. Cả 2 đều trợ giúp cho sự sống sót của TB trong môi trường gan bị xơ. Trong số các yếu tố tăng trưởng và các receptor đặc biệt quan trọng trong HCC thì chúng cũng điều khiển sự tăng trưởng và tái sinh bình thường của gan: TGFα tác động thông qua EGFR (ERBB1), yếu tố tăng trưởng TB gan (HGF) tác động thông qua MET và yếu tố tăng trưởng giống insulin 2 (IGF2) và receptor của nó (Hình 17.5) có lẽ quan trọng hơn trong các ung thư khác.




**Hình 17.5** *Các yếu tố tăng trưởng và receptor tyrosine kinase trong carcinoma tế bào gan*
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

TGFα có thể được sản xuất bởi chính các TB gan. Nếu những TB này cũng biểu hiện EGFR thì có thể đạt được sự kích thích tự tiết tăng trưởng và sống sót TB. Trái lại, HGF lại được sản xuất bởi các TB không phải biểu mô trong gan. Trong khi gan bị xơ và phát triển HCC thì các TB trung mô trở nên kích hoạt. Đặc biệt là các TB bình thường định vị ở khoảng Disse có sự thay đổi làm cho các TB biểu mô cơ tăng sinh,

đồng thời cũng tiết ra các yếu tố tăng trưởng và cytokine tác động lên các TB biểu mô và các TB đệm khác. Có khả năng chúng là nguồn HGF trong carcinoma TB gan mà sự tác động của nó được tăng cường do biểu hiện quá mức receptor MET trên các TB gan. Việc sản xuất, tiết và trưởng thành (chín) của HGF đều có thể được kích thích bởi các yếu tố từ khối u. Ở HCC cũng như nhiều carcinoma khác gen mã hóa cho EGFR và MET đều định vị ở NST 7.

Sự biểu hiện quá mức IGF2 là sự kiện quan trọng trong một số trường hợp u nguyên bào thận, u Wilms, nhưng không phải ở tất cả các khối u không phổ biến ở carcinoma, ảnh hưởng lên những người già. Insulin và/hoặc các yếu tố tăng trưởng giống insulin đều cần cho sự tăng sinh và các chức năng của các TB gan bình thường. Ở HCC, IGF2 có thể được sản xuất quá mức do hệ quả của nhiều cơ chế khác nhau. Trong một số trường hợp, có khả năng do mất in dấu. Liên quan tới vấn đề này có nhiều cơ chế phức tạp bao gồm cả việc thay đổi sử dụng 4 promoter của gen IGF2.

IGF2 tác động thông qua receptor tyrosine kinase IGFR1 hoặc một dạng ghép nối khác của receptor insulin IRI thúc đẩy sự sống sót và tăng sinh TB qua con đường MAPK. Nhưng có lẽ quan trong hơn là con đường PI3K. Về nguyên tắc, insulin có hiệu ứng giống như IGF2, nhưng là một yếu tố tăng trưởng tương đối yếu, trong khi đó IGF2 lại gây ảnh hưởng đến chức năng chuyển hóa nhưng không mạnh như insulin.

Hoạt tính thúc đẩy tăng trưởng của IGF2 thường bị giới hạn bởi IGFRII. Protein này đúng ra là một receptor, nó gắn với IGF2. Tuy nhiên, liên kết ligand không gây tăng sinh hoặc tín hiệu sống sót. Thay vì, IGF2 hướng lysosome tới sự phân giải. Vì thế, IGFRII là một receptor "người hót rác" (scarvenger) nó làm giới hạn sự tác động của các yếu tố giống insulin. Một sự giới hạn khác đối với tác động của chúng, được sản sinh ra bởi các protein liên kết như IGFBP3 bị cảm ứng bởi TP53.

Như vậy, phản ứng TB đối với IGF2 không những phụ thuộc vào nồng độ và mức độ biểu hiện gen của nó mà nó còn được điều hòa bởi một số yếu tố khác, đặc biệt là phản ứng TB với IGF2 phụ thuộc mức độ biểu hiện tương đối của receptor IGFR1 và IGFRII. Gen IGFR2 định vị ở NST 6q27, nơi mà LOH thường thấy ở HCC. Vì thế, nó được coi như là ứng cử viên có khả năng nhất đối với việc kiềm chế khối u ở khu vực này. Tuy nhiên, cũng có sự bất đồng về những phát hiện trên mô này. Có một sự nhầm lẫn là Igfr2 - một gen in dấu ở chuột và bước đầu đã được báo cáo là có in dấu ở một số mô của người. Mặc dầu ý kiến này ngày nay đã bị khước từ nhưng khái niệm này vẫn có xu hướng tồn tại. Tuy nhiên, tầm quan trọng của các yếu tố tăng trưởng giống insulin trong ung thư gan là một thực tại và cần phải nhấn mạnh rằng, các đột biến điểm đôi khi cũng kích hoạt IGFR1.

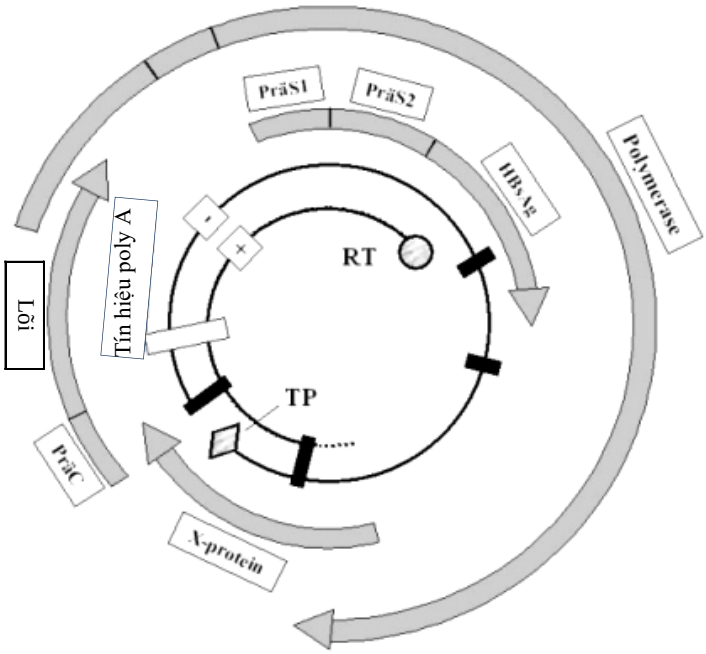
## 17.3. VIRUS TRONG CARCINOMA TẾ BÀO GAN (HCC)

Những biến đổi di truyền và epigenetic gây nên sự phát triển HCC trong bối cảnh viêm nhiễm mô cùng với sự xâm nhập của các TB gây độc TB, sự kích hoạt TB đệm, sự hủy hoại liên tiếp các TB gan nên cần phải có sự tái tạo lại mô vì chúng ngày càng trở nên rối loạn về mặt tổ chức. Những bệnh di truyền như bệnh thừa sắt, lạm dụng alcohol mạn tính hoặc nhiễm mạn tính do các virus gây viêm gan, HBV và HCV có gây nên trạng thái này do mỗi loại virus hay sự kết hợp của nhiều loại?. Viêm nhiễm mạn tính ở gan tạo ra môi trường gây đột biến, giảm một số kiểm soát tăng trưởng ở mô bình thường, thúc đẩy tăng sinh các TB gan và chọn lọc sự mở rộng các TB kháng lại các điều kiện bất lợi. Như vậy, chỉ sự thâm nhiễm mạn tính do virus viêm gan có lẽ đã đủ để làm tăng cao nguy cơ phát triển ung thư gan. Trên thực tế, nguy cơ HCC ở nam giới nhiễm mạn tính HBV tăng cao gấp 200 lần, điều đó chứng tỏ virus có thể góp phần vào việc phát triển ung thư do các cơ chế phụ.

Ở người, các virus DNA chứ không phải là retrovirus có liên quan đến việc sinh ung thư, tuy nhiên cũng có loại trừ với một số ít. Virus gây u trên người được biết rõ nhất là các virus gây u nhú. Các typgây ung thư như HP16 và HP18 có chứa các protein E6 và R7 nó liên kết và làm bất hoạt TP53 và RB1, bằng cách ấy mà làm ảnh hưởng tới cả 2 mạng lưới quan trọng nhất kiểm soát sự tăng trưởng, biệt hóa và tính toàn vẹn hệ gen. Vai trò gây bệnh của HPV là ở cổ tử cung, nhưng có khả năng nó còn thiết lập cả carcinoma TB vảy ở vùng đầu và cổ. Các bằng chứng ở các ung thư khác thì nghèo nàn hơn. Papovavirus SV40, JCV và BKV có thể tác động theo phương thức tương tự bằng cách gây cản trở chức năng của TP53 và RB1 thông qua các protein lớn đa chức năng của chúng. Tuy nhiên, không có bằng chứng chắc chắn về sự liên quan tích cực của chúng trong các ung thư người, ngoại trừ với u trung biểu mô và SV40. Phần lớn mọi người đều mang virus JC và BK nhưng không thấy hiệu ứng trái ngược nào rõ ràng.

Gần đúng như vậy là virus herpes EBV, mặc dầu bình thường nó vẫn là virus tương đối vô hại, nhưng rõ ràng lại là một đồng yếu tố (cofactor) trong các ung thư mạch bạch huyết đặc hiệu như u lympho Burkitt. Cho đến nay như chúng ta đã biết EBV không tác động qua TP53 hoặc RB1. Thay vì, sự xuất hiện của nó là để mở rộng thêm quần thể các TB chịu trách nhiệm biến nạp do các chuyển vị đặc hiệu làm kích hoạt các gen ung thư như MYC và bổ sung thêm cho sự tác động của chúng bằng cách làm giảm apoptosis.

HBV cũng là một virus DNA, tuy nhiên chu kỳ sống của nó được đặc trưng rõ ràng như thể một retrovirus bất lợi. Virus này (Hình 17.6) có chứa hệ gen DNA khoảng 3,3 kb trong một capsid icohedrical được hình thành nên từ 240 protein kháng nguyên lõi virus viêm gan B (HBcAg). Lõi này được bao quanh bởi một lớp màng có nguồn gốc từ lưới nội chất của vật chủ, trong đó một số osiform của kháng nguyên bề mặt HBV (HBsAg) được nhúng vào.




**Hình 17.6** *Hệ gen của HBV*

Ở trung tâm của hình là hệ gen DNA chuỗi kép khép vòng hở của virus được phác họa với protein kết thúc (TP) và transcriptase ngược (RT) liên kết với nó. Những hộp đen là các lặp. Khung đọc chồng chéo đôi với protein virus được sắp đặt quanh hệ gen.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

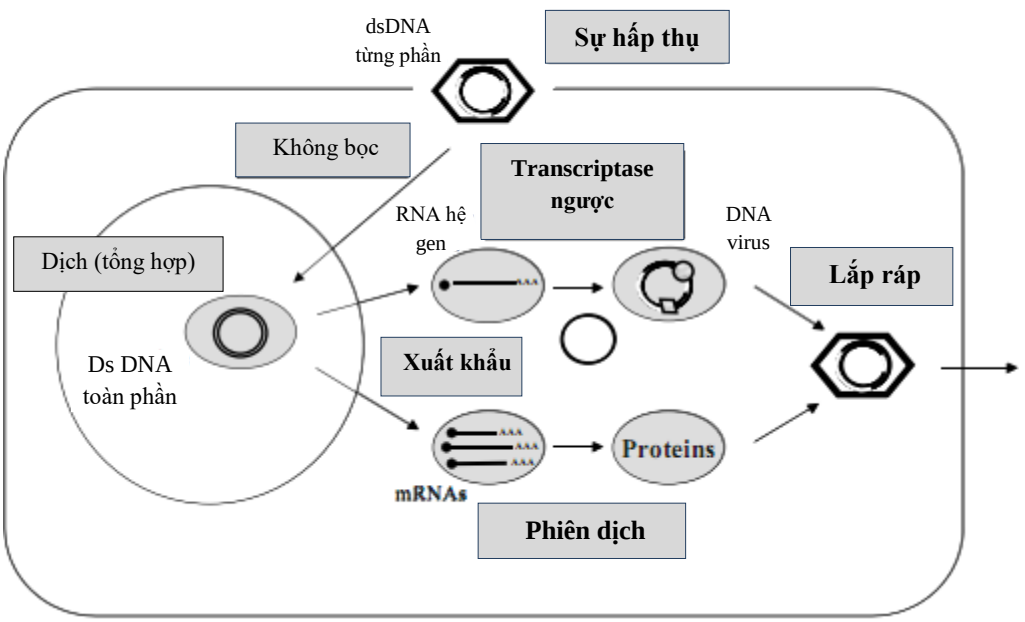
Hệ gen của các virus thâm nhiễm là DNA chuỗi kép đóng vòng không đầy đủ. Một chuỗi thì đầy đủ nhưng không đóng vòng vì là liên kết cộng hóa trị ở đầu 5' của gốc tyrosine trong protein tận cùng (TP) được mã hóa bởi virus. Chuỗi đầy đủ được gọi là chuỗi trừ bởi vì nó được sử dụng độc quyền như một khuuôn mẫu cho việc sao chép hệ gen virus. Chuỗi cộng trong virus thì không đầy đủ và có chiều dài thay đổi, luôn chồng chéo về kẽ hở (gap) với chuỗi trừ (Hình 17.6). Ở đầu cuối 5' có chứa một primer DNA mũ bảo tồn ngắn và polymerase virus được gắn với đầu 3' có thể thay đổi được. Sau khi thâm nhiễm, việc tổng hợp hệ gen chuỗi kép một phần này được hoàn tất, đồng thời có việc loại bỏ RNA primer. Ba RNA khác nhau có thể được sao chép từ hệ gen virus. Chúng mã hóa cho HBcAg, HBsAg và một isoform tiết ngắn hơn của protein cùng tên là HBcAg, protein TP và protein điều hòa HBx.

Sau khi  hấp thụ vào thể tiêu hóa nội bào (endosome), capsid virus trốn vào trong nhân, ở đó nó được đóng gói để nhân đôi và bắt đầu sao chép (Hình 17.7). Như một quy luật, hệ gen DNA vẫn tiếp tục là episome mặc dù đôi khi cũng hợp nhất vào trong DNA vật chủ, thường do sự tái tổ hợp liên quan đến đoạn chuỗi đơn (Hình 17.6) của hệ gen. Sự nhân đôi xảy ra thông qua RNA trung gian. RNA trung gian này cũng giống như tất cả các RNA virus khác, nó được tổng hợp bởi RNA polymerase của vật chủ. Sau đó nó sử dụng chính polymerase của HBV, một tổ hợp của transcriptase ngược/DNA

polymerase với hoạt tính Rnase H để tạo ra chuỗi trừ và chuỗi cộng của hệ gen. Phân tử polymerase liên kết cộng hóa trị ở đầu 5' này "phục vụ" cho chính chuỗi thứ nhất và primer RNA mũ được sử dụng cho chuỗi thứ 2. Hệ gen có chứa 2 lặp điều khiển ngắn, nó được dùng để chuyển đổi khuôn, tương tự như ở các retrovirus.

Sự nhân rộng và sao chép của HBV xảy ra đồng thời. Việc sao chép được kích thích bởi một enhancer đặc hiệu gan trong hệ gen virus, đáp ứng cho glycocorticoid và với một mức độ thấp hơn với các androgen. Khi đã tổng hợp đủ lượng protein virus thì hệ gen được đóng gói vào capsid và virus lắp ráp vào màng lưới nội chất. Các hạt virus hoàn hảo và chưa hoàn hảo được tiết ra qua con đường Golgi.

HBV thường không gây dung giải tế bào. Sự chết của các TB gan trong quá trình thâm nhiễm chủ yếu là do các TB lympho gây độc tế bào (các tế bào T - $CD8^+$), dường như là tác động bởi con đường FAS/FAS-ligand. Trong quá trình thâm nhiễm mạn tính, có liên quan các tế bào NK. Sự thâm nhiễm cấp kéo dài vài tuần sau đó kết thúc, khi đó bệnh nhân phát triển đủ hiệu giá kháng thể IgG kháng lại các kháng nguyên bề mặt và lõi của virus. Sự phát triển tính miễn dịch bị cản trở do việc tiết ra HBeAg và các hạt virus không hoàn hảo. Những trẻ nhỏ và một số người khác không đủ thẩm quyền miễn dịch thì không đáp ứng đủ IgG với bất kỳ đáp ứng miễn dịch nào và sự thâm nhiễm trở thành mạn tính, đôi khi không thấy triệu chứng nhưng thường phát triển xơ gan và cuối cùng là HCC. Sự truyền từ mẹ sang con là con đường quan trọng, đặc hiệu với HBV.




***Hình 17.7*** *Đại cương về chu kỳ sống của HBV*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Việc điều trị thâm nhiễm HBV đôi khi đạt được nhờ interferon α và β, nó kích hoạt các đáp ứng bên trong tế bào do vậy mà ức chế sự nhân lên của virus. Tuy nhiên, biện pháp bảo vệ tốt nhất kháng lại HBV là tiêm chủng với HBsAg được sản xuất từ nấm men. Vaccine này phòng ngừa được cả cho những bệnh cấp và mạn tính. Điều quan trọng là chúng ta cũng chỉ biết được một số virus động vật có liên quan và HBV ở người và các thí nghiệm trên khỉ. Đây là vấn đề rất cần thiết trong việc loại trừ virus.

Vậy ở HBV có cái gì làm nó có thể thúc đẩy một cách đặc hiệu carcinoma tế bào gan? Thực sự rõ ràng là không có gì nhiều hơn các yếu tố đã đề cập, ví dụ như tăng tỷ lệ chết, tái sinh và thâm nhiễm tế bào gan với tu sửa mô. Có 2 yếu tố khác nữa đang gây tranh cãi:

**(1)** Nhiều HCC nảy sinh ở các bệnh nhân nhiễm HBV có mang HBV DNA hợp nhất trong hệ gen của họ. Những bản sao này thường là không hoàn hảo và mất thẩm quyền sao chép (thậm chí cả khi chúng có thể được cắt từ hệ gen để trở thành một thể episome). Trong số hiếm các trường hợp chúng được hợp nhất thành một gen tiền ung thư như gen cyclin và có thể dẫn đến sự biểu hiện quá mức của nó thông qua sự tác động của enhancer virus. Trong số hiếm các trường hợp khác, sự hợp nhất virus có thể làm gián đoạn các gen kiềm chế khối u. Cũng có bằng chứng cho thấy những sự hợp nhất đó là không ổn định và nó hỗ trợ cho việc sắp xếp lại NST, tạo nên một kiểu "vị trí gãy" phụ. Hiệu ứng này có thể gắn liền với sự hợp nhất của nhiều virus ngoài HBV.

**(2)** Khác hơn với hệ gen episome, các hợp nhất HBV có xu hướng biểu hiện với số lượng đáng kể HBx. Đây là một protein điều hòa có thể kích hoạt các promoter TB, mặc dầu nó không liên kết với DNA. Người ta cho rằng HBx trong cách thức này đã làm tăng biểu hiện các protein kháng apoptosis trong quá trình thâm nhiễm mạn tính và cấp tính. HBx cũng có thể kích hoạt tăng sinh TB do sự tương tác với enzyme PKC. Chắc chắn là, HBx gắn với TP53 và thúc đẩy sự phân giải của nó giống như protein HPV E6. Tuy nhiên, hiệu ứng của nó thì kém hơn E6. Trên thực tế, ở các khu vực địa lý mà cả HBV và HCC đều là đặc hữu thì chúng sẽ là chất đồng sinh ung thư. Ở châu Phi nhiệt đới và châu Á chất đồng sinh ung thư có khả năng là aflatoxin B1, thường gây nên các đột biến đặc hiệu G→T ở codon 249 của TP53. Có khả năng đây là đột biến đặc biệt không chỉ được chọn lọc bởi sự tác động của các chất gây đột biến vì nó cũng bổ sung tối ưu cho hiệu ứng của HBx.

***TÓM TẮT***

❖ *Ung thư gan là một trong những u ác tính gây chết người trên toàn thế giới. Dưới type về tổ chức học chủ yếu là carcinoma TB gan bắt nguồn từ các TB gan, nổi bật là dạng TB biểu mô ở gan và thường vẫn duy trì các marker hình thái và hóa sinh của sự biệt hóa TB gan.*

❖ *Như một quy luật, carcinoma TB gan phát triển trong bối cảnh bị viêm nhiễm mạn tính và xơ gan do các virus viêm gan, HBV hoặc HCV, do lạm dụng rượu mạn tính hoặc hiếm hơn là do các bệnh di truyền như bệnh nhiễm sắc tố sắt (hemochromatosis). Các chất gây ung thư hóa học như aflartoxin B1 từ mốc Aspergillus flavus tác động hiệp đồng với các nguyên nhân viêm nhiễm, đặc biệt là với nhiễm HBV mạn tính. Aflatoxin gây đột biến G→T ở codon 249 của TP53.*

❖ *Ngoài việc làm gián đoạn mạng lưới TP53, những biến đổi di truyền và erpigenetic ở carcinoma TB gan gây bất hoạt điều hòa chu kỳ TB bởi RB1 và tạo nên hoạt tính kiến tạo con đường tín hiệu WNT, phổ biến nhất là do các đột biến của β-catenin và hiếm hơn là do bất hoạt axin 1 và APC. Hoạt hóa con đường WNT có thể trầm trọng thêm do mất E-cadherin.*

❖ *Một số yếu tố tăng trưởng và các receptor của chúng kiểm soát sự tăng sinh và tái tạo TB gan cũng liên quan đến sự tăng trưởng và sống sót của carcinoma TB gan do các cơ chế cận tiết và tự tiết. Ngoài việc kích hoạt sự quay vòng HGF/MET và TGFα/ERBB1, một sự thay đổi đặc biệt quan trọng có thể bao gồm cả việc nâng cao kích thích do yếu tố giống insulin IGF2 thông qua receptor tyrosine kinase IGF1R, trong khi receptor "người hốt rác"(scavenger) IGFRII có thể trở nên bất hoạt.*

❖ *Vai trò quan trọng của HBV trong sinh ung thư gan chủ yếu là do việc phá hủy TB gan liên tục bởi các tế bào T nhằm loại trừ sự thâm nhiễm và sự "tràn đầy" của chúng từ các TB biệt hóa và sau nữa là các tế bào gốc của gan. Quá trình biến đổi này có thể chọn lọc ra được các tế bào biến đổi di truyền có giảm đáp ứng với virus và các tín hiệu apoptosis. Tăng stress oxy hóa trong các mô viêm nhiễm có thể góp phần vào việc sinh đột biến, đồng thời làm tăng áp lực chọn lọc. Ức chế chức năng của TP53 do protein virus HBX có thể trợ giúp cho việc điều hòa xuống apoptosis trong những giai đoạn sớm của sinh ung thư và cho phép tích tụ các TB có hệ gen bất thường. Vì thế nên việc hợp nhất của các hệ gen virus có thể làm thúc đẩy sự bất ổn định hệ gen.*

❖ *Điều quan trọng là, trong khi thiết lập các sự chọn lựa trị liệu HCC vẫn bị hạn chế thì việc tiêm chủng kháng lại HBV và điều trị kháng virus HCV dường như là có thể có hiệu quả trong việc phòng ngừa bệnh ung thư này.*

# CHƯƠNG XVIII: UNG THƯ PHỔI

## 18.1. MỞ ĐẦU

Ung thư phổi là một trong những bệnh ác tính phổ biến nhất và là nguyên nhân hàng đầu dẫn đến tử vong trên toàn thế giới với ước tính hàng năm trên 1,3 triệu người. Tỷ lệ mắc bệnh và tử vong của ung thư phổi (UTP) đã trở thành "dịch" ở thế giới Phương Tây thế kỷ 20. Phần lớn các bệnh nhân ung thư phổi không thể hoạt động được hoặc phổ biến là bệnh tại thời điểm được chẩn đoán đã hiển thị sự mất nhạy cảm đáng kể đối với hóa trị và xạ trị. Hơn 85% trong tổng số các bệnh nhân, cuối cùng đều chết và tỷ lệ tỷ vong này không thay đổi đáng kể trong 3 thập kỷ qua. Mặc dầu đã có những cải thiện về mặt trị liệu, nhưng tỷ lệ sống sót sau 5 năm chỉ tăng nhẹ từ 7 đến 14% kể từ những năm 1970 đến nay. Hơn nữa, ung thư biểu mô phổi (lung carcinoma) chiếm gần 29% tổng số các trường hợp tử vong liên quan đến ung thư ở cả 2 giới, vượt quá cả tổng số tử vong của 3 ung thư hàng đầu là ung thư vú, ung thư đại tràng và ung thư tuyến tiền liệt.

Người ta tin rằng, khói thuốc là tác nhân gây bệnh trong hơn 80% bệnh nhân UTP. Các yếu tố nguy cơ khác cũng không ngoại trừ hút thuốc lá thụ động, tiếp xúc với ô nhiễm môi trường, các bệnh nghề nghiệp liên quan đến các chất hóa hoc (arsen, amian, chrome và vinyl chloride) và khí radon phóng xạ tự nhiên. Những khuynh hướng di truyền, đặc biệt là tính đa hình của các gen kiềm chế khối u và các biến thể allele của các gen liên quan đến sự giải độc có liên quan đến tính nhạy cảm của bệnh.

Dựa trên phân loại mô bệnh học (WHO 1977) thì ung thư phổi được chia thành 2 loại chính: UTP không TB nhỏ (non-small cell –NSCLC) và UTP tế bào nhỏ ( small-cell cancer –SCLC), được xác định bởi các đặc điểm sinh học và lâm sàng. Hơn nữa, NSCLC lại bao gồm một số dưới type (subtype), nổi bật là ung thư tuyến (adenocarcinoma), carcinoma TB vảy và carcinoma TB lớn (large-cell carcinoma). SCLC là một thực thể bệnh lý lâm sàng riêng biệt với các đặc trưng sinh lý bệnh thần kinh nội tiết (neuroendocrine) và hình thái học hiển vi đặc trưng. SCLC đại diện cho khoảng 20% tổng số ung thư phổi. Sự khác biệt về mô học giữa NSCLC và SCLC là cực kỳ quan trọng về mặt lâm sàng. Có những sự khác biệt đáng kể giữa 2 nhóm về cách tiếp cận với trị liệu và tiên đoán bệnh. Gần đây, việc phân loại phân tử ung thư phổi (carcinoma) đã được thực hiện nhờ việc sử dụng sự biểu hiện của mRNA bằng công nghệ microarray.

## 18.2. SINH HỌC PHÂN TỬ UNG THƯ PHỔI

Nói chung người ta thường chấp nhận rằng, sự phát sinh ung thư người có liên quan đến sự tích tụ nhiều bất thường phân tử theo thời gian. Những biến đổi đó dẫn đến việc thu nhận được các khả năng tế bào học, có thể được phân thành 6 bộ (set) chức năng như sau: a/ tự túc (self-sufficiency) các tín hiệu tăng trưởng do những đột biến trong các gen tiền ung thư tới ung thư, b/ mất nhạy cảm với các tín hiệu kháng tăng sinh do kết quả của các đột biến gây ảnh hưởng đến các gen kiềm chế khối u, c/ sự lẩn tránh apoptosis do điều hòa lên các phân tử kháng apoptosis hoặc điều hòa xuống các phân tử tiền apoptosis, d/ tiềm năng sao chép không giới hạn do kích hoạt telomerase, e/ duy trì sự tạo mạch và f/ khả năng xâm lấn mô và khả năng lấn tới những vị trí ở xa (di căn). Những biến đổi phân tử có thể xảy ra ở mức điều hòa gen lên hoặc xuống, biến đổi trình tự DNA (đột biến điểm), mất tính dị hợp tử (tức là bị xóa đi một bản sao trình tự DNA của allele), khuếch đại các đoạn DNA hoặc toàn bộ nhiễm sắc thể có thể thu được hoặc mất đi tính bất ổn hệ gen một cách đồng thời cũng như những thay đổi ở DNA microsattelite.

Những tiến bộ trong sinh học phân tử và di truyền học, bao gồm công nghệ microarray hiện đại và các kỹ thuật giải trình tự nhanh đã kích động đáng kể những tiến bộ trong việc làm sáng tỏ cơ chế bệnh sinh của UTP. Nhiều nghiên cứu cho thấy, rõ ràng là có trên 20 biến đổi di truyền và epigenetic khác nhau đã được tích lũy trong quá trình sinh bệnh của UTP đã rõ ràng về lâm sàng, đó là một quá trình phân dòng với nhiều bước. Như vậy, cho đến nay hầu hết các biến đổi đã được phát hiện là các đột biến bất hoạt và mất các gen kiềm chế khối u cũng như biểu hiện quá mức các gen ung thư thúc đẩy tăng trưởng. Gần đây hơn, sự bất hoạt epigenetic thu được của các gen kiềm chế khối u do cường methyl hóa đã được phát hiện. Những bất thường di truyền dòng đầu (early clonal genetic abnormalities) xảy ra ở biểu mô phế quản tiền ung thư bị tổn hại do hút thuốc hoặc các gen sinh carcinoma khác (carcinogene) đã được xác định. Những sự phân biệt phân tử giữa SCLC và NSCLC cũng như giữa các khối u có khác nhau về kết quả lâm sàng cũng đã được mô tả. Những khảo sát này dẫn đến các "dấu hiệu ung thư phổi". Thực tế người ta mong đợi về những khảo sát dựa trên cơ sở nuôi cấy tế bào và phân tử dẫn đến các phát hiện về những áp dụng mới trong lâm sàng với tiềm năng tạo ra các phương pháp mới cho việc chẩn đoán, đánh giá nguy cơ, phòng ngừa và quan trọng nhất là những cách tiếp cận trị liệu hiệu lực hơn cho các bệnh nhân ung thư phổi.

## 18.3. NHỮNG GEN GÂY UNG THƯ PHỔI

### ❑ *KRAS*

KRAS là một thành viên của họ các tiền gen ung thư RAS (bao gồm KRAS, NRAS và HRAS ở người) và mã hóa cho một protein G có vai trò quan trọng trong việc

*kiểm soát con đường tuyền tín hiệu* điều hòa sự tăng sinh, sự biệt hóa và sự sống sót của tế bào. Protein RAS được liên kết với guanosine diphosphate (GDP) và là bất hoạt trong các TB yên lặng bình thường. Có một sự chuyển đổi nhằm kích hoạt dạng liên kết guanosine triphosphate (GTP) sau khi hoạt hóa các receptor yếu tố tăng trưởng thượng nguồn. Các phân tử Ras-GTP kích hoạt sau đó liên kết và hoạt hóa một số con đường hạ nguồn bao gồm con đường protein kinase hoạt hóa phân bào (mitogen-activated protein kinase –MAPK), con đường RAS/RAF/MEK/MAPK và con đường PI3-K [PI3-K/AKT/ đích động vật có vú của rapamycin (mammalian target of rapamycin [mTOR]). KRAS giữ vai trò quan trọng trong việc truyền tín hiệu hạ nguồn được cảm ứng bởi hàng loạt các receptor yếu tố tăng trưởng bao gồm EGFR và sự kích hoạt cấu thành protein làm phá vỡ sự cần thiết đối với các tín hiệu được trung gian bởi yếu tố tăng trưởng. Khi các đột biến được kích hoạt nó sẽ làm thay đổi hoạt tính GTPase của protein gây trở ngại cho sự bất hoạt của RAS-GTP hoạt hóa, dẫn đến tăng tín hiệu thông qua nhiều con đường thúc đẩy tăng trưởng hạ nguồn. Thác truyền tín hiệu RAS/RAF/MEK/MAPK giữ vai trò trung tâm trong nhiều ung thư phổi với ít nhất một đột biến trong con đường đã được xác định ở 132/188 khối u, trong đó phổ biến nhất là các đột biến ở KRAS.

Kích hoạt các đột biến trong gen gây ung thư KRAS là sự biến đổi gây ung thư phổ biến nhất ở ADC phổi, xảy ra với khoảng 25-40% các trường hợp, trong khi các đột biến HRAS và NRAS lại rất hiếm. Sự khác biệt về tỷ lệ đột biến KRAS trong ADC phổi rất có thể liên quan đến các quần thể bệnh nhân khác nhau vì đột biến KRAS phổ biến hơn ở các quần thể Phương Tây nếu so sánh với quần thể châu Á và thường là ở nam giới và những người hút thuốc lá. ADC ở những người không hút thuốc đã có báo cáo là có chứa đột biến KRAS vào khoảng giữa 0 và 15% các trường hợp. Ngoài ra, đột biến KRAS lại rất hiếm hoặc không có trong SCC và ung thư phổi tế bào nhỏ. Phân tích di truyền toàn diện 188 trường hợp SCC xác định chỉ có 1 đột biến KRAS ở codon 61. Những đột biến KRAS ở adenocarcinoma phổi bao hàm sự thay thế một amino acid đơn tại các điểm nóng định vị chủ yếu ở codon 12, nhưng cũng hiếm hơn ở codon 13 và 61. Các đột biến phổ biến nhất ở KRAS là sự chuyển đổi G thành T (khoảng 84%) ở người hút thuốc, trong khi người không hút thuốc có nhiều khả năng có sự chuyển đổi G thành A.

Phù hợp với vai trò của các biến đổi KRAS với tư cách là các đột biến "cầm lái" (driver), việc chúng xảy ra không liên hệ gì với các đột biến EGFR, mặc dầu cũng có những trường hợp ngoại lệ. Một phân tích đã chỉ rõ, các khối u đột biến KRAS kháng lại các chất ức chế EGFR tyrosine kinase (TKI) vì các đột biến KRAS đã dẫn đến kích hoạt cấu thành các con đường hạ nguồn của EGFR. Có bằng chứng cho thấy, các protein đột biến KRAS khác nhau  có sự khác nhau về ý nghĩa lâm sàng. Điều thú vị là, nhờ sử dụng các dữ liệu từ thử nghiệm BATTLE, hoặc KRAS đột biến G12C hoặc G12V đã dự đoán được sự sống sót là ngắn hơn so với các đột biến KRAS khác hoặc

KRAS dạng hoang dã. Hơn nữa, việc thay thế các amino acid khác nhau cũng liên quan đến việc kích hoạt các con đường khác nhau (PI3-K và MEK với gly12Asp và Ral với Gly12Cys hoặc Gly12Val đột biến) vì các protein khác nhau về cấu hình do các biến đổi đặc hiệu dẫn đến thay đổi khả năng liên kết với các trung gian (mediator) protein hạ nguồn. Điều này nhấn mạnh rằng, việc sử dụng thích hợp các liệu pháp đích và các thiết kế thử nghiệm lâm sàng cần phải được đánh giá một cách thận trọng về ý nghĩa lâm sàng cũng như việc xử lý các biến đổi di truyền đặc hiệu trong ung thư phổi. Tần số các đột biến KRAS trong ung thư phổi cao làm cho nó trở thành một đích trị liệu lý tưởng. Tuy nhiên, các thử nghiệm lâm sàng gần đây vẫn làm người ta thất vọng.

❑ ***EGFR***

Sự biến đổi của EGFR có liên quan đến bệnh sinh học của nhiều khối u, bao gồm cả NSCLC. Gen EGFR mã hóa cho một domain tyrosine kinase vận chuyển màng. Sự liên kết của các ligand yếu tố tăng trưởng bì dẫn đến receptor homo hóa hay heterodimer hóa với các thành viên khác của họ EGFR và hoạt hóa domain tyrosine kinase. Việc truyền tín hiệu được kích thích bởi EGFR xảy ra thông qua con đường tín hiệu PI3-K/AKT/mTOR; RAS/RAF/MAPK và JAK/STAT. EGFR có liên quan đến sự điều hòa nhiều chức năng ung thư như sự tăng sinh, sự sống sót và biệt hóa tế bào, sự tạo mới mạch, sự xâm lấn và di căn. Do kích hoạt các đột biến ở EGFR mà dẫn đến kích hoạt cấu thành tyrosine kinase và biến nạp sinh ung thư các tế bào biểu mô phổi *in vitro*. Một mô hình chuột biến đổi gen với các biểu hiện cảm ứng các đột biến EGFR phổ biến nhất cho thấy, sự phát triển của nhiều ADC phổi rất nhạy cảm với sự ức chế phân tử nhỏ. Các cơ chế khác của tăng tín hiệu EGFR bao gồm tăng biểu hiện protein hoặc tăng số lượng bản sao gen.

Sự kích hoạt các đột biến EGFR đã được báo cáo với khoảng 10 đến 15% bệnh nhân phương Tây không chọn lọc và 30-40% các quần thể châu Á. Sự khác biệt trong các báo cáo về tỷ lệ các đột biến có thể liên quan phần nào đến các quần thể khác nhau, nhưng cũng còn phụ thuộc vào độ nhạy của các kỹ thuật phân tích đột biến được sử dụng trong các nghiên cứu khác nhau. Ở NSCLC, những đột biến EGFR xảy ra đầu tiên ở 4 exon của domain tyrosine nội bào, thông thường nhất là exon 19 trong khung xóa (frame deletion) (khoảng 45%), trong đó có trên 20 biến thể, phổ biến nhất là delE746-A750. Các đột biến RGFR phổ biến tiếp theo là các đột biến sai nghĩa (missense), đặc biệt là L858R, một đột biến điểm nucleotide đơn ở exon 21 dẫn đến việc thay đổi một amino acid đơn từ leucine thành arginine ở codon 585 (khoảng 40%). Tuy nhiên, người ta cũng phát hiện được ở các quần thể Australia là những đột biến kích hoạt của exon 18 đã kiến tạo được 14% đột biến EGFR ở các bệnh nhân ung thư phổi giai đoạn sớm và các đột biến L585R chỉ chiếm 29% các đột biến EGFR hiện diện trong nhóm này. Ngoài ra còn có một loạt các đột biến ít gặp hơn, bao gồm cả nhân đôi khung (frame

duplication) hoặc chèn thêm vào exon 20 (khoảng 5 đến 10%), trong đó có rất nhiều biến thể thường liên quan tới việc kháng lại EGFRTKI.

Trong UTP, hầu hết các đột biến EGFR xảy ra ở ADC mặc dầu cũng có thể được phát hiện trong adenosquamous carcinoma. Đột biến trong EGFR là khá phổ biến chứ không phải là độc nhất phát hiện thấy ở các bệnh nhân là nữ trẻ và không có tiền sử hút thuốc. Các đột biến EGFR rất hiếm xảy ra trong các mẫu mô học thuần SCC. Tuy nhiên, phân tích hệ gen toàn diện của 188 SCC đã xác định được 2 đột biến EGFR ở 2 trường hợp, cả 2 đều với đột biến L861G. Trong khi các đột biến EGFR rất hiếm ở SCC thì biến thể đột biến III lại liên quan đến domain ngoại bào của EGFR và số bản sao thu được cũng như sự biểu hiện quá mức protein thì ở SCC lại phổ biến hơn ở ADC.

Những đột biến thứ cấp ở EGFR được phát triển hoặc được chọn lọc dòng ở các bệnh nhân phát triển khả năng kháng lại EGFRTKI, phổ biến nhất là đột biến điểm kích hoạt T790M ở exon 20, nó thay thế một methionine "cồng kềnh" bằng threonine điều đó đã làm trở ngại cho việc liên kết thuận nghịch TKI. T790M được phát hiện vào khoảng 50% các khối u từ các bệnh nhân phát triển sự đề kháng thu được với TKI. Điều thú vị là, người ta đã quan sát thấy rằng, những đột biến của exon 20 bao gồm cả các đột biến T790M liên quan đến kháng trị liệu đối với EGFR TKI đã thấy ở 29% bệnh nhân có các đột biến EGFR trong một nhóm trị liệu tự nhiên. Kích hoạt con đường hạ nguồn mà bỏ qua sự ức chế EGFR cũng góp phần kháng lại EGFR TKI, bao gồm cả sự kích hoạt con đường PI3 K thông qua sự khuếch đại của MET.

❑ ***BRAF***

BRAF mã hóa cho một protein serine/threonine kinase, đó là một protein hiệu ứng (effector) hạ nguồn của KRAS và việc kích hoạt con đường dẫn truyền tín hiệu MAPK có liên quan đến sự điều hòa tăng sinh và sống sót của TB. Sau khi kích hoạt, BRAF sẽ phosphoryl hóa các trung gian (mediator) hạ nguồn MEK1 và MEK2 sau đó kích hoạt ERK1 và ERK2, liên quan đến điều hòa các protein điều tiết tăng trưởng như c-JUN và ELK1. Khi kích hoạt các đột biến ở BRAF sẽ dẫn đến gia tăng hoạt tính kinase, biểu lộ hoạt tính biến nạp *in vitro*.

Trong khi kích hoạt các đột biến BRAF là phổ biến trong melanoma thì chỉ có 3% xảy ra ở NSCLC. Các đột biến trong NSCLC khác với các đột biến trong melanoma carcinoma trực kết tràng với tỷ lệ thấp hơn các đột biến V600E ảnh hưởng tới domain kinase của protein này. Trong ADC phổi, các đột biến V600E ở exon 15 chiếm khoảng 50% các đột biến BRAF, tiếp sau là G469 ở exon 11 và D594 ở exon 15. Một số đột biến BRAF ở NSCLC xảy ra ở domain kinase (như V600E, D594G, và L596R), trong khi đó các đột biến khác lại xảy ra ở vòng G của domain kích hoạt gen ( như G465V và G468A). Vì gen BRAF và KRAS là một bộ phận của con đường tín hiệu qua trung gian EGFR nên chẳng có gì ngạc nhiên là những đột biến tại những gen này gần như loại trừ

lẫn nhau, phù hợp với con đường hạ nguồn thông thường đối với biến nạp. Các đột biến BRAF trong UTP hầu như luôn xảy ra ở ADC. Các đột biến non-V600E BRAF đều liên quan đến thuốc lá hiện tại hay trước đây, trong khi đó các đột biến V600E thì phổ biến hơn ở những phụ nữ không hút thuốc. Tuy không phổ biến, nhưng các đột biến BRAF cũng đại diện cho một đích trị liệu quan trọng, vì nó có hiệu lực đối với trị liệu đích lâm sàng đã được sử dụng trong melanoma mặc dù mới chỉ đạt được một cách hạn chế các dữ liệu.

❑ ***MEK***

MET (còn gọi là MAPK1) là một kinase serine-threonine có chức năng quan trọng với tư cách là đích hạ nguồn của sự kích hoạt RAS. METK1 kích hoạt hạ nguồn MAPK2 và MAPK3 của BRAF. Hiếm các trường hợp có đột biến soma của MEK1 được báo cáo trong NSCLC, với 2/107 ADC phổi chỉ phát hiện thấy 1 đột biến kích hoạt ở exon 2 nhưng không liên quan gì đến domain kinase. Các đột biến là độc quyền của các đột biến driver khác và có liên quan đến tăng chức năng *in vitro*.

❑ ***MET***

Gen tiền ung thư MET định vị trên nhiễm sắc thể 7q21-q31 mã hóa cho một tyrosine kinase màng còn được gọi là receptor yếu tố tăng trưởng TB gan. Khi gắn với ligand yếu tố tăng trưởng TB gan của nó thì có sự homodimer hóa receptor, hoạt hóa kinase và tín hiệu thông qua con đường hạ nguồn bao gồm RAS/RAF/MEK/MAPK, PI3K/AKT và c-SRC kinase. Trong NSCLC thì MET bị biến đổi do sự khuếch đại gen với khoảng 1-7% bệnh nhân được điều trị một cách tự nhiên, nhưng trong một nghiên cứu về sự khuếch đại đã phát hiện được ở 21% bệnh nhân. Tăng số lượng bản sao ở SCC có thể phổ biến hơn ở ADC và có sự loại trừ lẫn nhau với các đột biến KRAS. Sự khuếch đại MET làm biểu hiện quá mức protein MET và kích hoạt con đường truyền tín hiệu hạ nguồn. Hoạt tính sinh ung thư của MET đã được chứng minh *in vitro* với các bằng chứng khuếch đại gen liên quan đến sự phosphoryl hóa receptor cấu thành, hoạt hóa con đường PI3K/AKT và nhạy cảm với việc ức chế MET. Sự khuếch đại MET được hiểu như là một cơ chế EGFR-TKI thứ cấp kháng lại sự chuyển đổi kinase này xảy ra với khoảng 20% bệnh nhân có sự đề kháng. Trong kịch bản này, sự khuếch đại MET đã điều khiển và duy trì con đường PI3K/AKT bỏ qua được sự phong tỏa EGFR bởi các TKI, điều đó chứng tỏ rằng, sự ức chế đồng thời MET có thể là một cách để khắc phục sự kháng lại TKI. Các đột biến của MET cũng xảy ra khác thường với khoảng 3-5% ở ADC.

❑ ***HER2***

Gen receptor yếu tố tăng trưởng bì 2 của người (human epidermal growth factor receptor 2) (HER2/ERBB2) mã hóa cho một tyrosine kinase receptor liên kết màng là một thành viên của họ các receptor ERBB, cùng với EGFR. Không giống như các

receptor ERBB khác, nó không gắn trực tiếp với ligand nhưng có thể hình thành các heterodimer với các thành viên liên kết ligand khác của họ receptor này. Sự kích hoạt dẫn đến tín hiệu thông qua hàng loạt các con đường truyền tín hiệu bao gồm con đường PI3K, MAPK và JAK/STAT. Việc kích hoạt HER2 xảy ra ở một số nhỏ các UTP với sự biểu hiện quá mức vào khoảng 20% các trường hợp, khuếch đại gen 2% và đột biến kích hoạt với 1,6-4% của NSCLC. Các đột biến kích hoạt của HER2 là ở exon 20 trong khung chèn của 3-12 cặp base. Có bằng chứng *in vivo* về hoạt tính sinh ung thư của HER2 với nhiều adenosquamous carcinoma phát triển trong một mô hình chuột chuyển gen biểu hiện HER2 đột biến và biểu lộ sự nhạy cảm đối với ức chế phân tử nhỏ. Các biến đổi của HER2 xảy ra chủ yếu ở ADC và các đột biến xảy ra ở các khối u đều là các dạng hoang dã của EGFR và KRAS và trong một số nghiên cứu thì nó có liên quan tới nữ giới, các dân tộc châu Á và các trạng thái không hút thuốc, tương tự như các số liệu lâm sàng của các khối u do đột biến EGFR.

❑ ***PI3K/AKT/mTOR***

Con đường PI3K/AKT/mTOR là con đường truyền tín hiệu quan trọng có liên quan tới việc điều hòa tăng sinh, sự sống sót, sự khác biệt về bám dính và khả năng vận động của TB. Những thay đổi của con đường này liên quan cả với NSCLC và carcinoma tế bào nhỏ. Con đường này được kích hoạt thông qua sự hoạt hóa hàng loạt các receptor tyrosine kinase màng bao gồm EGFR, HER2, receptor yếu tố tăng trưởng giống insulin, receptor yếu tố tăng trưởng nội mô mạch và receptor yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu. Khi kích hoạt receptor tyrosine kinase sẽ dụ PI3K tới màng tế bào, ở đó nó phosphoryl hóa PIP2 thành PIP3 [phosphatidylinositol 4,5 biphosphate (PIP2) thành phosphatidylinositol 3,4,5 triphosphate]. Đến lượt mình, PIP3 lại chiêu mộ serine threonine kinase AKT tới màng, ở đó nó lại bị phosphoryl hóa bởi kinase 1 phụ thuộc 3-phosphoinositide (PI3 kinase) và mTOR. mTOR - một serine/threonine kinase là đích hạ nguồn của AKT. Đến lượt mình AKT lại kích hoạt nhiều đích bao gồm cả xơ cứng củ 2 (tuberous sclerosis 2) và Bcl-2 liên quan đến promoter chết đối với sự tăng sinh và sự sống sót của tế bào. Ngoài ra còn có sự tương tác với các con đường khác bao gồm RAS/RAF/MEK (Rat sarcoma/rapidly accelerated fibrosarcoma/MAK hoặc ErK kinase) với RAS có khả năng kích hoạt trực tiếp PI3K.

Con đường PI3K/AKT/mTOR thường bị mất điều hòa trong nhiều ung thư với 50-70% NSCLC. Những biến đổi quan trọng liên quan đến con đường PI3K đã được xác định trong 47% SCC trong dự án Atlas hệ gen ung thư. Kích hoạt con đường sinh ung thư phổi (lung carcinogenesis) xảy ra thông qua hàng loạt cơ chế, bao gồm các đột biến kích hoạt EGFR, KRAS, PI3K hoặc AKT cũng như khuếch đại PI3KCA hoặc mất điều hòa âm do gen kiềm chế khối u PTEN.

Họ protein PI3K (phosphatidylinositol 3- kinase) là các kinase lipid nội bào và tiểu đơn vị xúc tác chính – isoform của p110 alpha được mã hoá bởi gen PIK3CA. Các đột biến kích hoạt và sự khuếch đại của PIK3CA gây nên sự kích hoạt con đường độc lập ligand cấu thành. Các đột biến PIK3CA liên quan chủ yếu đến domain xúc tác và xác định được vào khoảng 1-3% NSCLC và ở SCC thì phổ biến hơn so với ADC. Không giống như hầu hết các đột biến driver sinh ung thư, các đột biến PIK3CA có thể xảy ra cùng với các đột biến EGFR hoặc KRAS, điều đó cho thấy chúng có thể không đại diện cho các đột biến driver thực sự. Tuy nhiên, các nghiên cứu *in vitro* về các dòng TB ung thư phổi có các đột biến PIK3CA hoặc tăng số lượng bản sao đã chỉ ra rằng, việc tăng hoạt tính của PI3 kinase rất nhạy cảm với sự ức chế phân tử nhỏ và trong các mô hình chuột *in vivo* có biểu hiện đột biến PIK3CA phát triển ở nhiều ADC, chứng tỏ đã thể hiện hoạt tính sinh ung thư. PIK3CA cũng có thể được khuếch đại trong NSCLC, đặc biệt là trong SCC và việc tăng số bản sao của PIK3CA đã được báo cáo chiếm khoảng gần 5% các dòng TB carcinoma tế bào nhỏ. Mặc dầu là hiếm, nhưng sự hoạt hóa con đường PI3K/AKT/mTOR cũng có thể xảy ra thông qua các đột biến AKT, đã được báo cáo với khoảng 0,5- 2% ở NSCLC, đặc biệt là SCC.

❑ ***ALK***

Sự sắp xếp lại receptor tyrosine kinase ALK là kết quả phổ biến nhất của sự hợp nhất domain kinase nội bào với đầu tận amino của các vi ống động vật da gai (echinoderm microtubule) liên quan đến protein EML4 xảy ra ở một tập hợp nhỏ các ung thư phổi. Sự sắp xếp này là kết quả từ một đảo đoạn ngắn ở nhiễm sắc thể 2p, theo đó trong biến thể phổ biến nhất, intron 13 của EML4 được hợp nhất với intron 19 của ALK{ALK[inv(2) (p21; p230]}. Nhiều biến thể của hợp nhất EML4-ALK đã được xác định do có sự khác nhau về chiều dài của EML4, phổ biến nhất là exon 1-13 của EML4 nối với exon 20-29 của ALK. Gần đây hơn, các gen cặp đôi khác đã được xác định trong một tập hợp nhỏ những sự sắp xếp lại ALK (<1% các trường hợp) bao gồm cả thành viên 5b họ kinesin - KIF5B (kinesin family member 5b), TFG (gen hợp nhất TRK) và KLC1 (chuỗi nhẹ kinesin). Protein liên hợp EML4-ALK gây ung thư có một kinase hoạt hóa cấu thành và có thêm hoạt tính chức năng *in vitro* cũng như *in vivo* ở các mô hình chuột biểu hiện EML4-ALK phát triển nhiều ADC phổi, nhạy cảm với sự ức chế ALK dược lý học. Việc hoạt hóa ALK có liên quan đến tăng sinhTB và ức chế apoptosis qua trung gian RAS/RAF/MAPK1, PI3K/AKT và con đường tín hiệu JAK3-STAT3.

Sự sắp xếp lại ALK đã được xác định vào khoảng 4% NSCLC không chọn lọc, mặc dầu một số nghiên cứu lại phát hiện được với tỷ lệ thấp hơn. Chúng thường được phát hiện trong các ADC từ các bệnh nhân trẻ không hút thuốc hoặc nghiện nhẹ và hầu

như là luôn luôn xảy ra ở các ADC. Trong khi sắp xếp lại ALK thường có sự loại trừ lẫn nhau với các trường hợp đột biến EGFR và KRAS, các trường hợp cùng tồn tại các đột biến EGFR cũng đã được báo cáo và đã cung cấp cho chúng ta một cơ chế về sự kháng lại TKI. Trong khi đó sự ức chế ALK với các chất ức chế tyrosine kinase crizotinib đã tạo ra các đáp ứng sâu, sự kháng thuốc phát triển với các bằng chứng đột biến điểm ALK thứ cấp và sự hoạt hóa tín hiệu EGFR liên quan trong một số trường hợp.

❑ ***ROS1***

ROS1 là một tiền gen ung thư định vị trên nhiễm sắc thể 6q22 mã hóa cho receptor tyrosine kinase vận chuyển màng tương đồng cao với ALK ở domain protein kinase của nó. Hoạt hóa ROS1 dẫn đến tín hiệu thông qua con đường PI3K/AKT/mTOR và RAS/MAPK/ERK. Năm 2007, một sàng lọc qui mô lớn phosphoproteomic về hoạt tính của tyrosine kinase trong UTP đã xác định có sự hợp nhất ROS1 ở dòng tế bào NSCLC (1/14) và một mẫu bệnh nhân (1/150) là (SLC34A2-ROS1 và CD74-ROS1). Sau đó một hợp nhất khung ở một KDELR2-ROS1 mới đã được xác định trong adenocarcinoma từ người không hút thuốc nhờ việc sử dụng công nghệ giải trình tự toàn bộ hệ gen và giải trình tự transcriptome. Trong 2 nghiên cứu lớn sử dụng kỹ thuật FISH đã phát hiện được những sự sắp xếp lại ROS1 ở 18/694 trường hợp ADC (2,6%) và 13/1116 ADC (1,2%). Hàng loạt các cặp đôi hợp nhất 5’ đã được xác định có sự sắp xếp lại ROS1 (bao gồm FIG, KDELR2, TPM3, SDC4, LRIG3, EZR, SLC34A2 và CD74 ) và không biết chắc chắn vai trò của nó là gì, nếu có thì chắc là cặp đôi này sẽ giữ chức năng gây ung thư của kinase hợp nhất. Điều thú vị là, sự sắp xếp lại ROS1 dường như là phổ biến hơn ở những bệnh nhân trẻ không hút thuốc thuộc các dân tộc châu Á tương tự như sự sắp xếp lại ALK. Hơn nữa, đã có các bằng chứng *in vitro* và tiền lâm sàng là các ung thư phổi có sự sắp xếp lại ROS1 rất nhạy cảm với các chất ức chế kinase trong đó có chất ức chế ALK/MET crizotinib.

❑ ***RET***

RET định vị trên nhiễm sắc thể 10q11.2 và mã hóa cho một receptor tyrosine kinase có liên quan đến sự phát triển mào thần kinh. Những biến đổi của RET từ lâu đã được biết đến là đóng vai trò quan trọng trong u nhú và carcinoma tuyến giáp thể tủy (medullary thyroid), nhưng không phải tới tận gần đây mà từ lâu người ta đã chắc chắn rằng sự hoạt hóa RET thông qua việc sắp xếp lại NST đã được xác định với tỷ lệ thấp trong ung thư phổi. Việc chuyển vị đã liên hợp domain RET kinase chức năng từ exon 12-20 với KIF5B (gen 5B họ kenesin), nghĩa là 10Mb từ RET trên nhiễm sắc thể 10 mã cho một domain cuộn (coil domain) liên quan đến việc “giao thông” bào quan. Hợp nhất KIF5B-RET đã được xác định với tỷ lệ 1-2% ADC phổi nhờ việc sử dụng công nghệ giải trình tự song song ồ ạt và cho đến nay đã phát hiện được có sự loại trừ lẫn nhau của

các đột biến driver khác liên quan tới EGFR, KRAS hoặc AKT. Trong một nhóm được chọn lọc kỹ ADC phổi từ những người không hút thuốc hoặc nghiện nhẹ được biết là thể hoang dã đối với các đột biến driver khác (EGFR, KRAS, ALK, HER2, BRAS và ROS10) thì phát hiện thấy 10/159 (6,3%) có sự sắp xếp lại RET. Tương tự như ALK và ROS1, sự sắp xếp lại của RET dường như cũng liên quan đến ADC từ những người không hút thuốc. Quan trọng là có một số chất ức chế đa kinase (multi-kinase inhibitors) lại có hiệu lực kháng lại RET và có các bằng chứng *in vitro* cho thấy các dòng tế bào biểu hiện sự hợp nhất KIF5B-RET rất nhạy cảm với sự ức chế RET.

❑ ***FGFR1***

Khuếch đại gen soma đã được phát hiện trong SCC bao gồm gen SOX, PDGFRA và FGFR1. FGFR1 là t receptor tyrosine kinase màng làm nhiệm vụ điều hòa tăng sinh TB thông qua việc kích hoạt con đường MAPK và PI3K. Sự khuếch đại FGFR1 có hiệu ứng gây ung thư lên các dòng tế bào NSCLC *in vitro* rất nhạy cảm với sự ức chế phân tử nhỏ. Khoảng 20% SCC đã được chứng minh có chứa khuếch đại FGFR1, nhưng sự bất thường này lại không phổ biến trong các ADC.

❑ ***DDR2***

Gần đây, một sàng lọc trình tự toàn bộ kinome của tyrosine đã được thực hiện ở SCC và các đột biến xác định được trong DDR2 là 3,8% tổng số các trường hợp. DDR2 mã hóa cho receptor tyrosine kinase liên kết màng, nó gắn với collagen và tham gia vào việc điều hòa tăng sinh và sự sống sót của TB. Các đột biến của DDR2 liên quan đến hoạt tính sinh ung thư *in vitro* rất nhạy cảm với sự ức chế bởi dasatinib.

## 18.4. GEN KIỀM CHẾ KHỐI U

Các gen kiềm chế khối u là nhân tố điều hòa âm quan trọng đối với sự tăng trưởng bình thường của TB. Mất chức năng gen kiềm chế khối u (tumour suppressor gene - TSG) là một cơ chế quan trọng của sinh ung thư (carcinogenesis), nó đòi hỏi phải bất hoạt cả 2 allele, như đã được nêu trong giả thuyết hích kép (2 hits) của Knudson. Trong một allele thì gen cá lẻ thường bị bất hoạt do đột biến, yên lặng epigenetic hoặc các sai lệch khác, trong khi đó allele thứ 2 thường bị bất hoạt thông qua mất dị hợp tử (loss of heterozygosity - [LOH]), theo đó một vùng của NST bị mất đi do đứt đoạn, chuyển vị không tương hỗ (nonreciprocal translocation) hoặc tái tổ hợp phân bào mitosis. Trong ung thư phổi, các TSG thường bị bất hoạt là TP53, retinoblastoma 1 (RB1), serine-threonine kinase 11(STK11, CDKN2A, FHIT, RASSF1A và PTEN), những gen này thuộc các khu vực NST thường được xác định trong các nghiên cứu LOH. Ví dụ các vùng thường biểu hiện mất allele ở UTP có liên quan đến các TSG được biết như TP53 (17p13), RB (13q12), p16(9p21) và PTEN. Trong một nghiên cứu của Ding và cộng sự

thì các đột biến đã được xác định trong một số TSG, mà trước đây chưa hiểu được vai trò quan trọng trong adenocarcinoma phổi, bao gồm TSGNF1 (liên quan đến u xơ thần kinh type 1) đã bị đột biến trong 13 khối u và *ATM* điều hòa *TP53* (TP53 regulator ATM) trong 13 bệnh nhân.

❑ ***TP53***

TP53 định vị trên nhiễm sắc thể 17p13, mã hóa cho một phosphoprotein nhân 53 kDa và gắn với các vùng DNA bị tổn hại, đồng thời tác động như một yếu tố sao chép, kiểm soát sự biểu hiện của vô số gen khác nhau. Sự tổn hại DNA hay stress gây carcinoma, cảm ứng TP53 dẫn đến dừng chu kỳ tế bào do cảm ứng biểu hiện các chất ức chế kinase phụ thuộc cyclin tạo khả năng cho việc sửa chữa DNA hoặc apoptosis. Bất hoạt TP53 là một trong những bất thường di truyền quan trọng nhất trong UTP có xóa bỏ hemizygous 17p13 (hiện tượng mất một allele), có chứa locus TP53, xảy ra trong 90% carcinoma TB nhỏ và khoảng 65% trong NSCLC. Các đột biến bất hoạt ở TP53 (chủ yếu là các đột biến sai nghĩa [missense] bên trong domain gắn DNA) đã được báo cáo chiếm khoảng 80-100% carcinoma phổi tế bào nhỏ. Ngược lại, một phân tích ở 4000 NSCLC đã phát hiện được những biến đổi do đột biến hay do sự tích tụ protein chỉ chiếm 46,8% các trường hợp, ở SCC phổ biến hơn ADC và có liên quan đến giai đoạn, độ u cao và giới tính nam. Các đột biến TP53 phát hiện được ít nhất là 81% ở SCC nhờ phân tích toàn diện di truyền (một phần trong dự án Atlas hệ gen ung thư – TCGA). Ding và cộng sự đã phát hiện được các đột biến TP53 ở 85/188 ADC (45%), ở NSCLC thì các đột biến TP53 có liên quan đến tiền sử hút thuốc tích cực hoặc tiếp xúc với môi trường khói thuốc lá. Phổ đột biến của các dạng đột biến TP53 khác nhau cũng khác nhau giữa người hút thuốc và không hút thuốc liên quan đến các ung thư có tần số chuyển đổi G thành T cao đáng kể so với chuyển đổi G thành C (được cho là bị cảm ứng bởi các hydrocarbon thơm trong khói thuốc lá) và sự chuyển đổi G thành A ở dinucleotide CpG thì thường thấy ở những người không hút thuốc. Một phân tích khác của 74 công trình nghiên cứu đã chỉ ra rằng p53 bất thường đã được phát hiện qua sự biểu hiện protein hoặc phân tích đột biến là một yếu tố tiên lượng sấu trong NSCLC. Những biến đổi di truyền của TP53 có liên quan tới sự kháng trị liệu. Các đột biến của gen TP53 có thể xảy ra cùng với các đột biến EGFR và KRAS.

❑ ***PTEN***

PTEN mã hóa cho một phosphatase protein và lipid trên nhiễm sắc thể 10 ức chế con đường tín hiệu PI3K/AKT/mTOR do sự dephosphoryl hóa P1-(3,4,5)-triphosphate. Bất hoạt chức năng TSG của PTEN dẫn đến kích hoạt không hạn chế AKT/protein kinase B không phụ thuộc liên kết ligand. Các đột biến PTEN xảy ra rất hiếm, chỉ khoảng 5% ở NSCLC, ở SCC thì phổ biến hơn (10,2%), còn ở ADC là (1,7%) và có

liên quan đến tiền sử hút thuốc lá. Ngược lại, giảm biểu hiện protein cũng được báo cáo với khoảng 75% ở NSCLC.

❑ ***LKB1 (STK11)***

LKB1 (còn gọi là STK11) là một TSG định vị ở nhiễm sắc thể 19p13 mã hóa cho một serine-threonine kinase ức chế mTOR và liên quan đến nhiều quá trình sinh học bao gồm sự điều hòa chu kỳ tế bào, sửa chữa chất nhiễm sắc, phân cực tế bào và chuyển hóa năng lượng. Mất điều hòa các thành phần của con đường mTOR (không bao hàm các đột biến KRAS) đã được báo cáo vào khoảng 30% ở ADC. Các đột biến dòng mầm của LKB1/STK11 xảy ra ở các bệnh nhân có hội chứng Peutz-jegher. Trong ung thư phổi, LKB1 có thể bị ức chế bởi hàng loạt các đột biến soma hay đứt đoạn để sau đó sản xuất ra các protein bị cắt xén với sự bất hoạt LKB1 xảy ra vào khoảng 11-30% ở ADC phổi làm cho nó đứng thứ 3 trong số các bất thường di truyền phổ biến nhất ở ADC phổi, sau TP53 và KRAS. Bất hoạt LKB1 ở ADC phổi phổ biến hơn so với SCC. Có một vài bằng chứng về sự liên quan giữa các đột biến LKB1 và tiền sử hút thuốc ở nam giới và một sự tương quan với các đột biến KRAS cũng đã được báo cáo.

❑ ***Con đường $p16^{INK4A}$-cyclin D1-CDK4-RB***

Con đường $p16^{INK4A}$/RB điều hòa sự tiến triển của chu kỳ tế bào từ phase G1 đến phase S. RB1 là một gen kiềm chế khối u, mã cho protein RB điều hòa chuyển đổi G1/S của chu kỳ tế bào bằng cách gắn với yếu tố sao chép E2F. RB1 là TSG đầu tiên được mô tả trong ung thư phổi và bị bất hoạt khoảng 90% ở carcinoma phổi tế bào nhỏ, nhưng chỉ 10-15% ở NSCLC. Ở NSCLC con đường này chủ yếu bị dập tắt thông qua các biến đổi của cyclin D1, CDK4 và các chất ức chế kinase phụ thuộc cyclin p16 (CDK2A). $p16^{INK2A}$ ức chế sự phosphoryl hóa phụ thuộc cyclin D1 của protein RB, do đó ngăn chặn sự chuyển tiếp chu kỳ tế bào qua trạm kiểm soát G1/S. $p16^{INK2A}$ bị bất hoạt khoảng 80% ở NSCLC và bị biến đổi 72% ở SCC phổi qua việc kiểm tra bởi TCGA, chủ yếu là thông qua việc xóa bỏ đồng hợp tử, sự methyl hóa hoặc đột biến bất hoạt. Ngoài ra còn có sự biểu hiện quá mức cyclin D1 thông qua việc khuếch đại gen hoặc các cơ chế khác trong khoảng 40% NSCLC.

## 18.5. KÍCH THÍCH TĂNG TRƯỞNG BỞI CÁC GEN GÂY UNG THƯ

❑ ***Protein tyrosine kinase (PTK)*** là các chất điều hòa quan trọng con đường truyền tín hiệu nội bào làm trung gian cho sự phát triển và thông tin liên lạc tế bào - tế bào. Hoạt tính của chúng được kiểm soát và điều hòa một cách chắc chắn. Rối loạn tín hiệu PTK là hệ quả của các đột biến và những biến đổi di truyền khác, góp phần vào sự biến nạp ác tính. Một số yếu tố tăng trưởng và các receptor của nó đã được biểu hiện bởi các tế

bào ung thư phổi hoặc các tế bào mô đệm lân cận, do đó tạo ra các vòng (loop) kích thích tăng trưởng cận tiết (paracrine) hoặc tự tiết (autocrine). Một số được mã hóa bởi các tiền gen ung thư đã trở nên kích hoạt trong tiến trình phát triển ung thư phổi. Sự biểu hiện quá mức của các protein điều hòa chu kỳ tế bào như cyclin D1, cyclin E và cyclin B1, tăng cường tăng sinh, giảm tiềm năng apoptosis tế bào thường được phát hiện trong các khối u NSCLC.

❑ ***Receptor yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGFR)*** còn được gọi là ErbB-1 là thành viên của tiểu họ các protein có mối liên hệ chặt chẽ. Sau khi liên kết ligand, domain tyrosine kinase nội bào của receptor sẽ được kích hoạt và thực hiện sự phosphoryl hóa, khởi đầu một thác các sự kiện nội bào. Một con đường tín hiệu hạ nguồn có liên quan đến sự hoạt hóa p21-Ras và các protein kinase kích hoạt phân bào (MAPK). Tín hiệu EGFR rất quan trọng đối với sự tăng sinh của tế bào bình thường, nhưng mất sự điều hòa của nó cũng rất quan trọng đối với bệnh sinh học ung thư, tân tạo mạch, di căn và sự ức chế apoptosis. EGFR biểu hiện qúa mức ở NSCLC tiến triển và cũng liên quan đến sự sống sót và sự kháng lại các tác nhân hóa trị, bao gồm cả cis-platin. Các kết quả khảo sát khác nhau về các giá trị tiên lượng của sự biểu hiện EGFR là mâu thuẫn nhau. Tuy nhiên, vì sự biểu hiện của EGFR rõ ràng là liên quan đến sinh ung thư phổi nên phân tử này là đích hấp dẫn của nhiều phương pháp trị liệu khác nhau. Vài chất ức chế EGFR (CP358774, ZD1839-Iressa và OSI774) đang được thử nghiệm lâm sàng chuyên sâu trên các bệnh nhân ung thư phổi.

❑ ***Gen HER-2/neu (RrbB)*** định vị trên nhiễm sắc thể 17p21 và mã hóa cho một glycoprotein vận chuyển màng 185 kDa, có tính tương đồng cao với EGFR. HER-2/neu biểu hiện qúa mức khoảng 30% ở NSCLS, đặc biệt trong adenocarcinoma và có liên quan đến kiểu hình kháng nhiều loại thuốc và tỷ lệ di căn cao. Một đột biến điểm dẫn đến việc thay thế các gốc amino acid 664 từ valine thành acid glutamic thường được tìm thấy và đột biến này góp phần vào việc biến nạp ác tính các tế bào đã bị ảnh hưởng. Những biến đổi và khuếch đại gen HER-2/neu trong NSCLC cũng đã được báo cáo. Hóa trị kết hợp với trastuzumab (Herceptin) - một kháng thể đơn dòng kháng lại HER-2/neu hiện đang được thử nghiệm lâm sàng.

❑ ***Gen tiền ung thư MYC*** thuộc họ các gen liên quan (c-MYC, N-MYC, L-MYC) chúng mã hóa cho các yếu tố sao chép, kích hoạt các gen liên quan đến kiểm soát tăng trưởng và apoptosis. Phosphoprotein MYC định vị trong nhân. Sự điều hòa sao chép bởi các protein MYC gián tiếp qua sự heterodimer hóa với các protein cặp đôi như MAX, MAD hay MX11. Heterodimer MYC-MAX gắn với các trình tự DNA đặc hiệu có tên là yếu tố E-box ở lân cận các promoter của gen đích hạ nguồn và kích hoạt sự sao chép của chúng. Histone acetylase được kích hoạt dẫn đến làm thay đổi cấu trúc nhiễm sắc

thể. Đến lượt mình, nó lại điều biến sự sao chép. Mặt khác, phức hợp MYC-MAX lại kiềm chế sự hoạt hóa sao chép. MAX có thể gắn với protein MAD và MX11 để kiềm chế sao chép, ngăn cản MYC và thúc đẩy sự biệt hóa tế bào. Những bất thường phân tử có liên quan đến gen MYC hoặc mất điều hòa sao chép của chúng đã được phát hiện là một cơ chế phân tử quan trọng trong bệnh sinh học ung thư phổi ở người. Bất thường phổ biến nhất có liên quan đến các thành viên MYC trong UTP là sự khuếch đại gen hay biểu hiện quá mức mà không có sự khuếch đại. Sự biểu hiện quá mức gen MYC có hoặc không có sự khuếch đại xảy ra với khoảng 80-90% ở SCLC. Trái lại, đối với SCC thì sự khuếch đại gen MYC chỉ xảy ra khoảng 10% ở các mẫu NSCLC. Tuy nhiên, sự biểu hiện quá mức MYC mà không có sự khuếch đại gen MYC lại xảy ra với trên 50% các mẫu khảo sát. Sự biểu hiện quá mức gen MYC được xác định là sự kiện muộn trong bệnh sinh học UTP ở đa số các SCLC. Các dòng TB ung thư được thiết lập từ các khối u di căn có tần suất khuếch đại MYC cao và điều này có thể giải thích được mối liên quan giữa khuếch đại MYC và tiên lượng xấu về mặt lâm sàng. Các mô hình trị liệu antisense oligonucleotide hướng tới việc điều hòa xuống sự biểu hiện MYC đã cho các kết quả khích lệ trong nuôi cấy tế bào.

❑ ***Gen tiền ung thư RAS trội*** cực kỳ quan trọng đối với việc truyền các tín hiệu thúc đẩy tăng trưởng từ màng tới nhân TB và do đó làm tăng sinh tế bào. Họ RAS bao gồm: Gen HRAS (tương đồng với các oncogene của Harvey Rat sarcoma virus), gen KRAS2 (tương đồng với oncogene Kirsten rat sarcoma virus) và gen NRAS (phân dòng đầu của các tế bào u thần kinh ở người). Các gen RAS mã cho 4 protein tương đồng cao 21 kDa được gọi là p21, neo vào phía bên trong màng sinh chất (plasma), ở đó chúng có thể tương tác một cách hiệu quả với các yếu tố hoạt hóa thượng nguồn và các đích hạ nguồn. Ở trạng thái kích hoạt, protein RAS gắn với guanosine triphosphate (GTP) và thông qua sự hoạt động của GTPase nội tại và sự thay đổi cấu hình RAS, GTP sẽ được thủy phân thành guanosine diphosphate (GDP) và sau khi tương tác với cơ chất Raf 1 của nó thì RAS lại trở lại trạng thái bất hoạt. Tín hiệu tăng sinh TB sau đó được truyền đi bởi một thác kinase phụ thuộc RAS, kích hoạt MAPK, chuyển vị tới nhân và bắt đầu phiên mã các yếu tố. Con đường truyền tín hiệu này đôi khi còn gọi là thác mitogen SOS-Ras-Raf-MAPK. Trong các TB ác tính, đột biến điểm ở gen RAS có thể làm cho protein RAS bị khiếm khuyết về hoạt tính GTPase nội sinh, trở nên ngăn chặn dạng liên kết GTP kích thích tăng trưởng, liên tục gửi đi các tín hiệu nhằm kích thích các tín hiệu tăng sinh TB tới nhân. Các đột biến RAS rất hiếm ở SCLC, nhưng có thể xác định được vào khoảng 15-20% ở NSCLC và lên đến 50% ở adenocarcinoma phổi mang đột biến RAS, thường tác động đến codon 12 của KRAS (85% các trường hợp) và hiếm hơn với codon 13 của HRAS, hoặc codon 61 của gen NRAS. Phần lớn (trên 70%) các đột biến này là sự chuyển đổi G→T, điều đó được cảm ứng bởi benzopyrene diethyloxide

(BPDE), nitrosamine và các tác nhân khác hình thành từ các sản phẩm cộng của DNA có trong khói thuốc lá. Người ta tin rằng, đây là lý do cho sự tương quan giữa tiền sử hút thuốc và tần số của các đột biến RAS trong các mẫu NSCLC có tiên lượng sấu. Một vài thử nghiệm lâm sàng cũng đã được thực hiện: tiêm chủng với các peptide KRAS đột biến, kiềm chế gen KRAS đột biến nhờ sử dụng các antisense oligonucleotide hoặc ức chế farnesylation (bổ sung các phân tử kỵ nước) protein RAS cần cho sự hoạt hóa của nó. Các đặc trưng phân biệt của các khối u SCLC là sản xuất và giải phóng hàng loạt neuropeptide từ các TB ung thư, angiotensin, bombesin, yếu tố tăng trưởng 1 giống insulin và các cơ chất P là một trong những nghiên cứu kỹ nhất về các phân tử tín hiệu được giải phóng bởi các TB ở SCLC. Những peptide này tác động với tư cách là các ligand đối với các receptor ái lực cao trên bề mặt TB khối u, và sự gắn kết của chúng cuối cùng đã làm kích hoạt các receptor gắn kết protein G, cho phép truyền các tín hiệu tăng sinh đi xa hơn nữa. Bằng cách này các tế bào của SCLC tự kích thích tăng trưởng bằng phương thức tự tiết (autocrine) hay cận tiết (paracrine).

## 18.6. VÔ CẢM VỚI CÁC TÍN HIỆU KHÁNG TĂNG SINH: CÁC GEN KIỀM CHẾ KHỐI U

Các gen kiềm chế khối u TGS giữ vai trò quan trọng trong hệ thống kháng tăng sinh TB và cũng liên quan đến các đáp ứng TB đối với sự tổn hại DNA cũng như sửa chữa hậu quả của các quá trình. Các gen kiềm chế khối u (KCKU) thường xuyên bị mất trong bệnh sinh học và tiến triển ung thư phổi cũng như trong nhiều dạng ung thư biểu mô. Việc bất hoạt các gen KCKU xảy ra là do mất một allele từ một locus của NST, gọi là mất dị hợp tử (loss of heterozygosity - LOH) và sự tổn hại của một allele khác do đột biến gen hoặc cường methyl hóa epigenetic promoter của nó. Các vùng NST phát hiện được thường bị ảnh hưởng nhất bởi LOH trong carcinoma phổi là: 1p, 3p, 4p, 5p, 8p, 9p (locus p16 TGS), 9q, 10p, 10q, 13q (locus RB-retinoblastoma), 15q, 17p (locus p53), 18q, 19p, Xp vaf Xq.3. Việc mất allele ở một số locus trên cánh tay nhiễm sắc thể 3p là một trong những sự kiện di truyền sớm nhất và thường xuyên nhất trong bệnh sinh học ung thư phổi, người ta đã phát hiện thấy 96% ở carcinoma và 78% ở các tổn thương biểu mô phế quản tiền ung thư. Mất dị hợp tử LOH và mất đồng hợp tử thường xuyên được phát hiện với tần số cao trong các dòng TB ung thư phổi và các mẫu khối u, điều đó cho thấy có một vài gen KCKU tiềm năng cư trú tại vùng NST này. Tuy nhiên, tần số và kích cỡ của một allele 3p lại tương quan với mức độ nghiêm trọng về mô bệnh học của tỷ số tiền ung thư/tiền xâm lấn. Có một số ứng cử viên khác của gen KCKU cũng định vị ở 3p và việc mất allelec của chúng có thể là sự bất thường di truyền thu được (acquired) sớm nhất trong bệnh sinh học ung thư phổi.

❑ ***FHIT là một gen kiềm chế khối u*** định vị tại 3p14.2, mã hóa cho một protein dinucleotide 5', 5'''-P1-P3-triphosphate hydrolase (thường ký hiệu là pFHIT). Khi mất gen này sẽ làm tích tụ diadenosine tetraphosphate, do đó kích thích sự tổng hợp DNA và làm tăng sinh TB. Giảm biểu hiện FHIT phát hiện được ở 49% các mẫu NSCLC bằng kỹ thuật hóa miễn dịch, sự biểu hiện của pFHIT giảm đáng kể trong các giai đoạn đầu của NSCLC cũng như trong các tổn thương tiền ung thư của những người hút thuốc thường niên. Mối liên quan giữa hút thuốc lá và sự biểu hiện pFHIT đã chứng minh được vai trò của FHIT trong việc khởi đầu sinh carcinoma phổi liên quan đến hút thuốc. Người ta đã chứng minh được rằng, khi đưa trở lại FHIT dạng hoang dã thì nó lại ức chế được sự tăng sinh ung thư phổi in vitro và sự gây khối u in vivo trên chuột nude (athymic).

❑ ***Gen RARβ, ( receptor beta retinoic acid)*** định vị ở 3p24 và là một ứng cử viên TSG mạnh. Sự biểu hiện thấp hoặc vắng mặt RARβ được phát hiện với tần số cao ở các dòng TB ung thư phổi và các khối u phổi nguyên phát. Dường như đó là kết quả của sự methyl hóa bất thường của RARβ và đã quan sát thấy vào khoảng 40% trong các SCLC tiên phát.

❑ ***Gen kiềm chế khối u TP53 (p53)*** định vị tại cánh tay 17p13.1 của NST và mã hóa cho một protein 53 kDa, tác động với tư cách là các yếu tố gắn DNA hay sao chép đặc hiệu trình tự kích hoạt sự biểu hiện của các gen tham gia trong việc thúc đẩy dừng tăng trưởng tại phase G1 hoặc sự chết của TB trong đáp ứng với stress gây độc gen (genotoxic stress). Do đó, p53 có vai trò như là "người bảo vệ hệ gen", duy trì tính toàn vẹn của hệ gen khi mà stress TB với sự tổn hại DNA, thiếu oxy, đồng thời cũng kích hoạt các gen ung thư. Ngoài ra, p53 còn ngăn chặn các TB khỏi sự tổn hại DNA khi chúng đi vào phase G2. p53 ngăn chặn các TB tại trạm kiểm soát G2, ít nhất là một phần bằng cách ức chế cdc2, một kinase phụ thuộc cyclin đòi hỏi phải có để đi vào mitosis. Khả năng của p53 đối với việc ức chế tăng sinh TB hoặc giảm apoptosis bị kiềm chế bởi một sản phẩm HDM2- một tương đồng của người với chuột double minute 2 (HDM2). Protein này ngăn chặn sự điều hòa p53 của các gen đích và tăng cường sự phân giải phụ thuộc protease của nó. Mặt khác, p53 lại điều hòa lên sự biểu hiện của HDM2 do liên kết một cách trực tiếp và kích hoạt hóa promoter HDM2, do vậy mà p53 lại điều hòa xuống sự biểu hiện của nó. Vòng tự điều hòa này giữ cho p53 ở mức hầu như không thể phát hiện được trong các TB bình thường. Các đột biến sai nghĩa (missense), chủ yếu là sự chuyển đổi GT→T tập trung ở phần giữa của gen tại các codon 157, 245, 248 và 273 làm mất hoạt tính kiềm chế khối u của nó đồng thời nới rộng đời sống bán phần của protein p53 đột biến, điều này có thể phát hiện dễ dàng bằng hóa miễn dịch. Những đột biến gen p53 trong ung thư phổi đã được khảo sát một cách sâu rộng và đã phát hiện được rằng p53 bất hoạt 75% ở SCLC và khoảng 50% ở

NSCLC và tần số đột biến này cũng tương quan với việc hút thuốc lá. Thật hấp dẫn là, các đột biến ở codon 157 dường như là độc quyền cho carcinoma phổi, trong khi đó các đột biến tại các điểm nóng ở codon 248 và 273 lại xảy ra ở các ung thư khác, ví dụ như ung thư đại tràng, ung thư gan và ung thư tuyến tiền liệt. Những người không hút thuốc phát triển ung thư phổi hoàn toàn khác, hầu như là các nhóm đột biến p53 là ngẫu nhiên. Mặc dầu vai trò tiên lượng của các đột biến p53 ở NSCLC vẫn còn đang tranh cãi nhưng sự hiện diện của chúng gây ảnh hưởng đến các đáp ứng lâm sàng đối với hóa trị liệu trên nền tảng cisplatin và xạ trị.

❑ ***Gen kiềm chế khối u RB*** định vị trên nhiễm sắc thể 13q14 và sản phẩm protein của nó là một phosphoprotein nhân được xác định trước tiên ở u nguyên bào võng mạc thời thơ ấu. Protein RB hợp tác với p53 trong việc điều hòa và kiểm soát tiến trình chu kỳ TB, mức độ sao chép và sự cân bằng giữa tăng sinh và biệt hóa TB. Trạng thái phosphoryl hóa của protein RB và sự tương tác của nó với yếu tố sao chép E2F là quan trọng nhất đối với việc điều hòa sự chuyển tiếp Go/G1 trong chu kỳ TB. Khi RB bị dephosphoryl hóa thì kiềm chế sự chuyển tiếp từ phase G1 đến phase S. Trong phase G1, thì cyclin D1 gắn với các kinase CDK2 và CDK4 phụ thuộc kinase, đó là kết quả của sự phosphoryl hóa và hoạt hóa RB. RB hypophosphoryl hóa gắn với yếu tố sao chép E2F, vì vậy ngăn chặn sự sao chép của các gen điều hòa chu kỳ TB. Ngược lại, khi RB bị phosphoryl hóa thì E2F bị phân ly và nó lại kích hoạt sự sao chép, do đó tạo thuận lợi cho việc tiến vào phase S. Những bất thường của gen RB trong ung thư phổi bao gồm đứt đoạn, đột biến vô nghĩa (nonsense), biến đổi sự kết nối sinh bệnh học (pathogenic splicing variation) và đứt đoạn nhiễm sắc thể. Gián đoạn con đường pRB sẽ giải phóng ra các E2F cho phép quá trình tăng sinh TB và làm cho TB mất nhạy cảm với các yếu tố kháng tăng trưởng mà thông thường là có chức năng kiểm soát sao chép qua phase G1 trong chu kỳ TB. Hơn 90% SCLC và 15-30% các khối u NSCLC có sự biểu hiện bất thường hoặc không biểu hiện RB. Mặc dầu RB giữ vai trò quan trọng trong bệnh sinh học ung thư phổi, nhưng trạng thái của RB lại không có ý nghĩa tiên lượng đối với các bệnh nhân NSCLC.

❑ ***Gen PTEN (Phosphatase Tensin Homolog Deleted on Chromosome Ten)***rđịnh vị ở nhiễm sắc thể 10q23 và mã hóa cho một phosphatase lipid làm nhiệm vụ dephosphoryl hóa PIP3 và có hoạt tính kiềm chế khối u in vitro và in vivo. Các đột biến hay đứt đoạn gen PTEN đã được phát hiện ở một vài dòng TB ung thư phổi và các mẫu khối u.

❑ ***Yếu tố tăng trưởng biến nạp β (TGF-β)*** là một protein đa chức năng, nó ức chế sự tăng sinh của nhiều TB biểu mô thông qua việc liên kết với một tập hợp các receptor TB. Nó là một chất ức chế trạm kiểm soát có liên quan đến sự điều hòa chu kỳ TB, làm cho TB ngừng tăng sinh và dừng lại ở phase G1. Các mức độ giảm biểu hiện TGF-β đã được phát hiện ở các mẫu NSCLC thông qua các nghiên cứu nhuộm hóa miễn dịch.

❑ ***Một ứng cử viên khác của TGS trên NST 10q25-26 là DMBT1.*** Nó thường xuyên bị điều hòa xuống và đôi khi bị xóa bỏ đồng hợp tử trong ung thư phổi. Sự biểu hiện quá mức hoặc kích hoạt receptor yếu tố tăng trưởng giống insulin I (IGF-IR) đã quan sát thấy ở nhiều ung thư người bao hàm cả carcinoma phổi. $p16^{INK4}$ (còn gọi là CDKN2A) là một gen KCKU định vị trên nhiễm sắc thể 9p21 và mã hóa cho 2 protein được phiên dịch bởi mRNA kết nối luân phiên: α-transcript phiên dịch thành protein p16 ($p16^{INK4}$) và β-transcript được phiên dịch thành protein $p14^{ARF}$ (p16), protein p16 là một bộ phận của con đường p16-cyclin D1-Cdk4-RB. p16 điều tiết sự tiến triển của chu kỳ TB thông qua điểm giới hạn G1/S do ức chế sự phosphoryl hóa qua trung gian CDK4 và CDK6/cyclin D của pRB. Việc phá vỡ chức năng của p16 là do cường phosphoryl hóa không thích hợp do đó làm bất hoạt pRB. Sự biểu hiện quá mức yếu tố sao chép E2F sẽ điều hòa lên sự biểu hiện của p16 và ức chế hoạt tính của kinase phụ thuộc cyclin D, điều đó cho thấy có sự hiện diện của một vòng (loop) phản hồi. Protein p14ARF liên kết và làm ổn định hóa HDM2 (tương đồng của MDH2), làm tăng hiệu lực của p53 dạng hoang dã. Mất $p14^{ARF}$ hoặc p53 là các tổn thương di truyền thông thường trong UTP, điều đó cho phép MYC khuếch đại và tạo cơ hội cho sự tăng sinh và biến nạp TB. $p14^{ARF}$ dường như là một cầu nối giữa các tín hiệu sinh ung thư và p53, theo đó việc kích hoạt cảm ứng $p14^{ARF}$ có thể là rất quan trọng đối với việc chuyển dịch các TB bị tổn thương về phía apoptosis. Sự biểu hiện của gen $p16^{INK4}$ trong NSCLC thường hay thay đổi là do sự methyl hóa bất thường promoter (25% các trường hợp) và xóa bỏ đồng hợp tử hoặc các đột biến điểm (10-40%). Người ta đã phát hiện ra rằng, sự rối loạn cả 2 con đường p16/pRB và p53 rất cần thiết cho sự gia tăng tăng sinh của các tế bào NSCLC. Có một mối quan hệ nghịch đảo giữa p16 và Rb trong carcinoma phổi: Rb bị đột biến còn p16 lại nguyên vẹn trong SCLC, trong khi biểu hiện của p16 bị phá vỡ thì thì Rb thường là nguyên vẹn trong NSCLC. $p19^{ARF}$ gắn với MDH2 - p53 và ngăn chặn sự phân giải của p53. Mất $p19^{ARF}$ thường xuyên hơn trong các khối u phổi với các đặc thù thần kinh nội tiết.

## 18.7. SỰ LẨN TRÁNH APOPTOSIS

Apoptosis hay sự chết theo chương trình của TB là một quá trình kiểm soát di truyền rất cần thiết cho việc sửa chữa mô trong quá trình phát triển phôi và duy trì sự cân bằng nội mô của các thành viên TB trong quá trình trưởng thành. Việc bãi bỏ điều hòa con đường gây chết TB có liên quan đến sự khởi đầu và sự tiến triển của khối u cũng như sự kháng thuốc ở nhiều ung thư người và là một trong những điểm nổi bật của ung thư. Hai con đường tín hiệu apoptosis nội bào chính có thể dẫn đến sự chết theo chương trình của TB, đó là con đường ty thể (mitochondria) (nội tại) và con đường receptor chết (ngoại sinh). Qua trung gian bởi một thác các hoạt hóa caspase và các protein trung gian (mediator) khác, cả 2 con đường này đều dẫn đến sự phân giải

proteolytic rất nhiều protein tế bào, tạo ra các mảnh DNA và rất nhiều thay đổi hình thái đặc trưng cho việc TB đã trải qua apoptosis. Gen chủ chốt điều tiết apoptosis bao gồm cả gen kiềm chế khối u p53 và họ gen Bcl-2. Nói một cách đơn giản là các thành viên họ BCL-2 là những nhân tố điều tiết chính quá trình apoptosis, ở đó caspase là những "người thực hiện" chủ chốt.

