Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, Tập 33, Số 2S (2017) 96-102

Biến đổi –C160A trong vùng promoter của gen *CDH1* ở bệnh nhân ung thư vú người Việt Nam

Lê Lan Phương, Nguyễn Thị Nga, Trịnh Hồng Thái*

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN, 334 Nguyễn Trãi, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 16 tháng 8 năm 2017
Chỉnh sửa ngày 20 tháng 9 năm 2017; Chấp nhận đăng ngày 10 tháng 10 năm 2017

Tóm tắt: Ung thư vú là loại ung thư phổ biến nhất và là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu ở phụ nữ trên toàn thế giới. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng biến đổi của gen ức chế khối u có liên quan đến bệnh ung thư, trong đó có ung thư vú. Biến đổi –C160A tại vùng promoter của gen ức chế khối u *CDH1* được cho là có liên quan đến nguy cơ của bệnh ung thư vú đã được nghiên cứu trên thế giới song chưa được thực hiện tại Việt Nam. Do đó, chúng tôi phân tích biến đổi –C160A trên gen *CDH1* của các bệnh nhân ung thư vú người Việt Nam nhằm xác định mối liên quan của biến đổi này với nguy cơ mắc bệnh và các đặc điểm bệnh học của bệnh ung thư vú. Nghiên cứu sử dụng phương pháp PCR-RFLP kết hợp với giải trình tự ADN để xác định biến đổi –C160A trên 67 cặp mẫu mô u và lân cận u của bệnh nhân ung thư vú. Kết quả cho thấy, biến đổi –160A được tìm thấy với tỷ lệ 37,3% ở mẫu mô u và 19,4% ở mẫu mô lân cận u, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$), tuy nhiên, biến đổi này không phụ thuộc vào các đặc điểm bệnh học của bệnh ung thư vú như: tuổi, độ biệt hóa, giai đoạn bệnh, kích thước u và kích thước hạch ($p>0,05$).

Từ khóa: Ung thư vú, E-Cadherin (CDH1), biến đổi -C160A.

1. Mở đầu

Ung thư vú là loại ung thư phổ biến nhất và là một trong năm bệnh ung thư có tỷ lệ tử vong cao nhất ở nữ giới [1]. Theo số liệu về tỷ lệ mắc và tử vong do ung thư vú, các chuyên gia cảnh báo về xu hướng phát triển của căn bệnh này trong giai đoạn 2015-2024: sẽ có khoảng 19,7 triệu ca mắc mới ung thư, trong đó có khoảng 10,6 triệu ca mắc mới ở các nước kém phát triển. Tới năm 2020 sẽ có khoảng 1 tỷ ca mắc ung thư vú trên toàn thế giới [1]. Do đó, các nghiên cứu nhằm tìm ra các chỉ thị sinh học để ứng dụng vào sàng lọc nguy cơ và hỗ trợ chẩn đoán, điều trị ung thư vú có tính cấp thiết.

Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về biến đổi gen ức chế khối u *CDH1* liên quan đến ung thư vú. Hầu hết các nghiên cứu đều chỉ ra rằng biến đổi trên gen này có liên quan đến quá trình tiến triển của ung thư vú và có tiềm năng trở thành chỉ thị sinh học của bệnh [2, 6-8]. Gen *E-Cadherin* (*CDH1/E-Cad*) là một gen ức chế khối u nằm trên nhiễm sắc thể số 16, mã hóa cho protein E-Cadherin. E-Cadherin là một thành viên của họ glycoprotein xuyên màng tham gia vào quá trình kết dính, biệt hóa, di chuyển và truyền tín hiệu của tế bào [2]. Các phân tử Cadherin xuyên màng và liên kết với phân tử Cadherin ở các tế bào lân cận, do đó, chúng có vai trò quan trọng trong quá trình xâm

*Tác giả liên hệ. ĐT.: 84-2438582798.
Email: thaith@vnu.edu.vn
https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4604

lấn và di căn ung thư [2]. E-Cadherin đã được chứng minh là có vai trò ức chế sự xâm lấn và di căn của tế bào ung thư trong mô hình ung thư thực nghiệm [2]. Hơn nữa, nghiên cứu về vai trò của E-Cadherin do gen *CDH1* mã hóa đã cho thấy sự giảm biểu hiện của E-cadherin có liên quan đến tiên lượng xấu của bệnh nhân ung thư vú [2].

