

DOI: 10.58490/ctump.2024i81.2831

SỰ BIỂU HIỆN CÁC PROTEIN p16, p53, pRb Ở MÔ SINH THIẾT KHỐI U BỆNH NHÂN UNG THƯ BIỂU MÔ TẾ BÀO GAI VÙNG KHẨU HẦU*Trần Thị Hương Ly^{1*}, Nguyễn Văn Luân², Trần Ngọc Dung²,
Võ Văn Kha¹, Hứa Thị Ngọc Hà³**1. Bệnh viện Ung bướu thành phố Cần Thơ**2. Trường Đại học Y Dược Cần Thơ**3. Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh***Email: bshuongly@gmail.com**Ngày nhận bài: 02/6/2024**Ngày phản biện: 03/8/2024**Ngày duyệt đăng: 25/10/2024***TÓM TẮT**

Đặt vấn đề: Sự biểu hiện p16, p53, pRb và HR-HPV ở mô sinh thiết khối u là các yếu tố quan trọng, giúp chẩn đoán và tiên lượng ung thư khẩu hầu. **Mục tiêu nghiên cứu:** Khảo sát sự biểu hiện của các protein p16, p53, pRb ở mô sinh thiết khối u vùng khẩu hầu và mối liên quan giữa biểu hiện của p16, p53, pRb với tình trạng nhiễm HR-HPV ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gai vùng khẩu hầu (OPSCC). **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Mô tả cắt ngang trên 30 bệnh nhân OPSCC, nhập viện từ 01/2023 đến 07/2023 tại Bệnh viện Ung bướu thành phố Cần Thơ. Ứng dụng kỹ thuật hóa mô miễn dịch để khảo sát sự biểu hiện p16, p53, pRb và kỹ thuật Real-time PCR để xác định các type HR-HPV ở mô sinh thiết khối ung thư, đã được cố định bằng formalin đệm trung tính vùi trong parafin. **Kết quả nghiên cứu:** Tuổi trung bình của bệnh nhân là 58,73 $\pm$ 9,37. Tỷ số nam/nữ là 9/1. Tỷ lệ nhiễm HR-HPV ở mô sinh thiết là 56,7%, với 100% là type HPV16. Tỷ lệ p16(+) là 26,7% (8/30), p16(-) là 73,3% (22/30); tỷ lệ p53(+) là 30% (9/30), p53(-) là 70% (21/30); tỷ lệ pRb(+) là 53,3% (16/30), pRb(-) là 46,7% (14/30). Có mối liên quan nghịch giữa sự biểu hiện của HR-HPV và biểu hiện p53, pRb ở mô sinh thiết khối u, tuy nhiên chưa đạt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), chưa tìm thấy mối liên quan giữa biểu hiện p16 và HR-HPV ở mô sinh thiết khối u. **Kết luận:** Sự biểu hiện của HR-HPV khá cao và có liên quan nghịch với sự biểu hiện của p53 và pRb ở mô sinh thiết khối u của bệnh nhân OPSCC.

Từ khóa: Ung thư biểu mô tế bào gai vùng khẩu hầu, HPV type nguy cơ cao, p16, p53, pRb.

ABSTRACT

THE EXPRESSION OF p16, p53, pRb PROTEINS IN TUMOR BIOPSY TISSUE BY IMMUNOHISTOCHEMISTRY IN THE OROPHARYNGEAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA PATIENTS

Tran Thi Huong Ly^{1}, Nguyen Van Luan², Tran Ngoc Dung²,
Vo Van Kha¹, Hua Thi Ngoc Ha³*

*1. Can Tho Oncology Hospital**2. Can Tho University of Medicine and Pharmacy**3. University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City*

Background: The expression of HR-HPV indicators, proteins p16, p53, and pRb in tumor biopsy tissue plays a significant role in the diagnosis and prognostication of patients with oropharyngeal cancer. **Objectives:** To examine the expression of the proteins p16, p53, and pRb in oropharyngeal tumor biopsy tissue, as well as the correlation between the frequency of p16, p53, pRb, and HR-HPV infection in oropharyngeal squamous cell carcinoma (OPSCC). **Materials and methods:** An overview of 30 patients diagnosed with oropharyngeal squamous cell carcinoma who were

