

NGHIÊN CỨU GIÁ TRỊ CỦA METHYL HOÁ GENE *SEPT9*
HUYẾT TƯƠNG TRONG CHẨN ĐOÁN UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNG

Dương Thuỳ Linh^{1}, Vũ Anh Hải¹, Nguyễn Văn Hùng²*

Hồ Hữu Thọ³, Nguyễn Văn Ba⁴

Tóm tắt

Mục tiêu: Nghiên cứu giá trị của methyl hoá gene *SEPT9* (m*SEPT9*) máu ngoại vi trong chẩn đoán ung thư đại trực tràng (UTĐTT). **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang có đối chứng trên 244 người tham gia, trong đó có 92 người khoẻ mạnh kiểm tra sức khoẻ tại Bệnh viện Quân y 103 và 152 bệnh nhân (BN) UTĐTT điều trị tại Bệnh viện Quân y 103 và Bệnh viện K từ tháng 01/2021 - 12/2024. Xét nghiệm m*SEPT9* máu ngoại vi được xác định bằng kỹ thuật semi nested PCR với mẫu dò khoá kéo dài chuỗi (Extendable Blocking Probes - ExBPs). **Kết quả:** Giá trị của m*SEPT9* phân biệt BN UTĐTT với người khoẻ mạnh đạt độ nhạy 76,31%, độ đặc hiệu 89,13%, giá trị chẩn đoán dương tính (positive predictive value - PPV) 92,06%, giá trị chẩn đoán âm tính (negative predictive value - NPV) 69,49%. Phân tích đường cong ROC ghi nhận giá trị chẩn đoán UTĐTT của m*SEPT9* có AUC đạt mức tốt 0,827 với $p < 0,0001$, nhóm người có m*SEPT9* dương tính có nguy cơ UTĐTT cao gấp 26,42 lần nhóm người có m*SEPT9* âm tính với $p < 0,0001$. Trong nhóm UTĐTT, BN có m*SEPT9* dương tính có nguy cơ giai đoạn muộn gấp 3,719 lần so với BN có m*SEPT9* âm tính với $p < 0,001$. **Kết luận:** m*SEPT9* có giá trị chẩn đoán UTĐTT với độ nhạy, độ đặc hiệu cao và sự thuận tiện, không xâm nhập đóng vai trò cải thiện chất lượng phát hiện sớm UTĐTT.

Từ khóa: Ung thư đại trực tràng; m*SEPT9*; Kỹ thuật semi-nested PCR.

¹Khoa Vật lý Xạ trị, Trung tâm Ung bướu, Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

²Trung tâm Ung bướu, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

³Viện Nghiên cứu Y Dược học Quân sự, Học viện Quân y

⁴Phòng Khoa học Quân sự, Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Dương Thuỳ Linh (Bsduonglinh103@gmail.com)

Ngày nhận bài: 21/3/2025

Ngày được chấp nhận đăng: 25/4/2025

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v50i5.1266>

RESEARCH ON THE VALUE OF METHYLATION OF THE *SEPT9* GENE IN PLASMA FOR THE DIAGNOSIS OF COLORECTAL CANCER

Abstract

Objectives: To study the value of methylation of the *SEPT9* gene (m*SEPT9*) in peripheral blood for the diagnosis of colorectal cancer (CRC). **Methods:** A cross-sectional descriptive, controlled study was conducted on 244 participants, including 92 healthy individuals undergoing health checks at Military Hospital 103 and 152 patients with CRC monitored at Military Hospital 103 and the Vietnam National Cancer Hospital from January 2021 to December 2024. The detection of m*SEPT9* in peripheral blood was determined using the semi-nested PCR technique with an extended sequence probe (ExBP). **Results:** The early detection value of CRC using m*SEPT9* differentiated CRC patients from healthy individuals with a sensitivity of 76.31%, specificity of 89.13%, positive predictive value of 92.06%, and negative predictive value of 69.49%. ROC curve analysis recorded an AUC of 0.827 for the diagnostic value of CRC using m*SEPT9*, with $p < 0.0001$. Individuals with positive m*SEPT9* had a 26.42 times higher risk of CRC than those with negative m*SEPT9* ($p < 0.0001$). In the CRC group, patients with positive m*SEPT9* had a 3.719 times higher risk of progressing to late-stage disease compared to those with negative m*SEPT9* ($p < 0.001$). **Conclusion:** m*SEPT9* demonstrates high sensitivity and specificity as a diagnostic tool for CRC, and its convenience and non-invasive nature play a role in improving the quality of early screening for CRC.