Các nghiên cứu về mức độ biểu hiện của protein E-cadherin và hiệu quả phiên mã của gen *CDH1* đã chỉ ra biến đổi C>A tại vị trí –160 từ điểm khởi đầu phiên mã trên promoter của gen *CDH1* liên quan đến đến nguy cơ mắc ung thư [3]. Dạng biến đổi này là một chỉ thị di truyền tiềm năng giúp xác định được cá thể có nguy cơ xâm lấn và di căn ung thư [3]. Năm 2008, Wang và cộng sự (cs) đã công bố kết quả nghiên cứu thống kê về đa hình đơn nucleotide –C160A ở promoter của gen *CHD1* và nguy cơ ung thư. Nghiên cứu này tập hợp và phân tích số liệu thu từ 26 nghiên cứu đã được công bố trước đó, số lượng mẫu thống kê lên tới 7042 trường hợp ung thư gồm 7 dạng ung thư và 7011 mẫu đối chứng. Kết quả phân tích tổng thể cho thấy, kiểu gen mang alen –160A có nguy cơ ung thư xâm lấn hoặc di căn cao hơn khoảng 17-19% so với kiểu gen không mang alen –160A [4]. Đối với người Châu Âu, kiểu gen đồng hợp –160AA có liên quan đến tăng nguy cơ ung thư đường tiết niệu và dạng biến đổi –160A làm tăng nguy cơ ung thư phổi, ung thư tuyến tiền liệt và dạ dày, tuy nhiên, ở người Châu Á thì dường như không thấy có liên quan [4]. Đồng thời chưa có bằng chứng cho thấy alen –160A có liên quan đến ung thư vú, ung thư đại trực tràng và ung thư thực quản [4]. Năm 2013, Tipirisetti và cs đã nghiên cứu đa hình –160C/A ở bệnh nhân ung thư vú, kết quả cho thấy đa hình này có thể là một yếu tố nguy cơ mang tính di truyền của bệnh ung thư vú ở phụ nữ Ấn Độ [6].

Cho đến nay chúng tôi chưa tìm thấy nghiên cứu nào trong nước khảo sát một cách có hệ thống về các biến đổi của gen *CDH1*, đặc biệt là biến đổi –C160A ở vùng promoter của gen này liên quan đến ung thư vú. Do đó, nghiên cứu này sẽ cung cấp các số liệu ban đầu về biến đổi –C160A trên đối tượng người Việt Nam, đồng thời tìm hiểu mối liên quan giữa biến đổi này với các đặc điểm bệnh học của bệnh nhân ung thư vú, hướng tới việc ứng dụng trong chẩn đoán và điều trị ung thư vú ở Việt Nam.

2. Nguyên liệu và Phương pháp

2.1. Nguyên liệu

Mẫu nghiên cứu là mẫu mô vú được lấy tại vị trí khối u và vị trí lân cận u, cách khối u khoảng 5 cm (nhiều khả năng không chứa tế bào ung thư), kèm theo mô tả đặc điểm bệnh học của bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến vú như: tuổi, giới tính, mức độ biệt hóa của u và phân giai đoạn phát triển của u (TNM). Các mẫu được thu thập từ 67 bệnh nhân đến điều trị tại Bệnh viện K Hà Nội.

2.2. Phương pháp

Tách chiết ADN tổng số: ADN tổng số được tách chiết từ mẫu mô đông lạnh sử dụng kit tách chiết ADN từ mô - QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Đức) theo quy trình của nhà sản xuất.

Phản ứng PCR: Cặp mồi đặc hiệu dùng để nhân đoạn ADN có chứa vị trí -160 trên vùng promoter của gen *CDH1* được thiết kế bằng chương trình Primer-BLAST với trình tự khuôn là trình tự RefSeqGen có mã là NG_008021.1. Trình tự mồi như sau: mồi xuôi: 5’-TTT CTG ATC CCA GGT CTT AGT GA-3’, mồi ngược: 5’-AGT TCC GAC GCC ACT GAG A-3’. Sản phẩm PCR có kích thước 294bp. Chu trình nhiệt được sử dụng để nhân đoạn gen *CDH1* như sau: 95°C, 4 phút; 35 chu kỳ (95°C, 30 giây; 52°C, 20 giây; 72°C, 25 giây); 72°C, 5 phút, sau đó giữ mẫu ở 20°C.

