

NGHIÊN CỨU BIỂU HIỆN mRNA MỘT SỐ GENE LIÊN QUAN ĐẾN
CON ĐƯỜNG JAK/STAT Ở TẾ BÀO UNG THƯ PHỔI ĐƯỢC ĐIỀU TRỊ
BẰNG VIRUS VACCINE SỞI PHỔI HỢP CISPLATIN

Ngô Thu Hằng^{1*}, Đặng Thùy Linh¹

Nguyễn Mạnh Hà², Cần Văn Mão¹

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá biểu hiện mRNA một số gene liên quan đến con đường JAK/STAT ở tế bào ung thư phổi được điều trị bằng virus vaccine sởi và Cisplatin.

Phương pháp nghiên cứu: Sử dụng kỹ thuật flow cytometry để đánh giá tỷ lệ tế bào chết, tế bào apoptosis và tế bào hoạt tử và kỹ thuật real-time PCR để đánh giá biểu hiện mRNA của các gene *STAT1*, *STAT3*, *JAK1*, *JAK2* và *JAK3* ở tế bào ung thư phổi H460 sau khi được điều trị bằng virus vaccine sởi và Cisplatin. **Kết quả:** Mức độ biểu hiện các gene *STAT3*, *JAK1*, *JAK2* và *JAK3* giảm thấp ở các nhóm điều trị so với nhóm chứng ($p < 0,05$), trong khi mức độ biểu hiện *STAT1* tăng hơn so với nhóm chứng ($p < 0,05$). Mức độ biểu hiện các gene *STAT3*, *JAK1* có tương quan nghịch với tỷ lệ tế bào sống, tế bào apoptosis và tế bào hoại tử. **Kết luận:** Tế bào ung thư phổi H460 được điều trị bằng virus vaccine sởi phối hợp với Cisplatin có khả năng làm giảm biểu hiện các gene *STAT3*, *JAK1*, *JAK2*, *JAK3* và tăng biểu hiện *STAT1*.

Từ khóa: Ung thư phổi H460; Virus vaccine sởi; Cisplatin; JAK/STAT.

STUDY ON THE mRNA EXPRESSION OF SOME GENES INVOLVED
IN THE JAK/STAT SIGNALING PATHWAY IN LUNG CANCER CELLS
TREATED WITH MEASLES VIRUS VACCINE AND CISPLATIN

Objectives: To evaluate the mRNA expression of some genes involved in the JAK/STAT signaling pathway in lung cancer cells treated with the measles virus

¹Bộ môn Sinh lý bệnh, Học viện Quân y

²Học viện Kỹ thuật Quân sự

*Tác giả liên hệ: Ngô Thu Hằng (drngohang1986@gmail.com)

Ngày nhận bài: 17/4/2025

Ngày được chấp nhận đăng: 29/5/2025

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v50i6.1305>

vaccine and Cisplatin. **Methods:** Using the flow cytometry technique to evaluate the rate of dead cells, apoptotic cells, and necrotic cells, and the real-time PCR technique to evaluate the mRNA expression of *STAT1*, *STAT3*, *JAK1*, *JAK2*, and *JAK3* genes in H460 lung cancer cells treated with measles virus vaccine and Cisplatin. **Results:** The relative expression of *STAT3*, *JAK1*, *JAK2*, and *JAK3* was significantly lower, while *STAT-1* expression was higher in H460 treated with measles virus vaccine and Cisplatin compared to controls. The relative expression of *STAT3* and *JAK1* was significantly inversely correlated with the rate of live cells, apoptotic cells, and necrotic cells. **Conclusion:** H460 lung cancer cells treated with measles virus vaccine combined with Cisplatin were able to reduce the expression of *STAT3*, *JAK1*, *JAK2*, and *JAK3* and increase *STAT1* expression.