Keywords: Colorectal cancer; *SEPT9* gene methylation; Semi-nested PCR technique.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư đại trực tràng được phát hiện sớm có thể chữa khỏi hoàn toàn, giai đoạn bệnh tại thời điểm phát hiện là yếu tố tiên lượng thời gian sống còn toàn bộ 5 năm ở giai đoạn I là $> 90\%$, giảm xuống 70% ở giai đoạn II, 58% ở giai đoạn III, 15% ở giai đoạn IV, thậm chí giảm chỉ còn 5% [1]. Cho đến nay, tuy có rất nhiều tiến bộ trong tầm soát, chẩn đoán bệnh nhưng vẫn có khoảng 25% UTĐTT đã di căn tại thời điểm chẩn

đoán [2]. Mặc dù nội soi đại trực tràng sinh thiết được coi là tiêu chuẩn vàng trong sàng lọc và chẩn đoán UTĐTT với độ nhạy $93 - 94\%$ và độ đặc hiệu lên đến $99,8\%$ [3] nhưng tính xâm lấn, chi phí cao và tính phức tạp về tai biến khi thực hiện hạn chế tính phù hợp của xét nghiệm như một công cụ sàng lọc. Điều này dẫn đến đòi hỏi phát triển các xét nghiệm chẩn đoán không xâm lấn tăng cường phát hiện sớm và giảm các thủ thuật xâm lấn không cần thiết. Hiện tại,

dấu ấn sinh học chẩn đoán dựa trên methyl hóa DNA trong máu đối với UTĐTT đầu tiên được Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) phê duyệt chấp thuận là xét nghiệm sàng lọc đại trực tràng với dấu ấn mSEPT9 từ tháng 4/2016 [4]. Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu khẳng định được giá trị chẩn đoán phát hiện sớm UTĐTT của mSEPT9. Tuy nhiên, tại Việt Nam, chúng tôi chưa ghi nhận có nghiên cứu nào về giá trị chẩn đoán mSEPT9 máu ngoại vi ở BN UTĐTT. Vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm: *Nghiên cứu giá trị của mSEPT9 huyết tương trong chẩn đoán UTĐTT.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 152 BN UTĐTT được chẩn đoán và điều trị tại Bệnh viện Quân y 103, Bệnh viện K và 92 người khỏe mạnh khám sức khỏe định kỳ tại Bệnh viện Quân y 103 từ tháng 01/2021 - 12/2024.

* *Tiêu chuẩn lựa chọn:*

- Nhóm bệnh: BN UTĐTT được chẩn đoán xác định bằng giải phẫu bệnh, được điều trị theo phác đồ của Bộ Y tế, xét nghiệm mSEPT9 huyết tương trước điều trị; đầy đủ hồ sơ bệnh án.

- Nhóm chứng: Người khỏe mạnh đi khám sức khỏe định kỳ, khám tổng thể đánh giá không mắc bệnh lý, được nội

soi toàn bộ đại trực tràng đánh giá không có polyp, không có khối u, không có tình trạng viêm đại trực tràng.

* *Tiêu chuẩn loại trừ:*

BN đã từng phẫu thuật, hoá trị, xạ trị trước khi xét nghiệm mSEPT9; BN mắc 2 loại ung thư; hồ sơ bệnh án và thông tin không rõ ràng.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu mô tả cắt ngang có đối chứng.

* *Cỡ mẫu và chọn mẫu:* Cỡ mẫu thuận tiện.

* *Biến số, chỉ tiêu nghiên cứu:* Đặc điểm chung về tuổi, giới tính của nhóm bệnh và nhóm chứng. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng, giai đoạn bệnh TNM (theo AJCC - 2017). Biểu hiện tình trạng mSEPT9: Dương tính/âm tính. Xét nghiệm CEA ≤ 5 ng/mL là âm tính. CEA > 5 ng/mL là dương tính.

* *Các bước tiến hành nghiên cứu:*

Thu thập dữ liệu lâm sàng, cận lâm sàng, chẩn đoán giai đoạn bệnh UTĐTT theo TNM (AJCC - 2017). Thu thập bệnh án ngoại trú, kết quả nội soi đại trực tràng, khám tổng quát của nhóm người khỏe mạnh đi khám định kỳ.

