

BIỂU HIỆN DẤU ẤN SINH HỌC Ki-67 BẰNG PHƯƠNG PHÁP NHUỘM HÓA MÔ MIỄN DỊCH TRÊN BỆNH NHÂN ĐƯỢC PHẪU THUẬT CẮT TUYẾN TIỀN LIỆT TẬN GỐC TẠI BỆNH VIỆN BÌNH DÂN

*Nguyễn Phúc Cẩm Hoàng¹, Trần Đỗ Hữu Toàn², Trần Ngọc Khắc Linh², Trang Võ Anh Vinh¹,
Nguyễn Ngọc Minh Tâm¹*

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Hiện nay, việc theo dõi và tiên lượng ung thư tuyến tiền liệt tái phát sau điều trị vẫn là vấn đề còn nhiều tranh cãi, không thể chỉ dựa vào một yếu tố mà cần nhiều yếu tố để làm tăng độ chính xác. Protein Ki-67, với đặc điểm tăng biểu hiện trong nhân tế bào giai đoạn phân chia, đã được chứng minh là dấu ấn sinh học của sự tăng sinh tế bào và có giá trị tiên lượng trong nhiều loại ung thư khác nhau, bao gồm ung thư tuyến tiền liệt.

Mục tiêu: Đánh giá biểu hiện dấu ấn sinh học Ki-67 bằng phương pháp nhuộm hóa mô miễn dịch trên bệnh nhân được phẫu thuật cắt tuyến tiền liệt tận gốc

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu tiến cứu mô tả hàng loạt trường hợp các bệnh nhân được phẫu thuật cắt tuyến tiền liệt tận gốc tại bệnh viện Bình Dân đồng ý thực hiện xét nghiệm từ 01/06/2019 đến 30/06/2020. Các biến số được ghi nhận gồm nồng độ PSA huyết thanh, điểm số Gleason, giai đoạn TNM, mức độ biểu hiện dấu ấn sinh học Ki-67 đánh giá bằng xét nghiệm hóa mô miễn dịch.

Kết quả: Cỡ mẫu nghiên cứu là 44 trường hợp. Tuổi trung bình là $68,7 \pm 7,5$. Điểm số Gleason sau phẫu thuật thuộc nhóm Gleason 2 - 6 chiếm 15,9%; nhóm Gleason 7 chiếm 52,3%; nhóm Gleason 8 - 10 chiếm 31,8%. Tỷ lệ bệnh nhân thuộc nhóm nguy cơ thấp là 4,5%; nguy cơ trung bình là 13,6%; nguy cơ cao là 81,8%. Mức độ biểu hiện dấu ấn Ki-67 là: $4,75\% \pm 2,81\%$. Nồng độ PSA huyết thanh và mức độ biểu hiện dấu ấn Ki-67 có mối tương quan thuận, hệ số tương quan $R=0,49$ ($p=0,001$). Mức độ biểu hiện dấu ấn Ki-67 trung bình trên nhóm điểm Gleason 2 - 6 là 2,2%; điểm Gleason 7 là 4,5%; điểm Gleason 8 - 10 là 6,4%. Mức độ biểu hiện dấu ấn Ki-67 tăng 1% thì nguy cơ di căn hạch tăng 43,7% ($OR=1,437$; 95% $CI=(1,038 - 1,989)$; $p=0,029$). Có sự tăng mức độ biểu hiện dấu ấn Ki-67 trên nhóm bệnh nhân nguy cơ cao là 5,2% so với nhóm bệnh nhân nguy cơ thấp 2,6% ($p=0,015$):

Kết luận: Dấu ấn sinh học Ki-67 có thể sử dụng là một yếu tố tiên lượng cho tình trạng di căn hạch cho bệnh nhân ung thư tuyến tiền liệt; tiên lượng cho nguy cơ tái phát sinh hóa sau phẫu thuật cắt tuyến tiền liệt tận gốc.