***Gen Bcl-2 (B-Cell lymphoma-2)*** là gen sinh ung thư đầu tiên được phát hiện chức năng thông qua quá trình sản xuất các chất ức chế apoptosis. Họ gen bcl-2 bao gồm trên 15 thành viên, chúng có thể thúc đẩy hay ức chế apoptosis. Gen bcl-2 định vị ở cánh tay 18q21 của NST và sản phẩm protein BCL-2 lại định vị ở phía trong màng ngoài ty thể, màng lưới nội chất và màng nhân, ở đó nó có hiệu ứng kháng apoptosis trong nhiều TB. Sau kích thích apoptosis, các protein tiền apoptosis được hoạt hóa thông qua các sửa đổi sau tổng hợp hoặc thông qua những biến đổi về cấu thành của chúng. Protein BCL-2 tạo heterodimer với các thành viên họ BCL-2 tiền apoptosis, dẫn đến sự bất hoạt của chúng. Hơn nữa, protein BCL-2 lại có thể can thiệp vào những bước quan trọng trong quá trình hợp nhất các tín hiệu tiền apoptosis ở mức ty thể, qua đó bãi bỏ việc giải phóng cytochrome-C. BAX là một protein có liên quan với BCL-2, thúc đẩy apoptosis và là đích sao chép hạ nguồn của p53. Protein BCL-2 heterodimer hóa với BAX do vậy mà ức chế apoptosis. Các TB khối u thường tránh né khỏi apoptosis với tư cách là một đáp ứng sinh lý học bình thường khi bị thách thức với sự hủy hoại DNA và tế bào. Sự biểu hiện quá mức BCL-2 được phát hiện bằng hóa tổ chức miễn dịch và đã phát hiện được 75-95% ở khối u SCLC, 25-30% ở carcinoma TB vảy và 10% ở adenocarcinoma. Điều thú vị là, sự biểu hiện của protein BAX và BCL-2 lại có mối quan hệ đối nghịch trong các ung thư thần kinh nội tiết. Cụ thể là, sự biểu hiện cao của BCL-2 và thấp của BAX xảy ra ở hầu hết các khối u SCLC mà chủ yếu là do thiếu hụt p53. Ý nghĩa của sự biểu hiện bcl-2 trong UTP đối với sự sống sót nói chung vẫn đang còn tranh cãi, nhưng sự biểu hiện quá mức bcl-2 đã được phát hiện là có liên quan đến tiên lượng tốt hơn đối với những bệnh nhân NSCLC, điều này có thể liên quan đến quá trình hình thành mạch máu của khối u thấp hơn.

## 18.8. TIỀM NĂNG SAO CHÉP VÔ HẠN CỦA TELOMERE VÀ TELOMERASE

Telomere là một cấu trúc dị sắc chuyên hóa ở đuôi mỗi NST, nó như là một chiếc mũ bảo vệ và giữ vai trò quan trọng trong việc duy trì tính toàn vẹn cho NST, kiềm chế thuận nghịch sự sao chép của các gen liền kề và ngăn ngừa sự hợp nhất đuôi - đuôi hoặc phân giải NST. Do sự bất lực của các DNA polymrease thông thường đối với việc sao chép đầu 5' của chuỗi DNA nên các telomere cứ ngắn lại dần sau mỗi lần phân chia TB ở các TB soma người bình thường. Hiện tượng này được hiểu là sự kết thúc sao chép. Tuy nhiên, sự ngắn dần lại này không làm mất đi các gen cần thiết, trong đó mỗi NST

trong số 46 NST được đội mũ (capped) với các lặp dài các trình tự DNA không mã hóa được gọi là telomere. Telomere của người bao gồm các DNA lặp đi lặp lại các trình tự TTAGGG. Người ta đã tính toán được rằng khoảng 50-100 bp đã bị mất đi sau mỗi lần phân chia TB. Các TB người ước tính có tiềm năng trải qua được 50-70 lần phân chia. Tới thời điểm này thì sự tăng sinh TB bị dừng lại và bước vào quá trình lão hóa. Có hàng chục protein telomere cần thiết cho việc che dấu các telomere khỏi bộ máy tế bào mà thường vẫn xử lý đầu cuối (end) một phân tử DNA với tư cách là một sợi bị đứt cần phải sửa chữa.

Các protein gắn DNA telomeric chủ chốt là các yếu tố gắn các lặp telomeric, Tankyrase, các protein ribonucleo nhân không đồng nhất và một số protein liên quan về mặt chức năng khác. Việc duy trì trạng thái sinh lý của các telomere đòi hỏi phải có một sự tương tác phức hợp giữa các protein này với DNA telomeric và các yếu tố TB khác. Tính toàn vẹn của telomere cũng rất cần thiết đối với sự ổn định về mặt vị trí và số lượng NST và sự ngắn lại của telomere tạo thuận lợi cho sự tiến hóa của các tế bào ung thư do nó thúc đẩy sự hợp nhất đuôi-đuôi và phát triển các dị bội. Việc ức chế telomere ở các dòng TB bất tử bằng các phương pháp dược lý hay di truyền là làm cho telomere ngắn dần lại và cuối cùng là ngừng tăng sinh tế bào.

**Telomerase** là một phức hợp enzyme ribonucleoprotein đặc hiệu có chức năng kéo dài và duy trì các telomere của NST các TB nhân chuẩn, nhờ việc sử dụng các phân tử RNA nội tại như một khuôn mẫu (template) do đó mà làm gia tăng số lần phân chia TB. Telomerase holoenzyme có chứa 2 thành phần chính cần thiết cho sự hoạt động đó là : Tiểu đơn vị hTERT (RNA - directed DNA polymerase, tức là một enzyme phiên mã ngược, EC 2.7.7) và hTR là một chuỗi RNA 451 nt tác động với tư cách là một khuôn mẫu. Phức hợp enzyme này cũng chứa nhiều protein cần thiết cho hoạt tính toàn phần của enzyme nên mới có tên là các protein liên kết telomerase. Gen tiểu đơn vị xúc tác của telomere hTERT dài trên 37 kb và bao gồm 16 exon. Telomerase không hoạt động ở nhiều TB bình thường trong các cơ quan của người trưởng thành, nhưng nó tăng cường hoạt động trong quá trình phát triển và bị ung thư. Vì trên 90% các TB ung thư của người đều tăng hoạt tính telomerase nên hiện giờ nó được chấp nhận là một trong những dấu hiệu nổi bật (hallmark) của ung thư và nó lại là bất thường phân tử liên quan đến ung thư rất hay xảy ra. Nói chung, sự biểu hiện của telomerase ở các tế bào khối u ác tính đã xác định được rằng năng lực tăng sinh của tế bào là không giới hạn vì thế mới gọi là bất tử. Hoạt tính telomerase cao đã được phát hiện gần như 100% ở SCLC và 80% ở các mẫu NSCLC nhờ kỹ thuật PCR trên nền tảng khuếch đại các lặp telomere (TRAP assay). Hoạt tính telomerase cao trong các NSCLC nguyên phát được tìm phát hiện có liên quan tới việc làm gia tăng tỷ lệ tăng sinh TB và tình trạng bệnh lý giai đoạn tiến triển. Gần đây, sự ngắn lại của telomere được phát hiện là một bất thường phân tử

sớm trong quá trình sinh ung thư (carcinogenesis) biểu mô phế quản, đi trước sự biểu hiện telomerase và bất hoạt p53/Rb xảy ra ở hầu hết các tổn thương tiền xâm lấn mức độ cao. Vì hoạt sự hoạt động của telomerase có liên quan đến sự tăng trưởng ác tính nên nó là một dấu ấn (marker) phát hiện ung thư phổi và là một đích quan trọng đối với các cách tiếp cận trị liệu mới.

## 18.9. SỰ TẠO MẠCH CỦA KHỐI U

Sự tăng trưởng các mạch máu mới là sự đòi hỏi của khối u nhằm duy trì và tăng trưởng vượt quá đường kính 3mm để di căn. Những chất cảm ứng và những chất ức chế khác nhau điều hòa sự tăng sinh và di cư của TB nội mô có liên quan đến quá trình tạo mạch. Các yếu tố tăng trưởng được chứng minh là kích thích sự tạo mạch bao gồm yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu (vascular endothelial growth factor - VEGF), yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi cơ bản (bFGF), yếu tố tăng trưởng TB nội mô có nguồn gốc tiểu cầu (platelet-derived endothelial Cell growth factor - PDGE). Các sản phẩm của các yếu tố tạo mạch rõ ràng là có ảnh hưởng đến kết quả lâm sàng của các bệnh nhân ung thư phổi. Cụ thể là, mức VEGF trong huyết tương tương quan với mức độ tạo mạch ở NSCLC và sự biểu hiện VEGF được phát hiện là có liên quan đến việc giảm sự sống sót tổng thể và sự sống sót không bệnh ở các bệnh nhân NSCLC. Các nghiên cứu hóa miễn dịch đã chứng minh rằng, bFGF là một chỉ số tiên lượng trong adenocarcinoma phổi, bởi vì tỷ lệ sống sót 5 năm đối với các bệnh nhân dương tính với bFGF là thấp và những biểu hiện nặng về lâm sàng lại liên quan đến sự điều hòa lên PDGF. Trong một số thử nghiệm lâm sàng đã đạt được những kết quả ấn tượng nhờ việc đích VEGF với một kháng thể kháng VEGF đơn dòng đã nhân hóa (humanized). Đáng tiếc là, lại có sự chảy máu bất ngờ từ các khối u ung thư phổi hoại tử lớn xảy ra ngay ở các thử nghiệm khởi đầu. Nên vấn đề này cần được tiếp cận với một nhóm bệnh nhân được lựa chọn cẩn thận hơn nữa.

## 18.10. SỰ XÂM LẤN VÀ DI CĂN MÔ

Cơ chế phân tử dẫn đến những khả năng phức hợp của các TB ung thư phổi nguyên phát để chúng có thể xâm lấn các mô lân cận và lan rộng tới các cơ quan xa hơn của cơ thể bệnh nhân nói chung là vẫn chưa rõ ràng. Quá trình này liên quan đến việc phân giải màng cơ bản, sự xâm lấn của chất nền xung quanh cũng như mạch máu hoặc mạch bạch huyết, khả năng tăng trưởng không kết dính, tân tạo mạch, tăng sinh và sự di cư TB. Một số gen khác nhau và các sản phẩm protein của chúng được xác định là rất quan trọng đối với quá trình xâm lấn mô và khả năng di căn của các TB ung thư.

**E-cadherin là** một phân tử kết dính TB biểu hiện một cách phổ biến trong các TB biểu mô. Trong bệnh sinh học của hầu hết các ung thư biểu mô thì chức năng của E-

cadherin bị mất do bất hoạt đột biến của gen E-cadherin hoặc các gen **β-catenin**, cũng như do việc kiềm chế sao chép hay tăng cường sự phân giải protein. Điều này dẫn đến giảm sự kết dính TB-TB thông qua trung gian E-cadherin và cho phép các TB ác tính xâm lấn vào các mô và đi vào các mạch máu hoặc bạch huyết. Vì vậy, *gen E-cadherin đôi khi được gọi là gen "kiềm chế xâm lấn"*. Người ta đã chứng minh được rằng, mất E-cadherin trong UTP có liên quan đến việc làm tăng khả năng di căn. Sự phân giải màng cơ bản và các chất nền (matrix) mô ngoại bào bởi các protease rất quan trọng đối với sự xâm lấn cục bộ cũng như sự di căn tới máu và bạch huyết.

**Matrix metalloproteinase (MMP)** là các thành viên họ enzyme phân giải protein có chứa kẽm, tạo thuận lợi cho việc xâm lấn cũng như khả năng di căn của các khối u, cũng như sự tạo mạch liên quan đến khối u. Ngược lại, những chất ức chế MMP cũng được chứng minh là gây ức chế tăng trưởng khối u và cũng rất phổ biến trong các mô hình tiền lâm sàng. Vì thế vẫn chưa rõ tại sao không phải tất cả các UTP đều biểu hiện MMP và đã có các báo cáo trái chiều tầm quan trọng về tiên lượng của sự biểu hiện MMP trong ung thư phổi.

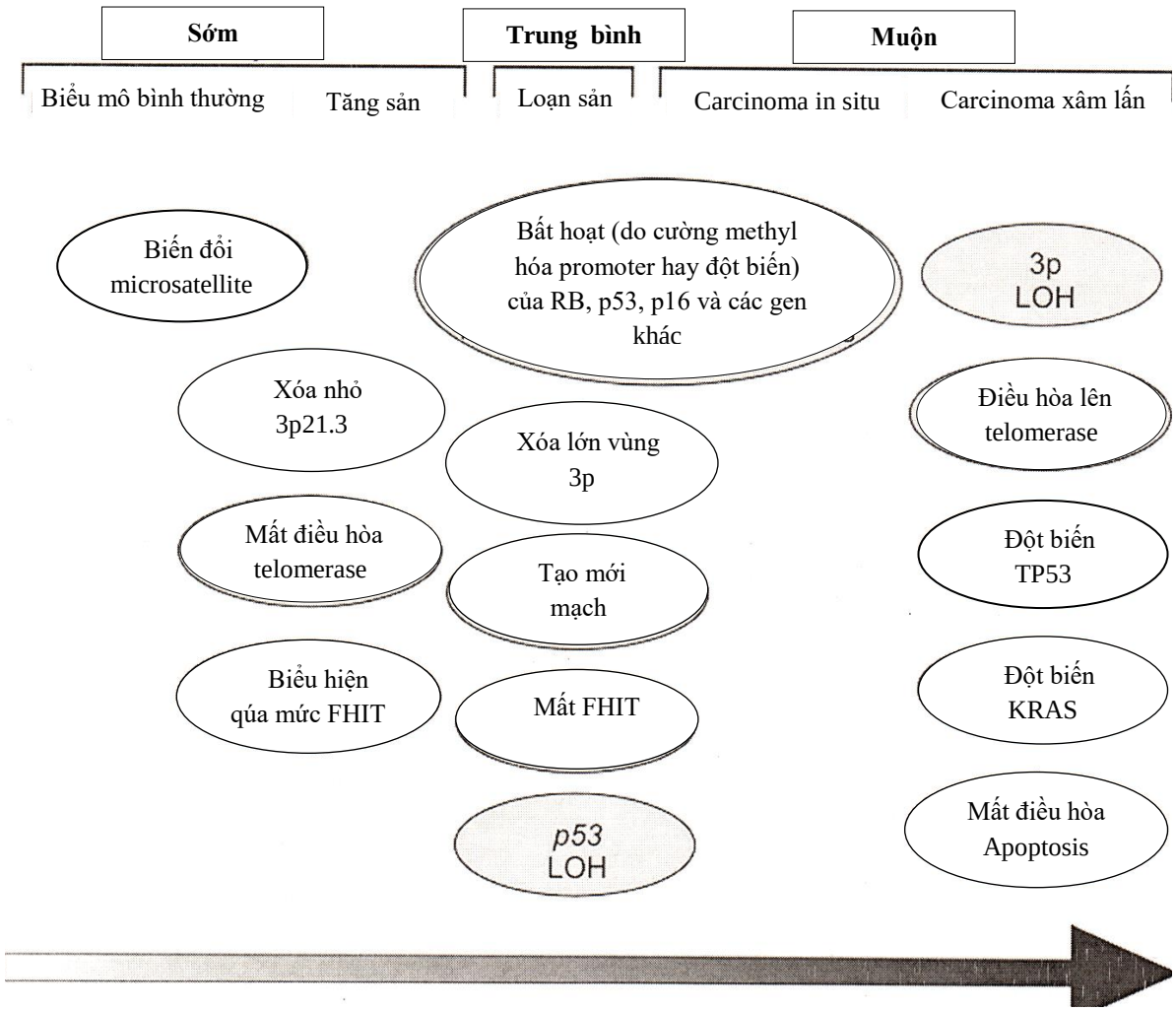
Có thể thấy rằng, **CRMP-1**, một protein làm trung gian hiệu ứng cho các collapsin đã làm giảm biểu hiện về sự hiếu chiến cũng như di căn trong các mẫu ung thư phổi. Sự điều hòa xuống này có thể làm nâng cao khả năng di cư của TB, điếu này rất quan trọng đối với quá trình di căn. CRMP và các thành viên khác của họ protein collapsin/semaphorin có thể kiểm soát sự chuyển động của tế bào.

**Laminin và Integrin** là các protein liên quan đến sự xâm lấn mô liền kề xuyên qua màng cơ bản và sự phát tán xa hơn của các TB ung thư phổi. Giảm biểu hiện chuỗi α của laminin (α3 và α5) trong các mô UTP có thể dẫn đến việc phân nhỏ màng cơ bản, cần cho sự xâm lấn của các TB khối u. Những thay đổi trong sự biểu hiện integrin phát hiện thấy trong các TB di căn ở nhiều ung thư người bao gồm cả ung thư phổi. Gần đây, một nghiên cứu được thực hiện bởi Manda và cộng sự đã xác định rằng, gen ***LAMB3*** (mã hóa cho chuỗi β3 của laminin, một thành phần của laminin-5) chỉ biểu hiện ở các tế bào NSCLC chứ không biểu hiện ở các tế bào khối u SCLC. Trong một mẫu nghiên cứu **α6β4** integrin, một receptor gắn đặc hiệu laminin-5 chỉ biểu hiện ở các tế bào NSCLC, nhưng không biểu hiện ở các tế bào SCLC. Điều đó cho thấy laminin-5 có thể là yếu tố vi môi trường quan trọng đối với sự tăng trưởng của các khối u NSCLC.

## 18.11. BẤT THƯỜNG PHÂN TỬ TRONG BỆNH SINH HỌC UNG THƯ PHỔI

Mô hình bệnh sinh học UTP được mô tả ở hình dưới đây. Nó được phát triển dựa trên cơ sở các nghiên cứu trước đó. Những chất gây ung thư bắt nguồn từ thuốc lá hoặc từ các chất gây ô nhiễm môi trường khác đã làm mất allele 3p21.3 ở hàng ngàn TB trên các vị trí khác nhau của biểu mô phổi. Tiếp sau là các gen KCKU định vị ở một số cánh

tay nhiễm sắc thể 3p21.3 trở nên thiếu hụt haplo (haplo-insufficient). Cú hích (hit) tiếp theo xảy ra ở các gen có vai trò rất quan trọng đối với sự tăng sinh TB như RB, p53, p16 hoặc các gen khác do sự bất hoạt đột biến hoặc do cường methyl hóa promoter. Điều đó cho phép sự tăng trưởng dòng nhanh của các TB biến nạp đầu tiên. Một số tác giả cho rằng, có sự khác biệt lớn về bệnh sinh học phân tử giữa các dạng khối u ở SCLC và NSCLC. Người ta đề xuất rằng, trong bệnh sinh học các TB ung thư SCLC thì chúng được nảy sinh trực tiếp từ các TB biểu mô tăng sản hay bình thường mà không trải qua giai đoạn bệnh lý trung gian tiền ung thư. Trái lại, bệnh sinh học của NSCLC lại đi kèm với những thay đổi tuần tự về hình thái học.




**Hình 18.1** *Những bất thường chủ yếu xảy ra trong bệnh sinh học ung thư phổi*

(Theo Manda R, Kohno T, Nki T, Yamada T ET AL. Biochem Biophys Res Commun 2000, 275(2) ; 440-5)

## 18.12. BỆNH SINH HỌC PHÂN TỬ CARCINOMA PHỔI KHÔNG TẾ BÀO NHỎ

Ung thư phổi là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu thế giới. Phần lớn các bệnh nhân UTP khi được chẩn đoán thì bệnh đã ở giai đoạn tiến triển không còn khả năng cứu chữa. Đa số các bệnh nhân khi được chẩn đoán đều là UTP di căn hoặc là UTP tiến triển cục bộ không thể cắt bỏ. Theo quan điểm mô bệnh học và sinh học thì UTP là một loại u phức tạp. Việc phân loại chính xác về mặt mô học UTP là điều cần thiết để bệnh nhân tiếp nhận được những cách điều trị thích hợp. Mặc dầu việc phân loại phần lớn các UTP là đơn giản, tuy nhiên vẫn còn nhiều điều tranh cãi và vẫn còn nhiều thách thức về mặt chẩn đoán. Về phương diện mô học thì UTP bao gồm chủ yếu các dạng sau: Ung thư phổi không tế bào nhỏ (NSCLC) dạng carcinoma tế bào vảy (SCC chiếm 30%) và adenocarcinoma (45%)

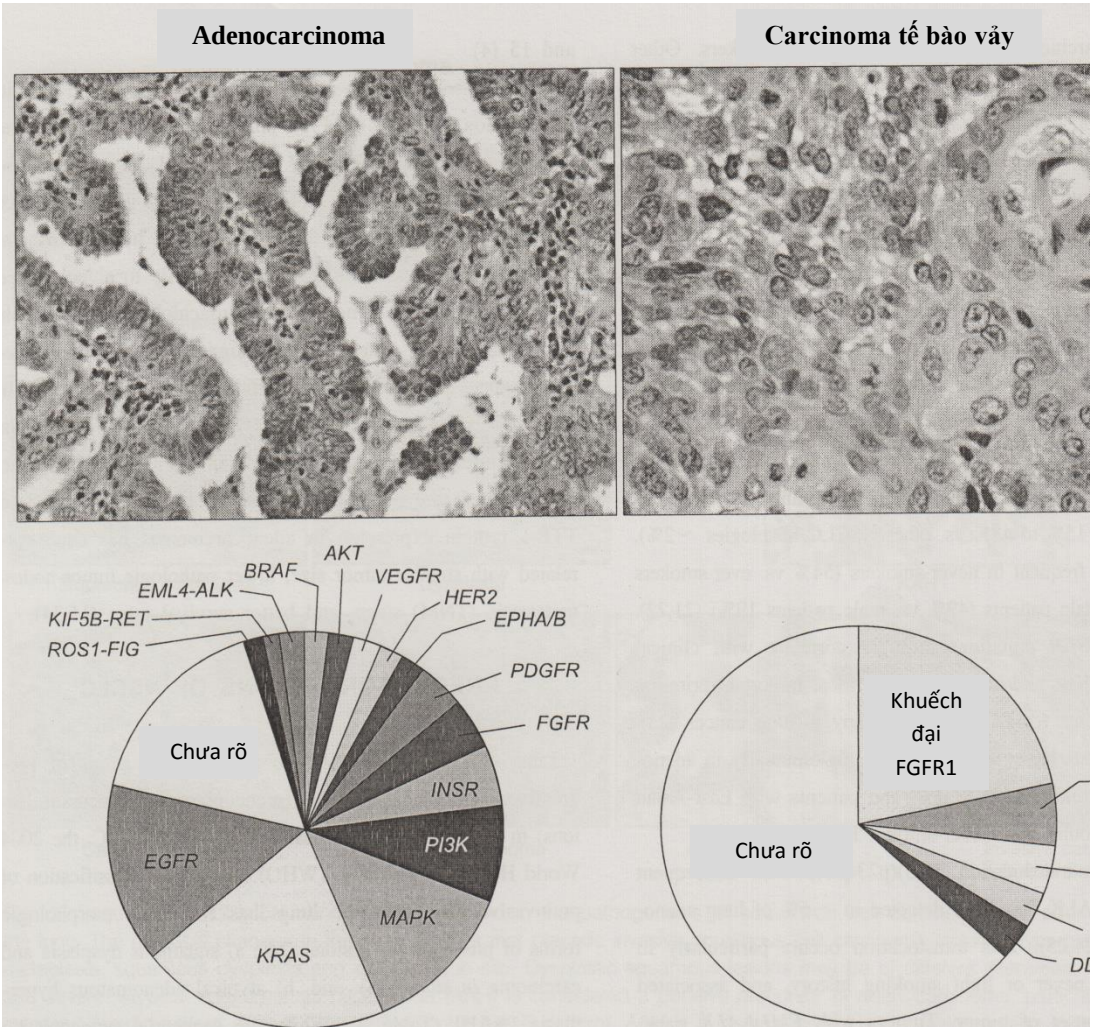
Những tiến bộ trong kỹ thuật phân tử đã cung cấp những kiến thức mới trong lĩnh vực sinh học liên quan đến bệnh sinh học NSCLC. Người ta đã chứng minh rằng, những ung thư phổi đã rõ rệt về mặt lâm sàng là kết quả của sự tích tụ những thay đổi di truyền và epigenetic, trong đó bao gồm những bất thường về sự bất hoạt các gen kiềm chế khối u và kích hoạt các gen ung thư. Tất cả những bất thường phân tử này đều liên quan đến "những dấu hiệu chủ chốt" của ung thư, bao gồm những bất thường về sự tự túc các tín hiệu tăng trưởng, sự vô cảm (mất nhạy cảm) với các tín hiệu kháng tăng trưởng, duy trì sự tạo mạch, lẩn trốn apoptosis, tiềm năng sao chép không giới hạn, xâm lấn mô và di căn. Những tiến bộ phân tử đạt được gần đây về bệnh sinh học NSCLC đã cho chúng ta cơ hội hiếm có để cải thiện việc phòng ngừa và điều trị ung thư phổi.

### 18.12.1.Carcinoma tế bào vảy (squamous cell carcinoma - SCC)

Loại khối u này thường xuyên có những biến đổi di truyền, bao gồm sự hoạt hóa một số gen ung thư (SOX2, FGFR1, EGFR, DDR2) và bất hoạt các gen KCKU (TP53 và $p16^{INKa}$ (Bảng 18.1, Hình 18.2). Khu vực xác định giới tính Y-box của gen (SOX2) được đề xuất là gen gây ung thư phổi. SOX2 là một yếu tố sao chép được mã hóa bởi một gen định vị tại 3q26.33. Protein này có liên quan đến việc duy trì các tế bào gốc của phôi và cảm ứng các TB gốc đa năng bắt nguồn từ nhiều dạng TB khác nhau và giữ vai trò quan trọng trong nhiều quá trình phát triển, bao gồm cả sự chia nhánh phổi. Protein SOX2 có biểu hiện trong phế quản người bình thường cũng như trong các tổn thương tiền ung thư tế bào vảy và nó thường xuyên được phát hiện ở SCC (90%) và adenocarcinoma (20%). Gen SOX2 được khuếch đại khoảng 20% ở SCC phổi và tương quan với sự biểu hiện quá mức protein. Sự khuếch đại của SOX2 không phát hiện thấy trong các khối u có tổ chức học là adenocarcinoma.

Gần đây, 2 bất thường phân tử liên quan đến lâm sàng được xác định đã xảy ra ở SCC: Khuếch đại gen FGFR1 (nhiễm sắc thể 8p11-12) và đột biến gen DDR2. Gen

FGFR1 mã hóa cho một tyrosine kinase vận chuyển màng (TK) và nó được khuếch đại khoảng 20% ở SCC, nhưng chỉ 1-3% ở adenocarcinoma. Các đột biến của gen TK khác và gen DDR2 xảy ra với khoảng 4% ở SCC và cũng không thấy báo cáo có xảy ra ở adenocarcinoma phổi. Điều quan trọng là, các khối u phổi có khuếch đại FGFR1 lại đáp ứng với các chất ức chế FGFR TK (TKI) và các ung thư phổi có đột biến DDR2 rất nhạy cảm với sự điều trị bằng dasatinib và nilotinib.




**Hình 18. 2** *Những biến đổi mẫu trong phân loại carcinoma phổi không tế bào nhỏ. Những bất thường đích của nhiều gen ung thư, đặc biệt là các đột biến, chuyển vị và khuếch đại gen mà gần đây đã được phát hiện trong cả adenocarcinoma và các tổ chức học carcinoma tế bào vảy. Hầu hết các bất thường là các đột biến gen, ngoại trừ sự sắp xếp lại của EML4-ALK, KIF5B-RET và ROS1-FIG và sự khuếch đại của FGFR1.*

(Theo Ignacio I. Wistuba. J lung cancer 2012; 11(1):12-20)

***Bảng 18.1.*** *Tóm tắt tần suất những bất thường phân tử ở các gen ung thư với adenocarcinoma phổi và tổ chức học carcinoma tế bào vảy*

| Gen | Biến đổi phân tử | Carcinoma tế bào vảy % | Adenocarcinoma % |
|---|---|---|---|
| EGFR | Đột biến | Rất hiếm | 10-40 |
| | Khuếch đại/copy | 40 | 15 |
| HER2 | Đột biến | Rất hiếm | 2 – 4 |
| | Khuếch đại | Rất hiếm | 5 |
| EML4-ALK | Chuyển vị | Rất hiếm | 5-15 |
| KIF5B-RET | Chuyển vị | Chưa có báo cáo | 2 |
| ROS1-FIG | Chuyển vị | Chưa có báo cáo | 2 |
| KRAS | Đột biến | Rất hiếm | 10-30 |
| BRAF | Đột biến | Rất hiếm | 1-3 |
| FGFR1 | Khuếch đại | 20 | Chưa báo cáo |
| DDR2 | Đột biến | 4 | Chưa báo cáo |
| PIK3CA | Khuếch đại/copy | 30 | 2-6 |
| | Đột biến | 2-6 | 2-6 |

### 18.12.2. Adenocarcinoma

Adenocarcinoma phổi là các khối u không đồng nhất về mặt sinh học cũng như mô học. Hầu hết adenocarcinoma (khoảng 90%) đều có các mẫu (pattern) tăng trưởng mô hỗn hợp, bao gồm acinar (nang tuyến), papillary (u nhú), lepidic (sự tăng trưởng đặc biệt của một khối u cùng một cấu trúc phế nang) (trước đây gọi là ung thư tuyến phế nang tiểu phế quản [bronchioloalveolar carcinoma]- BAC), vi u nhú và các mẫu rắn (solid pattern). Người ta đã nỗ lực thiết lập mối tương quan giữa các tính chất tổ chức học và những bất thường phân tử nhưng không thành công.

Hơn một thập kỷ qua, những tiến bộ đáng kể đã đạt được trong việc xác định tính chất của các bất thường phân tử trong adenocarcinoma phổi. Tương tự như SCC, adenocarcinoma phổi thường thể hiện có sự bất hoạt các gen KCKU, bao gồm cả TP53 và $p16^{INKa}$. Trình tự DNA của 18 adenocarcinoma phổi bao gồm 623 gen có quan hệ tiềm năng với ung thư đã phát hiện được trên 1000 đột biến soma qua các mẫu và 26 gen đột biến với tần số cao đáng kể. Các gen gây ung thư thường hay đột biến gồm có gen TK HER2, gen receptor đa ephrin (đáng chú ý là EPHA3), gen receptor yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu KDK và gen TK hướng thần kinh (neurotropic TK) (gen NTRK).

Trong thập kỷ qua, adenocarcinoma phổi đã phát sinh ở những người chưa bao giờ hút thuốc hoặc nghiện nhẹ điều đó đã cho thấy có một tần số cao đáng kể các bất

thường ở gen ung thư đích, bao gồm EGFR và các đột biến kích hoạt domain HER TK và sự chuyển vị EML4-ALK (Bảng 18.1, Hình 18. 2). Gần đây, 2 chuyển vị gen đích tiềm năng phụ KIF5B-RET (10p; 11q)(p11.22;q11-21) và ROS1 –FIG (nhiễm sắc thể 6q22) đã được xác định ở các thể adenocarcinoma phổi từ những người chưa hề hút thuốc. Các bất thường gen đích tiềm năng khác cũng đã được phát hiện ở các tổ chức học NSCLC, bao gồm cả đột biến và khuếch đại PIK3CA, khuếch đại MET (7q21-q31), đột biến ATK1 và MAP2K1.

Các đột biến EGFR trong UTP được giới hạn với 4 exon đầu tiên của domain TK (exon 18 – 21) là những đột biến thường xuyên nhất trong xóa khung đọc ở exon 19 (44% tất cả các đột biến) và các đột biến sai nghĩa ở exon 21 (41% tất cả các đột biến). Ngoài ra, nhân đôi/chèn thêm trong khung đọc cũng xảy ra ở exon 20 với khoảng 5% các trường hợp đột biến, và các đột biến sai nghĩa hiếm cũng có xảy ra ở nhiều vị trí. Các đột biến EGFR xảy ra nổi trội ở các adenocarcinoma (khoảng 15-48%) và thường xuyên hơn ở những người chưa từng hút thuốc 54%, còn những người đã từng hút thuốc là 16%) và các bệnh nhân là nữ giới 49%, trái lại nam giới chỉ 19%). Các đột biến EGFR kích hoạt tương quan mạnh mẽ với đáp ứng lâm sàng đối với các TKI, và hiện thời nó đang là tiêu chí quan trọng nhất để chọn lọc các bệnh nhân cho việc trị liệu EGFR TKI trong UTP. Các đột biến HER2 được mô tả là rõ ràng hơn trong tổ chức học adenocarcinoma (khoảng 2-4%) và các bệnh nhân gốc Đông Á, tiền sử chưa từng hút thuốc.

Sự chuyển vị EML4-ALK (2;5)(p23q35) với sự kích hoạt ALK sau đó đã phát hiện được khoảng 6% ở adenocarcinoma phổi. Sự chuyển vị này đặc biệt hay xảy ra ở những bệnh nhân chưa từng hút thuốc hoặc nghiện nhẹ, và nó có liên quan đến sự khởi phát sớm của khối u. Các khối u có chuyển vị EML4-ALK thường không có đột biến EGFR và KRAS. Về mặt tổ chức học, các adenocarcinoma có sự sắp xếp lại EML4-ALK đã được mô tả là rất thường xuyên ở các mẫu rắn (solid pattern) có các TB hình chiếc nhẫn, những sự chuyển vị này có thể xác định được ở tất cả các phân nhóm tổ chức học của adenocarcinoma phổi.

Các đột biến KRAS phổ biến nhất trong adenocarcinoma phổi so với các dạng tổ chức học NSCLC khác và thường xuyên hơn ở các khối u từ các bệnh nhân có tiền sử hút thuốc ( khoảng 30%). Trong UTP, các đột biến KRAS được phát hiện tại codon 12,13 và 61 và chúng (42% tất cả các đột biến) chủ yếu là chuyển đổi GGT thành TGT để glycine biến đổi thành amino acid cysteine. Các đột biến KRAS thường không phát hiện thấy trong các khối u có đột biến EGFR và có liên quan tới tỷ lệ đáp ứng thấp với trị liệu EGFR-TKI. Các gen gây ung thư BRAF có thể được kích hoạt ở NSCLC.

Hầu hết các adenocarcinoma phổi (70-80%) đều biểu hiện protein yếu tố sao chép tuyến giáp - 1 (TTF-1) được mã hóa bởi gen TITF-1, cũng được gọi là NKX2-1. TTF-1 là một yếu tố sao chép có chứa homeodomain biểu hiện một sự khởi đầu về hình thành

hình thái học phổi ở các TB biểu mô. Gen TITF-1 được đề xuất là một gen ung thư đặc hiệu dòng, và sự khuếch đại gen đã phát hiện được khoảng 11% ở adenocarcinoma phổi, trong đó có sự tương quan với tỷ lệ sống sót thấp ở các khối u đã được phẫu thuật cắt bỏ. Tuy nhiên, trái ngược với các tính chất của một gen ung thư chính thống, sự biểu hiện của các protein TTF-1 ở adenocarcinoma lại tương quan với kích thước khối u nhỏ hơn, thấp hơn giai đoạn bệnh lý học của các nốt u di căn (TNM) và tỷ lệ sống sót cao hơn.

### 18.12.3. Những tổn thương "tiền thân" của NSCLC

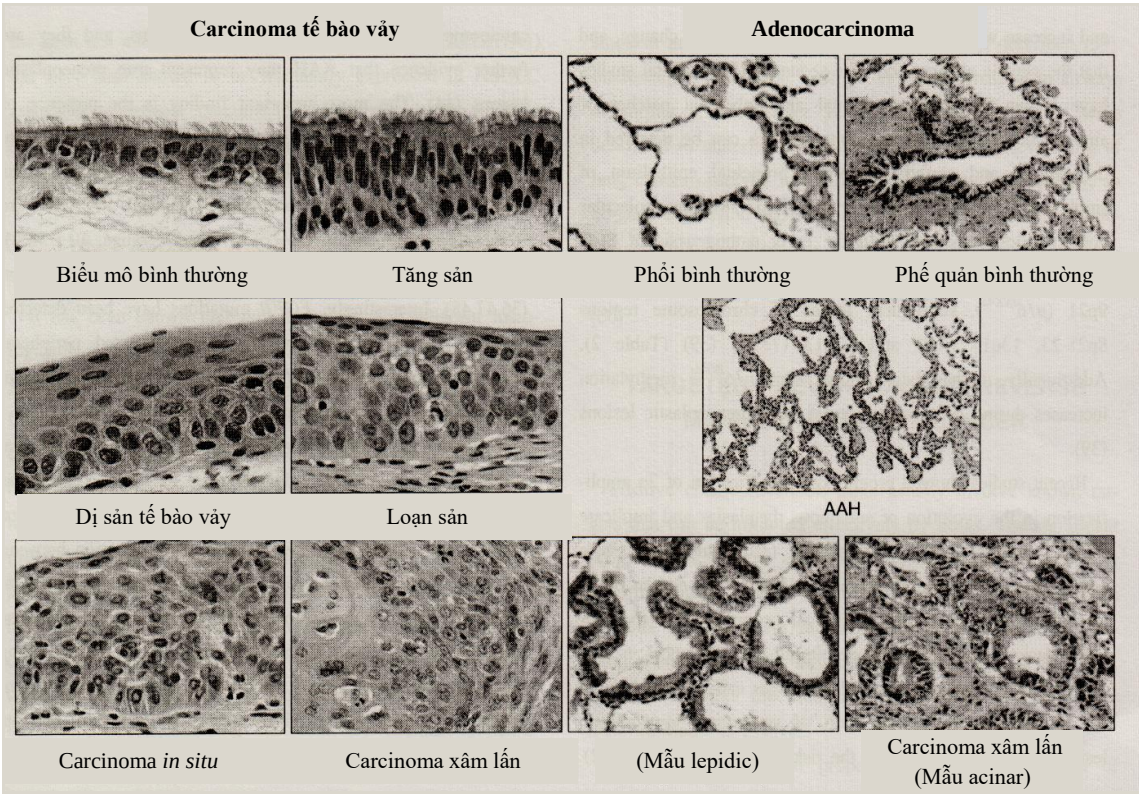
Các UTP được cho là phát sinh sau hàng loạt các biến đổi bệnh lý (tổn thương tiền ung thư  hoặc tổn thương tiền thân [có từ trước]) (Hình 18.3). Đối với NSCLC, Một bảng phân loại tổ chức học các tổn thương tiền xâm lấn của phổi với 2 tổn thương tiền ung thư và các hình thái học chủ yếu đã được WHO liệt kê năm 2004. Theo đó bao gồm:

*a/ Loạn sản và carcinoma TB vảy in situ (carcinoma in situ - CIS)*

*b/Tăng sản adenomatous không điển hình (atypical adenomatous hyperplasia - AAH)* (Bảng 18.2) . Trong khi những biến đổi tuần tự tiền ung thư đã được xác định ở SCC thì lại có rất ít tài liệu về tổ chức học của adenocarcinoma và các ung thư phổi khác (ví dụ carcinoma lớn [large carcinoma], carcinoma phổi TB nhỏ v.v..). Những thay đổi về niêm mạc tại đường hô hấp lớn có lẽ xảy ra trước SCC xâm lấn, bao gồm loạn sản TB vảy và CIS. Adenocarcinoma có thể được bắt đầu bằng sự thay đổi hình thái học bao gồm cả AAH trong đường hô hấp ngoại vi (peripheral airway)

***Bảng 18.2**. Những bất thương phân tử và tổ chức học của các tổn thương tiền thân NSCLC*

| Những bất thường | Adenocarcinoma | Carcinoma tế bào vảy |
|---|---|---|
| ***Tổ chức học*** | | |
| Tổn thương | AAH | Loạn sản, carcinoma tế bào vảy *in situ* |
| Định vị | Mô mềm của phổi (ngoại biên) | Màng nhầy phế quản (trung tâm) |
| ***Phân tử*** | | |
| Những bất thường gen | Đột biến KRAS | TP53 LOH và sự đột biến |
| | Đột biến EGFR | Khuếch đại SOX2 |
| | Methyl hóa p16 | Methyl hóa p16 |
| Bất ổn định di truyền | Thấp | Trung bình |
| LOH | Thấp | Trung bình |
| Vùng NST có LOH | 9p21, 17p/TP53 | 8p21-23, 17p/TP53 |




**Hình 18.3.** Những bất thường tuần tự về tổ chức học có liên quan đến bệnh sinh học của carcinoma và adenocarcinoma tế bào vảy của phổi. Những biến đổi niêm mạc ở đường hô hấp lớn trước carcinoma tế bào vảy xâm lấn bao gồm tăng sản, dị sản vảy, loạn sản vảy và carcinoma in situ. Các tổn thương loạn sản có thể khác nhau về mức độ: ôn hòa, trung bình và nghiêm trọng. Tăng sản adenocarcinoma không điển hình (AAH) được coi như là tiền thân của adenocarcinoma, đặc biệt là với các mẫu lepidic mở rộng (trước kia gọi là mẫu BAC). AAH là một tổn thương trung mô biệt lập phát sinh ở túi phổi gần với phần tận cùng và phế quản phổi.

(Theo Ignacio I. Wistuba. J lung cancer 2012; 11(1):12-20)

## ❑ *Tổn thương tiền ung thư tế bào vảy*

Những biến đổi niêm mạc ở đường hô hấp lớn trước khi SCC xâm lấn bao gồm: Tăng sản, dị sản TB vảy, loạn sản TB vảy và CIS (Hình 18.3). Những tổn thương của loạn sản TB vảy có thể có các mức độ khác nhau (nhẹ, trung bình và nghiêm trọng). Tuy nhiên, những tổn thương đại diện cho sự biến đổi tổ chức học và tế bào học có tính chất liên tục cho thấy, có một số chồng chéo giữa các thể loại. Có ít thông tin về tỷ lệ và những nguy cơ của sự tiến triển loạn sản TB vảy tới CIS và cuối cùng tới SCC xâm lấn.

Mô hình thực nghiệm hiện nay về những bất thường phân tử tuần tự trong bệnh sinh học SCC đã chỉ ra những bất thường di truyền (đứt đoạn, bất ổn định di truyền) và các biến đổi khác khởi đầu ở các tổ chức biểu mô bình thường và mức độ nghiêm trọng của sự thay đổi mô học càng gia tăng cùng với những biến đổi di truyền theo trình tự.

Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng, nhiều bất thường phân tử có thể được xác định ở các biểu mô phế quản bất thường nhẹ và phế quản bình thường của những người hút thuốc và các bệnh nhân ung thư phổi. Những bất thường phân tử có liên quan đến bệnh sinh học giai đoạn sớm của SCC, bao gồm mất allele tại nhiều vùng nhiễm sắc thể 3p và 9p21 ($p16^{INK4a}$), mất liên tục các vùng nhiễm sắc thể 8p21-23, 13q14 (RB) và 17p13 (TP53) (Bảng 18.2.). Hơn nữa, người ta đã chứng minh được rằng, sự methyl hóa $p16^{INK4a}$ tăng lên trong quá trình tiến triển các tổn thương tiền ung thư SCC.

Một số nghiên cứu gần đây chỉ rõ, những bất thường phân tử có liên quan với sinh bệnh học SCC sớm bao gồm mất allele ở nhiều vùng của nhiễm sắc thể 3p và 9p21 ($p16^{INK4a}$), mất tiếp theo là các vùng nhiễm sắc thể 8p21, 13q14 (RB), và 17p (TP53). Ngoài ra người ta còn chỉ ra rằng, sự methyl hóa $p16^{INK4a}$ tăng lên trong quá trình tiến triển của các tổn thương tiền ung thư SCC.

Những nghiên cứu gần đây cũng chỉ rõ những khuếch đại liên tiếp của khuếch đại 3q trong sự tiến hóa của loạn sản TB vảy đã chứng minh SOX2 được xem như là một đích chủ chốt của quá trình này. Điều thú vị là, trong một nhóm nhỏ các tổn thương loạn sản TB vảy ở mức độ khếch đại 3q lại liên quan tới sự tiến triển lâm sàng của các tổn thương tiền thân. Tuy nhiên, bất chấp tất cả những tiến bộ này, không có đặc trưng mô học nào hay những biến đổi phân tử nào có thể được sử dụng một cách tin cậy, vì vậy nó chỉ có thể được sử dụng để đánh giá nguy cơ phát triển SCC.

- ***Tổn thương tiền thân adenocarcinoma***

Có ý kiến cho rằng, adenocarcinoma có thể được bắt đầu bằng AAH ở các tế bào đường hô hấp ngoại vi (Hình 18.3). Tuy nhiên, cấu trúc của đường hô hấp và các dạng TB biểu mô đặc hiệu liên quan đến cội nguồn của adenocarcinoma thì vẫn chưa rõ.

AAH là một tổn thương nhu mô biệt lập nảy sinh ở túi phổi (alveolar). Do kích cỡ của chúng nên AAH thường là các phát hiện tổ chức học có tính chất ngẫu nhiên. Nhưng chúng cũng có thể được phát hiện rất nhiều, đặc biệt nếu đường kính là 0,5 cm hay lớn hơn. Sử dụng vi tính cắt lớp phân giải cao để sàng lọc vẫn là một trong những chẩn đoán phân biệt quan trọng nhất đối với các tổn thương ngoại vi. Nguồn gốc của AAH vẫn chưa rõ, nhưng kiểu hình của sự biệt hóa xét về những đặc tính hóa miễn dịch và siêu cấu trúc thì người ta cho rằng nó có nguồn gốc từ các TB tiền thân đường hô hấp ngoại vi, như các tế bào Clara và phế bào type II.

Một số biến đổi phân tử thường xuyên hiện diện ở adenocarcinoma phổi cũng có mặt trong các tổn thương AAH và có thêm bằng chứng cho rằng AAH có thể đại diện cho các tổn thương tiền ung thư thật sự. Phát hiện quan trọng nhất là sự có mặt các đột biến KRAS (codon12), trong đó AAH lên đến 30%, đó là các biến đổi tương đối thường xuyên ở adenocarcinoma phổi. Những sự biến đổi phân tử khác phát hiện được ở AAH

là sự biểu hiện quá mức cyclin D1 (khoảng 70%), p53 (10-56%), survivin (48%) và protein HER2/neu (70%). Điều thú vị là, các đột biến EGFR đã được phát hiện ở một số trường hợp AAH đi kèm với adenocarcinoma ngoại vi đã được cắt bỏ, điều đó cho ta thêm bằng chứng để khẳng định rằng chúng đại diện cho các tổn thương tiền thân của adenocarcinoma ngoại vi.

Tuy nhiên, các cấu trúc đường hô hấp và các dạng TB biểu mô đặc hiệu liên quan đến nguồn gốc của hầu hết các adenocarcinoma phổi thì vẫn chưa rõ và các ứng cử viên bao gồm các tế bào Clara, các tế bào phế nang type II và các TB biểu mô định vị ở ngã ba giữa các tiểu phế quản tận cùng (terminal bronchiole) và phế nang (alveolus) có tên là các tế bào gốc của phế nang tiểu phế quản (bronchioalveolar stem cell – BASC). Ngoài ra, adenocarcinoma phổi có thể nảy sinh từ biểu mô phế quản hoặc tiểu phế quản, vì sự đột biến kích hoạt EGFR đã được phát hiện ở biểu mô phế quản bình thường nơi tiếp giáp với adenocarcinoma đột biến EGFR ở 43% số bệnh nhân.

### 18.12.4. Tế bào tiền thân ung thư phổi hay các tế bào gốc

Một cách kinh điển thì, các TB gốc định vị ở các "niche" chuyên hóa và nó duy trì lâu dài sự cân bằng nội mô để được bảo tồn trong suốt cuộc đời của chúng. Như vậy, các TB gốc thường xuyên phải trải qua các chu kỳ và các bộ phận của TB gốc được xác định dựa trên những đặc trưng này. Hiện nay, người ta tin rằng có ít nhất 4 niche TB gốc hiện diện trong biểu mô đường hô hấp của người lớn: các TB đáy ống dẫn tuyến (gland duct basal cell), các TB đáy bề mặt vùng liên sụn (inter-cartelagenous zone), các tế bào Clara tiểu phế quản (bronchiolar Clara cell) có liên quan đến các thể TB thần kinh nội tiết phổi và các tế bào Clara biến thể ngã ba ống tiểu phế nang phế quản (bronchioloalveolar duct junction variant Clara cell).

Từ các mô hình nghiên cứu trên chuột, người ta đã chứng minh được rằng BASC là các "khởi đầu" TB gốc chính thức của KRAS cảm ứng adenocarcinoma NSCLC. Hơn nữa, để xác định các BASC, một số marker TB gốc cho các khối u phổi đã được xác định. Nghiên cứu kỹ lưỡng nhất về các marker TB gốc ung thư là CD133, nó đã được chứng minh là có biểu hiện ở NSCLC và các khối u phổi khác (ví dụ, carcinoma tế bào nhỏ). Gần đây, aldehyde dehydrogenase marker tế bào gốc đã được chứng minh là thường được biểu hiện ở NSCLC và liên quan đến kết cục của bệnh nhân. Tuy nhiên, mặc dù đã có rất nhiều công trình nghiên cứu nhưng tổ tiên hoặc tế bào gốc của UTP người vẫn chưa xác định được.

### 18.12.5. Ung thư hóa đường hô hấp

Người ta đã chỉ ra rằng, các khối u của người và các mô liền kề bình thường về tổ chức học đều có chia sẻ những bất thường phân tử, một hiện tượng được đặt ra như là *sự ung thư hóa*. Khái niệm ung thư hóa lần đầu tiên được đưa ra vào năm 1953 với ung

thư miệng. Sau đó lĩnh vực ung thư hóa còn liên quan đến những biến đổi phân tử và tổ chức học đường hô hấp của những bệnh nhân UTP và những người hút thuốc bắt đầu thể hiện các đặc trưng. Việc phân tích chi tiết biểu mô bình thường về tổ chức học, biểu mô tiền ác tính và biểu mô ác tính từ những người hút thuốc và những bệnh nhân SCC đã cho thấy có sự xảy ra liên tiếp đứt đoạn nhiễm sắc thể đặc hiệu allele và sự bất ổn định hệ gen bắt đầu ở những locus độc lập phân tán dòng trong bệnh sinh học của u ác tính này, bao gồm cả biểu mô phế quản bình thường về tổ chức học. Hơn nữa, người ta đã chứng minh rằng, các đột biến KRAS và EGFR cũng đã phát hiện được ở mô phổi bình thường về tổ chức học định vị ở ngoại vi, nơi tiếp giáp với adenocarcinoma phổi. Việc phát hiện với tần số cao các đột biến EGFR ở các TB bình thường thu nhận được từ tiểu phế quản gần với khối u đã cho thấy có sự hiện diện của hiệu ứng có tính chất cục bộ trong bệnh sinh học adenocarcinoma phổi. Những sự quan sát này  hay khác cho thấy có sự phân chia thành các phần riêng biệt (compartmentation) của sự ung thư hóa và những khác biệt giữa SCC và adenocarcinoma có thể phản ánh được các cơ chế khác nhau của bệnh sinh học các phân nhóm NSCLC này.

### 18.12.6. Sự phòng ngừa đích và di cư ngược trong ung thư phổi

Những thử nghiệm về phòng ngừa hóa học thường liên quan đến các đích có thể bị ức chế một cách hiệu quả bởi thuốc. Những tiến bộ đáng kể đạt được trong việc xác định các đặc trưng của các bất thường phân tử đích trong các khối u NSCLC đã cho một cơ hội duy nhất sử dụng kiến thức này nhằm phát triển các chiến lược phòng ngừa hóa học mới nhờ việc sử dụng các tác nhân đích phân tử. Tuy nhiên, những kiến thức của chúng ta về bệnh sinh học phân tử ung thư phổi thì vẫn cần phải được nâng cao hơn nữa.

Gần đây người ta đã đề xướng các vấn đề như "di cư ngược" trên các marker phân tử, pharmacogenomics, và trị liệu đích với NSCLC tiến triển bằng phòng ngừa hóa học. Sự di cư ngược là một chiến lược hiệu quả, một số giả định có tính hiện thực là: 1/tế bào tiền ác tính chia sẻ các đặc tính phân tử với các tế bào ác tính; 2/trị liệu đích hiệu quả các tế bào ác tính có thể được áp dụng đối với các tổn thương tiền thân và 3/các dấu ấn sinh học tiên đoán có thể được áp dụng đối với các bệnh nhân có nguy cơ ác tính. Những kiến thức hiện đại về bệnh sinh học NSCLC cho thấy những giả định này có thể là đúng, do đó có cơ hội sử dụng các tác nhân đích để phòng ngừa hóa học sơ cấp, trung cấp và cao cấp trong ung thư phổi đặc biệt là với NSCLC.

## 18.13. BỆNH SINH HỌC PHÂN TỬ UNG THƯ PHỔI TẾ BÀO NHỎ

Ung thư phổi tế bào nhỏ (small cell lung cancer - SCLC) chiếm tới 13% các trường hợp ung thư được chẩn đoán ở Hoa Kỳ. Mặc dầu là một bệnh nhạy cảm với hóa trị và xạ trị, nhưng SCLC tái phát rất nhanh và chỉ có 5% số bệnh nhân sống sót được 5

năm. Tiên lượng ảm đạm này vì trên 3 thập kỷ qua không có sự sửa đổi lớn nào về tiêu chuẩn chăm sóc bệnh nhân. SCLC có những thay đổi sinh học độc quyền về tế bào và phân tử đặc hiệu và nó là chủ đề của các nghiên cứu. Ở đây chúng tôi chỉ tóm lược những biến đổi chính dẫn đến bệnh sinh học của SCLC: những thay đổi nhiễm sắc thể; rối loạn điều hòa các gen KCKU, các gen ung thư và các con đường tín hiệu; sự điều hòa lên receptor tyrosine kinase, các yếu tố tăng trưởng, và các marker tế bào; sự dai dẳng của các con đường phát triển. Mỗi đại diện này đều là một đích tiềm năng cho trị liệu và nhiều tác nhân sinh học đang được nghiên cứu.

### 18.13.1. Những bất thường nhiễm sắc thể

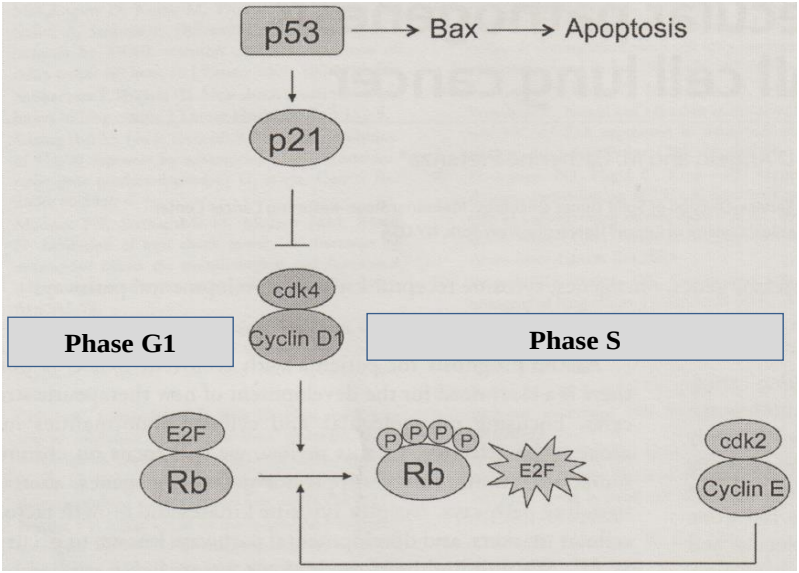
❑ ***Biến đổi nhiễm sắc thể***

Ở SCLC và các khối u biểu mô khác có nhiều khác thường NST đã được phát hiện, nó phản ánh sự bất ổn định của hệ gen. Phần lớn các SCLC đều có các đứt đoạn gây ảnh hưởng đến nhiều vị trí trên NST, với việc mất định kỳ tại 3p,5q, 13q và 17p, đó là các locus của các gen KCKU trong đó có cả p53. Các phân tích lai tạo so sánh hệ gen đã chỉ rõ rằng, nhiều SCLC có chứa 1p, 2p, 5p, 8q và 19p. Những vùng này mã cho các gen ung thư đã biết như MYC và KRAS. Các dòng tế bào SCLC phát hiện thấy có khuếch đại 1p, 2p và 3p cùng với sự loại bỏ 18q, chứng tỏ sự tấn công mãnh liệt của bệnh.

Mất allele trên nhiễm sắc thể 3p xảy ra với tần số cao hơn 90% ở SCLC có lẽ là một sự kiện sớm phát hiện được ở ung thư phổi. Những khu rõ ràng bị mất đã được xác định là 3p21.3, 3p12, 3p14.2 và 3p24. Một số gen trên các vùng này có hoạt tính kiềm chế khối u và thường bị mất biểu hiện do các cơ chế epigenetic.

Các gen KCKU 3p21 bao gồm RASSF1A, FUS1, SEMA3B và SEMA3F. Gen RASSF1A bị bất hoạt bởi cường methyl hóa thu được promoter khối u. Nó mã hóa cho một protein tương tự như các protein hiệu ứng của RAS và bị bất hoạt trên 90% ở SCLC. RASSF1 được chỉ rõ là có liên quan đến các con đường chu kỳ tế bào, apoptosis và sự ổn định của các vi ống. Gen FUS1 dạng hoang dã cảm ứng việc dừng lại ở phase G1 và apoptosis. Một thử nghiệm lâm sàng sử dụng việc chuyển gen FUS1 hạt nano đang được tiến hành trên ung thư phổi tiến triển.

Bộ ba histidine dễ gẫy (FHIT) định vị ở 3p14.2 bị xóa bỏ đồng hợp tử xảy ra 100% ở SCLC. FHIT điều hòa các receptor chết. Các nghiên cứu tiền lâm sàng đã chỉ ra rằng, việc thâm chuyển FHIT dạng hoang dã vào trong các tế bào ung thư đã gây cảm ứng apoptosis. Vùng 3p24 có chứa các gen RARβ bị methyl hóa 72% ở SCLC, dẫn đến mất sự biểu hiện của nó. RARβ giữ vai trò quan trọng trong việc điều hòa tăng trưởng các TB biểu mô và kiềm chế việc sinh khối u.




**Hình 18.4**. Với tư cách là người gác cổng của tế bào, p53 tác động với tư cách điều hòa xuống sự tăng sinh tế bào. Nhờ việc đích p21 mà nó gắn được với phức hợp cyclin D1/cdk4, p53 gây dừng chu kỳ tế bào tại phase G1. Một cơ chế theo đó p53 gây nên apoptosis thông qua việc tăng tổng hợp Bax. Sau đó, Bax ngăn chặn Bcl-2, một chất kháng apoptosis. Con đường p16/Rb được trung gian qua sự chuyển tiếp G1/S. Phức hợp cyclinD1/cdk4 phosphoryl hóa Rb. Khi Rb đã được phosphoryl hóa thì E2F được kích hoạt gây nên sự chuyển tiếp tới phase S. Trong khi ở phase S thì Cyclin E và cdk2 sẽ kiểm soát sự phosphoryl hóa Rb.

(Theo Sandra P. D'Angelo và M. Catherine Pietanza. Cancer Biology & Therapy 10:1, july 2010)

❑ ***Telomerase***

Telomerase là các trình tự lặp nucleotide (TTAGGG) định vị ở cuối NST làm nhiệm vụ bảo vệ NST khỏi bị thoái hóa và sự chết của tế bào. Mỗi lần phân chia tế bào đều dẫn đến mất các trình tự DNA của telomere. Telomerase là một DNA polymerase phụ thuộc RNA có thể bổ chính (bù lại) sự mất mát của những trình tự DNA này do việc tổng hợp các lặp telomeric ở các TB phân chia (sao chép). Tiểu đơn vị xúc tác (hTERT) và tiểu đơn vị telomerase RNA (hTR) tạo nên telomerase. Trong các TB biệt hóa cuối cùng thì hoạt tính telomerase bị yên lặng. Các TB có được sự bất tử là do bổ chính lại sự mất mát các lặp telomeric do tái kích hoạt telomerase, dẫn đến việc phân chia tế bào vô hạn định. Trên 98% SCLC có sự điều hòa lên hTR và hoạt tính telomerase. Rất nhiều gen đã được nghiên cứu với các thử nghiệm lâm sàng đích telomerase phase sớm, bao gồm GV1000 (vaccine peptide tổng hợp, hTERT), relemelysin (OBP-301, một virus gây ung thư đặc hiệu telomerase) và GRN1631 (chất đối kháng [antagonist] vùng khuôn mẫu RNA của hTR).

### 18.13.2. Các gen kiềm chế khối u

Gen KCKU p53 định vị trên nhiễm sắc thể 17p13.1, là "người gác cửa" (gatekeeper) cho các TB, bảo vệ TB kháng lại sự bất ổn định di truyền nhờ việc điều

hòa con đường đáp ứng với sự hư hại và sự sống sót của TB. Nó tác động như là một yếu tố điều hòa âm sự tăng sinh TB nhờ các gen điều hòa xuống liên quan đến việc dừng chu kỳ TB (phase G1 và G2), sửa chữa DNA (GADD45) và apoptosis (BAX).

p53 giữ vai trò chủ chốt trong việc phát triển SCLC. Các đột biến bất hoạt p53 được phát hiện khoảng 90% ở SCLC, trong đó hầu hết là các đột biến sai nghĩa ở domain liên kết DNA và một lượng nhỏ là xóa bỏ đồng hợp tử. 40-70% SCLC có biểu hiện protein p53 bất thường. Các đột biến p53 tương quan với việc hút thuốc, đặc biệt là sự chuyển dịch GC thành TA do chất gây ung thư benzopyrene có trong khói thuốc là.

p53 thể đột biến biểu hiện cao hơn và làm kéo dài thời gian bán sống của các TB ung thư, do đó cần phải bắt nó tuân thủ trị liệu miễn dịch ung thư. Các nghiên cứu tiền lâm sàng đã chứng minh rằng, một loại vaccine bao gồm các tế bào tua (dendritic cell) tải nạp với p53 dạng hoang dã của người có chứa adenovirus tái tổ hợp (DC-Ad-p53) đã gây đáp ứng kháng u. Những quan sát này đã dẫn đến thử nghiệm lâm sàng phase I/II với việc sử dụng vaccine này trên các bệnh nhân SCLC giai đoạn mở rộng, những người đã hoàn tất trị liệu hóa học với nền tảng platinum. Các tác giả chỉ rõ, vaccine này là an toàn, gây đáp ứng từng phần ở một số nhỏ bệnh nhân và sau đó là trị liệu hóa học cứu hộ để làm tăng các đáp ứng tiêu điểm. Một thử nghiệm lâm sàng phase II ngẫu nhiên sử dụng vaccine kết hợp cùng hóa trị trên các bệnh nhân SCLC đang được tiến hành.

❑ ***Retinoblastoma (U nguyên bào võng mạc)***

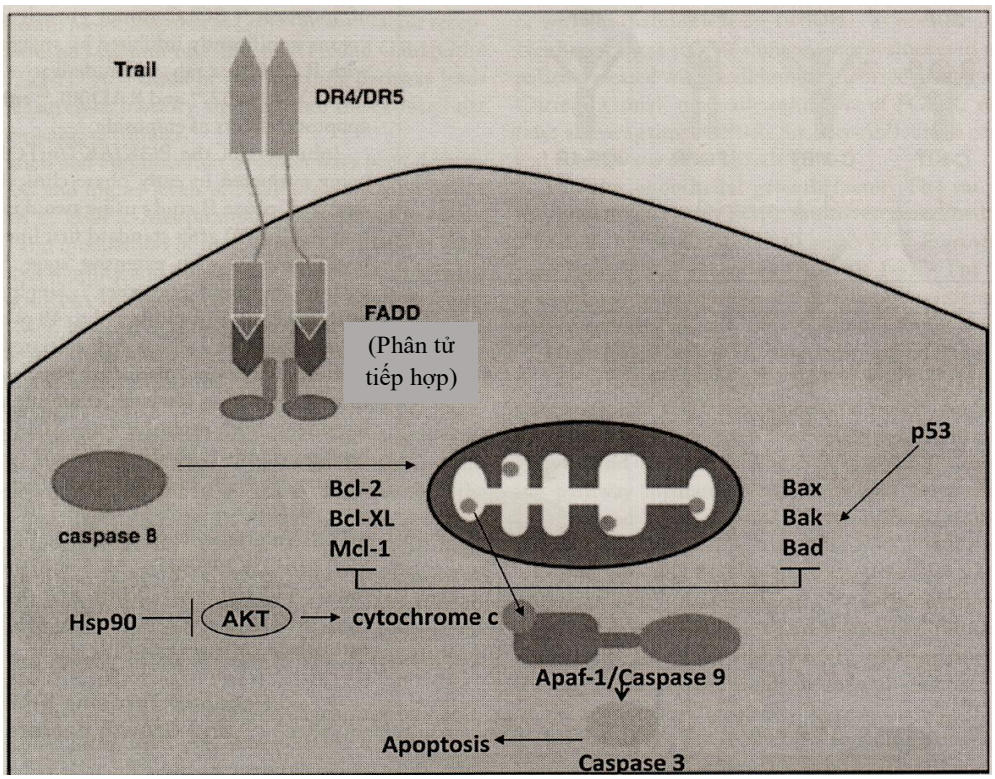
Con đường $p16^{INK4}$ cyclin D1-CDK4-Rb chủ yếu là làm trung gian cho sự chuyển đổi G1/S của chu kỳ TB. Trong SCLC, những bất thường hay thấy nhất của con đường này xảy ra ở gen RB. RB cường phosphoryl hóa là một thể (form) kiềm chế tăng trưởng, nó kiểm soát các yếu tố sao chép E2F1, E2F2và E2F3 cần cho sự chuyển đổi G1/S. Khi gắn với RB cường phosphoryl hóa thì E2F ở dạng bất hoạt, gây nên dừng TB ở phase G1. Phức hợp cyclin D1/CDK4 phosphoryl hóa RB, đến lượt mình nó lại giải phóng E2F cho phép nó hoạt hóa và chuyển dịch TB tới phase S. (Hình 18.4). Hơn nữa, RB cường phosphoryl hóa cũng kiềm chế apoptosis do nó kiềm chế các gen đích tiền apoptosis khác, bao gồm yếu tố hoạt hóa apoptotic protease 1 (Apaf -1) và caspase. Ở phase S, cyclin E và cdk2 kiểm soát sự phosphoryl hóa RB.

Các dạng đột biến xảy ra ở gen RB bao gồm đứt đoạn, đột biến sai nghĩa và bất thường ghép nối. Mất toàn bộ hay một thể đột biến của Rb hiện diện đến trên 90% các trường hợp SCLC. Vì tất cả các TB bình thường đều biểu hiện Rb chức năng nên các thuốc đích các TB có Rb bất hoạt hoặc đã bị xóa bỏ sẽ là các ứng cử viên thích hợp cho việc thử nghiệm trên các bệnh nhân SCLC. Những thuốc như thế bao gồm các chất ức chế protein sốc nhiệt 90 (Hsp90), vấn đề này sẽ được thảo luận sâu hơn.

### 18.13.3. Các gen ung thư không receptor

❑ ***Gen Bcl-2***

Bcl-2 là một trong số các protein của họ điều hòa sự chết của TB và các cơ chế apoptosis, sự hoại tử và tự thực bào (autophagy). Nó định vị trong ty thể và lưới nội chất. Họ Bcl-2 bao gồm các protein kháng apoptotic (bcl-2, bcl-x và mcl-x) và các protein tiền apoptotic (bax, bak và bad). Sự chết theo chương trình của TB xảy ra là do tín hiệu bên ngoài khi ligand cảm ứng apoptotic receptor yếu tố hoại tử khối u (tumor necrosis factor-receptor apoptosis-inducing ligand [TRAIL]) gắn với receptor chết (DR4 hoặc DR5) hoặc tín hiệu ngoại sinh được cảm ứng bởi các tác nhân gây tổn hại DNA. Có sự cân bằng giữa các protein tiền apoptosis và các phân tử kháng apoptotic điều hòa việc giải phóng cytochrome C từ ty thể vì vậy mà kiểm soát được tốc độ hoạt hóa caspase và sự chết của TB. Bcl-2 thúc đẩy sự sống sót của TB do ức chế tác động tiền apoptotic của bax và bak (Hình 18.5).




**Hình 18.5** Sự chết theo chương trình của tế bào xảy ra thông qua tín hiệu ngoại sinh khi TRAIL (tumor necrosis factor apoptosis induced ligand) gắn với các receptor chết (DR4/5) hoặc thông qua tín hiệu nội sinh được cảm ứng bởi các tác nhân gây tổn hại DNA. Sự cân bằng giữa các protein tiền apoptotic (bax, bak và bad) và các protein kháng apoptotic (bcl-2, bcl-xl, mcl-1) sẽ làm điều tiết việc giải phóng cytochrome C khỏi ty thể, cuối cùng dẫn đến hoạt hóa caspase và sự chết của TB. Hsp90 đáp ứng cho việc cuộn lại protein của các protein thân chủ như AKT, MET, bcl-2, telomerase và Apaf-1. Sự bất hoạt của AKT dẫn đến kích hoạt cytochrome C rồi sau đó dẫn đến apoptosis.

(Theo Sandra P. D'Angelo và M. Catherine Pietanza. Cancer Biology & Therapy 10:1, july 2010)

Những sự thay đổi trong biểu hiện bcl-2 sẽ dẫn đến bệnh sinh học và sự tiến triển ác tính ở người. Protein bcl-2 kháng apoptotic biểu hiện quá mức một cách điển hình trong nhiều khối u ác tính và sự biểu hiện của chúng tương quan với tính nhạy cảm của thuốc. Sự điều hòa lên Bcl-2 hiện diện với 75-95% ở SCLC. Sự ức chế của bcl-2 thể hiện hoạt tính kháng u ở các dòng tế bào SCLC cũng như ở các mô hình ghép ngoại lai. Một trong số các tác nhân đầu tiên phát triển trong lâm sàng là oblimerson - một antisense oligonucleotide đích bcl-2, không thể hiện nâng cao sự sống sót khi bổ sung thêm etoposisde và carboplatin trong thử nghiệm phase II được thực hiện bởi nhóm nghiên cứu các bệnh bạch cầu và ung thư. At-101, ABT 263 và GX15-070 là các hợp chất ức chế bcl-2 và các thành viên khác của họ đã được thử nghiệm lâm sàng với các bệnh nhân SCLC.

❑ ***Gen Myc***

Họ các gen MYC mã hóa cho các protein gắn DNA nhân, c-MYC, N-MYC và L-MYC với chức năng là các yếu tố sao chép do vậy mà chúng điều hòa sự tăng sinh TB, apoptosis và sự biệt hóa. Sự biểu hiện quá mức protein được phát hiện cùng với việc kích hoạt MYC là do có sự khuếch đại gen hoặc rối loạn điều hòa sao chép. Sự kích hoạt MYC đã được báo cáo là chiếm 18-31% ở SCLC và tương quan với việc giảm sự sống sót.

### 18.13.4. Các con đường tín hiệu

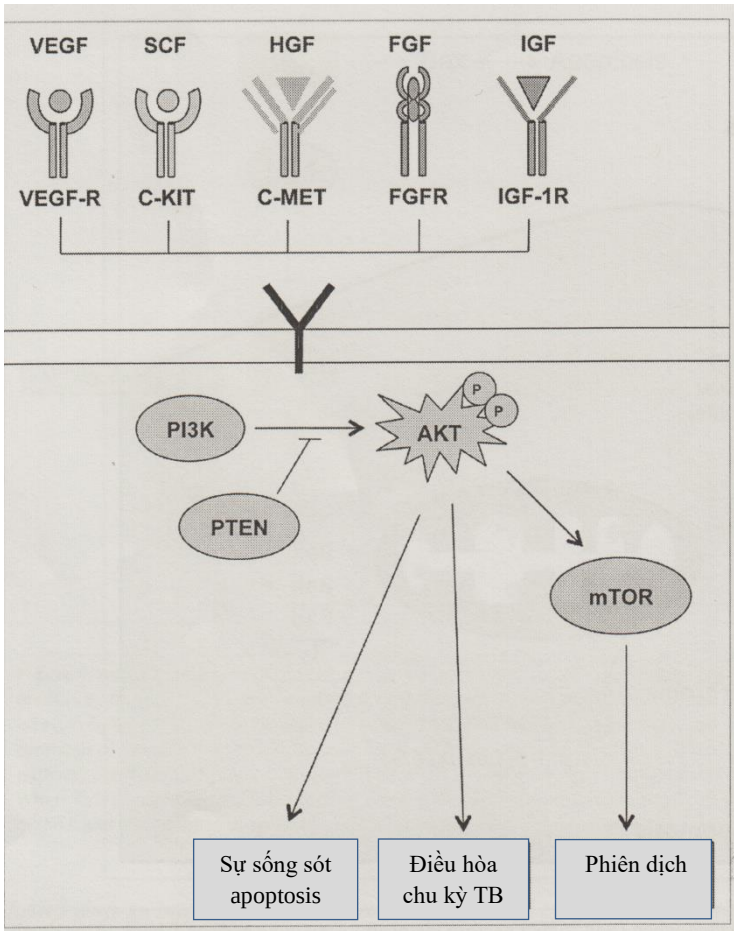
***Con đường phoshoinositide 3 kinase /AKT/mTOR***

Phosphoinositide 3 kinase (PI3K) là họ các protein kinase lipid điều hòa chức năng TB như sự tăng trưởng, sự sống sót, sự chết và sự biệt hóa TB. Nó được kích thích bởi receptor tyrosine kinase và các receptor gắn protein G, PI3K phiên dịch các tín hiệu từ nhiều yếu tố tăng trưởng và cytokine thành các bản tin nội bào nhờ việc tạo ra các phospholipid kích hoạt các con đường hiệu ứng hạ nguồn, bao gồm AKT – một serine-threonine protein kinase. Một trong  những chất trung gian hạ nguồn chủ chốt của con đường PI3K/AKT là mTOR, nó đích protein S6 kinase ribosome 1 (S6K1) và protein 1 gắn yếu tố khởi đầu phiên nhân thực 4E là (4ERP1), điều hòa tổng hợp protein. PTEN - một chất KCKU là chất điều hòa âm quan trọng nhất của con đường tín hiệu PI3K.

Con đường tín hiệu PI3K/AKT/mTOR có những khiếm khuyết trong SCLC: các tế bào SCLC có PI3K kích hoạt cấu thành và ẩn náu các đột biến PI3K và PTEN; AKT phosphoryl hóa có mặt ở 70% các khối u của các bệnh nhân SCLC và sự biểu hiện của protein mTOR, S6K1 và 4EBP1 phosphoryl hóa tăng cao ở các tế bào SCLC so với các TB biểu mô type II. Những biến đổi như thế sẽ dẫn đến tăng trưởng, kháng lại sự sống sót và hóa trị ở SCLC. Xử lý các tế bào SCLC với wormannin và LYS 294002 – những chất ức chế PI3K đặc hiệu làm giảm tăng trưởng TB và cảm ứng apoptosis. Sự tăng

trưởng khối u SLCL *in vitro* và *in vivo* bị ức chế đáng kể bởi các kháng mTOR (antagonizing mTOR) với RAD001, một dẫn chất của rapamycin. Sự phơi bày cả LYS294002 và RAD001 làm tăng cường hiệu ứng apoptosis của etoposide.

Các chất ức chế con đường PI3K/AKT/mTOR đang được đánh giá trong các thử nghiệm lâm sàng phase sớm. Một nghiên cứu phase II ngẫu nhiên sử dụng 2 liều temsirolimus (CCL-779) sau hóa trị chuẩn tuyến đầu (first- line) trong 87 bệnh nhân SCLC giai đoạn mở rộng cho thấy không có cải thiện kết quả điều trị. Một tác nhân đơn everolimus (RAD001) đã được áp dụng để điều trị cho 40 bệnh nhân SCLC thấy có dung nạp tốt nhưng hiệu quả lại bị hạn chế ở một quần thể không chọn lọc. Một thử nghiệm phase Ib đánh giá hiệu lực của cisplatin, eroposide và evorolimus ở các bệnh nhân SCLC giai đoạn mở rộng – những người không được xử lý trước đang được tiến hành. Nhiều chất ức chế PI3K (XL147, CAL-101, PK-866, GDC-0941, BKM-1290), những chất ức chế cả PI3K và mTOR (BEZ235, BGT226, XL765, SF1126, GSK1059615), các chất ức chế AKT (perifosine VQD002, MK2206) và các chất ức chế mTOR (AP23573, AZD8055, OSI1027) đã bước vào thử nghiệm lâm sàng phase sớm.




**Hình 18.6**. Receptor tyrosine kinase và các ligand của chúng thường biểu hiện quá mức trong SCLC. Các receptor tyrosine kinase khiếm khuyết và các yếu tố tăng trưởng đặc biệt trong SCLC bao gồm VEGFR/VEGE, c-Kit/SCF, c-MET/HGF/FGFvà IGF-1R/IGF. Thông qua việc hoạt hóa nhiều con đường, bao gồm cả con đường PI3K/AKT/mTOR mà ta đã biết là bị rối loạn điều hòa trong SCLC, chúng đều liên quan đến sự sống sót, apoptosis, điều hòa chu kỳ tế bào và phiên dịch.

(Theo Sandra P. D'Angelo và M. Catherine Pietanza. Cancer Biology & Therapy 10:1, july 2010)

### 18.13.5. Receptor tyrosine kinase và các yếu tố tăng trưởng

Trong SCLC có một số receptor tyrosine kinase biểu hiện quá mức. Các receptor tyrosine kinase liên quan đến sự tăng sinh, sự di cư và sự sống sót của TB thông qua sự biến đổi các mẫu oxy hoạt tính cũng như kích hoạt các phân tử dẫn truyền hạ nguồn. Các chất ức chế receptor tyrosine kinase đã trở thành các tác nhân kháng u tiềm năng ở SCLC.

❑ ***c-Kit***

C-kit là một thành viên họ PDGF/c-Kit receptor tyrosine kinase. Khi gắn với các ligand của nó, các yếu tố tế bào gốc (SCF) thì sự tăng trưởng và biệt hóa TB được khởi đầu thông qua việc hoạt hóa con đường JAK-STAT, PI3K và MAP kinase, do đó mà góp phần tiến tới phát sinh SCLC. Thông qua vòng tự tiết (autocrine loop) với SCF/c-Kit receptor và thông qua việc nâng cao hoạt tính đối với SCF nội sinh mà sự tăng trưởng TB được tăng lên. Sự biểu hiện c-Kit đã được ghi nhận với 79-88% dòng tế bào SCLC, trong đó việc biểu hiện cả c-Kit và SCF đã được thể hiện 57-70% trong các dòng tế bào SCLC.

Chất ức chế tyrosine kinase imatinib được chứng minh là ức chế tăng trưởng các tế bào SCLC do sự bất hoạt c-Kit. Tuy nhiên, trái ngược với các dẫn liệu tiền lâm sàng, imatinib được chứng minh là có hoạt tính trong SCLC vì nó được chứng minh bằng nhiều thử nghiệm lâm sàng phase II ở các bệnh nhân chưa được điều trị hoặc bị tái phát khi đã trị liệu tuyến đầu với irinotecan và carboplatin cũng như trị liệu duy trì sau hóa trị với irinotecan và cisplatin và trên cả những bệnh nhân SCLC tái phát - những người có khối u tăng biểu hiện c-Kit.

❑ ***c-Met***

Receptor tyrosine kinase c-Met được kích hoạt bởi các ligand của nó, các yếu tố tăng trưởng tế bào gan/yếu tố tiêu tan [scatter factor] (HGF/SF) và các phân tử tín hiệu hạ nguồn như Grb2 (growth factor receptor protein 2), tiểu đơn vị p85 của PI3K, STAT3 và Gab1 (Grb2 associated Binder-1). Hoạt hóa con đường tín hiệu này sẽ dẫn đến sự tăng sinh, sự sống sót, sự chết TB, sự xâm lấn vào phần chất nền (matrix) ngoại bào và hình thành nên các ống nhỏ.

Sự biểu hiện quá mức và khuếch đại c-Met đã được chứng minh trong SCLC và các mức cao hơn của HGF có liên quan đến tiên lượng xấu. HGF/c-Met thúc đẩy nhiều dạng khối u xâm lấn trong SCLC và việc điều tiết con đường c-Met/HGF dẫn đến những thay đổi về sự di cư và chết của TB. Trong SCLC, việc phong tỏa c-Met bằng các chất ức chế siRNA hoặc SUI1274 –một chất ức chế phân tử nhỏ của c-Met dẫn đến giảm hoạt hóa các chất dẫn truyền tín hiệu hạ nguồn. Nhiều chất ức chế c-Met như

XL880, ARQ197, MK2461 và PF2341066 đang được nghiên cứu với các thử nghiệm lâm sàng phase sớm.

❑ ***Receptor yếu tố tăng trưởng 1 giống insulin***

Recptor yếu tố tăng trưởng giống insulin 1 (IGF-1R), một thành viên dưới lớp receptor insulin của receptor tyrosine kinase, được hoạt hóa bởi ligand IGF-1 và IGF-2, các tín hiệu phân bào, kháng apoptotic và sự hoạt động của biến nạp. IGF-IR và ligand của nó cũng như IGF-1 biểu hiện cao trong các dòng tế bào SCLC. Mức protein IGF-1 cao trên 95% ở SCLC. IGF-IR hoạt hóa con đường PI3K-AKT ở SCLC, giữ vai trò quan trọng trong việc phát triển và tăng trưởng của bệnh cũng như kháng lại hóa trị liệu.

Con đường IGF-IR có thể bị ức chế do việc sử dụng các kháng thể đơn dòng bao gồm IMC-A12 và AMG479 đã được thử nghiệm lâm sàng và các các chất ức chế receptor tyrosine kinase như NVP-ADW742, BMS-554417 và AG1024 đang được nghiên cứu ở mức tiền lâm sàng. IMC-A12 gây ức chế tăng trưởng và nhạy cảm hóa hóa học trong các dòng tế bào SCLC khi tín hiệu PI3K-AKT cũng bị ức chế. Khi sử dụng NVP-ADW742 đơn lẻ sẽ dẫn đến hoạt tính kháng u tiềm năng, nhưng phải có sự kết hợp của AG1024 và AG1296, các chất ức chế IGFR-1 và c-Kit, chúng có sự hợp lực trong tăng sinh, ức chế và cảm ứng apoptosis trong SCLC.

❑ ***Receptor yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi***

Họ receptor yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi của các tyrosine kinase bao gồm 4 đồng dạng (isoform) khác nhau (FGFR 1-4). Khi gắn các yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi với FGFR thì các receptor sẽ tương tác với nhiều protein tín hiệu và hoạt hóa con đường tín hiệu Ras/Raf/MEK/Erkl-2 và PI3K-AKT.

Yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi cơ sở (bFGF hoặc FGF-2) có vai trò sinh học quan trọng trong SCLC. Mức độ tăng FGF-2 trong huyết thanh bệnh nhân SCLC tương quan với kết quả xấu và sự tạo mạch tích cực. FGF-2 kích thích sự tăng trưởng của SCLC và dẫn đến kháng các thuốc trị liệu hóa học. PD17074, một chất ức chế FGFR chọn lọc có tác dụng ngăn chặn tăng trưởng SCLC cả *in vitro* và *in vivo* đồng thời nâng cao đáng kể đáp ứng khi được phân phối cùng với cisplatin. Hơn nữa, FD17074 lại cảm ứng hoàn toàn các đáp ứng kéo dài hơn 6 tháng trong ghép ngoại lai, có thể do giảm tăng sinh trong khối u và tăng cường sự chết TB do apoptosis.

Thalidomide, một dẫn chất của acid glutamic có hoạt tính kháng tạo mạch và giảm sự tạo u của VEGF và bFGF đã được nghiên cứu ở 2 thử nghiệm lâm sàng phase II ngẫu nhiên. Tuy nhiên, trong cả 2 nghiên cứu đều cho thấy hóa trị liệu có hoặc không có thalidomide với trị liệu duy trì 2 năm thì không có nghiên cứu nào chứng minh được là có nâng cao kết quả kết quả điều trị và những bệnh nhân được điều trị với thalidomide lại phát sinh các hiệu ứng phụ lớn hơn. Hiện nay, các chất ức chế phân tử nhỏ của FGF-

R như XL228 (cũng kháng lại mạnh IGF1-R, Src, Bcr-Abl) đang ở giai đoạn thử nghiệm lâm sàng phase sớm.

❑ ***Yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu***

Họ các yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu (VEGF) bao gồm yếu tố VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D và VEGF-E và 3 receptor của chúng (VEGF 1-3). Con đường tín hiệu VEGF dẫn đến nâng cao sự tăng sinh, sự di cư và sự xâm lấn của các TB nội mô, do vậy mà làm trung gian cho sinh mạch của khối u.

Mức cao của VEGF đã được báo cáo ở các bệnh nhân SCLC, liên quan đến giai đoạn của khối u, sự tiến triển của bệnh, sự kháng lại hóa trị và kết quả là xấu. SCLC biểu hiện VEGFR 1-3 và VEGF-2 hoạt hóa, có liên quan đến sự tăng trưởng và xâm lấn của khối u. Con đường tín hiệu tự tiết (autocrine) VEGF/VEGFR làm trung gian cho sự tăng sinh và di căn, nó có thể bị ức chế khi sử dụng kháng thể đơn dòng kháng lại VEGF-2 và VEGF-3 trong SCLC. SU6688 ức chế VEGFR, c-Kit và FGF-R, ngăn chặn sự tăng sinh và sự tạo mạch trong ghép ngoại lai khối u phổi của người. Một thử nghiệm lâm sàng khác đã chứng minh rằng ZD6474, một chất ức chế VEGF-2 và EGFR kinase, can thiệp hiệu quả tới tín hiệu VEGF và sự tạo mạch do vậy dẫn đến giảm tăng sinh và tăng apoptosis trong ghép ngoại lai SCLC.

Ức chế con đường tín hiệu VEGF/VEGFR có thể chứng minh đó là một chiến lược trị liệu hiệu quả. Hiện nay, các kết quả tốt đã được báo cáo trong 2 thử nghiệm lâm sàng phase II với các bệnh nhân SCLC giai đoạn tiến triển khi bổ sung bevacizumab vào điều trị ban đầu, tiếp theo là duy trì bevacizumab. Một nghiên cứu ngẫu nhiên đang được tiến hành nhằm đánh giá bevacizumab ở SCLC giai đoạn tiến triển. Tuy nhiên, vandetanib (ZD6474) thể hiện không có lợi trong việc thiết lập duy trì ở các bệnh nhân SCLC, những người đã đạt lợi ích tối đa với trị liệu ban đầu và/hoặc xạ trị ở thử nghiệm lâm sàng phase II.

### 18.13.6. Các chaperone phân tử nội bào

❑ ***Protein sốc nhiệt***

Protein sốc nhiệt (heat shock protein) (HSP)-90 là một trong số các chaperone phân tử của họ HSP được bảo tồn cao, chịu trách nhiệm gấp (folding) de novo protein "thân chủ" (client) trong quá trình tổng hợp chuỗi polypeptide mới. Các chaperone phân tử có liên quan đến sự đột biến về mặt tổ chức của protein, sự chuyển vị của các protein qua màng, kiểm soát chất lượng mạng lưới nội chất và sự quay vòng bình thường của protein. Các chaperone cũng liên quan đến sự trưởng thành cấu trúc của protein, sự chuyển vị của protein qua màng, kiểm tra chất lượng ở lưới nội chất và sự quay vòng bình thường của protein. Chaperone cũng đáp ứng cho sự điều hòa sau tổng hợp các phân tử tín hiệu, lắp ráp và tháo gỡ các phức hợp sao chép và xử lý các peptide miễn dịch.

Hsp90 biểu hiện về mặt cấu thành là một protein TB, chưa tăng trong các TB khối u thứ cấp bị stress cao do sự hiện diện của các protein đã bị đột biến và mất điều hòa, sự tổn hại do oxy hóa, thiếu oxy hoặc môi trường dinh dưỡng thấp. Các protein thân chủ (client) Hsp9 bao gồm nhiều protein sinh ung thư như AKT, MET, bcl-2, telomerase, survivin và Apaf-1, do vậy mà nó thúc đẩy sự sống sót của các TB khối u, sự tăng trưởng và di căn bằng cách cho phép tiếp tục tổng hợp protein và tăng sinh TB. Vì thế, việc ức chế Hsp90 có thể được đích ưu tiên trong các u ác tính này bởi nó làm giảm các gen ung thư và làm gián đoạn nhiều con đường.

Trong SCLC có sự biểu hiện quá mức các protein kháng apoptosis và giảm các phân tử tiền apoptosis do vậy dẫn đến gián đoạn apoptosis. Hsp90 là chất ức chế chủ đạo đối với apoptosis trong SCLC, nó khác biệt với các hệ thống TB khác. Các dẫn liệu tiền lâm sàng cho thấy việc ức chế Hsp90 ở các tế bào SCLC sẽ giải phóng ra Apaf-1 dẫn đến hình thành phức hợp Apaf-1-Caspase-9 apotosome. Phức hợp này gây nên apoptosis một cách đáng kể chỉ khi có sự hoạt hóa bởi cytochrome C giải phóng từ ty thể, nó được kích thích mở đầu bằng việc làm bất hoạt đồng thời AKT do ức chế Hsp90. Khi AKT bị suy thoái thì Bad bị dephosphoryl hóa. Sau đó Bad sẽ heterodimer hóa với các thành viên họ Bcl-2 kháng apoptosis hoặc kích hoạt các protein tiền apoptosis Bax và Bak gây nên mất phân cực ty thể (depolarization). Vì thế mà Hsp90 điều hòa apoptosis trong SCLC với tư cách là yếu tố điều hòa âm của Apaf-1.

Một số các chất ức chế Hsp90 đã bước vào các TNLS. Trước tiên là các nghiên cứu về các chất tương tự geldanamycin như 17-AAG và 17-DMAG cũng như IPI-504, một dẫn chất khử của 17-AAG. Các lớp khác thuộc các chất ức chế Hsp90 đang được đánh giá trong các TNLS phase sớm, bao gồm các chất ức chế giàn giáo (scaffold) purine phân tử nhỏ như CNF2024 và các hợp chất diarylpurazole như 3,4 diarylisoxazole NYP-AU992/VER-52296 cũng như SNX5422 cũng được phát triển trên một giàn giáo mới (scaffold).