Thu thập mẫu máu của BN UTĐTT xét nghiệm mSEPT9 trước điều trị. Thu thập mẫu máu của nhóm người khỏe mạnh xét nghiệm mSEPT9 trước nội soi đại trực tràng. Mẫu máu được đưa về xét nghiệm mSEPT9 tại Trung tâm Sinh

học phân tử, Viện nghiên cứu Y Dược học Quân sự, Học viện Quân y theo quy trình chuẩn xét nghiệm Nested-PCR sử dụng mẫu dò khoá có khả năng kéo dài chuỗi.

* *Xử lý số liệu:* Theo phần mềm SPSS 20.0, tính độ nhạy, độ đặc hiệu, chỉ số AUC, phân tích đường cong ROC, kiểm định sự khác biệt, chỉ số OR.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được Hội đồng Đạo đức Bệnh viện Quân y 103 thông qua theo Quyết định số 98/CNChT-HĐĐĐ, ngày 23/7/2020. Số liệu nghiên cứu được Bệnh viện Quân y 103 và Bệnh viện K cho phép sử dụng và công bố. Nhóm tác giả cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm chung của nhóm BN UTĐTT và nhóm chứng

Phân bố nhóm tuổi cho thấy trung vị tuổi ở nhóm BN UTĐTT là 63 tuổi, nhóm chứng là 44,5 tuổi. Phân bố giới tính trong nhóm UTĐTT có 51,3% nam giới, nhóm chứng có 51,1% nữ giới. Nhóm UTĐTT có ung thư đại tràng bên trái chiếm tỷ lệ cao nhất (40%), thấp nhất là ung thư đại tràng phải (23%). Phân bố về giai đoạn bệnh theo TNM (tumour nodes metastasis) cho thấy giai đoạn III chiếm tỷ lệ cao nhất (32,9%), giai đoạn I chiếm tỷ lệ thấp nhất (19,7%). Đặc điểm mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến chiếm tỷ lệ cao nhất (82,9%), độ biệt hoá vừa chiếm 84,2%.

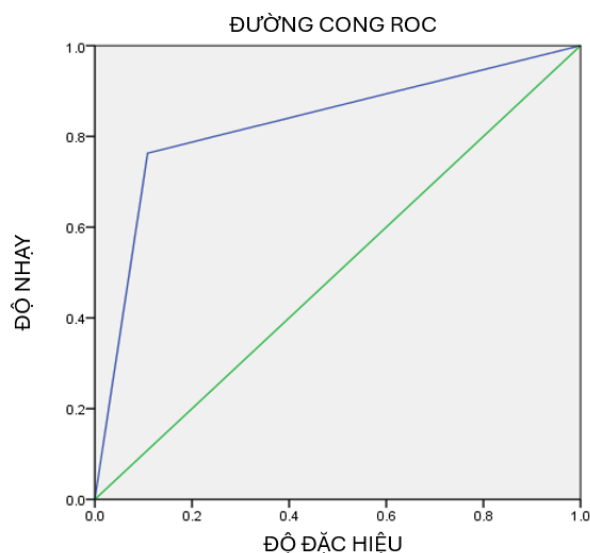
2. Giá trị chẩn đoán mSEPT9 huyết tương ở BN UTĐTT

Bảng 1. Giá trị độ nhạy, độ đặc hiệu, PPV, NPV của mSEPT9 trong chẩn đoán UTĐTT.

mSEPT9 huyết tương	UTĐTT n (%)	Không UTĐTT n (%)	Tổng
Âm tính	36 (30,5)	82 (69,5)	118
Dương tính	116 (92,1)	10 (7,9)	126
Giá trị xét nghiệm	95%CI		
Độ nhạy (%)	76,31		
Độ đặc hiệu (%)	89,13		
PPV (%)	92,06		
NPV (%)	69,49		
OR	26,42 (p = 0,0001)		

Phân tích xét nghiệm mSEPT9 đạt độ nhạy 76,3% với 95%CI: 68,75 - 82,82; độ đặc hiệu 89,1% với 95%CI: 80,91 - 94,66. PPV đạt 92,06% với 95%CI: 86,52 -

95,44; NPV đạt 69,49% với 95%CI: 62,92 - 75,35. Nhóm mSEPT9 dương tính có nguy cơ bị UTĐTT cao gấp 26,42 lần so với nhóm mSEPT9 âm tính (OR = 26,42, $p < 0,0001$).