Từ khóa: dấu ấn sinh học Ki-67, hóa mô miễn dịch, phẫu thuật cắt tuyến tiền liệt tận gốc, tái phát sinh hóa

ABSTRACT

EVALUATION THE IMMUNOHISTOCHEMICAL EXPRESSION OF Ki-67 BIOMARKER IN PATIENTS TREATED WITH RADICAL PROSTATECTOMY

Nguyen Phuc Cam Hoang, Tran Do Huu Toan, Tran Ngoc Khac Linh, Trang Vo Anh Vinh,
Nguyen Ngoc Minh Tam * Ho Chi Minh City Journal of Medicine * Vol. 25 - No 1 - 2021: 222 - 226

¹Bệnh viện Bình Dân

²Bộ môn Tiết niệu học Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

Tác giả liên lạc: BS. Trần Đỗ Hữu Toàn ĐT: 0818.696.222 Email: toantdh.nhatrang@gmail.com

Background: Currently, the follow-up and prognosis of prostate cancer recurrence after treatment is still controversial, it is not possible to rely on just one factor, but many factors are needed to increase the accuracy. The Ki-67 protein, with its characteristic increased expression in the cell nucleus of the division stage, has been shown to be a biomarker of cell proliferation and has prognostic value in a wide variety of cancers. includes prostate cancer.

Objective: To assess the expression of Ki-67 biomarker by immunohistochemistry in patients undergoing radical prostatectomy.

Methods: Data of 44 patients who have had radical prostatectomy at Binh Dan Hospital from June 1, 2019 to June 30, 2020 were reviewed. Patient information including: serum PSA concentration, Gleason score, TNM stage, Ki-67 biomarker expression assessed by immunohistochemistry were recorded.

Result: Sample size is 44 cases. The mean age was 68.7 ± 7.5 . Gleason score after surgery in the Gleason 2 - 6 group accounted for 15.9%; the Gleason 7 group accounted for 52.3%; the Gleason 8 - 10 group accounted for 31.8%. The proportion of patients in the low-risk group was 4.5%; average risk was 13.6%; high risk of 81.8%. The level of Ki-67 expression was: $4.75\% \pm 2.81\%$. Serum PSA concentration and Ki-67 marker expression were positively correlated, correlation $R=0.49$ ($p=0.001$). The average Ki-67 expression level in the Gleason 2 - 6 score group was 2.2%; Gleason 7 group was 4.5%; Gleason 8 - 10 group was 6.4%. The level of Ki-67 expression increased by 1%, the risk of lymph node metastasis increased by 43.7% ($OR=1.437$; 95% $CI=(1.038 - 1.989)$; $p=0.029$). There was a 5.2% increase in Ki-67 expression in high-risk patients compared with 2.6% in low-risk patients ($p=0.015$).

Conclusion: Biomarker Ki-67 could be used as a predictor of lymph node metastasis in prostate cancer patients; Prognosis for the risk of biochemical recurrence after radical prostatectomy.

Key words: Ki-67 biomarker, immunohistochemistry, radical prostatectomy, biochemical recurrence

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư tuyến tiền liệt (TTL) là vấn đề sức khỏe thường gặp ở nam giới⁽¹⁾. Việc quyết định chiến lược điều trị ung thư tuyến tiền liệt hiện nay dựa trên phân nhóm nguy cơ không được tối ưu do ung thư thường diễn tiến không đồng nhất; các yếu tố như điểm số Gleason, nồng độ PSA huyết thanh dần bộc lộ những khuyết điểm. Việc nghiên cứu các dấu ấn sinh học như Ki-67, PTEN, p53, ERG, ... là một xu hướng của các trung tâm trên thế giới với mục tiêu theo dõi, điều trị, và tiên lượng hiệu quả hơn cho bệnh nhân ung thư tuyến tiền liệt

Nổi bật trong các dấu ấn kể trên, có protein Ki-67 với vai trò là dấu ấn sinh học (biomarker) của sự tăng sinh tế bào. Protein Ki-67 có giá trị tiên lượng ở nhiều loại ung thư khác nhau, bao gồm ung thư tuyến tiền liệt.

Nghiên cứu của chúng tôi được tiến hành nhằm trả lời câu hỏi nghiên cứu "Bệnh nhân ung thư tuyến tiền liệt được phẫu thuật cắt tuyến

tiền liệt tận gốc có biểu hiện dấu ấn sinh học Ki-67 như thế nào?". Nghiên cứu có mục tiêu xác nhận lại các kết quả nghiên cứu trên thế giới về biểu hiện dấu ấn Ki-67 trên mẫu mô ung thư tuyến tiền liệt; khảo sát mối liên quan giữa biểu hiện Ki-67 với điểm số Gleason, giai đoạn TNM, và phân nhóm nguy cơ; trên đối tượng bệnh nhân người Việt Nam.

ĐỐI TƯỢNG - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Bệnh nhân được phẫu thuật (PT) cắt TTL tận gốc tại bệnh viện Bình Dân từ 01/06/2019 đến 30/06/2020.