### 18.13.7. Các marker bề mặt tế bào

- ***CD56 (NCAM)***

Phân tử kết dính TB trung tính (neutral cell adhesion molecule – NCAM) có liên quan với họ globulin miễn dịch và thúc đẩy tăng trưởng TB thần kinh nội tiết, sự di cư và biệt hóa TB. CD56 là một đồng dạng (isoform) được mã hóa bởi gen NCAM. NCAM được phát hiện với gần 100% SCLC. Mặc dầu nó cũng biểu hiện trên các TB giết tự nhiên, các tuyến nội thần kinh, hệ thần kinh trung ương và ngoại biên cũng như các tế bào cơ tim, nhưng nó lại được xem xét như là đích cho trị liệu kháng ung thư. Các TB ác tính có thể bị ảnh hưởng bởi tín hiệu NCAM; các ligand NCAM hoặc các kháng thể có thể là các chất ức chế sự tiến triển của u. BB10901 là một cộng hợp

(conjugate) miễn dịch của phiên bản đã nhân hóa kháng thể đơn dòng của chuột N901 được gắn kết bởi các liên kết disulfide với thuốc gây độc tế bào maytansinoid có tên là DM-1 có tiềm năng kháng chọn lọc dòng tế bào CD56. Một TNLS phase I/II đã được tiến hành ở các bệnh nhân SCLC tái phát và các bệnh nhân carcinoma tế bào nhỏ dương tính với CD56, khi sử dụng BB10901 đã chứng minh được là an toàn, có tác dụng trên lâm sàng với tỷ lệ quan sát được là 3/10 bệnh nhân. TNLS này đang gần tới đích, nhưng kết quả cuối cùng thì vẫn chưa được hoàn tất.

❑ ***Ganglioside***

Ganglioside là một dưới nhóm của các glycolipid, là thành phần của màng TB được phát hiện trên các TB nhân thực, đặc biệt là trong hệ thần kinh trung ương. Chúng được cho là có ảnh hưởng đến các receptor màng TB và các phân tử kết dính. Trong SCLC, việc tăng biểu hiện của các kháng nguyên này đã được chứng minh. Fucosyl GM-1 là một ganglioside được phát hiện thấy ở 75% các mẫu SCLC và rất hiếm ở các mô bình thường hoặc NSCLC cũng như các khối u khác. Acid polysialic, một thành phần của NCAM phôi thai là một polymer của hơn 20 gốc acid sialic liên kết với alpha 2-8 tích điện âm, có liên quan đến sự chết và sự phát triển của TB. Nó biểu hiện dồi dào trong SCLC nhưng không biểu hiện ở các mô bình thường. Một số ganglioside khác như GM-2 và Globo-H biểu hiện ở nhiều khối u. Một vaccine 4 trong 1 bao gồm các kháng nguyên fucosyl GM1, acid polysialic, GM2 và Globo-H đã được phát triển.

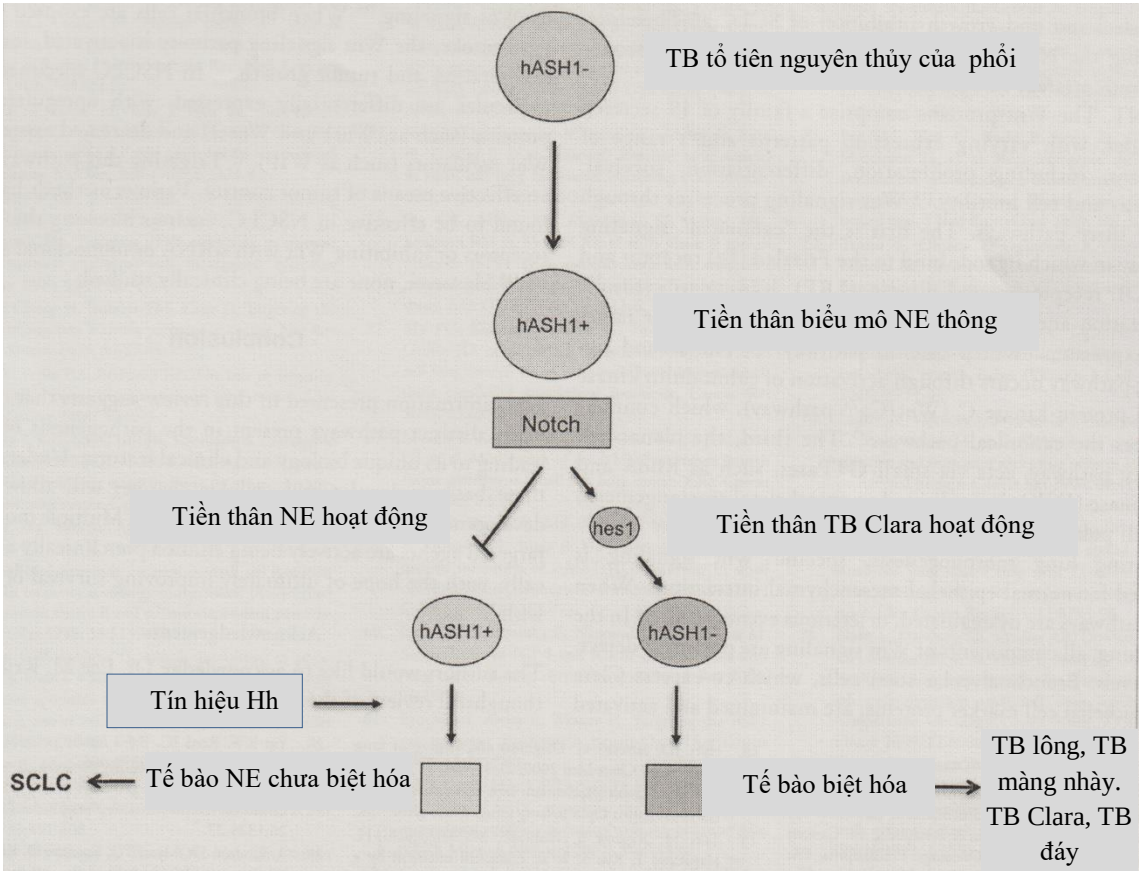
### 18.13.8. Những con đường phát triển

Những con đường phát triển, Hedgehog, Notch và Wnt điều hòa sự tự làm mới của TB gốc, khi hoạt hóa một cách khác thường có thể gây nên sự tăng sinh ung thư- đại diện cho sự kiện sớm trong quá trình sinh u. Các bằng chứng chỉ rõ, SCLC là khối u biểu mô đường hô hấp chưa biệt hóa, rất giống giai đoạn phát triển sớm của phổi. SCLC phụ thuộc vào những bất thường tín hiệu Notch. Khi đích những con đường này có thể gây nên sự loại bỏ các tế bào clonogenic trong SCLC và làm cho các hiệu ứng điều trị bền vững hơn.

❑ ***Hedgehog***

Con đường Hedgehog (Hh) được chỉ rõ là rất cần thiết trong quá trình hình thành và phát triển sớm của phổi thông qua các tương tác trung mô-biểu mô. Có 3 ligand của con đường này trên người đã được biết là: Sonic Hedgehog (Shh), Indian Hedgehog (IHh) và Desert Hedgehog (DHh). Thác tín hiệu này được khởi đầu do việc gắn kết Hh với receptor Patched -1 (ptch-1), một protein vận chuyển màng 12 (twelve transmembrance protein). Khi vắng mặt ligand Hh thì Ptch-1 ức chế cấu thành protein vận chuyển màng 7 (seven –transmembrance protein) Smoothened (Smo) và trả con đường về trạng thái bất hoạt. Tuy nhiên, việc gắn ligand Hh với ptch-1 lại làm cho sự ức

chế Smo bị suy giảm rồi đi đến hoạt hóa một phức hợp protein và sự sao chép hạ nguồn các đích Hh trong nhân, bao gồm Gli-1 và Ptch-1. Với sự hiện diện ở mức thấp tại lớp đáy của biểu mô phế quản ở người trưởng thành thì tín hiệu Hedgehog kích hoạt sẽ làm mở rộng quần thể TB nội biểu mô (intraepithelial) trong quá trình tái sinh đường hô hấp do bị chấn thương bởi naphthalene. Sự kích hoạt con đường Hedgehog trong quần thể các TB nội biểu mô này xảy ra trước quá trình phát triển các TB nội tiết thần kinh hiếm hoi ở đường hô hấp. Trong SCLC có sự hoạt hóa con đường Hedgehog trong phương thức phụ thuộc tín hiệu (juxtacrine) với các TB lân cận biểu hiện SHh. Hơn nữa, các nghiên cứu *in vitro* và *in vivo* đã chứng minh rằng, SCLC có thể bị ức chế bởi chất kháng Hedgehog steroid alkaloid, cyclopamine. Những dẫn liệu này đã ủng hộ ý kiến cho rằng có sự hiện diện của các TB tổ tiên trong SCLC do đó mà có sự kháng lại hóa trị liệu.




**Hình 18. 7.** Receptor tyrosine kinase và các ligand thường biểu hiện quá mức trong SCLC. Receptor tyrosine kinase khiếm khuyết và các yếu tố tăng trưởng riêng của chúng trong SCLC bao gồm VEGFR/VEGF, c-Kit/SCF, c-MET/HGF, FGFR/FGF và IGF-1R/IGF. Thông qua việc hoạt hóa nhiều con đường bao gồm PI3K/AKT/ mTOR bị rối loạn điều hòa ở SCLC nên chúng có liên quan đến sự sống sót, apoptosis và điều hòa chu kỳ tế bào cũng như là sự tổng hợp (phiên dịch).

(Theo Sandra P. D'Angelo và M. Catherine Pietanza. Cancer Biology & Therapy 10:1, july 2010)

Các chất ức chế Hedgehog đang được nghiên cứu với các TNLS. Các chất ức chế trực tiếp Smoothened bao gồm IPI-926, một tương đồng của cyclopamine và LDE225, cả 2 chất này đang được TNLS phase I. GDC-0449 cũng là một chất ức chế Smoothened đang được đánh giá trong ECOG 1508- một TNLS phase II ngẫu nhiên với các bệnh nhân SCLC giai đoạn tiến triển. Hai chất ức chế Hedgehog khác trong các TNLS phase I là XL139 và PF-04449913.

❑ ***Con đường Notch***

Tín hiệu Notch điều hòa sự biệt hóa, sự phát triển cũng như số phận của TB với các bối cảnh khác nhau. Điều quan trọng là, chức năng của Notch là bảo tồn các TB đa năng nhưng không hoạt động trong quá trình phát triển cũng như trong các mô của người trưởng thành. Ở động vật có vú có 4 receptor Notch vận chuyển màng (Notch 1-4), chúng được hoạt hóa bởi 3 ligand Notch (Deltal, Jagged 1 và Jagged 2) trên các TB phụ trợ. Con đường Notch rất quan trọng trong việc điều hòa phát triển biểu mô đường hô hấp, đặc biệt liên quan đến việc xác định sự biệt hóa tế bào nội tiết thần kinh hay là biệt hóa TB không nội tiết thần kinh. Một cách đơn giản là, tín hiệu Notch dẫn đến hoạt hóa các đích sao chép như Hairy enhancer của split (*Hes1*) là các yếu tố ức chế chủ chốt. Đến lượt mình, Hes-1 lại ngăn chặn sự sao chép của achaete-scute homolog-1 của người (h-ASH-1) cần thiết cho sự phát triển của các tế bào thần kinh nội tiết ở phổi. Phổi của chuột *Hes-1* knockout có sự điều hòa lên murine ash-1 cùng với việc gia tăng các tế bào thần kinh nội tiết và giảm tương ứng các tế bào Clara. Trong SCLC thì h-ASH-1 biểu hiện cao, trong khi đó Notch lại không được kích hoạt. Sự biểu hiện quá mức của receptor Notch sẽ làm dừng chu kỳ tế bào và ức chế tăng trưởng SCLC. Vì thế, sự hoạt hóa con đường Notch rõ ràng là một chiến lược trị liệu hiệu quả đối với SCLC.

❑ ***Con đường Wnt***

Protein Wnt bao gồm một họ 19 phân tử chất tiết với các mẫu biểu hiện khác nhau và rất nhiều chức năng, bao gồm sự tăng sinh, biệt hóa, sống sót, apoptosis và sự chết của tế bào. Quá trình tín hiệu Wnt thông qua một trong 3 con đường: Thứ nhất là con đường tín hiệu "kinh điển", trong đó các ligand gắn với receptor Frizzled (Fz) và protein liên quan receptor LDL (LRP), dẫn đến sự ổn định hóa bào tương và sự chuyển vị nhân của β-catenin. Con đường tín hiệu thứ 2 xảy ra thông qua việc hoạt hóa calmodulin kinase II và protein kinase C, đối trọng với con đường kinh điển. Con đường thứ 3 là con đường phân cực tế bào hai chiều, tác động thông qua các GTPase nhỏ như RhoA và Jun kinase (JNK), có liên quan đến sự sắp xếp lại bộ khung TB và sự phân cực TB.

Trong quá trình phát triển hình thái học phổi thì tín hiệu Wnt đặc hiệu rất cần thiết cho sự tương tác trung mô-biểu mô bình thường. Khi con đường Wnt bị rối loạn sẽ xảy ra các sự kiện xóa bỏ. Ở phổi người trưởng thành tất cả các thành phần của tín hiệu Wnt

đều hiện diện ở mức có thể phát hiện được. Các TB gốc phế nang - phế quản biểu hiện đồng thời các protein marker TB biểu mô và Clara, chúng được duy trì và hoạt hóa bởi tín hiệu Wnt. Khi các TB phế quản tiếp xúc với khói thuốc thì con đường tín hiệu Wnt được hoạt hóa dẫn đến tăng sinh và tăng trưởng khối u. Trong các mẫu NSCLC, các phân tử Wnt được biểu hiện một cách khác biệt với việc điều hòa lên các protein Wnt (như Wnt-1 và Wnt-2) và giảm biểu hiện các chất điều hòa Wnt (như WIF). Đích con đường này có thể là một cách kiểm soát khối u hiệu quả. Nhiều phương pháp đã được phát hiện là có hiệu quả trong NSCLC, như ngăn chặn receptor Frizzled hay ức chế Wnt với siRNA hay các kháng thể đơn dòng. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào thực hiện trên lâm sàng.

## *TÓM TẮT*


❖ *Ung thư phổi là một trong những bệnh ác tính phổ biến nhất và là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trên toàn thế giới. Những tiến bộ trong sinh học phân tử và di truyền học, trong đó công nghệ microarray và các kỹ thuật giải trình tự nhanh đã khích lệ đáng kể trong việc làm sáng tỏ sinh bệnh học (epiopathogenesis) ung thư.*

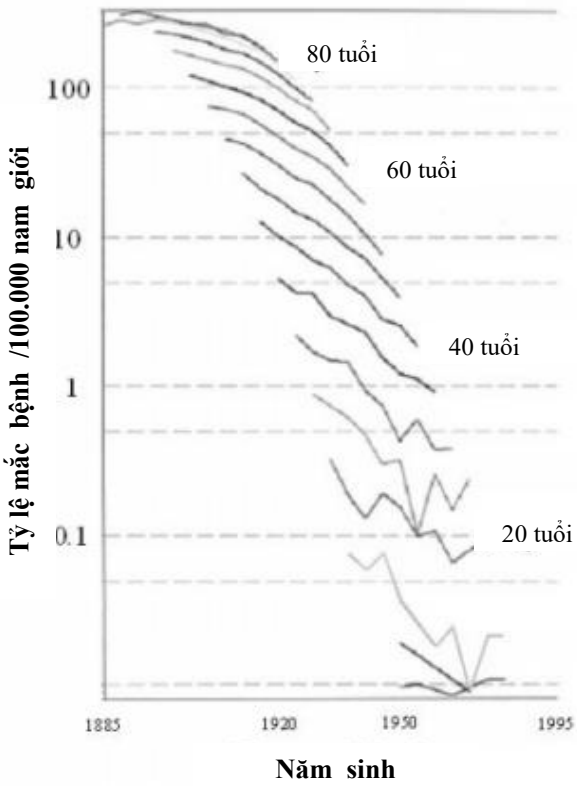
❖ *Nhiều nghiên cứu cho thấy, hơn 20 biến đổi di truyền và epigenetic khác nhau đã tích lũy trong sinh bệnh học của các ung thư phổi. Như vậy, cho đến nay hầu hết những biến đổi đã được phát hiện là những đột biến bất hoạt và mất các gen kiềm chế khối u cũng như sự biểu hiện quá mức các gen ung thư (oncogene) thúc đẩy tăng trưởng. Gần đây hơn, việc bất hoạt epigenetic thu được (acquired) các gen kiềm chế khối u do cường methyl hóa các promoter đã được phát hiện. Những sự bất thường di truyền dòng (clonal genetic abnormalities) xảy ra ở biểu mô phế quản tiền ung thư (preneoplastic) bị tổn hại do hút thuốc hoặc các chất sinh ung thư khác (carcinogenesis) cũng đã được xác định. Những phân biệt phân tử giữa ung thư phổi tế bào nhỏ (SCLC) và ung thư phổi không tế bào nhỏ (NSCLC) cũng như giữa các khối u có các kết quả lâm sàng khác nhau cũng đã được mô tả. Những khảo sát này đã phác họa nên các dấu hiệu của ung thư phổi.*

# CHƯƠNG XIX: UNG THƯ DẠ DÀY

## 19.1. NGUYÊN NHÂN

Toàn thế giới với khoảng 90.000 người được chẩn đoán là ung thư dạ dày mỗi năm làm cho nó trở thành ung thư thứ 2 thường gặp nhất. Bởi vì tỷ lệ sống sót 5 năm là 3-20% nên nó là một trong số các u ác tính gây chết người nhiều nhất. Việc sống sót trước hết phụ thuộc vào giai đoạn của khối u tại thời điểm được chẩn đoán. Việc cứu chữa có thể đạt được bằng cách phẫu thuật cắt bỏ toàn phần hay một phần dạ dày. Cũng như với nhiều carcinoma di căn khác, hóa trị chỉ thành công phần nào với loại ung thư này.

Như vậy, trong khi ung thư dạ dày rõ ràng là một vấn đề lớn về mặt y tế trên thế giới thì tình trạng này đối với nhiều nước phát triển ít nhất cũng được cải thiện. Trong gần 50 năm nay, tỷ lệ mắc bệnh giảm dần ở Tây Âu và Bắc Phi (Hình 19.1). Giảm tỷ lệ mắc bệnh dường như có liên quan đến việc thay đổi lối sống, đặc biệt là cải thiện chất lượng thực phẩm và việc sử dụng kháng sinh. Điều quan trọng là phải hiểu được nguyên nhân cơ bản của việc giảm tỷ lệ mắc bệnh thậm chí ở các nước đang phát triển có tỷ lệ mắc bệnh UTDD cao.




**Hình 19.1** *Giảm tỷ lệ mắc bệnh ung thư dạ dày ở các nước công nghiệp*

Đây là các số liệu của Anh theo WHO/IARC. Tỷ lệ mắc bệnh phụ thuộc vào năm sinh (trục x) và tuổi đại diện cho ung thư (tăng đều đặn trong 5 năm).

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Giống như ung thư gan, UTDD thường phát triển nhất trong bối cảnh viêm nhiễm mãn tính, vì thế mới gọi nó là "chứng viêm dạ dày mạ tính". Tác nhân khá quan trọng ở đây là vi khuẩn *Heterobacter pylori*.

Để đạt được như trong ung thư gan thì các tương tác phức tạp giữa vật chủ và các yếu tố gây bệnh được xác định hoặc tất cả là do sự viêm nhiễm mạn tính

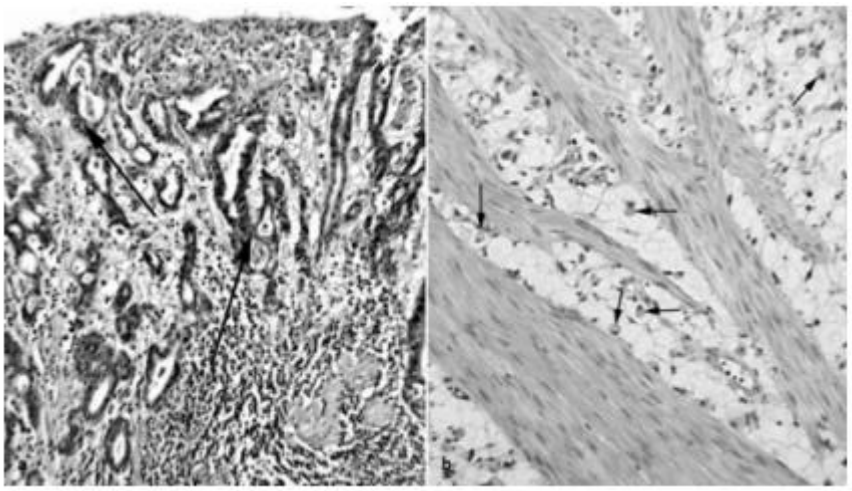
hoặc là do sự phát triển xa hơn nữa rồi tới ung thư. Hơn nữa, một số đồng tác nhân gây ung thư và các yếu tố bảo vệ nhiều khi được đánh giá "đồng hạng" khi mà sự lạm dụng rượu cùng với chế độ ăn với các hoa quả và rau không tươi đã làm tăng nguy cơ ung thư ở cả 2 cơ quan này. Ngay cả vai trò của của các aflatoxin ở gan có thể cũng được bổ sung trong dạ dày, ở đó có các nitrosamine của thức ăn có lẽ nó sẽ tác động như là các chất gây đột biến. Các yếu tố (Bảng 19.1) tác động trong phương thức hiệp đồng, mặc dầu sự thâm nhiễm vi khuẩn có thể là điều kiện tiên quyết quan trọng nhất.

***Bảng 19.1.*** *Các nguyên nhân gây ung thư dạ dày*

| **Các yếu tố cá thể gây ung thư dạ dày trên người** |
|---|
| Helicobacter pylori |
| Nitrosamine |
| Tiêu thụ ít các hoa quả và rau tươi |
| Alcohol |
| Hút thuốc lá |
| Khuynh hướng di truyền do các đột biến gen có nguy cơ cao (CDH1) |
| Khuynh hướng di truyền do các đa hình (IL1B) |

*Một số yếu tố có thể tương tác thường với phương thức hiệp đồng.

Theo đó thì những sự khác biệt về địa lý trong trong tỷ lệ mắc bệnh UTDD có thể được gán cho là sự tổ hợp của các yếu tố. Dường như là có sự hiệp đồng giữa loại trừ *Heterobacter pylori* do việc điều trị kháng sinh (chủ định hoặc ngẫu nhiên) và việc nâng cao chất lượng thực phẩm. Điều quan trọng là, UTDD chỉ là một ví dụ rõ nhất về một ung thư người do sự thâm nhiễm vi khuẩn gây tình trạng viêm nhiễm mạn tính, nên nó cũng có thể dẫn đến tăng nguy cơ ung thư ở các cơ quan khác. Trường hợp thâm nhiễm khác gây ung thư có liên quan đến sán lá *Schistosoma mansoni*, gây viêm mạn tính, dị sản và ung thư dị sản (metaplastic cancer), carcinoma tế bào vảy ở bàng quang. Với sự thay đổi về tỷ lệ mắc bệnh UTDD ở các nước công nghiệp thì sự định vị của các UTDD và tần số tương đối của các dưới type tổ chức học cũng có sự thay đổi. Trong khi trước đây đại đa số các UTDD đều bắt nguồn từ những phần dưới của dạ dày, ví dụ thân và hang vị, thì hiện nay lại tăng số các trường hợp xuất phát từ những phần phía trên, ở những bộ phận quan trọng của dạ dày. Trên thực tế, sự thay đổi này có thể tiếp tục tăng cao ở đường tiêu hóa bởi vì giảm tỷ lệ mắc bệnh UTDD dường như đi cùng với tăng tỷ lệ mắc carcinoma thực quản. Sự thay đổi giữa các dưới type tổ chức học xảy ra là bởi vì tỷ lệ mắc bệnh với type ruột thì cao hơn type phân tán –đó là các dưới type tổ chức học chính của ung thư dạ dày (Hình 19.2).



***Hình 19.2*** *Các dưới type tổ chức học chính của ung thư dạ dày*

Trái : Carcinoma type ruột ; phải : Carcinoma type phân tán. Các mũi tên ở phía bên phải chỉ các đảo tế bào khối u.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Dưới type ruột phát triển ở những khu vực dị sản. Bình thường thì trên bề mặt của dạ dày được lót bởi một lớp biểu mô hình trụ đơn, trong đó có một số dạng TB khác nhau. Các TB chủ chốt sản xuất ra pepsinogen – tiền thân của protease và các TB nội tiết tiêu hóa (enteroendocrine cell) tiết ra các peptide và các chất dẫn truyền (transmitter)điều hòa chức năng và sự tăng trưởng của các TB ruột và dạ dày. Các TB thành tiết ra acid hydrochloric làm hạ thấp pH ở dạ dày. Những TB này định vị trong các hố và được bảo vệ bởi các chất nhầy sản xuất ra bởi các TB bề mặt lớp biểu mô.

**Hình 19.3** *Các giai đoạn phát triển của ung thư dạ dày type ruột*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Trong quá trình dị sản ruột, một cấu trúc được tổ chức chặt chẽ được thay thế bằng biểu mô tuyến giống như cấu trúc lông nhung của ruột. Dị sản của biểu mô dạ dày xảy ra trước sự phát triển ung thư. Nó là một trong số các giai đoạn tiền ung thư được xác định một cách rõ ràng trong quá trình phát triển type ruột của UTDD (Hình 19.3). Cũng giống như ở gan, hầu hết các ung thư trong dạ dày đều nảy sinh trong bối cảnh viêm nhiễm mạn tính, ví dụ như chứng viêm dạ dày. Chứng viêm dạ dạ dày mạn tính trong một số trường hợp tiến triển đến giai đoạn teo

từ đó phát triển thành dị sản ruột. Khởi đầu thì các cấu trúc tuyến biệt hóa tốt được hình thành, nó có thể phát triển thành adenoma lành tính rồi tăng lên thành adenoma dị sản và tiến tới carcinoma xâm lấn.

Sự tiến triển của UTDD type ruột ít có tài liệu đề cập. Carcinoma này được đặt tên theo tổ chức học đặc trưng. Nó hiện diện như là các nhóm nhỏ các TB khối u biệt hóa và xâm lấn cao, gắn kết lỏng lẻo, tăng sinh vào mô bên dưới niêm mạc dạ dày và di căn thông qua màng bụng (Hình 19.2).

Cả 2 type UTDD đều có liên quan đến nhiễm *Helicobacter pylori*, mặc dầu vậy mối liên hệ này đối với type ruột là hoàn toàn xác thực. Các bệnh nhân ung thư type phân tán ở lứa tuổi trẻ, trong khi đó UTDD type ruột thường phát triển thông qua các giai đoạn tiền ung thư ở những người nhiều tuổi hơn, sau hàng chục năm bị viêm dạ dày (Hình 19.3).

## 19.2. CƠ CHẾ PHÂN TỬ

Hai dưới type tổ chức chính của UTDD đều chung nhiều biến đổi di truyền, ví dụ như các đột biến TP53. Những biến đổi khác thì giữa chúng có những sự khác nhau đáng kể đặc trưng đặc biệt cho từng dưới type.

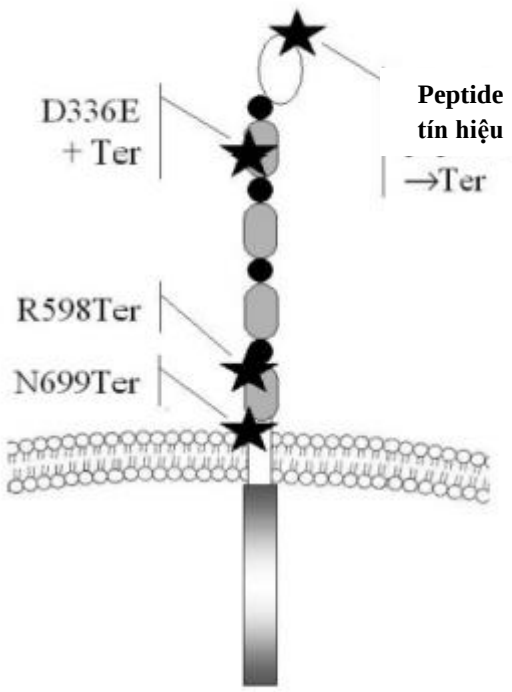
Phân tử quan trọng trong type phân tán là E-cadherin. Protein màng 882 amino acid này làm trung gian cho sự kết dính cùng loại (homotypic) giữa các TB biểu mô. Nó kết nối với khung TB bằng con đường catenin, trong đó β-catenin đều thích hợp với tư cách là một phân tử tín hiệu trong con đường đường WNT cũng như là đồng yếu tố hoạt hóa (co-activator) sao chép. Trong nhiều dạng carcinoma khác nhau, E-cadherin thường bị điều hòa xuống trong quá trình tiến triển của khối u. Tuy nhiên, nó thường xuyên bị đột biến và đây chỉ là một ví dụ đối với đường tiêu hóa chứ việc điều hòa xuống E-cadherin và LOH của gen CDH1 tại 16q thì vẫn thường gặp ở carcinoma tế bào gan.

Trên 50% các type phân tán của UTDD có gen CDH1 đột biến và trong hầu hết các trường hợp khác thì E-cadherin bị điều hòa xuống một cách mạnh mẽ. Nhiều đột biến ở gen này là sự xóa bỏ khung đọc nhỏ hoặc ghép nối vị trí các đột biến, gây ảnh hưởng tới các domain kết dính (Hình 19.4). Những đột biến này dẫn đến việc làm ngắn lại protein và làm mất đi sự tương tác cùng loại. Thay vì, nó có thể còn ảnh hưởng tới chức năng của các E-cadherin nguyên vẹn và các prptein liên quan như N-cadherin. Sự rối loạn chức năng một cách thích ứng của E-cadherin đã cho ra lời giải thích rõ ràng về sự giảm sút kết dính và mẫu (pattern) tăng trưởng ‘‘phân tán’’ các TB khối u của ung thư này. Tuy nhiên, mất E-cadherin có thể góp phần vào việc mất điều hòa con đường WNT.

Tầm quan trọng của các đột biến E-cadherin trong UTDD type phân tán cần phải nhấn mạnh là do các khiếm khuyết di truyền dạng có tính chất gia đình hiếm gặp. Trong

một số ít gia đình trong đó những người còn trẻ cũng không chống đỡ nổi UTDD thể phân tán, một bệnh đồng phân biệt với các đột biến ở CDH1. Trong các ung thư phát triển thứ cấp thì allele hoang dã bị mất đi. Như vậy CDH1 là một gen kiềm chế khối u dạng ‘‘người gác cửa’’cổ điển đối với UTDD thể phân tán, với các đột biến dòng mầm trong các ung thư có tính chất gia đình và sự bất hoạt cả 2 allele trong các trường hợp rải rác. Đáng chú ý là, không có ung thư nào khác lại xuất hiện với tỷ lệ cao trong các gia đình bị ảnh hưởng. Như vậy, phải có cái gì đặc biệt về E-cadherin trong biểu mô dạ dày. Biến đổi di truyền thích ứng khác trong UTDD type phân tán là các đột biến TP53, như người ta dự đoán đó là một khối u biểu hiện dị bội và xâm lấn cao.

Không có khuynh hướng di truyền rõ ràng như vậy đối với type ruột của UTDD. Tăng nguy cơ UTDD quan sát thấy ở những gia đình HNPCC. Một phần đáng kể các trường hợp rải rác, tổng thể >10% cũng bộc lộ sự bất ổn định microsatellite. Một số đột biến trong các các gen phát hiện thấy trong những trường hợp này cũng giống như các đột biến trong ung thư trực tràng nảy sinh do con đường bất ổn định microsatellite, ví dụ như gen APC, CTNNB1 và TGFBRII. Điều này cho thấy, UTDD type ruột là một loại ung thư trực tràng nhằm vào một cơ quan khác. Thực sự thì sự kích hoạt kiến tạo con đường WNT cũng có thể được phát hiện trong một số UTDD không có kiểu hình MSI. Phần lớn do bất hoạt APC, nhưng những biến đổi khác như các các đột biến sinh ung thư của β-cadtenin cũng được phát hiện. Những biến đổi trong con đường WNT cũng có thể bị pha trộn thông qua việc mất E-cadherin do LOH và sự điều hòa xuống (chứ không phải đột biến) và do các đột biến của TP53.




**Hình 19.4** *Những đột biến của E-caherin trong UTDD type phân tán*

Trên hình chỉ sự định vị của những đột biến trong các trường hợp di truyền mà tất cả đều dẫn đến sự cắt ngắn protein hoặc trong các trường hợp đột biến ở peptide tín hiệu làm cho nó vắng mặt ở màng TB. Các đột biến trong các trường hợp rải rác cũng có hiệu ứng giống nhau.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

So sánh với ung thư trực tràng thì đáp ứng TGFβ có thể là quan trọng hơn và có thể là đích sớm hơn của các đột biến trong dạ dày. Sự bất hoạt các thành phần của con đường thực tế cũng xảy ra, nhưng trong UTDD một đích phổ biến hơn có thể là yếu tố

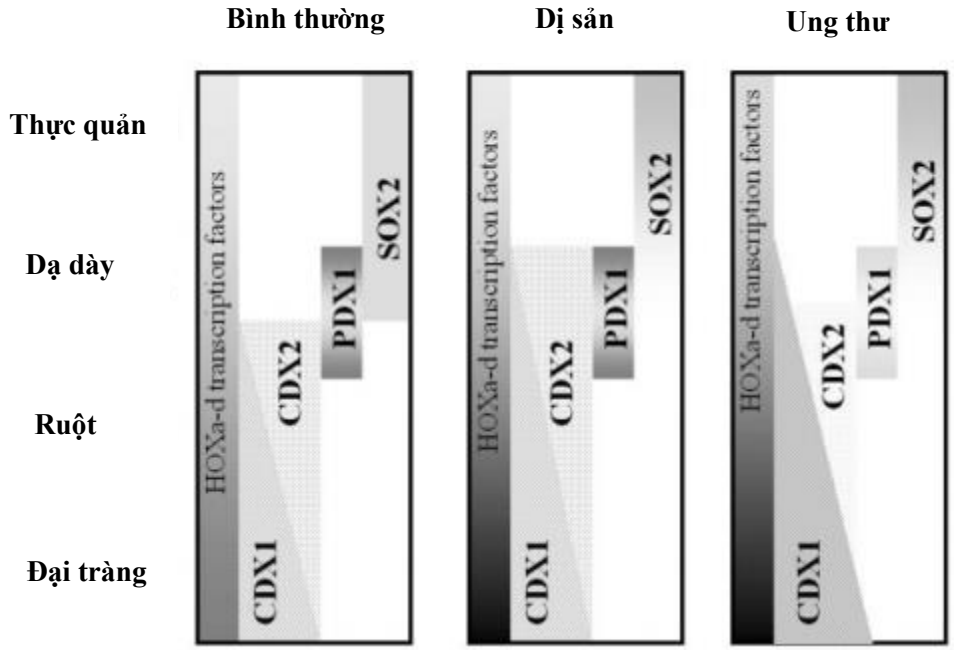
sao chép ‘‘hạ nguồn’’- RUNX3, điều khiển sự biểu hiện gen trong các TB dạ dày trong đáp ứng với tín hiệu TGFβ. Yếu tố này bị bất hoạt ở nhiều UTDD do xóa bỏ một bản sao gen RUNX3 và cường methyl hóa promoter của allele thứ 2 còn lại.

Dị sản như vậy không phải là ác tính mặc dầu mô dị sản có rối loạn chức năng. Mô ruột dị sản trong dạ dày không phù hợp với môi trường pH thấp khoảng 1, tất nhiên nó cũng không thể tiết ra đươc các protease và peptide giống như các TB hốc bình thường. Vì thế, sự có mặt của mô dị sản có xu hướng chỉ làm nặng thêm sự thâm nhiễm và hủy hoại mô.

Lời giải thích về sự phát triển của dị sản trong bối cảnh viêm nhiễm mãn tính là sự hủy hoại mô qua một thời kỳ dài mà không được bồi thường, đơn giản là do sự phân chia và mở rộng của các TB biệt hóa hiện hữu. Hơn nữa, sự tổn hại mạn tính mô có thể cần phải chiêu mộ các TB tiền thân của mô. Trong khi một trong số các TB này có thể được biệt hóa trực tiếp và chất đầy thêm mô hủy hoại thì một số khác lại bị lệch lạc đi do các điều kiện bất lợi trong cơ quan viêm nhiễm. Ảnh hưởng trực tiếp từ các yếu tố gây bệnh như *H.pylori* cũng làm hỗn loạn sự biệt hóa.

Sự biệt hóa ruột trong dạ dày không phải là điều kỳ lạ vì dạ dày và ruột đều phát triển từ những đoạn kế tiếp nhau của ống ruột. Trong quá trình phát triển mạng lưới các chất điều hòa sao chép sẽ xác định phân đoạn nào của ruột được hình thành trước, ví dụ như dạ dày hoặc phân đoạn nào được hình thành sau, ví dụ như ruột. Thực sự thì đã có bằng chứng cho thấy dị sản ruột trong dạ dày có liên quan và có thể nguyên nhân chính là sự thay đổi mẫu (pattern) của những chất điều hòa này. Những yếu tố có liên quan thuộc họ HOX và SRY. Những thành phần được xác định rõ ràng nhất là các protein caudal homeobox (protein liên quan đến mô hình phát triển hình thái) CDX2, CDX1 và SOX2. Ngoài ra, các protein HOX kinh điển đặc hiệu cũng có liên quan (Hình 19.5). Sự biểu hiện của CDX2 thường bị giới hạn với ruột và các protein không thể phát hiện được ở các TB biểu mô dạ dày, trong khi đó SOX2 thể hiện mẫu đảo ngược hiện diện trong các TB ở dạ dày, nhưng không có trong ruột. Người ta cho rằng, trong biểu mô ruột dị sản ở dạ dày thì sự biểu hiện CDX2 và SOX2 được điều hòa xuống.

Mặc dầu chúng đều tác động với tư cách là các yếu tố quyết định đối với kiểu hình ruột, nhưng CDX2 và CDX1 thực tế lại đối lập nhau. CDX2 thì thúc đẩy sự biệt hóa cuối cùng của các TB ruột, ví dụ do cảm ứng bởi $p21^{CIPI}$, trong khi đó CDX1 lại duy trì các TB ruột ở trạng thái tăng sinh. Theo đó thì trong mô ruột dị sản biệt hóa tốt ở dạ dày (Hình 19.3) CDX2 được biểu hiện, nhưng với CDX1 thì chỉ biểu hiện một cách yếu ớt. Khi adenoma loạn sản và carcinoma phát triển từ mô tiền thân dị sản thì sự biểu hiện của CDX1 tăng lên còn CDX2 bị điều hòa xuống, trong một số trường hợp còn được hỗ trợ bởi cương methyl hóa promoter gen của nó (Hình 19.5).




**Hình 19.5** *Các yếu tố HOX và SOX trong dị sản của dạ dày*

Mô hình về những biến đổi của yếu tố sao chép trong quá trình phát triển của dị sản ruột và ung thư type ruột trong dạ dày.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

## 19.3. HELICOBACTER PYLORI VÀ UNG THƯ DẠ DÀY

Từ khi phát hiện ra *Helicobacter pylori* năm 1983 và ngay sau đó người ta đã được xác định nó là nguyên nhân gây ra viêm nhiễm, loét dạ dày - tá tràng và ung thư dạ dày thì hàng loạt các bằng chứng đã được lắp ráp với nhau hỗ trợ cho việc phân loại các chất sinh ung thư trên người. Đối với sự bất thường về dịch tễ học ung thư thì các nghiên cứu đối chứng tương lai cũng đã được tiến hành. Những nghiên cứu này chứng minh rằng, vi khuẩn (huyết thanh dương tính) gây nguy cơ cao viêm nhiễm dạ dày và nguy cơ UTDD càng tăng cao khi vi khuẩn vẫn tồn tại trong dạ dày. Ngược lại, việc trị liệu can thiệp rõ ràng là thành công. Việc điều trị kháng sinh nhằm loại trừ *Helicobacter pylori* đã ngăn ngừa được viêm và ung thư dạ dày. Đặc biệt có thể được ngăn ngừa trong nhiều trường hợp có tiến triển từ teo dạ dày tới dị sản rồi tới ung thư dạ dày (Hình 19.3).

*Helicobacter pylori* là một trong số các vi khuẩn sống được trong hệ tiêu hóa của người. Thông thường thì chúng không gây bệnh nghiêm trọng, nhưng khi dạ dày bị viêm thì nó mới gây bệnh thậm chí không có triệu chứng. Hầu hết những người bị nhiễm *Helicobacter pylori* như với trẻ em thì vẫn tồn tại ở đó trong suốt cuộc đời, trừ phi nó được loại trừ bằng kháng sinh. Môi trường dạ dày tiêu diệt và hủy hoại vi

khuẩn cũng như các tác nhân thâm nhiễm khác thông qua pH thấp và sự tác động của protease pepsin.

*Helicobacter pylori* khống chế để sống sót được trong môi trường này bằng nhiều cơ chế đã từng phát triển >10.000 năm nay, nó đồng phát triển cùng vật chủ. Ví dụ như nó đệm cho acid hydrochloric dạ dày bằng cách thủy phân urea thành bicarbonate và amonium thông qua sự tác động của enzyme urease được sản xuất bởi tất cả các chủng *Helicobacter pylori.* Một số chủng bám chặt vào bề mặt của biểu mô do vậy được bảo vệ bởi lớp đệm mucin.

Một số protein vi khuẩn làm trung gian cho sự tương tác giữa vi khuẩn và các TB biểu mô niêm mạc dạ dày.

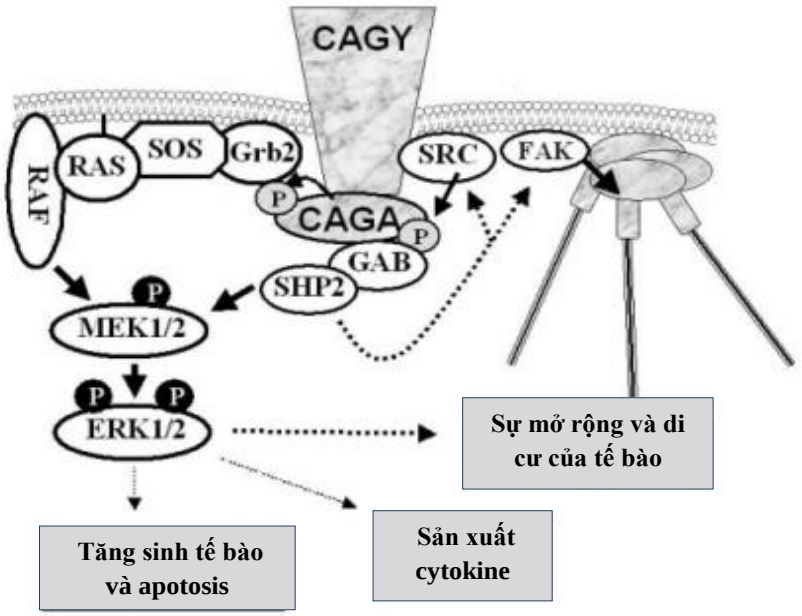
- *Protein babA2* gắn vào kháng nguyên (nhóm máu) Lewis trên bề mặt các TB biểu mô dạ dày.

- *"Đảo cag" của vi khuẩn* bao gồm 31 gen trong 40 kb. Đảo "gây bệnh" này có thể di chuyển như một đơn vị (unit) giữa các mảnh vi khuẩn và các chủng, nó mã hóa cho hệ thống tiết và chuyển vị, vận chuyển protein cagA vào trong các TB biểu mô dạ dày. Khi ở trong các TB vật chủ thì protein cagA trở thành tyrosine được phosphoryl hóa bởi SRC tyrosine kinase. Sự phosphoryl hóa này gây ra những sự thay đổi ở các protein khung tế bào, hình dạng và sự kết dính TB (Hình 19.6). Tyrosine phosphate trong protein vi khuẩn được nhận ra bởi các protein chuyển đổi (adaptor) SHP2 và GRB2 kích hoạt MAPK và các con đường tín hiệu khác. Kết quả của sự thay đổi ở các TB biểu mô có thể tạo thuận lợi cho sự kết dính của vi khuẩn và cho phép chúng trải dài vào giữa và sau các TB niêm mạc. Khi đưa cagA vào các TB biểu mô cũng cảm ứng sự biểu hiện và tiết interleukin IL8. Đây là một cytokine tiền viêm, nó cảm ứng đáp ứng miễn dịch tế bào đối với sự thâm nhiễm. Đáp ứng này đi cùng với việc tăng biểu hiện của các cytokine khác, nổi bật là IL1β và TNFα (yếu tố hoại tử u α). Một mặt những cytokine này thúc đẩy sự viêm nhiễm khác, mặt khác nó lại làm giảm sự tiết acid hydrochloric bởi các TB đính của biểu mô dạ dày. Điều này kiến tạo nên một cơ chế quan trọng thứ 2 trong đó Helicobacter pylori làm tăng pH của dịch dạ dày và có thể sống sót trong môi trường này của vật chủ.

Hiệu ứng của vi khuẩn lên biểu mô dạ dày có sự kết hợp cùng với protein vacA gây cảm ứng sự hình thành không bào (vacuolization) và apoptosis của TB vật chủ. Điều này dẫn đến giải phóng các chất dinh dưỡng và tạo điều kiện xa hơn cho sự thấm nhập của *Helicobacter pylori* thông qua hàng rào niêm mạc. Protein vacA cũng là một chất kiềm chế miễn dịch, nó làm giảm các đáp ứng do đại thực bào và các tế bào T.

Nói tóm lại, những sự thay đổi của vi khuẩn trong môi trường của nó cho phù hợp là điều cần thiết, nó gây cảm ứng tăng sinh tái tạo biểu mô dạ dày do được kích thích

bởi peptide gastrin và các cytokine, điều đó cũng góp phần vào các phản ứng miễn dịch có thể dẫn đến việc tổ chức lại mô và viêm nhiễm mãn tính.




***Hình 19.6*** *Các hiệu ứng của protein cagA vi khuẩn Helicobacter pylori lên các tế bào niêm mạc dạ dày.* Theo sau sự phosphoryl hóa tyrosine của nó bởi SRC thì protein tác động chủ yếu thông qua 2 con đường làm lộ ra sự biến đổi về hình thái học tế bào, sự tương tác và tăng sinh.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

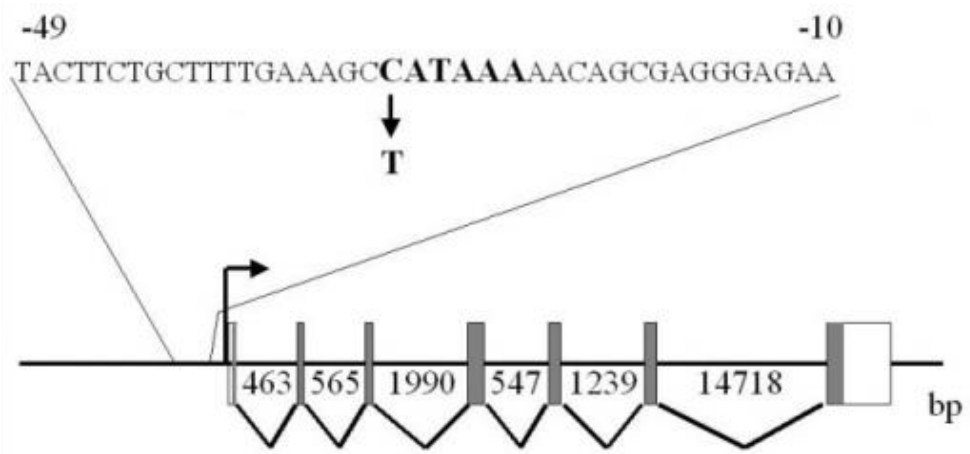
Nhiễm *Helicobacter pylori* có thể làm thay đổi một cách đáng kể trong thời gian dài mà không có triệu chứng có lẽ là do sự cân bằng ổn định giữa sự hủy hoại mô do vi khuẩn và đáp ứng miễn dịch của vật chủ. Trong các trường hợp khác thì sự thâm nhiễm phát ra một cách đột ngột và sự hủy hoại mô vĩnh viễn sẽ dẫn đến các triệu chứng loét dạ dày - tá tràng và trong một số cá thể phát triển thành ung thư. Trong khi 10-65% các cá thể ở các vùng dân cư khác nhau trên thế giới bị thâm nhiễm vi khuẩn thì chỉ có ít phần trăm phát triển thành viêm dạ dày mạn tính và một bộ phận trong số này cuối cùng trở thành UTDD. Tuy vậy, mỗi năm trên toàn thế giới vẫn có tới hàng triệu trường hợp bị UTDD với những khác biệt rất lớn giữa các cộng đồng dân cư khác nhau. Những sự khác biệt về tỷ lệ mắc bệnh tương đối này là do sự tương tác của một số các yếu tố (Bảng 19.1).

❑ ***Những sự khác biệt giữa các chủng Helicobacter pylori***

Có những khác biệt trọng yếu giữa các chủng *Helicobacter pylori* về 3 quyết định bệnh sinh học đã đề cập ở trên là babA2, cagA2 và vacA. Các chủng không có gen chức năng babA2 ít hơn nhiều apt tại UTDD type ruột, có lẽ do có một số ít vi khuẩn gắn vào các TB biểu mô. Chủng babA2 cũng có xu hướng cảm ứng các phản ứng miễn dịch

mạnh hơn các chủng khác. Tương tự như vậy, đảo cagA hiện diện ở hầu hết nhưng không phải tất cả các chủng. Các chủng không có cagA, cảm ứng viêm kém và dường như không thúc đẩy sự phát triển ung thư. Sự hiện diện của việc tiết kích hoạt cũng tương quan một cách thống kê với tăng nguy cơ ung thư. Tuy nhiên, việc giải thích về mối quan hệ của vacA thì rất phức tạp do sự phân phối độc quyền của các kiểu hình vacA. Có một số thể đa hình chủ yếu của gen đã được xác định là s1a, s1b, s1c và s2 (với các dưới type khác). Mỗi thể đều liên quan với một mức độ nào đó đến một quần thể dân cư, đặc biệt sau sự di cư của con người. Trong khi đó mối liên hệ này đã cho chúng ta lý do chính đáng để tin tưởng rằng các đa hình của vacA có thể được giải thích là do những sự khác biệt về địa lý đối với tỷ lệ mắc bệnh UTDD. Điều đó đã làm phức tạp thêm cho các nghiên cứu ở các cộng đồng dân cư hỗn tạp, với nhiều gốc người khác nhau sống trong những điều kiện kinh tế xã hội khác nhau, đồng thời cũng gây cản trở cho các nghiên cứu về ảnh hưởng của vacA trong các quần thể người đồng chủng. Tuy nhiên, các kiểu hình cagA và vacA cũng không phụ thuộc hoàn toàn vào nhau.

❑ ***Phản ứng của vật chủ:*** Cũng có những khác biệt trọng yếu trong phản ứng của vật chủ với sự thâm nhiễm Helicobacter pylori. Một số do các đa hình di truyền, trong khi đó một số khác có thể được xác định là do sự đồng thâm nhiễm, ví dụ cùng với các ký sinh trùng. Hầu hết các đa hình di truyền đều liên quan đến các đồng quyết định (co-determinant) của các đáp ứng miễn dịch như dạng MHC và các gen mã hóa cho các cytokine và receptor cytokine. Vì UTDD là bệnh đa yếu tố nên không phải tất cả các nghiên cứu đều nhất trí về tầm quan trọng của mỗi đa hình liên quan. Tuy nhiên, trường hợp đa hình ảnh hưởng tới sự biểu hiện của cytokine IL1β thì đã được xác nhận bởi một số nghiên cứu độc lập. Điều đó cho thấy, hiệu ứng này rất lớn và phổ biến ở các cộng đồng dân cư khác nhau.




**Hình 19.7** *Các đa hình promoter IL1β liên quan đến các nguy cơ ung thư dạ dày*

C→T chỉ sự biến đổi tạo nên box TATAAA, làm tăng một cách thực sự chiều dài của promoter gen IL1β.

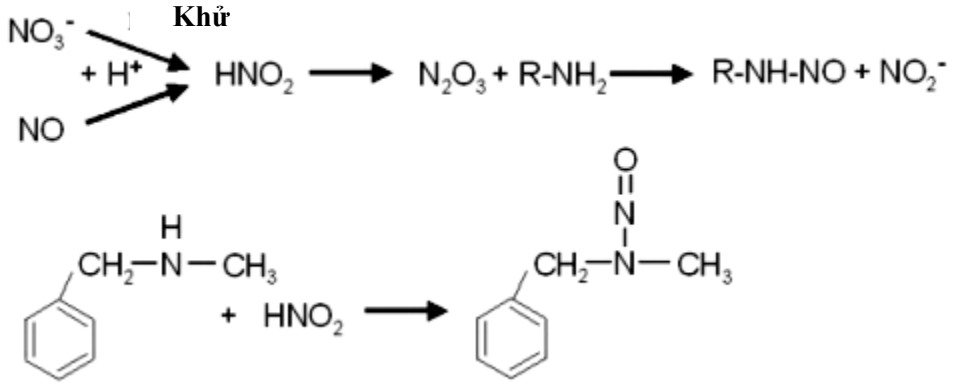
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Gen IL1B là đa hình ở người (Hình 19.7). Sự đa hình chức năng trong promoter của nó ảnh hưởng tới mức độ biểu hiện của các cytokine, mạnh nhất là đa hình ở -31 trong hộp TATA của gen. Trong các allele T thì các yếu tố sao chép liên kết chặt chẽ hơn so với C-allele và sự biểu hiện của IL1B có thể bị cảm ứng mạnh hơn. Sự hiện diện của các T-allele có liên quan đến việc làm tăng nguy cơ loét dạ dày - tá tràng và ung thư dạ dày tới gần 10 lần. Lưu ý là, các gen mã hóa cho IL1β, IL1α và các receptor IL1R đều định vị gần gen ILB. Sự đa hình ở những gen này bao gồm đa hình IL1B-31C/T thường liên kết không cân bằng với các đa hình khác trong cụm gen. Điều này có nghĩa là, dạng đặc biệt (allele) của gen IL1B theo quy luật được phát hiện cùng với một dạng đặc biệt (allele) của gen IL1R. Thực sự thì các nghiên cứu khác cũng đã phát hiện ra các mối liên quan của nguy cơ ung thư với kiểu gen IL1R. Người ta cho rằng, hiệu ứng của đa hình IL1B là hiệp đồng cùng với kiểu gen của *Helicobacter pylori*. Ở tất cả các quần thể người, nguy cơ UTDD xác định được là tăng 2-3 lần do thâm nhiễm với chủng *Helicobacter pylori.* Nếu so sánh thì nguy cơ của những người mang IL1B-31T bị thâm nhiễm chủng cagA, vacA $s_1m_1$ tăng tới gần 100 lần.

❑ ***Các chất gây ung thư và các chất kích thích có trong thực đơn hàng ngày:*** Yếu tố quan trọng thứ 3 trong việc phát triển UTDD dường như là sự có mặt của các chất đồng gây ung thư trong thực đơn, đặc biệt là rượu, ăn mặn quá mức và các nitrosamine. Alcohol và muối có thể tác động trước tiên với tư cách là các chất kích thích làm tăng sự phá hủy các mô và gây viêm nhiễm. Nitrosamine liên quan với tư cách là các chất gây đột biến trực tiếp. Chúng là các tác nhân alkyl hóa, đặc biệt là phản ứng với các base DNA và như một qui luật nó sẽ gây nên các đột biến điểm. Vì thế người ta cho rằng chúng đáp ứng cho nhiều đột biến điểm phát hiện thấy trong các UTDD, ví dụ như ở TP53, CDH1 (E-Cadherin) và CTNNB1 (β-catenin). Những chất này đều hiện diện trong các thức ăn hàng ngày, ví dụ như các thực phẩm ngâm hoặc bị ngấm khói thuốc. Một số có thể được tạo ra trong môi trường acid của dạ dày do phản ứng của acid nitric với các amine chứa trong thực phẩm (Hình 19.8). Acid nitric được sản xuất bởi sự khử nitrate của thực phẩm trong khoang miệng và khi đi ngang qua thực quản. Nồng độ của nó đặc biệt cao trong các thực phẩm muối hoặc ngâm đã ôi thối. Việc nâng cao chất lượng thực phẩm đã được thực hiện trong nhiều thập kỷ qua, đặc biệt là việc thay thế kỹ thuật ngâm bằng bảo quản lạnh đã góp phần quan trọng vào việc làm giảm UTDD cũng giống như việc loại Helicobacter pylori bằng kháng sinh ở nhiều người.

❑ ***Rau và hoa quả tươi:*** Trái lại, một số thành phần khác của thức ăn dường như lại có tác dụng bảo vệ, kháng lại UTDD. Đặc biệt quan trọng là các chất chống oxy hóa như vitamin C và folate mang nhóm methyl, chúng có trong rau và hoa quả tươi. Tăng cường sử dụng rau và hoa quả tươi ở các nước công nghiệp Phương Tây, trái ngược với việc sử dụng thực phẩm rán và ngâm muối trước đây cùng với việc vận chuyển và giữ lạnh tổng thể đã góp phần làm giảm UTDD.

Những hợp chất này có thể bảo vệ do các cơ chế nội bào và ngoại bào. Trong dịch dạ dày, vitamin C sẽ khử và làm bất hoạt các nitrosamine. Trong biểu mô dạ dày viêm nhiễm, các chất chống oxy hóa làm giảm hiệu ứng của các mẫu oxy phản ứng. Vì thế, chúng bảo vệ kháng lại sự hủy hoại TB và làm giảm tỷ lệ đột biến. Việc cung cấp đầy đủ folate mang nhóm methyl đảm bảo chắc chắn rằng kho chứa thymidine là đầy đủ, phòng ngừa sự hợp nhất mất nghĩa của uridine cũng như sự bẻ gãy các chuỗi DNA, bảo đảm cung cấp đầy đủ S-adenosylmethionine cần thiết cho việc duy trì mẫu methyl hóa DNA thích hợp.




**Hình 19.8** *Nitosamin hóa các amine trong môi trường acid*

Trên cùng: Phản ứng chung. Bên trên: Sự hình thành nitrosamine từ benzyl-methyl-amine.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Nói ngắn gọn, sự phát triển của UTDD coi như là hệ quả của sự thâm nhiễm *Helicobacter pylori*, không những là một quá trình nhiều bước mà còn là đa yếu tố. Một số yếu tố tác động hiệp đồng (Bảng 19.1). Cũng như trong phát triển ung thư gan sau khi thâm nhiễm HBV, sự viêm nhiễm mạn tính là điều kiện tiên quyết quan trọng và tùy thuộc vào kiểu gen của cả vật gây bệnh cũng như vật chủ. Những sự viêm nhiễm như thế có khả năng gây nên đột biến, nhưng tất cả đều tạo nên một môi trường trong đó có sự biến đổi kiểu hình và được chọn lọc rồi mở rộng ra. Vì thế thật là ý nghĩa khi phát hiện thấy các đột biến TP53 là thường xuyên trong một số viêm dạ dày mạn tính (Hình 19.3). Cũng giống như ung thư gan, cả 2 ung thư này đều tạo ra những sự biến đổi tế bào và chúng tiến triển thành các tế bào ung thư, điều đó càng được đẩy mạnh bởi sự hiện diện của các chất gây đột biến và thiếu các chất bảo vệ. Trong UTDD thì thành phần aflatoxin gây đột biến trong ung thư gan thay vì sẽ được thực hiện bởi các nitrosamine.

Có khả năng là, mỗi yếu tố kể trên đều có thể là cần thiết cho việc nảy sinh ung thư. Tỷ lệ ung thư cao vẫn còn thấy ở một số nơi trên thế giới. Các yếu tố dịch tễ học đã chỉ rõ, UTDD có thể được phòng ngừa.

## *TÓM TẮT*

❖ *Ung thư dạ dày là nguyên nhân thứ hai gây tử vong thường gặp nhất trên toàn thế giới với gần một triệu trường hợp mắc mới mỗi năm. Đó là một vấn đề y tế nghiêm trọng vì tỷ lệ cứu sống liên quan tới chất lượng cuộc sống. Nhưng cũng may mắn là tỷ lệ mắc bệnh của nó đã giảm ở nhiều nước công nghiệp trong nhiều thập kỷ qua. Nguyên nhân của sự giảm độc đáo này được cho là có sự cải thiện vệ sinh, thay đổi chế độ ăn uống và việc sử dụng rộng rãi các loại kháng sinh làm giảm thâm nhiễm Helicobacter pylori*

❖ *Sự thâm nhiễm Helicobacter pylori có liên quan với hầu hết các trường hợp ung thư dạ dày. Khoảng 50% dân cư thế giới mang chủng vi khuẩn này nhưng chỉ <10% phát triển thành bệnh viêm nhiễm mạn tính và loét, thậm chí một số ít thành ung thư dạ dày. Chung cuộc của sự thâm nhiễm được xác định là do những sự biến đổi di truyền của vi khuẩn và vật chủ, nó tác động với phương thức hiệp đồng mạnh mẽ. Đối với vi khuẩn thì có những sự biến đổi ở gen babA2, cagA và vacA, còn ở vật chủ là những sự đa hình ở các gen cytokine, đặc biệt là IL1B ảnh hưởng tới nguy cơ viêm nhiễm mạn tính, loét và ung thư. Hơn nữa, việc sinh ung thư còn phụ thuộc cả vào các đồng yếu tố như các chất sinh ung thư từ thức ăn và các thành phần bảo vệ.*

❖ *Hầu hết các ung thư dạ dày đều nảy sinh ở hang vị và thân dạ dày. Dưới type tổ chức học nổi trội là type ruột (intestinal type) và type phân tán (diffuse type). Type ruột phát triển từ sự suy kiệt về tiêu hóa ở các vùng dị sản của ruột. Type phân tán xâm lấn cao, bao gồm các nhóm nhỏ các TB chưa biệt hóa tán xạ dễ dàng. Cả 2 type tổ chức học này đều có chung một số biến đổi như sự bất hoạt TP53.*

❖ *Dị sản ruột có liên quan đến thay đổi biểu hiện của các yếu tố sao chép điều hòa sự phân chia của ống ruột trong quá trình phát triển thai nhi. Từ dị sản lành tính có thể phát triển thành ung thư type ruột theo phương thức giống như carcinoma đại tràng trong một số khía cạnh.*

❖ *Biến đổi đặc biệt nhất trong các ung thư dạ dày type phân tán là các đột biến của gen CDH1 mã hóa cho E-cadherin. Hiếm các trường hợp có tính chất gia đình về dạng ung thư này được gây bởi các đột biến dòng mầm ở E-cadherin. Như vậy, CDH1 ứng xử với tư cách là một gen kiềm chế khối u cổ điển trong dạng ung thư đặc biệt này.*

❖ *Giảm tỷ lệ mắc bệnh ung thư dạ dày ''cổ điển'' ở các nước công nghiệp được bù lại một phần bởi tăng tỷ lệ mắc các bệnh ung thư thực quản và các bộ phận phía trên dạ dày. Những ung thư này có liên quan tới việc tiêu thụ alcohol và hút thuốc lá. Những bệnh ung thư này có thể được thúc đẩy do gia tăng acid dịch dạ dày do hệ quả của việc xóa bỏ Helicobacter pylori. Chúng cũng liên quan đặc biệt với dị sản.*

# CHƯƠNG XX: UNG THƯ TỤY

Adenocarcinoma ống tụy (pacreatic ductal adenocarcinoma - PDAC) là một bệnh tiên lượng xấu với tỷ lệ sống sót trung bình dưới 6 tháng, tỷ lệ sống sót sau 5 năm dưới 1%.

PDAC (UTT) do sự giám sát hệ gen và và các cơ chế truyền tin bị khiếm khuyết. Những quá trình TB chủ chốt đã được Hanahan và Weinberg tóm tắt là do sự tự túc (self-sufficiecy) tín hiệu tăng trưởng, mất tính nhạy cảm với với các tín hiệu ức chế, tránh né apoptosis, xâm lấn mô và sự di căn cũng như duy trì sự tạo mạch, tất cả đã góp phần vào việc xuất hiện ung thư và tiến triển ác tính này.

## 20.1. CÁC TÍN HIỆU TĂNG TRƯỞNG

Tự túc tín hiệu tăng trưởng ở PDAC được đảm bảo ở nhiều cấp độ, cụ thể là sản xuất tự tiết (autocrine production) các yếu tố tăng trưởng, biểu hiện quá mức các rceeptor yếu tố tăng trưởng, kích hoạt các gen sinh ung thư và bất hoạt các gen KCKU. Hệ thống yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGF) là một ví dụ tốt về sự kích thích tự tiết góp phần vào việc tự túc tín hiệu tăng trưởng các tế bào PDAC như thế nào. Sự biểu hiện quá mức các receptor EGF (ErbB1/EGFR và ErbB3) được phát hiện thấy trong đại đa số PDAC. Cùng với sự biểu hiện quá mức của các ligand, EGF và TGFα thì một mạch tín hiệu cũng được xây dựng khiến cho sự tiến triển chu kỳ tế bào không bị hạn chế. Phù hợp với thực tiễn này là các chất đối kháng receptor EGF hiện nay đã được sử dụng để điều trị cho những bệnh nhân ung thư tụy. Ngoài hệ thống EGF, các hệ thống tăng trưởng khác như hệ thống IGF, HGF hoặc FGF cũng góp phần vào sự sinh carcinoma của ung thư tụy.

Hiệp đồng cùng với mạch receptor yếu tố tăng trưởng/ligand, các gen sinh ung thư và các gen KCKU bất hoạt sẽ thúc đẩy sự tăng sinh của PDAC. Gen ung thư K-RAS bị đột biến ở gần như tất cả PDAC của người. Vì các đột biến ở codon 12 của K-RAS đã được phát hiện ở các tổn thương tiền ung thư và ung thư tụy và gen ung thư K-RAS cảm ứng PDAC trong các mô hình chuột nên đột biến K-RAS là một sự kiện khởi đầu trong sinh bệnh học ung thư tụy. Gen ung thư K-RAS có liên quan với bộ máy chu kỳ TB của các tế bào PDAC do kích hoạt con đường tín hiệu đa phân bào, đáng chú ý là con đường PI3K, RAF-mitogen-activated kinase (MAPK) và NF-κB. Vì thế, việc đích biểu hiện K-RAS được chỉ rõ là nhằm làm giảm sự tăng sinh của các tế bào PDAC.

Các tế bào PDAC được đặc trưng bởi tăng tốc mạnh sự tiến triển từ phase G1 tới S do bất hoạt chức năng trạm kiểm soát phase G1 phụ thuộc retinoblastoma (RB). Nhiều sự biến đổi góp phần vào việc làm bất hoạt RB trong các tế bào PDAC. Ở đây có sự biểu hiện quá mức thường xuyên các cyclin như cyclin D1, cyclin D3, cyclin A và cyclin E cũng như các kinase phụ thuộc cyclin như CDK3 và CDK4 đã được mô tả ở PDAC gần đây. Sự biểu hiện cao của cyclin E xảy ra với khoảng 1/3 PDAC- một chỉ thị độc lập về kết quả chung cuộc của bệnh nhân, điều đó đã chỉ rõ tầm quan trọng của chất điều hòa chu kỳ tế bào này. Ở mức độ gen, sự bất hoạt của RB được giải thích là do những đột biến thường xuyên của các chất kiềm chế khối u INK4A và TP53. INK4A ngăn cản sự tiến triển của phase S do ức chế các kinase phụ thuộc cyclin CDK4 và CDK6, dẫn đến kích hoạt RB. Mất biểu hiện INK4A được trung gian bởi sự đột biến, sự xóa bỏ hoặc sự cường methyl hóa promoter đã được quan sát thấy ở 95% PDAC rải rác. Yếu tố sao chép đặc hiệu trình tự p53 bị kích hoạt do sự chiếu xạ γ, sự tổn thương DNA hay sự kích hoạt gen gây ung thư. Sự kích hoạt p53 có liên quan đến việc kiểm soát chu kỳ tế bào, cảm ứng apoptosis hoặc chương trình lão hóa. Gen p53 bị đột biến ở hơn 50% PDAC. Vì chất ức chế pan- CDK ($p21^{Cip1}$) là một gen đích của p53 nên các đột biến của p53 sẽ cho phép tiến triển từ phase G1 tới phase S dưới điều kiện của các áp lực sinh ung thư.

Ngoài $p21^{Cip1}$, một chất ức chế pan-CDK khác là $p27^{Kip1}$ liên quan rất nhiều đến việc kiểm soát sự tiến triển từ phase G1 sang phase S của các tế bào PDAC. Các tế bào ung thư tụy biểu hiện ít hoặc không $p27^{Kip1}$, điều đó cho thấy có sự đóng góp của chất ức chế pan-CDK này đối với sự hình thành carcinoma tụy. Việc điều hòa $p27^{Kip1}$ rất phức tạp và mặc dầu $p27^{Kip1}$ được kiểm soát ở mức độ sinh tổng hợp, nhưng sự phong phú quá mức của protein lại được điều hòa chủ yếu bởi những biến đổi sau phiên dịch (tổng hợp protein), ảnh hưởng đến vòng xoay của protein $p27^{Kip1}$. Sự phosphoryl hóa của $p27^{Kip1}$ trên Thr-187 bởi phức hợp cyclin E-CDK2 đánh dấu cho những protein được nhận dạng bởi protein 2 gắn kết kinase phase S (SKP2), một protein F-box có chức năng như là một thành phần receptor của phức hợp SCF ubiquitin ligase. Kết quả là làm ubiquitin hóa và phân giải $p27^{Kip1}$. Biểu hiện SKP2 với mức cao được được quan sát thấy vào khoảng 1/3 các mẫu ung thư tụy và là một chất dự đoán độc lập kết quả chung cuộc của bệnh nhân. Mặc dù tính ổn định của protein SKP2 được điều tiết, nhưng một nghiên cứu mới đây đã chứng minh rằng việc kiểm soát sao chép có tầm quan trọng đối với việc điều hòa SKP2 ở PDAC. Hai con đường tín hiệu quan trọng, cụ thể là con đường NF-κB và PI3K được hợp nhất tại promoter gen SKP2 và cả 2 con đường đều biểu hiện $p27^{Kip1}$ với mức thấp hơn trong các tế bào PDAC. Ngoài tín hiệu NF-κB và PI3K, sự tích tụ protein $p27^{Kip1}$ cũng ở mức thấp hơn bởi protein liên kết domain kích hoạt jun (JAB1) và một chất đồng yếu tố hoạt hóa (coactivator) AP1. JAB1 biểu hiện

quá mức ở 100% ung thư tụy (UTT) và hạ thấp sự biểu hiện của $p27^{Kip1}$ trong phương thức độc lập SKP2. Không rõ là liệu miRNA miR-221 và miR-222 có biểu hiện cao trong UTT và $p27^{Kip1}$ mRNA đích tiềm năng có góp phần làm giảm mức biểu hiện của $p27^{Kip1}$ hay không, điều này vẫn còn phải chờ đợi ở các khảo sát chức năng xa hơn. Tuy nhiên, tổ hợp các dữ liệu cho thấy các tế bào PDAC đã sử dụng các con đường khác nhau để đảm bảo cho sự biểu hiện thấp của $p27^{Kip1}$. Vì thế, việc làm tăng $p27^{Kip1}$ là cách tiếp cận đầy hứa hẹn cho các chiến lược trị liệu mới.

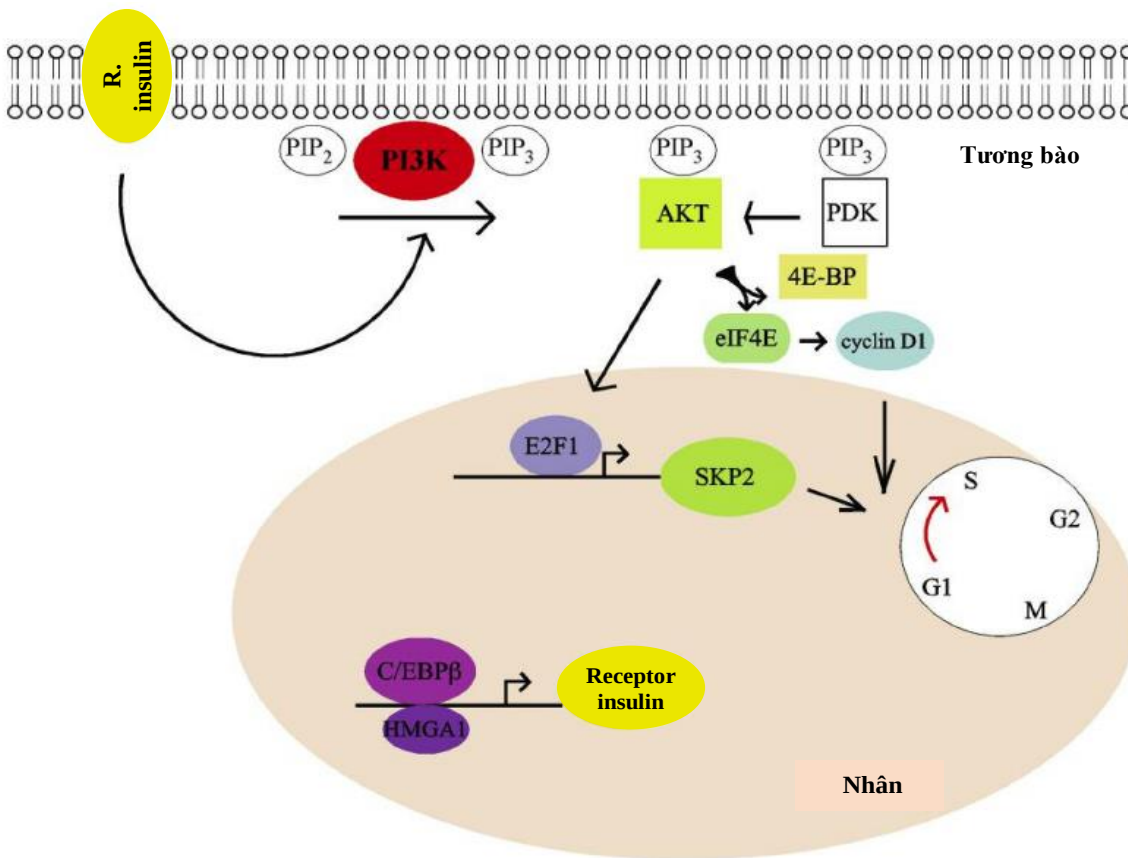
Gần đây, yếu tố nhân các tế bào T kích hoạt yếu tố sao chép, NF-Atc1 thường biểu hiện quá mức trong PDAC và được kiểm soát bởi enzyme phosphatase calcineurin nhạy cảm với $Ca^{+2}$ được chỉ rõ là có góp phần vào việc kiểm soát tăng trưởng do cảm ứng sao chép gen gây ung thư c-myc. Vì thế, đích calcineurin có thể cống hiến vào việc can thiệp trị liệu trong tương lai.

Ngoài những biến đổi di truyền đã đề cập thì sự tăng sinh của các tế bào UTT lại được kiểm soát bởi bộ máy epigenetic, đặc biệt là histone deacetylase (HDAC), thúc đẩy sự tăng sinh của các tế bào UTTT. HDAC xúc tác cho sự loại bỏ các nhóm acetyl khỏi các histone mà kết quả là làm đông đặc chất nhiễm sắc và kiềm chế sự sao chép. Điều trị các bệnh nhân UTT với các chất ức chế HDAC sẽ gây cảm ứng dừng chu kỳ tế bào ở phase G1 hoặc G2/M ở các tế bào UTTT. Đáng chú ý là chất ức chế HDAC suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA), HDAC ức chế 1, 2, 3 và 6 được chỉ rõ là làm ngừng sự tăng trưởng của các tế bào UTT do điều hòa xuống các protein thúc đẩy chu kỳ tế bào cyclin B1,cyclin D1 và c-myc. Vì HDAC3 gần đây đã được chứng minh là đẩy nhanh tiến độ tăng sinh của các dòng tế bào ung thư tụy MiaPaCa2, nên HDCA3 có thể là đích cho sự ức chế tăng trưởng các tế bào UTT được cảm ứng bởi các chất ức chế HDAC.

Con đường PI3K rất quan trọng đối với nhiều khía cạnh tăng trưởng và sống sót của TB và được kích hoạt với khoảng 60% các trường hợp UTT. Tín hiệu PI3K/AKT điều khiển sự kháng lại trị liệu hóa học và tăng sinh của các tế bào UTT. Mặc dù tín hiệu PI3K cảm ứng sự tăng sinh của các tế bào UTT, nhưng cách thức của sự kích hoạt con đường PI3K thì vẫn chưa được rõ hoàn toàn. Ở đây, enzyme phosphatase kiềm chế khối u và tensin homolog bị xóa bỏ ở nhiễm sắc thể ten (PTEN) và cơ chất receptor insulin 1 (IRS-1) được biết là góp phần vào việc kích hoạt PI3K. Mặc dầu gen gây ung thư K-RAS kích hoạt tín hiệu PI3K-AKT, nhưng một con đường mới và bất ngờ gần đây đã được chứng minh là làm trung gian cho sự kích hoạt tín hiệu PI3K-AKT trong các tế bào UTT (Hình 1). Con đường này được điều hòa bởi yếu tố sao chép kiến trúc HMGA1. HMGA1 biểu hiện quá mức cao trong UTT và được biết là làm cho các tế bào UTT tăng sinh không hạn chế. Gần đây người ta đã chứng minh được rằng, HMGA1 kích hoạt tín hiệu PI3K-AKT của các tế bào UTT. Kích hoạt tín hiệu PI3K-AKT thì có khả năng là tại hạ nguồn của receptor insulin, việc sao chép được kiểm soát bởi phức hợp

chứa HMGA1 và phức hợp chứa C/ERPβ trong các tế bào UTT. Cuối cùng là, con đường receptor insulin HMGA1 làm tăng sự tổng hợp cyclin D1 thúc đẩy sự tăng sinh. Những khía cạnh mới về tín hiệu PI3K-AKT trong các tế bào UTT được tóm tắt ở Hình 20.1.

Một con đường khác làm gia tăng rõ rệt sự tăng sinh của các tế bào UTT là tín hiệu sonic hedgehog. Con đường này được kích hoạt bởi sự biểu hiện bất thường phụ thuộc NF-κB của liagnd sonic hedgehog và tác động tới nhiều giai đoạn trong quá trình hình thành carcinoma tụy. Sự can thiệp của tín hiệu sonic hedgehog làm ngừng sự tăng sinh của các tế bào UTT do cảm ứng dừng phase G1. Ở mức độ phân tử, tín hiệu sonic hegehog sao chép cảm ứng phiên mã sự biểu hiện cyclin D1 và giảm biểu hiện $p21^{Cip1}$, điều đó giải thích cho hiệu ứng của con đường này đối với phase G1 của chu kỳ TB. Vì các phân tử nhỏ hiện hữu can thiệp vào tín hiệu sonic hedgehog nên con đường này là đích phù hợp cho các trị liệu trong tương lai.




**Hình 20. 1** Những khía cạnh mới của tín hiệu PI3K-AKT trong các tế bào ung thư tụy. Phức hợp chứa HMGA1 và C/EBPβ kích hoạt gen receptor insulin trong các tế bào UTT. Tín hiệu receptor insulin kích hoạt tín hiệu PI3K-AKT và làm gia tăng sự tổng hợp cyclin D1 do ảnh hưởng bởi sự liên kết của protein gắn eIF4E yếu tố ức chế phiên dịch, 4E-BP với yếu tố khởi đầu phiên dịch eIF4E. Ngoài ra, tín hiệu PI3K-AKT cũng liên quan với chu kỳ tế bào bởi yếu tố phiên dịch E2F1, kiểm soát các gen thúc đẩy phase S như SKP2.

(Theo Gunter Schneider, Riner Hamacher, Stephan Eser, HELMUT friess, Roland M. SCHMID and Dieter Saur. Anticancer Research 28: 1541-1550, 2008)

## 20.2. SỰ MẤT NHẠY CẢM VỚI CÁC TÍN HIỆU TĂNG TRƯỞNG

Phân tử tín hiệu rõ nhất đã được ghi nhận trong các tài liệu có đặc tính kháng tăng trưởng là yếu tố tăng trưởng biến nạp (transforming growth factor [TGFβ]). Trong quá trình hình thành carcinoma, TGFβ biểu lộ chức năng có tính hai mặt: ức chế tăng trưởng các tổn thương ác tính sớm, đồng thời lại thúc đẩy sự tăng sinh của các khối u tiến triển. TGFβ ức chế sự tăng sinh của các TB biểu mô bình thường do cảm ứng biểu hiện các chất ức chế kinase phụ thuộc cyclin $p15^{INK4b}$ và $p21^{Cip1}$, hoặc do kiềm chế gen c-myc. Họ các yếu tố sao chép SMAD chuyển tín hiệu TGFβ tới nhân tế bào. Trong UTT, tín hiệu ức chế tăng trưởng qua trung gian TGFβ thường bị mất đi. Một phần, sự mất mát này là do đột biến gen MADH4/SMAD4/DPC4. Mất dị hợp tử locus gen SMAD4 phát hiện thấy với trên 90% UTT, trong khi đó không biểu hiện SMAD4 chỉ phát hiện vào khoảng 50%. Ngoài đột biến SMAD4, các tế bào PDAC còn biểu hiện mức thấp TGFβ receptor type 1 và biểu hiện quá mức các SMAD, SMAD6 hoặc SMAD7 ức chế. Những biến đổi này làm tăng tín hiệu phân bào của con đường TGFβ cùng với việc mất chức năng ức chế tăng trưởng. Hơn nữa, con đường tín hiệu TGFβ được kích hoạt bởi việc sản xuất tự tiết TGFβ lại cảm ứng sự xâm lấn của các tế bào PDAC, được trung gian bởi các gen đích như MMP-2, uPA hoặc CUTL1. Hơn nữa, sự tạo mạch lại được kiểm soát bởi con đường TGFβ – SMAD, vì SMAD4 kiềm chế yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu (VEGF) và cảm ứng chất ức chế tạo mạch thrombospondin 1 (TSP1) trong các tế bào PDAC.

Chức năng kiềm chế khối u của con đường TGFβ trong quá trình hình thành carcinoma tụy được chứng minh rõ nhất trong mô hình chuột $K\text{-}Ras^{G12D}$. Cũng như việc xóa bỏ MADH4/SMAD4/DPC4 ở tụy là là do sự phong tỏa tín hiệu TGFβ bởi xóa bỏ receptor TGFβ type II hiệp lực cùng với việc $K\text{-}Ras^{G12D}$ cảm ứng các khối u tụy.

## 20.3. SỰ TRÁNH NÉ APOPTOSIS

Bộ máy cảm biến, cảm ứng và thực hiện apoptosis được điều hòa ở nhiều cấp độ, theo đó thì tất cả các cấp độ đều có thể bị xáo trộn trong các tế bào ung thư, dẫn đến hiện tượng kháng lại apoptosis. Trong các tế bào UTT thì bộ máy thực hiện còn nguyên vẹn nên các cơ chế đề kháng đã làm khơi dậy sự hoạt động một cách đặc biệt ở các receptor chết cũng như các mức độ ức chế caspse và ty thể. Hầu hết các tế bào UTT đều kháng lại CD95L hoặc apoptosis qua trung gian TRAIL, mặc dầu chúng biểu hiện một cách tương ứng các receptor chết. Một chiến lược đã được khai thác trong các tế bào UTT để tránh né apoptosis cảm ứng bởi receptor, từ việc biểu hiện quá mức receptor nhử (decoy) 3 (DeR3), một receptor hòa tan cho Fas-ligand, đến biểu hiện quá mức c-Flip, một chất ức chế tiềm năng của việc kích hoạt caspase 8. Ngoài ra, hệ thống receptor chết chẳng những bị ngăn chặn mà còn bị lạm dụng bởi các tế bào khối u tụy

để chuyển đổi tín hiệu chết thành tín hiệu xâm lấn. Gần đây, tín hiệu receptor chết trung gian bởi TRAIL đã được chứng minh là được biểu hiện quá mức nên đã làm chuyển đổi tín hiệu CD95 từ cảm ứng apoptosis thành tín hiệu xâm lấn trong các tế bào UTTT.

Ở cấp độ ty thể, sự biểu hiện một cách tinh chỉnh (fine tuned) của các thành viên họ Bcl-2 tiền sống sót và tiền chết, cảm nhận và quyết định việc sống hay là chết của TB. Trái ngược với việc không biến đổi nhiều biểu hiện Bcl-2, thì BclxL lại biểu hiện quá mức trong các tế bào UTT, điều đó cho thấy tầm quan trọng của nó đối với thành viên họ Bcl-2 tiền sống sót này trong việc kháng lại apoptosis của các tế bào UTT. Thành viên họ Bcl-2 tiền sống sót thứ 2, Mcl-1 biểu hiện quá mức và điều hòa sự sống sót của các tế bào UTT. Về mặt chức năng, gần đây cho thấy Mcl-1 có liên quan đến sự tích hợp đáp hợp stress. Vì thế, Mcl-1 cao có thể bảo vệ được các tế bào UTT khỏi tình trạng thiếu oxy và các stress oxy hóa, đó là các điều kiện thường quan sát thấy ở vi môi trường khối u.

Cấp độ thứ 3 của kháng apoptosis do họ protein IAP, bao gồm cIAP1, cIAP2, XIAP và survivin. Một tác động phân tử của họ protein này là ức chế sự hoạt động của caspase thực hiện. Ít nhất là đối với các thành viên họ XIAP và survivin có sự gia tăng đáng kể protein đã được chứng minh trong các tế bào UTT. Điều thú vị là, sự biểu hiện của survivin lại phụ thuộc vào chu kỳ tế bào: thấp ở phase 1 trong các tế bào PDAC. Cùng với vấn đề này, sự nhạy cảm đối với apoptosis cảm ứng bởi TRAIL là do việc dừng các tế bào UTT ở phase G1 của chu kỳ TB cũng đã được quan sát thấy. Hơn nữa, sự kháng lại TRAIL của các tế bào UTT được biết là được điều hòa ở mức XIAP. Ngoài TRAIL, XIAP đích (targeting XIAP) cũng được chứng minh là làm cho các tế bào UTT nhạy cảm với chiếu xạ gamma và gemcitabine. Vì thế, chiến lược kết hợp sự nhạy cảm dừng phase G1 hoặc đích XIAP/cảm ứng (TRAIL/chiếu xạ gamma/hóa trị có thể là một cách tiếp cận trị liệu trong tương lai. Trong khi đó, trị liệu TRAIL cũng rất hấp dẫn vì cách thức tác động chọn lọc khối u của nó, tuy nhiên những thí nghiệm gần đây đã chứng minh được chức năng cảm ứng di căn và tiền u của TRAIL đối với các tế bào PDAC *in vivo,* điều đó có thể làm giới hạn các áp dụng trong lâm sàng.

Nhiều sản phẩm gen trung gian cho sự kháng apoptosis được điều hòa bởi yếu tố sao chép NF-κB trong PDAC, điều đó đã chứng minh sự góp phần quan trọng của NF-κB đối với apoptosis và sự kháng lại trị liệu hóa học. Gần đây, gen GADD45α được chứng minh là hạ nguồn của con đường, được điều hòa bởi IκBα trong PDAC. GADD45α tác động trong vi môi trường không ung thư với tư cách là một protein tiền apoptosis và thật ngạc hiên là, nó biểu hiện quá mức ở mức độ protein và mRNA trong PDAC, trung gian cho sự tăng sinh và kháng apoptosis của tế bào, nhưng cho đến nay vẫn chưa biết rõ các con đường phân tử của nó.

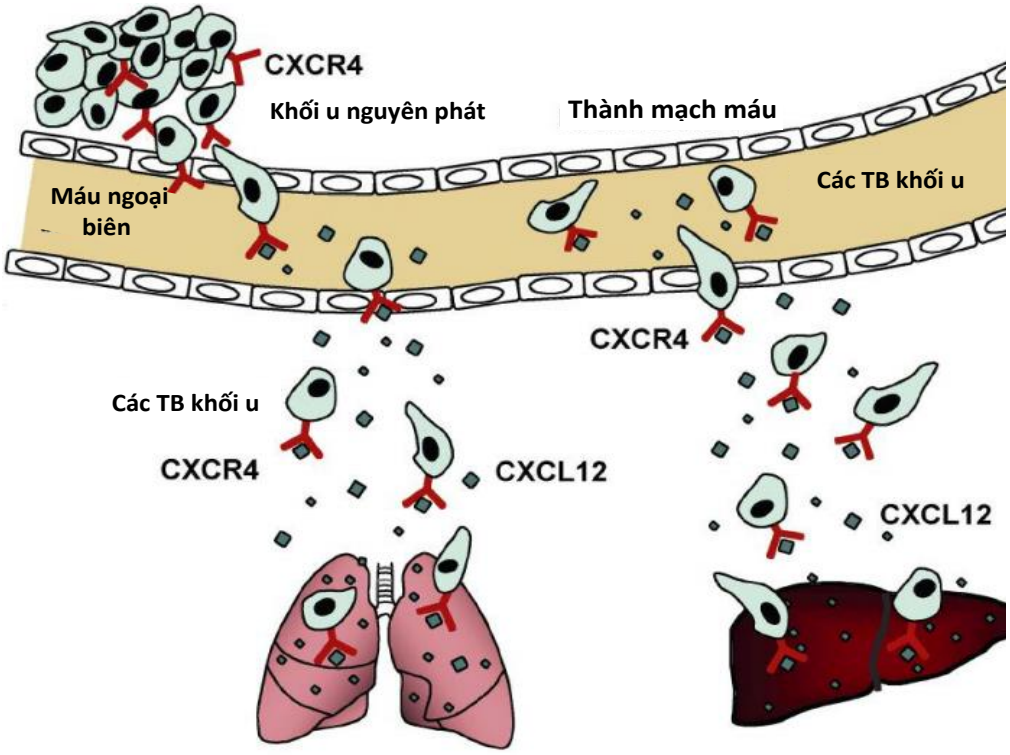
## 20.4. TIỀM NĂNG SAO CHÉP KHÔNG GIỚI HẠN

Các TB động vật có vú thực hiện một chương trình tự trị TB nội tại có thể làm giới hạn lại số lần phân bào mitose. Việc chấm dứt sự hoạt động của các chương trình không an toàn này là điều kiện tiên quyết của ung thư và lão hóa là một cơ chế quan trọng để hạn chế tiềm năng sao chép. Lão hóa là một quá trình trong đó xảy ra việc ngăn chặn chu kỳ TB cho sự tăng trưởng vĩnh viễn, điều này xảy ra sau một thời kỳ phân chia TB kéo dài, hoặc do stress oxy hóa hoặc kích hoạt gen gây ung thư, và rõ ràng là được cảm ứng bởi K-RAS ở các TB không bất tử của người và chuột. Các TB lão hóa được đặc trưng bởi trạng thái chuyển hóa tích cực và thay đổi về hình thái học, sinh lý học và chữ ký gen (gene signature). Những TB này thường thể hiện hoạt tính β- galactosidase liên quan đến lão hóa và không thể biểu hiện được các gen cần cho sự tiến triển của chu kỳ TB, ngay cả trong vi môi trường phân bào (mitogenic). Hệ thống kiềm chế khối u ARF-p53 và $p16^{INK4A}$-RB liên quan một cách đặc biệt với sự điều hòa phân tử các gen gây ung thư - cảm ứng lão hóa sớm. Sự đóng góp tương đối của mỗi hệ thống khác nhau một cách đáng kể giữa các loài và các mô. Trong những năm gần đây các định nghĩa về marker lão hóa như $p15^{INK4b}$, DCR2 và DEC1 đã trợ giúp cho việc chứng minh khái niệm lão hóa *in vivo*. Vì các marker lão hóa thường được phát hiện trong các tổn thương tiền ác tính (PanINs) trong mô hình khối u chuột đích gen gây ung thư K-RasV12 đối với tụy nên lão hóa là một sự kiện sớm trong quá trình sinh carcinoma tụy. Điều này có thể giải thích về những biến đổi thường xuyên phát hiện thấy ở locus CDK2A, locus TP53 và RB bất hoạt chức năng ở các tế bào PDAC.