Hình 1. Đường cong ROC của mSEPT9 trong chẩn đoán UTĐTT phân biệt với nhóm người khỏe mạnh.

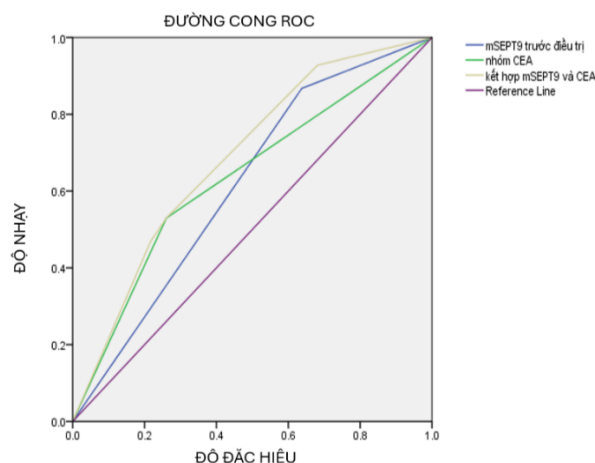
Giá trị chẩn đoán UTĐTT phân biệt với nhóm người khỏe mạnh, mSEPT9 có giá trị chẩn đoán mức độ tốt với AUC đạt 0,827 (95%CI: 77,3 - 88,2) $p < 0,0001$.

Bảng 2. Mức độ biểu hiện mSEPT9 huyết tương phân biệt UTĐTT giai đoạn sớm và UTĐTT giai đoạn muộn.

Biến số	mSEPT9 (-), n (%)	mSEPT9 (+), n (%)	n (%)
UTĐTT	36 (23,7)	116 (76,3)	152 (100)
Giai đoạn			
Giai đoạn sớm	25 (36,2)	44 (63,8)	69 (100)
Giai đoạn muộn	11 (13,3)	72 (86,7)	83 (100)
OR	3,719		
p	0,001		
95%CI	1,667 - 8,295		

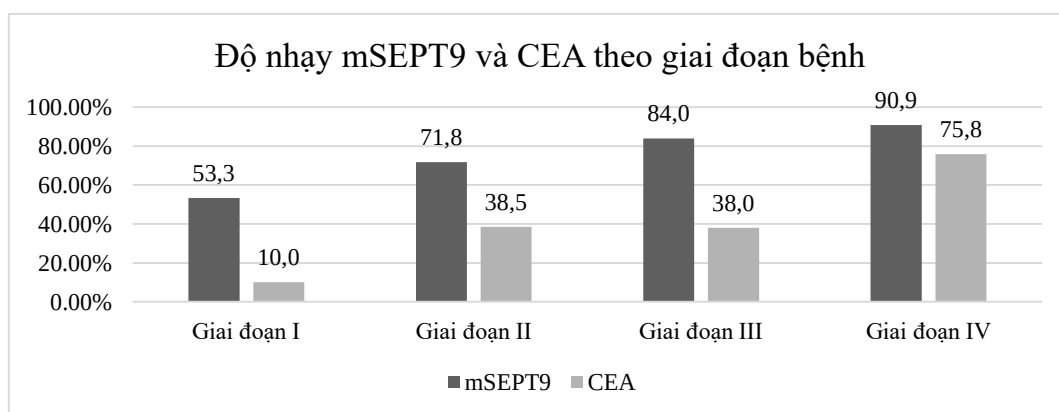
Trong nhóm BN UTĐTT giai đoạn muộn (giai đoạn III, IV) có 86,7% mSEPT9 dương tính, tỷ lệ mSEPT9 dương tính ở giai đoạn sớm (giai đoạn I, II) là 63,8%.

BN UTĐTT mSEPT9 dương tính có nguy cơ ung thư giai đoạn muộn cao gấp 3,719 lần so với nhóm mSEPT9 âm tính ($OR = 3,719, p < 0,001$).



Hình 2. Đường cong ROC kết hợp mSEPT9 và CEA trong chẩn đoán UTĐTT phân biệt giai đoạn sớm với giai đoạn muộn.

Giá trị chẩn đoán UTĐTT giai đoạn sớm (giai đoạn I và II) với giai đoạn muộn (giai đoạn III và IV) của mSEPT9 kết hợp CEA ở mức trung bình với AUC 0,686, $p < 0,05$, độ nhạy 86,7%, độ đặc hiệu 36,2%.