Keywords: H460 lung cancer; Measles virus vaccine; Cisplatin; JAK/STAT.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư phổi là loại ung thư có tỷ lệ mắc mới và tử vong cao nhất trên thế giới với 2.480.675 ca mắc mới và 1.817.469 trường hợp tử vong trong năm 2022 [1]. Ở Việt Nam, ung thư phổi là ung thư thường gặp thứ 2 ở nam giới và thứ 3 ở cả hai giới với 180.480 ca mắc mới và 120.184 ca tử vong mỗi năm [1].

Cisplatin là hóa trị được sử dụng trong điều trị ung thư do có khả năng ức chế tổng hợp RNA, DNA và protein trong tế bào. Những chất trên đều rất quan trọng để tế bào phân chia và phát triển, stress oxy hóa tế bào, kích thích tế bào apoptosis [2]. Cisplatin đã được chứng minh có tác dụng điều trị nhiều loại ung thư khác nhau như ung thư đầu cổ, ung thư buồng trứng [3].

Virus vaccine sởi là virus ly giải tế bào ung thư (oncolytic virus) đang được

quan tâm do tính an toàn và khả năng kháng ung thư thông qua cơ chế gây ly giải trực tiếp và cơ chế gián tiếp là kích thích hệ thống miễn dịch chống lại khối u [4].

JAK/STAT là một trong những con đường tín hiệu quan trọng liên quan đến sự rối loạn quá trình tăng sinh, biệt hóa và apoptosis của tế bào ung thư. Khi các yếu tố kích thích như các cytokine, interferon (IFN) kết hợp với các thụ thể tiếp nhận trên bề mặt tế bào sẽ gây ra quá trình phosphoryl hóa JAK. Sau đó, các JAK phosphoryl hóa protein STAT liên quan của chúng, thay đổi hoạt động của các protein STAT và hoạt hóa các gene ung thư oncogen [5]. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy việc hoạt động quá mức của protein STAT đóng vai trò quan trọng trong sự hình thành và phát triển của khối u, trong đó có ung thư phổi [6].

Trong phạm vi nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm: *Khảo sát cơ chế kháng ung thư của virus vaccine sởi kết hợp với Cisplatin thông qua con đường tín hiệu JAK-STAT trên thực nghiệm để làm rõ hơn cơ chế tác động của hai yếu tố này.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Tế bào ung thư phổi người H460 (ATCC® HTB-177, ATCC, Hoa Kỳ); virus vaccine sởi là sản phẩm của đề tài KC.10.27/16-20; Cisplatin (Kupunistin 50mg/50mL, Hàn Quốc).

Bộ kit Dead Cell Apoptosis Kit with Annexin V FITC & Propidium Iodide for Flow Cytometry (Invitrogen) đánh giá tế bào apoptosis; bộ kit RNeasy Plant Mini Kit for RNA Extraction (Qiagen): Tách mRNA từ tế bào; bộ kit chuyển cDNA: RevertAid RT Reverse Transcription Kit, Thermo Scientific™, Hoa Kỳ.

Primer làm kỹ thuật real-time PCR (Hãng Phù Sa, Việt Nam); Master Mix (SYBR Green 2X) (Hãng Phù Sa, Việt Nam).

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Kỹ thuật xác định tỷ lệ tế bào apoptosis và hoại tử:*

Kỹ thuật tiến hành: Môi trường RPMI 1640 có bổ sung 10% FBS, 1% Penicillin và Streptomycin được sử

dụng để nuôi cấy tế bào H460. Thu tế bào bằng Trypsin EDTA 1X (Sigma, Hoa Kỳ), đưa về nồng độ 10^5 tế bào/mL. Đưa 10^5 tế bào vào mỗi giếng trên phiên 12 giếng. Cho vào tủ ấm 37°C , 5% CO_2 . Sau 24 giờ kiểm tra tế bào bám đáy và phát triển tốt, tiến hành hút bỏ môi trường cũ, thay môi trường mới (với nhóm chứng) và môi trường có bổ sung virus vaccine sởi (liều 1MOI) hoặc Cisplatin (liều 15uM) hoặc phối hợp 2 thuốc thử trên và đưa lại vào tủ ấm 37°C , 5% CO_2 . Sau 48 giờ và 96 giờ điều trị, tiến hành thu tế bào để phân tích tỷ lệ sống/chết, tế bào apoptosis, hoại tử tế bào bằng kỹ thuật flow cytometry. Quy trình theo hướng dẫn, thực hiện quy trình của bộ kit Dead Cell Apoptosis Kit with Annexin V FITC & Propidium Iodide for Flow Cytometry (Invitrogen) và tách RNA, chuyển cDNA, chạy phản ứng Realtime PCR để đánh giá biểu hiện mRNA một số gene liên quan đến con đường JAK/STAT.

* *Đánh giá biểu hiện mRNA gene JAK/STAT trên tế bào ung thư H460 được điều trị bằng virus sởi kết hợp Cisplatin:*

- Các bước tiến hành:

Tế bào H460 được điều trị bằng virus sởi và Cisplatin thời điểm 48 giờ và 96 giờ được tách chiết RNA theo hướng dẫn của RNeasy Plant Mini Kit for RNA Extraction (Qiagen). Sản phẩm RNA này được sử dụng để tổng hợp

cDNA theo hướng dẫn của bộ kit RevertAid RT Reverse Transcription Kit, Thermo Scientific™, Hoa Kỳ.

Đánh giá biểu hiện mRNA gene *JAK1*, *JAK2*, *JAK3*, *STAT1*, *STAT3* bằng kỹ thuật real-time PCR

Biểu hiện mRNA của *JAK1*, *JAK2*, *STAT1*, *STAT3* được phân tích bằng cách sử dụng Realtime PCR với glyceraldehyde - 3 - phosphate dehydrogenase (GAPDH) làm chứng nội. Các primer được sử dụng gồm: JAK-1_F: 5' GGC TCG TGC GTG TCC TAC 3'; JAK-1_R: 5' GGT CGT CCG CTT ATC GTG 3'; JAK-2_F: 5' CAG ATT TCA GGC CGT CAT TT 3'; JAK-2_R: 5' ATC CAA GAG CTC CAG TTC GTA T 3'; JAK-3_F: 5' AGT GAC CCT CAC TTC CTG CTG T 3'; JAK-3_R: 5' GGC TGA ACC AAG GAT GAT GTG G 3'; STAT-1_F: 5'CCC TTC TGG CTT TGG ATT GAA3'; STAT-1_R: 5'CTT CCC GGG AGC TCT CAC TGA3'; STAT-3_F: 5'GGA GGA GTT GCA GCA AAA AG3'; STAT-3_R: 5'TGT GTT TGT GCC CAG AAT GT3'; GAPDH_F: 5'-TTG GTA TCG TGG AAG GAC TCA-3'; GAPDH_R: 5'-TGT CAT CAT ATT TGG CAG GTT-3';

Hỗn hợp phản ứng Realtime PCR chứa 10μL Master Mix có Syber Green 2X, 2,0μL mẫu cDNA, 0,5μL primer forward, 0,5μL primer reverse, và 7,0μL H₂O, cho thể tích cuối cùng là

20μL. Biến tính ở 95°C trong 10 phút; 40 chu kỳ khuếch đại cDNA gồm: 95°C trong 10 giây, gắn mỗi trong 30 giây (52°C với *STAT3*, *GAPDH*, 59°C với *STAT1*; 61°C với *JAK1*, *JAK2*, *JAK3*), 72°C trong 30 giây. Các mức mRNA của *JAK1*, *JAK2*, *JAK3*, *STAT1*, *STAT3* được so sánh với gene chứng nội (mRNA GAPDH).

- Biểu hiện tương đối mRNA của các gene được tính = $2^{(-\Delta Ct)}$

với $\Delta Ct = Ct_{JAK1/JAK2/JAK3/STAT1/STAT3} - Ct_{GAPDH}$

- Nơi tiến hành: Bộ môn Sinh lý bệnh, Học viện Quân y.