## 20.5. SỰ XÂM LẤN VÀ DI CĂN

Di căn giữ vai trò quan trọng đối với bệnh trạng UTT và nó chiếm phần lớn các trường hợp tử vong do UTT của người. Di căn là một quá trình sinh ung thư đặc hiệu cơ quan, không ngẫu nhiên, nó đòi hỏi có nhiều bước và có sự tương tác giữa các TB khối u và TB vật chủ, như sự tách rời của các TB khối u khỏi u nguyên phát, xâm lấn vào chất nền của vật chủ, sau đó nội xâm lấn (intrainvasation) vào các hạch bạch huyết và mạch máu, sống sót ở hệ tuần hoàn, sau đó là ngoại xâm lấn (extravasation) ra các cơ quan đích và cuối cùng là tăng sinh và cảm ứng sự tạo mạch. Cơ chế trung tâm của sự di căn là thay đổi từ hình thái học TB biểu mô biệt hóa cao thành kiểu hình trung mô. Quá trình này được gọi là sự chuyển đổi biểu-trung mô (EMT). Trong quá trình EMT, tế bào biểu mô mất tính phân cực và sự kết dính nội bào và thu được kiểu hình nguyên bào sợi. Hơn nữa, transcriptome và proteome cũng thay đổi từ biểu mô sang trung mô, dẫn đến biểu hiện các marker trung mô như vimentin, N-cadherin, Snail và Twist, trong khi đó các marker biểu mô như E-caherin thì bị mất đi. EMT dẫn đến kiểu hình di cư, xâm lấn hơn- một điều kiện tiên quyết của di căn. Cơ chế phân tử của EMT chưa được khảo sát

chi tiết đối với các PDAC. Ít nhất là trong những dòng TB có con đường TGFβ nguyên vẹn mà tín hiệu TGFβ được biết là để cảm ứng kiểu hình trung mô. Hơn nữa, tín hiệu cảm ứng bởi chất nền ngoại bào lại rất quan trọng đối với việc điều hòa xuống E-cadherin- một chất giữ vai trò trung tâm cho việc hình thành tính phân cực, sự tổ chức của biểu mô và làm gia tăng xâm lấn cũng như tăng sinh của các tế bào PFAC. Các đột biến E-cadherin hay mất biểu hiện E-cadherin đã quan sát thấy ở 50-60% PDAC rải rác nguyên phát và liên quan nhiều với các di căn hạch bạch huyết và các di căn gan. Trái ngược với E-cadherin, N-cadherin lại được điều hòa lên bởi K-RAS gây ung thư và có chức năng quan trọng đối với điều biến sự di cư và xâm lấn của các tế bào PDAC. Các yếu tố sao chép liên quan tới EMT của các tế bào UTT thì vẫn chưa được rõ, nhưng những bằng chứng gần đây đã chứng minh được là có sự đóng góp của SP1 và Snail.




**Hình 20.2** Đích di căn của các tế bào ung thư tụy là gan và phổi. Di căn là một quá trình gồm nhiều bước đặc hiệu cơ quan cao nó đòi hỏi những sự tương tác riêng biệt giữa các tế bào ung thư và tế bào của vật chủ. Trước tiên, các tế bào UTT của khối u nguyên phát tăng sinh và cảm ứng sự tạo mạch. Các tế bào ung thư sau đó tách ra khỏi khối u nguyên phát, xâm lấn vào chất nền của vật chủ, nội xâm lấn vào hạch bạch huyết và mạch máu, do đó mà tiến được vào hệ thống tuần hoàn. Chemokine CXL12 nhận ra receptor chemokine CXCR4 biểu hiện trên bề mặt của các tế bào UTT với lượng cao chỉ với những cơ quan xác định như gan và phổi. Các cơ quan khác như não thì chỉ chứa một lượng thấp CXCL12. Khi gắn CXCL12 vào CXCR4 thì gây cảm ứng sự di cư của các tế bào UTT vào trong các mô bình thường như gan và phổi, ở đó các tế bào sẽ hình thành nên các khối u di căn.

(Theo Gunter Schneider, Riner Hamacher, Stephan Eser, HELMUT friess, Roland M. SCHMID and Dieter Saur. Anticancer Research 28: 1541-1550, 2008)

Mặc dầu di căn gan và phổi là các marker tiên lượng chủ chốt của PDAC, nhưng những cơ chế dẫn đến sự homing của các tế bào UTT thì vẫn chưa rõ. Trong một báo cáo gần đây cho thấy ảnh hưởng của receptor chemokine CSCR4 đối với việc đích UTT tới gan và phổi đã được chứng minh. Hơn nữa, các chất đối kháng phân tử của CXCR4, AMD3100 ngăn chặn việc đích di căn đã tạo cơ hội cho một trị liệu kháng di căn. Hình 20.2 mô tả các di căn qua trung gian CXCR4 tới gan và phổi.

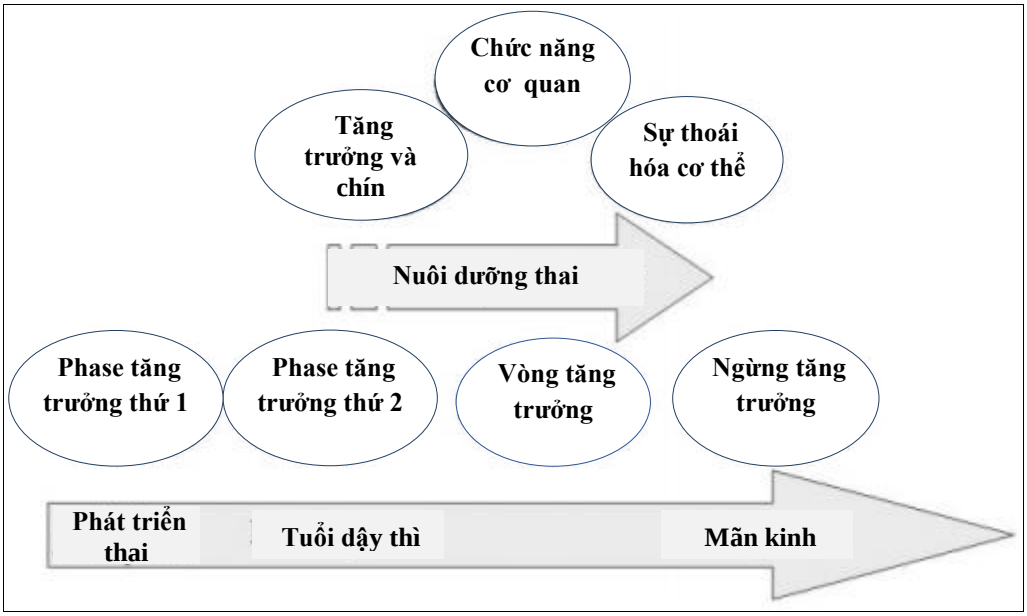
## 20.6. SỰ TẠO MẠCH

Một quá trình mà trong đó việc cung cấp mới máu được xây dựng từ các mạch đang hiện hữu thì được gọi là sự hình thành mạch. Quá trình này quan trọng đối với các khối u muốn đạt tăng trưởng cao hơn 1 đến 2 mm, còn oxy thì được cung cấp từ xa bằng cách khuếch tán. Mật độ mạch tăng cao ở PDAC so với tụy bình thường. Mật độ cao của mạch liên quan đến tiên lượng sấu sau phẫu thuật cắt bỏ và là đại diện cho yếu tố nguy cơ của sự di căn. Sự hình thành mạch được điều tiết bởi việc tiết ra các yếu tố kháng tăng sinh và tiền tăng sinh mạch máu. Các tế bào khối u cũng như các TB đệm khối u đều tiết ra các yếu tố tiền tạo mạch như các yếu tố tăng trưởng, các cytokine hoặc chemokine. Hệ thống VEGF giữ vai trò trung tâm trong việc điều hòa sự sinh mạch của khối u. Hệ thống này được điều tiết bởi tình trạng thiếu oxy - một đặc tính đặc trưng của vi môi trường khối u. Trạng thái thiếu oxi được cảm nhận bởi yếu tố sao chép HIF1 có chứa tiểu đơn vị kiến tạo nhân HIF1β và tiểu đơn vị điều hòa trạng thái thiếu oxy HIF1α. HIF1 đích các gen có tầm quan trọng trong việc làm gia tăng mức oxy của mô như erythropoietin, các enzyme con đường đường phân (glycolytic), carbonic anhydrase, heme oxygenase và VEGF-A. Ngoài ra, HIF1 còn điều hòa lên sự biểu hiện của CXCR4, vì vậy mà có liên quan tới sự hình thành mạch và sự di căn của khối u. Dưới những điều kiện oxy bình thường, HIF1α bị ubiquitin hóa bởi E2 ubiquitin ligase và chất kiềm chế khối u von Hippel- Lindau (pVHL) và phân giải proteosome. Mức HIFα mRNA được điều hòa lên trong adenocarcinoma ống động mạch tụy và tương quan chặt chẽ với sự biểu hiện VEGF-A mRNA. Mặc dầu đã chứng minh được rằng, việc đích hệ thống VEGF trong mô hình tiền lâm sàng kiềm chế được sự tăng trưởng sinh u ở mô hình ghép ngoại lai, nhưng một nghiên cứu phase III của nhóm nghiên cứu ung thư và bệnh bạch cầu B80303 đã thất bại trong việc chứng minh những khác biệt một cách ý nghĩa đối với sự sống sót nói chung khi khi sử dụng kháng thể đơn dòng kháng VEGF tái tổ hợp đã nhân hóa, bevaczumab kết hợp cùng với gemcitabine. Vấn đề này đã chỉ rõ sự phức tạp của điều hòa sinh mạch khối u trong PDAC. Vì lẽ đó nên sự biểu hiện quá mức của các yếu tố tăng trưởng sinh mạch tiềm năng EGF, TGFα, TGF-2, PDGFBβ và các chemokine IL-8 và CCl20 đã được chứng minh trong PDAC.

# CHƯƠNG XXI: UNG THƯ VÚ

## 21.1. NHỮNG ĐẶC TRƯNG SINH HỌC CỦA VÚ

Ở người trưởng thành, các cấu trúc như ngoại bì và niêm mạc đại tràng trải qua quá trình quay vòng hằng định, trong khí đó các cấu trúc khác như trung mô gan và biểu mô niệu thì chỉ tăng sinh cao cho mục đích sửa chữa sau khi bị hư hại. Mô vú khác biệt với tất cả các cấu trúc này (Hình 21.1).




**Hình 21.1** *Các phase tăng trưởng của vú*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Trước hết, trước lúc dậy thì cơ quan này chưa phát triển đầy đủ lại có thêm một phase tăng trưởng phụ trong độ tuổi 20. Trong quá trình dậy thì, các ống dẫn chưa chín (trưởng thành) kéo dài tới mô liên kết bao quanh để hình thành nên 15-20 thùy con. Quá trình này có liên quan cấp số nhân với các TB ống và sự mở rộng của quần thể TB gốc của nó. Mô liên kết ở vú cũng mở rộng như vậy.

Sau một giai đoạn đến lúc 45 tuổi. mô ống sẽ trải qua các chu kỳ tăng sinh và apoptosis hàng tháng. Ở một số phụ nữ có khi xảy ra tới 500 vòng kinh trước khi ngừng rụng trứng và việc sản xuất estrogen trong buồng trứng giảm xuống khi mãn kinh.

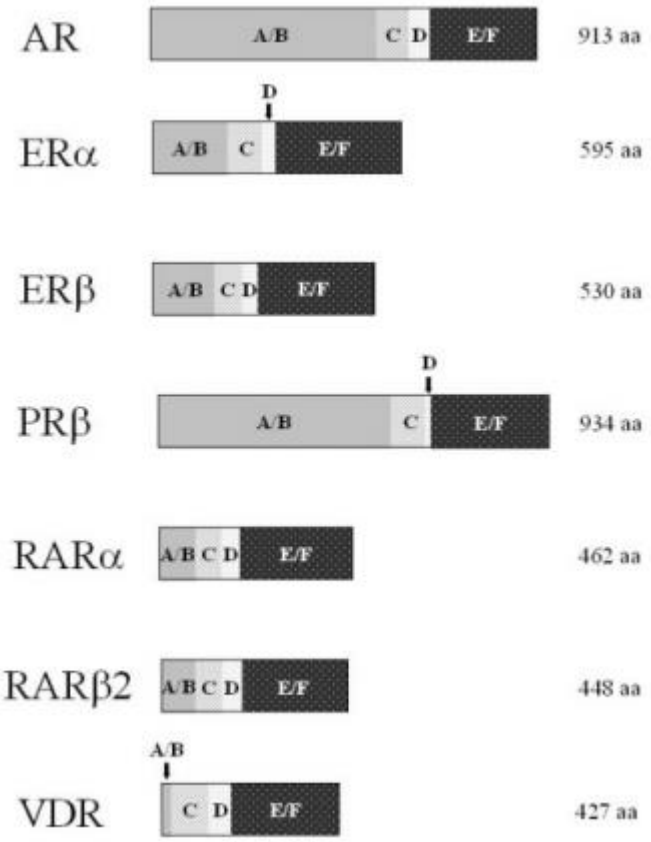
Vòng điều hòa này bị gián đoạn trong thời kỳ mang thai, khi đó các ống được mở rộng xa hơn vào tận mô liên kết phía dưới, tại đó nó phân nhánh và mở rộng thành tổ

chức hình túi (alveolar). Đồng thời, các TB tiết biệt hóa và các ống được trưởng thành. Sau khi sinh đẻ, các tuyến sản xuất ra một lượng đáng kể carbohydrate, mỡ và các protein để tiết vào sữa, quá trình này có thể kéo dài tới vài năm. Các protein tiết cung cấp các chất dinh dưỡng cũng như các yếu tố tăng trưởng và các protein miễn dịch bảo vệ. Khi cai sữa thì thì tuyến sữa bị teo đi một phần, đi kèm với apoptosis các TB tuyến, đặc biệt là các TB tiết luminal trong tổ chức hình túi. Rồi đến các mô, trong đó có biểu mô và mô đệm sẽ được tu sửa lại.

Những chu kỳ này được kiểm soát bởi sự kết hợp giữa hormone và các yếu tố tăng trưởng được sản xuất một cách cục bộ. Pha tăng trưởng dậy thì được kích thích bởi estrogen từ buồng trứng, lúc này nó trở nên kích hoạt và bởi các hormone tăng trưởng cùng các chất trung gian (mediator) "somatomedin" của nó là IGF1 và IGF2. Các chu kỳ tháng được kiểm soát chủ yếu bởi estradiol và progesterone, được trợ giúp bởi insulin và các hormone khác. Ở phase thứ nhất của chu kỳ tháng các TB nang tiết ra chủ yếu là estrogen. Sau khi giải phóng ra noãn bào thì các gestagen như progesterone là sản phẩm chính. Trừ phi xảy ra sự thụ tinh, nếu không thì các TB nang sẽ thoái hóa và mức estrogen và progesterone sẽ là tối thiểu, gây nên teo vú và rõ ràng hơn là ở nội mạc tử cung. Pha tăng trưởng thai được kích thích bởi một số hormone bao gồm gestagen, estrogen, hormone tăng trưởng và insulin cũng như các glucocorticoid, tất nhiên còn có cả prolactin. Cũng như ở các mô khác, sự tăng sinh của các TB biểu mô ở vú được trợ giúp bởi mô đệm. Các TB đệm và TB biểu mô đều sản xuất ra các yếu tố tăng trưởng cận tiết (paracrine), đáp ứng phần nào các hormone steroid.

Đại diện cho estrogen là estradiol và đại diện cho gestagen là progesterone, chúng tác động lên tế bào bằng cách gắn vào các receptor đặc hiệu thuộc siêu họ receptor hormone steroid (Hình 21.2). Siêu họ này bao gồm một lượng lớn các protein liên kết DNA với nhiều ligand, ví dụ như các receptor acid retinoic. Các receptor estrogen và receptor progesterone thuộc nhóm receptor có liên hệ chặt chẽ hơn, bao gồm cả receptor androgen. Các thành viên của nhóm này là các yếu tố sao chép phụ thuộc ligand gắn kết với tư cách homodimer với các vị trí liên kết cân xứng đặc hiệu trên DNA. Đó là yếu tố đáp ứng estrogen ERE (estrogen-responsive element), yếu tố đáp ứng progesteron PRE (progesterone-responsive element), yếu tố đáp ứng endrogen ARE (androgen-responsive element).

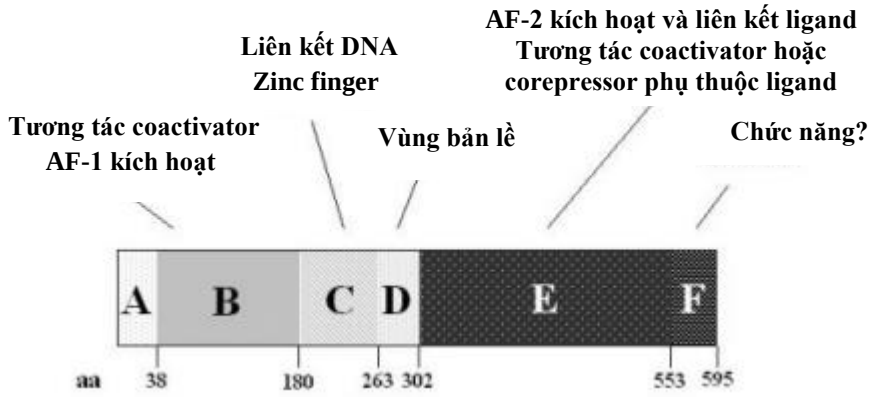
Receptor estrogen (Erα) là một đại diện đặc biệt (Hình 21.3). Domain liên kết DNA của nó có chứa 2 zinc finger, định vị ở trung tâm trình tự đầu tiên. Nó được bao bọc bên sườn phía cuối N bởi domain kích hoạt (transactivation), được gọi với tư cách là domain chức năng kích hoạt 1, AF-1. Vùng bản lề ở phía cuối C của nó kết nối với domain AF-2. Domain AF-2 gắn với ligand và hoạt tính của nó phụ thuộc mạnh vào liên kết ligand. Hơn nữa, các tương tác protein nói chung là do domain kiểm soát sự hoạt động của receptor này.




**Hình 21.2** *Một số thành viên siêu họ receptor steroid*

AR: Androgen receptor; receptor estrogen (Erα, Erβ), receptor progesterone (PR), 2 receptor acid retinoic (RARα, RARβ2), và receptor vitamin D (VDR) cùng các domkain của nó được vẽ theo tỷ lệ. Các dưới domain A/B và E/F không tách biệt trong đại diện này.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)



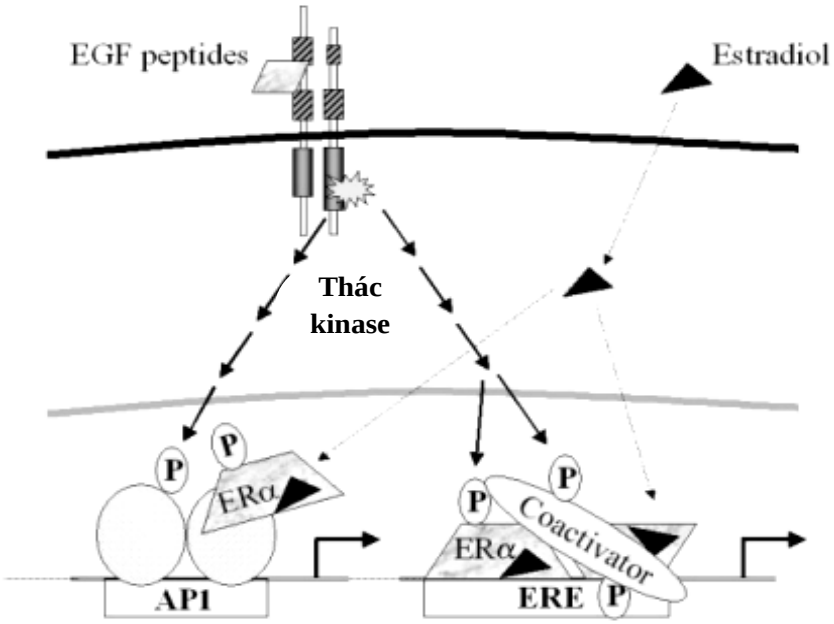

**Hình 21.3** *Các domain cấu trúc của receptor estrogen α và các chức năng của chúng.*

*(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)*

Các receptor bất hoạt vẫn được giữ lại trong bào tương và có khả năng tiến vào nhân chỉ sau khi liên kết với ligand và sau đó là thay đổi cấu hình. Một số receptor được gắn với nhau bởi các protein sốc nhiệt như HSP90, các receptor khác thì tự do nhưng nhanh chóng ra khỏi nhân, trừ phi nó bị chiếm giữ bởi một ligand hiệp đồng (agonist). Sau khi gắn vào vị trí nhận dạng đặc hiệu trên DNA các dimer receptor tuyển mộ các protein, cộng thêm đồng yếu tố hoạt hóa (co-activator) khác thông qua domain AF của chúng. Domain AF-2 của ER2 được biết là liên kết một cách đặc hiệu ít nhất với 5 protein đồng yếu tố hoạt hóa khác. Đặc trưng nhất trong số này là protein SRC1 (steroid receptor co-activator). Các đồng yếu tố hoạt hóa làm trung gian cho sự tương tác giữa các receptor hormone steroid và bộ máy sao chép nói chung, đồng thời làm thay đổi chất nhiễm sắc (chromatin) ở vị trí gắn kết. Sự liên kết của các đồng yếu tố hoạt hóa làm kích thích sự acetyl hóa histone và khởi động thực sự việc sao chép. Ngoài ra chúng còn tích hợp các tín hiệu bắt nguồn từ một số yếu tố sao chép gắn vào các vùng điều hòa của cùng một gen và các tín hiệu từ các con đường truyền tín hiệu. Chẳng hạn như, các đồng yếu tố hoạt hóa xác định tương tác với các receptor estrogen hoặc androgen được điều tiết bởi sự phosphoryl hóa MAPK trong đáp ứng với các yếu tố tăng trưởng của họ EGF. Tuy nhiên, bản thân receptor cũng bị phosphoryl hóa. Trong khi tương tác với đồng yếu tố hoạt hóa dẫn đến kích hoạt gen thì khi tương tác với đồng yếu tố kìm hãm (co-repressor) có thể gây nên sự kiềm chế gen. Sự kiềm chế này có thể là do sự tác động bởi ERα, rõ rệt hơn là bởi receptor progesterone.

Cơ chế thứ 2 của sự tác động ERα không đòi hỏi phải có việc liên kết của các receptor với DNA. Các receptor hormone steroid có thể tương tác với một số yếu tố sao chép khác, khi chúng liên kết với DNA thì có thể bị cô lập hoặc bị điều tiết hoạt động. Trong phương thức này thì các receptor có thể điều hòa sự hoạt động của các gen không có các vị trí gắn kết kinh điển. Đặc biệt là, ERα có thể điều tiết sự hoạt động của các yếu tố sao chép AP1. Đây có thể là cơ chế chính, theo đó thì estrogen kích thích sự tăng sinh TB, ví dụ do bắt chước sự kích hoạt con đường MAPK một cách đơn độc hay hiệp đồng cùng với các yếu tố tăng trưởng (Hình 21.4). Hơn nữa, các estrogen lại kích thích sản xuất các yếu tố giống EGF ở mô vú.

Việc điều tiết sự tăng trưởng và chức năng của vú bởi estrogen thực sự là phức tạp hơn như ở hình 21.4. Các receptor estrogen cũng có thể gây ảnh hưởng tới hoạt tính của gen thông qua các vị trí SP1 và NFκB do các tương tác trực tiếp và gián tiếp. Hơn nữa, hoạt tính của ERα lại được điều tiết bởi sự tương tác protein – protein với Cyclin D1 và ngạc nhiên hơn nữa là với BRCA1. Ngoài ra các estrogen giống như một một số hormone steroid khác cũng gây ra rất nhiều hiệu ứng nhanh tại màng TB trong đó có thể không phải do tác động thông qua các receptor kinh điển của chúng mà là thông qua sự kích hoạt trực tiếp các kênh ion. Điều quan trọng nhất là estrogen tác động lên một số dạng TB khác nhau ở vú, cả biểu mô và mô đệm.




**Hình 21.4** *Sự tương tác của các hormone steroid với các yếu tố tăng trưởng giống EGF trong việc điều hòa tác động của receptor estrogen α*

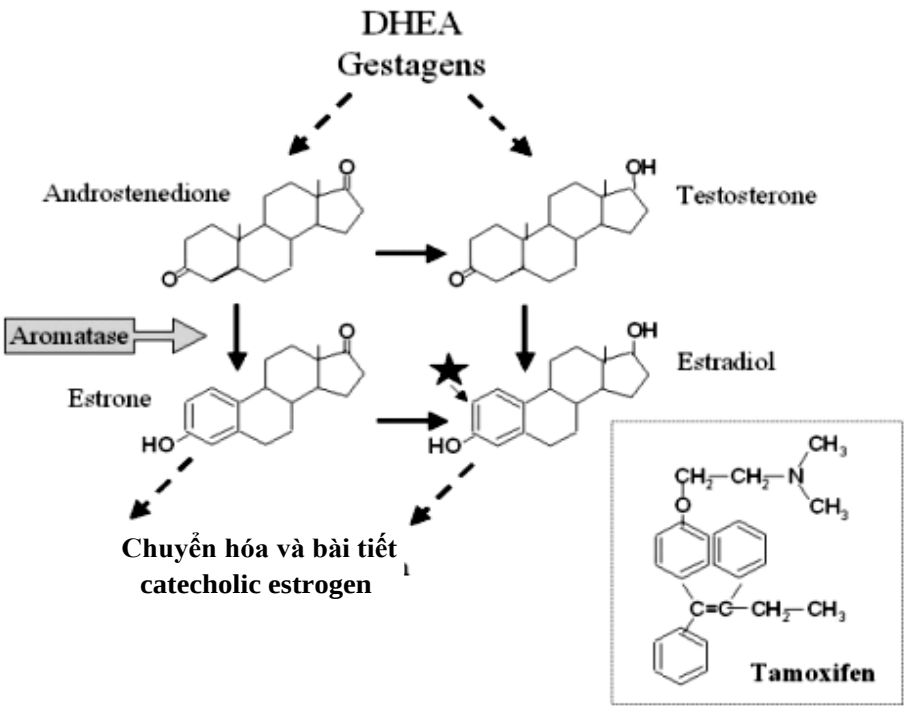
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Có 2 receptor estrogen khác nhau trên người là receptor estrogen α và β, chúng được mã hóa bởi 2 gen riêng biệt ESR1 và ESR2. Nói chung, chúng chỉ biểu lộ 30% tương đồng (Hình 21.2), nhưng hầu hết các domain gắn DNA thì giống hệt nhau, cả hai đều nhận dạng được AGGTCA NNN TGACCT trình tự 'ERE'. ERα làm trung gian cho hầu hết các hiệu ứng tăng sinh ở các mô sinh sản của phụ nữ. Trái lại, ERβ dường như lại tác động chủ yếu như một chất ức chế sự tác động ERα và có lẽ nó tác động ngay cả với receptor androgen trên nam giới. Hai receptor estrogen này biểu hiện với các mẫu (pattern) khác nhau trên khắp cơ thể con người.

Các dưới đơn vị khác nhau của receptor progesterone (PRA và PRB) được tổng hợp (dịch) từ sự ghép nối một cách khác biệt các mRNA từ cùng một gen. Chúng có thể liên kết hoán đổi cho nhau như là các homodimer hoặc heterodimer. Sự biểu hiện của PR được cảm ứng bởi ERα. Đặc biệt là PRA (còn gọi là PRα) dường như cũng tác động với tư cách chất ức chế phản hồi của ERα. Tuy nhiên, điều quan trọng là phải hiểu được rằng sự tác động của PR phụ thuộc vào gestagen, cho nên hiệu ứng thực sự của nó phụ thuộc vào mức độ tương đối của gestagen.

Thậm chí quan trọng hơn là trong khi các receptor estrogen và progesterone hiện diện trong nhiều cơ quan của phụ nữ (và ngay cả nam giới) thì hiệu ứng của estrogen và gestagen cũng không như nhau ở mỗi một mô. Các estrogen tuy có ảnh hưởng đến não và xương, nhưng chúng không kích thích sự tăng sinh ở những mô này như là ở vú và nội mạc tử cung. Ngay cả các hiệu ứng của estrogen lên vú và nội mạc tử cung cũng

khác nhau (giống như với gestagen). Vì thế, do nhiều cơ quan có chứa các receptor nên phải có thêm các cơ chế phụ để đảm bảo chắc chắn cho tính đặc hiệu mô đối với sự tác động của estrogen. Một cơ chế có thể được chấp nhận là do sự biểu hiện khác nhau của các receptor estrogen. Cơ chế thứ 2 được xây dựng nên do sự biểu hiện khác nhau của các đồng yếu tố hoạt hóa và đồng yếu tố kiềm chế và những khác biệt trong sự điều hòa của chúng. Như một hệ quả, các hợp chất xác định có cấu trúc tương tự như estrogen sẽ tác động với tư cách đối lập, phần nào gây ức chế sự hoạt động của estrogen với các mức độ khác nhau ở các cơ quan khác nhau. Đó là các SERM, tương ứng như là các chất điều biến receptor estrogen chọn lọc (selective estrogen receptor modulator). Tamoxifen và raloxifen là các ví dụ về các hợp chất trong lớp này (Hình 21.5). Ví dụ như tamoxifen ngăn chặn sự kích thích tăng sinh bởi estrogen ở vú, nó tác động với tư cách là đối lập, nhưng trong nội mạc tử cung thì nó lại ứng xử như là chất hiệp đồng, trợ giúp cho sự tăng sinh. Sự khác biệt này có thể lớn là do các mức đồng yếu tố hoạt hóa SRC1 ở nội mạc tử cung cao hơn, nó được chiêu mộ bởi phức hợp holo- tamoxifen – ERα (tamoxifen – ERα holocomplex). Trái lại, ở mô vú thì phức hợp này lại tuyển mộ một cách áp đảo các chất đồng kiềm chế (co-repressor).




**Hình 21.5** *Cấu trúc của estrogen*

Estrone (hoặc oestrone) và estradiol (oestradiol, E2) là các estrogen chủ yếu ở người, nó được hình thành từ các tiền thân được thể hiện với aromatase và các enzyme sinh tổng hợp khác. Con đường chính của sự chuyển hóa dẫn đến sự bài tiết được khởi đầu bằng sự hydroxy hóa ở vị trí 2- trong vòng A, được đánh dấu bởi dấu sao ở estradiol. So sánh với cấu trúc của thuốc kháng (một phần) estrogen tamoxifen ở góc phải thấp hơn.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

## 21.2. NGUYÊN NHÂN

Cùng với ung thư đại tràng và sự gia tăng của ung thư phổi, ung thư vú (CTV) đã trở thành thách thức lớn trong số các ung thư chủ chốt đối với phụ nữ ở các nước công nghiệp phương Tây. Ở những nước này, nguy cơ UTV đối với phụ nữ khoảng 10% và khoảng 30% trong số đó tử vong. Hầu hết các UTV xuất hiện sau khi mãn kinh, nhưng một phần đáng kể được phát hiện sớm hơn. Ở các nước Phương Tây, tuổi trung bình khi mãn kinh là 50 và sự mãn kinh hầu hết đều xảy ra ở độ tuổi 45 đến 55. Ở lứa tuổi 40-65 mà bị ung thư vú thì hay bị tử vong nhất. Ở hầu hết các nước, tỷ lệ mắc bệnh UTV cùng với tử vong vẫn đang tăng cao. Lý giải về hiện tượng này người ta cho rằng, hiện nay nhiều người đã được phát hiện sớm và phương pháp điều trị tốt hơn. Nhưng trong bất kỳ trường hợp nào người ta cũng đều nhất trí rằng lối sống phương Tây đã tạo điều kiện cho phát triển ung thư vú. Nhưng cũng có một số khía cạnh chưa được nhất trí (Bảng 21.1).

***Bảng 21.1*** *Các nguyên nhân tiềm ẩn của ung thư vú*

| **Các yếu tố tiềm ẩn gây ung thư vú ở người** |
|---|
| Khoảng thời gian phơi nhiễm estrogen |
| Bức xạ ion hóa |
| Khuynh hướng di truyền (BRCA1, BRCA2 và …) |
| Lối sống tĩnh tại |
| Chế độ ăn nhiều chất béo |
| Rượu |
| Hút thuốc lá |

❑ ***Phơi nhiễm estrogen:*** Một yếu tố nguy cơ có thể được tóm gọn như là thời gian dài phơi nhiễm với estrogen trong suốt thời gian sống. Kinh nguyệt sớm hơn, mãn kinh muộn hơn và một số yếu tố khác nữa như thai nghén, liên quan tới lối sống Phương Tây, tất cả đều làm kéo dài thêm thời kỳ này. Cần lưu ý rằng, mỗi một thay đổi đơn lẻ đều liên quan tới tăng nguy cơ UTV. Cơ chế cơ bản cũng có thể rất đơn giản. Với việc kéo dài sự tiếp xúc với estrogen và các chu kỳ tăng sinh với một khoảng thời gian dài, thì số tế bào tiếp xúc với các đột biến sẽ tăng lên nhưng sự khởi đầu của các tế bào khối u cũng cần phải nhiều hơn mới có thể mở rộng được. Đặc biệt là các tín hiệu mạnh buộc sự biệt hóa của các TB ống vú trong khi mang thai và các yếu tố khác phải gây được sự apoptosis rộng lớn cho các TB hình túi và các TB ống sau khi cai sữa. Những chu kỳ này có thể giúp cho việc loại bỏ các TB khối u khởi đầu và 'làm tinh khiết hóa' mô.

Thứ hai là, mặc dù vậy vẫn không có sự loại trừ việc giải thích hiệu ứng phơi nhiễm estrogen liên quan tới cấu trúc hóa học của các estrogen. Nhưng estrogen và các sản phẩm chuyển hóa là các hợp chất phenolic (Hình 21.5). Đặc biệt là các chất chuyển hóa diphenolic có thể oxy hóa một phần để trở thành semiquinone, có thể phản ứng với các đại phân tử trong tế bào kể cả DNA đồng thời gây cảm ứng các đột biến.

Hơn nữa, các semiquinone lại có thể khởi đầu cho một quá trình gọi là sự quay vòng oxi hóa khử quinone tạo ra các mẫu oxy phản ứng cao. Do đó, các estrogen có thể tác động với tư cách là các chất sinh ung thư hóa học. Nếu vậy thì nguy cơ ung thư ở các cơ quan có nồng độ estrogen cao có thể phụ thuộc một cách mạnh mẽ vào khả năng có tính chất cá thể đối với sự chuyển hóa estrogen. Nhiều gen liên quan đến sự tổng hợp và chuyển hóa estrogen là đa hình, một số trong đó là các enzyme bảo vệ. Sự tương tác giữa các gen và môi trường vì thế mà còn nhiều điều nghi ngờ.

❑ ***Phơi nhiễm bức xạ ion hóa:*** Sự tương tác gen- môi trường vẫn còn những điều rất đáng nghi ngờ. Điều này đặc biệt rõ ràng trong trường hợp khiếm khuyết di truyền trong việc sửa chữa những tổn hại của DNA do bức xạ ion hóa. Chẳng hạn như những chất mang (carrier) xác định của các đột biến ở gen ATM có thể làm tăng nguy cơ UTV. Mối liên quan giữa phơi nhiễm với bức xạ ion hóa và nguy cơ UTV trở nên đặc biệt rõ ràng trong nhiều trường hợp. Những người thường xuyên chụp X quang vú có thể làm tăng tính nhạy cảm cá thể đối với nguy cơ ung thư vú.

❑ ***Chế độ ăn giầu chất béo:*** Tỷ lệ mắc bệnh UTV trong một quốc gia rõ ràng là tương quan với lượng chất béo, đặc biệt là mỡ động vật bão hòa có trong khẩu phần ăn. Các cơ chế nền tảng về sự tương quan dịch tễ học vẫn chưa được rõ. Một chuỗi các sự kiện có tính chất giả định cũng đều liên quan đến estrogen. Mô mỡ ở phụ nữ sau mãn kinh có chứa enzyme aromatase, một enzyme chủ chốt sinh tổng hợp estrogen. Do đó nếu chế độ ăn giầu chất béo sẽ dẫn đến thừa cân và mở rộng mô mỡ, và dẫn đến tăng hoạt tính aromatase và việc sản xuất estrogen lại tiếp tục sau mãn kinh, làm kích thích tăng trưởng không thích hợp các TB biểu mô vú.

❑ ***Khuynh hướng di truyền:*** Hiệu ứng của tất cả các yếu tố kể trên có thể phụ thuộc vào khuynh hướng di truyền điều tiết nguy cơ ung thư khi tương tác với các yếu tố môi trường. Sự đa hình của các gen chuyển hóa hormone steroid, sửa chữa DNA, bảo vệ TB và chuyển hóa lipid cũng rất rõ ràng. Trong khi những đa hình này có thể gây ảnh hưởng lớn đến tỷ lệ mắc bệnh ung thư vú nói chung, nhưng chúng cũng chỉ làm tăng nhẹ nguy cơ ung thư vú đối với mỗi cá nhân, ở đây chúng còn phụ thuộc mạnh mẽ vào các yếu tố khác nữa, đặc biệt là yếu tố môi trường. Trái lại, các yếu tố di truyền sẽ thắng thế với một tỷ lệ nhỏ trong các trường hợp do các đột biến di truyền ở một trong số các gen có nguy cơ cao.

## 21.3. UNG THƯ VÚ CÓ TÍNH CHẤT DI TRUYỀN

Ít nhất đã biết có tới 7 gen trong đó các đột biến có thể di truyền được ở một allele điều khiển nguy cơ cao ung thư vú (Bảng 21.2). Các đột biến ở hầu hết các gen kiềm chế khối u (KCKU) chỉ chiếm một tỷ lệ nhỏ trong tất cả các trường hợp có tính chất gia đình, chắc chắn là ít hơn 10%, trong khi đó một tỷ lệ lớn hơn các ung thư vú có tính chất gia đình lại phát sinh từ các đột biến gây bất hoạt các gen kiềm chế khối u BRCA1 và BRCA2.

Gen PTEN ở 10q23.3 mã hóa cho một enzyme phosphatase phospholipid và protein kiểm soát sự hoạt động của con đường PI3K. Đó chính là các đột biến trong hội chứng Cowden. Bệnh di truyền trội hiếm gặp này được đặc trưng bởi nhiều u mô thừa (hamartoma) lành tính và ung thư tuyến giáp, đồng thời nó cũng làm tăng nguy cơ ung thư vú.

Các đột biến ở gen TP53 là nguyên nhân của hầu hết các trường hợp trong hội chứng Li-Fraumeni hiếm gặp. Điều đó cũng phù hợp với tầm quan trọng nói chung của protein TP53 trong việc kiểm soát tính ổn định hệ gen. Đây là một hội chứng ung thư bao hàm cả nguy cơ ung thư vú đặc biệt cao. Một số ít các trường hợp có thể do các đột biến ở gen mã hóa cho kinase trạm kiểm soát CHK1 và CHK2.

Hội chứng HNPCC phổ biến hơn do các đột biến ở các gen sửa chữa không thích hợp DNA (DNA mismatch) dẫn đến tăng tỷ lệ mắc bệnh của nhiều ung thư, nổi bật là ung thư đại - trực tràng. Những đột biến có thể di truyền ở các gen MLH1 và MSH2 cũng phát hiện thấy ở các bệnh nhân UTV.

Các đột biến hiếm gặp ở gen LKB1 mã hóa cho serine/threonine kinase điều hòa sự phân bào mitosis cũng là nguyên nhân nổi bật cho nhiều ung thư ruột và đại tràng, đồng thời cũng làm tăng nguy cơ UTV.

Trên 50% các UTV có tính chất gia đình trong một số quần thể có thể do các đột biến dòng mầm ở các gen kiềm chế khối u BRCA1 và BRCA2. Những đột biến này hầu như chỉ mở đường cho các ung thư vú và buồng trứng, không giống như nhiều ung thư đã đề cập ở trên. Đáng chú ý là BRCA1 và BRCA2 được coi như là "người chăm sóc" giống như hầu hết tất cả các gen KCKU khác, trong đó các đột biến đều dẫn đến làm tăng UTV một cách mạnh mẽ. PTEN rõ ràng là ngoại lệ.

BRCA1 và BRCA2 thực tế là được đặt tên theo vai trò của chúng " role in breast cancer", nhưng thực sự thì chúng còn có những sự tương đồng khác nữa.

***Bảng 21.2*** *Các gen kiềm chế khối u liên quan đến ung thư vú có tính chất di truyền*

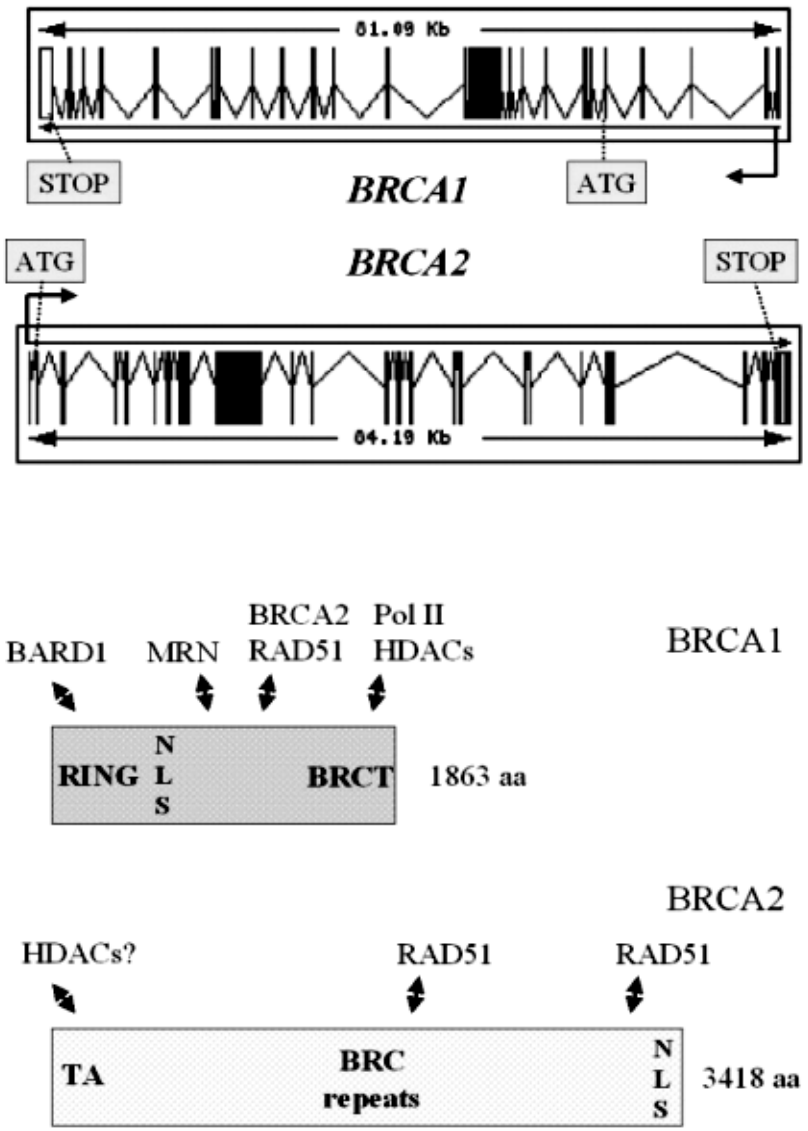
| Gen | Định vị | Chức năng | Vị trí ung thư khác |
|---|---|---|---|
| BRCA1 | 17q21 | Sửa chữa/kiểm soát DNA của các tái tổ hợp tương đồng | Buồng trứng |
| BRCA2 | 13q12 | Sửa chữa/kiểm soát DNA của các tái tổ hợp tương đồng | Buồng trứng |
| PTEN | 10q23.1 | Lipid phosphatase/điều tiết con đường PI3K | Một số |
| TP53 | 17P13.1 | Kiểm soát sự toàn vẹn của hệ gen và sửa chữa DNA | Nhiều |
| MLH1, MSH2 | 3p21, 2p15-16 | Sửa chữa không thích hợp của DNA | Một số |
| LKB1 | 19p13.3 | Kiểm soát phân bào mitosis | Ruột |

BRCA1 là một gen với khoảng 100 kb nằm ở nhiễm sắc thể 17q21, bao gồm 24 exon (Hình 21.6). Exon 11 của gen thường không quá 4,5 kb nhưng chứa phần lớn các trình tự mã hóa. Protein BRCA1 gồm 1863 amino acid. Một số trình tự tín hiệu định vị nhân nằm ở trung tâm, đặc thù cho một protein nhân. Có một số domain tương tác protein-protein bao gồm cả domain RING-finger gần đầu tận N. Cạnh đầu tận C là 2 bản sao của trình tự 110 amino acid gọi là motif BRCT. Motif này cũng được phát hiện ở một số protein khác liên quan đến việc sửa chữa DNA và/hoặc điều hòa chu kỳ tế bào. BRCA1 cũng có chức năng kích hoạt sao chép, khác với BRCA2.

Gen BRCA2 định vị ở 13q12 và trải rộng khoảng 80 kb. Trong số 27 exon nói chung thì exon 10 và 11 lớn bất thường. Protein BRCA bao gồm 3418 amino acid. Các tín hiệu định vị nhân nằm ở đầu tận C. Nhiều tương tác protein chỉ là phỏng đoán hoặc được ghi lại trong các tài liệu. Quan trọng nhất là phần trung tâm của phân tử có chứa 8 lặp của motif 'BRC', mỗi lặp chứa khoảng 10 amino acid.

Các đột biến dòng mầm ở cả 2 gen BRCA đều trải dọc gần như toàn bộ chiều dài của gen. Hầu hết là xóa bỏ hay cài thêm một đoạn nhỏ làm thay đổi khung đọc. Những đột biến vô nghĩa dẫn đến các protein cắt ngắn cũng rất phổ biến. Các đột biến ghép nối cũng xảy ra giống như các đột biến mất nghĩa hiếm gặp. Trong mỗi trường hợp, các đột biến dường như là gây bất hoạt chức năng protein hoặc trong một số trường hợp có lẽ là làm biểu hiện kiểu hình âm trội.

Trong các ung thư vú nảy sinh ở những phụ nữ có các đột biến di truyền ở gen BRCA thì allele thứ 2 luôn bị bất hoạt do đứt đoạn, tái tổ hợp hay đột biến điểm. Vì thế trong vấn đề này thì BRCA1 và BRCA2 ứng xử như là các gen kiềm chế khôi u cổ điển. Tuy nhiên, các đột biến hay đứt đoạn ở những gen này hầu như chưa từng phát hiện thấy ở các UTV rải rác. Thay vì thường quan sát thấy giảm mức protein, trong một số trường hợp có liên quan tới việc tăng methyl hóa trình tự điều hòa BRCA1. Vì thế trong khía cạnh này thì các BRCA không tuân thủ theo sự sắp đặt chuẩn về kiềm chế khối u.




**Hình 21.6** *Gen BRCA1 và BRCA2 và các protein*

A: Các gen với các dẫn liệu base tổng thể;

B: Protein và một số cặp đôi tương tác của chúng.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Protein BRCA1 và BRCA2 biểu hiện trên hầu hết tất cả các mô. Chúng rất quan trong đối với việc sửa chữa DNA, ngăn ngừa sự bẻ gãy NST và tín hiệu trạm kiểm soát. BRCA1 và BRCA2 tuy có sự khác biệt nhưng có quan hệ về mặt chức năng.

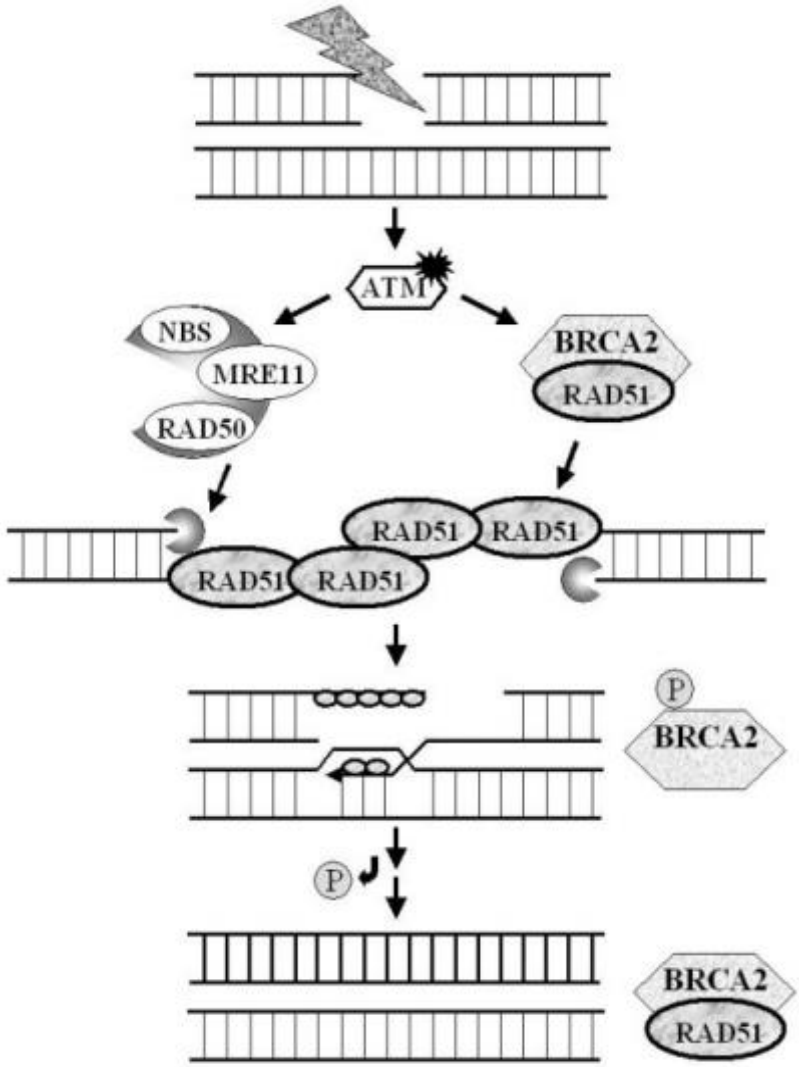
Thiếu một trong số các protein này sẽ làm tăng sự sai lệch NST trong các TB tăng sinh, bao gồm sự xóa bỏ và chuyển vị và ngay cả sự phân mảnh và hình thành các NST đa tâm. Tất cả những sự sai lệch này đều thấy ở các UTV có các đột biến BRCA và đều

do sự thiếu hụt trong sửa chữa tái tổ hợp tương đồng và thứ 2 nữa là do thất bại kích hoạt thích ứng trạm kiểm soát tế bào. Sửa chữa tái tổ hợp tương đồng là cơ chế ưa chuộng để đối phó với sự bẻ gãy chuỗi kép DNA trong phase S và G2 chu kỳ TB động vật có vú, khi có các chuỗi DNA tương đồng từ các chromatid chị em. Trái lại, sự kết nối đuôi (end-joining) không tương đồng lại thắng thế trong phase G1. Cơ chế này có nhiều lỗi hơn là cơ chế sửa chữa tương đồng tại vị trí sửa chữa, bao gồm những sự xóa bỏ và cài thêm nhỏ. Tuy nhiên, những lỗi này dường như không tạo nên vấn đề gì chủ chốt trong các TB thiếu hụt BRCA. Hơn nữa, sự kết nối đuôi không tương đồng cũng không đủ hiệu quả để đảm bảo chắc chắn cho sự toàn vẹn NST.

Chức năng chính của BRCA2 trong vấn đề này dường như là kiểm soát RAD51 (Hình 21.7). BRCA2 liên kết và ức chế RAD51 thông qua các lặp BRC, giữ chúng không liên kết với DNA như các sợi tơ đa protein. Trong quá trình sửa chữa tương đồng, những nét gãy chuỗi kép được xử lý trước tiên. Sau đó RAD51 được giải phóng khỏi BRCA2, có khả năng là kết quả của sự phosphoryl hóa BRCA2 đồng thời nó còn làm trung gian cho sự tái tổ hợp giữa các chuỗi đang được sửa chữa và các xoắn kép tương đồng nguyên vẹn. Quá trình này được tiếp theo sau bởi việc kéo dài thêm các chuỗi đơn nhờ DNA polymerase, ligase và giải pháp recombinant Holliday junction structure. Ở giai đoạn muộn hơn của giải pháp này thì RAD51 bị loại bỏ. BRCA2 tương tác với protein FANCD2 kích hoạt. Quá trình này được hoạt hóa thông qua mono-ubiquitination bởi phức hợp protein FANC. Sau đó nó di chuyển đến tâm điểm của nhân nơi mà các protein BRCA2, RAD51 và MRE11/RAD51/NBS1 (MRS) định vị và kích hoạt những prorein này. Các đột biến dòng mầm tương đồng trong BRCA2 gây nên thể thiếu máu Fanconi và ngược lại thì tỷ lệ mắc bệnh ung thư vú lại tăng lên trong hội chứng ung thư lặn này.

BRCA1 dường như là còn nhiều chức năng nữa. Trong đáp ứng với sự bẻ gãy chuỗi kép DNA thì nó bị phosphoryl hóa bởi các kinase cảm nhận được sự tổn hại này như ATM, ATR hoặc CHK2. Nó cũng có thể bị kích hoạt bởi các dạng tổn hại khác của DNA, vì nó tương tác với các protein MSH2 và MSH6 liên quan đến việc sửa chữa không thích hợp DNA, và có lẽ với cả hệ thống sửa chữa cắt xén các cặp nucleotide sao chép. Sau khi kích hoạt BRCA1 nó sẽ làm trung gian cho các đáp ứng sao chép chọn lọc như cảm ứng các protein sửa chữa GADD45 và giúp cho việc tu sửa lại chất nhiễm sắc tại vị trí bị tổn hại. Chức năng quan trọng của nó là điều hòa phức hợp protein MRN cắt bỏ đuôi DNA ở các vết gãy chuỗi kép. Trong phương thức tương tự như BRCA2 điều khiển và làm giới hạn lại chức năng của RAD51. BRCA1 có thể kiểm soát phức hợp này và giữ cho nó không bị phân giải quá mức. Chức năng quan trọng của BRCA1 được phát huy tác dụng thông qua domain RING finger. Domain này biểu thị một cách đặc

trưng các protein nhận dạng cơ chất của các enzyme ubiquitin ligase. BRCA1 heterodimer hóa với một protein có tên là BARD1. Chúng đều trợ giúp cho sự mono-ubiquitin hóa FANCD2 bởi phức hợp protein FANC, nhưng chắc chắn cũng giúp cho việc di dời các protein kích hoạt tới trung tâm của nhân nơi BRCA2 định cư. Trong phương thức này thì BRCA1 làm trung gian cho việc sửa chữa các liên kết chéo của DNA và làm đình trệ chạc sao chép cũng như các vết gãy chuỗi thật sự.

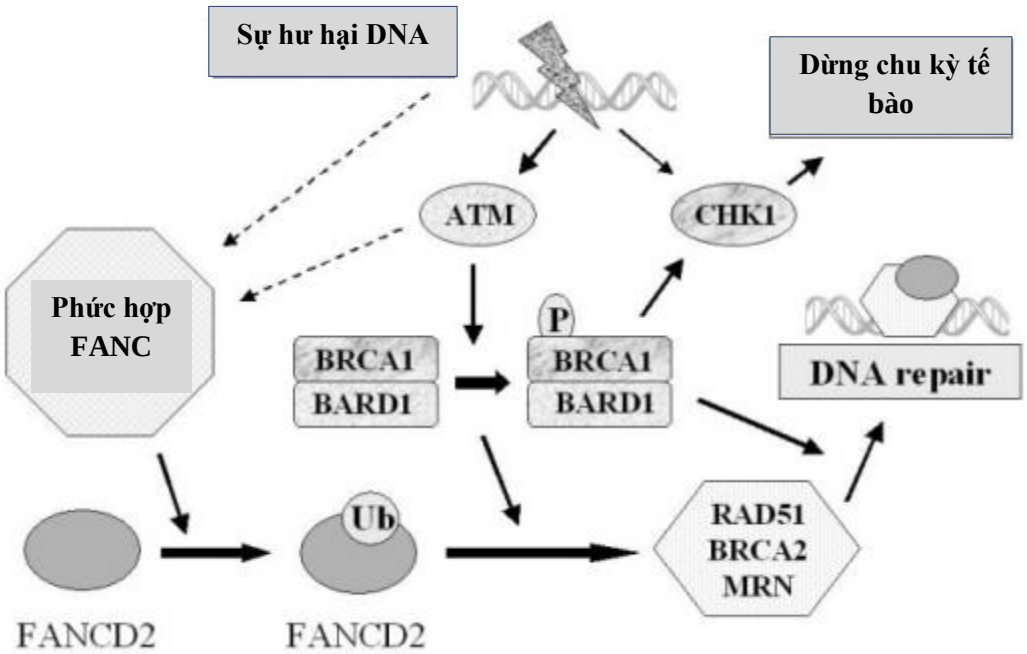



**Hình 21.7** *Sự tương tác giữa BRCA2 và RAD51 trong quá trình sửa chữa chuỗi kép DNA .*

ATM kích hoạt bởi các vết gãy DNA chuỗi kép không những làm phosphoryl hóa phức hợp MRN (trái) điều hành các đuôi mở mà làm cho cả BRCA2 (phải) giải phóng RAD51 mà RAD51 sau đó lại làm trung gian cho sự tái tổ hợp giữa các đuôi đơn đã được xử lý và DNA tương đồng. Sự tái liên kết của RAD51 bởi BRCA2 cho phép sự sửa chữa cạnh tranh.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Như vậy, cả BRCA1 và BRCA2 đều liên quan đến việc điều hòa hoặc thực hiện sự tái tổ hợp tương đồng được kích thích bởi các protein FANC và có lẽ cũng điều hòa cả protein MRN. Theo nghĩa này thì BRCA2 tác động vào hạ nguồn của BRCA1 (Hình 21.8).




**Hình 21.8** *Sự tương tác giữa BRCA1 và BRCA2 trong việc kiểm soát sửa chữa DNA.*
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

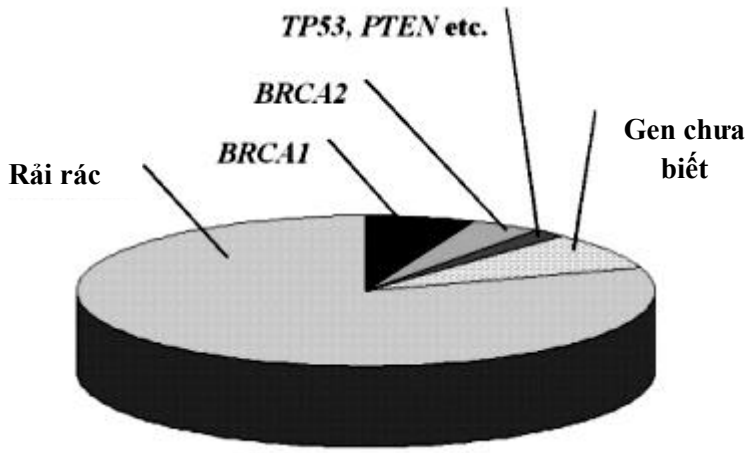
Tất nhiên dễ dàng thấy rằng, chức năng của rất nhiều gen trong đó các đột biến làm tăng nguy cơ UTV có liên quan chặt chẽ với việc sửa chữa DNA. Một mặt nó dẫn đến khái niệm về một thể loại "repairosome" cảm ứng các BRCA với tư cách là các thành phần quan trọng. Các đột biến có khuynh hướng tiến tới UTV thường có hiệu ứng ngăn trở chức năng của các cơ quan tử (organelle) năng động. Cấu trúc lõi của nó có thể giống các tâm điểm của nhân nơi mà BRCA định cư.

Mặt khác, một vấn đề nảy sinh là tại sao các đột biến như thế lại thúc đẩy đặc biệt UTV. Trong trường hợp đột biến BRCA thì vú và buồng trứng là các cơ quan nhạy cảm nhất với ung thư. Tuy nhiên cũng thấy tăng nguy cơ với các ung thư xác định nhưng với tỷ lệ thấp hơn như ung thư tụy, ống mật, dạ dày và tuyến tiền liệt (xếp theo thứ tự giảm dần). Cho đến nay, lời giải thích khả dĩ nhất về tính đặc hiệu này là, dường như trong quá trình tăng trưởng qua nhiều chu kỳ và sự thoái hóa của vú thì có khả năng cao phát sinh ra các bất thường NST, trừ phi giám sát được sự hủy hoại DNA và hệ thống sửa chữa hoạt động một cách hoàn thiện. Điều này là chính đáng nhưng chưa đủ để làm tăng

nguy cơ ung thư buồng trứng và các ung thư khác, thậm chí sự gia tăng UTV ở nam giới- những người có mang các đột biến BRCA2 còn ít hơn. Cũng có những gợi ý cho rằng, một số protein ở "repairosome" tương tác với phương thức trực tiếp hơn với đáp ứng estrogen. Trong số đó thì BRCA1 và TP53 được chỉ rõ là có tương tác với receptor estrogen, điều tiết sự hoạt động của nhau. Do đó theo cách giải thích thứ 2 (có lẽ là phụ) thì có thể là các protein này làm hạn chế sự tác động tiền tăng sinh và kháng apoptosis của các receptor estrogen trong mô biểu mô động vật có vú. Theo đó thì BRCA1 gây hiệu ứng trực tiếp đến sự tăng trưởng của các tế bào buồng trứng và tế bào vú.

Ở những phụ nữ có các đột biến dòng mầm ở BRCA1 và BRCA2, ước tính 40-80% có nguy cơ UTV, (khoảng 10% nguy cơ ở quần thể phụ nữ các nước công nghiệp Phương Tây). Nguy cơ ung thư buồng trứng tăng khoảng 20 lần. Mức gia tăng chính xác của nguy cơ ung thư phụ thuộc vào các đột biến đặc hiệu, các biến đổi di truyền và có khả năng là cả các yếu tố môi trường. Tăng 4-8 lần nguy cơ UTV là do các đột biến BRCA, nhưng trầm trọng hơn là các hiệu ứng đặc biệt do các đột biến của gen KCKU có thể di truyền được. Trong các trường hợp có tính chất gia đình thì bệnh xuất hiện sớm hơn và nguy cơ ung thư ở các cơ quan đối bên (vú, buồng trứng) tăng cao hơn là các trường hợp rải rác.

Ước tính trên 10% tất cả các trường hợp  UTV đều phát triển do hệ quả của các đột biến ở các gen có nguy cơ cao (Hình 21.9). Trong nhóm này, các đột biến ở BRCA1 và BRCA2 mỗi gen đều chiếm ¼ các trường hợp. Các đột biến ở các gen khác ước tính chiếm khoảng 10%. Khoảng > 40% các trường hợp có tính chất gia đình không thấy các đột biến ở các gen đã biết. Như trong quá trình nghiên cứu ban đầu về gen BRCA1 và BRCA2 vào đầu những năm 1990 thì trong những trường hợp có tính chất gia đình, UTV xảy ra ở lứa tuổi sớm hơn so với bình thường và/hoặc song phương. Ngày nay những nghiên cứu như vậy đã được tạo thuận lợi rất lớn nhờ những tiến bộ trong giải trình tự hệ gen người cũng như những tiến bộ về mặt kỹ thuật, cho phép phân tích một cách sâu rộng các marker di truyền. Vì thế để kết luận một cách "an toàn" thì ngay cả các nghiên cứu còn đang tiếp diễn, gen "BRCA3" cũng chưa phát hiện thấy có sự tác động giống như BRCA1 và BRCA2. Thay vì, những đột biến trong một số gen cá thể hơn lại làm tăng rất cao nguy cơ ung thư ở một số nhỏ gia đình. Tuy nhiên, đối với phần lớn các trường hợp có tính chất gia đình thì các đột biến tuy chỉ đóng góp một phần vào việc gia tăng nguy cơ UTV nhưng nó cũng đủ để tích lũy ung thư trong một số gia đình có mang chúng. Những đột biến giống nhau này cũng đáp ứng với các trường hợp cá thể ở các gia đình khác được xếp loại là "rải rác".




**Hình 21.9** *Sự góp phần của các đột biến ở các gen nguy cơ cao đối với ung thư vú*

Ước tính tỷ lệ các trường hợp góp phần bởi các đột biến ở các gen chỉ định. Cần lưu ý rằng nguy cơ ở các trường hợp "rải rác" do các đa hình cũng chỉ ở mức trung bình.

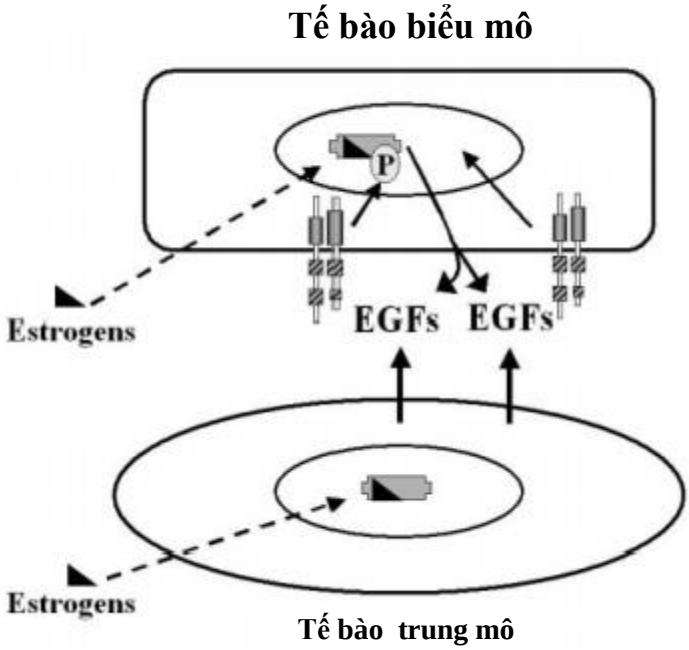
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Theo dòng suy nghĩ như vậy thì có sự tiệm tiến trong khuynh hướng ung thư, ít nhất là đối với UTV (Hình 21.9). Các đột biến ở những gen "nguy cơ cao" xác định có thể làm tăng đáng kể nguy cơ của nhiều ung thư trong các gia đình. Chúng thấm nhập rất cao và độc lập với sự điều tiết môi trường. Các đột biến hay các đa hình khác trong cùng một gen hoặc các đột biến ở các gen "nguy cơ thấp" có thể gây ra hàng loạt các trường hợp ung thư trong một số gia đình, nhưng cũng góp phần vào việc phát triển rất nhiều trường hợp ung thư thuộc thể loại rải rác. Trong một phạm vi khác, những đa hình xác định trong các gen sửa chữa DNA, bảo vệ TB, chuyển hóa lipid hoặc hormone v.v.. có thể chỉ làm tăng nhẹ nguy cơ UTV nhưng lại rất độc lập với các điều tiết thuộc môi trường như chế độ ăn nhiều chất béo hay tiếp xúc với bức xạ ion hóa. Vì những đa hình này là rất phổ biến nên trái ngược với các đột biến ở các gen nguy cơ cao, ảnh hưởng của chúng với UTV về tổng thể là quan trọng hơn. Tuy nhiên, những hiệu ứng này rất khó phân biệt với các đột biến ở các gen nguy cơ cao.

## 21.4. RECEPTOR ESTROGEN VÀ PROTEIN ERBB TRONG UNG THƯ VÚ

Estrogen và receptor estrogen là các chất điều hòa chủ chốt sự tăng trưởng ở vú bình thường cùng với nhiều hormone khác nữa, chúng tác động thông qua receptor nhân hoặc màng. Hơn nữa, trong một phương phức không đầy đủ, chúng hiệp đồng cùng với các yếu tố tăng trưởng thuộc họ EGF kích hoạt receptor tyrosine kinase của họ ERBB để chỉ đạo sự tăng sinh và biệt hóa biểu mô ống và biểu mô túi (Hình 21.10). Sự biểu hiện của các yếu tố tăng trưởng trong các TB mô đệm và biểu mô và có lẽ cả các receptor nữa cũng bị ảnh hưởng bởi estrogen. Trái lại, các receptor ERBB kích hoạt lại

kích thích thác MAPK dẫn đến phosphoryl hóa ERα cũng như việc tổng hợp và phosphoryl hóa các yếu tố sao chép AP1 tương tác với receptor. Trong UTV, những yếu tố giống nhau này vẫn có sự liên quan mặc dầu là sai cách (distorted way).




**Hình 21.10** *Những tương tác giả định của estrogen và các yếu tố giống EGF trong mô vú bình thường*

Người ta cho rằng, các ung thư vú độc lập với estrogen đã mất receptor estrogen α, tăng sản xuất các peptide giống như EGF và các đáp ứng của chúng với nhau là do tăng sự biểu hiện của các receptor, đặc biệt là các co-receptor ERBB.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Tại thời điểm hiện diện, >70% UTV có thể phát hiện thấy ERα bằng phương pháp nhuộm hóa miễn dịch hoặc bằng các thử nghiệm hóa sinh như ELISA. Khoảng một nửa các ung thư này cũng biểu hiện receptor progesterone. Vì gen PR bị cảm ứng bởi receptor estrogen nên sự biểu hiện của nó là dấu hiệu cho thấy ERα mặc dầu không hiện diện nhưng vẫn bị kích hoạt. Chỉ <5% UTV là có biểu hiện PR, còn ERBB thường bị điều hòa xuống. Gen ESR2 khá thường xuyên là yên lặng do cường methyl hóa promoter. Điều này nhấn mạnh chức năng của nó như là chất điều hòa âm, làm giới hạn các đáp ứng tăng sinh với estrogen.

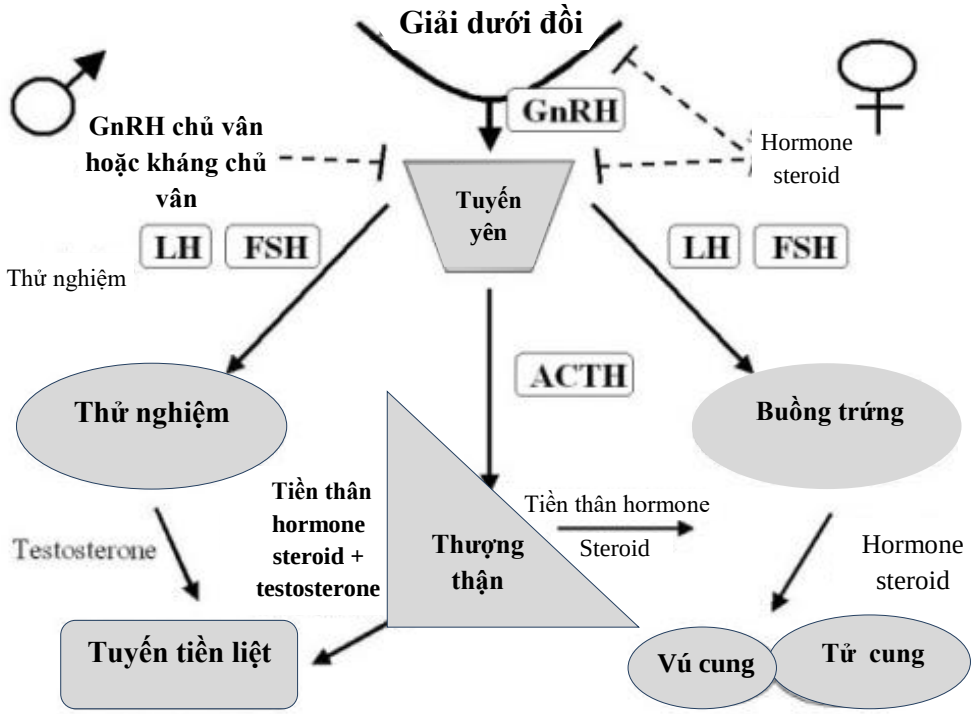
Sự có mặt hay vắng mặt của ERα/ PR tạo cơ sở cho một dạng phân loại UTV. Các ung thư vú $ER^+$ có sự biệt hóa trên trung bình, tăng trưởng chậm hơn và không dị bội mạnh đồng thời tiên lượng nhẹ hơn các ung thư vú $ER^-$. Hơn nữa, như một quy luật sự tăng trưởng của chúng vẫn phải phụ thuộc vào estrogen. Như vậy, các hợp chất ngăn chặn tác động của estrogen hoặc làm giảm bớt mức estrogen nội sinh thường có hiệu lực kháng lại các ung thư $ER^+$, nhưng không kháng lại được tất cả các ung thư vú $ER^-$. Một

số chiến lược điều trị đặc biệt các ung thư $ER^+$ đã được áp dụng hoặc đang thăm dò. Các hợp chất như tamoxifen, raloxifene là các chất hiệp đồng/kháng hiệp đồng một phần (SERM) can thiệp vào sự liên kết của estrogen và một số tương tác của receptor với đồng yếu tố hoạt hóa. Chúng được sử dụng trong trị liệu ngăn chặn bổ sung mới, trị liệu phụ tá (adjuvant) hoặc trị liệu bệnh có tính chất hệ thống với các di căn. Những chất kháng hiệp đồng hoàn toàn mới có thể ngăn chặn hiệu quả ERα và cảm ứng sự phân giải của nó. Dự kiến chúng sẽ được sử dụng chủ yếu trong điều trị các khối u thực thụ hơn là phòng ngừa, bởi vì có các tác dụng phụ lên các mô khác như xương và tim.

Ở phụ nữ trước mãn kinh, khi mà estrogen nội sinh vẫn được sản xuất ra với mức cao thì việc sản xuất này cần phải giảm đi thì việc điều trị mới có hiệu quả. Điều này có thể đạt được bằng cách phẫu thuật cắt bỏ buồng trứng hoặc xử lý với các chất tương đồng hormone giải phóng gonadotropin (GnRH hoặc LHRH). GnRH là một peptide giải dưới đồi kích thích việc giải phóng hormone luteinizing (LH) ở tuyến tùng. Nó được tiết ra ở dạng vòng và được điều tiết bởi các đường hướng tâm TK và bởi sự ức chế phản hồi steroid. Hầu hết các thuốc dùng để điều trị đều là GnRH receptor agonistic và nó cảm ứng sự bùng phát LH. Tuy nhiên, vì nồng độ của chúng trong quá trình điều trị vẫn còn cao nên các receptor GnRH trong tuyến yên cần phải được điều hòa xuống. Như một hệ quả, việc sản xuất hormone LH sẽ bị ngừng, buồng trứng không còn được kích thích bởi LH và dừng sản xuất estrogen (Hình 21.11). Vì ở những phụ nữ sau mãn kinh thì việc tổng hợp estrogen kiểm soát bởi LH không còn ý nghĩa nữa nên cần phải có một chiến lược khác, thường là dùng các chất ức chế enzyme tổng hợp estrogen aromatase.

Và nhiều sự tăng trưởng của các ung thư vú ER dường như là được thúc đẩy bởi sự hoạt động quá mức của những cơ chế kích thích các TB biểu mô vú bình thường tới tăng sinh trong phase tăng sinh của các chu kỳ mang thai hàng tháng. Tất nhiên trong ung thư thì không có phase thoái bộ có tính chất chu kỳ nào mà cũng không có sự biệt hóa cuối cùng nào của các TB ống xảy ra một cách trật tự. Trái lại, các khối u $ER^-$ không phụ thuộc cũng không đáp ứng với estrogen. Các receptor estrogen không biểu hiện và gen ESR1 cũng thường xuyên yên lặng do cường methyl hóa. Trong nhiều ung thư vú $ER^-$ phần lớn các kích thích tăng sinh được thông qua các protein ERBB.

Ở người, họ ERBB được đặt tên sau khi thành viên đầu tiên của chúng được xác định, gen ung thư retrovirus v-erbB bao gồm 4 receptor màng liên quan về mặt cấu trúc từ ERBB1- ERBB4. Những tên đặt HER1-HER4 cũng được sử dụng (Bảng 21.3). Mỗi protein receptor đều bao gồm một domain liên kết màng ngoại bào với khoảng 600 amino acid đơn bắc ngang qua domain xoắn vận chuyển màng và domain tyrosine kinase bào tương với trên 500 amino acid cùng nhiều vị trí tự phosphoryl hóa và vòng (loop) tự ức chế.




**Hình 21.11** *Sự điều tiết việc sản xuất hormone steroid bởi các hormone tuyến yên và các cách thức tác động của GnRH receptor agonistic*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

ERBB1 cũng được hiểu như là receptor EGF, tất nhiên là nó liên kết với các yếu tố tăng trưởng bì cũng như một số peptide khác cùng chung EGF một motif bảo tồn với 3 cầu disulfide cystine có tên là motif EGF. Trên thực tế trong hầu hết các tình trạng sinh lý thì TGFα liên quan cấu trúc, amphiregulin và EGF liên kết heparin (HB-EGF) có lẽ là phổ biến hơn là EGF. HB-EGF cũng như betacellulin (BTC) và epiregulin (EPR) cũng liên kết và kích hoạt HER4. Các neuregulin 1-4 (NRG) là đặc hiệu đối với ERBB3 và ERBB4, các NRG 1 và 2 được nhận ra chủ yếu bởi ERBB3, ERBB4 và các NRG 3 và 4. ERBB2 này chưa có ligand nào được biết tới và có thể là không có (Bảng 21.3). Hơn nữa, tất cả các receptor ERBB đều hình thành nên các dimer sau khi gắn ligand và tất cả đều muốn hình thành các heterodimer với ERBB2 mặc dầu các homodimer cũng kích hoạt.

Liên kết ligand gây cảm ứng thay đổi cấu hình làm giảm sự tự ức chế của tyrosine kinase do vòng cơ chất giả cho phép sự phosphoryl hóa chéo với các protein chuyển tiếp và cơ chất. Các tín hiệu xuất phát từ receptor ERBB chủ yếu là thông qua con đường MAPK, PI3K và STAT.

Cũng như ERBB2 là thành viên lạ của họ với khía cạnh liên kết ligand nên ERBB3 cũng không có hoạt tính kinase. Các gốc quan trọng ở trung tâm kích hoạt của nó

không được bảo tồn và ERBB3 có thể không có hoạt tính kinase. Như vậy, hoạt tính tyrosine kinase của nó được tạo ra bởi cặp đôi dimer hóa ERBB2 của nó.

Trong các TB biểu mô vú bình thường, sự tăng sinh và biệt hóa đều bị ảnh hưởng bởi một số peptide liên quan với EGF và mỗi thành viên của họ ERBB đều liên quan ít nhất là với một tập hợp nhỏ các TB. Việc sản xuất các peptide yếu tố tăng trưởng xảy ra ở các TB đệm và TB biểu mô được điều tiết bởi estrogen. Cả việc sản xuất và đáp ứng TB của chúng đối với các yếu tố tăng trưởng đều bị ảnh hưởng bởi sự "giao thoa" (cross-talk) với các hormone và các yếu tố tăng trưởng khác. Chẳng hạn như, việc giải phóng HB-EGF đòi hỏi phải có sự phân cắt proteolytic bởi các enzyme metalloproteinase được kích thích bởi endothelin -1 và bombesin, tác động thông qua receptor serpentine gắn kết G. Các yếu tố WNT xác định cũng thúc đẩy sự giải phóng các yếu tố giống EGF. Mối quan hệ với việc kích thích con đường WNT trong UTV vì thế mà có thể được xem xét dưới ánh sáng này. Tại bước receptor ERBB, sự giao thoa với các receptor cytokine có thể là đặc biệt quan trọng ở mô vú. Prolactin và các receptor hormone tăng trưởng cảm ứng sự phosphoryl hóa ERBB bởi JAK kinase.

Với nhiều yếu tố và receptor tăng trưởng được phân bố, thì giữa một số dạng TB và chủ thể có sự giao thoa với các con đường khác nên mối quan hệ chính xác là cực kỳ phức tạp. Ngoài ra chúng còn có thể có những thay đổi đáng kể giữa các phase khác nhau của UTV và thậm chí ngay cả với các phân đoạn của ống dẫn (duct). Nói tóm gọn, hình như sự hoạt hóa của ERBB1, thậm chí cả heterodimer ERBB2/ERBB3 đã tạo ra các kích thích chủ chốt cho sự tăng sinh. Ít nhất trong trường hợp ở đơn vị ERBB2/ERBB3 thì sự kích thích này có thể nổi trội là do sự tác động thông qua con đường PI3K, vì ERBB3 sau khi phosphoryl hóa bởi ERBB2 đã sản sinh ra một số vị trí gắn cho tiểu đơn vị điều hòa của PI3K. Trái lại, receptor ERBB4 lại được kích hoạt bởi heregulin và có lẽ bởi HB-EGF hơn là bởi thúc đẩy sự biệt hóa của các TB biểu mô vú.

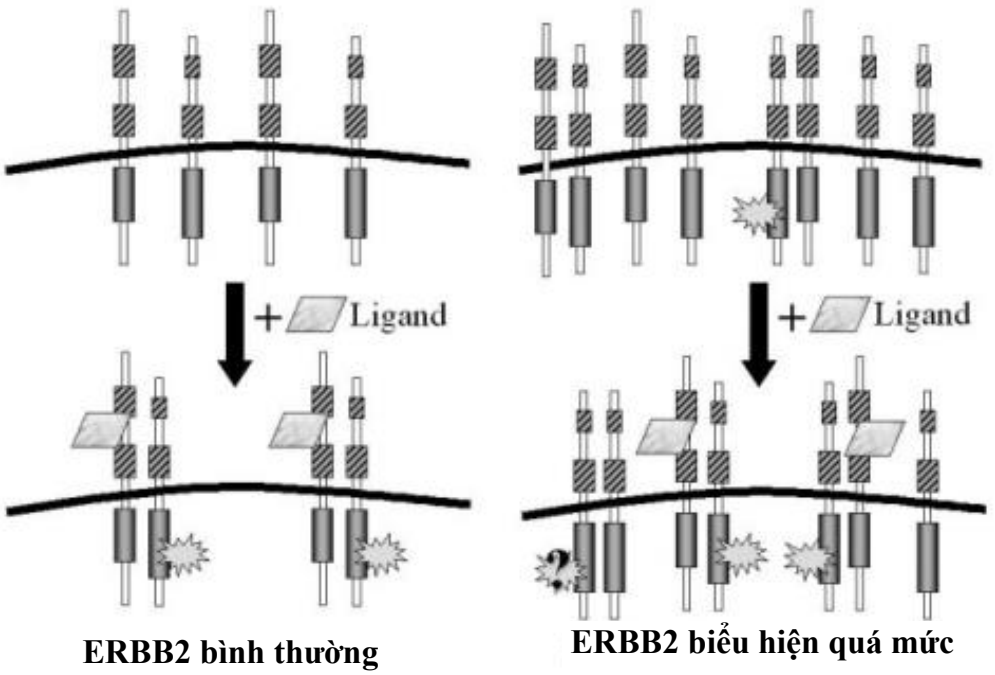
***Bảng 21.3*** *Họ ERBB ở người*

| Gen | Tên khác | Định vị tại NST | Ligand | Ghi chú |
|---|---|---|---|---|
| EGFR | ERBB1/HER1 | 7P12 | EGF, TGFα, amphiregulin<br>HB-EGF, betacellulin | |
| ERBB2 | HER2/NEU/p185$^{HER}$ | 17q11.2-q12 | Không | Cặp đôi hetero hóa của các thành viên gia đình khác |
| ERBB3 | HER3 | 12q13 | NRG1, NRG3 | Thiếu hoạt tính tyrosine kinase |
| ERBB4 | HER4 | 2q33.3-q34 | NRG1, NRG2, NRG3<br>NRG4, betacellulin, HB-EGF | |

EGF: Yếu tố tăng trưởng bì

Khoảng 50% $ER^-$ và một số ít ung thư vú $ER^+$ biểu hiện quá mức ERBB2 được phát hiện bởi hóa tổ chức miễn dịch. Trong hầu hết các trường hợp, sự bắt màu dương tính mạnh là do sự khuếch đại gen ERBB2. Những cách đo lường bằng các thử nghiệm hóa sinh đã vạch rõ mối quan hệ định lượng nghịch đảo giữa ERα và các mức protein ERBB2. Trong các thường qui lâm sàng thì có 4 lớp được phân biệt một cách định tính là $ER^+/ERBB2^-$, $ER^+/ERBB2^+$, $ER^-/ERBB2^+$, và $ER^-/ERBB2^-$.

Hơn nữa, ERBB2, ERBB1 cũng biểu hiện quá mức trong một số trường hợp nên nó có thể tạo ra các kích thích tăng trưởng quan trọng trong một số ung thư $ER^-/ERBB2^-$. ERBB3 thường không biểu hiện quá mức nhưng luôn luôn hiện diện ở các ung thư $ERBB2^+$. Có khả năng là nó có vai trò thiết yếu đối với việc tác động của ERBB2 do tạo ra các vị trí gắn quan trọng cho PI3Kα và các chất trung gian nội bào khác. Tại các nồng độ bình thường của receptor, chúng hiện diện với tư cách là các monomer và sự dimer hóa của ERBB2 và ERBB3 sẽ phụ thuộc vào liên kết ligand bởi ERBB3. Sự biểu hiện quá mức ERBB2 có thể làm giảm nồng độ ligand đòi hỏi hoặc thậm chí còn làm triệt tiêu nó vì thế mà tạo thuận lợi cho sự liên hợp kiến tạo cũng như sự hoạt động của nó (Hình 21.12)




**Hình 21.12** *Hiệu ứng trên sự dimer hóa ERBB2 và ERBB3 trong các tế bào biểu mô (trái) và các TB ung thư có biểu hiện quá mức ERBB2 (phải)*

ERBB2 được mô tả cùng với domain liên kết ligand ngoại bào ngắn và domain tyrrosine kinase nội bào lớn. Ngôi sao nổ biểu tượng cho sự hoạt hóa. Các dấu hỏi chỉ rõ là không xác định được sự biểu hiện quá mức của ERBB2 có gây nên hoạt tính phụ thuộc ligand của các tyrossine kinase hay không.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Cùng với việc tăng biểu hiện ERBB2 hoặc ERBB1 thì nhu cầu về estrogen cho tăng trưởng của các TB biểu mô vú dường như giảm đi và cuối cùng hết hẳn nhu cầu. Như vậy, trong khi các TB bình thường đòi hỏi estrogen và các yếu tố tăng trưởng giống EGF thì các ung thư $ER^+$ cũng vẫn còn đòi hỏi những nhu cầu này ít nhất là ở một mức độ nào đó. Các ung thư vú $ER^-$/ERBB2 thì chỉ cần các yếu tố peptide và cuối cùng thậm chí còn đòi hỏi ít hơn nữa các yếu tố này. Dĩ nhiên sự tác động của estrogen chỉ là một phần nhưng không hoàn toàn trung gian qua việc cảm ứng các yếu tố tăng trưởng và kích hoạt các receptor ERBB (Hình 21.4). Vì thế ngoài việc biểu hiện quá mức các receptor ERBB, một số kiểu "mắc lại dây điện" (rewiring) cũng cần phải xảy ra ở các tế bào ER, điều này vẫn chưa rõ lắm. Quan trọng là các ung thư $ER^-$ đều chứa đựng một số lớn các biến đổi epigenetic và di truyền khác ngoài việc mất các receptor estrogen và khuếch đại ERBB2.