Biểu đồ 1. Giá trị chẩn đoán của mSEPT9 và CEA theo giai đoạn bệnh.

mSEPT9 cho thấy độ nhạy cao hơn ở tất cả các giai đoạn UTĐTT so với CEA. Cụ thể, ở giai đoạn I có 53,3% BN có mSEPT9 dương tính trong khi chỉ có 10% BN có CEA dương tính; ở giai đoạn II, mSEPT9 có thể phát hiện số lượng BN gần gấp đôi (71,8%) so với CEA (38,5%); ở giai đoạn III, mSEPT9 có khả năng phát hiện gấp 2,2 lần (84%) so với CEA (38,0%).

BÀN LUẬN

Để xác định giá trị chẩn đoán của mSEPT9 trong chẩn đoán UTĐTT, chúng tôi thiết kế nghiên cứu bệnh chứng và thu được kết quả xét nghiệm độ nhạy là 76,3%, độ đặc hiệu là 89,1%, PPV 92,1%, NPV 62,1%, giá trị chẩn đoán phân biệt UTĐTT với người khỏe mạnh ở mức tốt AUC đạt 0,827 với $p < 0,0001$; OR = 26,42, $p < 0,0001$. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với một số nghiên cứu trước đó, cụ thể: Theo tác giả Sun và CS (2019) [5] khi xét nghiệm mSEPT9 sàng lọc và chẩn đoán cho 600 trường hợp > 40 tuổi có nguy cơ cao mắc UTĐTT, 50 BN UTĐTT trước điều trị, ghi nhận độ nhạy và độ đặc hiệu của mSEPT9 là 73,0% và 94,5%, AUC là 0,8. Nghiên cứu của chúng tôi đạt độ nhạy cao hơn nhưng độ đặc hiệu thấp hơn so với nghiên cứu này. Theo tác giả Lu và CS (2022) [6] khi nghiên cứu nhóm 616 BN UTĐTT và 122 người khỏe mạnh được xét nghiệm mSEPT9 ghi nhận độ nhạy 72,94%, độ đặc hiệu 81,97%, AUC là 0,826. Nghiên cứu này đạt độ nhạy, độ đặc hiệu đều thấp hơn nghiên cứu của chúng tôi, về giá trị AUC thì có sự tương đồng. Theo tác giả Liang Min và CS (2023) [7] thực hiện phân tích gộp 79 nghiên cứu về giá trị của mSEPT9

trong chẩn đoán UTĐTT sử dụng bộ xét nghiệm thương mại Epi procolon 2.0 ghi nhận độ nhạy 0,679 (95%CI: 0,622 - 0,732), độ đặc hiệu là 0,903 (95%CI: 0,878 - 0,923), AUC là 0,8.

Ngoài ra, độ nhạy chẩn đoán của mSEPT9 cũng cao hơn so với độ nhạy của dấu ấn CEA với ngưỡng giá trị là 5 ng/mL ở tất cả các giai đoạn. Trong nghiên cứu của chúng tôi, độ nhạy phát hiện giai đoạn I là 53,3%, giai đoạn II là 71,8%, giai đoạn III là 84%, giai đoạn IV là 90,9%. Kết quả này của chúng tôi cũng phù hợp với các nghiên cứu khác đều ghi nhận độ nhạy cao hơn đối với những BN có bệnh giai đoạn II - IV, có cải thiện về độ nhạy phát hiện ở giai đoạn I. Theo Sabine Leerhoff và CS (2023) [8] nghiên cứu trên 120 BN UTĐTT cũng ghi nhận độ nhạy phát hiện của mSEPT9 cao hơn so với độ nhạy phát hiện của CEA ở tất cả các giai đoạn bệnh với tỷ lệ dương tính của mSEPT9, CEA ở giai đoạn I là 33% so với 12%, giai đoạn II là 68% so với 35%, giai đoạn III là 48% so với 27%, giai đoạn IV là 84% so với 46%. Theo tác giả Quian Sun và CS (2024) [9] ghi nhận giá trị phát hiện mSEPT9 theo giai đoạn UTĐTT lần lượt là giai đoạn I 53%, giai đoạn II 76,5%, giai đoạn III 72,3%, giai đoạn IV 88,9%. Đồng thời,

trong nghiên cứu của chúng tôi khi phân nhóm giai đoạn sớm (giai đoạn I, II) khi khối u khu trú tại chỗ và nhóm giai đoạn muộn (giai đoạn III, IV) khi khối u tiến triển tại vùng có di căn hạch và di căn xa, ghi nhận giá trị chẩn đoán của mSEPT9 phối hợp CEA đạt AUC 0,686, $p < 0,05$, độ nhạy 86,7%, độ đặc hiệu 36,2%, OR = 3,719, $p < 0,001$.

Như vậy, mSEPT9 phát hiện trong máu ngoại vi là xét nghiệm có giá trị chẩn đoán phát hiện sớm UTĐTT phù hợp về cơ chế bệnh sinh của tình trạng methyl hoá DNA dẫn đến sự bất hoạt quá trình phiên mã, ức chế hoạt động các gene gây ung thư, đây là quá trình quan trọng trong sự thúc đẩy hình thành ung thư sớm. Trong đó, gene SEPT9 nằm trên nhiễm sắc thể 17q25.3 và có biểu hiện rộng rãi trong các tế bào người. Kết quả nghiên cứu xét nghiệm methyl hóa ở mức mô và huyết tương cho thấy vùng khởi động SEPT9-v2 đã bị methyl hóa gần như hoàn toàn ở BN UTĐTT và tiền ung thư [10]. Với kỹ thuật xét nghiệm Nested-PCR sử dụng mẫu dò khoá có khả năng kéo dài chuỗi, cải thiện được độ nhạy cao, đồng thời chi phí xét nghiệm tiết kiệm, tạo cơ hội mở rộng xét nghiệm tích hợp với lâm sàng trong thực hành điều trị cho BN.

KẾT LUẬN

Xét nghiệm mSEPT9 trong chẩn đoán UTĐTT đạt độ nhạy 76,3%, độ đặc hiệu 89,1%, PPV 92,1%, NPV 62,1%, giá trị chẩn đoán phân biệt UTĐTT với người khoẻ mạnh ở mức tốt AUC đạt 0,827, với OR = 26,42, $p < 0,0001$. Giá trị chẩn đoán mSEPT9 đạt độ nhạy cao hơn giá trị chẩn đoán của CEA ở tất cả các giai đoạn bệnh UTĐTT.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin gửi lời cảm ơn chân thành tới các nhân viên của Trung tâm Sinh học Phân tử, Học viện Quân y; Ngoại bụng 1, Bệnh viện K; Trung tâm Ung bướu, Bệnh viện Quân y 103 và các BN tham gia nghiên cứu đã giúp chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Miller Kimberly D, et al. Cancer treatment and survivorship statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2022; 72(5):409-436.
2. Ajithkumar Priyadarshana, et al. Exploring potential epigenetic biomarkers for colorectal cancer metastasis. *Molecular Sciences*. 2024; 25(2):874.
3. Beniwal Shreya Singh, et al. Current status and emerging trends in colorectal cancer screening and diagnostics. *Biosensors*. 2023; 13(10):926.

4. Gao Xianchun, et al. DNA methylation biomarkers for early detection of gastric and colorectal cancers. *Cancer Biology and Medicine*. 2023; 20(12):955.
5. Sun J, et al. The role of (m)SEPT9 in screening, diagnosis, and recurrence monitoring of colorectal cancer. *BMC Cancer*. 2019; 19(1):450.
6. Lu Pingxia, et al. Methylated septin 9 as a promising biomarker in the diagnosis and recurrence monitoring of colorectal cancer. *Disease Markers*. 2022.
7. Min Liang, et al. Using circulating tumor DNA as a novel biomarker to screen and diagnose colorectal cancer: A meta-analysis. *Journal of Clinical Medicine*. 2023; 12(2):408.
8. Leerhoff Sabine, et al. Methylated Septin9 identified patients with colorectal carcinoma and showed higher sensitivity than conventional biomarkers in detecting tumor. *Cancer Treatment and Research Communication*. 2023; 36:100748.
9. Sun Qian, et al. Diagnostic performances of methylated septin9 gene, CEA, CA19-9 and platelet-to-lymphocyte ratio in colorectal cancer. *BMC Cancer*. 2024; 24(1):906
10. Lofton-Day Catherine, et al. DNA methylation biomarkers for blood-based colorectal cancer screening. *Clinical Chemistry*. 2008; 54(2):414-423.