* *Xử lý thống kê:*

Kiểm định T-test và tích phương sai Anova được sử dụng so sánh hai hay nhiều giá trị trung bình của biến phân phối chuẩn. Kiểm định Mann-Whitney để so sánh trung vị. Đánh giá mối tương quan bằng phân tích tương quan Pearson. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$. Phần mềm phân tích: SPSS 26.0.

3. Đạo đức nghiên cứu

Công trình này là sản phẩm của Đề tài Khoa học & Công nghệ cấp cơ sở tại Học viện Quân y: “Nghiên cứu tác dụng của virus vaccine sởi kết hợp Cisplatin trên một số dòng tế bào ung thư qua con đường tín hiệu JAK/STAT”. Nghiên cứu tuân thủ đầy đủ các quy định về đạo

đức trong nghiên cứu. Số liệu được chủ nhiệm đề tài Mã số: KC.10.27/16-20 và Bộ môn Sinh lý bệnh, Học viện Quân y cho phép sử dụng và công bố. Nhóm tác giả cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

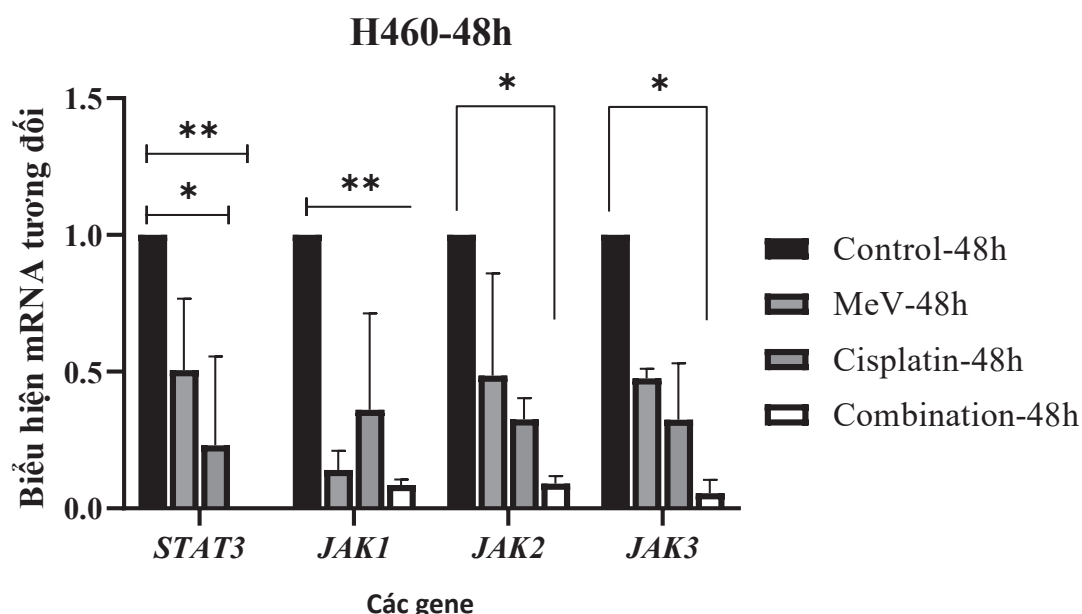
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Mức độ biểu hiện mRNA một số gene liên quan đến con đường JAK/STAT ở tế bào ung thư phổi được điều trị bằng virus vaccine sởi và Cisplatin

Kết quả đánh giá biểu hiện mRNA của các gene *JAK1*, *JAK2*, *JAK3*, *STAT1*

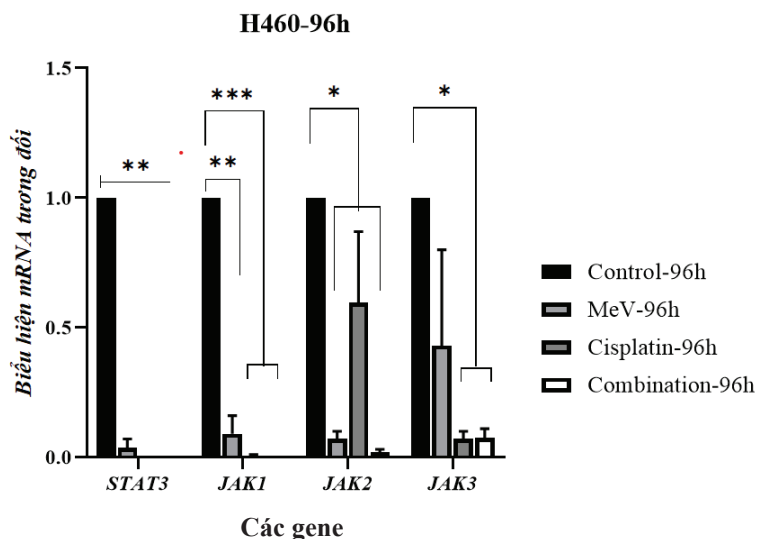
và *STAT3* cho thấy ở cả hai thời điểm 48 và 96 giờ sau điều trị, sự biểu hiện tương đối của các gene *JAK1*, *JAK2*, *JAK3* và *STAT3* ở các nhóm tế bào được điều trị bằng virus vaccine sởi, Cisplatin và nhóm kết hợp thấp hơn so với nhóm chứng (Hình 1, Hình 2), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

So sánh mức độ biểu hiện tương đối của *JAK1*, *JAK2*, *JAK3* và *STAT3* ở tế bào H460 được điều trị bằng virus vaccine sởi, Cisplatin so với nhóm chứng theo thời gian cho thấy mức độ biểu hiện ở thời điểm 96 giờ thấp hơn so với thời điểm 48 giờ.



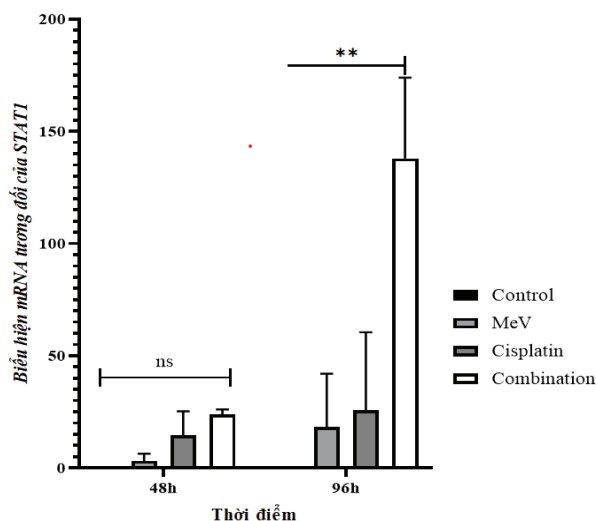
Hình 1. Mức độ biểu hiện mRNA của gene *JAK1*, *JAK2*, *JAK3* và *STAT3* ở tế bào H460 được điều trị bằng virus vaccine sởi và Cisplatin thời điểm 48 giờ.

(*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; MeV: Nhóm điều trị bằng virus vaccine sởi; Combination: Nhóm kết hợp; Control: Nhóm chứng)



Hình 2. Mức độ biểu hiện mRNA của gene *JAK1*, *JAK2*, *JAK3* và *STAT3* ở tế bào H460 được điều trị bằng virus vaccine sởi và Cisplatin thời điểm 96 giờ.
(*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$)

Ngược lại, mức độ biểu hiện tương đối của các gene *STAT1* ở các nhóm tế bào điều trị virus vaccine sởi, Cisplatin tăng rất cao so với nhóm chứng, mức biểu hiện *STAT1* tại thời điểm 96 giờ tăng rõ rệt so với thời điểm 48 giờ (Hình 3), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.