Giống như sự khác biệt giữa ung thư $ER^+$ và $ER^-$, giữa các ung thư vú $ERBB2^+$ và $ERBB2^-$ cũng có ý nghĩa về mặt tiên lượng, bởi vì các ung thư $ERBB2^+$ theo quy luật có tiên lượng rất xấu, nhưng điều trị cũng có hiệu quả. Cũng như các tyrosine kinase khác, các chất ức chế phân tử nhỏ của ERBB2 đã được phát triển và và thử nghiệm trên lâm sàng. Một kháng thể đơn dòng có tên là trestuzumab kháng trực tiếp đặc hiệu ERBB2. Kháng thể này được tạo ra từ chuột. Để tránh các phản ứng miễn dịch khi áp dụng cho bệnh nhân thì nó phải được "nhân hóa" (humanized). Vùng nhận dạng kháng nguyên có thể thay đổi, nguồn gốc từ chuột thì vẫn giữ nguyên, nhưng vùng hằng định thì được thay thế bằng các trình tự của người. Kháng thể sản xuất bằng công nghệ sinh học này ngày nay đã được sử dụng cho các bệnh nhân ung thư vú đã di căn, chỉ khi các ung thư của họ vẫn nhuộm màu dương tính mạnh hóa tổ chức miễn dịch ở ERBB2. Sự khuếch đại gen ERBB2 mới được xác định bổ sung. Thuốc kháng thể thực sự đã kéo dài đáng kể sự sống sót đối với nhiều bệnh nhân khi họ được hóa trị một cách chuẩn mực. Trong tương lai nó có thể được sử dụng trong điều trị phù trợ cho các ung thư $ER^-$/$ERBB2^+$. Việc xác định được sự khuếch đại gen lại cho thêm các thông tin khác. Amplicon ERBB2 trong hầu hết các trường hợp còn bao gồm cả gen TOPOZA2 mã cho tiểu đơn vị α của topoisomase II. Sự biểu hiện quá mức của nó sẽ làm gia tăng tính nhạy cảm của các TB khối u đối với chất kiềm chế TB anthracyclin, điều đó mở ra một hướng trị liệu khác đó là trị liệu đích.

## 21.5. PHÂN LOẠI CÁC UNG THƯ VÚ

Giống như các carcinoma khác, ung thư vú trước tiên phải được xử lý bằng phẫu thuật. Trong khi cách cắt bỏ tuyến vú triệt để trước đây đi cùng với sự loại bỏ tất cả các hạch bạch huyết xung quanh mô là cách tiếp cận chuẩn thì ngày nay theo quan điểm sinh lý học người ta chỉ can thiệp phẫu thuật một cách tối thiểu có thể mà không sợ bị tái phát.

Ung thư vú di căn tới hạch bạch huyết vùng cũng như tới các cơ quan xa hơn như xương, phổi và gan. Tại thời điểm cần phải phẫu thuật mà các di căn ở xa và quá nhỏ thì rất khó phát hiện bằng phương pháp chẩn đoán hình ảnh và các thử nghiệm phân tử cũng không đáng tin cậy khi cần phải phát hiện các di căn UTV cực kỳ nhỏ. Vì thế, giả định với bất cứ nguy cơ di căn nào thì hóa trị cũng cần được áp dụng sau khi phẫu thuật. Cách điều trị phụ trợ như thế có khả năng ngăn ngừa được tái phát ở một số bệnh nhân nhưng lại kiến tạo nên cách điều trị quá mức đối với các ung thư không di căn. Tuy nhiên, phương pháp này không phải lúc nào cũng tỏ ra hiệu nghiệm. Cũng như các carcinoma khác, sự lựa chọn phương pháp trị liệu được thiết lập cho các bệnh có tính chất hệ thống đều bị hạn chế tác dụng.

Vì thế mục tiêu quan trọng nhất của việc phân loại UTV là cung cấp nền tảng cho sự chọn lọc trị liệu đối với từng cá thể bệnh nhân. Những sự lựa chọn bao gồm phẫu thuật, trị liệu phụ trợ và chọn lọc các thuốc đặc hiệu. Có một số công cụ phục vụ cho mục đích này. Việc khảo sát về mặt tổ chức học "cổ điển" đã phân biệt được các dưới type khác nhau như carcinoma Paget, carcinoma trong lòng ống, carcinoma dạng thùy (lobular) và quan trọng là các tiền thân như carcinoma in situ ống (duct) và các u lành như fibroadenoma.

Ngày nay các marker phân tử đã cải thiện cho việc phân loại. Việc xác định các trạng thái ER, PR và ERBB2 là các thực hành chuẩn. Chẩn đoán $ER^+/PR^+/ERBB2^-$ là một tiên lượng tương đối tốt và dự đoán sẽ đáp ứng tốt với các thuốc kháng estrogen. Bằng cách so sánh cho thấy, các ung thư ERBB2 là xâm lấn nhưng thường đáp ứng với trị liệu bằng trestuzumab kết hợp cùng hóa trị. Các ung thư vú ở các bệnh nhân có các đột biến BRCA có thể di truyền là rất đặc biệt. Như một quy luật, chúng là các ung thư $ER^-$ và trình diện các marker tổ chức học của các TB ống cơ bản. Hơn nữa, các bệnh nhân tất nhiên còn có nguy cơ tương đối cao đối với việc phát triển một ung thư độc lập ở cùng một vú hoặc ở vú khác.

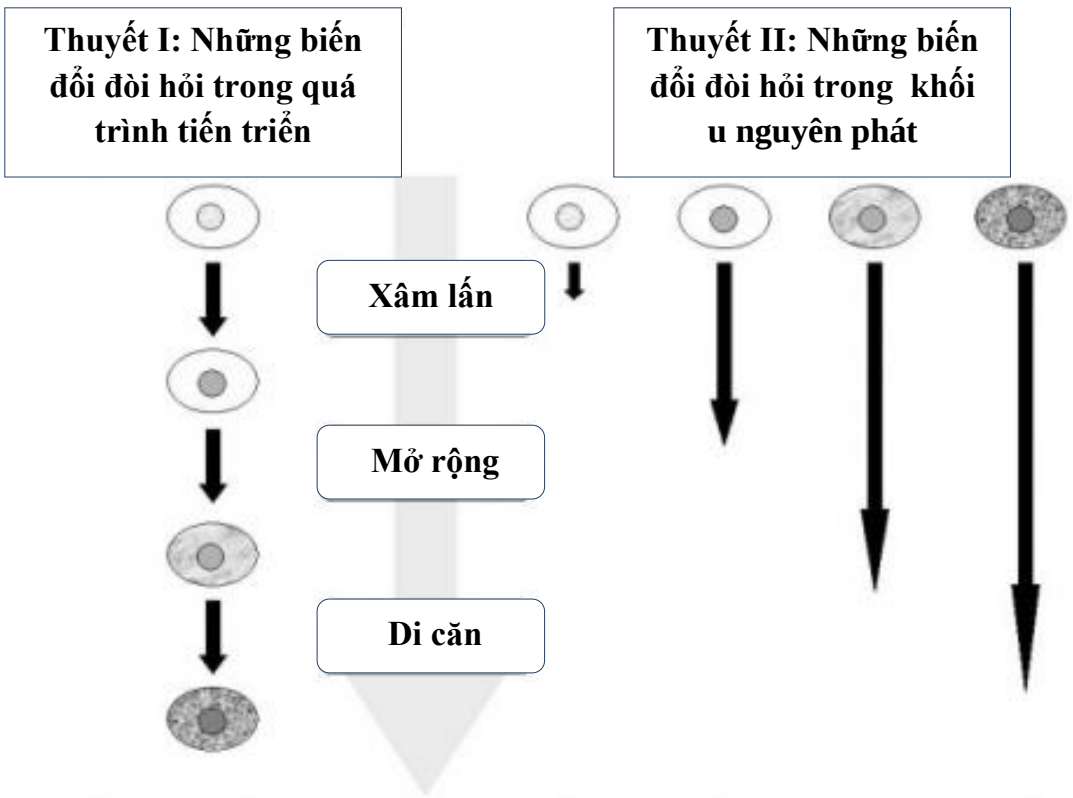
Các marker phân tử phát hiện được nhờ các nghiên cứu về mối tương quan giữa sự biểu hiện của các protein được cho là có liên quan tới việc xâm lấn và di căn của khối u cũng như liệu trình của bệnh. Một số protein cá thể kiến tạo nên các marker "tiên lượng" hữu ích, ví dụ như sự biểu hiện cao của uPA chỉ rõ khả năng di căn là cao.

Tiến bộ mới trong phân loại ung thư vú dường như từ sự biểu hiện gen. Rộng nhất là việc sử dụng công nghệ microarray phát hiện các đoạn cDNA hoặc các oligonucleotide tương ứng với gen người.

Kỹ thuật này cho phép so sánh các mẫu (pattern) biểu hiện gen giữa các mẫu (sample) khác nhau, ví dụ như giữa mô khối u và mô bình thường hoặc giữa các khối u riêng lẻ.

Các bệnh nhân có các đột biến dòng mầm BRCA lại là một bộ phận của một nhóm riêng biệt. Nhóm này thể hiện nhiều marker đặc trưng của các TB biểu mô đáy như cytokeratin 5 và 6. Mặc dầu không có chữ ký của ung thư $ER^+$ nhưng những ung thư này cũng có sự phân biệt rõ ràng với nhóm ERBB2.

Điều thú vị là, trong khi một nhóm UTV biểu hiện những nét liên quan của chúng với các TB đáy thì các các ung thư $ER^+$ lại biểu lộ nhiều marker đặc trưng cho kiểu hình TB tiết. Phát hiện này chứng minh một cách đúng đắn về những suy nghĩ trước đây là các dưới type khác nhau của UTV có thể xuất phát từ các giai đoạn khác nhau của dòng biểu mô vú như đã từng biểu hiện trong các mô khác như da. Những số liệu về sự biểu hiện cũng chứng minh rằng các ung thư $ER^+$ có thể được phân chia thành các dưới lớp xa hơn phù hợp với các đặc tính lâm sàng khác nhau. Những kết quả này nhấn mạnh rằng, các tính chất của UTV không thể xác định được bằng các biến đổi ở bất kỳ một gen đơn nào mà thực chất nó mang tính chất đa yếu tố.




**Hình 21.13** *Hai mô hình gây tranh cãi về sự di căn*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

## *TÓM TẮT*

❖ *Carcinoma vú là một trong số các bệnh ung thư gây chết người chủ yếu ở thế giới phương Tây, ngang ung thư phổi và ung thư đại tràng. Hầu hết các trường hợp đều xảy ra ở những phụ nữ sau mãn kinh, nhưng cũng có nhiều người còn trẻ cũng bị ảnh hưởng, thường là trong các gia đình có khuynh hướng di truyền. Các yếu tố nguy cơ đã biết bao gồm tiếp xúc với estrogen trong suốt thời gian sống, bức xạ ion hóa, hút thuốc lá và chế độ ăn giầu chất béo.*

❖ *Khoảng 10-20% trường hợp ung thư vú (UTV) là do các yếu tố di truyền. Các đột biến di truyền làm bất hoạt gen BRCA1 và BRCA2 dẫn đến nguy cơ UTV và/hoặc ung thư buồng trứng tới 80% trong suốt thời gian sống. Ung thư vú cũng xảy ra với tần số cao trong các hội chứng di truyền hiếm gặp như bệnh Li-Fraument và Cowden, ảnh hưởng tới TP53 và PTEN.*

❖ *Ngoài các đột biến với nguy cơ cao trong một số gia đình thì những đa hình di truyền phổ biến cũng làm tăng phần nào nguy cơ cho những cá thể phụ nữ, điều đó có ý nghĩa quan trọng đối với toàn bộ dân số. Ví dụ như các biến thể của gen mã hóa cho enzyme chuyển hóa steroid và các đột biến dị hợp xác định trong gen sửa chữa ATM/DNA.*

❖ *Gen BRAC1 ở 17q21 và BRCA2 ở 13q12 mã hóa cho các protein liên quan đến việc sửa chữa DNA và kiểm soát tính toàn vẹn của hệ gen. Chúng ứng xử như chất kiềm chế khối u cổ điển thuộc lớp "người chăm sóc"(caretaker) trong nhiều ung thư vú có tính chất gia đình với một bản sao khiếm khuyết di truyền và bản sao thứ 2 bị bất hoạt do đột biến, do tái tổ hợp, đứt đoạn hay bất hoạt epigenetic trong các khối u. Các ung thư trong các gia đình BRCA xảy ra ở lứa tuổi sớm hơn và thường ở cả 2 bên. Sự bất hoạt của một trong hai gen ít xảy ra trong các ung thư vú rải rác. Vì các gen BRCA là có chức năng và biểu hiện ở khắp mọi nơi nhưng không rõ tại sao lại dẫn đến ung thư vú và buồng trứng. Do các đột biến trong các gen này tương đối thịnh hành nên việc tư vấn, theo dõi và phòng ngừa ung thư ở những phụ nữ bị thâm nhiễm tiềm tàng vẫn đang tích cực phát triển.*

❖ *Estrogen và progesterone là các yếu tố quan trọng trong phát triển ung thư vú. Khoảng 70% các ung thư vú vẫn duy trì receptor estrogen α (ERα, được mã hóa bởi ESR1) và receptor progesterone (PR). Receptor estrogen β thứ hai khác biệt (Erβ, mã hóa bởi ESR2) thường bị mất đi. Trong các trường hợp khác thì Erα và PR bị điều hòa xuống, thường do các cơ chế epigenetic, bao gồm cả sự methyl hóa promoter.*

❖ *Cũng giống như mô vú bình thường, nhiều UTV vẫn phụ thuộc vào estrogen và gestrogen để tăng trưởng và sống sót, do đó nó phải đáp ứng với sự suy giảm hormone. Sự suy giảm hormone ở những phụ nữ tiền mãn kinh là nhờ phẫu thuật cắt bỏ buồng*

*trứng. Hơn nữa, đối với phụ nữ sau mãn kinh nói chung có những thuốc đã được sử dụng lại làm bất hoạt receptor estrogen. Những thuốc này tác động lên mô với một cách thức đặc biệt với nhiều mức độ tác dụng phụ khác nhau lên các cơ quan khác như tử cung, hệ thống tim mạch và xương. Hiệu ứng chọn lọc điều biến receptor estrogen chọn lọc "SERM" (selective receptor estrogen modulator) như thế được trung gian bởi các tương tác của đồng yếu tố hoạt hóa và đồng chất kìm hãm biểu hiện với phương thức đặc hiệu mô. SERM cũng giống như tamoxifen, dường như cũng rất hữu ích trong việc phòng ngừa UTV ở những phụ nữ có nguy cơ cao.*

❖ *Một số ít UTV hiếu chiến trung bình và tích cực lại không biểu hiện receptor estrogen. Nhiều trường hợp trong số này và ngay cả trong một số ung thư có biểu hiện ESR thì sự tăng trưởng khối u dường như cũng được thúc đẩy chủ yếu thông qua receptor tyrosine kinase của họ ERBB. Sự khuếch đại và biểu hiện quá mức gen ERBB2 làm hình thành nên heterodimer với ERBB1 và ERBB2 phổ biến ở nhóm này. Theo đó thì các chất ức chế đặc hiệu protein này và kháng thể đơn dòng đặc hiệu trastuzumab với tên thương mại là 'herceptin' sử dụng chọn lọc cho các bệnh nhân biểu hiện quá mức ERBB2 cũng có một số kết quả.*

❖ *Việc thiết lập phân loại carcinoma vú, ví dụ như đối với trạng thái receptor hormone steroid và các marker phân tử khác vẫn đang được tiếp tục bằng việc trắc diện sự biểu hiện gen. Phương pháp này chứng minh rằng các UTV chỉ rơi vào một số lớp. Những lớp này có thể phản ánh được phần nào nguồn gốc TB tương ứng của chúng. Hơn nữa, các dưới nhóm có những tiên lượng và đáp ứng khác nhau đối với trị liệu và các mẫu đặc biệt ở những bệnh nhân từ các gia đình có các đột biến BRCA có thể được xác định một cách rõ ràng. Cá thể hóa điều trị đang là ước nguyện đối với nhiều ung thư, trong đó có ung thư vú.*

# CHƯƠNG XXII: UNG THU CỔ TỬ CUNG

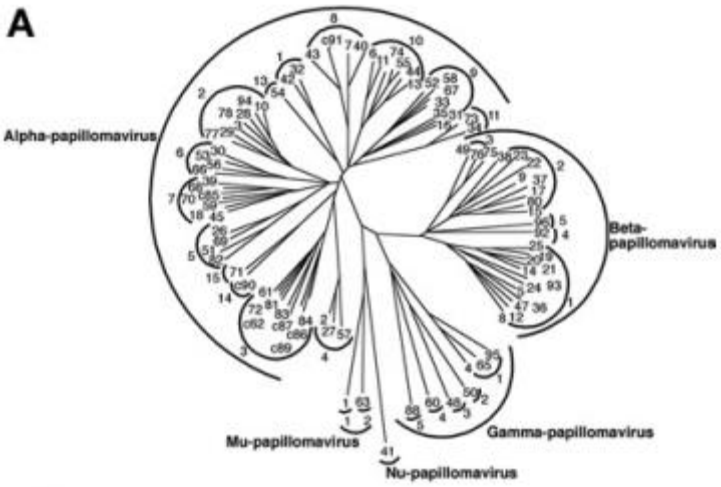
## 22.1. HPV VÀ CÁC BỆNH UNG THƯ LIÊN QUAN

HPV gây nên các dạng tổn thương biểu mô khác nhau. Trên 100 dạng HPV đã được xác định dựa trên các phân tích trình tự DNA, mỗi HPV đều liên quan đến việc thâm nhiễm tại các vị trí biểu mô đặc hiệu. Ở mức độ tiến hóa thì HPV rơi vào số các nhóm hoặc chi riêng biệt (Hình 22.1) và các tổn thương do chúng gây nên có những đặc trưng khác nhau.

Hai chi chính của HPV là papillomavirus alpha và beta, khoảng 90% HPV với các đặc trưng thông thường thuộc về một trong 2 nhóm này. Papillomavirus beta liên quan một cách đặc biệt với các thâm nhiễm da không rõ ở người, nhưng đối với các cá thể tổn thương miễn dịch và những bệnh nhân mắc các bệnh di truyền như mụn cóc loạn sản bì EV (epidermodysplasia verruciformia) thì những virus này phát tán không bị kiềm chế và liên quan tới việc phát triển các ung thư da hắc tố melanoma. Những bệnh nhân EV mang các đột biến ở các gen TMC6 (trước kia gọi là EVER1) hoặc TMC8 (trước kia gọi là EVER2) làm cho họ dễ bị ảnh hưởng với những virus này.

Nhóm HPV lớn nhất bao gồm các papillomavirus alpha và đây là nhóm chứa đựng các type HPV thuộc bộ phận sinh dục/niêm mạc (Hình 22.1). Papillomavirus alpha cũng bao hàm cả các virus của da như HPV2, gây nên các mụn cóc thông thường và liên quan rất ít với ung thư. Trên 30 type HPV khác nhau đã được biết đến gây thâm nhiễm biểu mô cổ tử cung cùng với một tập hợp nhỏ những type này có liên quan tới các tổn thương tiến triển thành ung thư. Những HPV liên quan tới các ung thư này được xếp loại là các HPV nguy cơ cao. HPV16 là HPV nguy cơ cao phổ biến nhất trong một quần thể nói chung và nó gây ra khoảng 50% tất cả các ung thư cổ tử cung (UTCTC). Còn type niêm mạc được xếp loại là nguy cơ trung bình hoặc thấp tùy thuộc vào tần suất chúng được phát hiện trong các ung thư. Các type HPV nguy cơ thấp như HPV11 chỉ liên quan rất ít với UTCTC, nhưng nó vẫn có vai trò quan trọng trong y học bởi vì chúng gây nên các mụn cóc ở bộ phận sinh dục. Các mụn cóc ở bộ phận sinh dục lan truyền chủ yếu qua đường sinh dục ở nhiều quốc gia và gây ảnh hưởng tới 1-2% thanh nữ.

Còn các HPV từ 3 chi (gamma. Mu và Nu) nói chung gây nên các u nhú ở da và các mụn cóc không tiến triển thành ung thư. Mối liên hệ giữa các chi khác nhau của các HPV và đặc biệt với các dạng HPV nguy cơ cao UTCTU được chỉ rõ ở Hình 22.1.




**B** Association of Alpha Papillomavirus types with cervical cancer

| Genus + Species | Type Species | SCC Cervix | Adeno Cervix | Category |
|---|---|---|---|---|
| Alpha 1 | HPV32 | | | low risk |
| | HPV42 | | | low risk |
| Alpha 2 | HPV3 | | | cutaneous |
| | HPV10 | | | cutaneous |
| | HPV28 | | | cutaneous |
| | HPV29 | | | cutaneous |
| | HPV77 | | | cutaneous |
| | HPV78 | | | cutaneous |
| | HPV94 | | | cutaneous |
| Alpha 3 | HPV61 | | | low risk |
| | C62 | | | |
| | HPV72 | | | low risk |
| | HPV81 | 0.04% | | low risk |
| | HPV83 | 0.04% | | low risk |
| | HPV84 | | | low risk |
| | C86 | | | |
| | C87 | | | |
| | C89 | | | |
| Alpha 4 | HPV2 | | | cutaneous |
| | HPV27 | | | cutaneous |
| | HPV57 | | | cutaneous |
| Alpha 5 | HPV26 | 0.22% | | high risk |
| | HPV51 | 0.75% | 0.54% | high risk |
| | HPV69 | | | |
| | HPV82 | 0.26% | | high risk |
| Alpha 6 | HPV30 | | | |
| | HPV53 | 0.04% | | high risk |
| | HPV56 | 1.09% | | high risk |
| | HPV66 | 0.19% | | high risk |
| Alpha 7 | HPV18 | 11.27% | 37.30% | high risk |
| | HPV45 | 5.21% | 5.95% | high risk |
| | HPV59 | 1.05% | 2.16% | high risk |
| | HPV39 | 0.82% | 0.54% | high risk |
| | HPV68 | 0.37% | | high risk |
| | HPV70 | | | |
| | C85 | | | |
| Alpha 8 | HPV7 | | | cutaneous (mucosal) |
| | HPV40 | | | cutaneous (mucosal) |
| | HPV43 | | | cutaneous (mucosal) |
| | C91 | | | |
| Alpha 9 | HPV16 | 54.38% | 41.62% | high risk |
| | HPV31 | 3.82% | 1.08% | high risk |
| | HPV33 | 2.06% | 0.54% | high risk |
| | HPV35 | 1.27% | 1.08% | high risk |
| | HPV52 | 2.25% | | high risk |
| | HPV58 | 1.72% | 0.54% | high risk |
| | HPV67 | | | |
| Alpha 10 | HPV6 | 0.07% | | low risk |
| | HPV11 | 0.07% | | low risk |
| | HPV13 | | | low risk |
| | HPV44 | | | low risk |
| | HPV55 | 0.04% | | low risk |
| | HPV74 | | | |
| Alpha 11 | HPV34 | | | high risk |
| | HPV73 | 0.49% | | high risk |
| Alpha 12 | | | | |
| Alpha 13 | HPV54 | | | low risk |
| Alpha 14 | C90 | | | low risk |
| Alpha 15 | HPV71 | | | low risk |

**Hình 22. 1** *HPV và mối liên quan của chúng với bệnh cổ tử cung*

(A) HPV nằm trong 5 nhóm. Các dạng HPV thâm nhiễm cổ tử cung từ nhóm alpha với khoảng 60 thành viên. Các dạng HPV từ nhóm beta, Mu và Nu thâm nhiễm trước tiên vào da.

(B) Papillomavirus alpha có thể được chia thành 3 thể loại (nguy cơ cao, nguy cơ thấp và nguy cơ da), tùy thuộc vào tính phổ biến của chúng trong một quần thể nói chung cũng như vào tần số gây ung thư cổ tử cung (được thể hiện hầu hết ở cột bên phải). Các dạng nguy cơ cao từ các nhóm alpha 5,6,7, 9 và 11. Tần suất của các dạng HPV khác nhau được phát hiện trong các ung thư cổ tử cung (carcinoma tế bào vảy và adenocarrcinoma/adenosquamous carcinoma) được thể hiện ở cột chính giữa (dựa trên thông tin chứa đựng trong đó). Ở những nơi mà không có % nào được liệt kê tức là dạng HPV này nói chung là không liên quan đến ung thư cổ tử cung.

(Theo Jonh Doorbar. Clinical 110, 525-541, 2006)

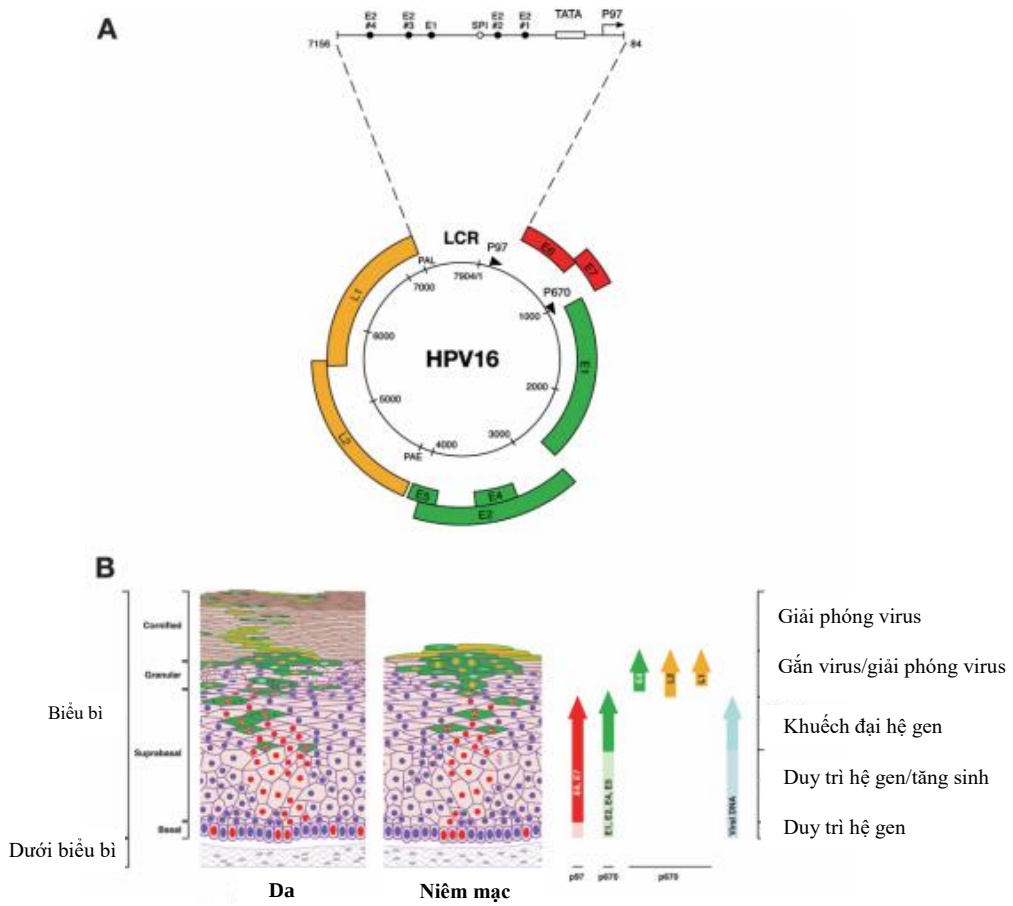
## 22.2. SỰ THÂM NHIỄM SINH SẢN BÌNH THƯỜNG

Nhiều type HPV chỉ tạo ra các tổn thương sinh sản sau khi thâm nhiễm và không liên quan gì với các ung thư người. Trong những tổn thương như thế thì sự biểu hiện của các sản phẩm gen virus được điều hòa một cách thận trọng, với các protein virus được sản xuất ra ở những thời điểm xác định thì mức điều hòa như là khi các TB thâm nhiễm dịch chuyển tới bề mặt biểu mô. Những sự kiện này dẫn đến việc tổng hợp virus ở lớp biểu mô trên, nó thường xuất hiện cả type HPV nguy cơ cao và thấp với các mẫu biểu hiện protein CIN 1 mức độ thấp (cervical intraepithelial neoplasia) giống như các mẫu thấy ở các mụn cóc lành tính do các papillomavirus khác. Sự thâm nhiễm sinh sản có thể được phân chia thành các phase riêng biệt với các protein virus khác nhau giữ vai trò đặc hiệu.

❑ ***Thiết lập sự thâm nhiễm HPV***

Tất cả các papillomavirus đều có chung nhiều đặc trưng và có chứa các DNA vòng chuỗi kép ở icohedral capsid (Hình 22.2). Mặc dầu hệ gen virus có thể khác nhau đôi chút về kích cỡ giữa các HPV khác nhau, nhưng nó thường chứa khoảng 8000bp (với HPV16 là 7904 bp) và mã hóa cho 8 hoặc 9 khung đọc mở ORF (open reading frame) (Hình 22.2). Phần vỏ của virus được tạo nên bởi 2 protein áo (coat). Protein L1 là thành phần cấu trúc cơ bản với các virion thâm nhiễm có chứa 360 bản sao protein được tổ chức thành 72 capsomere. L2 là một thành phần virion nhỏ và người ta nghĩ rằng phân tử L2 đơn có thể hiện diện ở trung tâm capsomere hóa trị 5 (pentavalent) tại các đỉnh của virion. Cả 2 protein đều giữ vai trò quan trọng trong việc làm trung gian thâm nhiễm hiệu quả virus.

Sự thâm nhiễm các papillomavirus đòi hỏi các hạt virus phải thâm nhập được vào lớp biểu mô đáy và vào được các TB đáy đang phân chia. Hiện nay có một số tranh cãi về bản chất xác thực của receptor đối với  việc tiến vào của virus, tuy nhiên người ta cho rằng các heparan sulfate proteoglycan có thể giữ vai trò quan trọng trong sự gắn kết đầu tiên và /hoặc sự hấp thu của virus. Cũng như với các virus khác, dường như sự thâm nhiễm của HPV đòi hỏi phải có sự hiện diện của các receptor thứ cấp để làm cho sự thâm nhiễm có hiệu quả và người ta cho rằng vai trò này có thể do α6 integrin. Các hạt papillomavirus được đưa vào TB tương đối chậm sau khi gắn kết và với HPV16 thì điều này xảy ra bởi endocytosis bọc clathrin (clethrin-coated endocytosis). Phương thức tiến vào này có thể không được bảo tồn trong số tất cả các type HPV, tuy nhiên người ta cho rằng HPV31 có thể tiến vào thông qua các hang nhỏ (caverolae). Các hạt papillomavirus tách rời khỏi nhau trong các endosome muộn và/hoặc lysosome với việc chuyển DNA virus vào nhân nhờ sự trợ giúp của protein capsid nhỏ. Trong các hệ thống thí nghiệm, các bản sao virus có thể được phát hiện sớm sau 12 giờ thâm nhiễm với mức độ mRNA tăng dần theo liệu trình trong một số ngày.




**Hình 22.2** *Tổ chức của hệ gen HPV và chu kỳ sống của virus*

(A) Hệ gen HPV16 (7904 bp) được thể hiện bằng vòng tròn đen với các promoter sớm (p97) và promoter muộn (p670) được đánh dấu bởi các mũi tên. Sáu ORF (E1, E2, E4, E5, E6, E7) được biểu hiện từ p97 hoặc p670 ở các giai đoạn khác nhau trong quá trình biệt hóa TB biểu mô. ORF muộn (L1 và L2) cũng được biểu hiện từ p670 sau sự thay đổi các mẫu ghép nối cũng như việc sử dụng vị trí polyadenyl hóa (từ vị trí polyadenyl hóa sớm [PAE] sang vị trí polyadenyl hóa muộn [PAL]). Tất cả các gen virus đều được mã hóa trên một chuỗi của hệ gen DNA vòng chuỗi kép. Vùng kiểm soát dài (LCR từ 7156-7186) được mở rộng cho phép thấy được được các vị trí gắn E2 và yếu tố TATA của promoter p97. Sự định vị của các vị trí gắn SP1 và E1 cũng được thể hiện.

(B) Những sự kiện chính xảy ra sau khi thâm nhiễm được biểu hiện ở biểu đồ bên trái. Phần biểu bì hiện màu xám với lớp bì phía dưới. Các lớp TB khác nhau hiện diện ở biểu mô cũng được định rõ ở phía bên trái. Các TB ở biểu bì biểu hiện các marker chu kỳ TB được thể hiện với nhân màu đỏ. Sự xuất hiện của những TB như thế trên lớp cơ bản là hậu quả của sự thâm nhiễm virus và đặc biệt là sự biểu hiện của gen virus gây ung thư E6 và E7. Sự biểu hiện của các protein virus cần cho việc sao chép hệ gen xảy ra trong các TB có biểu hiện E6 và E7 sau khi kích hoạt p670 ở các lớp biểu mô trên (các TB màu xanh nhân đỏ). Gen L1 và L2 (vàng) được biểu hiện ở một bộ phận nhỏ các TB chứa các DNA virus khuếch đại ở lớp biểu mô trên. Các TB chứa đựng các hạt thâm nhiễm cuối cùng trút khỏi bề mặt biểu mô (TB xanh nhân đỏ). Trong mô da, vấn đề này theo sau là sự phân giải nhân và hình thành các vảy phẳng. Thời gian và mức độ biểu hiện của các protein virus khác nhau được tóm tắt ở phía bên phải của hình với những mũi tên. Hệ quả của sự biểu hiện các sản phẩm gen virus theo cách trật tự này được thể hiện phía bên phải xa hơn. Sự biểu hiện của E6 và E7 trong sự hiện diện với mức độ thấp của E1, E2, E4 và E5 cho phép duy trì hệ gen virus (duy trì hệ gen/tăng sinh tế bào). Tăng các mức protein sao chép này sẽ tạo thuận lợi cho sự khuếch đại hệ gen virus. Sự xuất hiện trước tiên của L2 cho phép bắt đầu sự đóng gói hệ gen, với sự biểu hiện của L1 lại cho phép hình thành các virion thâm nhiễm (sự lắp ghép của virus). Sự tích lũy E4 gần bề mặt biểu mô có thể là nâng cao hiệu quả của sự giải phóng virus.

*(Theo Jonh Doorbar. Clinical 110, 525-541, 2006)*

Thâm nhiễm sẽ dẫn đến việc thiết lập hệ gen virus với tư cách là các episome ổn định (không hợp nhất vào hệ gen TB vật chủ) trong các TB lớp đáy và người ta cho rằng quá trình này đòi hỏi có sự biểu hiện của các protein sao chép virus E1 và E2. Protein E2 giữ một số vai trò quan trọng trong thâm nhiễm sinh sản và trong các TB đáy nó cần cho sự khởi đầu sao chép DNA virus và phân ly hệ gen (genome segragation). E2 là một protein liên kết DNA nó nhận dạng các motif palindromic [AACCg (N4)cGGTT] ở vùng không mã hóa của hệ gen virus (Hình 22.2). HPV16 có 4 motif như vậy, một trong số đó nằm liền kề với origin sao chép của virus. Liên kết E2 cần cho sự tuyển mộ E1 helicase tới gốc virus (viral origin), nó gắn lần lượt vào các protein tế bào cần cho sự sao chép DNA, bao gồm RPA (recplication protein A) và DNA polymerase α primase. Protein E2 cuối cùng phân ly khỏi gốc virus, cho phép lắp ráp E1 vào vùng hexameric kép có chức năng tương tự như các cấu trúc vòng hexameric (hexameric ring) tức là lắp ráp tại các gốc sao chép của TB và nó được xây dựng nên từ các protein MCM (multicopy maintenance).

Trong các TB đáy dường như là hệ gen virus sao chép với DNA tế bào ở phase S, với các hệ gen sao chép được phân chia đồng đều trong quá trình phân chia tế bào. Vai trò của E2 trong việc neo các episome virus vào các NST mitotic là rất quan trọng đối với việc phân chia một cách chính xác và trong một số dạng papillomavirus liên quan với protein Brd4 của TB thì nó liên kết trực tiếp qua đầu tận C với protein E2 của virus. Đối với các dạng HPV nguy cơ cao thì liên quan đến các ung thư của người, dường như là sự liên kết qua phần trục quay (spindle), liên quan tới các protein TB bổ sung. Ngoài vai trò trong sao chép và phân ly hệ gen, E2 cũng có thể tác động như là các yếu tố sao chép và có thể điều hòa promoter sớm của virus (p97 trong HPV16 và p99 trong HPV31) cũng như kiểm soát sự biểu hiện các gen ung thư của virus (E6 và E7). Ở mức độ thấp, E2 tác động với tư cách là một yếu tố hoạt hóa sao chép, trong khi đó ở mức độ cao thì E2 lại kiềm chế sự biểu hiện của gen ung thư do sự dời chỗ yếu tố hoạt hóa sao chép SP1 từ vị trí kề nhau sang một vị trí promoter sớm (Hình 22.2). Chưa rõ là sự điều hòa sao chép qua trung gian E2 liệu có quan trọng hay không trong các TB biểu mô đáy, ở đó cấu trúc nucleosome và/hoặc trạng thái methyl hóa của DNA virus có thể là không tương hợp với sự kích hoạt hiệu quả của promoter sớm. Phân tích về việc duy trì hệ gen trong BPV (bovine papillomavirus)- những tế bào tạo sừng (keratinocyte) biến nạp và các dòng TB có nguồn gốc từ các tổn thương cổ tử cung, người ta cho rằng các episome virus có thể được duy trì với 10-200 bản sao trong các TB đáy. Mặc dầu vậy, điều này vẫn chưa đủ để chứng minh trong các trường hợp tổn thương. Các thể đột biến knockout trong hệ gen virus đã cho thấy cả E1 và E2 đều cần thiết cho việc duy trì hệ gen virus ở lớp đáy.

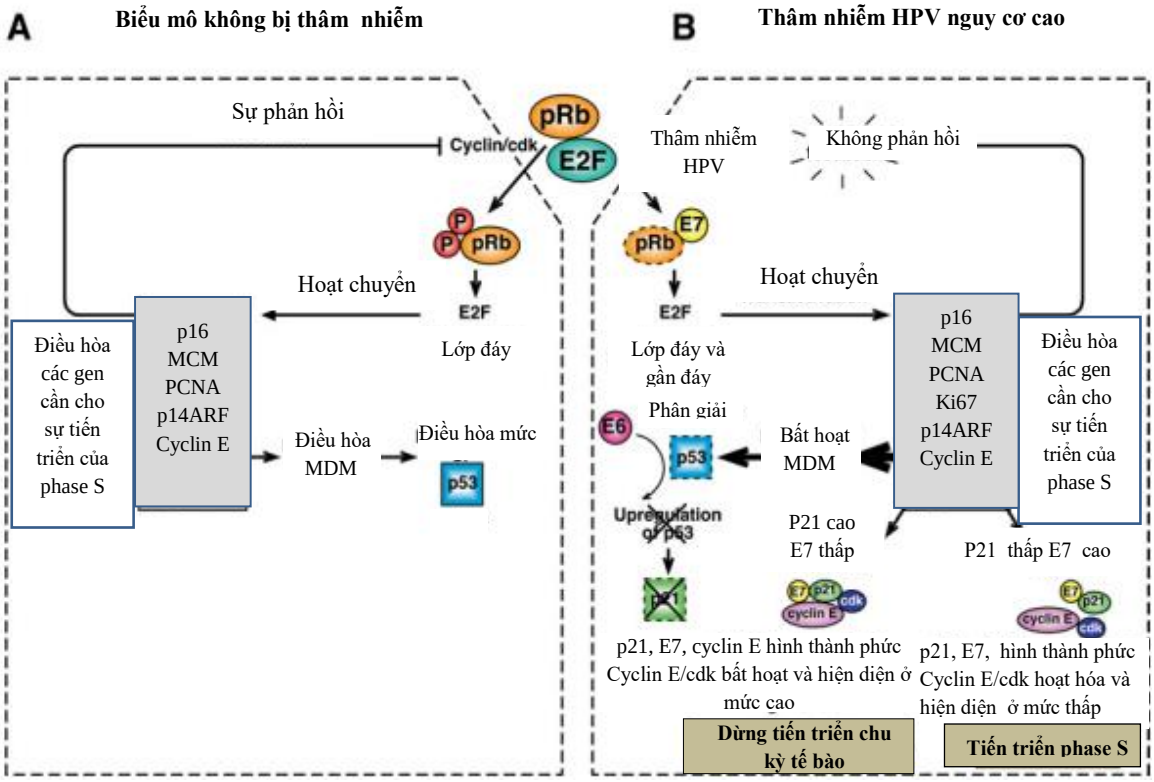
❑ ***Kích thích sự tăng sinh tế bào***

Một số hệ thống mô hình đã được sử dụng để khảo sát chu kỳ sinh sản của papillomavirus trong quá trình thâm nhiễm *in vivo*. Sau khi tiêm thử nghiệm mô biểu mô niêm mạc với ROPV (rabbit oral papillomavirus) hoặc COPV (canine oral papillomavirus) đã làm tăng rõ rệt sự tăng sinh TB ở bộ phận đáy và trên đáy, cùng với các mụn cóc trưởng thành có thể nhìn thấy được sau 4 tuần thâm nhiễm. Thời gian giữa thâm nhiễm đầu tiên và lúc xuất hiện các papillomavirus sinh sản có thể thay đổi tùy thuộc vào độ chuẩn của virus thâm nhiễm và cũng có thể phụ thuộc vào bản chất của type papillomavirus thâm nhiễm và người ta cho rằng sự chậm trễ có thể xảy ra khi độ chuẩn tiêm nhiễm (inculating titre) thấp. Trong các tổn thương cổ tử cung do các HPV thì việc tăng cao sự tăng sinh của các TB biểu mô ở phần trên đáy là do sự biểu hiện của các gen ung thư virus E6 và E7. Trong quá trình thâm nhiễm tự nhiên, sự hoạt động của các gen này đã cho phép một số nhỏ các TB thâm nhiễm lan rộng, tăng một số TB rồi sau đó tiếp tục sản xuất ra các virion thâm nhiễm. Khả năng của E6 và E7 đối với việc điều khiển các tế bào đi vào phase S cũng rất cần thiết, cùng với E1 và E2 cần cho việc sao chép của các episome virus trên lớp đáy. Các TB xa hơn đáy thường thoát ra khỏi chu kỳ TB và bắt đầu quá trình biệt hóa tận cùng để tạo ra hàng rào bảo vệ mà thường được cung ứng bởi da. Tuy nhiên, trong các TB tạo sừng thâm nhiễm HPV thì không còn việc hạn chế đối với sự tiến triển chu kỳ TB và sự biệt hóa tận cùng bình thường cũng không còn xảy ra. Cơ chế cơ bản đã được hiểu rõ là do các papillomavirus kích thích sự tiến triển chu kỳ TB và cũng tương tự như cách mà các virus gây khối u khác là bãi bỏ sự điều hòa tăng trưởng TB. E7 cùng với pRb [Rb (retinoblastoma protein] và các thành viên khác của họ protein pocket làm gián đoạn mối liên kết giữa pRb và họ các yếu tố sao chép E2F, không phụ thuộc vào sự hiện diện của các yếu tố tăng trưởng bên ngoài (Hình 22.3). E2F sau đó kích hoạt (transactivate) các protein TB cần cho sự sao chép DNA virus như cyclin A và E. E7 cũng liên kết với các protein khác liên quan tới sự tăng sinh TB, bao gồm histone deacetylase, các thành phần của phức hợp sao chép AP1 và các chất ức chế kinase phụ thuộc cyclin p21 và 27. Tuy nhiên, trong quá trình thâm nhiễm tự nhiên thì khả năng của E7 với việc điều khiển tăng sinh TB bị ức chế ở một số TB, tùy thuộc vào các chất ức chế kinase phụ thuộc cyclin - p21 và p27 (Hình 22.3). Với mức cao của p21 và p27 trong các TB tạo sừng biệt hóa có thể dẫn đến sự hình thành các phức hợp bất hoạt với E7 và cyclinE bên trong TB. Dường như là khả năng điều khiển TB của E7 thông qua phân bào mitosis ở biểu mô biệt hóa có thể bị giới hạn đối với các TB biểu hiện p21 và 27 ở mức thấp hoặc biểu hiện đủ E7 để vượt qua sự ngăn cản đối với sự tiến triển của chu kỳ TB. Điều này rất quan trọng vì người ta cho rằng mất điều hòa biểu hiện các gen ung thư virus là yếu tố mở đường cho sự phát triển các ung thư có liên quan đến HPV (Hình 22.3). Chức năng của protein E6 là bổ sung cho E7 trong các type HPV có nguy cơ cao, 2 protein cùng được biểu hiện từ các

mẫu mRNA polycistronic đơn. Vai trò chủ yếu của E6 là sự gắn kết của nó với p53 mà trong trường hợp các type HPV nguy cơ cao thì nó làm trung gian cho sự ubiquitin hóa và phân giải p53. Về vấn đề này người ta cho là để phòng ngừa ngừng tăng trưởng hoặc apoptosis trong việc đáp ứng với sự tiến vào của chu kỳ TB qua trung gian E7 ở các lớp biểu mô trên, nếu không thì nó có thể xảy ra thông qua việc kích hoạt con đường ARF (ADP-ribosylation factor - yếu tố ribosyl hóa ADP). Vai trò chung của E6 với tư cách là một protein kháng apoptosis lại được nhấn mạnh thêm nữa do việc phát hiện ra rằng nó cũng liên kết với Bak và Bax. Vai trò này của E6 có ý nghĩa rất lớn trong việc phát triển UTCTC vì nó làm mất hiệu quả đáp ứng với tổn hoại DNA của TB và cho phép tích lũy các đột biến thứ cấp một cách mất kiểm soát. Protein E6 của các type HPV nguy cơ cao cũng giữ vai trò quan trọng trong việc trung gian tăng sinh TB độc lập E7 thông qua domain ligand PDZ đầu cuối C của nó (tên PDZ bắt nguồn từ 3 protein đầu tiên phát hiện thấy trong các domain này là: PSD-95 (protein 95 kDa liên quan đến tín hiệu), Dlg (*Drosophila* discs large protein) và ZO1 ( zonula occluden 1)- protein liên quan đến việc duy trì tính phân cực của TB biểu mô. Liên kết E6PDZ có thể làm trung gian cho sự tăng sinh TB gần đáy (suprabasal cell) và có thể góp phần vào việc phát triển các khối u di căn do phá rối trật tự sự kết dính của TB bình thường. Trong các mụn cóc lành tính gây nên bởi HPV1 thì sự tăng sinh TB sẽ được giới hạn tới lớp đáy của biểu mô, với sự khuếch đại sớm của hệ gen ngay sau khi các TB thâm nhiễm tiến được vào lớp TB gần đáy. Các HPV như HPV6 và HPV16 (alpha papillomavirus) thường có một vùng có thể là nhiều lớp TB dày, ở đó các TB đã được giữ lại trong các chu kỳ, trước khi bắt đầu khuếch đại hệ gen virus (vegetative viral genome amplification). Trong trường hợp các type HPV nguy cơ cao có liên quan với UTCTC thì độ dày tương đối của các lớp này tăng lên cùng với độ ung thư, trong khi đó thì mức độ biệt hóa của biểu mô lại giảm.

❑ ***Khuếch đại hệ gen***

Mặc dầu tăng sinh TB là nhu cầu đòi hỏi cho sự hình thành tổn thương và duy trì episome virus, nhưng tất cả papillovirus cuối cùng cũng phải khuếch đại và đóng gói hệ gen của chúng nếu các virion thâm nhiễm được sản xuất. Cái gì gây nên việc khởi đầu các sự kiện muộn thì vẫn chưa được rõ, nhưng dường như là nó phụ thuộc một phần vào những biến đổi trong môi trường của TB như các TB thâm nhiễm di chuyển về phía bề mặt biểu mô chẳng hạn. Tầm quan trọng của vấn đề này là sự điều hòa lên của promoter phụ thuộc biệt hóa đối với nhiều type HPV có trong E7ORF (P670 trong HPV16; p742 trong HPV3). Sự kích hoạt của promoter phụ thuộc biệt hóa tùy thuộc vào những thay đổi trong tín hiệu TB chứ không phải là trên sự khuếch đại hệ gen, và sẽ dẫn đến tăng mức protein virus cần thiết cho sự sao chép (ví dụ như E1, E2, E4 và E5). Các TB hỗ trợ cho sự thâm nhiễm sinh sản có thể nhìn thấy được khi sử dụng các kháng thể với E4 (Hình 22. 4), trong sự khuếch đại hỗ trợ đó cũng phải kể đến E7.




**Hình 22.3** *Kích thích sự tiến triển chu kỳ tế bào bởi các type HPV nguy cơ cao*

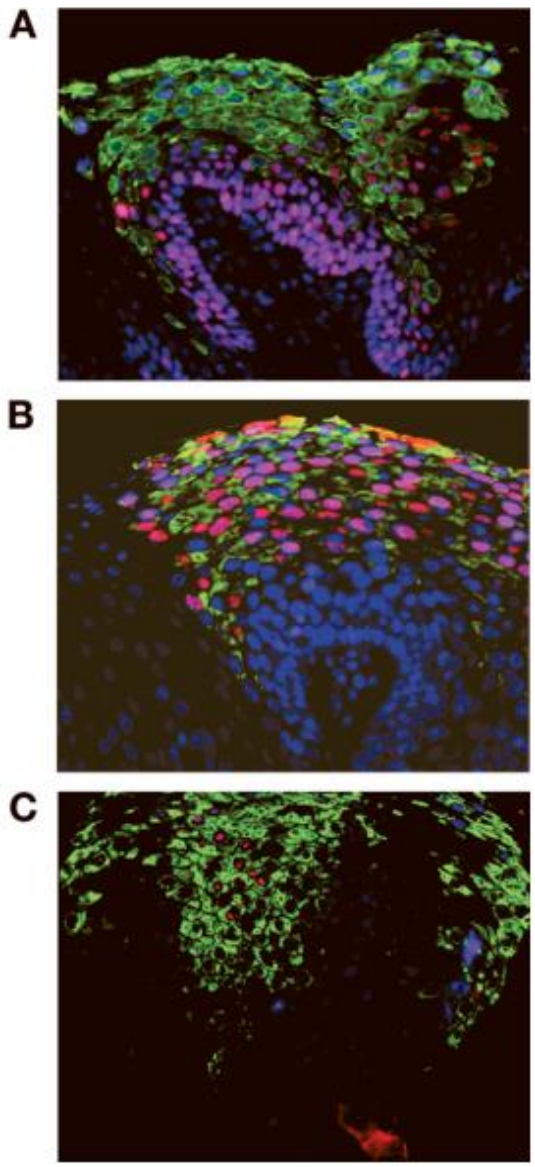
Thâm nhiễm HPV dẫn đến mất điều hòa chu kỳ tế bào. Điều hòa sự biểu hiện protein trong biểu mô không bị thâm nhiễm được thể hiện ở (A). Trong sự hiện diện của HPV nguy cơ cao (B). Điều hòa protein cần cho sự tăng sinh tế bào bị thay đổi sẽ cho phép HPV kích thích việc đi vào phase S ở các lớp biểu mô trên. (A) Biểu mô không bị thâm nhiễm. Sự biểu hiện của protein cần cho sự tiến triển chu kỳ tế bào được kiểm soát bởi pRB, trong đó các tế bào không quay vòng có liên quan với các thành viên họ yếu tố sao chép E2F (chính giữa). Trong sự hiện diện của các yếu tố tăng trưởng, cyclinD/Cdk4/6 được kích hoạt dẫn đến sự phosphoryl hóa Rb và giải phóng yếu tố sao chép E2F, điều khiển sự biểu hiện của protein liên quan đến sự tiến triển ở phase S. p16 điều hòa mức cyclinD/Cdk kích hoạt trong tế bào, tạo nên cơ chế phản hồi điều hòa mức MCM, PCNA (proliferating nuclear antigen) và cyclin E. Sự biểu hiện của $p14^{Arf}$ liên quan trực tiếp với p16, điều hòa hoạt tính của MDM (murine double minute) ubiquitin ligase, làm nhiệm vụ duy trì p53 ở mức thấp hơn cần cho việc dừng chu kỳ tế bào và/hoặc apoptosis. (B) Biểu mô thâm nhiễm HPV. Trong biểu mô cổ tử cung bị thâm nhiễm bởi các type HPV nguy cơ cao thì sự tiến triển chu kỳ tế bào không phụ thuộc vào các yếu tố tăng trưởng bên ngoài, nhưng được kích thích bởi protein E7, liên kết và phân giải pRB tạo thuận lợi cho sự biểu hiện qua trung gian E2F các protein tế bào cần để đi vào phase S. Mặc dầu mức p16 tăng cao nhưng sự phản hồi bình thường vẫn là hợp cách vì sự tăng sinh tế bào qua trung gian HPV không phụ thuộc vào cyclinD/cdk4/6. Tăng mức $p14^{Arf}$ xảy ra trong sự vắng mặt của sự phản hồi qua trung gian p16, dẫn đến ức chế chức năng của MDM và tăng mức p53. Quá trình này bị gây cản trở bởi E6 liên quan E6AP ubiquitin ligase trong việc kích thích sự phân giải của protein p53 và ngăn ngừa sự dừng tăng trưởng và/hoặc apoptosis. Ở các bệnh cổ tử cung mức độ thấp thì mức E7 được điều tiết rất cẩn thận vì người ta cho rằng sự tăng sinh tế bào qua trung gian E7 đôi khi có thể bị ức chế do liên kết với p21 và cyclinE/Cdk. Các mức cao của E7 cũng phát hiện được ở các tế bào ung thư cổ tử cung được cho là để vượt qua việc ngăn chặn này bằng cách liên kết và bất hoạt chất ức chế Cdk (p21).

(Theo Jonh Doorbar. Clinical 110, 525-541, 2006)

Vai trò của E1 và E2 trong khuếch đại hệ gen virus đã được thiết lập rõ ràng. E1 được bảo tồn cao trong số các papillomavirus và có ái lực yếu đối với motif consensus (AACNAT) lặp lại 6 lần trong gốc virus. Trong quá trình thâm nhiễm tự nhiên thì E1 biểu hiện với mức rất thấp và đòi hỏi phải có sự hiện diện của E2 thì mới đích một cách hiệu lực với các vị trí liên kết của nó. E2 liên kết với E1 chủ yếu qua đầu tận cùng N của nó và liên kết với DNA như là một dimer thông qua đầu tận C (Hình 22. 2). Sự hình thành phức hợp E1-E2 ở gốc sao chép gây cảm ứng sự định vị xoắn trong DNA virus, tạo thuận lợi cho việc tuyển mộ các phân tử E1 bổ sung và sự thay thế tất yếu của E2. E1 cũng có thể liên kết với các protein sốc nhiệt Hsp, đặc biệt là Hsp40 và Hsp70, điều này sẽ góp phần vào việc hình thành các dihexamer của E1. E1 và E2 cũng tác động tới việc điều hòa các promoter sớm (p97 trong HPV16 và p99 trong HPV31), với mức cao của E2 thì nó điều hòa xuống sự biểu hiện của E6 và E7 trong các hệ thống thực nghiệm. Khả năng của E2 hoặc là kiềm chế hay kích hoạt sớm sự biểu hiện hệ gen virus tùy theo tình trạng dư dật của nó, có lẽ là do những sự khác biệt về ái lực của E2 đối với các vị trí liên kết khác nhau của nó. Trong HPV16 thì người ta cho rằng, vị trí liên kết 4 là vị trí đầu tiên bị chiếm đóng khi E2 hiện diện ở mức thấp (Hình 22.2), dẫn đến sự kích hoạt promoter. Khi E2 tăng lên quá nhiều, sẽ chiếm chỗ các vị trí còn lại dẫn đến việc dời chỗ các yếu tố sao chép như Sp1 và TBP (TATA-box-binding-protein) cần cho sự kích hoạt promoter. Dường như là tăng biểu hiện E2 là rất quan trọng đối với việc kích thích khuếch đại hệ gen và cuối cùng dẫn đến điều hòa xuống E6/E7 và sau chót là mất môi trường sao chép cần thiết cho sự tổng hợp DNA virus. Sự liên kết kỳ lạ này giữa nhân rộng và sao chép đã tạo ra một cơ chế mà theo đó virus có thể làm giới hạn cả về thời gian (timing) và thời hạn (duration) của sự khuếch đại hệ gen. Trong các tổn thương cổ tử cung do HPV16 thì các TB trợ giúp cho sự khuếch đại hệ gen thường là rất hiếm và thay đổi rất lớn sự định vị của chúng bên trong các tổn thương. Trái lại, trong verrucas gây nên bởi HPV1 thì các TB trợ giúp cho sự khuếch đại hệ gen lại tương đối phổ biến và luôn phát hiện được ngay lập tức trên lớp đáy.

Mặc dầu E1 và E2 giữ vai trò chủ chốt trong khuếch đại hệ gen virus nhưng các protein E4 và E5 cũng có sự đóng góp. Các hệ gen thể đột biến E5 của HPV16 và HPV31 bộc lộ sự khuếch đại hệ gen thấp hơn thể hoang dã và người ta cho rằng khả năng của E5 là chịu trách nhiệm về việc điều biến các tín hiệu TB. HPV E5 là một protein vận chuyển màng cư trú chủ yếu tại màng lưới nội chất ER, nhưng nó có thể liên kết với proton ATPase không bào và làm chậm lại quá trình axit hóa thể tiêu hóa nội bào (endosome). Người ta cho rằng, vấn đề này ảnh hưởng tới sự tái chế (recycle) của các receptor yếu tố tăng trưởng trên bề mặt TB, dẫn đến tăng tín hiệu receptor qua trung gian EGF và duy trì môi trường thẩm quyền sao chép (replication competent environment) ở các lớp biểu mô trên. Trái lại, vai trò của E4 trong khuếch đại hệ gen thì vẫn chưa rõ hoàn toàn. E4 được tích lũy trong TB ở thời điểm khuếch đại hệ gen virus

và sự mất đi của nó sẽ làm gián đoạn các sự kiện muộn ở một số hệ thống thực nghiệm. Một phần của hiệu ứng có thể liên quan đến khả năng của các type HPV xác định có liên quan tới cyclinB/Cdk2 cũng như sự di dời của phức hợp tới tế bào chất (tương bào). Vấn đề này đã làm ngăn trở sự tích lũy ở nhân của cyclinB/Cdk2, cần cho sự tiến triển trót lọt quá trình phân bào mitosis. Khả năng của E4 làm dừng chu kỳ TB ở G2 và ngăn cản sự tăng sinh TB qua trung gian đối kháng (antagonize) E7 là đặc trưng phổ biến của các protein E4 được mã hóa bởi một số type HPV, bao gồm HPV16, HPV11, HPV18 và HPV1. Điều thú vị là một công trình khoa học gần đây đã chứng minh rằng, các protein E4 của HPV16 và HPV18 cũng có thể liên kết với E2, do đó người ta đề xướng là có một cơ chế phụ theo đó mà E4 có thể tác động được.




**Hình 22.4** Đặc trưng của các sự kiện trong quá trình thâm nhiễm sinh sản papillomavirus được phát hiện bằng phương pháp nhuộm miễn dịch**.** Mẫu biểu hiện protein virus bảo tồn trong các tổn thương sinh sản gây nên bởi các papillomavirus với nhiều nguồn gốc. Các mẫu nhuộm huỳnh quang đặc biệt đã được hiện rõ. (A) Papilloma sinh sản hiện rõ sự biểu hiện đặc biệt của PCNA [một marker thay thế của sự biểu hiện gen E6/E7 (đỏ)] và E4 (xanh lá cây), trong đó nó phản ánh những vị trí biểu hiện của E1 và E2. Nhân được phản màu với DAP1 (4,6-diamidino-2-phenylindole [xanh da trời]). Một vùng nhỏ mô không bị thâm nhiễm thể hiện rõ cả 2 vùng papilloma. (B) Khi so sánh các vị trí khuếch đại của hệ gen virus [ màu đỏ; phát hiện bằng FISH (fluorescence in situ hybridization)] và sự biểu hiện của E4 (màu cỏ non) đã vạch rõ được 2 sự kiện tương quan rất chặt chẽ. Nhân được phản màu với DAP1 (xanh da trời). (C) Protein capsid virus (LI; màu đỏ) được biểu hiện trong một tập hợp nhỏ các TB biểu hiện E4 (màu cỏ non) trong các lớp biểu mô trên. Nhân được phản màu với DAP1 (xanh da trời).

(Theo Jonh Doorbar. Clinical 110, 525-541, 2006)

❑ ***Sự lắp ráp và giải phóng virus***

Giai đoạn chót của chu kỳ sản sinh papillomavirus đòi hỏi hệ gen đã sao chép phải được đóng gói vào trong các hạt thâm nhiễm. Các protein capsid (L1 và L2) được tích lũy lại sau sự khởi phát khuếch đại hệ gen với việc L2 biểu hiện trước L1. Những sự kiện gắn kết sự khuếch đại hệ gen với tổng hợp các protein capsid vẫn chưa được hiểu rõ hoàn toàn, nhưng nó phụ thuộc vào những biến đổi trong việc kết nối mRNA và sự sản sinh các bản sao kết thúc vị trí polyadenyl hóa muộn (chứ không phải là sớm) (Hình 22.2). Trong quá trình biệt hóa TB thì thời gian tổng hợp capsid được điều tiết bằng cả mức độ chế biến RNA cũng như sự tổng hợp protein. Các yếu tố điều hòa âm kiểm soát tính ổn định của RNA hiện diện ở vùng mã hóa và vùng không phiên dịch muộn của HPV16, trong khi đó các silencer ghép nối ở gen HPV16 L1 lại dẫn đến sự tổng hợp ưu tiên các bản sao sớm trong các TB tăng sinh. Ngoài vấn đề này ra, mẫu của việc sử dụng codon trong các gen L1 và L2 có khác biệt so với các mẫu thường thấy trong các TB động vật có vú, điều đó đóng góp hơn nữa vào việc ức chế sự biểu hiện capsid trong các lớp biểu mô thấp hơn. Những cơ chế điều hòa tương tự cũng có thể tồn tại ở HPV1, HPV31, BPV và có khả năng mở rộng tới các type papillomavirus khác nữa.

Việc lắp ráp của các virion thâm nhiễm ở lớp biểu mô trên ngoài các prptein capsid nó còn đòi hỏi cả L1 và L2 và người ta cho rằng E2 có thể nâng cao được hiệu quả của việc capsid hóa (encapsidation) hệ gen trong quá trình thâm nhiễm tự nhiên. E2 định vị vào nhân bởi hiệu lực của các tín hiệu định vị nhân định vị ở các đầu tận N và C, một khi nó liên kết với các thể PML (promyelocyte leukemia). Mặc dầu một số protein L2 của papillomavirus cũng có thể liên kết với DNA, nhưng sự tuyển mộ đặc biệt của các hệ gen tới các thể PML có lẽ là cần phải có E2 vì nó có thể liên kết với DNA virus thông qua các vị trí đặc biệt. L1 lắp ráp thành các capsomer trong tương bào (tế bào chất) trước khi di dời khỏi nhân và lại được chiêu mộ vào trong các thể PML chỉ sau khi L2 đã liên kết và thay thế thành phần sp100 của PML. Sự lắp ráp của các hạt virion trong các hệ thống thực nghiệm đòi hỏi phải có sự hiện diện của protein tế bào Hsp70, cũng liên quan đến sự tái chế protein L1 của virus trong quá trình sao chép, nhưng hình như là không phụ thuộc vào sự định vị của PML. Mặc dầu các hạt papillomavirus có thể được lắp ráp với sự vắng mặt của E2, nhưng sự hiện diện của nó sẽ góp phần hiệu quả vào việc đóng gói và nâng cao tính thâm nhiễm của virus. Mất L2 trong hệ gen của HPV31 sẽ làm giảm 10 lần hiệu ứng đóng gói và giảm 100 lần tính thâm nhiễm khi so sánh với HPV31 thể hoang dã. L2 liên kết với L1 qua vùng kỵ nước gần các đầu tận C của protein được cho là được cài vào lỗ trung tâm trong các capsomer L1 hóa trị 5. Sự tương tác giữa các capsomer cần các tận cuối C của protein L1 cho việc làm chín (trưởng thành) và ổn định hóa của virus xảy ra khi các TB thâm nhiễm tiến sát bề mặt biểu mô nhờ sự liên kết chéo của cầu disulfide. Mặc dầu các papillomavirus kháng lại

được với sự sấy khô, nhưng người ta cho rằng sự sống sót của chúng có thể được nâng lên vì bề mặt biểu mô như là một lớp vảy sừng. Việc lưu giữ các kháng nguyên papillomavirus cho đến tận khi các TB thâm nhiễm tiếp cận được bề mặt biểu mô có lẽ sẽ làm giới hạn khả năng của các hệ thống miễn dịch trong việc phát hiện thâm nhiễm. Cuối cùng, việc giải phóng virus đòi hỏi một sự tẩu thoát hiệu lực khỏi lớp vỏ sừng ở bề mặt TB, điều đó có thể được tạo thuận lợi bởi protein E4. E4 có thể làm gián đoạn mạng lưới keratin và có thể gây ảnh hưởng tới tính toàn vẹn của lớp vỏ sừng.

## 22.3. THÂM NHIỄM KHÔNG THÀNH CÔNG NHƯ LÀ TIỀN THÂN TỚI UNG THƯ

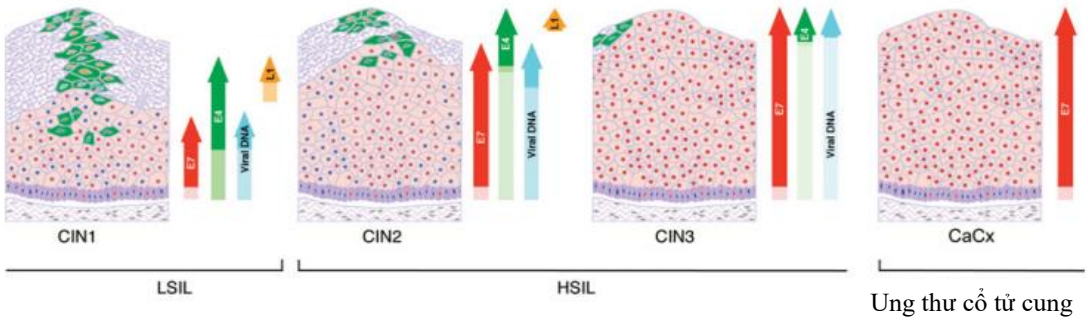
Các ung thư cảm do virus thường nảy sinh ở các vị trí thâm nhiễm sinh sản, ở đó có thể không được trợ giúp một cách thích hợp. CRPV (papillomavirus thỏ đuôi bông – cottontail) cảm ứng các papillomavirus sinh sản trong vật chủ tự nhiên của nó (thỏ đuôi bông), nhưng lại nảy sinh ra các tổn thương, không trợ giúp cho sự tổng hợp virus khi tiêm chủng vào thỏ nuôi trong nhà (domestic). Những sự thâm nhiễm không trọn vẹn như thế thường hay tiến tới ung thư nhiều hơn là gây thâm nhiễm lên các thỏ đuôi bông. Tình trạng tương tự cũng nhận thấy sau khi tiêm SV40 (virus khỉ 40) và adenovirus type 5 (cũng được xem như là virus DNA gây khối u) vào các vật chủ không thích hợp như chuột đồng và chuột nhà thì nó trợ giúp sớm chứ sự biểu hiện gen virus. Các type papillomavirus thường tạo nên các mụn cóc lành tính ở da người được đánh giá là nguy cơ thấp (ví dụ như HPV2 và 4) có thể đôi khi cũng liên quan đến ung thư tại các vị trí tiết chất nhầy. Việc hạn chế tính hướng kích thích mô của các type HPV khác nhau liên quan đến khả năng thâm nhiễm của chúng đối với các vị trí không tối ưu, điều này có thể nảy ra một sự giải thích không đầy đủ về việc tại sao các type HPV lành tính đôi khi lại có liên quan với các ung thư người.

Các type papillomavirus nguy cơ cao đều liên quan đến các ung thư người, nổi bật nhất là các nhóm alpha 9 và alpha 7 (Hình 22.1), các type phổ biễn nhất là HPV 16 và HPV 18. Những virus này phát hiện thấy ở những phụ nữ không có các bất thường về tế bào học cũng như ở những phụ nữ có LSIL và HSIL (low–and high- grade squamous intraepithelial neoplasia lesion) và/hoặc bị ung thư. Bằng PCR người ta đã xác định được HPV 16 DNA chiếm khoảng 26% LSIL, nhưng có tới 63% SCC (squamous cell carcinoma) cổ tử cung. HPV18 là type phổ biến thứ 2 có liên quan tới căn bệnh này (gây nên 10-14% tất cả các trường hợp SCC cổ tử cung), nhưng là type HPV chủ yếu liên quan tới adenocarcinoma cổ tử cung với tỷ lệ 37-40% (HPV16 gây 26-37% tất cả các trường hợp như vậy). Sự phổ biến của việc thâm nhiễm các HPV nguy cơ cao ở những thanh nữ (trung bình 25 tuổi) thường vào khoảng 20-40%, tùy thuộc vào vị trí địa lý và tỷ lệ mắc bệnh khi mà các thâm nhiễm không được giải quyết hoặc không được kiểm soát bởi hệ thống miễn dịch của vật chủ. Thâm nhiễm HPV rất phổ biến trong

nhóm tuổi này, tỷ lệ thâm nhiễm trên 5 năm lên đến 60% trong một số quần thể. Hầu hết phụ nữ (80%) đều thâm nhiễm một type HPV đặc biệt, tuy nhiên không có biểu lộ gì về type này sau 18 tháng và nói chung thì người ta cho rằng việc thâm nhiễm lại với cùng một type HPV là không phổ biến. Sự phát triển của UTCTC thường ở những phụ nữ không điều trị thâm nhiễm cũng như ở những người bị thâm nhiễm kích hoạt dai dẳng trong nhiều năm, có khi hàng chục năm sau lần phơi nhiễm đầu tiên. Ở những phụ nữ này có sự kích thích liên tục phase S và tăng sinh TB do E7, cùng với việc mất con đường sửa chữa DNA qua trung gian p53- kết quả của sự biểu hiện E6, cho phép tích lũy các đột biến điểm thứ cấp trong hệ gen TB mà cuối cùng là dẫn đến ung thư. Những công trình trước đây ở một số phòng thí nghiệm đã chứng minh được rằng, không phải tất cả các UTCTC đều phát triển thông qua con đường này, tuy nhiên trong một số trường hợp thì sự khởi phát nhanh của HSIL có thể nảy sinh sau lần thâm nhiễm đầu tiên. Người ta cũng đã xác định được tỷ lệ thâm nhiễm các type HPV sinh dục trong một quần thể nói chung (khoảng 80%), nhưng tỷ lệ UTCTC cũng rất thấp chỉ khoảng 0,03% (trong điều kiện mà chưa sàng lọc được hầu hết các thâm nhiễm đã được xử lý thành công).

Các tổn thương cổ tử cung mức độ thấp (LSIL hoặc CIN độ 1) do các type HPV nguy cơ cao và thấp cũng tương tự như các thâm nhiễm sinh sản trong các mẫu biểu hiện gen virus và các protein áo virus thường có thể phát hiện được trong các TB ở bề mặt biểu mô (Hình 22.5). Các tổn thương mức độ cao (HSIL hoặc CIN độ 2 hoặc 3) có phase tăng sinh mở rộng hơn, các giai đoạn sinh sản của chu kỳ sống virus chỉ được trợ giúp nghèo nàn (Hình 22.5 và 22. 6). Các khảo sát cho thấy khoảng 20% CIN1 sẽ tiến triển thành CIN2 và khoảng 30% những tổn thương này sẽ tiến triển thành các ung thư nếu không được điều trị. Khoảng 40% tổn thương CIN3 có thể tiến tới ung thư, với các UTCTC nói chung đều xuất hiện ở những vùng biến nạp cổ tử cung, nơi mà các TB trụ cổ tử cung trong tiếp xúc với các TB biểu mô vảy thẳng của cổ tử cung ngoài. Mức độ biểu mô cột và biểu mô thẳng trong vùng này thay đổi một cách đáng kể trong cuộc đời của phụ nữ và đây là khu vực mà hầu hết các các UTCTC phát triển. Người ta cho rằng, khu vực biến nạp có thể là các vị trí tối ưu bổ sung để hoàn tất chu kỳ sống sinh sản của các type HPV nguy cơ cao như HPV16. Điều thú vị là, những thâm nhiễm HPV nguy cơ cao có thể phát hiện thấy tại nhiều vị trí trong đường sinh dục ngoài bao gồm âm đạo, âm môn, dương vật. Mặc dầu có sự phân bố như vậy nhưng tỷ lệ mắc ung thư ở những vị trí này nói chung là rất thấp (0,001%), chỉ ở hậu môn nam giới có quan hệ tình dục với nam giới thì tỷ lệ mắc ung thư liên quan đến HPV mới tăng đến mức giống như đã thấy ở cổ tử cung (0,035%) và thật thú vị là ở cả 2 vị trí nhạy cảm này đều có khu vực biến nạp. Trong cổ tử cung các TB bảo tồn (dự trữ sẵn) của khu vực biến nạp cuối cùng hình thành các TB đáy của biểu mô vảy thẳng và với một tần số cao hơn các ung thư tại các vị trí như thế đã phản ánh một sự thật là virus có thể tiến vào được các TB

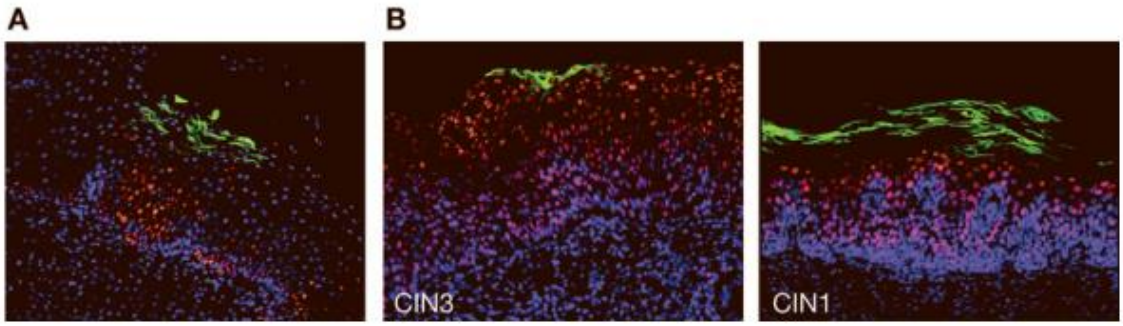
đáy. Mặc dầu có khả năng này, nhưng dường như là khu vực biến nạp trên thực tế đó là vị trí biểu mô mà ở đó các type HPV nguy cơ cao không thể điều hòa một cách đúng đắn chu kỳ sinh sản của chúng và có sự thay đổi cả về mức độ và thời gian biểu hiện của các protein virus, những vấn đề đó được cho là có vai trò quan trọng trong việc phát triển ung thư tại các vị trí này.




**Hình 22.5** *Những thay đổi trong các mẫu biểu hiện đi kèm với ung thư cổ tử cung*

Trong quá trình tiến triển ung thư, mẫu những biến đổi biểu hiện gen virus. Trong CIN1 (LSIL), thứ tự của các sự kiện nói chung là tương tự như các quan sát thấy ở các tổn thương sinh sản (biểu đồ bên trái). Tuy nhiên trong CIN2 và CIN3 thì sự khởi phát của các sự kiện muộn là chậm và mặc dầu thứ tự của các sự kiện vẫn như nhau nhưng việc sản xuất các virion sinh sản sẽ bị hạn chế đôi chút đối với một số ít vùng gần với bề mặt biểu mô. Sự hợp nhất của các trình tự HPV vào trong hệ gen vật chủ có thể đi cùng với những sự thay đổi này và có thể dẫn đến sự mất điều hòa hơn nữa trong biểu hiện của E7 (và mất protein sao chép E2). Trong UTCTC (bên phải), các giai đoạn sinh sản của chu kỳ sống virus không còn được sự trợ giúp và các episome virus thường bị mất.

(Theo Jonh Doorbar. Clinical 110, 525-541, 2006)




**Hình 22.6** *Phát hiện các protein virus trong các ung thư nội biểu mô*

(A) Sự biểu hiện các marker thay thế của E7 (trong trường hợp này là MCM, màu đỏ) và E4 (xanh cỏ non) trong cổ tử cung thâm nhiễm HPV16 cũng giống như mẫu biểu hiện thấy trong các papillomavirs sinh sản do các type papillomavirus khác (Hình 22. 4). Nhân được phản màu với DAP1 (xanh da trời) và mô không bị thâm nhiễm rõ ràng ở 2 bên khu vực thâm nhiễm. (B) Trong quá trình tiến triển ung thư thì sự biểu hiện các marker thay thế của E7 (trong trường hợp này là CMC, màu đỏ) mở rộng tới bề mặt biểu mô và sự biểu hiện của E4 bị giới hạn đối với các pocket cô lập gần các lớp biểu mô trên. CIN3 được thể hiện ở phía bên trái, trong khi đó các mẫu được nhìn thấy ở nhiều tổn thương CIN1 được thể hiện ở phía bên phải. Nhân được phản màu với DAP1 (xanh da trời).

(Theo Jonh Doorbar. Clinical 110, 525-541, 2006)

## 22.4. NHỮNG SỰ KIỆN PHÂN TỬ TRONG QUÁ TRÌNH TIẾN TRIỂN UNG THƯ

Việc xác định các tổn thương cổ tử cung với tư cách là các condylom phẳng, LSIL, HSIL hoặc UTCTC xâm lấn đã phản ánh những thay đổi về mặt phân tử trong chương trình biệt hóa bình thường của biểu mô, xảy ra sau khi thâm nhiễm. Việc sản xuất virus ở bề mặt biểu mô phụ thuộc vào sự biểu hiện một cách trật tự và kịp thời của các sản phẩm gen virus (Hình 22.2), thời gian của các sự kiện như thế dần dần bị xáo trộn trong quá trình tiến triển ung thư (Hình 22. 5 và 22. 6). Trong HSIL, sự khuếch đại hệ gen virus xảy ra ở gần bề mặt biểu mô hơn là trong các condylom và LSIL, đồng thời biểu hiện của các protein áo virus là chậm (Hình 22.5). Cơ sở phân tử của những thay đổi này vẫn chưa được rõ hoàn toàn, nhưng có thể trong một số trường hợp nó phản ánh những thay đổi ở mức biểu hiện E6 và E7, xảy ra sau khi hợp nhất hệ gen virus vào trong NST của vật chủ. DNA của HPV hợp nhất được phát hiện ở hầu hết các ung thư xâm lấn và trong một số tổn thương mức độ cao và cũng thấy trong một số tổn thương CIN1 và người ta cho rằng việc hợp nhất có thể là một sự kiện sớm trong quá trình tiến triển ung thư. Thực sự thì sự biểu hiện của $p16^{INK4A}$ có thể được phát hiện trong một số tổn thương CIN1 cũng như CIN2 và CIN3, điều đó đã chỉ rõ các bằng chứng của sự hợp nhất hệ gen HPV vào trong NST tế bào vật chủ là sự kiện quan trọng trong việc phát triển hầu hết các UTCTC và mặc dầu điều này xảy ra một cách ngẫu nhiên khắp hệ gen, nhưng một số nghiên cứu đã chỉ rõ có sự ưu tiên đối với việc hợp nhất tại các vị trí gãy thông thường và người ta cho rằng những sự thay đổi trong biểu hiện gen ở gần vị trí hợp nhất có thể tham gia vào việc phát triển ung thư. Tuy nhiên, một điều rõ ràng là sự hợp nhất (thường dẫn đến mất E2) có thể dẫn đến mất điều hòa sự biểu hiện của E6/E7, điều này rất quan trọng đối với việc nâng cao các đặc tính tăng trưởng của các tế bào UTCTC. Việc đòi hỏi các gen này để duy trì kiểu hình ung thư đã được chỉ ra bởi các nghiên cứu nhằm ức chế sự hoạt động của các gen ung thư virus trong các tế bào UTCTC. Các dòng tế bào như HeLa và SiH đã được phát triển trong các phòng thí nghiệm nhiều thập kỷ nay sẽ trải qua sự chết TB theo apoptosis với sự có mặt của các phân tử ức chế chức năng của E6. Những kết quả tương tự cũng thu được sau khi đưa E2 trở lại các dòng TB như vậy, nó sẽ kiềm chế sự biểu hiện của các gen ung thư virus do liên kết với URR (upstream regulatory region), ngăn ngừa tiếp tục sự tăng sinh tế bào. Việc duy trì phổ biến vùng E6/E7 của hệ gen virus sau khi hợp nhất vào NST vật chủ thường đi kèm với việc mất đi hoặc gián đoạn các trình tự virus mã hóa cho E1 cũng như E2 và E4. Protein E2 của virus có hiệu ứng âm đối với tăng sinh TB do có sự điều tiết của URR virus, cũng có thể làm dừng chu kỳ TB ở phase G2. Tương tự như vậy, protein E4 của HPV16 cũng có thể ức chế sự phân bào mitosis do ngăn cản sự định vị nhân của cyclinB/Cdk1, vì thế nên không có gì ngạc nhiên là sự biểu hiện của những protein này lại bị bãi bỏ trong các ung thư liên quan đến HPV. Ngoài việc mất các

protein điều hòa thì sự hợp nhất cũng dẫn đến mất các trình tự ở đầu 3' bản sao sớm của virus, gây kiềm chế sản xuất các mẫu mRNA virus E6 và E7, góp phần hơn nữa vào việc làm mất điều hòa sự biểu hiện gen ung thư virus. Mặc dầu DNA của HPV hợp nhất đã phát hiện thấy ở đại đa số các UTCTC, nhưng các yếu tố khác cũng có khả năng gây ảnh hưởng đến sự phát triển của những biến đổi tiền ung thư đã thấy ở các ung thư nội biểu mô vảy. Đó là việc tiếp xúc với các glucocorticoid và progesterone, những chất này có thể ảnh hưởng tới sự biểu hiện gen ung thư virus cũng như điều hòa biểu hiện gen virus do sự methyl hóa DNA và sự tổ chức của chất nhiễm sắc. Cả 2 yếu tố này đều có thể điều hòa sự biểu hiện từ các trình tự hợp nhất, trong trường hợp mà sự hợp nhất lại xảy ra với tư cách là các concatamer thì chỉ một bản sao của hệ gen virus được kích hoạt sao chép. Mặc dù nhiều type HPV có thể thâm nhiễm cổ tử cung nhưng chỉ những type HPV nguy cơ cao thì mới liên quan với UTCTC do hoạt tính đặc hiệu của các gen gây ung thư. Sự biểu hiện gen HPV16 sẽ tạo thuận lợi cho việc hợp nhất DNA ngoại lai vào trong NST tế bào vật chủ, điều đó có thể là hệ quả của việc tăng mức bất ổn định hệ gen trong những protein E7 được mã hóa bởi các type HPV nguy cơ cao, chứ không phải là các protein E7 được mã hóa bởi các type HPV nguy cơ thấp, nó cảm ứng những bất thường của trung thể trong nuôi cấy TB cũng như trong động vật chuyển gen và người ta cho rằng E7 nguy cơ cao tác động với tư cách là chất gây đột biến (mutator) phân bào, nó tác động làm tăng cơ hội sai sót ở mỗi vòng phân chia TB. Mặc dầu cơ sở phân tử của bất ổn định hệ gen qua trung gian E7 vẫn chưa được rõ hoàn toàn, nhưng có khả năng là nó phụ thuộc một phần vào sự liên kết một cách đặc trưng với các protein pocket Rb, p107 và p130. Tuy nhiên, việc liên kết của E7 với các protein này cũng góp phần vào khả năng kích thích tăng sinh TB của E7, các protein E7 nguy cơ cao thì liên kết với Rb hiệu quả hơn là các protein E7 của các type HPV nguy cơ thấp. Các protein E7 nguy cơ cao cũng có khả năng phân giải Rb thông qua cơ chế phụ thuộc proteosome - rất quan trọng đối với sự biến nạp TB qua trung gian E7. Cũng giống như E7, các protein E6 cũng có sự khác nhau về chức năng giữa các type HPV nguy cơ cao và nguy cơ thấp. Một trong số các vấn đề quan trọng nhất này có liên quan đến sự tiến triển ung thư là khả năng của các protein E6 nguy cơ cao đối với việc hình thành phức 3 với p53 và ubiquitin ligase E6AP tế bào (protein liên kết E6), dẫn đến phân giải p53 qua trung gian proteosome. Các protein E6 nguy cơ thấp liên kết p53 với ái lực thấp hơn so với các type nguy cơ cao và khả năng liên kết không cao với E6AP, đồng thời kích thích sự phân giải p53. Mất đáp ứng với sự hủy hoại DNA qua trung gian p53 trong các TB biểu hiện HPV E6 nguy cơ cao sẽ mở đường cho sự tích lũy các biến đổi thứ cấp trong NST tế bào vật chủ mà cuối cùng là dẫn đến ung thư. Các protein E6 nguy cơ cao liên kết và kích thích sự phân giải một số đích TB có chứa motif PDZ như hDIg (human homologue of DIg) và hSrib (human homologue of the *Drosophila* Scribbe protein)

được cho là có liên quan đến việc điều hòa tăng trưởng TB và các sự kiện đính kèm (attachment). Liên kết PDZ là đặc tính bảo tồn của các protein E6 nguy cơ cao và người ta cho rằng mất sự tiếp xúc TB-TB qua trung gian các khớp nối khít (tight junction) có thể góp phần làm mất tính phân cực của TB như đã thấy trong các UTCTC liên quan đến HPV. Trong liên kết PDZ có sự khác nhau về khả năng của E6 đối với việc liên kết và phân giải p53 – rất quan trọng đối với biến nạp TB và đã chứng minh được rằng là cần thiết cho việc kích thích tăng sản trong các động vật chuyển gen. Chức năng quan trọng khác đối với E6 nguy cơ cao là khả năng của nó với việc kích hoạt tiểu đơn vị xúc tác của telomerase [hTERT (human telomerase reverse transcriptase)]- lắp thêm các lặp của hexamer vào đuôi telomere của NST. Hoạt tính của telomerase thường không có ở các TB soma do đó dẫn đến sự ngắn lại dần của telomere sau mỗi lần phân chia TB thành công và cuối cùng đi đến lão hóa TB. Mặc dầu cơ chế chính xác mà theo đó E6 làm trung gian kích hoạt hTERT vẫn chưa được rõ, nhưng rõ ràng là sự hoạt động như thế có thể mở đường cho sự thâm nhiễm dài hạn và phát tiển ung thư. Điều thú vị là, những công trình gần đây đã chứng minh rằng gen gây ung thư virus E6 và E7 có thể đối kháng với việc ức chế qua trung gian BRCA của promoter hTERT.

Mặc dầu sự biểu hiện bất thường của các gen gây ung thư nguy cơ cao có thể mở đường cho sự phát triển UTCTC, nhưng chỉ đơn lẻ với sự biểu hiện của chúng thì vẫn chưa đủ và các protein virus cũng không thể biến nạp hoàn toàn các TB tạo sừng trong nuôi cấy. Nói chung đều phải chấp nhận rằng, sự sinh ung thư qua trung gian papillomavirus đòi hỏi phải có sự tích lũy các biến đổi di truyền phụ xảy ra theo thời gian sau thâm nhiễm đầu tiên. Độ tuổi trung bình của phụ nữ bị UTCTC xâm lấn là khoảng 50, trong khi đó độ tuổi của phụ nữ có HSIL vào khoảng 28, điều đó cho thấy trong hầu hết các trường hợp thì trạng thái tiền ung thư kéo dài đã cho phép tích lũy các các biến đổi di truyền thứ cấp. Mặc dầu những biến đổi di truyền thứ cấp có thể xảy ra một cách ngẫu nhiên, nhưng sự hiện diện của các chất chuyển hóa khói thuốc lá có trong dịch tiết cổ tử cung cũng được coi như là một yếu tố nguy cơ phát triển UTCTC, các chất sinh ung thư có trong khói thuốc lá đã được phát hiện với mức cao hơn trong dịch tiết cổ tử cung của những phụ nữ hút thuốc lá. Tính đa tương đồng và việc sử dụng dài hạn các thuốc tránh thai cũng liên quan đến tăng các nguy cơ ung thư.

## 22.5. SỰ THOÁI LUI, TÌNH TRẠNG NGỦ VÀ THÂM NHIỄM KHÔNG TRIỆU CHỨNG

Trái với những hiểu biết về các ung thư liên quan đến HPV, kiến thức của chúng ta về các sự kiện phân tử điều hòa sự phát triển của các thâm nhiễm ở trạng thái ngủ và/hoặc không triệu chứng cũng còn rất hạn chế. Các thâm nhiễm thực nghiệm với việc sử dụng các papillomavirus động vật như ROPV hoặc COPV dẫn đến phát triển các tổn

thương tồn tại nhiều tháng. Sự thấm nhập của các TB lympho và sự thoái lui của các tổn thương xảy ra vào giữa tuần thứ 8 đến tuần 12 sau thâm nhiễm và đến tuần 16 thì các vị trí thâm nhiễm lại xuất hiện biểu mô không thâm nhiễm. Mẫu các sự kiện tương tự cũng xảy ra ở gia súc và sự thoái lui của các tổn thương cảm ứng bởi HPV trên người cũng được cho là giống như con đường này. Hệ thống miễn dịch rõ ràng là rất quan trọng trong việc kiểm soát sự thoái lui của virus, và với những bệnh nhân có khiếm khuyết về miễn dịch thì có thể phát triển các tổn thương một cách rộng rãi, tức là "trơ" với việc điều trị. Mặc dầu các đáp ứng miễn dịch liên quan đến việc tiêu trừ các thâm nhiễm HPV phải được đánh giá ở mức độ sâu hơn, nhưng đáng chú ý là Alpha papillomavirus (và đặc biệt là các HPV liên quan đến UTCTC) có thể gây nên các thâm nhiễm dai dẳng, điều đó đã tạo dựng một số cơ chế làm hạn chế các cơ hội phát hiện qua hệ thống miễn dịch. Trong số các cơ chế này là điều hòa sự biểu hiện E-cadherin và mật độ tế bào Langerhan bởi E6, can thiệp với sự trình diện của MHC bởi E5 và can thiệp với chức năng của các yếu tố đáp ứng interferon 3 bởi E7. Có lẽ là chúng đều quan trọng như nhau, tuy nhiên có một sự thật là các papillomavirus lại không gây nên các thâm nhiễm ly giải (lytic), còn với các hạt thâm nhiễm chỉ được sản xuất trên các các TB lớp biểu mô trên thì cũng biến mất khỏi bề mặt biểu mô ở cuối đời của chúng. Các protein sớm của virus làm trung gian cho sự tăng sinh TB ở các lớp biểu mô dưới được cho là biểu hiện ở mức thấp hơn với mức đòi hỏi để thúc đẩy thật sự đáp ứng miễn dịch của vật chủ. Khi điều này xảy ra thì sự kích thích miễn dịch rõ ràng là phụ thuộc vào sự nối chéo (cross-priming) của TB dendritic do sự biểu hiện các kháng nguyên virus trong các TB tạo sừng. Thường phát hiện thấy DNA của HPV trong các tổn thương cổ tử cung không mắc bất kỳ bệnh nào rõ ràng thì đó có thể là đại diện cho sự thâm nhiễm tiếm ẩn, trong đó hệ gen virus vẫn được duy trì ở lớp đáy mà không phát hiện thấy có sự thâm nhiễm sinh sản. Giám sát miễn dịch được cho là rất quan trọng đối với vấn đề này vì các tổn thương sẽ tăng nhanh sau khi kiềm chế miễn dịch, nhưng đây không phải là cách duy nhất để duy trì trạng thái ngủ của virus. Những công trình gần đây đã chứng minh rằng, việc sản sinh ra các thâm nhiễm không triệu chứng, trong đó DNA virus có thể được phát hiện khi vắng mặt bất kỳ dấu hiệu bệnh lý bất thường nào, điều đó có thể là hệ quả bình thường của sự thâm nhiễm trong một số tình huống và nó có thể là do sự yên lặng biểu hiện gen virus do cường methyl hóa. Sự thâm nhiễm tiềm ẩn được cho là cần thiết cho việc biểu hiện các protein E1 và E2 của virus cần để duy trì hệ gen ở lớp đáy mà không đòi hỏi các gen E6 và E7.