Xác định kiểu gen tại vị trí -160 bằng phương pháp RFLP: Sử dụng enzyme FastDigest® *Mlu*I có trình tự nhận biết 5’-A↓CGCGT-3’ để phân cắt sản phẩm PCR thu được. Trong trường hợp tại vị trí –160 là nucleotide C thì đoạn ADN không bị enzyme cắt và sản phẩm có kích thước là 294bp. Trong

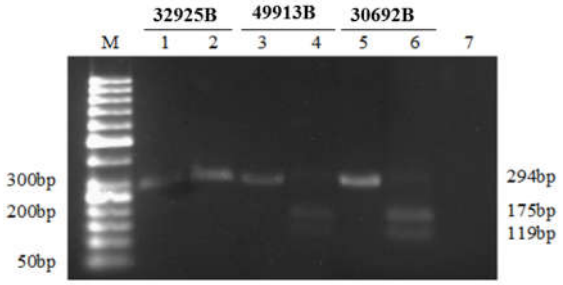
trường hợp tại vị trí –160 là nucleotide A thì đoạn ADN sẽ bị cắt thành 2 đoạn ADN có kích thước 119bp và 175bp. Sản phẩm PCR và sản phẩm cắt bằng enzyme giới hạn được điện di kiểm tra trên gel agarose 2%.

Giải trình tự ADN và phân tích thống kê: Sản phẩm PCR có kích thước 294bp được tinh sạch và giải trình tự theo nguyên lý của Sanger. Kết quả trình tự của mẫu được so sánh với trình tự ADN tham chiếu chứa gen *CDH1* của người đã được công bố trên ngân hàng gen NCBI (mã số NG_008021.1) và phân tích bằng các phần mềm tin sinh học chuyên dụng như BioEdit v7.0, BLAST, ClustalX,… Phân tích và đánh giá thống kê được thực hiện bằng phép kiểm định χ^2 và test chính xác của Fisher. Mức ý nghĩa thống kê được xác định với $p<0,05$.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Xác định biến đổi –C160A trong các mẫu nghiên cứu

Kết quả điện di sản phẩm PCR từ ADN tổng số thu được từ mẫu mô u vú của 3 bệnh nhân đại diện có mã số 32925B, 49913B, 30692B và sản phẩm cắt enzyme tương ứng của các mẫu PCR này (giếng 1, 3, 5 Hình 1) cho thấy các băng sản phẩm PCR có kích thước khoảng 294bp. Các băng sáng, rõ nét và không xuất hiện băng phụ, cùng với việc phản ứng PCR đối chứng âm (thay khuôn bằng nước) không cho sản phẩm (giếng 7, Hình 1) chứng tỏ không có hiện tượng bắt cặp không đặc hiệu. Kích thước băng phù hợp với tính toán lý thuyết khi thiết kế mồi. Sản phẩm PCR từ các mẫu này được cắt bằng enzyme giới hạn *Mlu*I để xác định biến đổi tại vị trí –160 của gen *CDH1* (giếng 2, 4, 6 Hình 1). Tại giếng 2 chỉ thấy xuất hiện 1 băng duy nhất có kích thước 294bp, chứng tỏ bệnh nhân 32925B có kiểu gen đồng hợp tử tại vị trí –160 với nucleotide C (CC). Ở giếng 4 có xuất hiện 2 băng có kích thước 175bp và 119bp, điều này cho thấy phản ứng cắt bằng enzyme giới hạn xảy ra hoàn toàn, tại vị trí –160 chỉ chứa nucleotide loại A, kiểu gen của bệnh nhân 4991B là dạng đồng hợp AA. Đặc biệt, ở giếng số 6 có xuất hiện 3 băng có kích thước 294bp, 175bp và 119bp, chứng tỏ tại vị trí –160 có cả nucleotide loại A và C, khẳng định bệnh nhân 30692B mang kiểu gen di hợp tử CA.

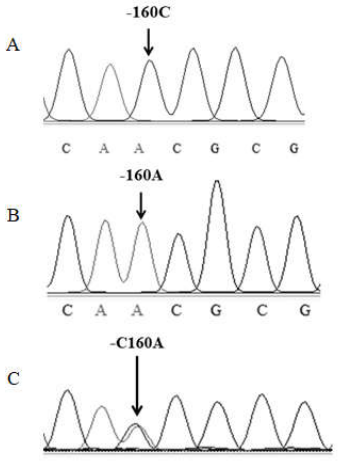


Hình 1. Ảnh điện di sản phẩm PCR-RFLP của gen *CDH1* từ mẫu mô u của 3 bệnh nhân đại diện trong nghiên cứu với mã số 3295B, 49913B, 30692B Giếng M: Thang ADN chuẩn 50bp; Giếng 1,3,5: sản phẩm PCR; Giếng 2,4,6: sản phẩm cắt bằng enzyme *Mlu*I; Giếng 7: đối chứng âm của phản ứng PCR (khuôn là nước).

Để khẳng định độ chính xác của phương pháp PCR-RFLP, một số sản phẩm PCR đại diện được tinh sạch và giải trình tự trực tiếp. Kết quả giải trình tự các mẫu được đối chiếu, so sánh với trình tự ADN chuẩn của gen *CDH1* đã được công bố trên ngân hàng gen NCBI (mã số NG_008021.1). Phân tích trình tự mẫu mang biến đổi –C160A ở dạng đồng hợp CC hoặc AA (xác định theo phương pháp PCR-RFLP) nhận thấy tại vị trí –160 chỉ xuất hiện 1 đỉnh C hoặc A có độ phân giải cao, rõ ràng (Hình 2A, 2B). Trình tự của mẫu mang biến đổi –C160A ở dạng dị hợp tử (được xác định bằng phương pháp PCR-RFLP) thấy rõ tại vị trí –160 xuất hiện đồng thời cả hai đỉnh C và A chồng lên nhau nhưng từng đỉnh đều rõ ràng và cân đối (Hình 2C). Kết quả phân tích trình tự đã khẳng định việc phát hiện các mẫu có mang biến đổi –C160A theo phương pháp PCR-RFLP là đáng tin cậy.

Thống kê kết quả PCR-RFLP với ADN của mẫu mô u và lân cận u từ 67 bệnh nhân ung thư vú theo qui trình nói trên cho thấy đối với mẫu mô u có 42 mẫu mang kiểu gen dạng –160C, chiếm tỷ lệ 62,7% và 25 mẫu có dạng biến đổi

–160A, chiếm tỷ lệ 37,3%. Trên mẫu mô lân cận u có 54 mẫu có kiểu gen dạng –160C, chiếm tỷ lệ 80,6% và 13 mẫu có dạng biến đổi –160A, chiếm 19,4%.



Hình 2. Hình ảnh kết quả giải trình tự đoạn ADN của gen *CDH1* chứa vị trí -160.
A: Không có biến đổi -160C; B: Có biến đổi -160A; C: Dạng dị hợp CA

3.2. Mối liên quan giữa phân bố kiểu gen, alen và bệnh ung thư vú

Để đánh giá mối liên quan giữa biến đổi –C160A với bệnh ung thư vú, tần suất dạng biến đổi –C160A và phân bố kiểu gen được thống kê theo nhóm mẫu mô u và mô lân cận u (Bảng 1). Kết quả thống kê cho thấy kiểu gen mang biến đổi –160A gồm CA và AA chiếm 37,3% (25/67) ở mẫu mô u và 19,4% (13/67) ở mẫu mô lân cận u. Trong khi đó, kiểu gen không mang biến đổi dạng CC chiếm 62,7% (42/67) ở mẫu mô u và 80,6% (54/67) ở mẫu mô lân cận u. Sự khác biệt về phân bố kiểu gen giữa mô u và mô lân cận u là có ý nghĩa thống kê (P<0,05), đồng thời kiểu gen CA và AA gặp ở mô ung thư cao hơn so với mô lân cận u (OR=2,473; CI 95%=1,131-5,405; P=0,023). Tần suất dạng alen A ở mẫu mô u (25,4%) cao hơn so với tần suất alen này ở mô lân cận u (17,2%), tuy nhiên, sự khác nhau này không mang ý nghĩa thống kê (P>0,05) (Bảng 1).