admitted to Can Tho Oncology Hospital between January 2023 and July 2023 using a cross-sectional approach. Employing Real-time PCR methods to look at the expression of HR-HPV kinds in malignant biopsy tissue that has been fixed with formalin and placed in paraffin candles, as well as immunohistochemistry methods to look at the expression of p16, p53, and pRb proteins. **Results:** The patients' ages ranged from 58.73 $\pm$ 9.37 years on average. The ratio of men to women is 9 to 1. In biopsy tissue, the rate of HR-HPV infection was 56.7%, with 100% of cases being type HPV16. The percentages of p16(+) and p16 (-) were 26.7% (8/30) and 73.3% (22/30); p53 (+) and p53 (-) were 30% (9/30) and 70% (21/30); pRb (+) and pRb (-) are 53.3% (16/30) and 46.7% (14/30). There is an inverse association between the expression of HR-HPV and the expression of p53 and pRb in tumor biopsy tissue, but $p > 0.05$. No association between p16 expression and HR-HPV in tumor biopsy tissue. **Conclusion:** In tumor biopsy tissue from patients with oropharyngeal cancer, the expression of HR-HPV indicators is quite high and inversely correlated with the expression of p53 and pRb.

Keywords: OPSCC, high-risk HPV type, p16, p53, pRb.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh nhân ung thư vùng hầu họng có loại mô bệnh học thường gặp nhất là ung thư biểu mô tế bào gai. Trong bệnh sinh ung thư hầu họng, hai yếu tố nguy cơ sinh bệnh được đề cập nhiều nhất là hút thuốc lá và uống rượu. Gần đây, nhiễm HPV được đề cập đến, như là một yếu tố nguy cơ quan trọng trong bệnh sinh các ung thư này. Ngoài ra, sự phối hợp giữa tình trạng nhiễm HPV với sự biểu hiện các protein p16, p53, pRb trên mô sinh thiết khối u có thể giúp tiên lượng sự đáp ứng điều trị và tỷ lệ sống còn của bệnh nhân [1].

Tình trạng nhiễm HPV của bệnh nhân ung thư hầu họng được chẩn đoán thông qua việc phát hiện HPV-DNA ở mô sinh thiết khối u bằng các kỹ thuật sinh học phân tử (PCR, Real-time PCR), gần đây, việc đánh giá sự hiện diện của p16 (một protein điều hòa chu kỳ tế bào) ở mô sinh thiết bằng kỹ thuật hóa mô miễn dịch, cũng là cách gián tiếp để xác định nhiễm HPV ở bệnh nhân. p53 và pRb là các protein ức chế u, trong quá trình nhiễm HPV, p53 và pRb sẽ bị bất hoạt bởi protein E6 và E7 của HPV, lúc này chúng không còn khả năng ức chế sự phát triển khối u nữa. Ngoài ra, khi pRb bị bất hoạt, chúng cũng không còn khả năng ức chế biểu hiện p16. Từ đó, các bệnh nhân ung thư hầu họng có nhiễm HPV (HPV(+)), thường có p53 và pRb biểu hiện ở mức thấp, trong khi p16 thì biểu hiện quá mức. Các nghiên cứu cho thấy, bệnh nhân ung thư hầu họng có p16 biểu hiện ở mức độ cao và p53/pRb biểu hiện ở mức độ thấp, sẽ có sống còn cao hơn các bệnh nhân khác [2].

Nhằm cung cấp các bằng chứng khoa học về vai trò của các dấu ấn nêu trên ở bệnh nhân ung thư hầu họng điều trị tại Bệnh viện Ung bướu Cần Thơ, nghiên cứu này “Nghiên cứu sự biểu hiện các protein p16, p53, pRb ở mô sinh thiết khối u bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gai vùng hầu họng” với các mục tiêu sau: 1) Xác định tỷ lệ biểu hiện các protein p16, p53, pRb ở mô sinh thiết khối u của bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gai vùng hầu họng. 2) Khảo sát mối liên quan giữa tỷ lệ biểu hiện của p16, p53, pRb với tình trạng nhiễm HR-HPV ở bệnh nhân.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Bệnh nhân được chẩn đoán xác định ung thư hầu họng (có khối u ở vùng hầu họng và có kết quả giải phẫu bệnh khối u ở vùng hầu họng là carcinoma)

- **Tiêu chuẩn chọn mẫu:** Bệnh nhân được chọn khi có đầy đủ các tiêu chuẩn sau:

+ Có khối u ở vùng hầu họng (gồm u ở vùng amidan, hầu họng, đáy lưỡi, thành bên họng và thành sau họng) được xác định qua khám lâm sàng hoặc qua các phương tiện chẩn đoán hình ảnh.

+ Có kết quả giải phẫu bệnh là carcinoma tế bào gai (Squamous cell carcinoma - SCC).