***TÓM TẮT***

*HPV (human papillomavirus) thâm nhiễm vào các TB biểu mô và gây các tổn thương khác nhau từ mụn cóc thông thường tới ung thư cổ tử cung. Cho tới nay trên 100 dạng (type) HPV khác nhau đã được xác định, một số nhỏ trong số này được xếp loại là nguy cơ cao. DNA HPV nguy cơ cao phát hiện thấy ở hầu hết các ung thư cổ tử cung ( >97%), phổ biến nhất là HPV6 ở cả bệnh mức độ thấp và ung thư cổ tử cung (UTCTC). Thâm nhiễm do các dạng HPV nguy cơ cao biểu hiện như các mụn cóc phẳng ở cổ tử cung hoặc các condylom do các virion thâm nhiễm trút xuống từ bề mặt của chúng. Các hệ gen virus vẫn duy trì với tư cách là các episome ở lớp đáy (cơ bản) mà sự biểu hiện gen virus được kiểm soát chặt chẽ khi những TB thâm nhiễm di chuyển về phía bề mặt biểu mô. Mẫu biểu hiện gen trong tổn thương mức độ thấp như là các mụn cóc luôn sinh sôi nảy nở do các type HPV khác. Ung thư mức độ cao đại diện chủ yếu cho sự thâm nhiễm trong đó việc biểu hiện gen virus trở nên mất điều hòa và chu kỳ sống bình thường của virus không thể hoàn chỉnh. Hầu hết các UTCTC đều nảy sinh trong vùng biến nạp tại nơi giao nhau giữa TB vảy/trụ cổ tử cung và người ta cho rằng đây là vị trí mà sự thâm nhiễm được sự hỗ trợ một cách hữu hiệu. Các protein nguy cơ cao E6 và E7 điều khiển sự tăng sinh TB thông qua việc liên kết của chúng với protein domain PDZ, Rb (retinoblastoma) và góp phần vào sự tiến triển của ung thư, trong khi đó việc phân giải p53 qua trung gian E6 sẽ ngăn cản sự sửa chữa bình thường các đột biến cơ hội trong hệ gen của chúng. Các ung thư thường nảy sinh khi thất bại với việc giải quyết thâm nhiễm và có biểu hiện gen ung thư nhiều năm. Trong hầu hết các cá thể có sự thoái bộ miễn dịch thì cuối cùng sẽ dẫn đến việc giải phóng virus hoặc giữ nó ở trạng thái tiềm ẩn hay không triệu chứng trong các TB đáy.*

# CHƯƠNG XXIII: UNG THƯ BUỒNG TRỨNG

Tuổi tác, di truyền và hormone (khởi phát sớm các chu kỳ kinh nguyệt, chu kỳ rụng trứng cao, tắt kinh muộn, không sinh đẻ, viêm nội mạc tử cung), các yếu tố môi trường (chế độ ăn, béo phì, hút thuốc lá, virus), vùng miền địa lý, chủng tộc và những và những khác biệt về nhân chủng (tương quan sự thừa kế di truyền), là tất cả các yếu tố liên quan đến sự phát triển ung thư buồng trứng (UTBT). Chỉ có 5-10% UTBT là do di truyền. Trong ngữ cảnh này thì CA-125 chưa đủ tư cách là một đấu ấn sinh học (biomarker) đơn cho việc chẩn đoán UTBT. Nguyên nhân UTBT có rất nhiều, việc xác định và xác nhận một biomarker đặc hiệu đơn dường như có xác suất rất thấp.

## 23.1. NHỮNG CON ĐƯỜNG TÍN HIỆU CỦA UTBT

Những con đường tín hiệu nội bào chủ yếu đều liên quan đến sự phát triển tế bào UTBT (OVC). Tìm hiểu các cơ chế ác tính và sự biến nạp của các TB buồng trứng thành UTBT biểu mô được xem như là con đường để xác định các biomarker UTBT đặc hiệu. Các nghiên cứu di truyền đã phản ánh rằng các đa hình UTBT rất không ổn định. Trên thực tế, sự khuếch đại gen, đột biến, cường methyl hóa và rất nhiều sự xóa bỏ NST phát hiện được trong các UTBT đều hướng vào việc xác định một số thể loại chính các gen liên quan đến sự phát triển UTBT như các gen KCKU và gen sinh ung thư (Bảng 23.1). Như vậy, những gen này liên quan một cách trực tiếp đến con đường tín hiệu tế bào, giữ vai trò trung tâm trong việc tăng sinh, sống sót, xâm lấn và di căn của các tế bào ung thư. Phát hiện về "chuỗi bản đồ" (circuit map) các con đường này trong UTBT dường như là một thách thức tốt cho việc phát hiện các chiến lược trị liệu mới. Theo như các tài liệu thì các con đường liên quan UTBT là: enhancer chuỗi nhẹ kappa yếu tố nhân của con đường (NF-κB) tế bào B kích hoạt, yếu tố hoạt hóa (activator) của con đường sao chép transcription 3 (Jak-STAT), con đường Src protein tyrosine kinase tiền ung thư, con đường hoạt hóa ErbB, con đường lysophosphatidic acid (LPA), con đường phosphatidylinositol 3- kinase (PI3K), con đường receptor ức chế Mullerian, con đường EGF và VGEF cũng như con đường beta ER.

### 23.1.1. Con đường enhancer chuỗi nhẹ kappa yếu tố nhân của các tế bào B kích hoạt

Có một mối tương quan đã được chứng minh giữa việc kích hoạt enhancer chuỗi nhẹ kappa yếu tố nhân của các tế bào B kích hoạt (NK-κB) và các tư liệu lâm sàng của UTBT cho thấy, sự biểu hiện của NK-κB p65 trong các khối u UTBT chủ yếu là ở nhân

và các mức của chúng tương quan với sự biệt hóa nghèo nàn và giai đoạn FIGO muộn. Những bệnh nhân dương tính với bắt màu tiểu đơn vị NK-κB p65 thì tỷ lệ sống sót tích lũy thấp hơn và sự sống sót trung bình cũng thấp hơn (tuần tự là 20% và 24 tháng) so với những bệnh nhân âm tính (46,2% và 39 tháng). Gần đây microRNA -9 (miR -9) đã được chứng minh là điều hòa xuống các mức NK-κB. Tuy nhiên, những kết quả từ microarray biểu hiện gen khi sử dụng các chất ức chế phân tử nhỏ IKKβ đặc hiệu ML120 hoặc IKKβ siRNA làm giảm sự biểu hiện của IKKβ đã chỉ rõ rằng, con đường IKKβ-NK-κB kiểm soát các gen liên quan đến sự tăng sinh tế bào UTBT, sự kết dính, sự xâm lấn, sự tạo mạch cũng như tạo nên vi môi trường tiền viêm nhiễm. Các protein họ NK-κB có liên quan với các con đường tín hiệu điều khiển sự phát triển và tiến triển của khối u do kích hoạt các gen kháng apoptosis. Chúng cũng kích hoạt các gen liên quan đến sự tiến triển của chu kỳ tế bào và sự tiết của yếu tố hoại tử khối u (TNF)α, interleukin (IL-6), các hormone tăng trưởng. Tuy nhiên, NK-κB cũng điều tiết các gen nhằm thúc đẩy môi trường tiền tạo mạch thông qua việc gia tăng sản xuất IL-8 và yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu cũng như tạo nên một vi môi trường có thể ngăn ngừa được sự kiểm soát miễn dịch.

***Bảng 23.1*** *Sự đa hình của ung thư buồng trứng OVC*

| Phân loại gen | *Các gen kiềm chế khối u* | | *Các gen gây ung thư* | |
|---|---|---|---|---|
| | ARH1, RASSF1A, DLEC1, SPARC, DAB2, PLAGL1 | | RAB25, EVI1, EIF5A2, PRKC1, PIK3CA | |
| | RPS6KA2, PTEN, OPCML, BRCA2, ARL11, WWOX | | MYC, EGFR, NOTCH3, KRAS, ERBB2 | |
| | TP53, DPH1, BRCA1, PEG3 | | PIK3R1, CCNE1, AURKA | |
| Điều biến gen | *Khuếch đại* | *Đột biến* | *Cường methyl hóa* | *Xóa bỏ* |
| Kích hoạt | RASB2, PRKC1, EVI1 | KRAS, BRAF, CITNNB1 | IGF2, STAT2 | |
| | PIK3CA, FGF1, MYC | CDKN2A, APC, PIK3CA | | |
| | PIK3R1, AKT2, AURKA | KIT, SMAD4 | | |
| Xóa bỏ | | BRCA1, BRCA2, | MUC2, PEG3, MLH1 | BRCA1, BRCA2 |
| | | PTEN, TP53 | ICAM1, PLAGL1 | TP53, PEG3 |
| | | | ARH1 | PLAGL1, ARH1 |

### 23.1.2. Con đường protein kinase kích hoạt phân bào (MAPK)

Những công trình trước đây đã chứng minh rằng, con đường MAPK được kích hoạt ở UTBT. Sự điều hòa xuống của CL100-một phosphatase đặc hiệu kép nội sinh được biết là ức chế MAPK giữ vai trò quan trọng trong sự tiến triển UTBT người do con đường MAPK được thúc đẩy. Các tế bào biểu mô UTBT biểu lộ hoạt tính C100 thấp hơn 10-25 lần so với các TB biểu mô buồng trứng bình thường. Chất ức chế PD98059 của MEK nhạy cảm với các dòng tế bào UTBT được xử lý với cisplatin. Sự điều hòa lên CL100 trong các tế bào ung thư buồng trứng sẽ làm giảm sự kết dính và tăng trưởng TB không kết dính cũng như cảm ứng những thay đổi kiểu hình, bao gồm mất filopodia (các mảnh tế bào chất dư) và lamellipodia (protein actin khung tế bào) liên quan đến giảm tính di động tế bào. Do đó, sự phát triển của các chất ức chế con đường MAPK hiện đang có cơ hội phát triển.

### 23.1.3. Con đường kích hoạt ErbB

Sự biểu hiện của protein c-erbB-2 ở các khối u đã được báo cáo chiếm khoảng 25% các bệnh nhân UTBT biểu mô. Phân tích đa biến cho thấy, sự biểu hiện quá mức của c-erbB-2 và các khối u vẫn còn đường kính lớn hơn 2cm thì tỷ lệ sống sót sẽ giảm.

### 23.1.4. Con đường receptor chất ức chế Mullerian

Hormone kháng Mullerian (AMH) là thành viên của họ các yếu tố tăng trưởng biến nạp β (TGF-β). Khi vắng mặt AMH, các ống Mullerian của cả 2 giới đều phát triển thành tử cung, vòi trứng và phần trên của âm đạo. AMH cũng phát huy tác dụng ức chế đối với sự biệt hóa và sự sản sinh steroid của buồng trứng chưa trưởng thành, nang của buồng trứng trưởng thành cũng như các tế bào phôi thai và tế bào Leydig sau khi sinh. Các đích tác động khác của AMH bao gồm các tế bào vú, tuyến tiền liệt, buồng trứng và các tế bào ung thư tử cung.

### 23.1.5. Con đường tín hiệu acid lysophosphatidic

Acid lysophosphatidic (LPA) được sản sinh thông qua việc thủy phân lysophospatidyl choline bởi lysophospholipase D/autotaxin hoặc qua sự thủy phân acid lysophosphatidic bởi phospholipase A2 hoặc A1. LPA là ligand của ít nhất 4 receptor gắn protein G vận chuyển màng xoắn hepta (heptahelical) khác nhau (GPCR, LPA1/gen biệt hóa biểu mô (Edg)2, LPA2/Edg4, LPA3/Edg7 và LPA4/GPR23/P2Y9 làm kích hoạt ít nhất 3 tiểu họ protein G riêng biệt (G9, Gi, G12/13) và khởi đầu nhiều con đường tín hiệu bao gồm: Ras/Raf/mitogen-activated protein kinase, phosphoinositide 3-kinase/Akt, phosholipase C/ protein kinase C hoặc tín hiệu RhoA small GTPase. Việc kích hoạt các protein G này sẽ kích thích sự giải phóng metalloprotease bề mặt tế bào

như họ ADAM, cảm ứng sự phân cắt cuối cùng của các tiền thân ligand giống EGF và họ EGFR (HER/erbB). Quá trình kích hoạt (transactivation) dường như liên quan đến nhiều con đường tín hiệu, ví dụ như MAPK (p38 và p44/42), protein kinase C hoặc c-Src. LPA cảm ứng tăng sinh TB, sự sống sót, kháng thuốc, sự xâm lấn, mở các khớp nối khít nội bào và kết thúc các khớp nối gián đoạn, sự di cư TB hoặc sự di căn.

### 23.1.6. Con đường phosphatidylinositol 3-kinase

Con đường phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/AKT là thành phần quan trọng đối với sự sống sót của TB và nó có ảnh hưởng đến tính di động, sự kết dính của tế bào UTBT, đồng thời cũng đóng góp vào kiểu hình di căn/xâm lấn của các TB ung thư khác nhau. PI3K cũng được báo cáo là có liên quan đến sự tăng trưởng và biến nạp. Các hiệu ứng của nó có liên quan gián tiếp hay trực tiếp đến mất điều hòa con đường tín hiệu của nó và gây nên sự tiến triển chu kỳ TB một cách bất thường và biến nạp các TB bình thường thành các TB khối u. Do cường kích hoạt con đường PI3K/Akt ở nhiều ung thư và do vai trò đa phương diện của nó đối với sự tiến triển ung thư nên việc ức chế con đường tín hiệu PI3K/Akt đã được xem xét như là một cách điều trị ung thư. Bằng chứng của khái niệm dựa trên việc mất chức năng type II của inositol polyphosphate 4 - phosphatase (INPP4B) từ con đường PI3K/Akt với tư cách là một chất kiềm chế khối u. Đáng chú ý là mất INPP4B trong ung thư buồng trứng lại tương quan với kết quả thấp của bệnh nhân.

### 23.1.7. Con đường receptor estrogen

Tác động phân bào của estrogen dường như là rất quan trọng đối với nguyên nhân cũng như sự tiến triển của các ung thư phụ khoa của người. Estrogen ảnh hưởng đến sự tăng trưởng, biệt hóa và chức năng của mô sinh sản do sự tương tác với các receptor của chúng, trung gian cho các con đường tín hiệu khác nhau liên quan đến nguy cơ UTBT. Các receptor estrogen tồn tại dưới 2 dạng, estrogen receptor alpha (ERα) và estrogen receptor beta (ERβ) - đó là các receptor nổi trội trong buồng chứng. Các nghiên cứu *in vivo* và *in vitro* đã chứng minh rằng, Erβ liên quan đến việc kiểm soát tăng sinh, sự di động và apoptosis của TB trong các UTBT và việc mất biểu hiện ERβ có liên quan đến sự tiến triển cuat khối u.

Các nghiên cứu trên đã vạch rõ rằng, tất cả các con đường tín hiệu này đều có liên quan đến sự biệt hóa tế bào UTBT, sự vận động và apoptosis của TB và liên quan một cách trực tiếp với các gen KCKU cũng như các gen sinh ung thư của UTBT (Bảng 23.1). Hiện tại đã rõ ràng là việc thiết lập mối liên quan giữa những con đường tín hiệu này và các protein đặc hiệu với các tế bào UTBT đã được xác định bằng các nghiên cứu proteomic cổ điển hoặc bằng phương pháp hình ảnh khối phổ (MSI) giống như các phương pháp trước đây đã được áp dụng.

## 23.2. NGHIÊN CỨU VỀ PROTEOMIC

Từ những thập kỷ trước các nghiên cứu về proteomic đã được sử dụng một cách rộng rãi để xác định những protein chủ chốt liên quan đến các quá trình UTBT khác nhau. Nhờ việc sử dụng những công nghệ mới này nên nhiều tác giả đã xác định được bảng danh sách các biomarker và thử nghiệm chúng cho việc sàng lọc các giai đoạn sớm của bệnh. Các biomarker đã được xác định trong huyết thanh hoặc mô nhờ sử dụng chip SELDI. Từ phương pháp này, một biomarker là chuỗi alpha của haptoglobulin đã được xác định và phát hiện thấy với mức cao trong các mẫu lấy từ các bệnh nhân UTBT. Sau đó, một mẫu protein đã được xác định bởi Yu và cộng sự với độ đặc hiệu 96,7%, độ nhạy 96,7% và giá trị dương tính tiên đoán là 96,7%. Một nhóm nghiên cứu khác báo cáo đã sử dụng các marker sau đây: transthyretin, beta-hemoglobin, apoprotein A1 và khi sử dụng cùng với A 125 đã phát hiện 0,959 ROC cho sự phát hiện UTBT, khi sử dụng CA 125 đơn lẻ là 0,613. Hai nghiên cứu proteomic cổ điển tách biệt năm 2006 và 2008 với việc sử dụng sắc ký lỏng để phân tách sau công đoạn MS (LC-MS) đã chỉ rõ rằng, MS carcinoma buồng trứng giai đoạn sớm và muộn có thể được phân biệt nhờ việc sử dụng cách phân tích cụm để tách biệt các tư liệu dựa trên sự tương tự về đặc tính. Trong trường hợp này là khối lượng protein tương tự (similar protein masses). Những nghiên cứu này đã chứng minh rằng proteomic "cổ điển" có thể tạo được các vân tay phân tử của bệnh. Tuy nhiên, bất lợi của phương pháp này là làm mất sự phân biệt phân tử của các dưới type của mô về phương diện giải phẫu. Hiệu ứng này có thể thấy được trong các carcinoma dị hợp, ở đó các yếu tố cấu trúc khác nhau biểu hiện các proteome đặc hiệu. Chụp laser vi phẫu (LCM) là một trong số các kỹ thuật được sử dụng để giải quyết vấn đề này, nhưng bất tiện của phương pháp này là tốn thời gian và dựa trên kiểu hình TB chứ không phải là dựa vào ngữ cảnh phân tử của TB. Hình ảnh khối phổ MALDI (MSI) bắt kịp sự định vị không gian của các marker và phân biệt các TB theo các ngữ cảnh TB của nó. Nhờ sử dụng kỹ thuật này nên người ta có thể phân biệt được một số biomarker mới trong UTBT (Hình 23.3), ví dụ như đoạn cuối C của immunoprotease 11S, Reg alpha hoặc mucin 9. Năm 2010 nhóm của Hoffimann đã xác định được 67 protein nhờ sử dụng phương pháp này với các mẫu vùi parafin cố định với formalin (FFPE) của mô buồng trứng. Nói tóm gọn, các nghiên cứu về proteomic đã được thực hiện ở mức huyết thanh, dịch cổ trướng (ascites) và mô, tất cả đều chứng minh một cách rõ ràng sự hiện diện của các protein liên quan đến việc kích hoạt con đường tín hiệu nội bào, ví dụ như các protein liên quan đến sự tăng trưởng TB, truyền tín hiệu tới khung TB, sự xâm lấn, sự đề kháng (Bảng 23.2).

***Bảng 23.2*** *Các biomarker được xác định bằng genomic, proteomic cổ điển hoặc bằng MSI*

| Tên marker | Genomic | Proteomic | Hình ảnh khối phổ MALDI |
|---|---|---|---|
| Mesothelin-MUC16 | [192] | | |
| STAT3 | [192] | | |
| LPAAT-β (lysophosphatidic acid transferse beta) | [193] | | |
| Inhibin | [194] | | |
| Họ Kallikrein (9, 11, 13, 14) | [195] | | [67] |
| Tu M2-PK | [196] | | |
| c-MET | [197-199] | | |
| MMP-2, MMP-9, MTI-MMP: metalloproteinase gian bào | [158, 200, 201] | | [67] |
| EphA2 | [202-204] | | |
| PDEF (yếu tố Ets từ tuyến tiền liệt) | [116, 205] | | |
| IL-13 | [177] | | |
| MIF (yếu tố ức chế đại TB) | [116, 205] | | |
| NGAL (lipopcalin gắn kết gelatinase bạch cầu trung tính) | [206] | | [67] |
| CD46 | [207-209] | | |
| RCAS 1 (kháng nguyên ung thư gắn receptor biểu hiện trên các TB SiSio | [117, 210] | | |
| Annexin 3 | [211] | | |
| Destrin | [212, 213] | | |
| Cofilin-1 | | [214] | |
| GSTOI-1 | | [212, 213] | |
| IDHe | | [212, 213] | |
| Protein liên kết PK506 | | [215] | |
| Leptin | | [216, 217] | |
| Osteopontin | | [211] | |

| Tên marker | Genomic | Proteomic | Hình ảnh khối phổ MALDI |
|---|---|---|---|
| Yếu tố tăng trưởng giống in insulin | | [218] | |
| Prolactin | | [219] | |
| Protein điều hòa glucose 78 kDa | | [220] | |
| Calreticulin | | [220] | |
| Protein ERp29 lưới nội chất | | [220] | |
| Protein ERp29 lưới nội chất | | [220] | |
| Endoplasmin | | [220] | |
| Protein disulfideisomerase A3 | | [220] | |
| Actin, cytoplasmic 1 | | [220] | |
| Actin, cytoplasmic 2 | | [220] | |
| Protein mũ đại thực bào | | [220] | |
| Chuỗi 3 alpha, chuỗi 4 alpha tropomyosin | | [220] | |
| Vimentin | | [220] | [67] |
| Collagen alpha | | [220] | |
| Chuỗi 1(VI) gốc dihydrolipoyllysine | | [220] | |
| Thành phần succinyltransferase của 2-oxoglutarate Dehydrogenase | | [220] | |
| Pyruvate | | [220] | |
| Thành phần beta của dehydrogenase E1 | | [220] | |
| Superoxide dismutase [Cu-Zn] | | [220] | |
| Homologue 5 của protein Chromobox | | | |
| Lamin B1, B2 | | [220] | |
| Protein 14-3-3 | | [220] | |
| Cathepsin B | | [220] | |
| Ribonucleoprotein K nhân dị loại | | [220] | |
| Nucleophosmin | | [220] | |
| Peroxiredoxin 2 | | [220] | |
| Prohibitin | | [220] | |
| Receptor protein kinase erbB-3 | | [220] | |
| Chuỗi gamma của fibrinogen | | [220] | |

| Tên marker | Genomic | Proteomic | Hình ảnh khối phổ MALDI |
|---|---|---|---|
| Yếu tố ghép nối, arginine/giầu serine 5 | | [220] | |
| Yếu tố kéo dài 1-beta | | [220] | |
| Protein bảo vệ lysosome | | [220] | |
| Tiểu đơn vị beta của hemoglobin | | [220] | |
| ATPase lưới nội chất chuyển tiếp | | [220] | |
| Albumin huyết thanh | | [220] | |
| Protein KIAA0586 | | [220] | |
| Tương tự như biểu hiện trình tự 13A tinh hoàn | | [220] | |
| Protein SNRPF | | [220] | |
| Chuỗi gamma của fibrinogen | | [220] | |
| Protein sốc nhiệt 70 kDa | | [220] | |
| Ribonucleoprotein K nhân dị loại | | [220] | |
| Keratin type I khung TB, 7,9, 18, 19 ? | | [220] | |
| Adenylosuccinate lyase | | [220] | |
| Peroxiredoxin 2 | | [220] | |
| Glutathion S-transferase P | | [220] | |
| Protein Rab-7 liên quan với Ras | | [220] | |
| Protein khồi u D54 | | [220] | |
| Chất ức chế phân rã GDP, Rho | | [220] | |
| Annexin A2 | | [220] | |
| Chuỗi beta của ATP synthase | | [220] | |
| Ribonucleoprotein A/B nhân dị loại | | [220] | |
| Đoạn 11S của yếu tố hoạt hóa immunoprotease | | | [62] |
| Mucin 9 | | | [67] |
| Tetranetic | | | [67] |
| Yếu tố hoạt hóa plasminogen của urokinase | | | [67] |
| Orosomucoid | | | [67] |
| S100-A2 | | | [67] |
| S100-A11 | | | [67] |
| Apolipoprotein A1 | | | [67] |

| Tên marker | Genomic | Proteomic | Hình ảnh khối phổ MALDI |
|---|---|---|---|
| Transgelin | | | [67] |
| Prolargin | | | [67] |
| Tiền thân murican | | | [67] |
| Siderophilin | | | [67] |
| Alpha 1 antiprotease | | | [67] |
| Protein liên kết Phosphatidyl ethanolamin | | | [67] |
| Hemopexin | | | [67] |
| Profilin -1 | | | [67] |
| HLA G | | | [1] |
| Hormone gonadotropin màng đệm | | | [1] |

### 23.2.1. Những protein liên quan đến tăng sinh tế bào

Họ protein S100 đã được phát hiện trước đây trong các khối u buồng trứng và đặc biệt hơn là các protein S100 A11 và S100 A12 đã được xác định bằng MALDI-MSI. S100 A11 được phát hiện trong dịch buồng trứng và protein này (calgizzarin) được biết đến là để điều hòa tăng trưởng TB thông qua việc ức chế tổng hợp DNA. S100 A12 được biết đến là để thúc đẩy sự di cư của bạch cầu trong đáp ứng viêm mạn tính. Sự biểu hiện của glycoprotein đặc hiệu noãn quản (OGP, Mucin 9), một marker của biểu mô noãn quản bình thường đã được báo cáo là có liên kết với các protein S100 và các protein sửa đổi khung TB. Những dẫn liệu ủng hộ là của Woo, liên quan đến người đã phát hiện ra OGP là một marker biệt hóa ống dẫn trứng và có thể được chỉ định là các sự kiện sớm của sinh ung thư buồng trứng. Những số liệu này cũng ủng hộ cho giả thuyết mới được báo cáo gần đây về ascini ống dẫn trứng được xem như là nguồn gốc của carcinoma buồng trứng. Với các thành phần miễn dịch thì các yếu tố bắt nguồn từ TB đệm 1 (SDF-1) gây cảm ứng tăng sinh trong UTBT do gia tăng phosphoryl hóa cũng như kích hoạt các kianse điều hòa tín hiệu ngoại bào (ERK)1/2, tương quan với sự kích hoạt [transactivation] receptor EGF yếu tố tăng trưởng bì. Tương tự như vậy, TGF-β được sản xuất bởi các tế bào Treg, kích thích sự tăng sinh của các TB khối u, tăng sản xuất metalloproteinase gian bào (MMP) và nâng cao sự xâm lấn của các tế bào UTBT. Trong UTBT thì IL-7 cũng phát hiện thấy trong các dịch tiết và huyết tương, nó tác động như là một yếu tố tăng trưởng giống như trong ung thư vú. Các pDc cũng hiện diện trong môi trường khối u và kích thích tăng trưởng khối u do giải phóng TNF-α và IL-8. Tất cả các số liệu này đã phản ánh rằng các cytokine phát huy hiệu quả đa hình trong UTBT cũng như vai trò chủ chốt trong tăng sinh khối u.

### 23.2.2. Tín hiệu tới khung tế bào

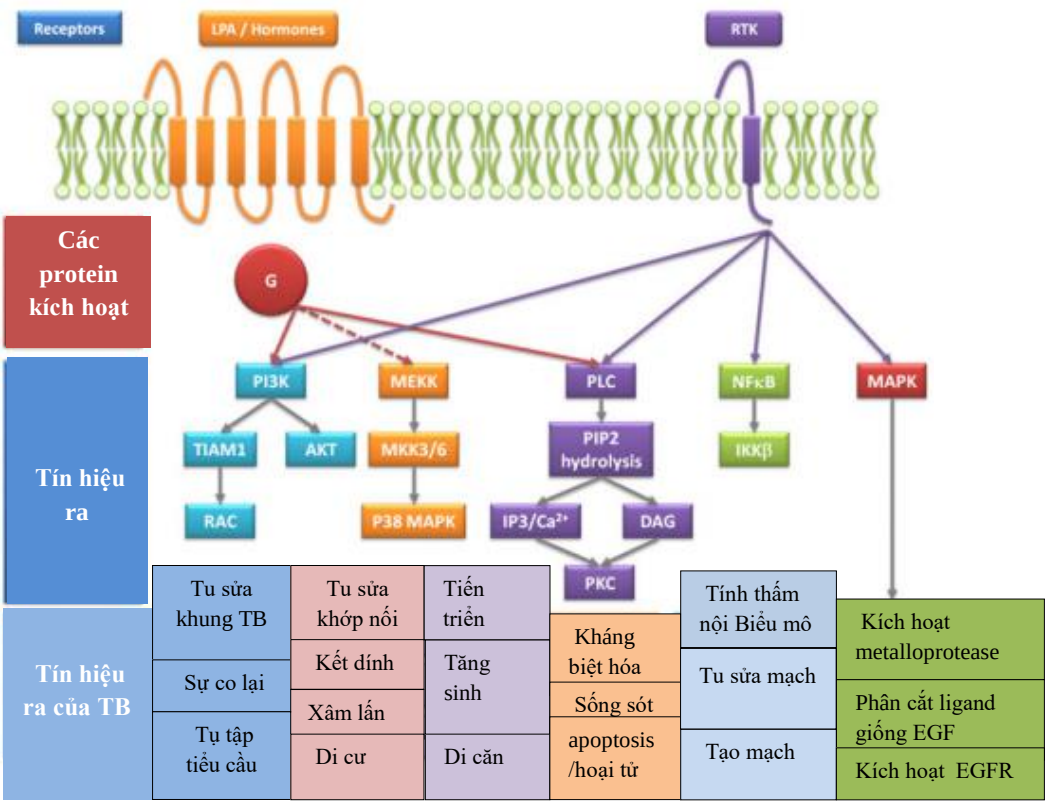
Một số protein ứng cử viên bao gồm profili-1, cofilin-1, vimentin và cyclokeratin-19 có liên quan đến sự truyền tín hiệu nội bào tới bộ khung TB. Những sự thay đổi trong kiểu hình TB như sự chuyển đổi của các TB biểu mô thành các TB trung mô là điều thật sự khó hiểu, không những đối với sự phát triển phôi mà còn với cả sự xâm lấn và di căn của ung thư. Các tế bào trải qua quá trình chuyển đổi biểu-trung mô (EMT) sẽ mất đi hình thái học biểu mô, tái tổ chức bộ khung TB của chúng và có được kiểu hình di động hơn thông qua sự điều hòa lên và xuống một số phân tử, bao gồm các protein khớp nối dính (adherent junction) và các marker trung mô. TGF-β được chứng minh là gây cảm ứng EMT trong các tế bào adenosarcoma buồng trứng. Ở dòng tế bào A549 adenocarcinoma phổi của người thì sự biệt hóa này được tiếp theo sau bởi việc thay đổi sự biểu hiện của một số protein khung tế bào, bao gồm β-actin, cofilin-1, moesin, filamin A và B, protein sốc nhiệt beta-1, transgelin-2, S100 A11 và calpactin. Nhiều khả năng là, những sự thay đổi này đã làm tăng khả năng di cư và xâm lấn. Xử lý các dòng tế bào ung thư buồng trứng SKOV-3 với TGF-β sẽ làm tăng sự biểu hiện của cofilin và profilin -1 ở mức mRNA và mức protein cũng như làm thay đổi sự tổ chức của bộ khung TB, qua đánh giá của các phân tích microarray đồng tiêu (cofocal). Sau khi gắn vào các receptor của nó thì TGF-β sẽ kích thích sự tái tổ chức actin khung TB và kích hoạt sự hình thành các sợi kéo căng (stress) làm TB bị lồi ra.

### 23.2.3. Những con đường hormone

Một số hormone đã được phát hiện khi nghiên cứu proteomic như leptin, prolactin, osteopontin, yếu tố tăng trưởng giống insulin II, hormone kháng mullerian, và HCG. Leptin được sản xuất bởi các TB tạo mỡ và được biết là kích thích tăng trưởng các tế bào ung thư buồng trứng BG-1 thông qua con đường tín hiệu kinase điều hòa tín hiệu ngoại bào. Các nghiên cứu gần đây đã chứng minh sự tham gia của con đường receptor estrogen (ER) trong cơ chế tăng trưởng của UTBT cảm ứng bởi leptin qua con đường STAT-3. Đã có các báo cáo về tăng mức prolactin (PRL) trong buồng trứng và ung thư nội mạc tử cung, điều đó nói lên vai trò tiềm năng của PRL trong sinh ung thư. Việc gắn PRL với receptor của nó được theo sau bởi sự phosphoryl hóa nhanh của kinase điều hòa tín hiệu ngoại bào (ERK)1/2, MAPK/ERK kinase 1, transducer tín hiệu và yếu tố hoạt hóa của transcription 3, CREB, ATF-2, p53 và sự kích hoạt 37 yếu tố sao chép trong buồng trứng và các TB carcinoma nội mạc tử cung. Osteopontin (OPN) được biết là làm gia tăng sự sống sót của UTBT dưới những điều kiện stress *in vitro* và thúc đẩy sự tiến triển muộn của UTBT *in vivo*. Chức năng thúc đẩy sự sống sót của OPN được trung gian qua việc kích hoạt Akt và cảm ứng của sự biểu hiện HIF-1 alpha. Protein liên kết yếu tố tăng trưởng giống insulin 2 (IGFBP2) cũng biểu hiện quá mức trong các mô ác tính của buồng trứng, trong huyết thanh và dịch nang của các bệnh nhân UTBT, điều đó đã chứng minh vai trò quan trọng của nó trong sinh học UTBT vì

làm tăng khả năng xâm lấn của các tế bào UTBT. hCG là một glycoprotein bao gồm các tiểu đơn vị alpha và beta không liên kết cộng hóa trị. Hormone này thường được sản xuất từ các tế bào lá nuôi phôi trung gian (syncytiotrophoblast) của nhau thai và nó tăng lên khi mang thai. Gần đây, beta-hCG và alpha-fetoprotein đã xác định được trong các khối u tế bào mầm UTBT. Những protein này đã được phát hiện ở các giai đoạn sớm của ung thư cũng như acid lysophossphatidic, mesothelin, HE4, osteopontin, VEGF, IL-8, M-CSF, các kallikrein khác nhau và đoạn cuối C của immunoproteosome 11 (Reg-alpha).

Hầu hết các protein kể trên đều liên quan trực tiếp với các con đường tín hiệu tu sửa khung TB, sự co rút, tu sửa khớp nối, sự kết dính, sự xâm lấn, sự di cư, apoptosis/hoại tử, sự tạo mạch, kích hoạt metalloprotease và sự kích hoạt (transactivation) (Hình 23.1). Các đáp ứng miễn dịch phát hiện thấy trong UTBT được điều khiển bởi con đường tín hiệu TB khác đã bị rối loạn điều hòa. Trên thực tế các TB ung thư đã sử dụng các chiến lược khác nhau để tránh né khỏi các đáp ứng miễn dịch. Trong ngữ cảnh này thì điều thú vị là có sự kết nối giữa việc kích hoạt các con đường tín hiệu nội bào với các protein liên quan đến sự tẩu thoát đáp ứng miễn dịch.



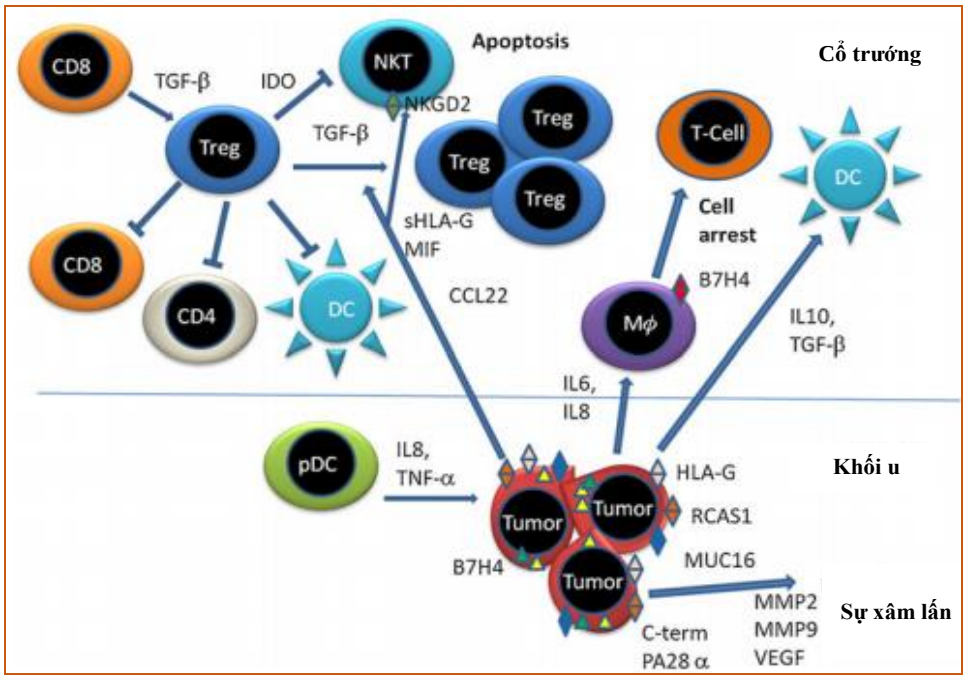

**Hình 23.1** Sơ đồ những con đường tín hiệu nội bào ung thư buồng trứng. LPA/hormone gắn với các receptor RPCG. Cytokine/yếu tố tăng trưởng gắn receptor RTK. Con đường nội bào và tín hiệu ra được chi tiết hóa. Tín hiệu ra của TB sau khi kích hoạt con đường tín hiệu cũng được hiện diện.

(Theo Re'mi Longuespe'e. C. Boyon, Annie Desmons. Cancer Metastasis Rev. Springer 2012)

### 23.2.4. Các protein liên quan đến điều khiển đáp ứng miễn dịch

Một số protein của gan và protein phase cấp tính (haptoglobin-α, bikunin, protein C phản ứng (C-reactive protein), cytokine và các yếu tố tăng trưởng (yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu [VEGF], các yếu tố tăng trưởng giống insulin II, IL-6, IL-10, yếu tố kích thích quần thể thực bào [M-CSF], osteopontin, yếu tố ức chế đại thực bào) đã được phát hiện trong UTBT. Tuy nhiên, những nghiên cứu gần đây lại chứng minh rằng các UTBT liên quan tới dịch cổ trướng, tạo ra một môi trường kiềm chế miễn dịch. Tỷ số CD4/CD8 cao có thể chỉ thị cho sự hiện diện của các tế bào điều hòa và là một kết cuộc xấu. Clark và cộng sự đã xác nhận một nhóm bao gồm 500 bệnh nhân UTBT thì sự hiện diện của các tế bào T- $CD8^+$ nội mô có tương quan với việc cải thiện kết quả lâm sàng ở tất cả các giai đoạn của bệnh. Curiel và cộng sự chứng minh trong 104 bệnh nhân UTBT trong đó $CD4^+$ $CD25^+$ $FoxP3^+$ Treg kiềm chế tính miễn dịch của các tế bào T đặc hiệu khối u và góp phần làm tăng trưởng khối u *in vivo*. Những số liệu này đã gợi lên một cơ chế về sự kiềm chế miễn dịch trong UTBT hoặc là thông qua sự biểu hiện quá mức của các Treg do khả năng của các khối u có thể tẩu thoát khỏi các đáp ứng miễn dịch (ĐUMD) [bằng sự bắt chước phân tử] hoặc bằng sự giám sát miễn dịch. Có những bằng chứng bổ sung càng củng cố cho sự liên quan của Treg trong UTBT. CCL22, một protein được tiết ra từ các TB tua và đại thực bào được biểu hiện cao trong các dịch cổ trướng khối u (tumor ascites) được biết đến là có vai trò trong việc di cư của các tế bào Treg. Sự biểu hiện quá mức của enzyme điều hòa miễn dịch indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) đã được chứng minh trong các UTBT. IDO kiềm chế sự tăng sinh của các tế bào T hiệu ứng (effector) hoặc các tế bào NK và các chức năng giết của chúng. Trong UTBT, sự biểu hiện cao của IDO trong các tế bào khối u có sự tương quan với việc giảm số lượng lympho bào thấm nhập khối u. Giảm IL-2 kết hợp với tăng TGF-β và IL-10 sẽ trợ giúp cho việc cảm ứng Treg. Một mặt, các TB khối u tránh né khỏi các ĐUMD bằng việc cảm ứng các DC trưởng thành ngoại vi để tạo ra IL-10 $CCR7^+$ $CD45RO^+$ $CD8^+$ Treg. Các tế bào $CCR7^+$ $CD45RO^+$ $CD8^+$ Treg ức chế nguyên phát đã phát hiện được trong môi trường khối u của những bệnh nhân UTBT. Một phương pháp khác để các tế bào khối u tẩu thoát khỏi sự giám sát miễn dịch là thông qua sự biểu hiện của kháng nguyên bạch cầu người (HLA-G). Những nghiên cứu gần đây đã chỉ rõ rằng, sự biểu hiện của HLA-G đã được phát hiện trong 22/36 (66,7%) các mô khối u nguyên phát nhưng lại không có mặt trong các mô buồng trứng bình thường ($P<0,01$). Các nghiên cứu về tính độc TB đã chỉ rõ rằng, sự biểu hiện của HLA-G gây ức chế mạnh sự ly giải TB bởi các tế bào NK-92 ($P<0,01$) và nó có thể được phục hồi do cấu thành kháng HLA-G là mAb 87 G ($P<0,01$). Type HLA-G5 đã được phát hiện trong khối u, trong khi đó dạng hòa tan của HLA-G lại được phát hiện trong các dịch cổ trướng và trong máu bệnh nhân. HLA-G dường như là có liên quan đến sự điều biến ĐUMD thông qua việc ức chế tế bào NKT. Trong các TB khối u có sự biểu hiện của

một phân tử họ đồng kích thích B7 (B7 co-stimulatory family molecule), B7H4 được biết đến là gây ức chế cảm ứng phụ thuộc kháng nguyên của sự tăng sinh và kích hoạt tế bào T. B7-H4 thúc đẩy sự biến nạp ác tính của các TB biểu mô bằng cách bảo vệ chúng thoát khỏi apoptosis và dường như là được biểu hiện ở giai đoạn sớm của sự phát triển khối u. Theo cách tương tự, các tế bào khối u biểu hiện cao mesothelin-mucin 16 (MU 16), điều đó đã ức chế sự hình thành các synaps miễn dịch giữa các tế bào NK và các đích khối u buồng trứng (Hình 23.2).



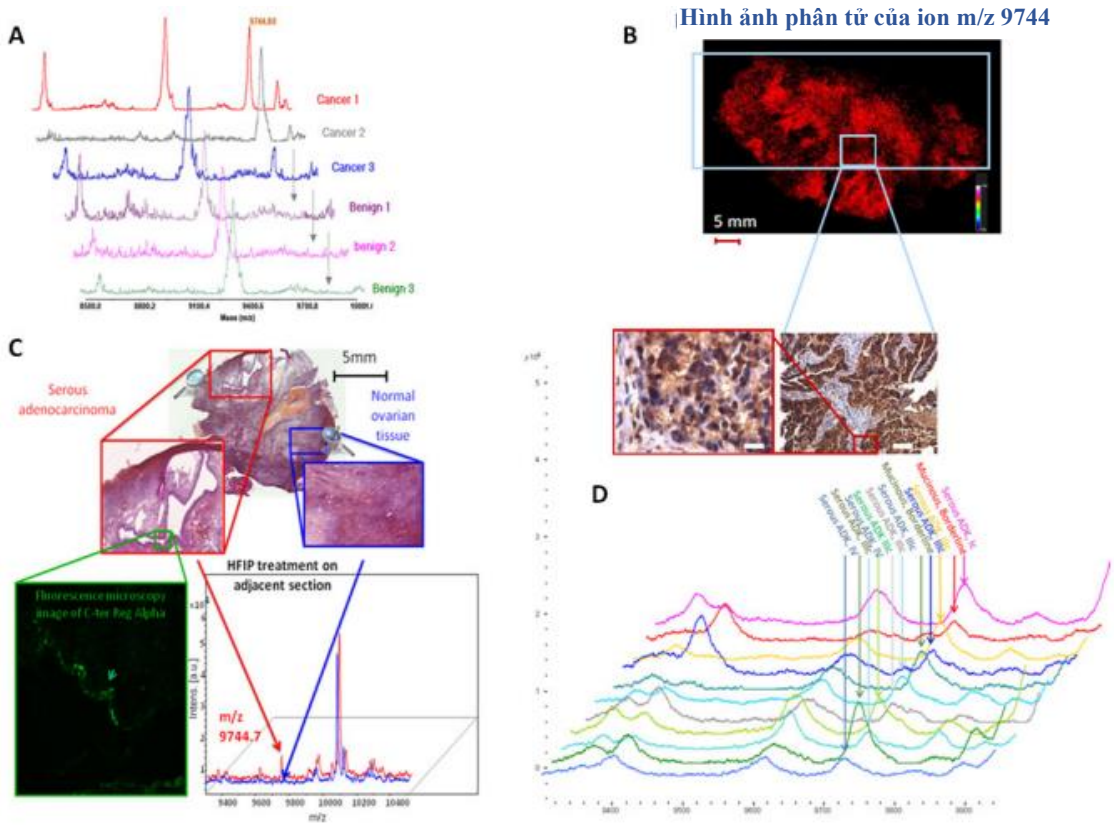

**Hình 23.2** Sản xuất các yếu tố tế bào để trốn tránh khỏi các đáp ứng miễn dịch. Apolipoprotein A1 đã được phát hiện ở phần giao nhau với transthylin và transferin trong các khối u nhầy giai đoạn sớm. Lumican- một proteoglycan LRR nhỏ trong chất nền ngoại bào được biết là biểu hiện quá mức trong ung thư vú và giữ vai trò quan trọng trong sự tiến triển của khối u. ApoA-1 được biết là làm giảm sự biểu hiện của các phân tử nhỏ như CD1a, CD80, CD86 và HLA-DR trong các tế bào tua, và kích thích việc sản xuất IL-10. Hemopexin gần đây đã được chứng minh là làm giảm TNF và IL-6 từ đại thực bào trong quá trình viêm nhiễm và nó cũng làm giới hạn việc sản xuất cytokine đại thực bào cảm ứng hiệp đồng TLR4 và TLR2. Orosomucoid có đặc tính kiềm chế miễn dịch trong dịch cổ trướng carcinoma buồng trứng thông qua việc ức chế sự tiết IL-2 bởi các tế bào lympho. Môi trường khối u biểu hiện các phân tử có thể chuyển đổi các APC có chức năng thành rối loạn chức năng. Các APC rối loạn chức năng kích thích sự biệt hóa và mở rộng của Treg. Khối u sản xuất ra IL-6, IL-8, MUC18, MIF, RCAS1, sHLA-G gây ảnh hưởng lên các hiệu ứng âm trên các tế bào T. Yếu tố hoạt hóa PA28 là một bộ máy xử lý kháng nguyên (APM). Sự thay đổi của nó do sự phân cắt bởi (furin, PACE4) trong carcinoma buồng trứng sẽ tham gia vào cơ chế để tránh né sự nhận dạng miễn dịch.

(Theo Re'mi Longuespe'e. C. Boyon, Annie Desmons. Cancer Metastasis Rev. Springer 2012)

Các nghiên cứu về ptoteomic và transcriptomic được thực hiện ở mức khối u đã xác nhận vai trò chủ động của các TB khối u đối với việc tẩu thoát khỏi các ĐUMD. Chẳng hạn như sự biểu hiện quá mức của yếu tố ức chế di cư đại thực bào (MIF) và các kháng nguyên ung thư gắn receptor biểu hiện trên các tế bào SiSo (được biết là có liên

quan đến apoptosis của lympho bào) đã được chỉ rõ, khi sử dụng các phương pháp transcriptomic thì thấy MIF cũng góp phần vào việc ức chế các tế bào NK và các tế bào CD8 kháng u do việc điều hòa xuống các mức NK G2 D (nhóm 2D receptor NK của các tế bào NK). Từ các nghiên cứu MALDI-MSI, 5 yếu tố liên quan đến sự điều biến ĐUMD trong các khối u nhầy đã được xác định, cụ thể là đoạn cuối C của immunoproteasome 11S (Reg-alpha) oromucoid, apolipoprotein A1, hemopexin và lumican cũng được phát hiện trong các dịch báng. Khi phân cắt PSME1 (proteasome activator complex subunit 1, 11S regulatory complex [viết tắt là PA28 alpha] trong các đoạn Reg-alpha có thể dẫn đến sự hiện diện mặc định tự kháng nguyên (Hình 23.3). PA28 là một phức hợp điều hòa gắn với 208 proteasome, bao gồm 3 tiểu đơn vị là alpha, beta và gamma. Liên kết phức hợp điều hòa 11S với 208 proteasome không phụ thuộc vào sự thủy phân của ATP không như là tiểu đơn vị điều hòa 19S, phức hợp điều hòa 11S không xúc tác phân giải các protein lớn. Thay vì đó là đáp ứng đối với việc xử lý kháng nguyên MHC lớp 1, nó được cải thiện đáng kể nhờ sự biểu hiện cảm ứng bởi interferon gamma của các tiểu đơn vị alpha và beta. Một số protein virus tương tác với các tiểu đơn vị proteasome này đã được báo cáo và có thể can thiệp vào sự phòng thủ kháng virus của vật chủ, vì thế mà góp phần vào sự biến nạp tế bào. Phương thức mà theo đó chúng gắn với hạt lõi (thông qua các tận cuối C tiểu đơn vị của nó) và cảm ứng sự thay đổi cấu thành vòng α (để mở cổng 20S) đã gợi lên một cơ chế giống như với hạt 19S. Không có vai trò gì được chứng minh đối với phức hợp điều hòa 11S với UTBT. Số liệu của một số tác giả chứng minh rằng sự biểu hiện cao của PA28 trong các carcinoma, đặc biệt là trong các TB biểu mô ở giai đoạn III/IV (Hình23. 3a,b), cũng như ở các giai đoạn sớm Ia (Hình 23.3c) với tư cách là một marker cho sự tái phát khối u sau hóa trị (Hình 23.3d). PA28 yếu tố hoạt hóa thuộc về bộ máy xử lý kháng nguyên (APM). Sự thay đổi của nó do sự phân cắt trong carcinoma buồng trứng có thể là một cơ chế để trốn tránh sự nhận dạng miễn dịch. Một giả thuyết tương tự cũng được đề xuất trong trường hợp của chaperone APM như TAP, LMP2, LMP10 và tapasin trong carcinoma đại tràng, carcinoma phổi tế bào nhỏ và các dạng TB carcinoma tụy. Trên thực tế điều trị bằng IFN-γ đối với các dòng TB carcinoma này nhằm sửa lại TAP, LPM và những thiếu hụt tapasin, tăng cường PA28α, LPM7, biểu hiện calnexin và calreticulin đều đi kèm với việc tăng các mức kháng nguyên MHC lớp 1. PSEM2 (proteosome activator complex subunit 2, PA28 beta) cũng được phát hiện trong các dịch cổ trướng, liên quan đến sự dung nạp TB miễn dịch đối với các TB carcinoma và củng cố sự rối loạn điều hòa của quá trình xử lý tự kháng nguyên trong các khối u buồng trứng. Hơn nữa, PA28 alpha dường như là một đích đối với virus Epstein –Barr (EBV) và virus herpes (HV) như các dẫn liệu qPCR và proteomic đã chỉ ra. Pudney và cộng sự đã chỉ rõ, khi các TB thâm nhiễm EBV thì nó sẽ di chuyển qua vòng ly giải (lytic cycle), tính nhạy cảm của chúng đối với việc nhận dạng các tế bào T $CD8^+$ đặc

hiệu EBV giảm nhanh chóng, đồng thời giảm sự vận chuyển liên quan đến chức năng xử lý kháng nguyên (TAP) và sự biểu hiện của HLA lớp 1. Ảnh hưởng của các virus liên quan tới căn nguyên UTBT cũng được duy trì bởi sự biểu hiện quá mức enzyme furine, được biết là có liên quan đến sự phân cắt glycoprotein B thông qua motif R-X-K/R-R trong cả EBV và HV.




**Hình 23.3** Ví dụ về MALDI MSI và tư liệu workflow về việc phát hiện và xác nhận các biomarker UTBT: Khối phổ MALDI của 6 bệnh nhân, 3 người mắc adenocarcinoma và 3 người có u lành tính. **a:** m/2 tại 9744 tương ứng với đoạn Cter của RegAlpha. **b:** Phần mô UTBT biểu mô có các phần lành tính và ung thư phục tùng sự tước bỏ gian bào tự động nhờ việc sử dụng máy vi đánh dấu (CHIP 1000, Shimadzu). Hình ảnh phân tử tương ứng với đoạn m/z 9744 Cter của RegAlphao ở vùng khối u của sinh thiết buồng trứng với các hình *inset* xác nhận về hóa tổ chức miễn dịch sự hiện diện của các biomarker khi sử dụng các kháng thể được thiết kế để kháng lại phần Cter của RegAlpha. **c:** Phổ MALDI MS của dích chiết mô giai đoạn 1a sinh thiết UTBT huyết thanh. Đoạn cuối C của Reg-alpha (m/z 9744) được phát hiện trong các tế bào tuyến. *Inset* thể hiện các số liệu hóa tổ chức miễn dịch huỳnh quang nhờ việc sử dụng đoạn kháng tận C Reg- alpha và nhuộm hematoxylin và eosin (H&E) các mô tuân thủ sự phân tích số liệu MALDI MS. **d**: Phổ MALDI MS của dịch chiết mô từ các vùng adenocarcinoma của 10 bệnh nhân ở các giai đoạn bệnh lý khác nhau sau khi được hóa trị phụ trợ. Phân tích khối phổ dịch chiết huyết thanh khối u giai đoạn 1, IIIc và IV sau khi hóa trị phụ trợ. Ion với tỷ số m/z 9744 tương ứng với đoạn Cter của Reg-alpha được phát hiện thấy ở mọi bệnh nhân và được chỉ bằng các mũi tên . Những số liệu này xác định rằng đoạn Cter của Reg alpha có thể là một marker tốt cho việc chẩn đoán sớm sự tái phát khối u (tất cả các mô từ các bệnh nhân được chọn lọc sau khi được hóa trị phụ trợ với 6 chu kỳ carboplatin/Taxol tiếp sau là carboplatin cùng với Caelyx trước khi phẫu thuật trọn ven.

(Theo Re'mi Longuespe'e. C. Boyon, Annie Desmons. Cancer Metastasis Rev. Springer 2012)

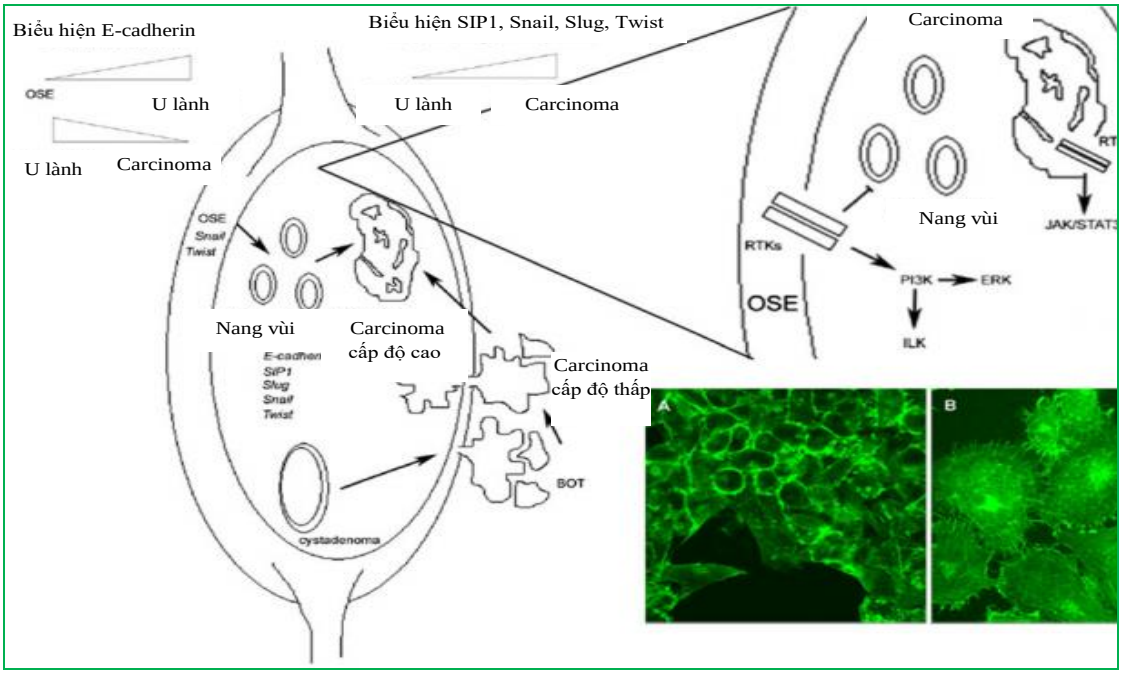
Trong số 4 yếu tố khác có thể tham gia vào hiện tượng dung nạp do ức chế kích hoạt miễn dịch thì một protein phase cấp tính oromucoid (ORM) [cũng được hiểu như là một alpha-acid glycoprotein hay AGP] vẫn tăng lên một cách bình thường khi thâm nhiễm, viêm và ung thư, dường như là nó có đặc tính kiềm chế miễn dịch trong dịch cổ trướng carcinoma buồng trứng thông qua ức chế tiết IL-2 bởi các tế bào lympho. Tương tự như vậy, apolipoprotein A1 được phát hiện cùng với transthyretin và transferin trong các u nhầy giai đoạn sớm. ApoA-I được biết là làm giảm sự biểu hiện của các phân tử bề mặt như CD1a, CD80, CD86 và HLA-DR trong các tế bào tua và kích thích sản xuất IL-10 (Hình 23. 2). Điều thú vị là, hemopexin mới đây đã được chứng minh là làm giảm TNFα và IL-6 từ đại thực bào trong quá trình viêm nhiễm và làm giới hạn việc sản xuất cytokine đại thực bào cảm ứng bởi các chất hiệp đồng (agonist) TLR1 và TLR2. Trong các TB carcinoma biểu mô buồng trứng  SKOV-3 thì tất cả các TLR đều biểu hiện quá mức trừ TLR9 và TLR10. Điều này phù hợp với sự biểu hiện quá mức lumican - một proteoglycan LRR nhỏ trong chất nền ngoại bào. Cùng với các proteoglycan khác như decorin, biglycan và prolargin, lumican được biết đến là biểu hiện quá mức trong ung thư vú và giữ vai trò quan trọng trong việc kiềm chế khối u. Tuy nhiên, như đã được chứng minh với biglycan, nó tương tác với TLR2/4 trên đại thực bào, do vậy người ta suy đoán rằng lumican cũng có liên quan đến sự kích hoạt inflammasome thông qua sự tương tác TLR2/4. Kích hoạt tất cả các receptor cảm nhận nguy hiểm (danger-sensing receptor) trong các TB carcinoma có thể được giải thích thông qua điều hòa viêm nhiễm bởi các TB carcinoma, tạo thuận lợi cho sự tiến triển của khối u. Theo nghĩa này thì ngụ ý rằng các tế bào UTBT đã sử dụng việc bắt chước phân tử theo kiểu như là các "ký sinh trùng" để thoát khỏi các đáp ứng miễn dịch, vì chúng sản xuất ra các chất kiềm chế miễn dịch để đạt được sự dung nạp.

## 23.3. CƠ CHẾ ĐẶC HIỆU NỀN TẢNG CHO SỰ DI CĂN CỦA UNG THƯ BUỒNG TRỨNG

Đặc tính về mặt sinh học và lâm sàng của các UTBT là khác nhau đối với bất kỳ dạng ung thư nào. Trong khi các TB ung thư trong các carcinoma đều đòi hỏi có sự liên quan của các cơ chế thuộc về mạch của nội xâm lấn và ngoại xâm lấn cho việc di cư từ vị trí ban đầu tới các cơ quan ở xa, thì di căn UTBT là một sự kiện thụ động hơn. Thực sự thì các TB bắt nguồn từ khối u buồng trứng thường di chuyển tới các cơ quan thuộc màng bụng với sự vận động sinh lý học của dịch màng bụng, nhưng hiếm khi tạo nên các di căn bên ngoài màng bụng. Cơ chế lâm sàng thụ động này được sự trợ giúp bởi một số biến đổi phân tử trong các yếu tố tế bào đối với sự neo đậu của nó vào các vị trí di căn xa. Môi trường của mô và TB xung quanh cũng thúc đẩy sự lưu trữ các TB bên ngoài khối u buồng trứng. Cơ chế sinh học thứ nhất đối với sự di căn là quá trình chuyển đổi trung-biểu mô (EMT) tạo thuận lợi cho việc gắn các TB ung thư vào các vị trí mô mới (Hình 23.4). Do thiếu hàng rào ngăn cách về giải phẫu nên carcinoma buồng

trứng có thể lan rộng trực tiếp khắp khoang phúc mạc, chủ yếu là ở vùng bụng và bạch huyết, theo cách này mà nó có thể lan tới cả phúc mạc và các mạch nối. Sự kiện này được đặc trưng bởi những biến đổi protein và gen như các tơ trung gian biểu mô vẫn thường giảm biểu hiện, nhưng lại có sự biểu hiện quá mức của vimentin và metalloprotease chất nền (MMP). Nó cũng được đặc trưng bởi những biến đổi trong biểu hiện các khớp nối kết dính TB-TB và các phân tử kết dính gian bào - TB, bao gồm các integrin, E-N - cadherin E - cadherin (Hình23. 4). Gần đây người ta cũng xác nhận sự kiện này có liên quan đến sự gia tăng biểu hiện của glycoprotein MUC-4. E-cadherin cho phép sự kết nối giữa các sợi actin bên trong TB với môi trường TB của nó. Sự khiếm khuyết này sẽ cho phép các TB khởi đầu sự tách rời khỏi vị trí khối u. MUC-4 cũng liên quan đến sự tăng cao của các cadherin khác như N-cadherin cũng như các marker trung mô như vimentin, cũng được biểu hiện và trao cho các TB kiểu hình xâm lấn. EMT cũng trao cho các TB khả năng phát triển trong các điều kiện không thuận lợi như thiếu oxy chẳng hạn. Một khi các TB tách khỏi vị trí khối u thì môi trường màng bụng cổ trướng bắt đầu thúc đẩy các TB carcinoma buồng trứng tăng sinh và đi sâu vào các vị trí ổ bụng. Các yếu tố tăng trưởng giữ vai trò quan trọng trong việc di chuyển và xâm lấn của những TB này mà ở đó thì VEGF là một yếu tố tăng trưởng chủ yếu. Quá trình này hoạt hóa con đường MAPK, từ đó góp phần làm thiếu đi sự gặp nhau giữa TB-TB. VEGF cũng kích hoạt con đường PI3K, từ đó góp phần vào việc định vị của metalloproteinase gian bào 9 ở bề mặt TB để phân cắt E-cadherin. Tuy nhiên, VEGF cũng kích thích sự tích lũy dịch cổ trướng bằng cách nới rộng cơ hoành và các mạch máu liên quan khối u . Sau đó, các TB ung thư có thể di cư xuyên qua ổ bụng với tư cách là các TB đơn hay các nhóm nhiều TB được gọi là các khối cầu "spheroid" bao gồm nhiều nhóm TB. Những khối cầu này hiện diện tại α5β1 integrin trên bề mặt của chúng, rất quan trọng cho sự tăng trưởng của khối cầu. Các cặp integrin/ligand khác cũng tồn tại như integrin/laminin và α2β1-integrin/collagen type IV, can thiệp vào sự gắn kết của khối cầu với trung biểu mô của phúc mạc và mạc nối. Trong quá trình xâm lấn TB, bắt buộc phải có các enzyme phân giải protein để giải phóng các khối cầu khỏi môi trường màng bụng. Metalloproteinase gian bào type I và II giữ vai trò quan trọng trong các bước ung thư nguyên phát. Sau khi "quá cảnh" qua màng bụng, các TB ung thư sẽ gắn vào màng bụng, được thiết lập bởi các TB trung biểu mô có collagen type I và IV, fibronectin và laminin. Các cặp đôi integrin sau đó sẽ tác động cho việc gắn kết. Tại bước này, thì VCAM cũng là một protein màng có ở bề mặt các TB trung biểu mô gắn với α4β1 integrin từ bề mặt các TB ung thư. Với các integrin thì CD44 cũng có thể là một yếu tố liển kết, nó gắn với acid hyaluronic. Ngoài ra, các phân tử kết dính như NCAM cũng có thể thúc đẩy sự di căn UTBT thông qua việc tương tác với các receptor như FGFR. Hoạt tính proteolytic là một cơ chế đòi hỏi cho sự gắn kết TB bởi MMP-2, tại bề mặt các TB ung thư cũng như cắt bỏ fibronectin và vitronectin (protein ngoại gian

bào) thành các đoạn nhỏ hơn để làm tăng sự kết dính tương đối với α5β1 αvβ3 integrin. Hơn nữa, các TB vật chủ lại sản xuất ra MMP9 để cải thiện sự kết dính của các TB ung thư. Transglutaminase là một họ enzyme khác đối với sự kết dính TB, trong đó transglutaminase 2 giữ vai trò chính trong việc làm giãn ra của chất nền ngoại bào và điều hòa MMP2. Các enzyme của họ kallikrein cũng được phát hiện là giữ vai trò quan trọng trong việc phân giải các chất nền ngoại bào (Hình 23. 4).




**Hình 23.4** *Sơ đồ minh họa về E-cadherin, SIP1, Snail, Slug và Twist trong quá trình tiến triển của buồng trứng.*

Một mô hình được xây dựng bởi Shih và Kurman năm 2004 để giải thích về sự tiến triển của ung thư buồng trứng. Trong mô hình này, các khối u biểu mô buồng trứng được phân loại thành 2 thể loại: các khối u type I bao gồm các carcinoma huyết thanh cấp độ thấp, mucinous, endometrioid và carcinoma tế bào sáng dường như là phát triển từ các tiền thân của chúng, đó là các khối u ranh giới buồng trứng (BOT) trong phương thức hình bậc thang; type II bao gồm các u ác tính huyết thanh cấp độ cao phát triển từ OSE hoặc các nang vùi không có các tiền thân bình thường. Các tế bào OSE che phủ bề mặt buồng trứng không biểu hiện E-cadherin nhưng lại biểu hiện snail và Twist. Như đã mô tả, sự thay đổi biểu hiện E-cadherin trong quá trình tiến triển ung thư buồng trứng thể hiện một tương quan ngược so với sự biểu hiện của SIP1, Snail, Slug và Twist. Sự tăng tương ứng của A đã khái quát một cách đơn giản mạng lưới tín hiệu điều hòa EMT được cảm ứng bởi EGF. Trong các tế bào OSE, sự kích hoạt receptor tyrosin kinase EGF (RTK) nhờ kết quả của EGF trong việc kích hoạt phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) làm kích hoạt con đường ILK và ERK. EGF xử lý các tế bào OSE làm thể hiện các đặc trưng chữ ký phân tử của EMT và ít có khả năng trải qua quá trình chuyển đổi trong các nang. Con đường JAK/STAT3 cần cho sự cảm ứng EMT trong các tế bào UTBT. Các tế bào UTBT trải qua EMT thì mất biểu biểu hiện E-cadherin và NGAL và thể hiện tăng tính di động. Bức tranh này đã mô tả dòng tế bào UTBT biểu mô người SKOV3 được xử lý với (**b**) hoặc (**a**) TGF-β (10 ng $ml^{-1}$). **a**. Các TB đối chứng có hình thái học giống biểu mô điển hình trong các bình/petri nuôi cấy, có xu hướng hình thành các quần thể dầy đặc. Bộ khung sợi actin của TB thể hiện sự tổ chức theo kiểu bao vòng tròn. **b**. Cấu trúc protutive và các sợi actin căng có thể nhìn thấy một cách rõ ràng trong các TB được xử lý.

(Theo Re'mi Longuespe'e. C. Boyon, Annie Desmons. Cancer Metastasis Rev. Springer 2012)

Pha chót của quá trình tiến triển di căn bao gồm việc lưu giữ cuối cùng các nhóm TB ở mô màng bụng. Quá trình này chủ yếu bao gồm việc tuyển mộ các mạch máu mới trong các mô vật chủ để tạo nên sự dinh dưỡng tự trị hoàn chỉnh cho vị trí u mới. VEGF sau này lại cần cho việc kích thích nội mô mạch bạch huyết để tạo ra các mạch máu và bạch huyết mới. Quá trình này là bước cuối cùng của sự di căn, đó là lý do giải thích vì sao sự biểu hiện của VEGF trong carcinoma buồng trứng nói chung, liên quan tới một tiên lượng sấu. Khả năng của periostin cũng được khám phá  đối với nhu cầu sinh mạch ngoài hiệu ứng trên quá trình EMT.

Như đã đề cập ở trên, môi trường được tạo ra bởi dịch cổ trướng có ảnh hưởng lớn đến các đặc tính của các tế bào UTBT. Người ta thừa nhận rằng, các chemokine như CXCL12 cảm ứng sự di cư, sự biểu hiện integrin, sự tăng sinh và xâm lấn. Tương tác CCL25-CC9 cũng góp phần vào sự di cư của UTBT, sự biểu hiện của metalloproteinase và sự xâm lấn. Mô của vật chủ có vai trò quan trọng đặc biệt đối với hiệu quả di căn vì các TB mỡ của mạc nối chiếm ưu thế trong các khối u buồng trứng, nó có thể tương tác với các nhóm TB nhờ các adipokine như IL8. IL8 cũng làm trung gian cho sự homing, sự di cư và xâm lấn của các tế bào UTBT. Ngoài ra, các TB mỡ còn cảm ứng sự β-oxi hóa trong các TB ung thư. Cuối cùng, protein gắn acid béo 4 đã phát hiện là được biểu hiện quá mức và giữ vai trò chủ chốt trong các tế bào UTBT. Lớp đệm TB trong ổ bụng cũng rất thích hợp. Ví dụ như các nguyên bào sợi liên quan đến ung thư (CAF) thúc đẩy sự sinh mạch máu và mạch bạch huyết, sự tiến triển của khối u và sự di căn do tiết ra các yếu tố tăng trưởng khác nhau trong môi trường ổ bụng.

Những nghiên cứu “omics” gần đây nhằm khám phá các khía cạnh phân tử hoàn chỉnh về di căn UTBT.

Năm 2010, nhóm nghiên cúu của Xu đã thiết lập một mô hình di căn UTBT *in vivo* bằng việc tiêm một dòng TB biết rõ là SKOV-3 vào trong màng bụng chuột nude. Sau đó, các protein huyết thanh chuột sẽ được phân tích bằng LC-MS/MS. Có 13 protein người đã được xác định, bao gồm 3 protein là các biomarker có liên quan cao tới sự di căn của UTBT. Những ứng cử viên này đã được thử nghiệm về sự liên quan của chúng trong sàng lọc các biomarker máu bởi các thử nghiệm ELISA đối với các bệnh nhân ung thư với các giai đoạn tiến triển khác nhau. 14-3-3 –zeta phát hiện có 90%, 82,5%, 72% và 94,3% thuộc độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán dương (PPV) và giá trị tiên đoán âm (NPV) đối với các bệnh nhân giai đoạn I và II. 14-3-3 –zeta là một protein tiếp nối (adaptor) gắn với các phân tử tín hiệu hạ nguồn hay thượng nguồn khác có chứa các lặp tandem (cặp đôi) của các motif phosphoserine và đã phát hiện thấy một dạng phức hợp 3 với integrin alpha 4 đẩy nhanh tiến độ di cư của TB. Nghiên cứu này

đã nhấn mạnh rằng, sự di căn của UTBT là một sự kiện sớm vì một protein liên quan đến cách ứng xử này có thể được phát hiện với tư cách là một biomarker cho UTBT sớm. Trong một nghiên cứu khác thì một thành viên khác của họ 14-3-3 là 14-3-3-sigma đã được phát hiện là để bảo vệ ung thư kháng lại các stress oxi hóa do cảm ứng sự nhạy cảm của các TB đối với nồng độ $O_2$ cao.

Năm 2011 nhóm nghiên cứu của Kakar lại nhắm vào "metabolome" của UTBT nhờ việc sử dụng GC/MS-TOF. Theo cách tiếp cận này thì người ta có thể suy luận được các con đường chuyển hóa liên hóa liên quan đến cách ứng xử của di căn UTBT. Nghiên cứu này đã vạch rõ, sự di căn UTBT có sự biến đổi về chuyển hóa carbohydrate. Các TB di căn UTBT ưa thích sử dụng glucose cho các quá trình đường phân kỵ khí thay vì sự phosphoryl hóa oxi hóa để tạo ra ATP. Điều này được vạch rõ do việc tăng mức lactate. Fucose cũng tăng lên, trùng hợp với việc tăng glycoprotein trong các tế bào UTBT. Việc kích thích tăng sinh cũng liên quan đến nồng độ quá cao của phenylactate. Các chất chống oxi hóa cũng được phát hiện như tocopherol và glutathion, điều này phù hợp với các nghiên cứu trước đây về cách ứng xử bảo vệ các tế bào UTBT kháng lại các stress oxi hóa.

Gần đây nhờ việc sử dụng công nghệ MALDI cho microproteomics của mô mà người ta đã phát hiện các protein carcinoma buồng trứng liên quan đến các quá trình chuyển hóa, đặc biệt là sự biểu hiện quá mức của isoenzyme pyruvate kinase M1/M2 (PKM2), protein isoform 2 liên kết vitamin D, tiểu đơn vị phức hợp vitamin K epoxide reductase 1 (VKORC1), protein liên kết acid béo (FABP), đồng yếu tố hoạt hóa của các protein giống gamma –PPAR. Những kết quả này càng củng cố cho mối tương quan chặt chẽ giữa proteome và sự biểu hiện của metabolome trong quá trình di căn UTBT.

Rõ ràng là, những kết quả này đã chứng minh rằng với những công cụ mới kết hợp cùng với các mô hình thích hợp thì chúng ta có thể hiểu được những cơ chế đặc hiệu cần thiết cho sự di căn UTBT.

## 23.4. BIOMARKER LIÊN QUAN ĐẾN CHẨN ĐOÁN LÂM SÀNG UNG THƯ BUỒNG TRỨNG

Trong số các phân tử đã được phát hiện và tích hợp về cơ chế quá trình UTBT thì có một số đã được đánh giá về mối liên quan lâm sàng của chúng. Trong phần này chúng tôi chỉ tóm tắt những marker triển vọng nhất có thể được áp dụng cho việc sàng lọc UTBT ở các quần thể phụ nữ. Cho đến nay, *CA 125* là một marker được sử dụng rộng rãi nhất cho việc sàng lọc UTBT. Trong các điều kiện sinh lý bình thường thì biểu mô bề mặt buồng trứng không biểu hiện CA 125. Mức CA 125 huyết thanh được coi

như bình thường khi dưới 35 U/ml. Các mức cao hơn 35 U/ml được phát hiện với 90% ở các bệnh nhân giai đoạn tiến triển và 50% với các bệnh nhân ung thư giai đoạn I. CA 125 chuyên dùng để theo dõi hiệu ứng của hóa trị liệu và các trị liệu đích UTBT. Như vậy, thật là vô ích với việc giám sát sàng lọc quy mô lớn với những người khỏe mạnh và những phụ nữ sau mãn kinh.

Phát hiện các yếu tố phân tử trong quá trình UTBT được thực hiện trong một tập hợp lớn các bệnh nhân đã cho những kết quả tương đối tốt về sự sàng lọc UTBT. *Interleukin 13* (IL-13) là một cytokine có hoạt tính gây viêm, giữ vai trò quan trọng trong nhiều hoạt động sinh học. Các mức của cytokine này đã được định lượng và phát hiện có sự tăng cao trong các mô ung thư. Receptor IL13 được hợp thành bởi 2 sợi (ILA3R1 và IL13Ra2) và sợi thứ 2 đã được phát hiện với tỷ lệ cao 44/53 mẫu UTBT. Một trị liệu gây độc TB thông qua IL-13 đã được thiết lập và đã thử nghiệm lâm sàng phase I/II. Trị liệu này đã chứng minh hoạt tính kháng u và rất hiệu quả khi được đưa vào trong màng bụng vì nó sẽ ngăn chặn sự mở rộng của các tế bào UTBT khắp ổ bụng trong các giai đoạn muộn của UTBT. Yếu tố ức chế đại thực bào huyết thanh MIF cũng được khảo sát về sự hiện diện của nó trong máu của các bệnh nhân UTBT với độ nhạy là 77,8%, độ đặc hiệu 53,3% khi được xác định với marker này. HE4 cũng được xác định là một chất phân biệt (discrimator) tiềm năng UTBT. Marker này đã được thử nghiệm trong các nghiên cứu mù (blinded study) trên các bệnh nhân sau mãn kinh và đã phát hiện được các phân biệt đặc trưng tương tự như CA125. Nhiều marker đã được phát hiện có hiệu ứng rất cao với việc phân biệt UTBT khi được sử dụng cùng với CA125. Yếu tố kích thích quần thể đại thực bào (M-CSF) đã được sử dụng một cách đơn lẻ và phát hiện UTBT với độ đặc hiệu khoảng 61-68 và 93%. Những kết quả phát hiện tốt hơn nếu kết hợp cùng với CA125. Thực sự thì việc sử dụng CA125 hay M-CSF đều có khả năng xác định được tới 96-98% UTBT và 81% cho các gia đoạn sớm. Một marker khác là *lysophoshatidic acid* đã được báo cáo là có độ nhạy tới 100% cho các ung thư giai đoạn cao và 90% cho các ung thư giai đoạn I. Một số panel biomarrker cũng đã được đề suất làm test về độ nhạy/độ đặc hiệu cho việc sàng lọc UTBT. Khi sử dụng phối hợp 5 marker (CA125, OVX1, LASA, CA15-3, CA72-4) đã cho độ nhạy 90,6% và độ đặc hiệu 93,2% khi kết hợp cùng các phân tích CART (phân loại và phân tích cây thoái bộ [regression tree]), đó là một phân loại algorith các bệnh dựa trên cơ sở các marker. Bốn marker khác (CA125, CA72-4, Ca15-3 và PLA) cũng đã được phát hiện là có độ nhạy từ 68-87% và độ đặc hiệu giống như CA125. Như vậy, việc sử dụng các panel biomarke dường như là điều bắt buộc khi sàng lọc biomarker. Điều này đã được chứng minh rõ ràng bởi Leiser và cộng sự - những người đề suất việc sử dụng 6 marker (leptin, prolactin, osteopontin, IGFII, MIF và CA125) để phân biệt các ung thư buồng trứng và các mô lành tính với độ chính xác 89% cho các bệnh giai đoạn muộn.

Tuy nhiên, không có marker nào trong số này khi sử dụng đơn lẻ lại có khả năng phân được bệnh một cách chính xác. Gần đây, với sự kết hợp của một số marker, chủ yếu là *mesothelin, osteopontin và HE4* đã được chọn lọc bởi hội đồng *Specialized Program of Reseach Excellence (SPORE)* vì các trị giá đặc hiệu và độ nhạy của chúng.

## *TÓM TẮT*

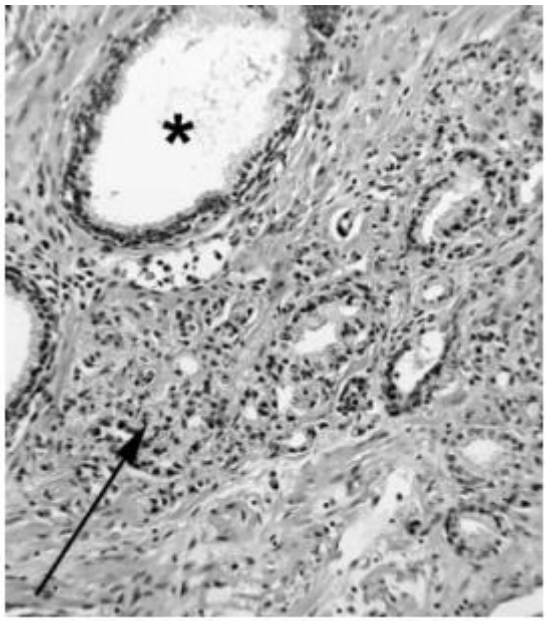
*Ung thư buồng trứng (UTBT) đứng thứ 4 trong số các ung thư gây tử vong cho phụ nữ châu Âu và Hoa Kỳ. Việc phát hiện sớm ung thư này gặp phải khó khăn vì nó không có các triệu trứng lâm sàng đặc hiệu. Đáng tiếc là việc chẩn đoán muộn đã góp phần làm giảm tỷ lệ sống sót của UTBT, có thể là do thiếu các marker đặc hiệu. Bên cạnh những bệnh nhân đều có tiền sử rõ nét về ung thư buồng trứng và ung thư vú, bao gồm các đột biến gen KCKU như BRCA1 và BRCA2 thì các biomarker thường được sử dụng nhất là kháng nguyên ung thư 125 (CA-125). CA-125 có độ nhạy 80% và độ đặc hiệu 97% đối với ung thư biểu mô (giai đoạn 3 hoặc 4). Tuy nhiên, trong các ung thư giai đoạn I thì độ nhạy chỉ là 30% vì sự gia tăng của nó có liên quan đến các hiện tượng sinh lý học và tình trạng lành tính. CA-125 đặc biệt hữu ích trong việc chẩn đoán nguy cơ quần thể và đánh giá sự đáp ứng với điều trị. Rõ ràng là chỉ với CA-125 đơn lẻ thì vẫn chưa đủ là một marker để chẩn đoán UTBT. Vẫn có các nhu cầu chưa được đáp ứng đối với việc xác định các biomarker phụ. Các chiến lược proteomic mới và nhạy hơn như các nghiên cứu hình ảnh khối phổ MALDI (mass spectrometry imagin) rất thích hợp cho việc chẩn đoán và tiên lượng UTBT.*

# CHƯƠNG XXIV : UNG THƯ TUYẾN TIỀN LIỆT

## 24.1. DỊCH TỄ HỌC UNG THƯ TUYẾN TIỀN LIỆT

Ung thư tuyến tiền liệt (UTTTL) phát triển từ biểu mô tuyến của một cơ quan nhỏ, tiết ra hầu hết tinh dịch ở nam giới. Hầu hết các UTTTL đều có thể xác định được một cách rõ ràng như là các adenocarrcinoma (Hình 24.1). Tuyến tiền liệt to bằng trái hạt dẻ ở thanh niên và gần như thường xuyên tăng về kích cỡ sau tuổi trung niên, chủ yếu do sự mở rộng của chất nền trung mô. Điều này dẫn đến sự hình thành một u lành tính, "tăng sản tuyến tiền liệt lành tính" (BPH). BPH hiếm khi đe dọa tới sự sống nhưng do chèn ép niệu đạo đoạn đi qua tuyến tiền liệt nên có thể dẫn đến các vấn đề nghiêm trọng ít nhiều với việc lưu thông nước tiểu, đỉnh điểm là làm tắc nghẽn hoàn toàn.

Carcinoma tuyến tiền liệt (TTL) cũng là một bệnh của người già, nhưng thường phát triển ở các bộ phận của cơ quan xa niệu đạo vì thế mà không gây tắc nghẽn sớm. Trái ngược với BPH, carcinoma TTL là một bệnh ác tính. Mặc dầu BPH và carcinoma TTL thường phát hiện thấy trong cùng một cơ quan, nhưng carcinoma không cho là được phát triển từ sự tăng sản lành tính, nó khá đặc trưng bởi việc mở rộng phần trung mô. Các tiền thân của carcinoma có thể là những sự thay đổi loạn sản của các ống tuyến như viêm teo TTL và ung thư nội biểu mô tuyến tiền liệt (PIN).



**Hình 24.1** *Tổ chức học của adenocarcinoma tuyến tiền liệt*

Ngôi sao đánh dấu ống tuyến bình thường với sự phân biệt rõ ràng các lớp tiết và lớp (đáy). Mũi tên chỉ vùng adenocarcinoma có ống tuyến hình dạng khác thường.

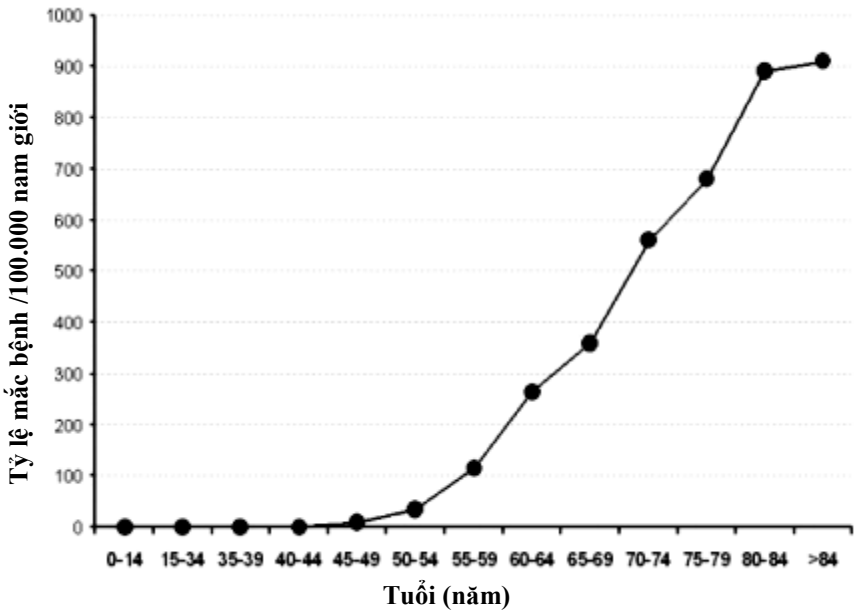
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer 2005)

Nhiều carcinoma TTL tăng trưởng chậm chạp và không liên quan về mặt lâm sàng trong suốt cuộc sống của người già. Các nghiên cứu khám nghiệm tử thi cho thấy có tới 40% nam giới trên 70 tuổi chết là do những nguyên nhân khác "neo đậu" vào khu vực ung thư trong TTL của họ. Như vậy, trong khi hầu hết các UTTTL có thể là không có ý nghĩa về mặt lâm sàng thì cũng có một tỷ lệ lớn tăng trưởng với phương

thức hiếu chiến hơn, bành chướng một cách cục bộ và di căn tới hạch bạch huyết, xương và các cơ quan khác. Các ung thư chỉ bị giới hạn trong một cơ quan thì có thể chữa khỏi bằng cách cắt bỏ TTL (cắt bỏ tận gốc), hoặc xạ trị. Nhưng với các UTTTL đã di căn thì không thể cứu chữa được.

Vào giữa những năm 1990, cộng đồng các nước công nghiệp Phương Tây đã rùng rợn nhận ra rằng, một số carcinoma TTL đã trở thành một ung thư gây chết người ghê rợn nhất đối với nam giới. "Dịch" UTTTL này hóa ra là do 3 nguồn gốc:

**(1)** Với tất cả các ung thư thì UTTTL là một trong những ung thư phụ thuộc mạnh nhất vào tuổi tác. UTTTL hiếm khi xảy ra ở tuổi 50, nhưng sau đó nó tăng theo cấp số nhân (Hình 24.2). Khi tuổi thọ tăng lên thì tỷ lệ mắc bệnh này nói chung cũng tăng và nguy cơ UTTTL theo các khảo sát là khoảng 10%.




**Hình 24.2** *Sự phụ thuộc vào tuổi tác của tỷ lệ mắc bệnh ung thư tuyến tiền liệt*
(Theo Viện Robert-Koch, Germany 2000)

**(2)** Nguyên nhân thứ 2 của các UTTTL hiển nhiên là do việc cải thiện cách phát hiện. Cho mãi tới cuối những năm 1980, hầu hết các trường hợp UTTTL đều được phát hiện bằng các triệu chứng lâm sàng. UTTTL trở nên rõ ràng thông qua các triệu chứng lâm sàng do di căn vào xương, hiếm hơn là gây tắc nghẽn niệu đạo. Một số ung thư có thể được phát hiện bằng khám trực tràng. Tuy nhiên, ngay cả các ung thư này có xu hướng đã tới giai đoạn tương đối cao thì trước đây những bệnh nhân đặc biệt cũng chỉ được ấn định là do đau ở phần lưng dưới, nơi thường di căn và không còn khả năng chữa trị. Về nguyên lý thì các ung thư có thể được phát hiện sớm hơn nhiều, tuy nhiên với UTTTL thì vẫn còn hạn chế bằng việc khảo sát tổ chức học các sinh thiết. Đây là một

phương pháp gây khó chịu cho bệnh nhân và có ít nhiều rủi ro, nó chỉ được thực hiện nếu có một số dấu hiệu ung thư đã được hiện diện. Vì thế, bước đột phá trong việc phát hiện UTTTL là đưa vào sử dụng marker huyết thanh PSA.