Bảng 1. Phân bố alen và kiểu gen mang biến đổi –C160A trên gen *CDH1* ở mẫu mô u và lân cận u của bệnh nhân ung thư vú

Kiểu gen	Mẫu mô u, % (n)	Mẫu mô lân cận u, % (n)	OR* (CI 95%)	P
CC	62,7 (42)	80,6 (54)	2,473 (1,131-5,405)	0,023
CA	23,9 (16)	4,5 (3)		
AA	13,4 (9)	14,9 (10)		
Alen C	74,6 (100)	82,8 (111)	1.641 (0,906-2,973)	0,102
Alen A	25,4 (34)	17,2 (23)		

Ghi chú: * OR (Odds ratio): tỷ số chênh của kiểu gen CA+AA và CC, alen A và C giữa mô u so với mô lân cận u; CI 95% (Confidence interval): khoảng tin cậy 95%; n: số mẫu

E-Cadherin là protein có vai trò kết dính tế bào, đồng thời nó là protein ức chế khối u, tham gia vào quá trình kìm hãm sự phát triển và phân chia quá mức của tế bào [2]. Nghiên cứu về vai trò của protein E-Cadherin đã chỉ ra rằng sự tiến triển của các dạng ung thư biểu mô bao gồm ung thư biểu mô tuyến vú có liên quan đến việc giảm biểu hiện của protein này [2]. Biến đổi trên gen *CDH1* dẫn tới mất chức năng hoặc giảm biểu hiện của protein E-Cadherin ảnh hưởng tới việc kiểm soát phân chia tế bào làm hình thành khối u và ảnh hưởng tới sự kết dính tế bào là nguyên nhân gây xâm lấn và di căn ung thư [2]. Biến đổi C>A tại vị trí –160 trong vùng promoter của gen *CDH1* đã được chứng minh là một trong các nguyên nhân dẫn tới giảm biểu hiện của E-Cadherin [3]. Nghiên cứu của Li và cs (2000) cho thấy, hiệu quả phiên mã của gen có alen A chỉ bằng 68% so với gen có alen C. Hơn nữa, trình tự chứa alen C có khả năng liên kết với yếu tố phiên mã mạnh hơn hơn so với đoạn trình tự có alen A [3]. Như vậy, đa hình –C160A có ảnh hưởng tới điều hòa phiên mã của gen *CDH1*, do đó, dạng biến đổi

này có thể là một chỉ thị di truyền tiềm năng giúp xác định tình tình trạng bệnh ở những đối tượng có nguy cơ mắc bệnh cao [3]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, tại vị trí –160 của gen *CDH1*, tần suất dạng alen A ở mẫu mô u có xu hướng cao hơn so với mô lân cận u và kiểu gen mang biến đổi –160A (CA và AA) ở mô u cao hơn so với mô lân cận u. Điều này phù hợp với lý thuyết về vai trò của E-Cadherin và biến đổi của gen *CDH1* liên quan đến việc hình thành và tiến triển của ung thư nói chung và ung thư vú nói riêng.

Trong nghiên cứu này của chúng tôi, các mẫu được dùng để so sánh là các cặp mẫu mô u (chứa tế bào ung thư) và mẫu đối chứng là mô lân cận u (hầu như không chứa tế bào ung thư) của cùng một bệnh nhân ung thư vú. Việc so sánh này làm hạn chế các sai số do sự khác biệt di truyền của các cá thể khác nhau, tuy nhiên lại chưa có sự so sánh với mẫu đối chứng là mô vú lành ở người khỏe mạnh bình thường cũng như chưa có sự so sánh với mẫu máu. Kết quả cho thấy, kiểu gen mang biến đổi –160A gặp ở mô u cao hơn so với mô lân cận u, khác biệt này có liên quan đến ung thư vú ($p<0,05$). Điều này gợi ý rằng biến đổ –C160A có thể liên quan tới nguy cơ mắc/tiến triển ung thư vú. Kết quả của nghiên cứu này có nét tương đồng với kết quả của một số nghiên cứu về biến đổi –C160A đã được công bố trên thế giới. Năm 2006, Yu và cs đã tìm hiểu nguy cơ ung thư vú với đa hình gen liên quan đến con đường truyền tín hiệu qua thụ thể estrogen và cho thấy dạng đa hình đơn nucletide C/A tại vị trí –160 của gen *E-Cad* có liên quan đến ung thư vú ($p=0,04$). Nghiên cứu được thực hiện trên mẫu máu của 468 bệnh nhân ung thư vú và 470 phụ nữ khỏe mạnh người Đài Loan. Tại vị trí –160 của gen *E-Cad*, kiểu gen mang biến đổi ở mẫu bệnh cao hơn so với mẫu đối chứng, đồng thời kiểu gen CA và AA có xu hướng làm tăng nguy cơ mắc ung thư vú so với CC (OR=1,31; CI95%=1,01-1,71) [5]. Nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng, những phụ nữ mang alen A có khả năng bị ung thư vú cao hơn mang alen C lên tới 30% [5]. Nghiên cứu mối liên quan giữa đa hình đơn của gen *E-Cadherin* và việc tăng nguy cơ ung thư vú trên đối tượng phụ nữ ở miền nam Ấn Độ, Tipirsetti và cs (2013) đã xác định được tần suất kiểu gen –160A/A và alen –160A ở mô máu của bệnh nhân ung thư vú cao hơn so với so với mẫu máu đối chứng (với p tương ứng là 0,038 và 0,046). Nhóm nghiên cứu khẳng định đa hình –C160A có thể trở thành một yếu tố nguy cơ của bệnh ung thư vú cho phụ nữ ở nam Ấn Độ [6]. Shabnaz và cs (2016) cũng báo cáo kết quả tương tự trên đối tượng phụ nữ Bangladesh: kiểu gen mang dạng biến đổi –160A (CA +AA) có liên quan chặt chẽ với việc tăng nguy cơ ung thư vú (OR=1,67; P=0,005 và OR=1,68; P=0,0037). Alen –160A cũng làm tăng nguy cơ ung thư vú (OR=1,52; P=0,0058) [7]. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu này cũng có sự khác biệt với một số công bố trên thế giới. Wang và cs (2008) đã tập hợp thông tin từ 3 bộ dữ liệu đã được đã được công bố trước đó, gồm 1043 bệnh nhân ung thư vú và 817 mẫu đối chứng, kết quả phân tích thống kê lại cho thấy tần suất kiểu gen mang biến đổi tại vị trí –160 gồm AA và CA ở mẫu ung thư cao hơn ở mẫu đối chứng (OR=1,12; CI 95%=0,93-1,35). Tuy nhiên, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê và biến đổi –160C/A, alen –160A không có khả năng xác định nguy cơ ung thư vú [4]. Sự khác biệt về kết quả nghiên cứu này có thể do loại mẫu và số lượng mẫu trong các nghiên cứu có sự khác biệt. Điều này gợi ý cho chúng tôi mở rộng nghiên cứu trên số lượng bệnh nhân lớn hơn và tiếp tục tiến hành nghiên cứu trên mẫu máu của bệnh nhân và người khỏe mạnh làm đối chứng.

3.3. Mối liên quan giữa biến đổi –C160A với các đặc điểm bệnh học của bệnh nhân ung thư vú

Mối liên quan giữa biến đổi –C160A và các đặc điểm bệnh học của bệnh ung thư vú như độ tuổi của bệnh nhân, phân loại TNM theo các giai đoạn phát triển của bệnh, mức độ biệt hóa, kích thước khối u và kích thước hạch của u được phân tích dựa trên các kết quả thống kê được trình bày trong Bảng 2. Tuy nhiên, chúng tôi không tìm thấy mối liên quan giữa kiểu gen –C160A của mẫu mô u với các đặc điểm bệnh học của bệnh ung thư vú kể trên.

Bảng 2. Mối liên quan giữa biến đổi –C160A trên gen CDH1 với một số đặc điểm bệnh học của bệnh ung thư vú

Đặc điểm bệnh học	Số trường hợp	Kiểu gen % (n)		P
		CC	CA + AA	
Tuổi				0,152#
<50	27	51,9 (14)	48,1 (13)	
>50	39	69,2 (27)	30,8 (12)	
Mức độ biệt hóa				0,693*
Rõ	7	71,4 (5)	28,6 (2)	
Vừa	40	57,5 (23)	42,5 (17)	
Kém	18	66,7 (12)	33,3 (6)	
Phân loại TNM				0,069*
Giai đoạn I+II	58	67,2 (39)	32,8 (19)	
Giai đoạn III+IV	9	33,3 (3)	66,7 (6)	
Kích thước khối u				0,936*
≤ 2cm	20	60 (12)	40 (8)	
2-5cm	10	70 (7)	30 (3)	
≥ 5cm	37	64,9 (24)	35,1 (13)	
Kích thước hạch				0,459*
< 1cm	59	64,4 (38)	35,6 (21)	
≥ 1cm	8	50 (4)	50 (4)	

Ghi chú: Giai đoạn I: $T_1N_0M_0$. Giai đoạn II: $T_{2-3}N_0M_0$, $T_{0-2}N_1M_0$, Giai đoạn III: $T_3N_1M_0$, $T_{0-3}N_{2-3}M_0$, $T_4N_{\text{bất kỳ}}M_0$, Giai đoạn IV: $T_{\text{bất kỳ}}N_{\text{bất kỳ}}M1$; *: kiểm định Fisher ; #: kiểm định $\chi 2$.

Kết quả của chúng tôi phù hợp với kết quả của một số tác giả khác đã công bố về mối liên quan với các đặc điểm bệnh học. Nghiên cứu của Shabnaz và cs cũng không tìm thấy mối liên quan nào giữa đa hình –C160A với đặc điểm bệnh học của bệnh nhân ung thư vú người Bangladeshi gồm: tuổi, tình trạng mãn kinh, giai đoạn TNM, vị trí u [7]. Khi phân tích mối quan hệ của một số biến đổi trên gen *CDH1* gồm -G347A, –C160A, +C54T và các đặc điểm bệnh học của bệnh ung thư vú, Menni và cs (2016) cũng không tìm thấy mối liên hệ giữa biến đổi –C160A với đặc điểm về tuổi, vị trí u, kích thước khối u, số hạch, giai đoạn bệnh [8]. Tuy nhiên, kết quả phân tích thống kê của chúng tôi khác với kết quả nghiên cứu của Tipirisetti và cs. Nghiên cứu này chỉ ra sự có mặt của alen –160A trong bệnh nhân ung thư vú ở miền Nam Ấn Độ có liên quan đến sự tiến triển sang giai đoạn muộn của bệnh [6].

Như vậy, trong nghiên cứu này, kết quả phân tích PCR-RFLP trên 67 cặp mẫu mô u và mô lân cận u của bệnh nhân ung thư vú đã cho thấy biến đổi –160A được tìm thấy với tỷ lệ 37,3% ở mẫu mô u và 19,4% ở mẫu mô lân cận u. Biến đổi –160A (CA và AA) ở mô u cao hơn so với mô lân cận u là có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$). Tuy nhiên, biến đổi này không phụ thuộc vào các đặc điểm bệnh học của bệnh ung thư vú như: tuổi, độ biệt hóa và giai đoạn bệnh ($p>0,05$). Theo hiểu biết của chúng tôi, đây là dữ liệu đầu tiên được công bố liên quan đến biến đổi –C160A trên bệnh nhân ung thư vú người Việt Nam. Kết quả nghiên cứu này có sự tương đồng với một số nghiên cứu khác trên thế giới, các kết quả cho thấy biến đổi –C160A có tiềm năng trở thành chỉ thị để xác định nguy cơ của ung thư vú.