Hình 3. Mức độ biểu hiện mRNA của gene *STAT1* ở tế bào H460 được điều trị bằng virus vaccine sởi và Cisplatin thời điểm 48 giờ và 96 giờ.
(ns: $p > 0,05$; **: $p < 0,01$)

2. Mối tương quan giữa mức độ biểu hiện mRNA một số gene với tỷ lệ tế bào ung thư phổi được điều trị bằng virus vaccine sởi và Cisplatin chết, apoptosis và hoại tử

Bảng 1. Mối tương quan giữa mức độ biểu hiện mRNA một số gene với tỷ lệ tế bào ung thư phổi được điều trị bằng virus vaccine sởi và Cisplatin chết, apoptosis và hoại tử.

Chỉ tiêu		Biểu hiện tương đối mRNA				
		<i>STAT1</i>	<i>STAT3</i>	<i>JAK1</i>	<i>JAK2</i>	<i>JAK3</i>
Biểu hiện tương đối mRNA	<i>STAT1</i>		-0,976**	-0,970**	-0,735*	-0,897**
	<i>STAT3</i>			0,957**	0,704	0,957**
	<i>JAK1</i>				0,655	0,854**
	<i>JAK2</i>					0,655
Tỷ lệ tế bào	Sống	0,898**	-0,945**	-0,843**	0,050	0,000
	Apoptosis	0,419	-0,479	-0,361	0,192	0,081
	Hoại tử	0,910**	-0,884**	-0,880**	0,136	0,029

(** $: p < 0,01$; * $: p < 0,05$)

Kết quả phân tích tương quan giữa mức độ biểu hiện mRNA một số gene với tỷ lệ tế bào ung thư phổi được điều trị bằng virus vaccine sởi và Cisplatin chết, apoptosis và hoại tử cho thấy: Mức độ biểu hiện gene *STAT1* có tương quan thuận, mức độ chặt với tỷ lệ tế bào H460 chết và hoại tử với $r = 0,898$, $r = 0,910$ và $p < 0,01$ (Bảng 1).

Mức độ biểu hiện gene *STAT3*, *JAK1* có tương quan nghịch, mức độ chặt với tỷ lệ tế bào H460 chết và hoại tử với $r < -0,8$ và $p < 0,01$ (Bảng 1).

BÀN LUẬN

Một trong những con đường tín hiệu quan trọng liên quan đến sự ổn định, cân bằng quá trình phát triển, tăng sinh, biệt hóa và duy trì sự apoptosis của tế bào là con đường JAK/STAT. Khi con đường

này bị kích hoạt bởi các tác nhân như các Interleukin, Interferon (IFN) và các yếu tố kích thích tăng trưởng sẽ gây rối loạn sự cân bằng trên làm tế bào tăng sinh không kiểm soát, ức chế apoptosis, tăng khả năng di căn. Ngược lại, một số

nghiên cứu đã cho thấy khi ức chế các tín hiệu của con đường JAK/STAT sẽ có tác dụng hạn chế sự xuất hiện, phát triển của tế bào ung thư [7].

Trong các protein STAT, *STAT3* là protein đã được chứng minh trong nhiều nghiên cứu là có vai trò quan trọng trong nhiều cơ chế phát sinh, phát triển và biến đổi ác tính của tế bào ung thư [8, 9].

Thành viên đầu tiên của họ STAT, *STAT1*, là thành phần thiết yếu của tín hiệu IFN, đóng vai trò trung gian cho đáp ứng của tế bào với sự kích thích của cytokine, yếu tố tăng trưởng và hormone (như IFN và IL-6). Phần lớn các bằng chứng nghiên cứu cho thấy việc kích hoạt *STAT1* đóng vai trò ức chế khối u và kích thích các tế bào khối u chết theo chương trình [10].