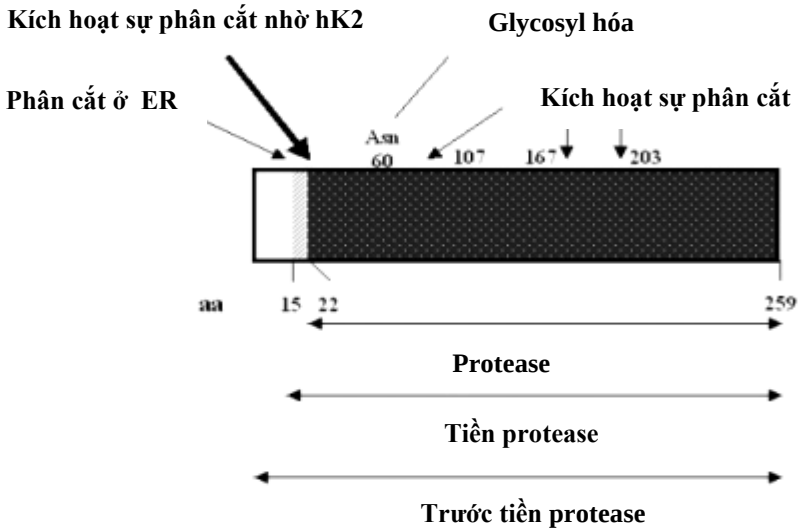
Kháng nguyên đặc hiệu tuyến tiền liệt (PSA) là một protease có nguồn gốc từ họ kallikrein (Hình 24.3). Nó tiết vào tinh dịch nhờ các TB biểu mô TTL thể tiết biệt hóa. Những TB này tách biệt khỏi máu bởi một lớp TB đáy cùng lớp màng cơ bản. Vì PSA gần như được sản xuất độc quyền trong những TB này nên chỉ có một lượng rất nhỏ được hiện diện một cách bình thường trong máu. Hầu hết các UTTTL vẫn sản xuất ra các protein, mặc dù việc "chế biến" của nó có thể đã bị thay đổi. Thông qua sự mất phân cực trong các mô ung thư và do phá vỡ màng cơ bản ngăn cách biểu mô với mô liên kết phía dưới cùng các mạch máu, nên PSA xuất hiện trong huyết thanh. Phương pháp ELISA hiện đại phát hiện được với nồng độ 2ng/ml huyết thanh - thấp hơn mức ở những trung niên khỏe mạnh. Trong huyết thanh của những bệnh nhân UTTTL thì nồng độ này từ 2ng/ml đến 1000ng/ml.

Đáng tiếc là, PSA được coi như là một marker khối u không hoàn toàn đặc hiệu mà cũng không nhạy lắm. Một mặt, mức PSA cũng có thể tăng lên trong các bệnh của TTL lành tính và chúng có xu hướng tăng theo tuổi. Như vậy, việc xác nhận chẩn đoán bằng các khảo sát tổ chức học sinh thiết vẫn là bắt buộc. Những thử nghiệm mới hơn với PSA, khai thác những biến đổi của quá trình cũng như sự liên kết với các chất ức chế protease huyết thanh nhằm phân biệt tốt hơn nữa các bệnh TTL lành tính với các bệnh ác tính. Mặt khác, một số carcinoma TTL lại tiết ra một ít PSA vì thế mà việc phát hiện khối u gặp nhiều khó khăn.

Mặc dù PSA không phải là một marker khối u hoàn chỉnh nhưng nó cũng đủ tốt để cải thiện một cách đáng kể việc xác định tỷ lệ carcinoma TTL, ngay cả ở các nước mà không có sự sàng lọc quy mô lớn trong các quần thể nam giới. Cải thiện các phương pháp phát hiện UTTTL đi song song với việc nâng cao điều trị các ung thư giới hạn trong các cơ quan bằng cách phẫu thuật hay xạ trị và ngay cả với các ung thư di căn bằng các thuốc đặc trị hoặc xạ trị. Điều này cũng góp phần phát hiện sớm hơn các UTTTL do khuyến khích các bệnh nhân tuy có những triệu chứng ít ỏi nhưng cũng tuân thủ sàng lọc và hướng điều trị, bởi vì đó là cách điều trị hữu hiệu có thể cứu sống được người bệnh. Nếu vậy thì người ta cho rằng tỷ lệ mắc bệnh UTTTL và số tử vong ở cuối những năm 1990 là đỉnh điểm, bởi vì nhiều ung thư ở những năm đó mà được phát hiện thì có thể cứu chữa được, tiếc rằng điều đó lại không thể xảy ra vì họ đều được phát hiện ở những giai đoạn muộn hơn. Những số liệu hiện nay xác nhận đó là sự thực.

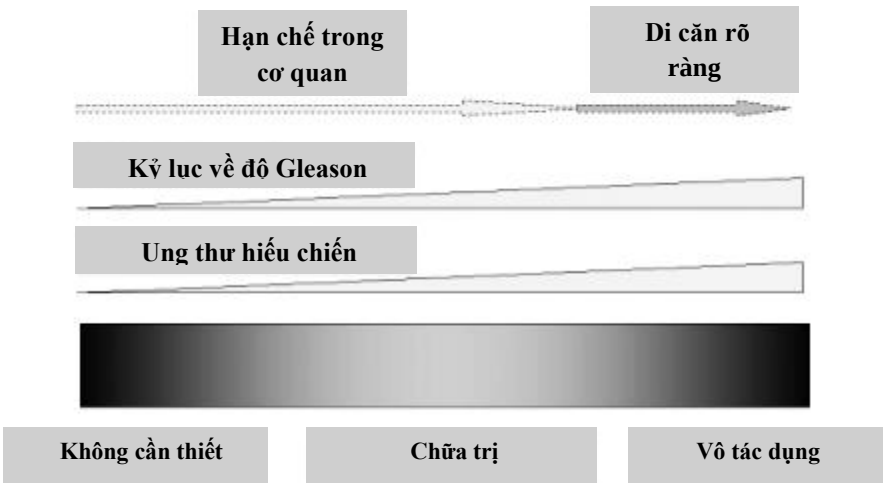
Tuy nhiên, có 2 vấn đề liên quan đến tiềm năng thành công này. Hiện tại vẫn chưa có phương pháp nào phân biệt một cách tin cậy để biết được một cách rõ ràng rằng UTTTL giai đoạn sớm sẽ tiếp tục tăng trưởng một cách chậm chạp hay là trở nên hiếu

chiến. Do vậy, một số bệnh nhân đã được xác định PSA lại không phát triển thành ung thư TTL rõ ràng một cách lâm sàng và nhiều người đã được điều trị khỏi. Trái lại, phương pháp phát hiện các khối di căn cực nhỏ thì chưa hoàn thiện chút nào. Vậy thì một số bệnh nhân đã được điều trị bằng cách cắt bỏ TTL là vô ích, bởi vì họ sẽ bị chết vì các di căn nhưng lại không được phát hiện sớm (Hình 24.4).




**Hình 24.3** *Cấu trúc và quá trình xử lý PSA.*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer, 2005)




**Hình 24.4** *Tình trạng tiến thoái lưỡng nan của phẫu thuật cắt bỏ tuyến tiền liệt*

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer, 2005

**(3)** Trong khi dịch tễ học UTTTL phản ánh sự phụ thuộc phần nào vào tuổi tác của bệnh và được thổi phồng lên bởi các cải tiến trong việc phát hiện thì mức tăng thực sự vẫn chưa rõ ràng trong thống kê. Nguyên nhân khó bóc tách. Một số bằng chứng liên quan tới UTTTL là các yếu tố thuộc lối sống ở các nước công nghiệp Phương Tây.

Tỷ lệ mắc bệnh UTTTL ở các quốc gia Phương Tây rất khác so với các nước Đông Á hoặc các vùng thuộc Địa Trung Hải. Nổi bật hơn là với những người di cư thế hệ thứ 2 từ các nước này tới Hoa Kỳ thì tỷ lệ mắc bệnh UTTTL tương tự như những người Mỹ. Nguyên nhân cơ bản chủ yếu vẫn dựa vào suy đoán nhiều hơn. Các nguyên nhân về sự di trú chỉ ra rằng, những sự khác biệt di truyền không phải là các yếu tố nổi trội. Đặc biệt là các đa hình trong chuyển hóa hormone đã được khảo sát nhưng không thấy khác biệt đặc thù nào được phát hiện. Theo một hướng khác là sự tiếp xúc riêng biệt với các hợp chất estrogen trong môi trường. Các thành phần của cây cỏ gọi là 'estrogen thực vật' (phytoestrogen) cũng được coi như là các chất bảo vệ và nhiều chất hóa học tổng hợp chứ không phải vô tình giải phóng vào môi trường trong những năm 1950 và 1960 đã được bàn luận trong phần "sự gây rối của nội tiết" (endocrine disruptor). Các nghiên cứu về những hợp chất này vẫn đang tiếp tục nhưng vẫn chưa có lời kết.

Bằng chứng tuyệt vời chỉ ra mối quan hệ giữa chế độ ăn và UTTTL. Một số thực phẩm đặc biệt và vi chất đặc biệt đã được phát hiện có quan hệ với nguy cơ UTTTL. Chế độ ăn với nhiều chất béo bão hòa và các sản phẩm từ sữa dường như có liên quan với việc gia tăng nguy cơ UTTTL. Những khẩu phần ăn giống nhau này thiếu các chất vi dinh dưỡng bảo vệ, vitamin và các thành phần có trong cây cỏ như selenium, folate, lycopene (từ cà chua) và genistein (từ đậu tương), những chất này đều tương quan với việc làm giảm các nguy cơ UTTTL. Rõ ràng, đó là tất cả mọi thứ nhưng nó lại không có giá trị với việc xác định hiệu ứng tổ hợp của chúng là như thế nào. Các yếu tố khác thuộc lối sống có thể hòa trộn ảnh hưởng cùng chế độ ăn không có lợi cho sức khỏe. Ví dụ như hút thuốc là hay uống rượu, tuy nhiên đó chưa phải là các yếu tố quan trọng bậc nhất mà một số dẫn liệu cho thấy có một mối quan hệ giữa nguy cơ UTTTL và việc không luyện tập thể dục thường xuyên.

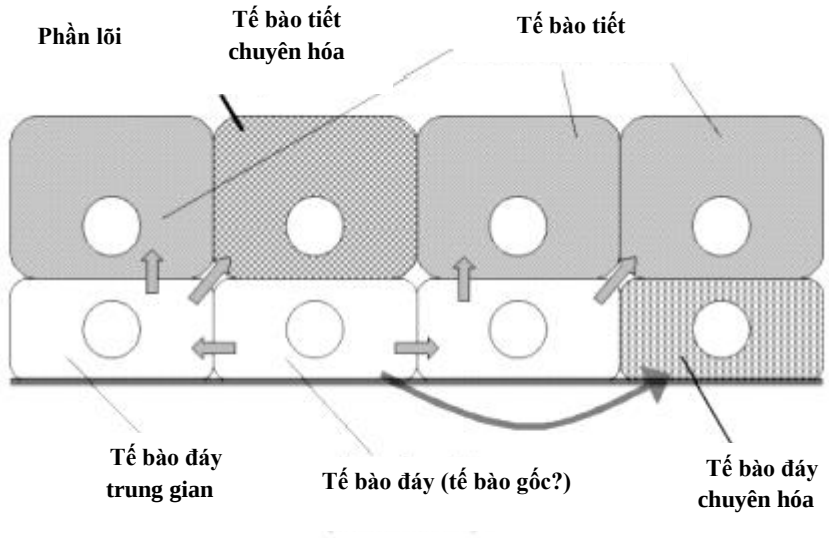
Một vấn đề đối với sinh học phân tử là do các cơ chế mà ở đó các yếu tố thuộc lối sống có thể ảnh hưởng tới nguy cơ ung thư. Chưa có chất sinh ung thư ngoại sinh xác định nào được biết trong UTTTL và vì thế căn bệnh này có thể thường là gây nên bởi các quá trình nội sinh. Nhiều phát hiện riêng lẻ đã chỉ rõ vai trò quan trọng của các mẫu oxy phản ứng. Chúng bao hàm cả chế độ ăn giầu năng lượng nhưng lượng selenium thấp – những thành phần kiến tạo quan trọng của glutathion peroxidase. Tương tự như vậy, các kiểu gen yếu hơn của OGG1 glycosylase với chức năng loại bỏ guanine oxy hóa khỏi DNA có thể mở đường tới UTTTL. Thực sự thì dung lượng của các base DNA bị oxi hóa trong TTL có thể tăng lên theo tuổi. Tuy nhiên, GSTP1 isoenzyme gây bất hoạt các chất chuyển hóa ưa điện tử bị điều hòa xuống sớm trong các carcinoma TTL lại do cường methyl hóa promoter.

Một kiểu liên kết khác có thể được trung gian bởi các yếu tố tăng trưởng giống insulin mà mức độ của nó phụ thuộc vào lối sống, ví dụ như chế độ ăn và việc tập thể dục, đồng thời nó cũng phụ thuộc vào sự kiến tạo di truyền. Trong một nghiên cứu với phạm vi lớn cho thấy nguy cơ UTTTL rất tương quan với các mức cao của IGF1 và các mức thấp của các protein liên kết ức chế IGFBP3 ở tuổi trung niên.

Với các nghiên cứu thật hấp dẫn như vậy thì rõ ràng là các chất sinh ung thư trong UTTTL có khả năng là đa yếu tố và các cơ chế của nó thì vẫn chưa được rõ hoàn toàn. Khuyến cáo hiện nay đối với việc phòng chống UTTTL vì thế tương đối là không đặc hiệu.

## 24.2. ANDROGEN VÀ UNG THƯ TUYẾN TIỀN LIỆT

Tuyến tiền liệt sản xuất ra một phần tinh dịch. Hầu hết tất cả các UTTTL đều nảy sinh từ biểu mô tuyến, bao gồm một lớp đáy và một lớp tiết. Trong tuyến bình thường thì các TB đáy kiến tạo nên phần tăng sinh. Chúng nảy sinh ra các tế bào trung gian biệt hóa tận cùng thành các TB tiết, lót ở các ống và sản xuất ra các protein đặc hiệu TTL như PSA. Chúng quay vòng chậm và liên tục được thay thế (Hình 24.5).

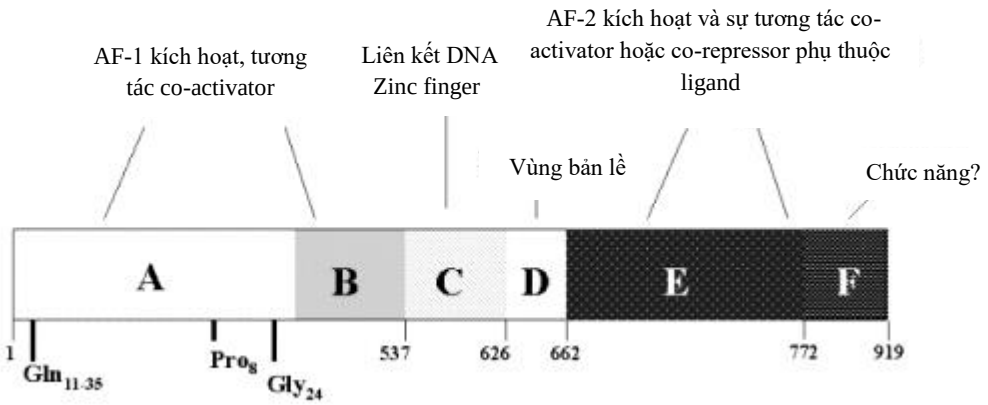



**Hình 24.5** *Mô học của tăng sinh và biệt hóa tế bào trong tuyến tiền liệt bình thường*

Sơ đồ giả thuyết này nói chung là được chấp thuận, mặc dầu vẫn còn tranh cãi. Một tập hợp nhỏ của TB đáy được cho là đại diện cho các tiền thân của các TB biệt hóa của lớp lõi theo cách thức của các TB trung gian. Chưa xác định được mức độ các đặc tính tế bào gốc khác, đặc biệt là liệu chúng có sinh ra các tế bào chuyên hóa ở lớp đáy hay không, ví dụ như các tế bào nội tiết thần kinh. Nhiều tế bào ở lớp đáy biểu lộ kiểu hình trung gian và có khả năng là đại diện cho quần thể khuếch đại tức thời của mô. Chúng trợ giúp cho việc dịch chuyển của lớp tiết trong quá trình biệt hóa. Các tế bào gốc không có receptor androgen, thiết nghĩ là từ giai đoạn tế bào trung gian.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer, 2005

Các TB tiết biểu hiện với mức cao receptor androgen (AR) và sự sống sót cũng như chức năng của chúng phụ thuộc vào androgen. Các TB ở lớp đáy bao gồm một số ít hoặc không có receptor androgen. Receptor androgen (Hình 24.6) là thành viên của họ receptor hormone steroid và có liên quan chặt chẽ với receptor estrogen. Domain AR-2 gắn androgen theo cùng phương thức như các ESR gắn estrogen.

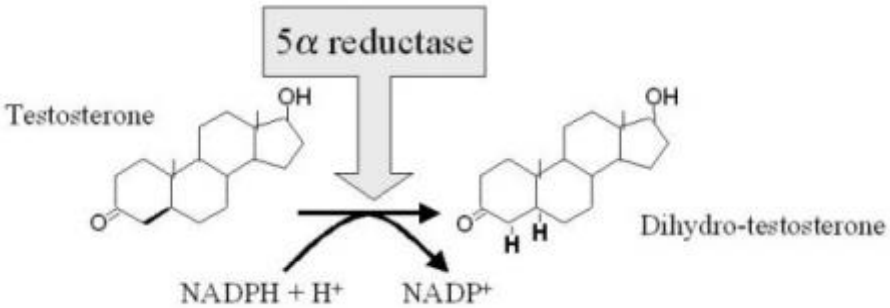



**Hình 24.6** *Cấu trúc của receptor androgen*

Các domain được vẽ theo tỷ lệ. Lưu ý rằng lặp aa trong domain A là đa hình.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer, 2005

Androgen trọng yếu hiện diện khắp cơ thể là testosterone. Trong TTL nó chuyển đổi một cách cục bộ thành dihydrotestosterone gắn receptor androgen với ái lực cao hơn 10 lần. Phản ứng này được xúc tác bởi 5α-reductase (Hình 24.7). Receptor androgen cũng hiện diện trong các TB đệm trung mô. Những TB này được kích thích bởi testosterone và dihydrotestosterone để sản xuất ra các yếu tố tăng trưởng FGF và IGF điều hòa tăng sinh và sự sống sót của các TB biểu mô, đặc biệt là biểu mô đáy không có receptor androgen.




**Hình 24.7** *Phản ứng của 5α –reductase chuyển đổi testosterone thành dihydrotestosterone*

Phần steroid xảy ra phản ứng được vẽ với nét đậm.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer, 2005

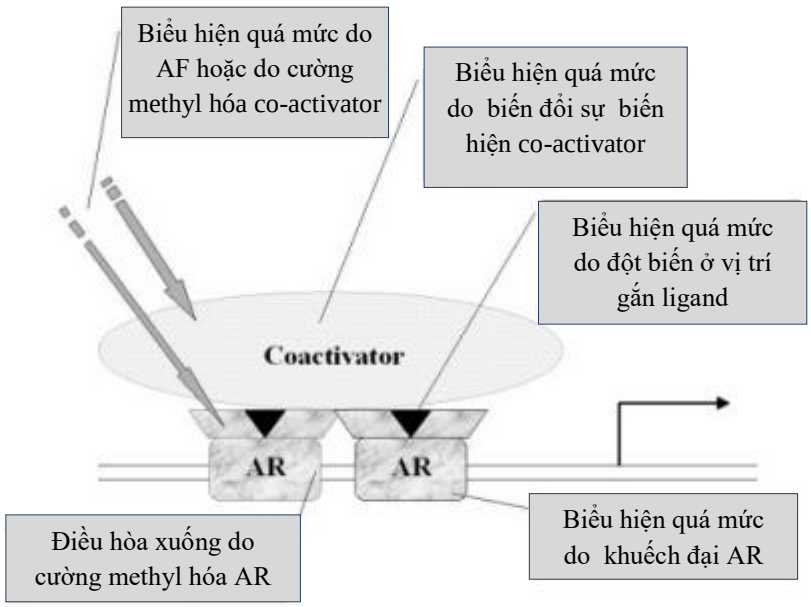
Trong quá trình phát triển phôi và lúc dậy thì, sự trưởng thành (chín) của tuyến cũng phụ thuộc vào androgen. Việc cắt bỏ phần nào trước lúc dậy thì cũng đều làm ngăn chặn sự trưởng thành của TTL cũng như UTTTL. Ở nam giới trưởng thành cũng như vậy, khi loại bỏ đi androgen thì sẽ gây teo tuyến. Những quan sát như thế đã nhắc nhở tới một ý tưởng điều trị UTTTL bằng đối kháng androgen. Điều này có thể được thực hiện bằng cách phẫu thuật cắt bỏ tinh hoàn, ở đó có các tế bào Leydig sản xuất ra >90% androgen trong cơ thể nam giới. Hoặc bằng cách khác là kiềm chế sự tổng hợp androgen nhờ can thiệp vào việc giải phóng hormone tuyến yên LH kích thích sản xuất androgen ở các tế bào Leydig. Vấn đề này thường được thực hiện bằng cách sử dụng các thuốc tương tự như GnRH tác động lên các receptor ở phần dưới đồi cảm ứng sự điều hòa xuống của chúng giống như trong điều trị ung thư vú $ER^+$ tiền mãn kinh. Sau sự đầy ắp ngắn ngủi của LH (và FSH) thì các gonadotropin khác được sản xuất và các tế bào Leydig không tổng hợp androgen nữa. Việc gắn androgen vào receptor androgen một cách luân phiên hay đồng thời có thể bị ức chế bởi các chất kháng androgen liên kết với domain AF-2 của receptor nhưng không trợ giúp cho sự tương tác của nó với các đồng yếu tố hoạt hóa sao chép.

Điều trị kháng androgen đã được sử dụng trong lâm sàng ngoài cách phẫu thuật cắt bỏ TTL hoặc điều trị các di căn. Thực sự thì hầu hết các ung thư đều bị thu nhỏ lại với các dấu hiệu apoptosis trong các tế bào khối u. Tuy nhiên, trừ phi được loại bỏ hoàn toàn bằng phẫu thuật chứ hầu như tất cả UTTTL đều bị tái phát và sau đó không còn đáp ứng với việc tiếp tục điều trị bằng kháng androgen. Phần lớn các điều trị kháng androgen là làm giảm tổng thể khối u, đau và các triệu chứng khác cũng giảm, tuy nhiên cũng không kéo dài sự sống sót được bao nhiêu.

Lý do của vấn đề này là, sự tăng trưởng cao và chắc chắn của UTTTL tái đi tái lại được chi phối bởi các tế bào mà sự tăng sinh và sống sót của chúng phụ thuộc một cách tương đối hay hoàn toàn vào androgen. Vấn đề vẫn đang tranh cãi lâu nay là những tế bào này bắt nguồn từ đâu? Theo ý kiến thứ nhất, các TB phụ thuộc androgen trong khối u đã được biệt hóa *bắt nguồn từ các tế bào gốc khối u thực sự*, nó liên hệ với nhau theo phương thức giống như các TB đáy và các TB tiết trong mô bình bình thường. Dưới áp lực của việc điều trị kháng androgen thì những TB gốc sẽ bị loại bỏ. Theo ý kiến thứ 2 thì khi khởi đầu tất cả các tế bào UTTTL đều phụ thuộc androgen để tồn tại và có thể ngay cả với sự tăng sinh của chúng. Áp lực của việc điều trị kháng androgen sau đó dẫn đến sự chọn lọc dòng tế bào với các TB có thể tăng trưởng được ở mức androgen rất thấp. Những dòng TB này có thể đã tồn tại từ trước trong khối u hoặc được phát triển trong quá trình điều trị. Sự xuất hiện của chúng *có thể được tạo thuận lợi bởi sự bất ổn định hệ gen trong các TB ung thư*. Như vậy, ngay cả về thuật ngữ cũng còn đang tranh cãi. Các UTTTL tiến triển trong một số trường hợp thì gọi là *"độc lập androgen*",

nhưng trong một số trường hợp khác lại gọi là "*không chịu sự kiểm soát của androgen*" (androgen refractory) hoặc thậm chí là "*cường nhạy cảm androgen" (androgen hypersensitive)*.

Thực sự thì các UTTTL tiến triển thể hiện những biến đổi rất rắc rối trong tín hiệu androgen (Hình 24.8).




**Hình 24.8** Tổng quát về những biến đổi tín hiệu androgen trong ung thư tuyến tiền liệt tiến triển

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer, 2005

**(1)** Một số ung thư chứa đựng các khuếch đại gen receptor androgen tại nhiễm sắc thể Xq12. Những sự khuếch đại này làm tăng nồng độ AR và cho phép đáp ứng với mức rất thấp của testosterone.

**(2)** Một số ung thư khác lại chứa đựng các đột biến ở AR, đặc biệt là ở domain kích hoạt liên kết ligand AF-2 cũng như domain cuối N là AF-1 (Hình 24.6). Những đột biến này làm tăng ái lực của receptor với androgen hoặc nâng cao chức năng kích hoạt sao chép của nó. Một số đột biến làm biến đổi tính đặc hiệu receptor làm cho nó đáp ứng được với các steroid khác trong cơ thể như progesterone, dehydroepiandrosterone và ngay cả với các thuốc kháng androgen.

**(3)** Giống như các thành viên khác của siêu họ receptor hormone steroid, receptor androgen kích hoạt sự sao chép thông qua việc bất hoạt các protein đồng yếu tố hoạt hóa khác. Một trong số này biểu hiện quá mức trong UTTTL, trong đó có thể bao hàm nhiều tín hiệu androgen hiệu quả hơn, với các đòi hỏi liên kết ligand thấp hơn.

**(4)** Bản thân các đồng yếu tố hoạt hóa và receptor cũng là các đích của sự phosphoryl hóa bởi các kinase từ một số con đường tín hiệu. Hoạt tính receptor androgen trở nên

phụ thuộc nhiều hơn vào các "giao thoa" và ít phụ thuộc hơn vào liên kết ligand ở nhiều carcinoma TTL. Ở đây, các yếu tố tăng trưởng như TGF hoặc KGF (tên khác là FGF7) làm tăng tín hiệu androgen, có khả năng là thông qua các con đường MAPK. Các cytokine cũng có thể có liên quan, đặc biệt là IL-6 và các yếu tố được sản xuất ra bởi nguyên bào xương và hủy cốt bào (osteoclast) trong các di căn xương. Con đường WNT kinh điển có thể làm kích hoạt receptor androgen thông qua β-Catenin.

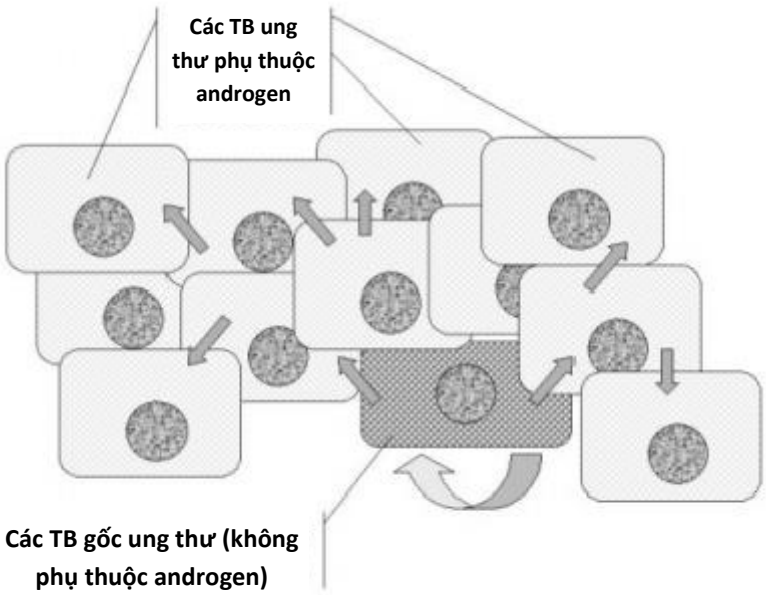
Trong một số trường hợp, các con đường khác có thể hoàn toàn mất quyền kiểm soát sự tăng sinh và sống sót của các tế bào carcinoma TTL, hủy bỏ sự đòi hỏi đối với AR. Hậu quả là, một số UTTTL lại không biểu hiện nó và promoter AR có thể trở nên cường methyl hóa.

Ngoài ra, một số biến đổi di truyền trong các carcinoma TTL tiến triển có thể có sự giảm bớt sự đòi hỏi về tín hiệu androgen trong việc sống sót của TB. Bao gồm các đột biến và LOH ở TP53 và mất PTEN. Những sự biến đổi này có thể tác động chủ yếu do giảm apoptosis. Sự biểu hiện quá mức của BLC2 cũng phát hiện thấy trong một số tập hợp nhỏ UTTTL và dường như là báo hiệu trước cho sự phát triển nhanh hơn tới trạng thái "không chịu sự kiểm soát của androgen (androgen - refractory)". Điều thú vị là, sự biểu hiện của BCL2 ở mô bình thường lại có sự giới hạn với các TB đáy.

Hơn nữa, hầu hết các carcinoma TTL tiến triển đều biểu hiện quá mức EGFR và MYC, không thường xuyên với tư cách là hệ quả của sự khuếch đại gen. Những sự biến đổi sau có thể đi cùng với giảm apoptosis, tăng tốc độ tăng sinh ngoài việc hoàn tất chuyển đổi từ trạng thái "phụ thuộc androgen" sang "độc lập với androgen".

Tuy nhiên, ý kiến đề xuất 1 đã chỉ ra rằng, với những biến đổi này thì các tế bào carcinoma TTL cũng tàn phá ít hoặc nhiều trước tiên vào nơi mà có các TB biểu mô đáy trong cơ quan, tức là sự tăng trưởng và sống sót được điều khiển bởi các peptide yếu tố tăng trưởng, chứ không phải là androgen. Vậy thì tại sao lại không cho rằng UTTTL bắt nguồn từ các tế bào này? Người ta cho rằng các UTTTL khởi đầu chỉ bao gồm một số ít các TB gốc "ẩn nấp" dưới các khối u chính bao gồm các TB biệt hóa xa hơn giống như các TB tiết của TTL bình thường. Tuy nhiên, không giống như các bản sao (counterpart) của chúng, những TB này không làm dừng tăng sinh. Việc điều trị kháng androgen tác động với tư cách là làm giảm nhẹ do giảm bớt đi phần biệt hóa hơn, tuy nhiên nó lại được làm đầy lại từ phần tế bào "ẩn nấp" (Hình 24.9).

Có rất nhiều ý kiến dường như là có tính chất hàn lâm nhưng thực tế lại rất liên quan tới việc phát triển các phương pháp trị liệu UTTTL. Ý kiến thứ 2 dự báo rằng, việc điều trị kháng androgen là tốt hơn và nên có các quy trình có tính chất thường quy chữa trị UTTTL. Còn ý kiến thứ nhất lại dự báo rằng điều này không xảy ra và gen cùng các viêc thay thế các protein không liên quan đến tín hiệu androgen cần đích cho việc trị liệu.




**Hình 24.9** *Ung thư tuyến tiền liệt là bệnh của tế bào gốc và giả thuyết "tế bào ẩn nấp"*
(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer, 2005

## 24.3. DI TRUYỀN HỌC VÀ EPIGENETIC CỦA UNG THƯ TUYẾN TIỀN LIỆT

Một số gen KCKU và gen ung thư liên quan một cách đặc biệt với các ung thư khác như TP53, PTEN, MYC và BCL2 cũng góp phần vào sự tiến triển của UTTTL theo hướng tăng trưởng và di căn độc lập với androgen. Tuy nhiên, dường như là chúng không đáp ứng với sự phát triển khởi đầu của carcinoma này. Tương tự như vậy, các đột biến hoặc đa hình ở những gen này chắc chắn không làm tăng đến 4 lần nguy cơ độ một (first grade) liên quan đến sự phát triển cùng một thứ bệnh của các bệnh nhân UTTTL.

Trong các ung thư chủ chốt khác, các nghiên cứu về hội chứng ung thư di truyền đã giúp cho việc xác định các gen liên quan chủ chốt. Trong UTTTL, cách tiếp cận này rất phức tạp do một số các yếu tố. (1) Có một số ít các trường hợp UTTTL dễ thấy ngay ở những lứa tuổi nhỏ, chứ không phải là tăng theo cấp số nhân khi tới 50 tuổi (Hình 24.2). Đặc biệt là, không có hội chứng di truyền có khuynh hướng rõ ràng tiến tới UTTTL. (2) Với một ung thư xuất hiện muộn trong cuộc đời thì khó mà xác định được một số thế hệ trong một gia đình. (3) UTTTL thường có thể là đa tiêu điểm, nhưng rất khó xác định với tuyến tiền liệt vì nó là một cơ quan nhỏ. Như vậy, tính chất đa tiêu điểm không thể sử dụng để thể phân biệt các trường có tính chất gia đình với các trường hợp rải rác. (4) UTTTL rất thường xảy ra có tính chất gia đình.

Mặc dù với những phiền phức như vậy nhưng nhiều nghiên cứu đã được thực hiện trên phạm vi toàn thế giới. Hầu hết đều để ý đến những gia đình với một số trường hợp

UTTTL, có thể với một hoặc một số ở độ tuổi tương đối trẻ bằng việc sử dụng các marker trên toàn bộ hệ gen để tìm kiếm những mối liên kết không cân bằng. Các vùng trong hệ gen được xác định theo phương thức này sau đó sẽ được khảo sát chặt chẽ hơn, các gen ứng cử viên sẽ được chọn lọc và sàng lọc ra các đột biến không liên quan gì với bệnh.

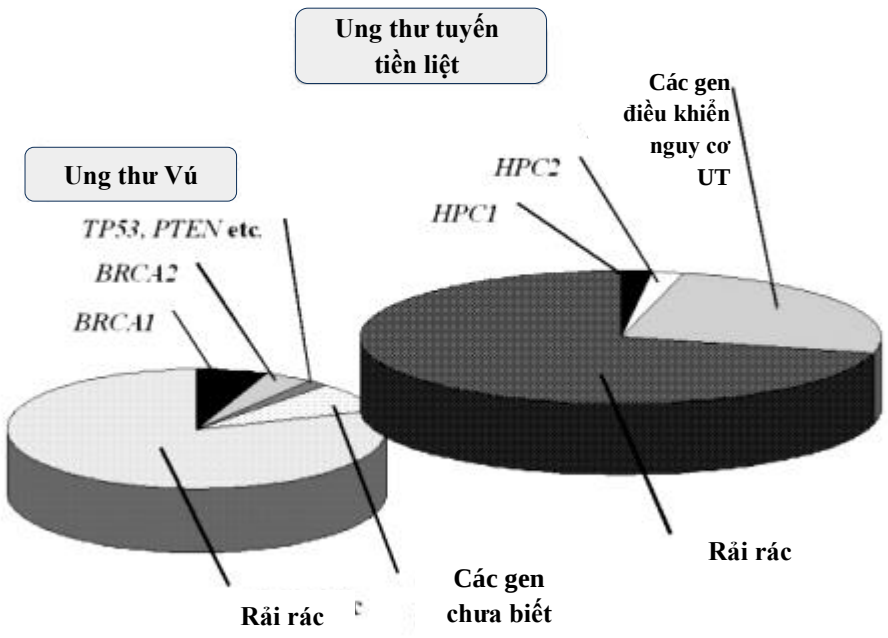
***Bảng 24.1*** *Những biến đổi di truyền và đa hình dẫn đến ung thư tuyến tiền liệt*

| **Gen** | **Định vị** | **Chức năng** | **Các dạng biến thể** |
|---|---|---|---|
| HPC1 (RNASEL) | 1q24 | Ribonuclease | Các đột biến hiếm ở các PCa có tính chất gia đình, thường xuyên đa hình |
| ELCA2 | 17p11 | Điều hòa phân bào? | Các đột biến hiếm ở các Pca có tính chất gia đình, đa hình thường xuyên hơn |
| AR | Xq11.2- Xq12 | Đáp ứng androgen | Đa hình |
| VDR | 12q12- 12q14 | Receptor calcitriol | Đa hình |
| SRD5A1 | 5p15 | Chuyển hóa androgen | Đa hình |
| GSTM1 | 1p13.3 | Giải độc | Đa hình |
| GSTP1 | 11q13 | Bảo vệ tế bào | Bất hoạt GSTP1 trong hầu hết các Pca |
| GSTT1 | 22q11 | | Pca |
| BRCA2 | 13q12.3 | Sửa chữa DNA | Tăng nguy cơ PCa do bất hoạt các đột biến |
| MTHFR | 1p36.3 | Chuyển hóa nhóm methyl | Đa hình |
| IGFBP3 | 7p13-12 | Điều hòa sự hoạt động của các yếu tố tăng trưởng | Đa hình, mức huyết thanh tương quan với nguy cơ PCa |

Trong trường hợp carcinoma TTL thì có khoảng chục các gen khác nhau trong hệ gen liên quan với các quần thể trên khắp thế giới, nhưng chỉ có một số ít là có sự phù hợp giữa các nghiên cứu (Bảng 24.1). Nhiều khả năng là nhóm UTTTL có tính chất gia đình không gây nên bởi sự tác động của một hoặc một số gen có nguy cơ cao. Hơn nữa, các gen khác nhau có thể "trao" cho một mức nguy cơ nào đó, có thể ngay cả bằng sự tương tác với các yếu tố môi trường với sự khác biệt giữa các quần thể và các cá nhân (Hình 24.10).

Phù hợp với ý kiến này, những vùng đã được phân công cho các ứng cử viên các gen carcinoma TTL có thể di truyền, thường hay trải qua LOH nhất trong các ung thư. Cũng phù hợp với ý kiến này, một gen xác định được trong vùng ứng cử viên đầu bảng tại 1q24 có tên là HPC1 (ung thư tuyến tiền liệt di truyền 1) hóa ra lại mã hóa cho RnaseL, liên quan đến sự điều hòa các đáp ứng TB đối với các tác nhân thâm nhiễm. Khi bất hoạt các đột biến và các đa hình xác định trong gen này thì dường như là đi

cùng với việc làm tăng cao nguy cơ UTTTL. Có một ít bằng chứng cho rằng gen này là đích cho "cú hích thứ 2" (second hit) trong mô ung thư TTL. Như vậy, có thể nó không phải là một gen KCKU cổ điển.




***Hình 24.10*** *khuynh hướng di truyền của ung thư tuyến tiền liệt*

Khảo sát tỷ lệ các trường hợp do đột biến ở các gen dấu hiệu. Trong ung thư tuyến tiền liệt (phải) những đột biến thật sự dẫn đến các allele nguy cơ cao trong HPC1 và HPC2 v.v.. có thể là cực kỳ hiếm. Tuy nhiên, sự đa hình ở những gen này và các gen khác có thể điều biến mạnh mẽ nguy cơ do các yếu tố môi trường (chế độ ăn và sự gây nhiễm). Lưu ý rằng, nguy cơ trong các trường hợp rải rác cũng có thể được điều biến bởi các đa hình epigenetic, mặc dầu là yếu hơn. Tình trạng ung thư vú (trái) thì lại rất khác biệt, vì các allele nguy cơ cao ở BRCA1và BRCA2 và nhiều gen khác có thể chiếm một tỷ lệ đáng kể với tất cả các trường hợp.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer, 2005

Tất nhiên có thể tưởng tượng rằng, phản ứng cá thể đối với các thâm nhiễm trong TTL có ảnh hưởng đến nguy cơ của chúng đối với sự phát triển ung thư trong cơ quan này, bằng chứng là thâm nhiễm đã gây nên ung thư gan và ung thu dạ dày. Tuy nhiên, ở giai đoạn này thì mối liên quan chính xác giữa HPC1 và UTTTL vẫn chưa rõ. Đối với một số gen khác liên quan đến sự chuyển hóa hormone thì có một mối liên quan giữa các biến thể đa hình và nguy cơ UTTTL đã được quan sát thấy (Bảng 24.1). Có lẽ gen HPC là gen nhạy cảm có ảnh hưởng lớn một cách đặc biệt.

Cách tiếp cận hữu ích thứ 2 để xác định các gen chính trong ung thư người là theo dõi những thay đổi NST tái đi tái lại. Thực sự thì nhiễm sắc thể 17p và 10q – nơi các gen TP53 và PTEN định vị thường trải qua sự mất mát trong các bệnh UTTTL tiến triển, trong khi đó các đoạn NST 7 và 8q – nơi các gen ERBB1 (EGFR) và MYC định

cư lại được thêm vào thậm chí là khuếch đại. Trong các giai đoạn sớm của carcinoma TTL thì mất NST chiếm ưu thế. Nói chung, sự thay đổi NST thường nhất là mất NST 8p, cùng với việc mất tương đối phổ biến 13q, 6q và 16q. Nhờ việc lập bản đồ các vùng thường bị xóa bỏ đã thu được một số vùng và nhiều chất KCKU ứng cử viên, nhưng vai trò của chúng thì vẫn chưa được thiết lập một cách đầy đủ. Những vấn đề gặp phải này cũng tương tự như trong trường hợp locus KCKU nghi ngờ là tại 9q trong ung thư bàng quang.

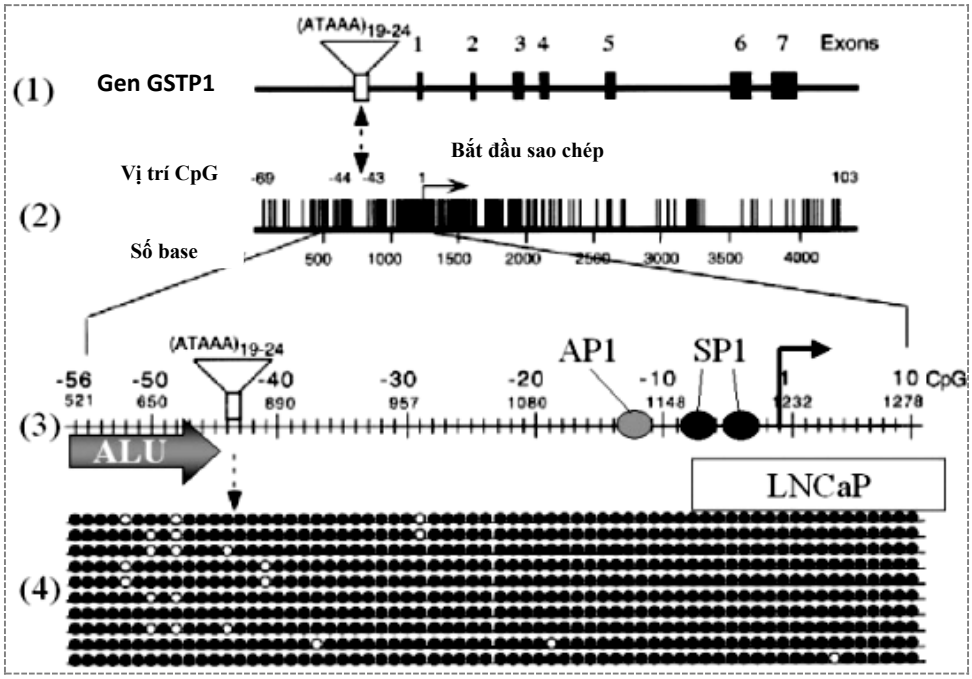
Ứng cử viên thuyết phục nhất là NKX3.1 (cũng gọi là NKX3A) mã hóa cho một yếu tố sao chép có domain homeobox ( chuỗi DNA liên quan đến các qui định về mô hình phát triển giải phẫu). NKX3.1 đặc hiệu phần lớn với các TB biểu mô bị cảm ứng bởi androgen và rất có khả năng là cần thiết đối với sự biệt hóa đặc biệt của biểu mô TTL. Chuột knockout công nghệ hóa thiếu yếu tố thất bại trong việc phát triển TTL chức năng và chuột bán dị hợp (hemizygous) thì biểu lộ cường tăng sinh biểu mô TTL. Trong khía cạnh này thì NKX3.1 sẽ là một ứng cử viên KCKU tốt. Về vấn đề ức chế, nói chung nó được chấp nhận là chất KCKU trong hầu hết các UTTTL, bao hàm sự mất dị hợp tử LOH hoặc mất hoàn toàn 8p, ít nhất là một allele của gen nhưng vẫn duy trì được chức năng và thường biểu lộ gần với mức kỳ vọng (50% mức bình thường). Chấp nhận NKX3.1 như là một chất KCKU thì người ta sẽ phải đưa ra một tiên đề là phải giảm dần sự biểu hiện của nó tới mức ½ bình thường thì mới đủ để bất hoạt chức năng của nó. Sự "thiếu hụt một nửa" (haploinsufficiency) như thế cũng đã được mặc nhiên công nhận đối với các gen khác, dĩ nhiên là rất khó chứng minh trong một khối u người thực sự. Vấn đề này đặc biệt với carcinoma TTL thì người ta nghĩ rằng nó thường là dị hợp (heterogeneous) và luôn luôn chứa đựng một lượng đáng kể chất nền. Vì thế vẫn còn nghi ngờ rằng, những sự thay đổi quan trọng trong gen có thể đã không được phát hiện vì lý do kỹ thuật.

Liên quan tương tự như vấn đề này là các chất KCKU mới trong UTTTL. Như vậy thì PTEN rõ ràng bị bất hoạt trong một số carcinoma TTL do mất một allele và sự đột biến của allele thứ 2; thậm chí cả mất dị hợp tử cũng đã quan sát thấy. Tuy nhiên, trong nhiều carcinoma TTL thì gen vẫn còn nguyên vẹn nhưng nó bị điều hòa xuống một cách mạnh mẽ. Điều đó có khả năng là mất allele PTEN cũng đã đủ để thúc đẩy sự tiến triển của khối u trong TTL, trong khi đó mất toàn bộ chức năng sẽ là đặc trưng của các ung thư rất tiến triển.

Tương tự như vậy, RB1 định vị ở 13q14 telomeric đến một vùng đã trải qua LOH và mất mạng lưới trong nhiều UTTTL, nhưng vẫn còn một bản sao RB1 nguyên vẹn, mặc dầu mức biểu hiện của nó vẫn còn đang tranh cãi. Như vậy, có lẽ khái niệm "cổ điển" đối với các chất KCKU mà đòi hỏi phải bất hoạt cả 2 allele có thể không áp dụng trong trường hợp các carcinoma TTL. Thực sự thì khái niệm "di truyền được" nhằm giải thích sự phát triển ung thư do những biến đổi tổng thể trong những thành viên các bản

sao liên quan không đòi hỏi tuyệt đối với các sự kiện đột biến. Có lẽ điều đó sẽ hữu ích để hiểu biết thêm về UTTTL.

Trong khi những ý niệm này đều mang tính chất lý thuyết thì một điều rõ ràng là các cơ chế epigenetic rất quan trọng trong UTTTL và có thể giải thích cho một số phát hiện không mong đợi ở mức di truyền học. Đặc biệt là những biến đổi của sự methyl hóa DNA thường không phổ biến trong UTTTL. Một trong số các biến đổi phù hợp nhất là sự bất hoạt gen GSTP1 mã hóa cho enzyme bảo vệ, kháng lại các hợp chất có nguồn gốc từ bên trong hay bên ngoài. Mất sự biểu hiện xảy ra rất sớm trong quá trình phát triển ung thư có thể giúp cho các TB khối u nhạy cảm với các tổn hại hệ gen khác. Mất GSTP1 hầu như luôn luôn gây nên bởi các cơ chế epigenetic và thường đi kèm bởi sự cường methyl hóa dày đặc của promoter gen (Hình 24.11). Hơn nữa, có đến hàng chục các gen đã được báo cáo là trở nên cường methyl hóa một cách phối hợp do một loại "thảm họa epigenetic" (epigenetic catastrophe) ở quanh giai đoạn khởi đầu và có lẽ ngay cả trong các ung thư nội biểu mô TTL tiến triển. Các gen khác bao gồm các gen mã hóa cho các phân tử kết dính tế bào như E-Cadherin và CD44 cũng trở nên cường methyl hóa muộn hơn và các gen khác nữa như PTEN thì dường như lại bị điều hòa xuống do các cơ chế epigenetic mà không trở nên cường methyl hóa.




**Hình 24.11** *Cường methyl hóa promoter GSTP1 trong các tế bào ung thư tuyến tiền liệt*

(1) Cấu trúc gen GSTP1; (2) Đảo CpG của nó, mỗi hàng chỉ một ví trí CpG; (3) 66 CpG định vị trong 757 nt quanh vị trí bắt đầu sao chép. Phần cuối của yếu tố ALU và 3 yếu tố sao chép gắn các vị trí đã được chỉ định. (4) Trong dòng tế bào carcinoma tuyến tiền liệt (LNCaP), hầu hết tất cả các vị trí này đều bị methyl hóa, trong khi đó ở mô bình thường thì tất cả CpG 3' của lặp ATAAA vẫn chưa bị methyl hóa.

(Theo Stirzaker et al, Cancer Res. 64, 3871ff, 2004)

Những quan sát này mang các khía cạnh thú vị cho việc chẩn đoán và điều trị UTTTL. Cường methyl hóa các đảo CpG như trong gen GSTP1 có thể dễ dạng phát hiện với độ nhạy và đặc hiệu cao vì các đảo CpG không bị methyl hóa trong mô bình thường. Như vậy, việc phát hiện cường methyl hóa của GSTP1 và các gen phụ cũng được phát triển cho các thử nghiệm hiện nay về carcinoma TTL. Cũng vì sự bất hoạt gen epigenetic nên về nguyên lý đó là thuận nghịch nên UTTTL có thể là một đích đặc biệt cho các chất ức chế đối với histone deacetylase, histone methylase và DNA methyltransferase mà hiện nay đang được phát triển. Trong tế bào và các mô hình động vật về UTTTL thì ít nhất những hợp chất này có hiêu quả là nhờ sự cảm ứng apoptosis.

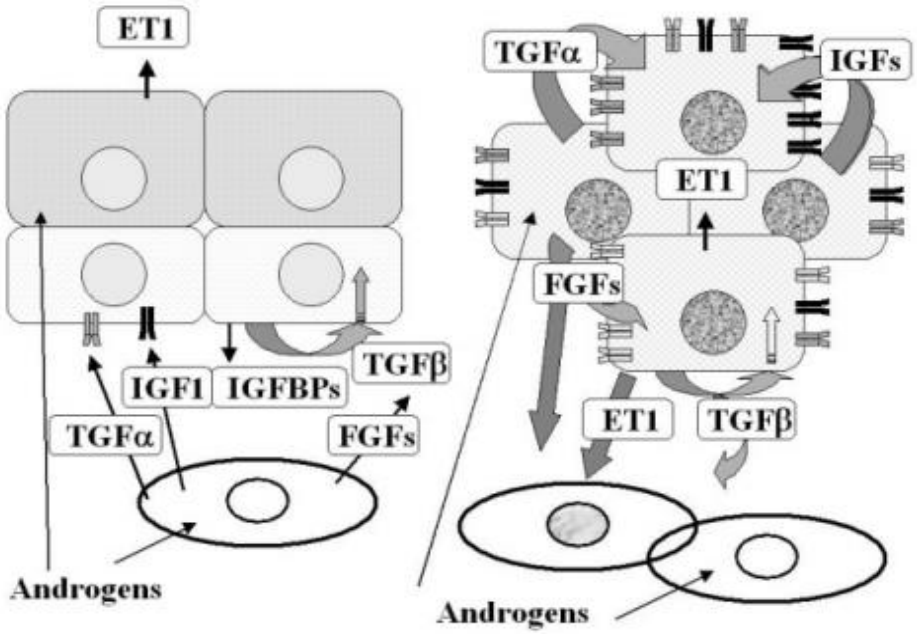
## 24.4. TƯƠNG TÁC GIỮA CHẤT NỀN VÀ KHỐI U TRONG UNG THƯ TUYẾN TIỀN LIỆT

Trong mô TTL, sự tăng sinh và sống sót của các TB biểu mô được kiểm soát bởi các yếu tố tăng trưởng và các protein gian bào được cung cấp bởi các TB trung mô bao quanh tuyến cũng như các chất dinh dưỡng và oxy thông qua các mạch máu ở trung mô. Các mô của của TTL cũng giống như các cơ quan khác là phụ thuộc vào sự tương tác tương hỗ giữa các TB biểu mô và TB đệm. Khi UTTTL tiến triển, những mối liên lệ này thay đổi, đáng kể nhất là trong các di căn.

Nói chung, sự tiến triển của khối u có liên quan đến việc tăng cao tăng trưởng có tính chất tự trị. Trong một số ung thư, sự tự trị tăng trưởng này được thiết lập do các đột biến ở các gen điều hòa chu kỳ tế bào hoặc do sự kích hoạt không thích hợp các con đường ung thư kiểm soát chu kỳ tế bào. Trong nhiều ung thư bao gồm cả UTTTL thì các vòng yếu tố tăng trưởng tự tiết cũng góp phần vào sự tự trị tăng trưởng. Tuy nhiên, tất cả các ung thư đều phụ thuộc vào sự tương tác với chất nền với các mức độ khác nhau và mối liên hệ này đặc biệt quan trọng trong quá trình di căn. Trong khía cạnh này thì UTTTL có thể xếp ở cuối bảng vì ung thư này vẫn duy trì các tương tác dày đặc với các TB đệm ở các vị trí nguyên phát cũng như di căn. Tuy nhiên, những mối liên hệ này thật sự là một bức tranh biếm họa trong mô bình thường vì chúng bị bóp méo bởi những thay đổi di truyền và epigenetic trong các TB carcinoma cũng như trong chất nền.

Trong TTL bình thường, các TB biểu mô tăng sinh dưới ảnh hưởng của các yếu tố tăng trưởng như FGH và các peptide liên quan EGH (Hình 24.12). Các receptor đối với các yếu tố này có mặt chủ yếu ở bề mặt đáy của lớp TB đáy ở biểu mô. Các yếu tố tăng trưởng giống insulin có thể tác động với tư cách là các yếu tố sống sót thông qua receptor IGFR1. Protein gắn IGF là IGFBP3 có thể làm giới hạn sự tác động của IGF1. Các TB tiết luminal dường như đòi hỏi thêm các androgen để sống sót.

Các chất điều hòa âm khác của sự tăng sinh TB biểu mô là các yếu tố TGFβ được sản xuất ra với một mức thấp bởi chính các TB biểu mô. Tuy nhiên, với mức độ này có thể đã đủ để trợ giúp với mức độ thấp sự tăng sinh của các TB trung mô, cần để duy trì mô.




**Hình 24.12** *Tương tác cận tiết giữa biểu mô và chất nền trong tuyến tiền liệt và trong ung thư tuyến tiền liệt*

Trái: tuyến tiền liệt bình thường; phải: ung thư tuyến tiền liệt (minh họa đơn giản). Đặc biệt là tăng việc tiết yếu tố tăng trưởng bởi các TB chất nền (không được thể hiện) và các cơ chế dẫn đến nâng cao tăng trưởng chất nền và tạo mạch cũng không được mô tả ở đây.

(Theo Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer, 2005

Yếu tố cận tiết khác là peptide 21 amino acid endothelin-1 (ET-1) tiết chủ yếu vào tinh dịch bởi các TB biểu mô tiết, nhưng cũng có thể tác động lên biểu mô TTL bình thường. Các TB trong chất nền TTL biểu hiện receptor endothelin A (ETA)-một receptor liên kết G. Nó sử dụng $Ca^{2+}$ với tư cách là tín hiệu thứ 2 và có khả năng giao thoa với receptor tyrosine kinase. Vì thế, endothelin và các peptide tương tự có thể tác động một cách hiệp đồng với các yếu tố tăng trưởng giống EGF. Tuy nhiên, các TB biểu mô TTL bình thường lại không biểu hiện ETA, nhưng một receptor "hót rác" ETB lại liên kết và loại bỏ đi ET-1.

Trong quá trình sinh ung thư này có những thay đổi một cách trật tự về mặt tổ chức (Hình 24.12). Các TB carcinoma TTL tổng hợp các FGF, đặc biệt là FGF1 và FGF2 cũng như các yếu tố giống EGF, đặc biệt là TGFα. Receptor đối với các yếu tố FGF và yếu tố giống EGF trở nên biểu hiện mạnh mẽ và không còn giới hạn trong các TB đáy, mà biểu hiện khắp phần biểu mô ung thư. Các yếu tố giống insulin được sản xuất ra với tốc độ cao, có khả năng do cả carcinoma và chất nền, đặc biệt là tăng mức IGF2. Trái lại, IGFBP3 lại bị điều hòa xuống ở mức độ sao chép và do sự phân giải proteolytic của protein tiết. Những sự thay đổi này cùng nhau trợ giúp cho việc nâng

cao sự tăng sinh và sống sót một cách chủ động của các TB carcinoma. Đặc biệt là các FGF, chúng cũng kích thích sự tăng sinh của các TB đệm và FGF2 là một trong số các yếu tố tạo mạch tiềm năng nhất.

Có vẻ hơi nghịch lý là sự tổng hợp các yếu tố TGFβ lại tăng lên trong carcinoma TTL. Tuy nhiên, các dưới đơn vị receptor, đặc biệt là TGFβRII lại bị điều hòa xuống trong các TB carcinoma. Vì thế, hiệu ứng ức chế tăng trưởng đè lên các TB carcinoma bị giảm nhẹ, trong khi đó sự tăng sinh của các TB đệm lại được kích thích. Đặc biệt là IGFβ lại cảm ứng việc tu sửa chất nền ngoại bào cần thiết cho sự xâm lấn và tạo mạch. Hơn nữa, đặc biệt là ở các giai đoạn muộn của sự xâm lấn thì hiệu ứng kiềm chế miễn dịch của TGFβ có thể sẽ rõ ràng.

Việc sản xuất endothelin vẫn được duy trì trong các TB carcinomqa TTL. Tuy nhiên khi so sánh với các TB biểu mô TTL thì ETA được điều hòa lên, còn ETB lại bị điều hòa xuống. Như vậy, đến lúc này thì ET-1 tác động lên cả các TB biểu mô cũng như các TB đệm.

Ở một số giai đoạn của tăng trưởng cục bộ khối u thì vòng tự tiết HGF/MET cũng được thiết lập giống như nhiều carcinoma khác. Trong UTTTL, sự biểu hiện của cả HGF và MET dường như là tăng lên dần dần. Nó có thể được khởi đầu do sự thiếu oxy. Sự kích hoạt MET là cao hơn so với các receptor tyrosine kinase khác nên đã cảm ứng tung ra (scattering) sự tăng sinh của các TB biểu mô và xu hướng thay đổi hình dạng về phía TB trung mô. Thực sự thì, sự chuyển đổi của các dạng Cadherin có thể xảy ra trong quá trình xâm lấn của UTTTL, điều đó liên quan một cách đặc biệt với quá trình chuyển đổi trung-biểu mô. Vấn đề này có nghĩa là, trong thực tế một số các TB đệm hiển hiện trong một số khối u TTL ác tính có thể là các TB ung thư. Tuy nhiên, các di căn của UTTTL thường bao gồm các TB biểu mô hay biểu hiện E-Cadherin. Như vậy, quá trình chuyển đổi này có thể xảy ra rất nhanh chóng hoặc có thể chỉ liên quan tới phần các TB carcinoma.

Thiếu oxy cũng gây cảm ứng biểu hiện VEGF, nó hiệp đồng cùng với các FGF và ET-1 để cảm ứng sự tạo mạch. Thực sự thì việc tăng mật độ các mạch máu nhỏ và dòng chaỷ cục bộ của máu là một dấu hiệu chẩn đoán của UTTTL.

Cuối cùng, sự xâm lấn của khối u đòi hỏi tăng biểu hiện của các protease để tu sửa lại mô, trợ giúp cho sự dịch chuyển của các TB khối u cũng như giải phóng ra các yếu tố tăng sinh tiềm ẩn từ bề mặt TB và chất nền ngoại bào. Nhiều protease như thế, đặc biệt là metalloproteinase chất nền (MMP) được sản xuất ra bởi các TB carcinoma đã đóng góp các uPA và tất nhiên cả những kallikrein protease như PSA. PSA chỉ là một trong số các các protease của lớp này được tiết vào tinh dịch và nó được thiết kế một cách hệ thống như là hK3. Như vậy, hK3 và các thành viên khác của họ này được tiết ra và kích hoạt ở mô carcinoma tuyến tiền liệt.

Những sự thay đổi này cùng nhau chuẩn bị con đường cho các tế bào UTTTL đi đến tăng trưởng vượt ra ngoài khỏi phạm vi cơ quan và mở rộng, xuyên qua hạch bạch huyết và các mạch máu tới các phần khác của cơ thể. Các di căn ở hạch bạch huyết thường được thiết lập trước tiên. Vị trí thường xuyên nhất đối với các di căn thuộc hệ tạo máu là xương, nơi mà các tế bào UTTTL thoát mạch để vào phía bên trong giàu mao mạch. Các xương sống lưng là đích đầu tiên do giải phẫu học. Tuy nhiên, lý do giải phẫu chưa đủ để giải thích cho việc ưu tiên một cách rõ ràng của các UTTTL di căn tới mô xương. Thay vì, mối quan hệ này là một trường hợp điển hình cho giả thuyết "hạt giống và đất".

Các di căn xương có thể là sự tiêu xương (osteolytic) hoặc nguyên bào xương (osteoblastic). Trong di căn tiêu xương thì hiệu ứng nổi bật của khối u là sự hòa tan của xương, trong khi đó trong di căn nguyên bào xương thì hiệu ứng nổi bật là kích thích sự hình thành xương. Các TB khối u trong xương tương tác với những TB này kích thích một trong hai loại tế bào hoặc cả 2. Các di căn UTTTL nổi bật là nguyên bào xương.

Trong mô xương, các TB carcinoma TTL thiết lập một vòng luẩn quẩn, chủ yếu với nguyên bào xương. Sự kích thích tự tiết do FGF và các yếu tố tăng trưởng giống EGF vẫn còn quan trọng. Sự tạo mạch cũng được thúc đẩy trong các mô di căn nhờ FGF và VEGF. Tuy nhiên, đặc tính quan trọng cho phép các TB carcinoma TTL thiết lập di căn ở xương là sự thích ứng của chúng đối với mô do sự tương tác với các quần thể TB cục bộ đặc hiệu – sự bắt chước tế bào. Như vậy, các TB carcinoma TTL di căn trong xương ứng xử theo phương thức "bắt chước TB xương" (osteomimetic).

Các TB carcinoma TTL tiết ra các yếu tố TGFβ và ET-1 kích thích sự tăng sinh và trưởng thành (chín) của nguyên bào xương. Chúng cũng tiết ra các protein hình thái học (BMP) tác động lên những TB này. BMP cũng sử dụng các con đường tín hiệu nội bào tương tự như TGFβ, nhưng có các receptor riêng biệt. Trong khi các tế bào UTTTL mất đáp ứng với TGFβ thì chúng lại duy trì đáp ứng với BMP. Như vậy, các tế bào carcinoma TTL trong xương giống các nguyên bào xương ở chỗ đáp ứng với BMP và ET-1, chúng phát triển mạnh trong cùng một vi môi trường.

Việc tiết ra các protease bởi các TB carcinoma vẫn quan trọng trong các di căn xương. Đặc biệt là uPA và các kallikrein protease giải phóng ra các yếu tố tăng trưởng tiềm ẩn và cho phép mở rộng khối lượng của khối u. Hơn nữa, protease còn phân cắt và làm bất hoạt peptide liên quan đến hormone cận giáp (PTHrP). Vì đây là một yếu tố tăng trưởng quan trọng đối với nguyên bào xương nên sự bất hoạt của nó có thể là bước quyết định làm lệch cán cân giữa sự tái hấp thu xương và sự tổng hợp xương theo kiểu gen nguyên bào xương. Ung thư vú cũng di căn tới xương nhưng các di căn thường là tiêu xương (osteoclastic) hơn là nguyên bào xương (osteoblastic). Điều này có thể do việc tiết PTHrP bởi các tế bào ung thư này.

Trong các di căn UTTTL thì cả tiêu xương và nguyên bào xương vẫn còn hoạt hoạt động vì các nguyên bào xương kích hoạt tiết ra các yếu tố kích thích sự tăng sinh và trưởng thành của các tiền thân hủy cốt bào, đặc biệt là protein RANK-L. Vì thế, hiệu ứng tổng thể là tăng sự xoay vòng, có lẽ với tiêu xương thì nó cho phép ung thư được mở rộng, đồng thời cũng giải phóng ra các yếu tố như IGF1 trợ giúp cho các TB ung thư. Sau đó, những TB này kích thích hủy cốt bào sản xuất ra các chất khoáng mới của xương làm tăng thực sự khối lượng xương vô tổ chức. Một cách hệ thống thì giảm calci huyết (hypocalcemia) có thể phát triển một cách cục bộ, tiếp sau là đau.

Tất cả những câu chuyện này này là các vấn đề cốt lõi đối với UTTTL tiến triển, nó bị trầm trọng thêm do các hiệu ứng của các ung thư tái phát cục bộ và các di căn trong các tổ chức khác, ví dụ như phổi. Trong nước tiểu và huyết thanh có thể phát hiện được các marker sinh hóa về tăng sự xoay vòng của xương. Sự tiến triển của các di căn có thể chậm chạp và nhiều triệu chứng có thể được giảm nhẹ do các thuốc "biphoshonate" can thiệp vào sự tái hấp thu của xương hoặc do xạ trị cục bộ. Tuy nhiên, quá trình tổng thể như thế là quá mạnh nhờ các phương pháp trị liệu hiện đại.

## *TÓM TẮT*


❖ *Ung thư tuyến tiền liệt (UTTTL), gọi chính xác là adenocarcinoma tuyến tiền liệt, trở nên ý nghĩa lâm sàng tới 10% với tất cả nam giới ở các nước công nghiệp Phương Tây. Bệnh này ít khi xảy ra ở những người trẻ, nhưng tỷ lệ mắc bệnh tăng cao liên tục theo tuổi tác.*

❖ *Liệu trình lâm sàng của UTTTL có sự thay đổi khác nhau giữa các khối u, tăng trưởng chậm qua nhiều thập kỷ để thành các ung thư hiếu chiến, mở rộng một cách cục bộ rồi di căn tới xương và các cơ quan khác, giết chết bệnh nhân trong vòng vài năm.*

❖ *Phát hiện UTTTL nhờ các phương pháp hình ảnh hiện đại, đặc biệt do việc sử dụng marker kháng nguyên đặc hiệu TTL trong huyết thanh (biochemical serum marker prostate specific antigen – PSA), một marker có độ nhạy rất cao và đặc hiệu vừa phải. Các marker phân tử để phát hiện UTTTL vẫn đang được tìm kiếm.*

❖ *Androgen và receptor androgen (AR) là trung tâm trong nghiên cứu UTTTL rất nhiều năm và là đại diện cho những đích trị liệu can thiệp. Hầu hết các UTTTL đáp ứng với điều trị bằng cách làm cạn kiệt androgen và phong tỏa receptor, rõ ràng là liên quan tới apoptosis. Không may là cách điều trị này chỉ làm giảm nhẹ và kéo dài đôi chút sự sống sót, bởi vì ung thư chứa đầy các tế bào có sự biến đổi đáp ứng đối với androgen - đó là "vật chịu lửa" đối với điều trị kháng androgen. Một số cơ chế cũng góp phần, bao gồm các đột biến và khuếch đại gen AR cũng như những sự thay đổi trong con đường tín hiệu tác động lên AR.*

❖ *Tỷ lệ mắc các bệnh UTTTL có sự khác biệt rất lớn giữa các nước thuộc Tây - Bắc Âu và Đông Nam Á. Sự khác biệt này có thể một phần do tuổi thọ của dân cư ở các nước công nghiệp và sự hoàn thiện cách phát hiện với các phân tích thí nghiệm PSA. Một khác biệt khác là các yếu tố lối sống của Phương Tây đã thúc đẩy UTTTL. Một ứng cử viên trong số đó là chế độ ăn giàu chất béo bão hòa và lượng thấp vitamin cũng như các chất vi dinh dưỡng từ hoa quả và rau.*

❖ *Các gen liên quan đến UTTTL có tính chất gia đình không ứng xử như là các chất kiềm chế khối u cổ điển. Rất nhiều đa hình ở các gen có liên quan đến sự chuyển hóa và tác động của hormone, sự chuyển hóa nucleotide và việc bảo vệ TB có thể điều biến nguy cơ UTTTL.*

❖ *Những thay đổi khởi đầu trong UTTTL, nổi bật là mất NST và các cơ chế khác dẫn đến điều hòa xuống sự biểu hiện gen. Đặc biệt là sự yên lặng của một số gen do cường methyl hóa, trùng với sự khởi đầu của ác tính. Sự phát hiện các TB khối u bằng các thử nghiệm cường methyl hóa vì thế là sự trông đợi đặc biệt trong UTTTL.*

❖ *Các gen KCKU và gen ung thư liên quan đến các ung thư khác như TP53, PTEN, MYC và ERBB1 dường như là có tầm quan trọng nổi bật trong quá trình tiến triển carcinoma tuyến tiền liệt. Những sự thay đổi đầu tiên trong UTTTL chủ yếu là do giảm apoptosis và biến đổi tương tác với các TB đệm.*

❖ *Với tư cách là các chất kiềm chế khối u (KCKU) trong các trường hợp có tính chất gia đình, một số ứng cử viên KCKU trong các UTTTL rải rác không trải qua sự biến đổi di truyền ở allele thứ 2. Vì thế, có khả năng đó là những biến đổi có tính chất định lượng do giảm liều lượng (dosage) gen hoặc bất hoạt epigenetic chứ không phải là những biến đổi định tính do các đột biến gây khởi đầu UTTTL.*

❖ *Những TB biểu mô trong TTL bình thường tương tác chặt chẽ với các TB trung mô phía dưới, cung cấp các yếu tố tăng trưởng, phần nào để đáp ứng với các androgen. Trong suốt quá trình phát triển của chúng, các UTTTL dường như vẫn phụ thuộc mạnh mẽ vào các TB đệm, có lẽ là nhiều hơn so với các carcinoma khác. Những sự tương tác trung-biểu mô mãnh liệt thậm chí vẫn được duy trì ở các di căn xương, ở đó các tế bào UTTTL dường như tìm thấy "mảnh đất"(soil) phù hợp để sống sót và tăng trưởng. Ở đây một vòng "luẩn quẩn" có thể được thiết lập, trong đó các TB ung thư kích thích sự đột biến và sự hoạt động của nguyên bào xương và TB tủy xương sản xuất ra các yếu tố tăng trưởng và thúc đẩy sự tăng trưởng và sống sót của các tế bào ung thư.*

# CHƯƠNG XXV: UNG THƯ ĐẦU VÀ CỔ

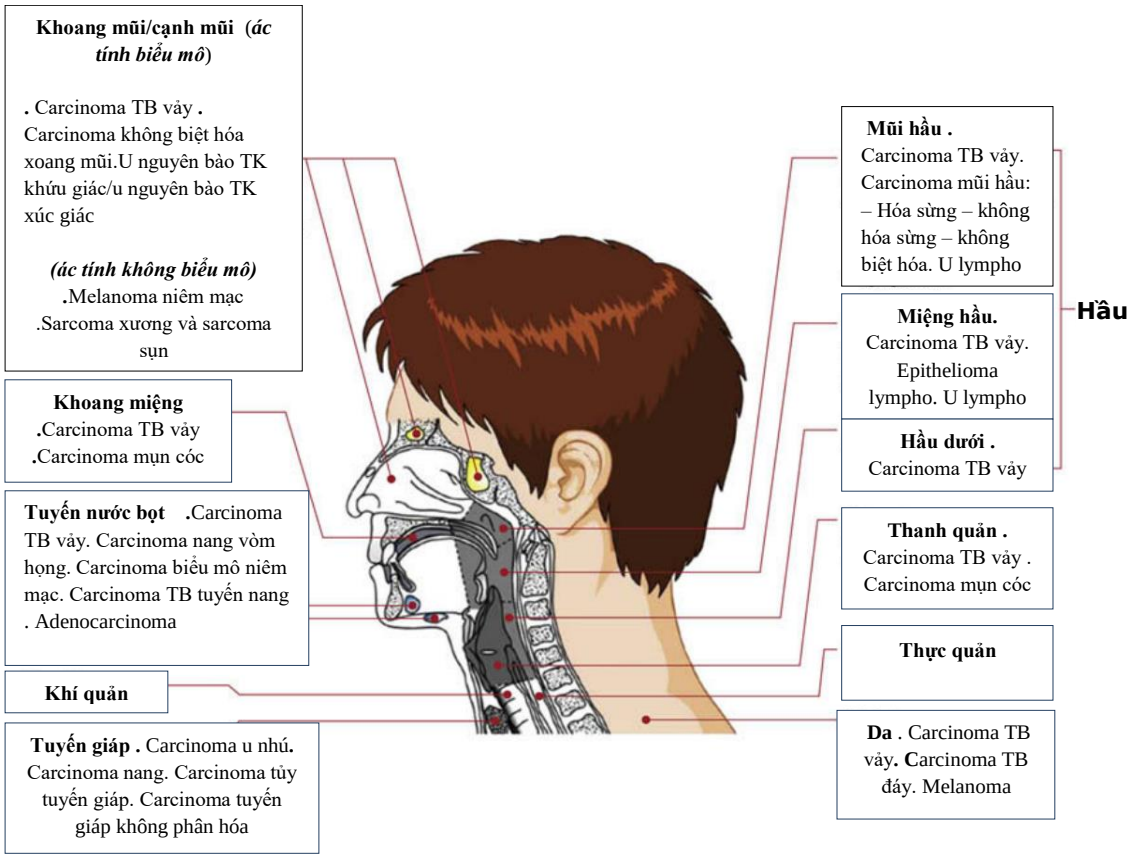
## 25.1. CƠ SƠ PHÂN TỬ CÁC YẾU TỐ NGUY CƠ PHÁT TRIỂN UNG THƯ ĐẦU VÀ CỔ

Yếu tố nguy cơ được biết rõ nhất đối với sự phát triển ung thư đầu và cổ là thuốc lá. Thật vậy, Carcinoma TB vảy đầu và cổ (HNSCC) là một trong số các carcinoma có liên quan đến các đột biến p53 gây nên do việc sử dụng thuốc lá. Sử dụng alcohol hiệp đồng cùng với thuốc lá đã gây nên HNSCC. Có một yếu tố nguy cơ hình thành nên một thói quen "văn hóa" khác cũng có liên quan đến HNSCC đó là trầu cau – một loại quả được nhai cùng vôi và thậm chí cả thuốc lào gây kích thích đã được sử dụng bởi 200-400 triệu người khắp vùng Đông Nam Á. Trầu được kết hợp vào các loại thuốc của châu Á để điều trị đã gây nhiều phiền hà từ các bệnh đau đầu đến thấp khớp. Tỷ lệ chênh lệch của sự phát triển bạch sản (leukoplasia) và xơ dưới niêm mạc (submucous fibrosis) từ việc sử dụng trầu là 5/1 so với với những người không ăn trầu. Bổ sung thêm thuốc lá sẽ làm tăng nguy cơ gấp 3 lần. Thời gian và tần suất của việc sử dụng trầu cũng làm tăng nguy cơ phát triển ung thư, điều đó cho thấy có mối quan hệ về sự đáp ứng liều.

Khói thuốc lá có liên quan đến những thay đổi về cấu trúc DNA, đặc biệt là những thay đổi do oxy hóa. Benzo[a]pyro diol epoxide (BPDE)- một chất gây ung thư được biết đến là từ thuốc lá đã gây cảm ứng những rối loạn di truyền do hình thành các sản phẩm cộng DNA đồng hóa trị trên toàn bộ hệ gen, bao hàm cả p53. Sự tổn thất được cảm ứng bởi BPDE và các chất sinh ung thư như thế có thể được sửa chữa lại thông qua hệ thống sửa chữa cắt bỏ nucleotide (NER). Cùng với hệ thống NER, hệ thống sửa chữa base (BER) là một bộ khác của phức hợp enzyme đa giai đoạn liên quan đến việc sửa chữa hư tổn DNA không đặc hiệu do bức xạ gamma và tia cực tím, liên kết chéo và sự hình thành các sản phẩm cộng giữa các chuỗi nội và ngoại. Hệ thống BER xử lý số lượng lớn nhất các tổn thương base đột biến và độc tố tế bào bằng sự loại bỏ đặc hiệu những biến đổi của các cặp base đơn bị methyl hóa, khử hóa hoặc oxi hóa cũng như việc sửa chữa sự gián đoạn của chuỗi đơn trong DNA. Vì thế những biến đổi cá thể trong NER/BER là một trong số các yếu tố có thể ảnh hưởng bởi khói thuốc – liên quan tới các nguy cơ ung thư như HNSCC.

Một số nghiên cứu đã chứng minh rằng, những biến đổi trình tự trong các gen ở NER/BER cũng góp phần vào tính nhạy cảm HNSCC. Sản phẩm của gen ERCC1 là một enzyme quan trọng trong hệ thống NER và một đa hình đặc biệt ở gen ERCC1 là C8092A có thể ảnh hưởng tới tính ổn định mRNA của nó, dẫn đến khả năng sửa chữa

DNA bị suy yếu. Hai đa hình nucleotide đơn (SNP) ở gen XPD là Asp312Asn và Lys751Gln cũng là một bộ phận của thác NER, đã được xác định là có liên quan đến năng lực sửa chữa DNA dưới mức tối ưu. Có 2 dữ liệu mâu thuẫn về SNP trong hệ thống BER và thiên hướng phát triển HNSCC. Li và cộng sự trong một nghiên cứu kiểm chứng lớn nhất với 830 bệnh nhân HNSCC và 854 đối tượng kiểm chứng không ung thư nhằm đánh giá sự tiến triển HNSCC dựa trên nền tảng các đa hình ở 3 SNP không đồng nghĩa tại BER. Mặc dầu enzyme của hệ thống BER là XRCC (Arg399Gln) luôn làm tăng nguy cơ HNSCC đối với những người Caucase, nhưng Li và cộng sự cũng kết luận rằng sự đa hình ở các gen ADPRT của hệ thống BER có liên quan với HNSCC và chứng minh rằng các cá thể có kiểu gen ADPRT762Ala/Ala và Ala/Ala1val/Ala thì có nguy cơ phát triển HNSCC thấp hơn so với những cá thể có kiểu gen Val/Val. Các nghiên cứu khác cũng làm sáng tỏ khuynh hướng di truyền của phát triển HNSCC khi đối mặt với thuốc lá, điều đó sẽ đem lại những lợi ích về mặt dự phòng sức khỏe trong tương lai cho những người nhạy cảm với các đa hình.




**Hình 25. 1** *Sự đa dạng của ung thư đầu và cổ. Các chẩn đoán mô bệnh lý hiện nay tại các vị trí phụ khác nhau ở đầu và cổ.*

(Theo Michael E. Stadler, Mihir R. Patel, Marion E. Couch, David Neil Hayes. Hematol Oncol Clin N Am 22:1099-1124, 2008)

Cần sa là thuốc bất hợp pháp thường được sử dụng tại Hoa Kỳ và là chất được thường được hút thứ 2 sau thuốc lá. Thói quen hút cần sa có biểu hiện các dấu hiệu và triệu chứng tương tự như sử dụng thuốc lá kinh niên. Hơn nữa, các tính chất gây ung thư trong khói cần sa cũng tương tự như thuốc lá và đã có nhiều nghiên cứu về sử dụng cannabinoids (cần sa) với phát triển ung thư. Cần sa đã được chứng minh là gây những thay đổi di truyền tế bào, bao gồm sự bẻ gãy, xóa bỏ và chuyển vị NST trong các tế bào động vật có vú. Cho tới gần đây vẫn chưa có đủ bằng chứng thể hiện mối quan hệ nhân quả gây nên do sử dụng thuốc lá, tuy vậy HNSCC do virus gây u nhú ở người (HPV) thì có thể có liên quan với cần sa.

Có hàng loạt các biến thể dòng mầm hiếm hơn các SNP mà gọi đúng ra là các đột biến. Những sự kiện di truyền hiếm gặp này có thể là không thường xuyên hoặc được bảo tồn trong các gia đình và thường được nhận ra bởi sự thấm nhập cao của một số hội chứng có tính chất gia đình. Thiếu máu fanconi nổi tiếng với nguy cơ phát triển ác tính dòng lympho lưới do những đột biến dòng mầm trong các gen "người chăm sóc" như FAA, FAD và FCC, có nguy cơ phát triển ung thư nguyên phát thứ 2 ở lưỡi, xoang hình quả lê và vùng hình nhẫn. Những bệnh nhân có hội chứng Bloom được đặc trưng bởi các đột biến ở gen helicase và mở đường cho sự phát triển các khối u rắn ở một số vị trí giải phẫu, 6% và 8% trong số đó nảy sinh từ lưỡi và thanh quản. Người đồng hợp tử mất điều hòa giãn mao mạch, sống tới độ tuổi 20 và 30 thì tăng nguy cơ phát triển bệnh bạch cầu tế bào T mãn tính và các khối u ác tính ở khoang miệng, vú, dạ dày, tụy, buồng trứng và bàng quang. Bệnh khô da sắc tố - một rối loạn NST thường lặn của một hoặc nhiều hơn các gen XP trong hệ NER, biểu hiện các nguyên phát thứ cấp ở khoang miệng, ngoài các nguy cơ đã rõ là các u ác tính ở da. Những hội chứng khác như thế và các gen chịu ảnh hưởng (trong dấu ngoặc đơn) với các biểu hiện chính ở đầu và cổ, bao gồm bệnh Cowden (PTEN), đa ung thư nội tiết type I (MEN I), đa ung thư nội tiết type II (MEN II), u xơ thần kinh type II (NF-2) và u nguyên bào võng mạc (Rb).

Các hội chứng ung thư di truyền nói chung đều được nhận ra bởi sự khởi phát sớm của các u ác tính ở các cá thể bị ảnh hưởng cũng như những mẫu đặc hiệu hay bất thường của các khối u. Chẳng hạn như, hội chứng tương đối hiếm là đa ung thư nội tiết type IIA rõ ràng có mối liên hệ với các đột biến dòng mầm của gen tiền ung thư RET. Mặc dầu MEN IIa là hiếm, nhưng gen RET lại liên quan đến hàng loạt khối u và là đích bởi các thuốc kháng ung thư như vandetanib.

## 25.2. NHỮNG MỐI LIÊN QUAN VỚI VIRUS VÀ BỆNH CARCINOMA TẾ BÀO VẢY ĐẦU VÀ CỔ

Gần đây, thâm nhiễm HPV đã được xác định là một tác nhân bệnh nguyên của carcinoma hầu họng, một tập hợp nhỏ SCC bao gồm đáy lưỡi và amidan. Những bệnh

nhân HNSCC hầu họng có các gen HPV đã hợp nhất vào hệ gen khối u của chúng là những người còn trẻ (3-5 tuổi) và ít có khả năng có tiền sử hút thuốc và sử dụng rượu.

Điều đáng ngạc nhiên nhất là mặc dầu tỷ lệ mắc bệnh HNSCC (1973-2004) nói chung đã giảm liên tục (theo giám sát dịch tễ học và các dữ liệu kết quả), nhưng tỷ lệ mắc ung thư hầu họng vẫn gia tăng ở các nhóm tuổi trẻ. Điều đáng lo ngại là tỷ lệ HNSCC liên quan với HPV vùng hầu họng có thể đuổi kịp HNSCC không liên quan với HPV, người ta nghĩ rằng nó có liên quan nhiều hơn với các yếu tố nguy cơ có tính chất truyền thống.

Có nhiều bằng chứng cho rằng thâm nhiễm các dưới type HPV nguy cơ cao, đặc biệt là HPV-16 là một yếu tố nguy cơ phát triển ung thư hầu họng. Trên thực tế, Gillison và cộng sự đã tuyên bố rằng, với các HNSCC dương tính và âm tính với HPV của hầu họng nên được phân loại thành 2 ung thư khác biệt dựa trên cơ sở các yếu tố nguy cơ phân tử và lâm sàng cũng như nguồn gốc của bệnh. Theo sự nghiên cứu kiểm chứng của họ, những bệnh nhân có nguy cơ SCC hầu họng dương tính với HPV-16 thì mức độ hoặc thời gian hút thuốc lá hoặc uống rượu cũng không làm tăng tỷ số chênh lệch của HNSCC dương tính HPV-16. Mặc dầu các nghiên cứu kiểm chứng không gắn kết với việc sử dụng cần sa với HNSCC âm tính nhưng Gillison và cộng sự đã chứng rằng có mối liên quan chặt chẽ giữa việc sử dụng cần sa với HNSCC dương tính HPV-16 và tiếp tục đưa ra các giả thuyết về các cơ chế có thể thừa nhận được về việc điều tiết của cannabinoid đối với hệ miễn dịch.

Những chủng HPV nguy cơ cao (HPV-16 và HPV-18) có liên quan đến SCC hầu họng (và ung thư cổ tử cung) điều khiển các con đường TB trong các TB bị ảnh hưởng để kích hoạt tăng trưởng TB và kiềm chế apoptosis. Sự biến nạp ác tính bắt đầu với việc làm bất hoạt gen kiềm chế khối u p53 bởi E6, trong khi đó một protein HPV thứ 2 là E7 lại làm bất hoạt protein KCKU nguyên bào võng mạc (Rb). Các protein E6 và E7 được mã hóa trong hệ gen của HPV-16, làm phá vỡ chức năng điều hòa chu kỳ TB và các con đường sửa chữa DNA điều khiển những biến đổi di truyền và epigenetic trong quá trình tiến triển phân tử của HNSCC. E6 nhắm đích vào protein ligase ubiquitin tế bào E6-AP, sau đó nhắm vào p53 làm nó bị ubiquitin hóa và suy thoái, khiến tăng trưởng TB không được kiểm soát. E7 liên kết với Rb và p21 ngăn chặn sự tương tác của Rb với E2F và bắt đầu phân chia tế bào một cách không kiểm soát.

Không chỉ những khối u dương tính với HPV mới hình thành là chịu sự bất hoạt các gen KCKU từ hệ gen virus mà một số gen liên quan đến sự phiên mã và điều hòa chu kỳ tế bào cũng nằm trong số các gen được điều hòa lên nổi bật nhất trong những khối u này. Một chất ức chế chu kỳ TB như thế là CDKN2A, mã hóa cho protein kiềm chế khối u $p16^{INK4A}$ có chức năng như là một chất ức chế kinase phụ thuộc cyclin trong con đường kiềm chế khối u Rb. Tăng biểu hiện $p16^{INK4A}$ có thể phản ánh một cách tiềm

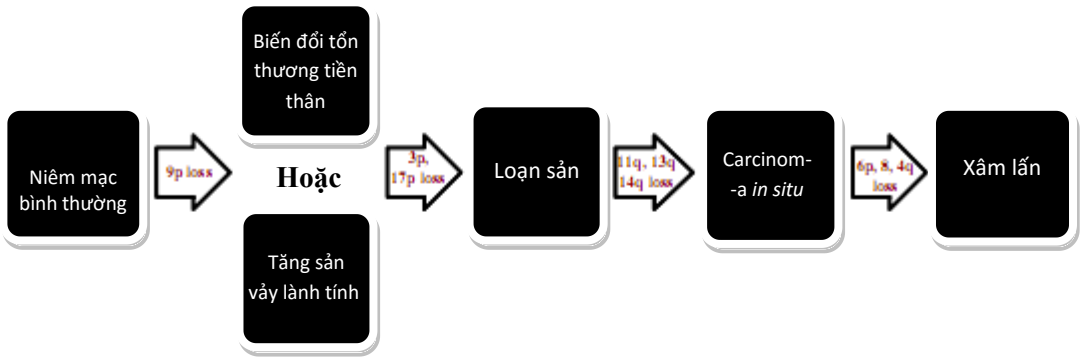
năng sự mất vòng (loop) thông tin phản hồi âm liên quan tới sự bất hoạt của Rb bởi HPV E7. Sự biểu hiện của $p16^{INK4A}$ tương quan chặt chẽ với thâm nhiễm HPV ở carcinoma đầu và cổ và được sử dụng như là một marker đại diện cho HPV.

Điều đáng quan tâm là các khối u dương tính với HPV lại liên quan đến hình thái học tế bào không keratin hóa. Các phân tích rộng lớn gần đây đã chỉ ra rằng 26% HNSCC từ tất cả các vị trí đều có chứa DNA hệ gen HPV và hiện nay người ta ước tính có trên 50% HNSCC hầu họng là có liên quan đến sự thâm nhiễm HPV. Mặc dầu lai *in situ* và các kỹ thuật PCR đã có sẵn nhưng vẫn chưa có các test lâm sàng tiêu chuẩn được chuẩn y bởi FDA đối với các khối u HNSCC dương tính HPV.

## 25.3. SỰ SINH UNG THƯ (TUMORIGENESIS/CARCINOGENESIS)

Trong trường hợp HPV- một virus gây rối loạn quá trình TB bình thường, còn trong trường hợp mà hầu hết các bệnh nhân đều phát triển carcinoma là do sự tích lũy từng bước những thay đổi di truyền. Có 3 bước chủ yếu, bao gồm sự khởi đầu, xúc tiến và tiến triển. Để cho quá trình nhiều bước này thành công thì nhiều quá trình TB và những sự hỗn loạn sẽ phải xảy ra. Việc tạo ra sự thay đổi di truyền sớm, quan trọng, khởi đầu sẽ giúp cho việc thiết lập quá trình sinh ung thư. Sự tiếp xúc với các yếu tố gây ung thư có thể dẫn đến  biểu hiện không bình thường các gen KCKU, các gen tiền ung thư hoặc cả hai, mà đến lượt mình nó lại kích hoạt con đường dẫn đến biến nạp ác tính của TB. Thông thường thì sự biểu hiện bất thường này có thể bao gồm các đột biến rải rác, xóa bỏ, mất dị hợp tử, biểu hiện quá mức hoặc những biến đổi epigenetic như cường methyl hóa. Chẳng hạn như telomerase-một enzyme liên quan tới sự bất tử chỉ rõ là được tái kích hoạt với khoảng 90% HNSCC, trong khi đó sự xóa bỏ 9p21 được phát hiện ở 70-80% các trường hợp. Các đột biến điểm khác nhau ở p53 và mất dị hợp tử 17p được chỉ rõ là tồn tại với trên 50% tổn thương HNSCC. Khi điều này xảy ra thì những biến đổi di truyền thứ cấp sẽ tạo ra sự bất ổn định di truyền lớn hơn, tế bào thay đổi tới một kiểu hình ác tính hơn (Hình 25. 2). Đặc biệt là sự bất hoạt của các gen KCKU sẽ cho phép tiếp tục tăng sinh TB một cách mất điều hòa và tự điều khiển, tự tăng trưởng. Các gen tiền ung thư cũng giữ vai trò quan trọng trong sinh ung thư vì nó trợ giúp cho các tế bào đạt được kiểu hình ác tính.