4. Kết luận

Phân tích biến đổi –C160A trong vùng promoter của gen ức chế khối u *CDH1* trên 67 cặp mẫu mô u và lân cận u của bệnh nhân ung thư vú người Việt Nam cho thấy biến đổi –C160A có liên quan đến mô ung thư ($p<0,05$), tuy nhiên, biến đổi này không liên quan đến đặc điểm bệnh học của bệnh ung thư vú như: tuổi, mức độ biệt hóa, giai đoạn bệnh, kích thước khối u và kích thước hạch.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Khoa học Tự nhiên trong đề tài mã số TN.16.14.

Tài liệu tham khảo

[1] http://globocan.iarc.fr/ (18/3/2017)

[2] Berx G., Van Roy F., The E-cadherin/catenin complex: an important gatekeeper in breast cancer tumorigenesis and malignant progression, Breast Cancer Res., 3(5), 2001, 289.

[3] Li L.C., Chui R.M., Sasaki M., Nakajima K., Perinchery G., Au H.C., Nojima D., Carroll P., Dahiya R., A Single Nucleotide Polymorphism in the E-cadherin Gene Promoter Alters Transcriptional Activities, Cancer Res., 60(4), 2000, 873.

[4] Wang G.Y., Lu C.Q., Zhang R.M., Hu X.H., Luo Z.W., The E-cadherin gene polymorphism -160C→A and cancer risk: A HuGE review and meta-analysis of 26 case-control studies, Am. J. Epidemiol., 2008, 167(1), 7.

[5] Yu J.C., Hsu H.M., Chen S.T., Hsu G.C., Huang C.S., Hou M.F., Fu Y.P., Cheng T.C., Wu P.E., Shen C.Y., Breast cancer risk associated with genotypic polymorphism of the genes involved in the estrogen-receptor-signaling pathway: a multigenic study on cancer susceptibility, Journal of Biomedical Science, 2006, 13, 419.

[6] Tipirisetti N.R., Govatati S., Govatati S., Kandukuri L.R., Cingeetham A., Singh L., Digumarti R.R., Bhanoori M., Satti V., Association of E-Cadherin Single-Nucleotide Polymorphisms with the Increased Risk of Breast Cancer: A Study in South Indian Women, Genet Test Mol Biomarkers., 2013, 17(6), 494.

[7] Shabnaz S., Ahmed M.U., Islam M.S., Islam M.R., Al-Mamun M.M., Islam M.S., Hasnat A., Breast
cancer risk in relation to TP53 codon 72 and CDH 1 genepolymorphisms in the Bangladeshi women, Tumour Biol., 2016, 37(6), 7229.

[8] Memni H, Macherki Y., Klayech Z., Ben-Haj-Ayed A., Farhat K, Remadi Y., Gabbouj S., Mahfoudh W., Bouzid N., Bouaouina N., Chouchane L., Zakhama A., Hassen E., E-Cadherin genetic variants predict survival outcome in breast cancer patients, J Transl Med., 2016, 14(1), 320.

–C160A Alteration of CDH1 Promoter in Vietnamese Breast Cancer Patients

Le Lan Phuong, Nguyen Thi Nga, Trinh Hong Thai

VNU University of Science, 334 Nguyen Trai, Hanoi, Vietnam

Abstract: Breast cancer is the most common cancer and the leading cause of cancer death among women worldwide. Many studies have shown that tumor suppressor gene alterations are associated with different types of cancer, including breast cancer. –C160A alteration in the promoter region of the *CDH1* tumor suppressor gene has been found to be associated with increased breast cancer risk in patients from various countries, however, this has not been studied on Vietnamese patients. Therefore, we analyzed the –C160A alteration of *CDH1* promoter to determine the association with the risk and some pathological features of breast cancer in Vietnam. PCR-RFLP analysis and DNA sequencing were used to determine –C160A alteration in 67 pairs of tissuse samples (tumor and adjacent tumor tissuse) from Vietnamese breast cancer patients. Results showed that the frequency of –160A variant was 37.3% in tumor tissue and 19.4% in adjacent tumor tissue, the difference was statistically significant ($p<0.05$). However, –C160A alteration was not significantly associated with some pathological features sush as: age, differentiation, TNM (lymph–node–metastasis) stage, size of tumor and lymph nodes ($p>0.05$).

Keywords: Breast cancer, E-Cadherin (CDH1 gene), –C160A alteration.