Tiêu chuẩn chọn mẫu

(1) Có kết quả giải phẫu bệnh lý của bệnh viện Bình Dân hoặc của tuyến trước là ung thư tuyến tiền liệt;

(2) Được chỉ định PT cắt tuyến tiền liệt tận gốc bằng phương pháp PT mở, PT nội soi hoặc PT nội soi với sự hỗ trợ Robot.

Tiêu chuẩn loại trừ

Bệnh nhân đã được cắt đốt nội soi tuyến tiền liệt trước phẫu thuật hay đã được điều trị đặc hiệu ung thư tuyến tiền liệt trước phẫu thuật bằng một trong những điều trị: liệu pháp nội tiết (triệt androgen nội khoa hay phẫu thuật cắt 2 tinh hoàn); xạ trị vùng chậu; hóa trị.

Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả hàng loạt trường hợp.

Phương pháp thực hiện

Các bệnh nhân được thu thập và đánh giá các số liệu lâm sàng, cận lâm sàng trước và sau phẫu thuật bao gồm: nồng độ PSA huyết thanh, điểm số Gleason, giai đoạn TNM theo bảng phân loại Hiệp hội Ung thư Hoa Kỳ (AJCC) 2017⁽²⁾.

Quy trình đánh giá biểu hiện dấu ấn sinh học Ki-67

Quy trình đánh giá biểu hiện dấu ấn Ki-67 được thực hiện theo tác giả Hứa Thị Ngọc Hà và Nguyễn Phan Xuân Trường, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh (2019)⁽³⁾.

Phân tích và định lượng bằng phần mềm ImmunoRatio được phát triển bởi các tác giả Jorma Isola và Vilppu Tuominen ở đại học Tampere, Phần Lan (2010) (<http://wsiserver.jilab.fi/old-jvsmicroscope-software/>). Các nhân bắt màu với Ki-67 được đánh giá dương tính.

KẾT QUẢ

Có 44 trường hợp (TH) được đưa vào nghiên cứu (NC).

Mức độ biểu hiện dấu ấn Ki-67 là: 4,75% ± 2,81%. (1,15% - 14,8%)

Mối liên quan giữa Ki-67 và nồng độ PSA huyết thanh

Nồng độ PSA huyết thanh và mức độ biểu hiện dấu ấn Ki-67 có mối tương quan thuận, mức độ trung bình, hệ số tương quan R=0,49. (F=13,281; với p=0,001).

Ở những BN có nồng độ PSA cao (PSA ≥20 ng/ml), mức độ biểu hiện Ki-67 cao hơn so với

những BN có PSA thấp và trung bình (PSA <20 ng/ml) (p=0,02 và 0,004).

Mối liên quan giữa Ki-67 và điểm số Gleason sau PT

Bảng 1: Mức độ biểu hiện Ki-67 trên các nhóm điểm số Gleason (N = 44)

Điểm số Gleason (GS)	GS 2 – 6 (n = 7)	GS 7 (n = 23)	GS 8 – 10 (n = 14)
Mức độ Ki-67 (%)	2,2 ± 0,8	4,5 ± 2,3	6,4 ± 3,2

Kiểm định One-way ANOVA; F=6,506; p=0,004<0,05; KTC 95%

Mối liên quan giữa Ki-67 và giai đoạn T (Tumor)

Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa mức độ biểu hiện Ki-67 và ung thư xâm lấn tại chỗ (p >0,05).

Mối liên quan giữa Ki-67 và tình trạng di căn hạch

10/44 bệnh nhân không đủ thông tin về giai đoạn pN.

Bảng 2: Mức độ biểu hiện Ki-67 và di căn hạch chậu

Giai đoạn pN	pN0 (n = 25)	pN1 (n = 9)
Mức độ Ki-67 (%)	3,9 ± 2,1	6,9 ± 3,9

Giá trị p=0,02<0,05

Phân tích mô hình hồi quy logistic đơn biến (binary logistic regression) đánh giá ảnh hưởng của mức độ biểu hiện dấu ấn Ki-67 trên mô ung thư TTL với tình trạng di căn hạch: Mức độ biểu hiện Ki-67 tăng thêm 1% sẽ tăng thêm nguy cơ di căn hạch 43.7% (OR=1,437; p=0,029 <0,05).

Mối liên quan giữa Ki-67 và nhóm nguy cơ ung thư TTL

Bảng 3: Mức độ biểu hiện Ki-67 theo nhóm nguy cơ (N = 44)

Nhóm nguy cơ	Thấp/Trung bình (n = 8)	Cao (n = 36)
Mức độ biểu hiện Ki-67 (%)	2,6 ± 1,1	5,2 ± 2,9

Giá trị p=0,015<0,05 KTC 95%

BÀN LUẬN

Mối liên quan giữa Ki-67 và nồng độ PSA huyết thanh

Có sự khác biệt giữa các nghiên cứu trên thế giới về mối liên quan giữa nồng độ PSA huyết thanh và biểu hiện dấu ấn Ki-67. Điều này có thể lý giải do PSA là một yếu tố đặc hiệu cho tuyến

tiền liệt chứ không đặc hiệu cho ung thư, có thể tăng trong các tình trạng lành tính khác. Đồng thời, bệnh nhân ung thư TTL người Việt Nam thường nhập viện với các tình trạng đi kèm như bí tiểu, viêm tuyến tiền liệt, ...

Bảng 4: So sánh kết quả các nghiên cứu về mối liên quan giữa biểu hiện Ki-67 và nồng độ PSA huyết thanh

Tác giả	Mẫu mô TTL	N	Giá trị p
Berney DM (2009) ⁽⁴⁾	Sinh thiết TTL	808	0,042
Krisna M (2017) ⁽⁵⁾	Sinh thiết TTL	30	0,193
Chúng tôi (2020)	Sau PT cắt TTL	44	0,028

Trong nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận giữa nhóm nồng độ PSA ≥ 20 ng/ml so sánh với nhóm PSA < 10 ng/ml và 10 – 19,9 ng/ml; mức độ biểu hiện Ki-67 khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p=0,02$ và $0,004$). Theo Hiệp hội Tiết niệu châu Âu (2020)⁽⁶⁾, PSA ≥ 20 ng/ml là một yếu tố của nguy cơ tái phát sinh hóa cao. Do đó, kết quả của chúng tôi phần nào gợi ý vai trò của Ki-67 trong tiên lượng nguy cơ tái phát sinh hóa.

Mối liên quan giữa Ki-67 và điểm số Gleason sau PT

Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận có sự liên quan rất chặt chẽ giữa mức độ biểu hiện dấu ấn Ki-67 và điểm số Gleason mẫu mô ung thư TTL sau phẫu thuật (PT).

Bảng 5: So sánh kết quả các nghiên cứu về mối liên quan giữa biểu hiện Ki-67 và điểm số Gleason (GS)

Tác giả	Mức độ biểu hiện Ki-67 (%)		
	GS 2 - 6	GS 7	GS 8 - 10
Mesko S (2013) ⁽⁷⁾	5,0 ± 3,8	7,7 ± 7,0	12,0 ± 12,4
Chúng tôi (2020)	2,2 ± 0,8	4,5 ± 2,3	6,4 ± 3,2

So sánh với các nghiên cứu khác đã có của các tác giả nước ngoài, nghiên cứu của chúng tôi có cùng kết luận: điểm số Gleason tăng dần, tương ứng ung thư có mức độ biệt hóa giảm dần, thì mức độ biểu hiện dấu ấn Ki-67 tăng dần.

Mối liên quan giữa Ki-67 và tình trạng di căn hạch

Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận Ki-67 là một yếu tố tiên lượng của tình trạng di căn hạch. Khi mức độ biểu hiện dấu ấn Ki-67 tăng 1% thì nguy cơ di căn hạch tăng 43,7% (OR=1,437; $p=0,029$). Các nghiên cứu của một số tác giả khác

trên thế giới cũng cho những kết quả tương đồng với nghiên cứu của chúng tôi.

Nghiên cứu của tác giả Mathieu R (2014)⁽⁸⁾, khảo sát và theo dõi 3123 BN ung thư TTL được PT cắt TTL tận gốc thực hiện tại 3 trung tâm, ghi nhận có 762 BN (chiếm 24,4% TH) có di căn hạch. Biểu hiện Ki-67 trên nhóm BN này (với giá trị ngưỡng cut-off là 3,5%) cũng khác biệt có ý nghĩa thống kê với nhóm không di căn hạch ($p=0,039$).

Mối liên quan giữa Ki-67 và nhóm nguy cơ ung thư TTL

Thiết kế nghiên cứu của chúng tôi là mô tả hàng loạt trường hợp khảo sát biểu hiện dấu ấn Ki-67 trên BN được PT cắt TTL tận gốc thực hiện trong khoảng thời gian là 12 tháng, và không theo dõi các BN sau PT. Do đó, khó kết luận được chính xác vai trò của biểu hiện Ki-67 trong tiên đoán nguy cơ tái phát sinh hóa sau PT cắt TTL tận gốc. Tuy nhiên, thay vào đó, chúng tôi đánh giá biểu hiện dấu ấn Ki-67 trên từng nhóm BN có nguy cơ tái phát sinh hóa sau PT cắt TTL tận gốc là nguy cơ thấp, trung bình, và nguy cơ cao (phân nhóm nguy cơ theo Hiệp hội Tiết niệu châu Âu (2020)⁽⁶⁾) với hy vọng đánh giá được phần nào vai trò của Ki-67 trong tiên lượng nguy cơ tái phát sinh hóa sau PT.

Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận được có sự khác biệt về biểu hiện Ki-67 trên 2 nhóm BN nguy cơ tái phát sinh hóa thấp/trung bình và nguy cơ tái phát sinh hóa cao ($p=0,015$). Kết quả giúp gợi ý Ki-67 có thể đóng vai trò là một yếu tố tiên lượng của tái phát sinh hóa sau PT cắt TTL tận gốc.

Tác giả Mathieu R (2014)⁽⁸⁾, theo dõi 3123 BN sau PT với khoảng thời gian theo dõi trung bình là 44 tháng, ghi nhận mức biểu hiện Ki-67 $\geq 3,5\%$ làm tăng 24,3% nguy cơ tái phát sinh hóa (HR = 1,243; $p=0,015$).

Tác giả Tretiakova MS (2016)⁽⁹⁾, theo dõi 1004 BN sau PT với khoảng thời gian theo dõi là 5 năm thì biểu hiện Ki-67 tăng 1% làm tăng nguy cơ tái phát sinh hóa 7% nguy cơ tái phát sinh hóa (HR=1,07; $p=0,0008$).

Từ các kết quả trên, có thể kết luận Ki-67 có vai trò như một yếu tố tiên lượng của tái phát sinh hóa sau PT cắt TTL tận gốc.

KẾT LUẬN

Dấu ấn sinh học Ki-67 có thể sử dụng là một yếu tố tiên lượng cho tình trạng di căn hạch cho bệnh nhân ung thư tuyến tiền liệt; tiên lượng cho nguy cơ tái phát sinh hóa sau phẫu thuật cắt tuyến tiền liệt tận gốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hội Tiết Niệu Thận Học Việt Nam (2018). "Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị Ung thư tuyến tiền liệt", pp.31-35. Nhà xuất bản Y học Hà Nội.
2. American Joint Committee on Cancer (2017). "Prostate". AJCC Cancer Staging Manual, 8th Edition, pp.715-726. Springer, Chicago.
3. Hứa Thị Ngọc Hà và Nguyễn Phan Xuân Trường (2019). "Nghiên cứu đặc điểm mô bệnh học và hình ảnh MRI của lymphôm thần kinh trung ương". Luận văn Bác sĩ Nội trú, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh.

4. Berney DM, Gopalan A, et al (2009). "Ki-67 and outcome in clinically localised prostate cancer: analysis of conservatively treated prostate cancer patients from the Trans-Atlantic Prostate Group study". *Br J Cancer*, 100(6):888-893.
5. Krisna M, Syah MW, et al (2017). "Relations between Ki-67 immunohistochemistry expression with histopathology grading and prostate-specific antigen (PSA) values in adenocarcinoma prostate". *Bali Medical Journal*, 6(2):289-293.
6. Mottet N, Cornford P, et al (2020). "EAU-EANM-ESTRO-ESUR-SIOG Guidelines on Prostate Cancer".
7. Mesko S, Kupelian P, et al (2013). "Quantifying the ki-67 heterogeneity profile in prostate cancer". *Prostate Cancer*, pp.717-780.
8. Mathieu R, Shariat SF, et al (2015). "Multi-institutional validation of the prognostic value of Ki-67 labeling index in patients treated with radical prostatectomy". *World J Urol*, 33(8):1165-1171.
9. Tretiakova MS, Wei W, et al (2016). "Prognostic value of Ki67 in localized prostate carcinoma: a multi-institutional study of >1000 prostatectomies". *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 19(3):264-270.

Ngày nhận bài báo:	30/11/2020
Ngày nhận phản biện nhận xét bài báo:	13/01/2021
Ngày bài báo được đăng:	10/03/2021