+ Có tình trạng chức năng hoạt động cơ thể theo thang điểm Karnofsky (KPS) ≥ 70 .

+ Bệnh nhân mới được điều trị theo phác đồ tại bệnh viện Ung bướu Cần Thơ.

+ Tự nguyện tham gia nghiên cứu.

- **Tiêu chuẩn loại trừ:** Khi bệnh nhân có một trong các tiêu chuẩn sau:

+ Được chẩn đoán là ung thư hầu họng tái phát.

+ Có kèm ung thư thứ hai, suy gan, suy thận, suy tim, suy tủy hoặc mang thai (phụ nữ).

+ Đã được hóa trị hoặc xạ trị trước đó.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- **Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

- **Cỡ mẫu:** Bước đầu khảo sát 30 bệnh nhân.

- **Phương pháp chọn mẫu:** Chọn mẫu thuận tiện

- **Thời gian và địa điểm nghiên cứu:** Từ 01/2023 đến 7/2023, tại bệnh viện Ung bướu Cần Thơ.

- **Nội dung nghiên cứu:**

+ Mô tả một số đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu, gồm: Nhóm tuổi (< 50 tuổi, từ 50-59 tuổi và ≥ 60 tuổi); Giới tính (nam và nữ giới); Nơi cư trú (nông thôn (xã) và thành thị (phường)); Vị trí khối u (amidan, hầu họng, đáy lưỡi, thành bên họng và thành sau họng); Giai đoạn TNM (theo AJCC 8 năm 2017, gồm các giai đoạn: I, II, III, IV); Phương pháp điều trị (gồm: hoá xạ đồng thời, xạ trị đơn thuần, hóa trị dẫn đầu và xạ trị, phẫu thuật có hoặc không xạ trị).

+ Chẩn đoán tình trạng nhiễm HR-HPV: Phát hiện HR-HPV bằng kỹ thuật real-time PCR trên bệnh phẩm mô sinh thiết khối ung thư, được cố định bằng formalin đậm trung tính vùi trong parafin (FFPE), được thực hiện tại phòng xét nghiệm sinh học phân tử, bệnh viện Ung bướu Cần Thơ. Tách chiết và tinh sạch DNA-HPV với bộ kit pureNA Genomic DNA Isolation Kit – Entrogen, Hoa Kỳ, sau đó định type HR-HPV bằng kỹ thuật real-time PCR bằng bộ kit HPV 14 Genotypes Real-TM Quant- Sacace Biotechnologies, Ý trên máy QuantStudio 5, Thermo Fisher Scientific, Singapore. 14 type HR-HPV được khảo sát gồm: HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68. Ghi nhận kết quả về tình trạng nhiễm và type HPV bị nhiễm:

HR-HPV(+): Khi có sự hiện diện DNA của một hoặc nhiều hơn trong số 14 type HR-HPV được khảo sát.

HR-HPV(-): Khi không có sự hiện diện DNA của bất kỳ HR-HPV nào trong số 14 type HPV khảo sát.

+ Khảo sát sự biểu hiện p16, p53, pRb ở mẫu FFPE bằng kỹ thuật hóa mô miễn dịch (immunohistochemistry - IHC) tại khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện ung bướu Cần Thơ: Mẫu FFPE được cắt ở kích thước 4 μ m, trải trên lam tích điện dương. Sử dụng các kháng thể “CINtec p16 Histology” (Roche), “CONFIRM anti-p53 (DO-7) Antibody” (Roche), “RB (ZR444) Rabbit” (Zeta) để xét nghiệm p53, p16, pRb. Đánh giá kết quả dựa vào sự bắt màu nhuộm của tế bào u:

Biểu hiện của p16: p16 được xem biểu hiện quá mức khi $\geq 70\%$ các tế bào khối u có sự bắt màu mạnh ở nhân/tế bào chất và lan tỏa. Biểu hiện thấp khi $< 70\%$ các tế bào u bắt màu [3].

Biểu hiện của p53: Gồm p53 loại hoang dã (WT-p53) và p53 loại đột biến (MT-p53). WT-p53 khi nhân bắt màu không đồng nhất với cường độ thay đổi được quan sát thấy trong các tế bào u hoặc chỉ ở lớp đáy và lớp cận đáy. MT-p53 gồm 4 kiểu biểu hiện: (1) hoàn toàn không bắt màu phẩm nhuộm trong các tế bào u; (2) bắt màu tế bào chất kèm có hoặc không bắt màu nhân; (3) bắt màu nhân mạnh và đồng dạng ít nhất 80% tế bào u; (4) bắt màu nhân mạnh và đồng dạng ít nhất 80% tế bào lớp đáy và lớp cận đáy [3].

Biểu hiện của pRb: Khi sự bắt màu ở nhân hiện diện > 10% tế bào u được xem là có biểu hiện, < 10% là mất biểu hiện [4].

Biểu hiện quá mức của p16, MT-p53 và có biểu hiện của pRb được ký hiệu (+). Biểu hiện p16 thấp, WT-p53 và mất biểu hiện pRb được ký hiệu (-)

+ Khảo sát mối liên quan giữa tỷ lệ biểu hiện p16, p53, pRb với kết quả HR-HPV.

- **Phương pháp xử lý và phân tích số liệu:** Dùng phần mềm R 4.3.2. Các biến định tính được trình bày dưới dạng tần số và tỷ lệ phần trăm, biến định lượng phân phối chuẩn được trình bày dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn, biến định lượng phân phối không chuẩn được trình bày dưới dạng trung vị $\pm$ độ lệch chuẩn.

- **Đạo đức trong nghiên cứu:** Nghiên cứu được Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học Bệnh viện Ung bướu Cần Thơ phê duyệt theo công văn số 12 /HĐĐĐ ngày 30 tháng 12 năm 2022.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Một số đặc điểm của bệnh nhân nghiên cứu

Bảng 1. Một số đặc điểm chung của bệnh nhân (n=30)

Nhóm tuổi	Tần số (n)	Tỷ lệ %
<50 tuổi	6	20,0
50–59 tuổi	13	43,3
≥ 60 tuổi	11	36,7
Tuổi trung bình: 58,73		
Giới tính	Tần số (n)	Tỷ lệ %
Nam	27	90,0
Nữ	3	10,0
Nơi cư trú	Tần số (n)	Tỷ lệ %
Thành thị	15	50,0
Nông thôn	15	50,0
Vị trí u	Tần số (n)	Tỷ lệ %
Amidan	17	56,6
Vùng đáy lưỡi	9	30,0
Khẩu cái mềm	2	6,7
Thành bên họng và thành sau họng	2	6,7
Giai đoạn bệnh	Tần số (n)	Tỷ lệ %
I và II	10	33,3
III và IV	20	66,7
Phương pháp điều trị	Tần số (n)	Tỷ lệ %
Phẫu thuật có hoặc không xạ trị	1	3,3
Hóa dẫn đầu và xạ trị	5	16,7
Xạ trị đơn thuần	9	30,0
Hóa xạ đồng thời	15	50,0

Nhận xét: Nhóm bệnh nhân 50-59 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất (43,3%). Bệnh nhân nam giới cao gấp 9 lần bệnh nhân nữ giới. Số bệnh nhân phân bố đều ở thành thị và nông thôn. Vị trí u thường gặp nhất là ở amidan (56,6%), kế đến là đáy lưỡi (30%). Đa số bệnh nhân đến khám khi bệnh ở giai đoạn III hoặc IV (66,7%). Hóa xạ đồng thời là phương pháp điều trị phổ biến nhất (50%), kế đến là xạ trị đơn thuần (30%).

Bảng 2. Đặc điểm về nhiễm HR-HPV (n=30)

Nhiễm HR-HPV	Tần số (n)	Tỷ lệ %
HR-HPV(+)	17	56,7
HR-HPV(-)	13	43,3

Bảng 3. Đặc điểm về type HR-HPV bị nhiễm (n=17)

HR-HPV(+)	Tần số (n)	Tỷ lệ %
HPV16	17	100
HPV18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	0	0

Nhận xét: Tỷ lệ nhiễm HR-HPV ở các bệnh nhân nghiên cứu là 56,7%, trong đó tất cả là HPV16 (17/17, chiếm 100%).

3.2. Tỷ lệ biểu hiện các protein p16, p53, pRb ở mô sinh thiết khối u bệnh nhân OPSCC

Bảng 4. Tỷ lệ biểu hiện của p16, p53, pRb ở mô sinh thiết khối u bệnh nhân OPSCC

Biểu hiện p16	Tần số (n)	Tỷ lệ %
p16(+)	8	26,7
p16(-)	22	73,3
Biểu hiện p53	Tần số (n)	Tỷ lệ %
p53(+)	9	30,0
p53(-)	21	70,0
Biểu hiện pRb	Tần số (n)	Tỷ lệ %
pRb(+)	16	53,3
pRb(-)	14	46,7

Nhận xét: Tỷ lệ p16(+) là 26,7%, p53(+) là 30% và pRb(+) là 50%.

3.3. Mối liên quan giữa tỷ lệ biểu hiện các protein p16, p53, pRb với tỷ lệ nhiễm HR-HPV ở mô sinh thiết khối u bệnh nhân ung thư vùng hầu họng

Bảng 5. Mối liên quan giữa tỷ lệ biểu hiện p16 với tỷ lệ nhiễm HR-HPV

p16	HR-HPV(+) n (%)	HR-HPV(-) n (%)	Tổng	p
Biểu hiện p16	p16(+)	7 (87,5)	1 (12,5)	8
	p16(-)	10 (45,5)	12 (54,5)	22
	Tổng	17	13	30

Nhận xét: Tỷ lệ biểu hiện p16(+) là 8 trường hợp, tỷ lệ nhiễm HR-HPV là 17 trường hợp, chưa tìm thấy mối liên quan giữa biểu hiện p16 và nhiễm HR-HPV (p=0,092)

Bảng 6. Mối liên quan giữa tỷ lệ biểu hiện p53, pRb với tỷ lệ nhiễm HR-HPV

p53 pRb	HR-HPV(+) n (%)	HR-HPV(-) n (%)	Tổng	p
Biểu hiện p53	p53(-)	13 (61,9)	8 (38,1)	21
	p53(+)	4 (44,4)	5 (55,6)	9
	Tổng	17	13	30

p53 pRb		HR-HPV(+) n (%)	HR-HPV(-) n (%)	Tổng	p
Biểu hiện pRb	pRb(-)	10 (71,4)	4 (28,6)	14	0,159
	pRb(+)	7 (43,8)	9 (56,2)	16	
	Tổng	17	13	30	

Nhận xét: Với bệnh nhân p53(-), hơn 60% nhiễm HR-HPV. Tương tự, bệnh nhân có pRb(-), thì có 10/14 (71,4%) bệnh nhân nhiễm HR-HPV. Tỷ lệ biểu hiện p53(-) và pRb(-) tương đương với tỷ lệ nhiễm HR-HPV. Tuy nhiên, dựa trên kiểm định Fisher, chưa tìm thấy mối liên quan giữa biểu hiện p53 và pRb với nhiễm HR-HPV ($p = 0,443$ và $p = 0,159$).

IV. BÀN LUẬN

4.1. Một số đặc điểm của bệnh nhân

Theo y văn, ung thư khẩu hầu thường gặp ở bệnh nhân trên 60 tuổi, với tỷ số nam/nữ là 4/1. Vị trí khối u thường gặp nhất là ở amidan, kế đến là đáy lưỡi. Bệnh nhân thường đến khám khi bệnh đã ở giai đoạn tiến xa tại chỗ tại vùng [1]. Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho kết quả gần tương đương với y văn, với tuổi mắc bệnh trung bình là 58,73, hơn 1/2 bệnh nhân có u nguyên phát ở amidan và 2/3 bệnh nhân vào viện khi bệnh đã ở giai đoạn III, IV. Tỷ lệ bệnh nhân nam trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn so với ghi nhận của y văn, có thể tại Việt Nam, hút thuốc lá và uống rượu là các yếu tố nguy cơ thường thấy ở nam giới hơn nữ giới. Ung thư khẩu hầu thường ở các vị trí không thuận lợi cho phẫu thuật, bệnh lại thường được phát hiện khi đã ở giai đoạn muộn, bên cạnh đó, ung thư khẩu hầu là loại ung thư đáp ứng tốt với xạ trị, nên đa số bệnh nhân được chỉ định phương pháp điều trị là hóa xạ trị đồng thời. Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 1/2 bệnh nhân được hóa xạ trị đồng thời, phổ biến thứ hai là xạ trị đơn thuần. Điều trị này phù hợp với các tình hình điều trị chung cho ung thư khẩu hầu trong nước cũng như trên thế giới.

Trong nghiên cứu này, tỷ lệ bệnh nhân OPSCC có nhiễm HR-HPV là 56,7%, phù hợp với tỷ lệ chung của khu vực Châu Á. Theo y văn, có sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm HPV trong ung thư khẩu hầu ở các châu lục. Bắc Mỹ là khu vực có tỷ lệ bệnh nhân ung thư khẩu hầu nhiễm HPV cao nhất (63%), kế đến là châu Úc (50,2%) và sau là châu Âu (41,9%). Châu Á nằm ở nhóm trung bình với tỷ lệ nhiễm HPV khoảng 34,6%, cao hơn châu Phi và Nam Mỹ [5]. Về các loại HR-HPV trong nghiên cứu của chúng tôi, 17/30 bệnh nhân có HR-HPV(+) đều là type HPV16. HPV16 và HPV18 là hai type gặp ở 85% bệnh nhân ung thư đầu cổ trên toàn thế giới. Tại châu Á, HPV16 gặp ở 75-92% các trường hợp ung thư khẩu hầu do HPV, HPV18 là type phổ biến kế sau HPV16 [6].

4.2. Sự biểu hiện các protein p16, p53, pRb ở mô sinh thiết khối u bệnh nhân OPSCC

OPSCC có liên quan HPV đang gia tăng, trong đó, type HPV16 thường gặp nhất. Những bệnh nhân này thường có p16(+), trong khi pRb(-) và p53 biểu hiện loại WT-p53. Cơ chế là do khi HPV xâm nhập vào cơ thể thì E6 của HPV sẽ gắn với protein ức chế u p53 làm p53 bị bất hoạt, dẫn đến tế bào sẽ vượt qua điểm kiểm soát G2/M, đồng thời biểu hiện p53 trên mẫu IHC là loại WT-p53. Đồng thời, E7 của HPV sẽ gắn với protein ức chế u pRb làm gián đoạn pRb, gây ra sự kích hoạt yếu tố E2F, hậu quả là tế bào sẽ vượt qua điểm kiểm soát pha G1/S. Bên cạnh đó, khi pRb bị bất hoạt, chúng cũng không còn khả năng ức chế protein điều hòa chu trình tế bào p16 khiến p16 biểu hiện quá mức trong khi pRb không biểu hiện trên mẫu IHC [2], [1].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 17/30 (56,7%) bệnh nhân nhiễm HR-HPV. Khi nhuộm IHC p16 thì có 8/22 (26,7%) bệnh nhân có p16(+). Nghiên cứu của Smith EM cho kết quả p16(+) là 38%, nghiên cứu của Plath M có kết quả p16(+) là 51,8%; tỷ lệ nhiễm HR-HPV trong hai nghiên cứu lần lượt là 28% và 50,5%. Các nghiên cứu cho thấy tỷ lệ p16(+) có sự tương quan thuận với tỷ lệ nhiễm HPV. Trong khi nghiên cứu của chúng tôi có kết quả p16(+) thấp hơn có thể do cỡ mẫu trong các nghiên cứu rất khác nhau. Theo các tác giả, p16 như một dấu hiệu đại diện đáng tin cậy cho nhiễm HR-HPV trong OPSCC. Tuy nhiên, việc đánh giá nhiều dấu ấn ở bệnh nhân ung thư vùng đầu cổ sẽ giúp tiên lượng chính xác hơn [2], [7].

Trong nghiên cứu này, 30% bệnh nhân biểu hiện p53(+) và 70% bệnh nhân có biểu hiện p53(-). Tỷ lệ p53(-) thường ở mức cao được cho có nhiều đột biến gen *TP53* làm protein này mất biểu hiện bên cạnh việc bị E6 làm cho bất hoạt [3]. Nghiên cứu của Plath M cho kết quả p53(-) gần tương đương nghiên cứu của chúng tôi, 66,5%. Trong khi p16 như một dấu hiệu đại diện cho nhiễm HR-HPV và biểu hiện p16(+) của tế bào khối u có liên quan đến tiên lượng thuận lợi cho bệnh nhân thì biểu hiện p53(+) của tế bào khối u có liên quan đến kết quả xấu [2]. Nghiên cứu của Shogo S cho tỷ lệ biểu hiện p53(-) là 72%, cũng tương đương với nghiên cứu của chúng tôi. Biểu hiện p16 có mối quan hệ nghịch đảo với biểu hiện p53. Những bệnh nhân có p16(+) và p53(-) có tiên lượng tốt hơn về sống còn so với những bệnh nhân có p16(+) và p53(+) [8].

Có 53,3% bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi biểu hiện pRb(+) và 46,7% biểu hiện pRb(-). Theo Michaela P có 51,8% bệnh nhân pRb(-), tương đương với nghiên cứu của chúng tôi [2]. Theo Jiromaru R thì có 61,6% pRb(-), cũng gần tương đương với nghiên cứu của chúng tôi; tác giả cũng phân tích trong số các trường hợp dương tính với HPV thì biểu hiện Rb thường là mất biểu hiện một phần, hiếm khi là mất biểu hiện hoàn và không có trường hợp nào có biểu hiện pRb. Việc dự đoán nhiễm HR-HPV trong OPSCC, sự kết hợp giữa p16(+) và Rb(-) cho thấy độ nhạy 100%, độ đặc hiệu 97,2%, giá trị tiên đoán dương 98,1%. Khi chỉ có p16 đơn lẻ thì độ nhạy như nhau là 100%, nhưng độ đặc hiệu và giá trị tiên đoán dương thấp hơn (88,9% và 92,9%) [4].

Qua các kết quả và phân tích nêu trên cho thấy việc kết hợp IHC p16 và pRb hoặc p16 và p53 có thể là các phương pháp đáng tin cậy để dự đoán nhiễm HR-HPV trong OPSCC khi không có xét nghiệm để xác định HPV hoặc để tiết kiệm chi phí. Bên cạnh đó, sự kết hợp các dấu ấn trên giúp việc tiên lượng được chính xác hơn.

4.3. Mối liên quan giữa sự biểu hiện các protein p16, p53, pRb với tình trạng nhiễm HR-HPV ở mô sinh thiết khối u bệnh nhân ung thư vùng đầu cổ

Phiên bản lần thứ 8 năm 2017 của AJCC có những thay đổi về việc phân giai đoạn OPSCC, đó là phân chia theo tình trạng HPV thông qua IHC p16 trên mô khối u. Gồm OPSCC dương tính với p16 và OPSCC p16 âm tính. Các trường hợp có cường độ nhuộm màu từ mức độ vừa phải trở lên và nhuộm màu lan tỏa ($\geq 75\%$ tế bào khối u) được xem là p16(+), đồng nghĩa với HPV(+) [9]. Theo đó, những trường hợp OPSCC có nhiễm HPV sẽ có kết quả IHC p16(+). Tuy nhiên, trong nghiên cứu của chúng tôi, có sự chưa tương hợp giữa HPV và p16, tỷ lệ HR-HPV dương tính cao hơn nhiều so với tỷ lệ p16 dương tính (56,7% so với 26,7%). Sự chưa tương hợp này có thể được lý giải dựa trên bệnh sinh ung thư đầu cổ của Weinberger PM, tác giả nghiên cứu ở 79 bệnh nhân ung thư đầu cổ, bệnh nhân chia thành 3 nhóm dựa trên tình trạng HPV và biểu hiện p16. Nhóm I là HPV(-) và p16 thấp; nhóm II là HPV(+) và p16 thấp; nhóm III là HPV(+) và p16 cao. Sống còn

toàn bộ 5 năm ở nhóm III cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm I và II. Tác giả cho rằng nhóm I chính là nhóm bệnh nhân ung thư khẩu hầu không do HPV, còn nhóm III là nhóm ung thư khẩu hầu liên quan mật thiết với HPV. Trong khi đó, nhóm II chính là nhóm mà quá trình sinh ung ban đầu tương tự như nhóm I nhưng sau đó mới bị nhiễm HPV dẫn đến HPV(+) nhưng p16 lại âm tính [10]. Chúng tôi thấy rằng điều này phù hợp với bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi. Trong 17 ca HR-HPV(+) thì có 7 ca p16(+) và 10 ca p16(-), giống phân nhóm III và phân nhóm II của Weinberger PM.

Bệnh nhân OPSCC với HR-HPV(+) trong nghiên cứu của chúng tôi có p53(+) chiếm tỷ lệ thấp hơn so với nhóm HR-HPV(-) (44,4% so với 55,6%). Ngược lại, bệnh nhân OPSCC với HR-HPV(-) có p53(-) chiếm tỷ lệ cao hơn nhóm HR-HPV(+) (61,9% so với 38,1%). Dù sự liên quan chưa đạt ý nghĩa thống kê, nhưng kết quả này phù hợp với cơ chế sinh lý bệnh của bệnh nhân ung thư khẩu hầu liên quan HPV. Tuy nhiên, các nghiên cứu đã cho thấy, p53 không dùng đơn lẻ để chẩn đoán và tiên lượng bệnh nhân OPSCC, mà cần phối hợp với IHC p16. Độ chính xác để chẩn đoán khi kết hợp hai dấu ấn p16 và p53 cao hơn so với chỉ có một dấu ấn p16 (độ chính xác = 0,99 với độ nhạy = 0,98 và độ đặc hiệu = 1 so với độ chính xác = 0,92, với độ nhạy = 1 và độ đặc hiệu = 0,86) [3]. Những bệnh nhân p16(+) và p53(-) có tiên lượng tốt hơn về sống còn so với những bệnh nhân p16(+) và p53(+) [8].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, sự liên quan của HR-HPV với pRb tương tự như với p53. Dù chưa đạt ý nghĩa thống kê, nhưng kết quả này cũng phù hợp với cơ chế sinh lý bệnh của bệnh nhân OPSCC liên quan HPV đã nêu trên. Bệnh nhân HR-HPV(+) trong nghiên cứu này có pRb(+) chiếm tỷ lệ thấp hơn so với nhóm bệnh nhân HR-HPV(-) (43,8% so với 56,2%). Ngược lại, bệnh nhân HR-HPV(-) có pRb(-) chiếm tỷ lệ cao hơn bệnh nhân HR-HPV(+) (71,4% so với 28,3%). Giống như p53, pRb cũng nên phối hợp với p16 để tăng sự chính xác mới trong việc tiên lượng điều trị và sống còn ở bệnh nhân. Độ nhạy, độ đặc hiệu và giá trị tiên đoán dương khi bệnh nhân có p16(+) và Rb(-) là 100%, 97,2% và 98,1%. Trong khi chỉ có p16 đơn lẻ thì độ nhạy, độ đặc hiệu và giá trị tiên đoán dương là 100%, 88,9% và 92,9% [4].

V. KẾT LUẬN

Bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gai vùng khẩu hầu được chẩn đoán điều trị tại Bệnh viện Ung bướu Cần Thơ có tỷ lệ nhiễm HR-HPV là 56,7%, trong đó 100% là HPV16. Có sự liên quan giữa p16 và HR-HPV, khi chỉ có 26,7% bệnh nhân biểu hiện p16(+). 70% bệnh nhân biểu hiện p53(-) và 46,7% bệnh nhân biểu hiện pRb(-). Có sự liên quan nghịch của p53 cũng như pRb với HR-HPV, phù hợp với cơ chế sinh lý bệnh của bệnh nhân ung thư khẩu hầu liên quan HPV, những bệnh nhân HR-HPV(+) thường sẽ có p53(-) và pRb(-).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Salama JK, Brizel DM. Principles and Practice of Radiation Oncology. 2018; 7th. Wolters Kluwer.
2. Plath M, Broglie MA, Förbs D, et al. Prognostic significance of cell cycle-associated proteins p16, pRB, cyclin D1 and p53 in resected oropharyngeal carcinoma. *Journal of otolaryngology - head & neck surgery*. 2018. 47(1), 53, doi: 10.1186/s40463-018-0298-3.
3. Benzerdjeb N, Tantot J, Blanchet C, et al. Oropharyngeal squamous cell carcinoma: p16/p53 immunohistochemistry as a strong predictor of HPV tumour status. *Histopathology*. 2021. 79(3), 381-390, doi: 10.1111/his.14350.

4. Jiromaru R, Yamamoto H, Yasumatsu R, et al. p16 overexpression and Rb loss correlate with high-risk HPV infection in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Histopathology*. 2021. 79(3), 358-369, doi: 10.1111/his.14337.
 5. Ndon S, Singh A, Ha PK, et al. Human Papillomavirus-Associated Oropharyngeal Cancer: Global Epidemiology and Public Policy Implications. *Cancers*. 2023. 15(16), 4080, doi: 10.3390/cancers15164080.
 6. Shaikh MH, McMillan NA, Johnson NW R, et al. HPV-associated head and neck cancers in the Asia Pacific: A critical literature review & meta-analysis. *Cancer epidemiology*. 2015. 39(6), 923-38, doi: 10.1016/j.canep.2015.09.013.
 7. Smith EM, Rubenstein LM, Henry H, et al. Human papillomavirus, p16 and p53 expression associated with survival of head and neck cancer. *Infectious agents and cancer*. 2010. 5(4), doi: 10.1186/1750-9378-5-4.
 8. Shinohara S, Kikuchi M, Tona R, et al. Prognostic impact of p16 and p53 expression in oropharyngeal squamous cell carcinomas. *Japanese journal of clinical oncology*. 2014. 44(3), 232-40, doi: 10.1093/jjco/hyt223.
 9. Machczyński P, Majchrzak E, Niewinski PR, et al. A review of the 8th edition of the AJCC staging system for oropharyngeal cancer according to HPV status. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2020. 277(9), 2407-2412, doi: 10.1007/s00405-020-05979-9.
 10. Weinberger PM, Yu Z, Haffty BG R, et al. Molecular classification identifies a subset of human papillomavirus associated oropharyngeal cancers with favorable prognosis. *J Clin Oncol*. 2006. 24(5), 736-47, doi: 10.1200/JCO.2004.00.3335.
-