Trong nghiên cứu này, biểu hiện tương đối mRNA của các gene *JAK1*, *JAK2*, *JAK3* và *STAT3* ở các nhóm tế bào được điều trị bằng virus vaccine sởi, Cisplatin thấp hơn so với nhóm chứng (Hình 1, Hình 2). Mặt khác, biểu hiện *STAT1* ở các nhóm tế bào điều trị virus vaccine sởi, Cisplatin tăng rất cao so với nhóm chứng (Hình 3). Kết quả này phù hợp với tác dụng của các gene trên với cơ chế sinh bệnh học ung thư. *STAT1* có tác dụng ức chế khối u phát triển và do vậy các nhóm điều trị có mức độ biểu hiện *STAT1* cao hơn so với nhóm chứng; ngược lại *JAK1*, *JAK2*,

JAK3 và *STAT3* có tác dụng kích thích, tăng sinh khối u phát triển, biểu hiện giảm ở các tế bào ung thư được điều trị.

Mặt khác, mức độ biểu hiện các gene *STAT1*, *STAT3* và *JAK1* có tương quan với tỷ lệ tế bào chết, tỷ lệ tế bào hoại tử sau khi được điều trị bằng virus vaccine sởi và Cisplatin. Như vậy, cơ chế và vai trò của JAK/STAT trong ung thư phổi trong nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với các công bố khác.

Đây là nghiên cứu đầu tiên đánh giá mức độ biểu hiện mRNA của các gene liên quan đến con đường tín hiệu JAK/STAT ở tế bào ung thư phổi H460 được điều trị bằng virus vaccine sởi và Cisplatin trên thế giới và Việt Nam.

Virus vaccine sởi có khả năng lý giải tế bào ung thư trực tiếp bằng cách tạo hợp bào và kích thích hệ thống miễn dịch chống u [4], trong khi Cisplatin làm tổn thương các phân tử DNA và RNA của tế bào ung thư. Phối hợp hai liệu pháp trong điều trị làm gia tăng khả năng chết tế bào, khi màng tế bào tổn thương, tế bào chết làm giảm sự tương tác giữa các yếu tố kích thích với thụ thể trên bề mặt màng tế bào nên không hoạt hóa các con đường tín hiệu JAK/STAT để tăng sinh khối u. Điều này phù hợp với kết quả nghiên cứu của chúng tôi là mức độ biểu hiện mRNA của các gene *STAT3* và *JAK1* có tương quan nghịch với tỷ lệ tế bào chết, tỷ lệ tế bào hoại tử sau điều trị.

KẾT LUẬN

Virus vaccine sởi phối hợp với Cisplatin làm giảm biểu hiện *STAT3*, *JAK1*, *JAK2*, *JAK3* và làm tăng biểu hiện của *STAT1* trên tế bào H460 được điều trị sau 48 giờ và 96 giờ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bray F, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2024; 74(3):229-263.
2. Ghosh S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug. *Bioorg Chem.* 2019; 88:102925.
3. Son HA, et al. Combination of vaccine-strain measles and mumps viruses enhances oncolytic activity against human solid malignancies. *Cancer Invest.* 2018; 36(2):106-117.
4. Msaouel P, et al. Oncolytic measles virus strains as novel anticancer agents. *Expert Opin Biol Ther.* 2013; 13(4): 483-502.
5. Qureshy Z, DE Johnson, and JR Grandis. Targeting the JAK/STAT pathway in solid tumors. *J Cancer Metastasis Treat.* 2020; 6.
6. Mohrherr J, et al. STAT3: Versatile functions in non-small cell lung cancer. *Cancers (Basel).* 2020; 12(5).
7. Miscia S, et al. Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) activates Jak1/Stat3-Stat5B signaling through TNFR-1 in human B cells. *Cell Growth Differ.* 2002; 13(1):13-18.
8. Bollrath J, et al. gp130-mediated Stat3 activation in enterocytes regulates cell survival and cell-cycle progression during colitis-associated tumorigenesis. *Cancer Cell.* 2009; 15(2):91-102.
9. Musteanu M, et al. Stat3 is a negative regulator of intestinal tumor progression in Apc(Min) mice. *Gastroenterology.* 2010; 138(3):1003-11.e1-5.
10. Moravej H, et al. Antimicrobial peptides: Features, action, and their resistance mechanisms in bacteria. *Microb Drug Resist.* 2018; 24(6):747-767.