Sáu dấu ấn của các TB ung thư đã được mô tả để phân biệt chúng với các TB khác: (1) Tự túc các tín hiệu tăng trưởng. (2) Vô cảm với các tín hiệu ức chế tăng trưởng. (3) Tránh né sự chết TB theo chương trình. (4) Bất tử hoặc tiềm năng sao chép không giới hạn. (5) Duy trì sự hình thành mạch. (6) Xâm lấn mô và di căn. Trong các phần sau chúng tôi sẽ đề cập đến các con đường chủ chốt, các receptor và protein liên quan đến việc khởi đầu hoặc tiến triển HNSCC liên quan đến các khía cạnh của 6 dấu ấn này. Đó là sự tích lũy các bất thường đặc hiệu như đã mô tả và có khả năng các sự kiện di truyền và những biến đổi khác cũng có trong nội dung của các quá trình sinh ung thư ở HNSCC.




**Hình 2** Sự tiến triển di truyền của HNSCC. Những biến đổi di truyền liên quan với sự tiến triển tổ chức học của HNSCC dựa trên cơ sở mất các chất liệu NST (mất allele). Những biến đổi di truyền xảy ra trước thương tổn nơi thường xuyên có các sự kiện đặc biệt. Đó là sự tích lũy và không cần trật tự của các sự kiện di truyền, xác định sự tiến triển. Một phần nhỏ các tổn thương tăng sản vảy lành tính bao hàm việc mất 9p21 hoặc 3p21 cho thấy các tổn thương tiền thân không xác định (hoặc tế bào) có thể nảy sinh ra sự loạn sản. Các gen KCKU ứng cử viên, bao gồm p16 (9p21), p53 (17p) và Rb (13q) và các gen tiền ung thư ứng cử viên, bao gồm cyclin D1 (11q13).

(Theo Courtesy of Joseph A. Califano, Baltimore)

## 25.4. VÙNG UNG THƯ HÓA

Mặc dầu không chính xác là tại sao HPV lại nhắm vào những vị trí xác định ở đầu và cổ, nhưng dường như là có một hiện tượng tổng quát hơn đã nhìn nhận thấy ở những người hút thuốc lá, ở họ có một vùng rộng của mô bị tổn hại và nảy sinh nhiều khối u ác tính cũng như các khối u xâm lấn. Năm 1953, Slaughter và cộng sự lần đầu tiên đã đưa ra giả thuyết: các khối u nguyên phát hiện lên từ một lớp mô tiền ung thư hóa và đặt tên là "vùng ung thư hóa" (field cancerization) sau khi chứng minh được các biến đổi bệnh lý tổ chức học phù hợp với những biến đổi di truyền từ niêm mạc bình thường. Sau 40 năm giả định của Slaughter và cộng sự về vùng ung thư hóa thì Califano và cộng sự đã minh chứng được cở phân tử của những biến đổi bệnh lý tổ chức học. Các mẫu niêm mạc loạn sản và các tổn thương tăng sản lành tính có biểu hiện mất dị hợp tử ở các locus đặc biệt như 9p21[20%], 3p21[16%], 17p13[11%]. Đặc biệt là mất 9p21 hoặc 3p21 là một trong số các sự kiện có thể phát hiện được sớm nhất dẫn đến tiến triển loạn sản. Từ loạn sản, những biến đổi di truyền khác nữa ở 11q, 13q và 14q sẽ tạo nên carcinoma *in situ* (xem Hình 25. 2).

Tỷ lệ tái phát cao ở các vị trí của khối u nguyên phát được cho là kết quả thực tế của 30% biểu mô TB vảy lành tính về mặt bệnh lý tổ chức học, bao gồm một số quần thể dòng, với những biến đổi di truyền thấy ở HNSCC. Các nghiên cứu với việc sử dụng các phân tích microsatellite và bất hoạt nhiễm sắc thể X đã chứng minh rằng những tổn thương đồng nhất và không đồng nhất từ các vị trí giải phẫu khác biệt trong HNSCC

thường được phát sinh từ một dòng thông thường. Bằng chứng này khẳng định rằng những bệnh nhân mà niêm mạc đã có những biến đổi về di truyền thì khó mà chữa khỏi bởi vì nó đã đi vào con đường sinh ung thư. Thật vậy, các nguyên phát thứ cấp sẽ là phổ biến ở những bệnh nhân có HNSCC.

## 25.5. QUÁ TRÌNH CHUYỂN ĐỔI TỪ BIỂU MÔ THÀNH TRUNG MÔ

Có bằng chứng cho thấy những thay đổi cơ bản đối với lặp trình của TB, kể cả TB gốc và cũng có thể liên quan đến sự hình thành khối u. Một chương trình đặc biệt nguy hiểm là quá trình chuyển đổi biểu mô thành trung mô (EMT), một sự thay đổi kiểu hình ở những TB đã làm cho chúng có khả năng thoát khỏi những sự ràng buộc bởi các cấu trúc mô xung quanh. Mặc nhiên công nhận rằng EMT là một phương tiện để các khối u biểu mô xâm lấn và di căn tới các mô khác. Theo định nghĩa của Hugo và cộng sự thì EMT là cực điểm của những biến đổi protein và những sự kiện sao chép để đáp ứng với các kích thích ngoại bào. Những sự thay đổi này đôi khi dẫn đến những sự thay đổi tế bào đảo ngược dài hạn. Những bất thường ở cadherine, các khớp nối khít và demosome dẫn đến giảm kết dính TB và mất tính phân cực TB, tăng tính di động của các TB này. Đặc biệt hơn là các tế bào biểu mô tháo rời ra các cấu trúc chức năng của chúng, trải qua sự tu sửa chất nền ngoại bào, bắt đầu biểu hiện các protein của gốc trung mô, và rồi sau đó bắt đầu di trú. Quá rình này được mặc nhận là một phần của sự hình thành phôi bình thường, quá trình viêm nhiễm và lành vết thương. Khi quá trình EMT trở nên bệnh lý thì nó thiếu sự phối hợp chặt chẽ và các trạm kiểm soát điều hòa mà thường vẫn hiện diện. Đặc biệt là trong quá trình sinh carcinoma, những sự thay đổi có tính chất nguyên nhân của EMT ở các TB khối u cũng góp phần cho sự xâm lấn và di căn của khối u, cho phép các TB mở rộng ra và có khả năng tự làm mới. Trong HNSCC thì EMT được phát hiện là có vai trò quan trọng, đặc biệt là ở các dưới type của các khối u nguy cơ cao. Chung và cộng sự đã chỉ rõ rằng, các gen liên quan với EMT và việc mất điều hòa tín hiệu yếu tố nhân (NF-κB) là những đặc trưng phân tử nổi bật nhất của các khối u nguy cơ cao trong các tập hợp nhỏ mà họ tiến hành kiểm tra. Mặc dầu rõ ràng là EMT giữ vai trò quan trọng trong việc sinh u ở nhiều ung thư nhưng ý nghĩa lâm sàng đầy đủ của quá trình này thì vẫn chưa được xác định một cách trọn ven.

## 25.6. BIẾN ĐỔI EPIGENETIC

Nhiều chương trình (như đã trình bày ở (Hình 25. 2) là kết quả của những tổn thương trực tiếp của hệ gen. Tuy nhiên cũng có những cơ chế khác về những biến đổi soma có thể được di truyền trong biểu hiện gen mà không đòi hỏi sự biến đổi trực tiếp trình tự DNA. Các phân tử DNA có thể bị biến đổi như gắn thêm vào hay loại bỏ đi các

nhóm methyl mà không có sự thay đổi nào về thành phần base. Tương tự như vậy, histone- một protein cấu trúc được phát hiện là có liên quan chặt chẽ với DNA, nó có thể bị biến đổi do sự acetyl hóa hoặc methyl hóa hay ubiquityl hóa. Những sự thay đổi phi DNA này có thể dẫn đến những biến đổi có thể được di truyền trong các biểu hiện gen có ý nghĩa về mặt lâm sàng, bao gồm cả việc thiết lập ung thư. Các ung thư khác nhau biểu lộ các hành vi khác nhau, có khả năng do nhiều biến đổi epigenetic và các đột biến di truyền xảy ra bên trong môi trường khối u. Cường methyl hóa là một dạng biến đổi như thế ngày càng đặc trưng. Gần đây, người ta đã xác định một thành phần chắc chắn có vai trò trong việc phát triển carcinoma, đó là cường methyl hóa ở những vùng promoter xác định của gen có thể dẫn đến kiềm chế sao chép. Nhiều nghiên cứu liên quan đến quá trình methyl hóa bất thường này trong các gen KCKU, làm cho chúng trở nên bất hoạt.

## 25.7. CON ĐƯỜNG PHÂN TỬ LIÊN QUAN ĐẾN CARCINOMA TẾ BÀO VẢY ĐẦU VÀ CỔ

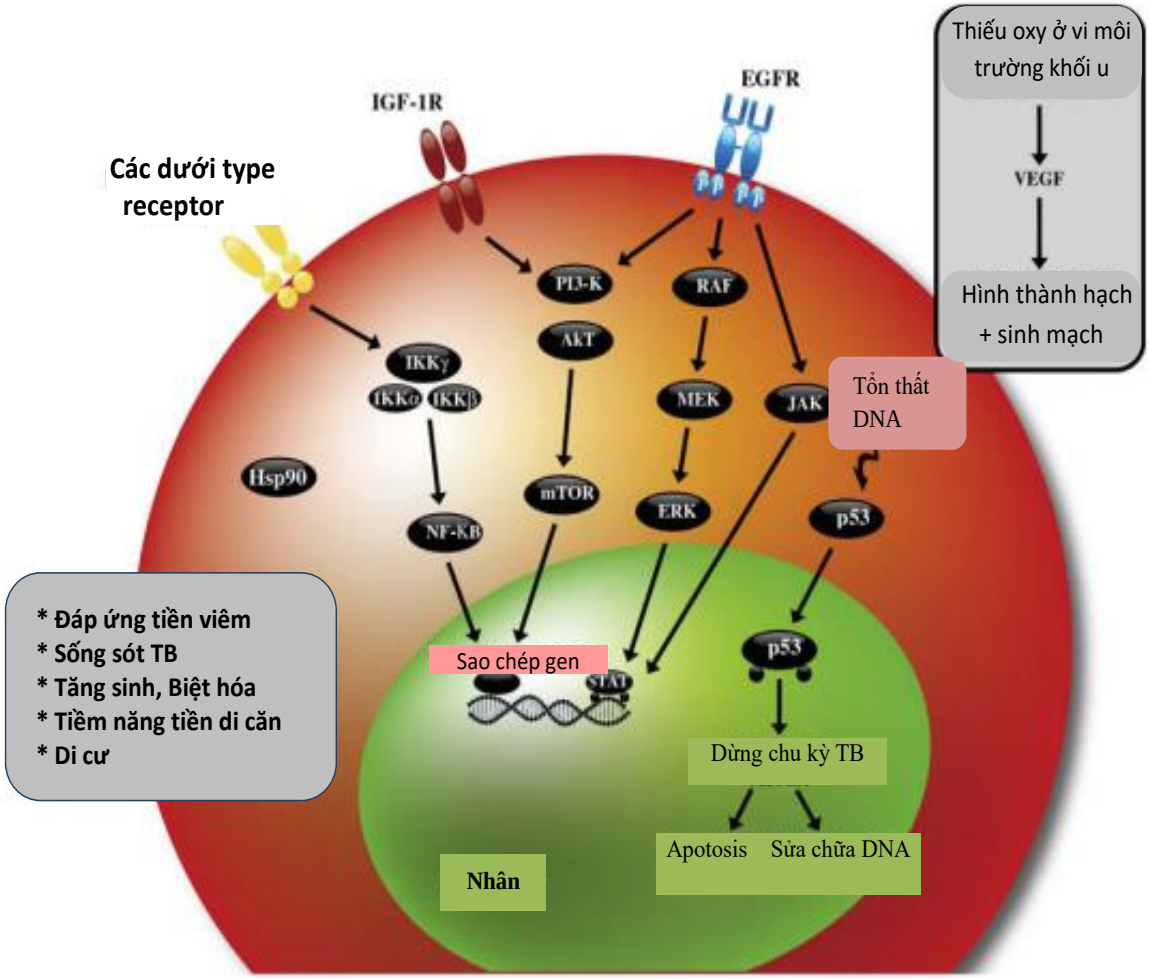
Càng ngày các hệ thống mô hình và các kỹ thuật nghiên cứu khác càng phát triển đã giúp cho việc giải mã các con đường có tầm quan trọng đối với bệnh nhân (Hình 25.3). Kiến thức hiểu biết về những con đường này đã dẫn dắt các nhà nghiên cứu khảo sát các thành phần của con đường chủ chốt đối với các đột biến gen đặc hiệu khối u và nhiều báo cáo về các khối u đầu và cổ đã được thực hiện (Bảng 25.1). Sự hiển nhiên đầu tiên là các con đường kích hoạt và các gen đột biến các khối u đầu và cổ đã dẫn đến các thử nghiệm lâm sàng về trị liệu đích như đã ghi nhận được ở (Bảng 25. 2). Những con đường và các tác nhân kỳ vọng nhất sẽ được đề cập trong các phần sau đây.

- ***Receptor yếu tố tăng trưởng bì (EGFR)***

Tín hiệu EGFR liên quan chặt chẽ với sự sinh ung thư, sự tiến triển của u và đáp ứng với trị liệu HNSCC. Họ protein ErbB – một họ 4 receptor tyrosine kinase liên quan với nhau về mặt cấu trúc, bao gồm 4 receptor (ErbB 1-4, cũng được gọi là HER 1-4) và 13 ligand polypeptide ngoại bào. Trong các tài liệu, ErbB2 cũng đồng nghĩa với HER2/neu, trong khi đó ErbB1 thường được gọi là EGFR. Khi các ligand được gắn vào một trong số các receptor ErbB thì sẽ hình thành nên một dimer và sau đó các gốc tyrosine nội bào của receptor sẽ trải qua quá trình tự phosphoryl hóa phụ thuộc ATP. Hiện nay có 12 ligand khác nhau được biết đến là để kích hoạt 4 receptor ErbB.

Khi phosphoryl hóa, các receptor sẽ có tiềm năng kích thích nhiều con đường hạ nguồn nội bào khác nhau mà cuối cùng có thể làm dừng apoptosis, thúc đẩy tăng sinh TB, kích thích tạo mạch mới cảm ứng bởi khối u và kích hoạt sự xâm lấn và di căn của

carcinoma. Con đường protein kinase kích hoạt bởi Ras/mitogen/kinase liên quan tín hiệu ngoại bào (Ras-MAPK-ERK) được biết là để kiểm soát sự sao chép gen, tăng sinh TB và tiến triển chu kỳ TB, trong khi đó con đường phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B (PI3K/Akt) được chứng minh là để kích thích nhiều tín hiệu kháng apoptosis bên trong TB. Con đường Janus kinase/signal transducer và các yếu tố hoạt hóa của sự sao chép (STAT) cũng như con đường phosholipase-Cγ (protein kinase C cũng được kích hoạt cùng với sự phosphoryl hóa EGFR. Như vậy, EGFR giữ vai trò quan trọng trong sự tăng trưởng và sống sót của carcinoma thông qua vô số con đường tín hiệu hạ nguồn.




***Hình 25.3*** *Các con đường phân tử góp phần vào việc thúc đẩy và xúc tiến sự hình thành khối u ở ung thư đầu và cổ.*

(Theo Michael E. Stadler, Mihir R. Patel, Marion E. Couch, David Neil Hayes. Hematol Oncol Clin N Am 22:1099-1124, 2008)

***Bảng 25.1.*** *Thống kê các đột biến soma thông thường ở các vị trí khác nhau của đầu và cổ*

| Vị trí đầu và cổ | Gen | Mẫu dương tính/tổng số(% dương tính) |
|---|---|---|
| *Thanh quản* | CDKN2A | 45/262(17) |
| | PTEN | 10/43 (23) |
| | EGFR | 5/82 (6) |
| | KRAS | 4/166 (2) |
| | HRAS | 2/96 (25) |
| *Khoang miệng* | CDKN2A | 98/508 (19) |
| | HRAS | 67/494 (130 |
| | FGFR3 | 44/136 (32) |
| | PIK3CA | 18/145 (12) |
| | KRAS | 14/494 (2) |
| *Miệng, hầu* | MET | 33/156 (21) |
| | CDKN2A | 19/173 (10) |
| | PTEN | 7/27 (25) |
| | KRAS | 3/105 (2) |
| | BRAS | 3/52 (5) |
| *Hạch hạnh nhân (amidan)* | EGFR | 7/45 (15) |
| | CDKN2A | 0/3 (0) |
| | HRAS | 0/3 (0) |
| | KRAS | 0/3 (0) |
| | NRAS | 0/3 (0) |
| *Khoang mũi* | KRAS | 4/121 (3) |
| | HRAS | 2/11 (18) |
| | NRAS | 2/11 (18) |
| | STK11 | 2/7 (28) |
| | EGFR | 1/5 (20) |
| *Thực quản (1/3 trên)* | TP53 | 4/4 (100) |
| | KRAS | ¼ (25) |
| | CDKN2A | 1/3 (33) |
| | PIK3CA | 1/3 (33) |
| | CTNNB1 | 0/9 (0) |
| *Tuyến giáp* | BRAS | 2013/4793 (41) |
| | RET | 274/706 (38) |
| | NRAS | 132/1962 (6) |
| | KRAS | 80/1878 (4) |
| | HRAS | 56/1844 (3) |

| Vị trí đầu và cổ | Gen | Mẫu dương tính/tổng số(% dương tính) |
|---|---|---|
| *Tuyến nước bọt* | HRAS | 17/90 (18) |
| | PTEN | 5/13 (38) |
| | DTNNB1 | 2/44 (4) |
| | KRAS | 1/40 (2) |
| | CDKN2A | 1/8 (12) |

***Bảng 25.2.*** *Liệt kê các tác nhân đích hiện nay đã trải qua các thử nghiệm lâm sàng trong điều trị ung thư đầu và cổ*

| Tên thuốc (tên thương mại) | Đích | Pha nghiên cứu trên ung thư đầu và cổ |
|---|---|---|
| *Cetuximab (Erbitux)* | EGFR | III |
| *Gefitinib (Iressa)* | EGFR | I/II/III |
| *Erlotinib (Tarceva)* | EGFR | I/II/III |
| *Panitumumab (Vectibix)* | EGFR | I/II/III |
| *BIBW 2992 (Tovok)* | EGFR, HER-2 neu | II |
| *Zatlutumumab (HuMax-EGFr)* | EGFR | I/II/III |
| *Trastuzumab (Herceptin)* | HER-2/neu | II |
| *Lapatinib (Tykerb)* | EGFR, HER-2/neu | I/II/III |
| *Cediranib (Recentin)* | VEGF | I/II |
| *Sorafenib (Nexavar)* | Raf, VEGF | I/II |
| *Semaxanib* | VEGF | I/II |
| *Pazopanib* | VEGF | II |
| *Sunitinib (Suten)* | VEGF | I/II |
| *Bevacizumab (Avastin)* | VEGF | I/II/III |
| *Romidepsin* | Histone deacetylase | I/II |
| *Vorinostat (Zolinza)* | Histone deacetylase | I/II |
| *Dasatinib (Sprycel)* | Tyrosine kinase | II |
| *Imatinib (Gleevec)* | Tyrosine kinase | II |
| *Pazopanib* | VEGF, Tyrosine kinase | II |
| *Vandetanib (Zactima)* | VEGF, EGFR | I/II |
| *XL880* | VEGF, Tyrosine kinase | II |
| *Perifosine (KRX-0401)* | AKT | II |
| *Bortezomib (Velcade)* | NF-Kb, Tyrosine kinase | I/II |
| *Lonafarnib (Serasar)* | farnesyl transferase | I/II |
| *Tanespimycin (KOS-953)* | Hsp90 | I/II |
| *Azd0530* | Src/Abl kinase | II |

Protein EGFR và mRNA EGFR được biểu hiện một cách ưu tiên trong HNSCC so với các mô bình thường xung quanh, điều đó chứng tỏ vai trò quan trọng của nó trong sự hình thành carcinoma. Tương tự như vậy, hầu hết các carcinoma biểu mô đều có sự

biểu hiện quá mức và kích hoạt chức năng các receptor họ EGFR. Trong HNSCC thì EGFR biểu hiện quá mức ở 80-100% các khối u, tỷ lệ cao nhất với bất kỳ carcinoma nào của người. Có những sự khác biệt giữa các mô ở đầu và cổ về sự biểu hiện EGFR, mức biểu hiện tương đối thấp liên quan đến các khối u thanh quản nếu so sánh với các khối u ở khoang miệng và miệng hầu.

EGFR được chứng minh là tăng sự biểu hiện quá mức ở những carcinoma giai đoạn tiến triển và trong những carcinoma được phát hiện là biệt hóa kém. Ngoài ra, sự biểu hiện quá mức của EGFR còn liên quan đến việc giảm tỷ lệ sống sót của bệnh nhân, được minh chứng bởi một số nhóm kháng với nhiều phương thức trị liệu, bao hàm cả trị liệu đích. Mặc dầu mối liên quan đến tiên lượng sấu cho bệnh nhân chưa được thiết lập một cách rõ ràng, nhưng các đột biến của receptor EGFR cũng đã được nghiên cứu. Đột biến thường gặp nhất của EGFR là EGFRvIII xảy ra ở 40% HNSCC. Receptor đột biến này chỉ phát hiện thấy ở các TB ung thư và biểu hiện từ một xóa khung của exon 2 đến 7, mã hóa cho các domain ngoại bào của receptor, vì vậy dẫn đến một receptor kích hoạt kiến tạo, hoàn toàn độc lập với bất kỳ sự kích hoạt nào bằng cách liên kết ligand. Sự thực thì EGFRvIII không phát hiện thấy ở các mô bình thường, làm cho điều này càng trở nên hấp dẫn và là đích đặc hiệu cao cho việc trị liệu, điều đó cho thấy nó không can thiệp vào các tín hiệu EGFR bình thường trong các mô không bị ung thư (xem Bảng 25.1).

Ngoài sự biểu hiện quá mức, các biểu hiện bệnh lý khác của EGFR có thể được thực thi thông qua kích hoạt đột biến, khuếch đại và tăng tỷ lệ gen kích hoạt (transactivation) bởi các tyrosine kinase khác. Sự kích hoạt kiến tạo tiềm tàng của một số con đường sinh ung thư khác là do các cơ chế độc lập EGFR. Điều đó có khả năng giải thích về việc thiếu các  đáp ứng thường được đánh giá cao ở những bệnh nhân được điều trị với các chất ức chế EGFR.

Vai trò nổi bật mà EGFR được biết là trong sự hình thành khối u, họ protein này là sự lựa chọn hợp lý trong việc theo đuổi một lớp mới điều trị đích ung thư. Hiện nay có một số chất đối kháng EGFR có khả năng sử dụng trong lâm sàng điều trị 4 carcinoma biểu mô di căn, bao gồm ung thư phổi không TB nhỏ, ung thư trực kết tràng, ung thư tụy và HNSCC. Hai lớp trị liệu tồn tại cho đến ngày nay là kháng thể đơn dòng cho các tiểu đơn vị của EGFR và các chất ức chế phân tử nhỏ tyrosine kinase EGFR. Một cách đơn giản nhất là các kháng thể đơn dòng có khả năng tác động bằng cách gắn vào các domain ngoại bào được bảo tồn của EGFR và bằng cách ngăn chặn vùng liên kết ligand do sự ức chế cạnh tranh, đến lượt mình nó lại ngăn chặn sự tự phosphoryl hóa được cảm ứng bởi ligand thông qua việc làm mất khả năng kích thích các tyrosine kinase. Chức năng của các chất ức chế tyrosine kinase EGFR tuân thủ một cơ chế riêng biệt. Chúng tác động bằng cách cạnh tranh thuận nghịch với ATP ở những vị trí liên kết của nó với domain xúc tác nội bào, vì thế mà gây ức chế sự tự phosphoryl hóa của EGFR và các tín hiệu hạ nguồn tiếp theo.

Akimoto và cộng sự là những người đầu tiên cung cấp bằng chứng cho thấy sự biểu hiện EGFR có thể ảnh hưởng đến độ nhạy bức xạ - một kết quả đã được kiểm chứng lâm sàng. Sự biểu hiện quá mức EGFR ở các dòng TB ung thư đầu và cổ được phát hiện có độ nhạy phóng xạ lớn hơn so với những dòng TB biểu hiện EGFR tương đối thấp. Người ta cũng phát hiện thấy rằng, sau khi xạ trị thì EGFR được điều hòa lên trong các khối u, dẫn đến tăng kích hoạt các con đường tín hiệu hạ nguồn của nó. Công trình này lên đến đỉnh điểm trong các ấn phẩm xuất bản năm 2006 về các thử nghiệm ngẫu nhiên bởi Bonner và cộng sự, minh chứng một cách tổng thể những lợi ích của sự sống sót không tiến triển u với việc bổ sung thêm cetuximab cùng với xạ trị tiêu chuẩn.

Ít nhất có 40 thử nghiệm liên quan đến các bệnh nhân HNSCC hiện đang được khảo sát về "các tác nhân đích" khác nhau, bao gồm cả chất ức chế tyrosine kinase và trị liệu kháng thể. Hơn 10 tác nhân đích EGFR khác nhau đã được phát triển cho việc điều trị nhiều carcinoma. Mặc dầu có rất nhiều nỗ lực nhằm phát triển và xác nhận các biomarker tiên đoán, nhưng vẫn gặp rất nhiều khó khăn để xác định trước, ai sẽ được hưởng lợi từ những trị liệu này. Trong một số nghiên cứu thì sự biểu hiện EGFR là một dự báo độc lập về sự đáp ứng, trong khi đó ở một số nghiên cứu khác lại thấy không có mối liên quan nào được đánh giá cao. Những nghiên cứu về các chất tiên lượng phân tử các kết quả lâm sàng có khả năng tối ưu hóa một cách tiềm năng sự lựa chọn bệnh nhân và hiệu quả trị liệu vẫn là một "khu vực" đang diễn ra một cách sôi động.

- ***Receptor yếu tố tăng trưởng giống insulin 1***

Một đích tiềm năng mới nổi lên cho việc đích trị liệu ung thư dựa trên cơ sở phân tử là trục tín hiệu yếu tố tăng trưởng giống insulin (IGF). Nhiều nghiên cứu tiền lâm sàng và lâm sàng liên quan đến receptor IFG-1 (IGF-1R) và các ligand của nó, IGF-1 và IGF-2 đối với việc phát triển và tiến triển của nhiều ung thư người. IGF-1R là một receptor heterotetramer vận chuyển màng bao gồm 2 tiểu đơn vị α và 2 tiểu đơn vị β. Giống như receptor insulin, IGF1-R cũng có hoạt tính tyrosine kinase. Với sự kích hoạt của receptor, là các sự kiện tín hiệu hạ nguồn, bao gồm sự phosphoryl hóa cơ chất 1 receptor insulin, kích hoạt MAPK và kích thích con đường PI3K. Kích hoạt con đường Ras-MAPK-ERK và PI3K/Akt cũng tương tự như các tín hiệu hạ nguồn đã thấy với sự tự phosphoryl hóa và kích hoạt EGFR. 6 protein liên kết IGF (IGFBP) được biết có tồn tại ở người. Những protein này đã được chứng minh là để trợ giúp điều biến hiệu ứng của IGF-1 theo cách của nhiều cơ chế độc quyền. Ở người, IGF-1 liên kết với một trong số các IGFBP, đặc biệt với IGFBP-3.

Các nghiên cứu *in vivo* và *in vitro* đã chỉ rõ rằng, IGF-1R khuyến khích sự tăng trưởng TB và bảo vệ TB khỏi apoptosis. Thác phosphoryl hóa này dẫn đến sự kích hoạt

nhiều yếu tố sao chép khác nhau liên quan đến sự tăng sinh và biến nạp TB. Sự kích hoạt kiến tạo và biểu hiện quá mức IFG-1R có liên quan tới sự biến nạp ác tính, u nguyên bào xốp (glioblastoma), melanoma, carcinoma tụy, vú, đại tràng và các mô hình carcinoma buồng trứng. Receptor này liên quan mật thiết với các đặc tính di căn của các TB khối u, một số nghiên cứu đã chỉ rõ rằng, receptor với các con đường tín hiệu có liên quan đến sự xâm lấn của khối u và sự hình thành mạch. Tín hiệu IGF-1R cũng được chứng minh là có gây ảnh hưởng và thúc đẩy sự ổn định kết dính tiêu điểm, sự tiếp xúc TB-TB và tính di động của TB. Nhiều nghiên cứu cũng chứng minh rằng, tăng kích hoạt IGF-1R có liên quan tới sự kháng lại các chế độ hóa trị gây độc TB, các tác nhân hormone, trị liệu sinh học ung thư và xạ trị.

Mặc dầu Ouban và cộng sự chứng minh chỉ có 13% EGFR dương tính với thuốc nhuộm miễn dịch ở 31 mẫu mô HNSCC người, nhưng các nghiên cứu khác lại chứng minh với mức biểu hiện cao hơn. IGF-1R được biểu hiện một cách phổ biến với các mức độ khác nhau ở các mô ung thư và giữ vai trò rất "phức tạp" trong việc điều hòa các sự kiện tăng sinh và biệt hóa TB với các mức biểu hiện rất thấp.

Như đã đề cập trước đó, con đường tín hiệu IGF-1R và EGFR có liên quan với nhau, chúng điều hòa chéo các con đường tín hiệu hạ nguồn. Tăng biểu hiện IGF-1R đã được báo cáo là làm trung gian cho việc kháng lại các trị liệu dựa trên cơ sở EGFR ở một số khối u rắn xác định, bao gồm cả u nguyên bào xốp, carcinoma tụy và vú. Người ta phát hiện ra rằng sử dụng cả 2 kháng thể trong một tổ hợp thì hiệu quả hơn trong việc làm giảm sự tăng trưởng của TB ung thư hơn là sử dụng các tác nhân một cách đơn lẻ. Có thể là một lợi ích tiềm năng khi sử dụng tổ hợp trị liệu được điều khiển bởi receptor kháng tyrosine kinase trong trị liệu HNSCC. Slomiany và cộng sự cũng chứng minh tiềm năng của việc cùng nhắm vào các con đường IGF-1R và EGFR ở HNSCC.

Mẫu thiết kế của các chất ức chế IGF-1R chứng minh được phần nào các vấn đề do sự tương đồng gần gũi (60%-70% tương đồng amino acid) với receptor insulin, tuy nhiên các chất ức chế đặc hiệu ngày nay đã được phát triển. Một số cách tiếp cận với việc ức chế tăng trưởng khối u đã được thực hiện, bao gồm các thể đột biến trội IGF-1R, các kháng thể ngăn chặn IFG-1R và các oligonucleotide trợ giúp cho việc điều hòa xuống sự biểu hiện của IGF-1R, nhưng cũng chỉ thu được chút ít trong việc nâng cao kết quả lâm sàng. Chất ức chế tyrosine kinase IGF-1R đầu tiên được chứng minh *in vivo* về tiềm năng trị liệu (NVP-AEW541 [novatis]), tuy nhiên cũng được chứng minh là nâng cao tính nhạy cảm hóa học của các TB khối u và ức chế tăng trưởng khối u ở fibrosarcoma, myeloma và các mô hình sarcoma của Ewing. Các nghiên cứu với các chất ức chế vẫn chưa được thực hiện ở mô hình HNSCC.

❑ ***Con đường phosphatydilositol-3-kinase B***

Con đường truyền tín hiệu PI3-K/Akt đã được chứng minh là để điều hòa nhiều quá trình TB, bao gồm apoptosis, tăng sinh, tiến triển chu kỳ TB, ổn định khung TB và sự vận động cũng như chuyển hóa năng lượng. Kích hoạt Akt sẽ gây cảm ứng tăng biểu hiện nhiều protein tăng sinh và kháng apoptosis, bao gồm Bcl-2, Bcl-x và NF-κB. Con đường này đã được chứng minh là được kích hoạt từ 50% đến 80% ở HNSCC. Con đường PI3-K/Akt là một trong những con đường tín hiệu hạ nguồn chính được kích hoạt bởi họ receptor ErbB/tyrosine kinase. Sau khi liên kết với ligand, domain tương bào của EGFR sẽ trải qua quá trình phosphoryl hóa tyrosine và cuối cùng là kích hoạt PI3K. Tuy nhiên, việc kích hoạt con đường PI3-K/Akt không phụ thuộc hoàn toàn vào họ receptor tyrosine kinase. Trong các mô hình carcinoma xác định người ta đã chứng minh được rằng nó được kích hoạt thông qua các đột biến trực tiếp hoặc khuếch đại PI3-K, khuếch đại Akt, kích hoạt gen ung thư RAS, hoặc giảm biểu hiện protein phosphatase kiềm chế khối u và các tensin homolog (PTEN), một chất ức chế đã biết của con đường PI3-K/Akt. Mất biểu hiện PTEN cùng với việc kích hoạt Akt có liên quan tới một kết quả lâm sàng sấu hơn ở những bệnh nhân có SCC lưỡi. Con đường này cũng được phát hiện là được biểu hiện quá mức và kích hoạt trong một số carcinoma khác nhau, bao gồm cả HNSCC. Trong một nghiên cứu được thực hiện bởi Massarelli và cộng sự người ta đã chứng minh rằng, sự sống sót không bệnh tật giảm một cách đáng kể ở những trường hợp SCC lưỡi có Akt (p-Akt) kích hoạt. Những kết quả tương đối nghèo nàn có liên quan tới sự biểu hiện của p-Akt cũng được phát hiện là độc lập với giai đoạn ung thư và các trạng thái tiết điểm (nodal status). Kích hoạt Akt cũng tương quan với sự tiến triển TB vảy và sự biến nạp từ biểu mô bình thường tới loạn sản, thậm chí đến cả SCC xâm lấn.

Con đường PI3kK/Akt cũng được chứng minh là được điều hòa lên sau xạ trị. Bussink và cộng sự đã mô tả con đường này có sự liên hệ phức tạp với kháng xạ trị theo cách đa cơ chế. Gen ung thư RAS được biết đến là cũng đóng góp vào sự kháng phóng xạ nội tại của các TB khối u, ít nhất là làm trung gian phần nào thông qua tín hiệu hạ nguồn của nó qua con đường PI3-K/Akt. Ngoài ra, con đường này cũng liên quan đến việc sửa chữa DNA theo cách của tín hiệu EGFR. Có nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng, với sự phong tỏa EGFR thì quá trình sửa chữa DNA qua trung gian con đường PI3-K/Akt sẽ bị biến đổi. Khi kết hợp với xạ trị sẽ làm giảm sự sửa chữa DNA dẫn đến apoptosis TB ung thư ở mức cao hơn và sau đó cải thiện sự kiểm soát vùng (locoregional control) so với xạ trị đơn lẻ.

Mặc dù con đường này thường nhất là kích hoạt qua EGFR và sự kích hoạt độc lập EGFR cũng thường có liên quan về mặt lâm sàng. Nhưng nhờ việc sử dụng công nghệ microarray nên Melino và cộng sự đã chứng minh được rằng, PI3-K/Akt/đích

động vật có vú của con đường rapamycin (mTOR) thường xuyên bị kích hoạt ở các mẫu HNSCC và vấn đề này thường độc lập với bất cứ sự kích hoạt EGFR liên quan nào. Cũng có mối tương quan mạnh mẽ và độc lập giữa sự biểu hiện Akt kích hoạt (pAkt) và kết quả điều trị HNSCC thanh quản và hầu họng. Tương tự như vậy, việc nâng cao hoạt tính của Akt cũng độc lập với các giai đoạn tiến triển hơn của khối u và sự tiến triển trong một số u ác tính khác nhau. Hiểu được thông tin này nên các nghiên cứu xa hơn về con đường này (độc lập EGFR), rất cần thiết để nó có thể được sử dụng trong việc điều trị HNSCC.

Thử nghiệm phase II gần đây đã được thực hiện bởi Karamouzis và cộng sự liên quan đến việc sử dụng chất ức chế kích hoạt/phosphoryl hóa Akt (perifosine) ở một nhóm nhỏ bệnh nhân HNSCC tái phát không thể cứu chữa, HNSCC di căn hoặc cả 2. Mặc dầu chất ức chế có một số hoạt tính kháng u tiền lâm sàng *in vivo*, nhưng không có đáp ứng lâm sàng khách quan nào được đánh giá cao với 18/19 bệnh nhân có tiến triển bệnh ở tuần thứ 8. Tuy nhiên, kích hoạt Akt cũng liên quan đến việc kháng lại sự ức chế EGFR trong mô hình ung thư phổi không tế bào nhỏ và vì thế mà lợi ích từ việc trị liệu tổ hợp đích phân tử vẫn được quan tâm rất nhiều. Hữu dụng lâm sàng tiềm ẩn của con đường PI3K/Akt với tư cách là một đích trị liệu và một marker tiên lượng là một kỳ vọng trong HNSCC.

❑ ***Đích động vật có vú của rapamycin***

Một trong số các chất điều hòa tăng trưởng TB hạ nguồn liên quan tới con đường PI3-K/Akt là một serine/threonine kinase không điển hình có tên là mTOR. Mặc dù Akt trợ giúp kiểm soát tăng sinh và tăng trưởng TB thông qua sự phối hợp của tín hiệu phân bào với con đường cảm biến dinh dưỡng và năng lượng, kiểm soát sự tổng hợp protein nhưng nó lại đòi hỏi mTOR để phát huy đầy đủ những hiệu ứng này. mTOR liên quan đến sự điều biến chu kỳ TB và chức năng ribosome để cuối cùng tham gia vào sự tăng trưởng và apoptosis của TB. Khi được kích hoạt thông qua Akt, mTOR phosphoryl hóa kinase p70-S6 điều hòa phiên dịch, đến lượt mình nó lại kích hoạt protein S6 ribosome, một protein liên quan đến sự phiên dịch và là một trong số hầu hết các đích hạ nguồn của con đường PI3-K/Akt/mTOR. Sự kích hoạt này của protein ribosome S6 vì thế mà làm tăng thêm sự kiểm soát tăng trưởng thông qua việc tăng thao tác phiên dịch mRNA.

Amornphimoltham và cộng sự phát hiện trong các mẫu bệnh phẩm lấy từ các bệnh nhân có HNSCC và từ các dòng TB có nguồn gốc từ HNSCC hiện tượng tích lũy bất thường S6 kích hoạt (p-S6), xuất hiện một cách thường xuyên trong các tổn thương loạn sản sản và carcinoma sớm. Các nhà nghiên cứu cũng cho thấy, protein ribosome kích hoạt giảm xuống khi các dòng tế bào HNSCC đã được xử lý với rapamycin, một kháng sinh macrolide và một chất ức chế nổi tiếng của mTOR. Những phát hiện tương tự cũng

được xác nhận khi rapamycin được sử dụng trong mô hình ghép ngoại lai HNSCC. *In vivo*, hiệu ứng của rapamycin bao gồm cảm ứng apoptosis và ức chế tăng trưởng TB của các tế bào HNSCC và cuối cùng là sự thoái lui của khối u. Người ta cũng chứng minh rằng, tính nhạy cảm rapamycin của các TB khối u ít nhất là phụ thuộc một phần vào sự mất điều hòa của gen kiềm chế khối u PTEN, chất ức chế nổi tiếng của con đường PI3-K/Akt. Trong một số dòng tế bào HNSCC, sự ức chế EGFR không có hiệu ứng đối với hoạt tính của con đường mTOR, điều đó cho thấy một lợi ích trị liệu và lâm sàng tiềm năng khi sử dụng phối hợp cả chất ức chế EGFR và chất ức chế mTOR. Nghiên cứu cũng vạch rõ con đường Akt/mTOR là đích trị liệu tiềm năng cho việc điều trị HNSCC, đặc biệt là trong điều kiện phát triển rất nhiều các chất tương tự (analog) rapamycin.

Nathan và cộng sự đã chỉ rõ rằng, các chất hiệu ứng hạ nguồn chủ chốt của con đường Akt/mTOR, elF4E, biểu hiện quá mức trong trong các mẫu HNSCC phẫu thuật loại bỏ u  là một chất dự báo độc lập sự tái phát của khối u. Trong nghiên cứu sau đó, cũng nhóm nghiên cứu này đã sử dụng dòng tế bào HNSCC đột biến PTEN, biểu hiện quá mức elF4E là FaDu trong mô hình bệnh ở chuột đã cho thấy temsirolimus (CCl-779) – một analog của rapamycin có hiệu ứng trong việc kéo dài sự sống sót, bao hàm cả việc cải thiện sự sống sót không u. Người ta đã đi đến kết luận là CCl-779 đại diện cho một trị liệu đích tiềm năng điều trị HNSCC, vì sự biểu hiện quá mức và kích hoạt mTOR xảy ra ở nhiều khối u này.

- ***Yếu tố nhân –Kappa B***

Các yếu tố sao chép NF-κB là những chất trung gian hạ nguồn chót của nhiều con đường đã được đề cập từ sớm và vì thế mà giữ vai trò quan trọng trong ung thư đầu và cổ. Rõ ràng là tín hiệu gây viêm qua trung gian NF-κB được biểu hiện quá mức ở nhiều HNSCC. Sự biểu hiện cũng chỉ rõ là có liên quan tới sự hình thành khối u và sự di căn. Kích hoạt NF-κB kiến tạo được thể hiện phổ biến khi được cảm ứng bởi sự tiếp xúc với các chất sinh ung thư hay được kích hoạt với các virus gây ung thư, đã được phát hiện ở các mẫu mô HNSCC. Tăng định vị nhân của NF-κB được phát hiện với khoảng 85% bệnh nhân HNSCC, mà tăng bắt màu miễn dịch tương quan với tiên lượng sấu của bệnh.

NF-κB được biết là một yếu tố quan trọng trong việc điều hòa các biểu hiện gen có liên quan tới sự tạo mạch (Interleukin IL-8), apoptosis (Bcl-xL), tăng sinh TB (cyclin D1) và thác cytokine tiền viêm (IL-6), IL-1α). Trong vấn đề sống sót và apoptosis của TB thì NF-κB có liên quan chặt chẽ với STAT3 và p53, đã phát hiện thấy nó ảnh hưởng trực tiếp đến sự cân bằng của các protein tiền apoptosis và kháng apoptosis ở các dòng tế bào SCC. NF-κB cũng được biết là có liên quan đến sự nhạy cảm nhược độc (attenuated) đối với các trị liệu kháng ung thư gây độc TB. Tương tự như vậy, các mẫu

oxy phản ứng do bức xạ ion hóa được tạo ra trong cơ thể đã được chứng minh là gây cảm ứng cho NF-κB với tư cách là một cơ chế bảo vệ TB trong các TB ung thư, khiến cho xạ trị kém hiệu quả. Thậm chí có bằng chứng cho thấy NF-κB có cả hiệu ứng sinh ung thư trực tiếp, làm cho các TB ung thư có khả năng tránh né chức năng điều tiết của hệ miễn dịch. Người ta cũng chứng minh rằng, khói thuốc ngưng tụ và việc ăn trầu làm kích hoạt NF-κB một cách gián tiếp, bằng cách phân giải protein ức chế κB (IκB).

Với việc kích hoạt kiến tạo và vai trò của nó với việc kháng lại xạ trị đã chứng minh được rằng, sự ức chế của nó là một đích sinh học cho việc trị liệu. Salicylate, các chất chống oxi hóa, các thuốc kháng viêm không steroid, prostaglandin và các glucocorticoid thể hiện là có hiệu lực trong nhiều sự thiết lập ức chế NF-κB. Chất ức chế IκB -kinase beta cũng được chứng minh là có một số hiệu quả trong các nghiên cứu tiền lâm sàng ở các carcinoma khác nhau, nhưng hiện nay vẫn chưa có nghiên cứu carcinoma đầu và cổ được tiến hành. Sự phát triển hơn nữa các phương pháp trị liệu mới vẫn đang tiếp tục với hy vọng thông qua sự ức chế NF-κB làm giảm sự xâm lấn, sự tiến triển và di căn của khối u sẽ trở thành hiện thực.

- ***Protein sốc nhiệt 90***

Protein sốc nhiệt 90 (Hsp90) là một chaperone phân tử gây cảm ứng sự thay đổi cấu hình của nhiều chất protein, bao gồm các yếu tố phiên mã và các protein kinase. Hsp90 được chứng minh là có liên quan với các protein ở nhiều con đường tín hiệu, có vai trò quan trọng đối với sự sống sót, sự tăng sinh và di căn của các TB ung thư. Đặc biệt là, Hsp90 có liên quan tới con đường EGFR, IGF-R, Akt, ERK, IκB kinase, p53 và STAT3. Nó được chứng minh là biểu hiện kiến tạo cao gấp 10 lần ở các TB khối u khi so sánh với các TB bình thường. Vì thế, ức chế trị liệu Hsp90 sẽ cống hiến tiềm năng phá vỡ nhiều con đường liên quan đến sự tiến triển tới kiểu hình ác tính.

Một dẫn suất của geldaramycin và các chất tương đồng bán tổng hợp, 17-AAG (Tanespimycin) đã trở thành chất ức chế Hsp90 đầu tiên được đưa vào TNLS. Gần đây, Shintan và cộng sự đã khảo sát hiệu ứng của 17-AAG lên độ nhạy cảm phóng xạ với các dòng tế bào SCC họng *in vitro*. Các tác giả phát hiện ra rằng, đáp ứng phóng xạ được nâng cao ở những dòng TB được xử lý với 17-AAG, nhưng chỉ có một dòng TB là có biểu hiện p53 dạng hoang dã. Yin và cộng sự gần đây đã sử dụng một chất ức chế Hsp90 mới là EC5 trong nghiên cứu của mình với 8 dòng tế bào HNSCC. EC5 – một dẫn suất của kháng sinh benzoquinone ansamycin được chứng minh là có hiệu ứng kháng u trong các mô hình ghép ngoại lai. Những phát hiện này cũng được so sánh với những kết quả của 17-AAG và cho thấy EC5 gây hiệu ứng kháng u tiềm năng hơn trong những mô hình này.

## 25.8. CÁC MARKER CHẨN ĐOÁN VÀ TIÊN LƯỢNG

Với sự ra đời của các kỹ thuật phát hiện phân tử ngày càng tinh vi như microarrayDNA, một số lượng lớn các marker di truyền có thể được thử nghiệm (test) một cách dễ dàng hơn. Trong một nghiên cứu của Roepman và cộng sự thì các bộ (set) tiên đoán đã được phát hiện là có giá trị tiên đoán lớn hơn trong việc phát hiện các di căn từ các mẫu khối u nguyên phát hơn là các hệ thống chẩn đoán lâm sàng hiện tại. Mặc dầu công nghệ này đã tạo ra cơ hội tuyệt vời cho việc phân tích xa hơn những sự tương tác phân tử và di truyền tham dự vào sự hình thành carcinoma, nhưng rõ ràng là vẫn có sự mâu thuẫn về các số liệu, do vậy những sự phát kiến vẫn được tiếp tục nhờ có sự cải tiến không ngừng trong phân tích và giải thích các vấn đề liên quan.

Sớm hơn các nghiên cứu phân tử về ung thư đầu và cổ thì một số nghiên cứu đã chứng minh có sự liên quan giữa những bất thường của p53 với một kết cục sấu. Tuy nhiên, các nghiên cứu lớn tiếp theo cũng không chứng minh được mối liên quan này. Ý nghĩa tiên lượng của những bất thường p16 cũng đã có sự thay đổi. Hầu hết các nghiên cứu được thực hiện nhằm vào ý nghĩa của EGFR và sự biểu hiện quá mức của cyclin D1 đều chỉ rõ rằng chúng có liên quan đến một tiên lượng sấu ở những bệnh nhân có HNSCC. Tương tự như vậy, những biến đổi di truyền của Cox-2, p27, p53, CCDN1 và yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu đã được chứng minh trong các nghiên cứu khác là có liên quan đến tăng nguy cơ di căn, tái phát bệnh hoặc tiên lượng xấu. Tuy nhiên, cũng giống như các marker khác, cũng có nhiều nghiên cứu khác nữa cũng đã thất bại trong việc khẳng định những phát hiện ý nghĩa này.

Các marker phân tử đơn mà hầu hết đã được nghiên cứu cho tới nay đều thất bại với việc thể hiện đầy đủ tiềm năng tiên đoán về tiến trình bệnh tật, tiên lượng và sống sót. Mặc dầu các marker đơn có thể là chưa chứng minh được khả năng áp dụng trong lâm sàng mà nhiều người hy vọng, nhưng sự kết hợp các marker phân tử khác nhau cùng với các mẫu biểu hiện di truyền thì có thể đưa ra được nhiều giá trị chẩn đoán và tiên đoán kỳ vọng hơn. Nhờ việc sử dụng microarray mà Chung và cộng sự đã nghiên cứu được 60 mẫu khối u HNSCC và phân loại chúng ra thành 4 dưới type HNSCC riêng biệt mà mỗi dưới type đều có đặc tính lâm sàng độc đáo. Các nhà khoa học không chỉ cho thấy các dưới type này đều thể hiện đặc trưng lâm sàng riêng biệt mà còn kết luận rằng, tình trạng di căn vùng có thể được dự đoán bằng các phân tích microarray di truyền các tổn thương nguyên phát. Những cách tiếp cận tổ hợp khác lại sử dụng các biomarker và các marker lâm sàng truyền thống đã được đề xuất và cũng được nhiều người quan tâm. Việc lựa chọn trong số các marker cạnh tranh để đưa vào thực tế lâm sàng sẽ là một trong số những thách thức chủ chốt đối với các bác sĩ lâm sàng.

## *TÓM TẮT*

❖ *Mặc dù ung thư nói chung được coi là một bệnh của DNA, nhưng nguy cơ phát triển khối u là do bản chất của hệ gen không được xác định một cách rõ ràng. Tuy nhiên, về mặt nguy cơ thì chắc chắn là do thành phần DNA dòng mầm, do sự tương tác với môi trường (đặc biệt là các độc tố và sự thâm nhiễm) và có lẽ có cả một thành phần thống kê tùy chọn đã được áp dụng qua nhiều năm trong cuộc sống bình thường. Các dạng tổn thương di truyền không thể cứu chữa có khả năng nhỏ là do sự hình thành các xóa đoạn, khuếch đại DNA hoặc các đột biến gây tổn hại tiêu điểm, mặc dầu các cơ chế khác ngày càng được ghi nhận là quan trọng, bao gồm cả những biến đổi epigenetic đối với chất nhiễm sắc chromatin. Không có vấn đề gì về mặt cơ chế, nhưng những sự kiện cuối cùng là do sự nhiễu loạn của các phân tử sinh học TB bình thường và trạng thái nội mô mà dẫn đến những quá trình mang dấu ấn ung thư được đặc trưng bởi những con đường như đã trình bày ở trên.*

❖ *Một điều chăc chắn là các nhà khoa học và các bác sĩ lâm sàng đều nhấn mạnh các mô hình sinh ung thư tập trung chủ yếu vào các sự kiện phân tử và các con đường sinh ung thư. Tuy vậy, mặc dù các nhà khoa học chủ yếu dựa vào bộ (set) thử nghiệm phân tử và các thuốc thử ngày càng tinh vi, nhưng việc chăm sóc về mặt lâm sàng các bệnh nhân ung thư lại vắng bóng bất kỳ một hỗ trợ phân tử nào. Tương tự như vậy, tập hợp (set) các trị liệu đích ung thư đối với các bệnh nhân vẫn còn hạn chế và các tiên lượng hoặc đáp ứng trị liệu hiếm khi được chỉ định dựa trên cơ sở các thử nghiệm phân tử. Tuy nhiên, về mặt cảnh quan thì dường như là sẽ có sự thay đổi trong tương lai gần. Chỉ cần nhìn vào bảng liệt kê các phương pháp trị liệu ở Bảng 25.2 đã chứng kiến được sự cần thiết phải gia tăng để xác định xem gen đặc hiệu nào và con đường đặc biệt nào đã bị biến đổi trong một khối u đặc biệt. Có khả năng là các bệnh nhân có nguy cơ phát triển ung thư thì ngày càng có khả năng xác định từ DNA dòng mầm, dưới dạng các đột biến hoặc SNP. Những khối u mà chủ yếu do các căn nguyên virus thì có thể ngăn chặn được hoàn toàn bằng vaccine. Tích hợp chẩn đoán phân tử và những cách tiếp cận dựa trên cơ sở nguy cơ phân tử trong việc điều trị ung thư có thể không chỉ là sự thành công lớn mà còn là những thách thức chủ chốt mà các thế hệ của chúng ta phải đối mặt trong tương lai.*

# CHƯƠNG XXVI: U NÃO

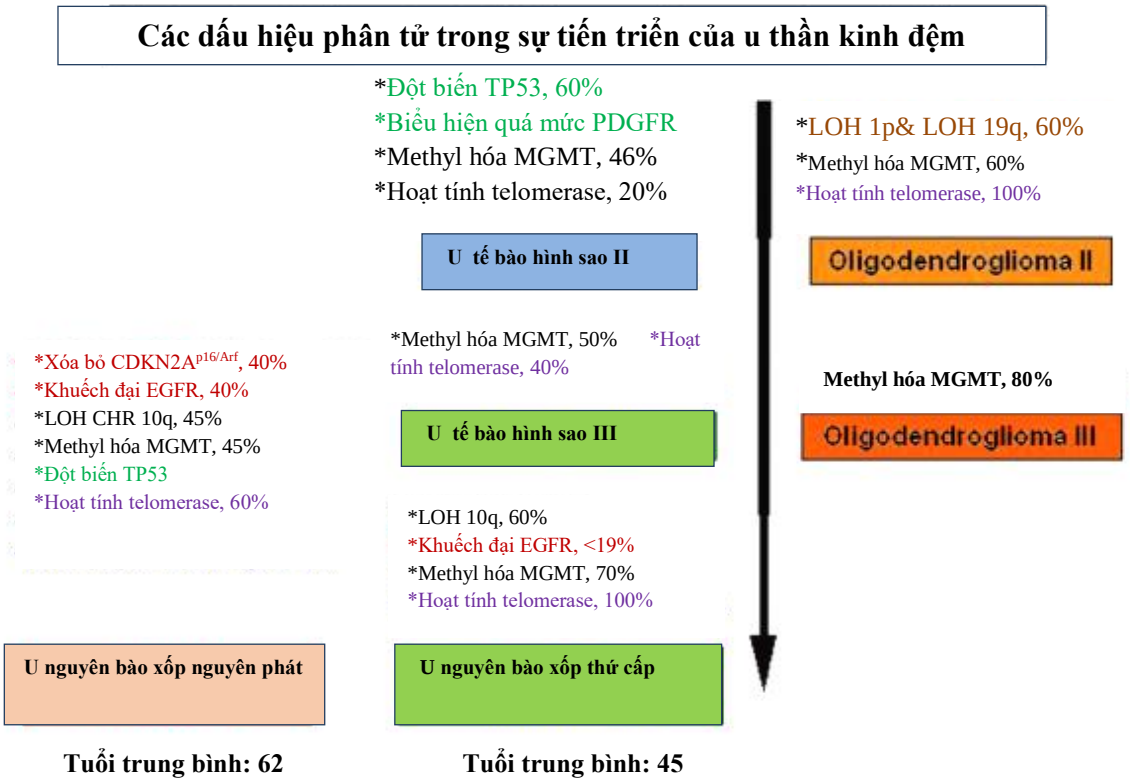
U nguyên bào xốp (glioblasoma) là một dạng u não nguyên phát ác tính nhất và phổ biến nhất ở người lớn. Nó thường phát triển de novo nhưng cũng có thể phát triển qua các năm với khối u tế bào hình sao (astrocytoma) mức độ thấp hơn. Phương thức điều trị kết hợp gần đây đã đem lại một số cải thiện đối với sự sống sót. Tuy nhiên, hầu hết các bệnh nhân vẫn không thể chống đỡ được bệnh tật của họ (sống sót trung bình là 15 tháng và tỷ lệ sống sót 2 năm là 26%).

Các nghiên cứu phân tử và các mô hình động vật liên quan đã xác định được nhiều biến đổi phân tử và các quá trình sinh học liên quan đến sự khởi đầu và tiến triển của u thần kinh đệm (glioma). Tuy nhiên, những cơ chế và những con đường phân tử cơ bản liên quan thì rất phức tạp và vẫn chưa được hiểu biết nhiều. Sự tích lũy nhiều biến đổi trong các quá trình điều hòa cho phép các TB khối u vượt qua được các hiệu ứng của nhiều phương pháp điều trị. Những biến đổi phân tử cơ bản như thế bao gồm những biến đổi ở mức độ gen, ví dụ như các đột biến điểm ở các gen chủ chốt hay sự khuếch đại và xóa bỏ tương ứng, hoặc là hiệu quả của các biến đổi epigenetic. Về các biến đổi epigenetic thì bao gồm sự methyl hóa bất thường của các đảo CpG ở trình tự điều hòa của các gen, cũng như những thay đổi trong cấu trúc chất nhiễm sắc được trung gian bởi các cơ chế như sự acetyl hóa histone. Cường methyl hóa các đảo CpG ở promoter của các gen dẫn đến mất biểu hiện (bất hoạt), trong khi đó mất methyl hóa trong các gen thường yên lặng có thể gây nên sự biểu hiện không thích hợp (ví dụ như gen IGF2), cùng với các hiệu ứng thúc đẩy khối u. Đối với trường hợp các số liệu khối u phân tử cá thể không đồng nhất thì cần phải có các phương pháp trị liệu cá thể hóa khác thích hợp.

Bước đầu tiên hướng tới việc thiết kế các liệu pháp mới là xác định và hiểu rõ hơn các cơ chế phân tử liên quan điều khiển các ứng xử sinh học mang tính xâm lược mà sau đó có thể nhắm tới những cách tiếp cận điều trị tương ứng. Hanahan và Weinberg đã định loại ra các vấn đề liên quan đến sinh học, khởi đầu cho việc hình thành khối u như sau: (1) tự túc tín hiệu tăng trưởng; (2) mất nhạy cảm với các tín hiệu kháng tăng trưởng; (3) tiềm năng sao chép không giới hạn; (4) duy trì sự tạo mạch; (5) tránh né apoptosis; (6) sự xâm lấn của khối u và di căn. Những biến đổi phân tử làm cho những đặc trưng này ở các khối u rất đa dạng. Những số liệu về khối u phân tử có thể trở thành một công cụ hữu ích cho các chiến lược điều trị theo hướng cá thể hóa.

## 26.1. CÁC SỐ LIỆU SINH HỌC

Các dưới type u thần kinh đệm (glioma) thể hiện các số liệu phân tử khác biệt (Hình 26.1). Một dấu hiệu của u nguyên bào xốp (UNBX) nguyên phát là khuếch đại receptor gen tăng trưởng bì (EGFR) mà thường gắn liền với việc xóa bỏ CDKN2A$^{p16/Arf}$ mã hóa cho 2 chất kiềm chế khối u là p16 - một chất ức chế CDK4 và p14$^{ARF}$ - một chất điều hòa âm của MMD2. Hai bất thường này có sự loại trừ nhau với các đột biến ở gen kiềm chế khối u TP53 đại diện cho dấu hiệu tiến triển của u nguyên bào xốp thứ cấp. UNBX nguyên phát và thứ phát mặc dầu không có sự phân biệt được về mặt mô học, nhưng nó là các bệnh khác biệt hoàn toàn, xảy ra ở các nhóm tuổi khác nhau



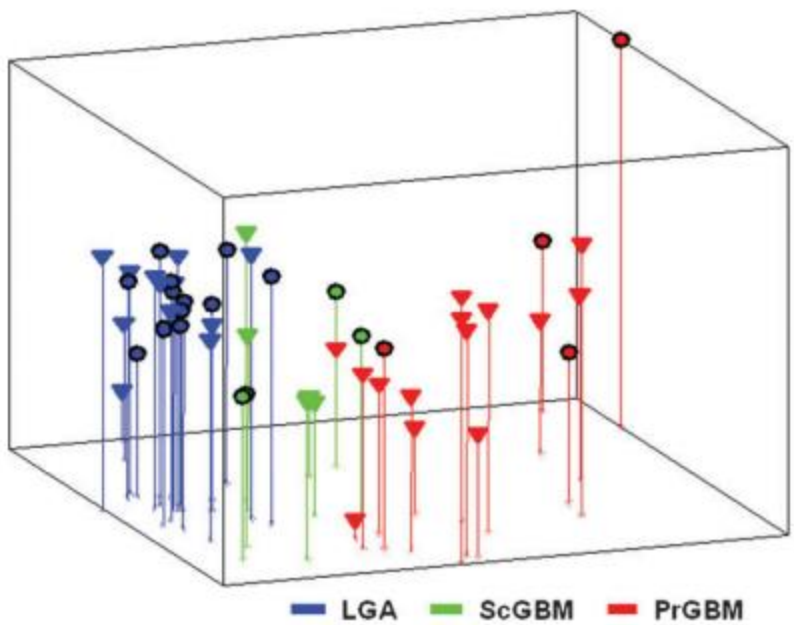

**Hình 26.1** Con đường bệnh lý di truyền đặc trưng cho sự tiến triển ác tính của u thần kinh đệm. Dấu hiệu u nguyên bào xốp nguyên phát là sự khuếch đại EGFR mà thường gắn liền với sự xóa bỏ gen CDKN2A$^{p16/Arf}$ mã hóa cho 2 chất kiềm chế khối u. Những sự bất thường này loại trừ nhau với các đột biến ở gen kiềm chế khối u TP53 đại diện cho sự tiến triển của UNBX thứ cấp. UNBX nguyên phát và thứ phát xảy ra ở các nhóm tuổi khác nhau. Tổ hợp của việc mất dị hợp tử trên nhiễm sắc thể 1p và 19q là đặc trưng cho oligodendroglioma. Chúng hiếm khi biểu lộ các đột biến ở gen TP53 hoặc khuếch đại EGFR.

(Theo Ohgaki H, Dessen P, Jourde B et al. Cancer Res 2004 ; 64 ; 6892-6899)

Oligodendroglioma đặc trưng bởi mất dị hợp tử cả ở nhiễm sắc thể 1p và 19q, hiếm khi biểu lộ các đột biến ở gen TP53 hay khuếch đại EGFR, nhưng một số lớn có

sự bất hoạt epigenetic gen sửa chữa $O^6$-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT), điều đó có thể giải thích về sự nhạy cảm đặc biệt của chúng đối với trị liệu tác nhân alkyl hóa.

Điều thú vị là số liệu về sự biểu hiện gen có thể phân biệt được u nguyên bào xốp nguyên phát với astrocytoma cấp độ thấp và cũng thật ngạc nhiên là từ UNBX thứ cấp lại phân biệt được một nhóm các gen tương ứng liên quan đến sự tạo mạch và trạng thái thiếu oxy. Điều này có thể chỉ đường cho việc sử dụng các chiến lược điều trị kháng tạo mạch.




**Hình 26. 2** Biểu hiện gen của các dưới type u thần kinh đệm biệt hóa. MDS (multidimensional scaling) dựa trên sự biểu hiện gen nói chung (1185 gen) của 51 u thần kinh đệm tế bào hình sao. Các code màu chỉ dưới type khối u theo tổ chức học và các tiêu chí lâm sàng. LGA: low grade astrocytoma; ScGBM: secondary glioblastoma; PrGBM: primary glioblastoma.

(Theo Godard S, Getz G, Delorenzi. Classification of human astrocytic glioma. Cancer Res 2003;63; 6613-6625)

Hầu hết UNBX (80%) biểu lộ bất hoạt con đường $p14^{ARF}$/TP53/MMD2, đồng thời với những bất thường trong kiểm soát quá trình chuyển đổi G1. Vấn đề thứ 2 này là hậu quả của các bất thường gen hoặc là RB1, CDK4, CDKN2A hay CDKN2B, cùng liên quan đến con đường kiểm soát chu kỳ TB. Mối liên quan giữa các biến đổi di truyền như khuếch đại EGFR và xóa bỏ đồng thời locus gen CDKN2A được cho là một hiệu ứng hợp tác. Giả thuyết này càng được ủng hộ bởi các mô hình *in vivo* và *in vitro* và có thể có những hậu quả liên quan đến việc kháng lại các trị liệu đích tương ứng.

Theo các dữ liệu phân tử tích lũy được trên u thần kinh đệm, người ta đang nỗ lực thực hiện việc xác định các yếu tố tiên lượng cũng như các đáp ứng với trị liệu. Tuy nhiên, cần phải có thêm các nghiên cứu kỹ lưỡng hơn nữa thì mới có thể ứng dụng được trong các thử nghiệm lâm sàng sau đó tiến tới các can thiệp trị liệu đặc hiệu.

## 26.2. CÁC MARKER PHÂN TỬ TIÊN ĐOÁN NÂNG CAO ĐỘ CHÍNH XÁC CỦA CHẨN ĐOÁN

Tổ chức học khối u và độ (grade) ác tính sẽ hướng đạo cho các quyết định điều trị có tính đến các thông số lâm sàng như tuổi tác, tình trạng hoạt động và mức độ cắt bỏ khối u- tất cả đều là các yếu tố tiên lượng quan trọng. Việc xác định các marker tiên đoán phân tử sẽ rất quan trọng trong việc thiết kế các thử nghiệm trong tương lai. Tuy nhiên, nhiều marker chỉ có thể phản ánh được tiền sử tự nhiên khác nhau và không cần thiết đối với các quyết sách bệnh nhân. Tuy nhiên, các marker phân tử có thể cải thiện đáng kể độ chính xác chẩn đoán và mô tả đầy đủ khối u với các ứng xử sinh học riêng biệt.

Một ví dụ rõ ràng là oligodendroglioma với việc mất dị hợp tử trên nhiễm sắc thể 1p và 19q (LOH 1p/19q). Dạng u này có liên quan tới tỷ lệ đáp ứng cao với hóa trị và kéo dài sự sống sót.

Các bệnh nhân oligodendroglioma với LOH 1p/19q có kết cục tốt hơn nhiều so với các bệnh nhân không có LOH 1p/19q. Hóa trị nói chung sẽ kéo dài sự sống sót với tất cả các bệnh nhân, nhưng vẫn không cải thiện được tổng thể sự sống sót, ngay cả với các bệnh nhân được coi như là nhạy cảm nhất với hóa trị có LOH 1p/19q. Điều quan trọng là cần phải quyết tâm cải thiện độ chính xác của các chẩn đoán hình thái học để khắc phục những những sự khác biệt do quan sát một cách chủ quan. Do vậy mà hiện nay các thử nghiệm vẫn đang được tiến hành ở Âu Châu và Canada (EORTC 22033) về các chiến lược đối với các bệnh nhân u thần kinh đệm cấp độ thấp có sự xóa bỏ 1p trong khối u.

## 26.3. ĐIỀU TRỊ ĐÍCH

Các yếu tố bệnh học di truyền rất đa dạng và nhiều chiến lược điều trị có thể được áp dụng. Sự tích hợp của thông tin phân tử và lâm sàng sẽ cung cấp một bảng danh sách các cơ chế có thể được nhắm tới. Các khía cạnh về điều trị chọn lọc được tóm tắt dưới đây:

- ***Trị liệu điều khiển sự sửa chữa DNA***

Sự yên lặng epigenetic của gen MGMT mã hóa cho một enzyme sửa chữa DNA vừa mới được phát hiện có giá trị tiên đoán về các lợi ích từ tác nhân alkyl hóa temozolomide (TMZ) trong các TNLS ngẫu nhiên với UNBX mới được chẩn đoán. Thử

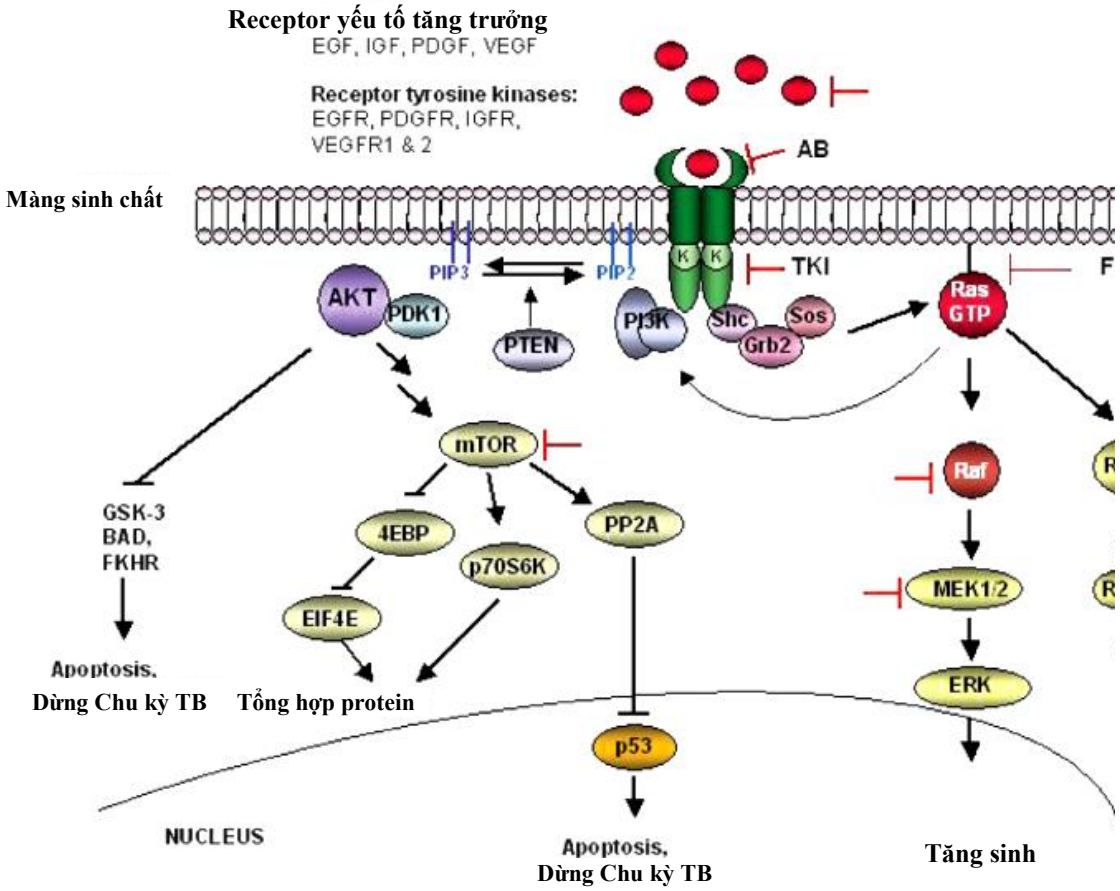
nghiệm chỉ rõ là việc bổ sung thêm các phụ gia và tá dược (để bảo trì) TMZ cùng với xạ trị đã cải thiện được tỷ lệ sống sót từ 10% lên tới 26% , vì thế đã thiết lập nên một tiêu chuẩn mới cho việc chăm sóc các bệnh nhân UNBX. Những phân tích tiếp theo về các mô khối u bệnh nhân đã vạch rõ rằng, lợi ích từ việc hóa trị bổ sung TMZ, về cơ bản chỉ giới hạn cho những bệnh nhân có khối u với promoter MGMT bị methyl hóa. Tại thời điểm 2 năm, 46% bệnh nhân được xử lý với MTZ/RT và có khối u methyl hóa MGMT được sống sót, trong khi đó các bệnh nhân có khối u không có methyl hóa thì tỷ lệ này chỉ là 14%. Sự biểu hiện cao của các enzyme sửa chữa MGMT được biết là làm đảo ngược phần nào hiệu ứng điều trị của các tác nhân alkyl hóa. Vì protein MGMT là một enzyme sửa chữa tự sát, nó bị bất hoạt khi nhóm alkyl gây tổn thương được chuyển đến vị trí kích hoạt của enzyme, nên sự xóa bỏ enzyme từ các TB khối u có thể được sử dụng như là một chiến lược trị liệu nhằm cải thiện tính nhạy cảm đối với các tác nhân alkyl hóa. Một cách tiếp cận có sử dụng một chất không gây độc TB của MGMT như $O^6$-BG ($O^6$-benzylguanine) hoặc PaTrin-2 [O(6)-(4-bromothenyl) guanine có thể làm suy yếu các TB của enzyme sửa chữa. TNLS phase I đánh giá $O^6$ –BG khi kết hợp với TMZ hoặc carmustine (BCNU). Một chiến lược khác là sử dụng lịch trình điều trị TMZ tăng cường liều để trợ giúp cho việc làm suy giảm MGMT. Cách tiếp cận này hiện nay đang trải qua TNLS quốc tế ngẫu nhiên (RTOG0525/EORT (26052-22053). Trong UNBX người trưởng thành không có bằng chứng thiếu MGMT, điều đó trái ngược với UNBX trẻ em. Tuy nhiên, cũng tồn tại các yếu tố kháng bổ sung và có thể bao hàm cả việc bãi bỏ các con đường apoptosis và mất điều hòa tín hiệu sống sót. Những vấn đề này cần phải được xác định và cuối cùng là phải vượt qua.

Phương pháp tiếp cận khác nhằm mục đích giải cứu hay tăng cao tính nhạy cảm đối với trị liệu tác nhân alkyl hóa bằng cách làm bất hoạt hệ thống sửa chữa base (BER). Cách tiếp cận này đã có hiệu quả trong các mô hình ung thư vú khiếm khuyết hoặc BRCA1 hay BRCA2 hoặc cả 2 liên quan đến việc sửa chữa những vết gãy chuỗi kép. Trong các dòng tế bào UNBX hay các mô hình ghép ngoại lai tương ứng, các chất ức chế PARP được chứng minh là có hiệu quả đặc biệt khi khiếm khuyết MMR. Do đó, đích các quá trình sửa chữa có thể là một chiến lược đầy hứa hẹn cho việc cải thiện hiệu quả trị liệu tác nhân alkyl hóa.

- ***Các chất ức chế phân tử nhỏ***

Trong những năm qua, các thuốc phân tử nhỏ đã được phát triển, đặc biệt trong việc ức chế những con đường được kích hoạt một cách bất thường. Những con đường này chẳng những bị kích hoạt trong các TB khối u mà còn kích hoạt cả trong các TB nội mô liên quan đến khối u và chất nền khối u. Như vậy, đích các con đường tương ứng có tầm quan trọng đặc biệt với các bộ phận khác nhau, hoặc các chất ức chế đa tyrosine kinase như PTK-787, có thể có hiệu ứng hiệp đồng vì thế mà nâng cao hiệu quả điều trị.

Việc đánh giá các thuốc phân tử nhỏ này bao gồm các peptide, polypeptide và các kháng thể đích đặc hiệu con đường tín hiệu bị kích hoạt một cách bất thường sẽ là trung tâm cho các TNLS trong tương lai (Hình 26.3). Nhiều thuốc đích mới hoặc sự kết hợp của chúng đã và đang được thử nghiệm ở phase I hoặc II. Một giới hạn trong lâm sàng là có sự tương tác thường xuyên với các thuốc chống động kinh thường được sử dụng đã gây cảm ứng cho các enzyme.




**Hình 26.3** Con đường tín hiệu và các chất ức chế. Sơ đồ đơn giản về các con đường tín hiệu có tầm quan trọng đặc biệt trong u thần kinh đệm hoặc trong các TB biểu mô khối u và các chất ức chế của chúng. Màu đỏ tượng trưng cho vị trí ức chế đặc hiệu. EGF- yếu tố tăng trưởng ngoại bì; EGFR-receptor yếu tố tăng trưởng ngoại bì ; IGF- yếu tố tăng trưởng giống insulin; IGFR- receptor yếu tố tăng trưởng giống insulin; PDGFR- receptor yếu tố tăng trưởng nguồn gốc tiểu cầu; VEGF- yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu; VEGFR1 và 2 –receptor yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu 1 và 2. PI3K- phosphatidylinositol 3-kinase ; PTEN- phosphatase và tensin homolog; PDK1- kinase phụ thuộc phosphatidylinositol; AKT, v-akt murine thymoma viral oncogene homolog; mTOR- mammalian target ò rapamycin; 2EBP- eucaryotic initiation factor 4E (EIF4E)-binding protein; p7056K- ribosomal protein; S6 kinase 70kD; PP2A- protein phosphatase 2A; GRB2- protein gắn yếu tố tăng trưởng 2; SOS, Ras; Raf; MEKK, mitogen-activated ERK kianse và ERK- kinase điều hòa ngoại bào; TKI- chất ức chế tyrosine kinase ; AB- kháng thể đơn dòng đặc hiệu; FTI – các chất ức chế Fanesyltransferase.

(Theo Godard S, Getz G, Delorenzi. Classification of human astrocytic glioma. Cancer Res 2003;63; 6613-6625)

***Bảng 26.1.*** *Điều trị đích (Theo Kesari et al. Curr Oncol Rep 2006; 8: 58-70)*

| Đích | Tên | |
|---|---|---|
| *Các chất ức chế tyrosine kinase* | | |
| EGFR | Gefitinib | ZD1839, Iressa |
| EGFR | Erlotinib | OSI-774, Tarceva |
| EGFR | Cetuximab | C225, Erbitux |
| EGFR | | EKB569 |
| EGFR & ErbB-2 | Lapatinib | GW-572016 |
| EGFR & VEGFR | | AEE788 |
| VEGFR & EGFR | | ZD6474 |
| PDGFR & c-kit | Imatinib mesylate | ST1571, Gleevec |
| PDGFR & VEGFR | | PTK787 |
| PDGFR & VEGFRs, c-kit, Flt-3 | Sunitinib | SU11248 |
| PDGFR & VEGFRs, c-kit, Flt-3 | | AG-013736 |
| PDGFR | | SU101 |
| PDGFR | | MLN518 |
| Raf, VEGFRs, PDGFR | Sorafenib | Bay 43–9006 |
| VEGFR | | AZD2171 |
| *Các chất ức chế kinase* | | |
| MEK | | Cl-1040 |
| MEK | | UO126 |
| MEK | | PD0325901 |
| *Các chất ức chế VEGF* | | |
| | Bevacizumab | Avastin |
| | VEGF Trap | |
| | Pegabtanib | |
| *Các chất ức chế Farnesyl transferase* | | |
| | Tipfarnib | R115777, Zarnestra |
| | Lonafarnib | SCH66336, Sarasar |
| *Các chất ức chế mTOR* | | |
| | Temsirolimus | CCI-779 |
| | Everolimus | RAD001 |
| | Sirolimus | Rapimmune; Wyeth AP23573 |
| *Các chất ức chế histone deacetylase* | | |
| | Depsipeptide | FK228 |
| | Suberoylanilide hydroxamic acid | |
| *Sửa chữa DNA* | | |
| MGMT | | $O^6$-benzyl guanine |
| MGMT | PaTrin-2 | O(6)-(4-bromothenyl)guanine |
| PARP | | INO-1001 |
| BER | AP-sites | methoxyamine |
| *Các chất khác* | | |
| integrins avb3 & avb5 | Cilengitide | EMD 121974 |
| Hsp90 | 17-allylamino-geldanamycin | |
| Proteasome inhibitor | Bortezomib | PS-341, Velclade |
| PKC inhibitor | Tamoxifen | |

Vì EGFR đại diện cho một đích đặc biệt hấp dẫn nên nó nó đã được đánh giá một cách rộng rãi trong u thần kinh đệm ác tính. Các nghiên cứu tương quan hồi qui cho thấy, đáp ứng với các chất ức chế EGFR tyrosine kinase không phụ thuộc hoàn toàn vào sự hiện diện của đích, EGFR kích hoạt. Mellinghof và cộng sự đề xuất rằng, việc đồng biểu hiện EGFRvIII đột biến và PTEN trong một khối u là rất quan trọng đối với việc đáp ứng với các chất ức chế EGFR, trong khi đó một nghiên cứu của Haas Kogan và cộng sự lại chứng minh là không có khối u nào trong số có đáp ứng lại biểu hiện EGFRvIII, nhưng sự đáp ứng lại liên quan đến khuếch đại và biểu hiện quá mức EGFR cũng như sự phosphoryl hóa PKB/Akt mức độ thấp.

Tuy nhiên, để đạt được những thành quả tối ưu trong chẩn đoán và điều trị các khối u não, chắc chắn cần phải có thêm các TNLS với các cách tiếp cận khác nhau, đặc biệt là các chất ức chế phân tử nhỏ, đặc hiệu.

# TÀI LIỆU THAM KHẢO CHÍNH


1. Nguyễn Văn Kình. Gen trị liệu. Nhà xuất bản Y học, 2005.
2. Nguyễn Văn Kình, Nguyễn Quốc Tuấn, Nguyễn Tuấn Anh. Thực hành ứng dụng gen trị liệu. Nhà xuất bản Y học, 2007.
3. Nguyễn Văn Kình, Trần Thuý Hạnh, Nguyễn Tuấn Anh. Những phương pháp tiếp cận hiện đại Gen trị liệu ung thư. Nhà xuất bản Y học, 2011.
4. Adam B. Glick, Carter Van Waes. Signaling Pathways in Squamous Cancer. Springer, 2011.
5. Alan B. Weit Berg. Cancer of the Lung, from molecular Biology to treatment Guidelines. Human Press, 2002.
6. Amada Harvey. Cancer cell Signalling. Wiley blackwell, 2013.
7. Ana Fred, Joaquim Filipe, Hugo Gamboa. Biomedical Engeenering systems and technologies. Springer, 2008.
8. Anthony J. F. Griffiths, Susan R.Wessler, Sean B. Carrol, John Doebley. Introduction to Genetic Analysis, Tenth edition. W.H Freeman and Company, 2010.
9. Ari Sitaramaya. Siganl Transduction Phaways Mechanism and Diseases> Springer, 2009.
10. Brennan JA, Boyle JO, Koch WM et al. Association between cigarette smoking and mutation of the p53 gene in squamous cell carcinoma of head and neck. N Engl J Med: 332(11) 712-7, 1955.
11. Charles Brenne, David Duggan. Oncogenomics, molecular Approachs to Cancer. Willey-Liss, 2004.
12. David A. Frank. Signaling Pathways in Cancer Pathogenesis and Therapy. Springer, 2012.
13. David E.Fisher, Tumor Suppressor Gene in Human Cancer. Humana Press, 2001
14. David M. Terrian. Cancer cell Signaling. Humana press, 2003.
15. David N. Cooper, Jian –Min Chess. Mutations in Human genetic Disease. Jeneza, Croatia, 2012.
16. Dianne Watter, Martin Lavin. Signaling Pathways in Apoptosis. Harwood Academic Publishers, 2005.
17. Donal Tindall, Jame Mohler. Androgen actions in Prostate Cancer. Springer, 2009.
18. Elizabedth Vincan. Wnt Signaling. Humana Press, 2008.

19. Eran Meshorer, Kathrin Plath. The Cell Biology of Stem Cell. Springer, 2011.
20. Erich A. Nigg. Genome Instability in Cancer development. Springer, 2005.
21. Fabrizio d' Adda di Fagagna, Susanna Chiocea. Advances in Molecular Oncology.
22. Springer, 2013.
23. Francis Martin Molina. Gene Therapy, Tools and Potential Applications . Jeneza, Croatia, 2013.
24. Gerald Karp. Cell and Molecular Biology, Concepts and Experiments. Jonh Wiley 7 Son, Inc, 2010.
25. Gerard P. Zambetti. The p53 Tumor Suppressor Pathways and Cancer. Springer, 2005.
26. Giampietro Gasparini, Daniel F. Hayes. Biomarkers in Breast Cancer. Humana Press, 2006.
27. George P., Wilhelm Ansorge. Molecular Diagnostics, 2nd Edition. Elsevier, 2010.
28. Gunter Schneider, Riner Hamacher, Stephan Eser, HELMUT friess, Roland M. SCHMID and Dieter Saur. Anticancer Research 28: 1541-1550, 2008.
29. Howard L. Kaufman, Scott Wadler, Karen Antman. Molecular Targeting in Oncology. Humana Press, 2008.
30. Ian Tannock, Richard Hill, Robert Bristow, Lea Harrington. The Basic Science of Oncology, Mc Graw Hill Education, 2013.
31. Ignacio I. Wistuba. J lung Cancer 2012;11(1):12-20.
32. Jack J. Pasternak. Introduction to Human Molecular Genetics. Wiley, 2005.
33. Jean-francois Dufour, Pierre- Alain Clavier. Signaling Pathways in Liver Diseases. Springer, 2010.
34. John D. Haley, William J. Gullick. EGFR Signaling Networks in Cancer Therapy. Humana Press, 2008.
35. Jonh Doorbar. Clinical 110, 525-541, 2006
36. Joseph E. Roulston, John M. S. Bartlett. Molecular Diagnosis of Cancer. Humana Press, 2004.
37. Katheleen H. Goss, Michael Kahn. Targeting The Wnt Pathways in Cancer. Springer, 2011.
38. Kathleen Sakamoto, Eric Rubin. Modulation of protein Stability in Cancer Therapy. Springer, 2009.
39. Keith Wilson, John Walker. Principles and Technique of Biochemistry and Molecular Biology, Seventh Edition. Cambridge University Press, 2010.
40. Mahmoud H. Hamdan. Cancer Biomarker. Wiley, 2007

41. Malay Chatterjee, Khosrow Kashfi. Cell Signaling & molecular Targets in Cancer. Springer, 2012.
42. Marcel G. Kazanietz. Protein Kinase C in Cancer Signaling and Therapy. Springer, 2010.
43. M.E. Hegi, A. Mura, W. L.. Lambiv' & R. Stupp. Annals of Oncology 17 (Supplement 10) :x191-x197, 2006.
44. Mehmet Gunduz, Esra Gunduz. Breast Cancer, Carcinogenesis, Cell growth and Signaling Phaways. Silvia Vlase, 2011.
45. Michael E. Stadler, Mihir R. Patel, Marion E. Couch, David Neil Hayes. Hematol Oncol Clin N Am 22:1099-1124, 2008.
46. Michael R. Shurin, Russell D. Salter. Dendrotic Cells in Cancer. Springer, 2009.
47. Peter J. Houghton, Robert J. Arcedi. Molecular Targeted therapy for Childhood Cancer. Springer, 2010.
48. Rakesh. Srivastava. Apoptosis, Cell Signaling and Human Diseases. Humana Press, 2007.
49. Re'mi Longuespe'e. C. Boyon, Annie Desmons. Cancer Metastasis Rev, Springer 2012
50. Richard G. Destell, Marrja T. Nevalainen. Prostate Cancer. Humana Press, 2007.
51. Robert A. Weinberg. The Biology of Cancer. Garland Scienc, 2004.
52. Robert Lanza. Stem Cell Biology, 2nd Edition. Elsevier Inc, 2009.
53. Roger J. B. King, Mike W. Robins. Cancer Biology, Third edition. Pearson Education Limited, 2006.
54. Ronald M. Bukowski, Robert A. Figlin, Robert J. Motzer. Renal Cell Carcinoma, Molecular Targets and Clinical Applications. Humamja Press, 2008.
55. Shamin I. Ahamad. Diseases of DNA Repair. Springer, 2010.
56. Scott F. Gilbert. Developmental Biology, ninth Edition. Sinauer Associates. Inc, 2010.
57. Simone Mocellin. Microarray technology and Cancer gene Profiling. Springer, 2007.
58. Suzanne B. Cassidy, Judith E. Allnason. Magagement of Genetic Syndromes. Woley Blackwell, 2010.
59. Tom Strachan, Andrew Read. Human Molecular genetics, 4th Edition. Garland Science, 2010.
60. Vinagolu K. Raijasekhar, Mohan C. Vemri. Regulatory Networks in stem Cells. Humana Press, 2008.
61. Vitaly A. Polunovsky, Peter J. Houghton. mTOR Pathways inhibitors in Cancer therapy. Humana Press, 2010.
62. Vladimir V. Didenko. In situ Detectionof DNA Damage. Humana Press, 2005.

63. Wafik S. El-Deiry. Tumor Suppressor gene. Humana Press, 2003
64. Watson, Baka, Bell, Gann, Lewine, Losick. Molecular Biology of The Cell. 7th Edition. CSH Press, 2011.
65. Wendy A.Cooper, David C. L. Lam, Sandra A. O'Toole, John D. Minna. Tissue Pathology and Diagnostic Oncology, Royal Prince Alfred Hospital, Camperdown, Sydney, NSW, Australia, 2013.
66. Wen G. Jiang, Robert E. Mansel. Cancer Metastasis, Molecular and Cellular Mechanisms and Clinical Intervention. Kluwer Academic Publishers, 2000.
67. Wolgang Arthur Schulz. Molecular Biology of Human Cancer. Springer, 2005.
68. Young-Joun Surh, Enrique Cadenas. Dietary Modulator of Cell Signaling Pathways. CRC Press, 2009.
69. Zahid H. Siddik. Checkpoint Cotrols and Targets in Cancer Therapy. Humana Press, 2009.

**NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC**

Địa chỉ: số 352 - Đội Cấn - Ba Đình - Hà Nội
Email: xuatbanyhoc@fpt.com.vn
Số điện thoại: 04.37625934 - Fax: 04.37625923

# SINH HỌC PHÂN TỬ UNG THƯ ÁP DỤNG CHO LÂM SÀNG

***Chịu trách nhiệm xuất bản***

TỔNG GIÁM ĐỐC
CHU HÙNG CƯỜNG

***Chịu trách nhiệm nội dung***

PHÓ TỔNG BIÊN TẬP
BSCKI. NGUYỄN TIẾN DŨNG

***Biên tập viên***: BS. Nguyễn Hải Yến
***Sửa bản in***: BS. Nguyễn Hải Yến
***Trình bày bìa***: BS. Nguyễn Tuấn Anh
***KT vi tính***: Trần Đức

In 1000 cuốn, khổ 19 x 27 cm tại Công ty Cổ phần In Sao Việt: Số 9/40 phố Ngụy Như Kon Tum – Nhân Chính – Thanh Xuân – Hà Nội.
Số đăng ký kế hoạch xuất bản:
Số xuất bản……..ngày tháng năm 2015.
In xong và nộp lưu chiểu quý…..năm 2015. ISBN: