

**TĂNG CƯỜNG TỶ LỆ TẾ BÀO UNG THƯ PHỔI CHẾT
THEO CHƯƠNG TRÌNH BẰNG CHỨNG VIRUS VACCINE SỎI
PHỐI HỢP CISPLATIN *IN VITRO***

Ngô Thu Hằng^{1}*

Tóm tắt

Mục tiêu: Khảo sát tỷ lệ tế bào ung thư phổi (UTP) H460 chết theo chương trình (apoptosis) được điều trị bằng virus vaccine sởi (MeV) phối hợp Cisplatin (Cis). **Phương pháp nghiên cứu:** Tế bào H460 được điều trị bằng MeV liều 1MOI và Cis liều 15 $\mu\text{mol/L}$, sau 48 và 96 giờ thu tế bào và phân tích dòng chảy tế bào (flow cytometry) trên hệ thống FACS Lyric để xác định tỷ lệ tế bào apoptosis. **Kết quả:** Tỷ lệ tế bào chết theo cơ chế apoptosis ở các nhóm điều trị với MeV hoặc Cis cao hơn so với nhóm chứng ($p < 0,001$). Bên cạnh đó, kết quả cũng cho thấy tỷ lệ tế bào apoptosis ở nhóm điều trị phối hợp cao hơn nhóm điều trị đơn ($p < 0,0001$). **Kết luận:** MeV phối hợp với Cis làm tăng khả năng chết tế bào H460 theo chương trình và hoại tử tế bào *in vitro*, cho thấy tiềm năng của tác dụng phối hợp chống ung thư.

Từ khóa: Chết theo chương trình; Virus vaccine sởi; Cisplatin; H460.

**ENHANCED APOPTOTIC DEATH OF LUNG CANCER CELLS BY
MEASLES VIRUS VACCINE IN COMBINATION WITH CISPLATIN *IN VITRO***

Abstract

Objectives: To evaluate the rate of apoptosis of the measles virus vaccine (MeV) and the Cisplatin strain on lung-cell carcinoma (H460). **Methods:** H460 cells were infected with the vaccine strain of MeV virus and Cis with the dose of 15 $\mu\text{mol/L}$ at 48 and 96 hours, and were analyzed by flow cytometry on the FACS Lyric system to evaluate the apoptosis. **Results:** The proportion of apoptotic cell death was significantly higher in the treated groups compared to the control group ($p < 0.01$). Furthermore, the group treated with the MeV and Cis combination exhibited a significantly higher proportion of apoptotic cells than those treated with MeV or

¹Bộ môn Sinh lý bệnh, Học viện Quân y

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

Ngày nhận bài: 05/5/2025

Ngày được chấp nhận đăng: 22/7/2025

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v50i7.1327>

Cis alone ($p < 0.0001$). **Conclusion:** The combination of the MeV strain and Cis significantly enhances apoptosis and necrosis in lung cancer cells in vitro, suggesting a potential synergistic anti-cancer effect.

Keywords: Apoptosis; Measles virus; Cisplatin; H460.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo ước tính mỗi năm có khoảng 2.480.675 ca UTP mới mắc, chiếm 12,4% tổng số các ung thư trên thế giới. Ước tính ở Việt Nam, có 24.426 ca mới mắc (13,5%) và 22.597 ca tử vong (18,8% tổng số trường hợp tử vong do ung thư) vào năm 2022 [1].

Mặc dù đã đạt được nhiều tiến bộ trong chẩn đoán và điều trị, UTP vẫn là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong do ung thư, với 1.817.469 ca tử vong, chiếm 18,7% tổng số các trường hợp tử vong do ung thư [1]. Oncolytic virus là liệu pháp sử dụng virus có khả năng ly giải các tế bào ung thư. MeV là một oncolytic virus có 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 [2].

Cisplatin là hóa chất thường được sử dụng dưới dạng đơn trị liệu hoặc phối hợp trong phác đồ hóa trị cho nhiều loại ung thư, bao gồm ung thư tinh hoàn, ung thư biểu mô buồng trứng, ung thư biểu mô tế bào vảy vùng đầu cổ, ung thư phổi tế bào nhỏ và ung thư phổi không tế bào nhỏ [3 - 5].

Nhằm tăng cường hiệu quả điều trị, oncolytic virus đã được nghiên cứu kết hợp với các phương pháp điều trị khác

như liệu pháp miễn dịch và xạ trị. Tuy vậy, chưa có nghiên cứu nào khảo sát tỷ lệ tế bào apoptosis của MeV kết hợp Cis trên dòng tế bào UTP H460 trên thế giới và Việt Nam, vì thế chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm: *Làm rõ hơn cơ chế tác động gây chết tế bào ung thư của hai liệu pháp điều trị trên.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Tế bào UTP H460 (ATCC® HTB-177, ATCC, Hoa Kỳ). MeV là sản phẩm của đề tài KC.10.27/16-20. Cis (Kupunistin 50mg/50mL, Korea United Pharma). Bộ kit đánh giá tế bào apoptosis được sử dụng trong nghiên cứu là Dead Cell Apoptosis Kit with Annexin V FITC & Propidium Iodide for Flow Cytometry (Invitrogen, CHLB Đức).

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Phương pháp đánh giá tỷ lệ tế bào chết apoptosis:*

Kỹ thuật tiến hành: Tế bào H460 được duy trì nuôi cấy trong môi trường RPMI 1640, có chứa 10% FBS, 1% Penicillin và Streptomycin (Sigma, Hoa Kỳ). Trypsin EDTA 1X (Sigma, Hoa Kỳ) được sử dụng để thu tế bào, đưa về nồng độ 10^5 tế bào/mL. Quy trình thí

nghiệm được tiến hành bằng cách cho 1mL dung dịch chứa tế bào trên vào mỗi giếng trên phiên kích thước 12 giếng, trong đó mỗi giếng có 10^5 tế bào. Cho vào tủ ấm 37°C , 5% CO_2 trong 24 giờ; kiểm tra tế bào bám đáy và phát triển tốt thì tiến hành hút bỏ môi trường cũ, thay môi trường mới (với nhóm chứng) và môi trường có bổ sung MeV (liều 1MOI) hoặc Cis (liều $15\text{ }\mu\text{mol/L}$) hoặc phối hợp 2 thuốc thử trên và đưa lại vào tủ ấm 37°C , 5% CO_2 (mỗi nhóm $n = 3$). Thu tế bào để chạy flow cytometry tế bào chết apoptosis, hoại tử thời điểm 48 và 96 giờ sau khi cho thuốc thử theo hướng dẫn thực hiện quy trình của nhà sản xuất sử dụng kháng thể anti-annexin V bắt màu Fluorescein isothiocyanate (FITC) và chất nhuộm nhân tế bào là Propidium iodide (PI).

Tỷ lệ tế bào apoptosis và hoại tử được đánh giá bằng hệ thống FACSLytic (BD) thông qua các bước: Xác định quần thể tế bào mục tiêu, thiết lập các vùng huỳnh quang tương ứng với FITC và PI, sau đó phân tích các quần thể tế bào để tính toán tỷ lệ tế bào chết tổng thể, tỷ lệ tế bào apoptosis và tỷ lệ tế bào chết do hoại tử.

Các thí nghiệm được tiến hành theo các quy trình chuẩn tại Labo Bệnh lý phân tử, Bộ môn Sinh lý bệnh, Học viện Quân y.

* *Xử lý số liệu:* Sử dụng phần mềm SPSS 26.0. Đối với các biến tuân theo

phân phối chuẩn, giá trị trung bình giữa hai nhóm độc lập được so sánh bằng phép kiểm T (T-test), còn sự khác biệt giữa ba nhóm được phân tích bằng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA). Đối với các biến không tuân theo phân phối chuẩn, so sánh trung vị giữa hai nhóm độc lập được thực hiện bằng kiểm định Mann-Whitney. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. Đạo đức nghiên cứu

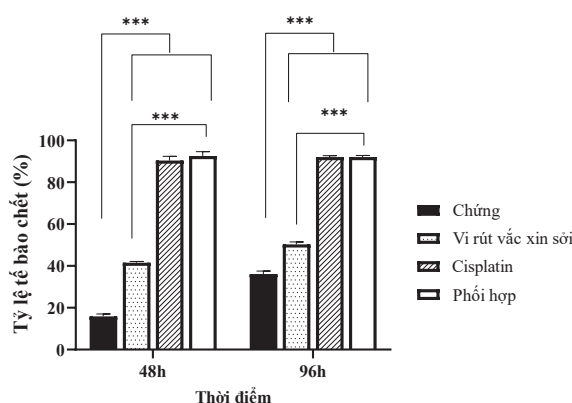
Các quy trình thí nghiệm của nghiên cứu tuân thủ nghiêm ngặt các quy định về đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học. Số liệu nghiên cứu được Bộ môn Sinh lý bệnh, Học viện Quân y và Ban Chủ nhiệm đề tài KC.10.27/16-20 cho phép sử dụng và công bố. Tác giả cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Tỷ lệ tế bào chết theo thời gian

Kết quả phân tích bằng Flow cytometry tại các thời điểm 48 giờ và 96 giờ cho thấy tỷ lệ tế bào chết ở ba nhóm điều trị gồm virus vắc xin sởi (MeV), Cis (Cis) và nhóm phối hợp (PH) cao hơn đáng kể so với nhóm chứng ($p < 0,0001$) (Hình 1).

Khi đánh giá sâu hơn về hiệu quả điều trị phối hợp thì kết quả cho thấy tỷ lệ tế bào chết ở nhóm PH MeV và Cis cao hơn so với hai nhóm điều trị đơn lẻ tại cả hai thời điểm 48 giờ và 96 giờ với $p_{\text{MeV-PH}} < 0,0001$ (Hình 1).



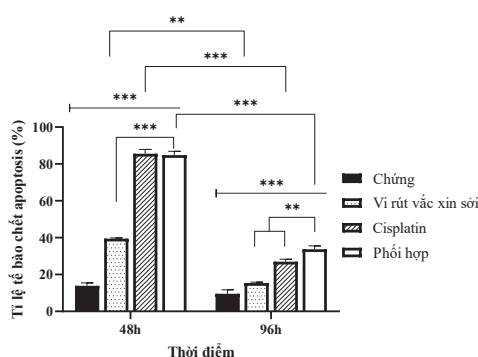
Hình 1. Tỷ lệ tế bào chết ở các nhóm nghiên cứu.

Khi so sánh tỷ lệ tế bào chết tại hai thời điểm 48 và 96 giờ, kết quả cho thấy tỷ lệ tế bào chết tăng dần theo thời gian, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở nhóm điều trị bằng MeV ($p_{48-96h} < 0,0001$) (Hình 1).

2. Tỷ lệ tế bào chết apoptosis ở các nhóm nghiên cứu

Các nhóm điều trị có tỷ lệ tế bào apoptosis (*apoptosis*) cao hơn đáng kể về mặt thống kê so với nhóm chứng ($p < 0,0001$) (Hình 2).

Tỷ lệ tế bào apoptosis ở nhóm PH MeV và Cis cao hơn so với các nhóm điều trị đơn lẻ. Tại thời điểm 48 giờ $p_{MeV-PH} < 0,0001$; tại thời điểm 96 giờ p_{MeV-PH} và $p_{Cis-PH} = 0,001$.

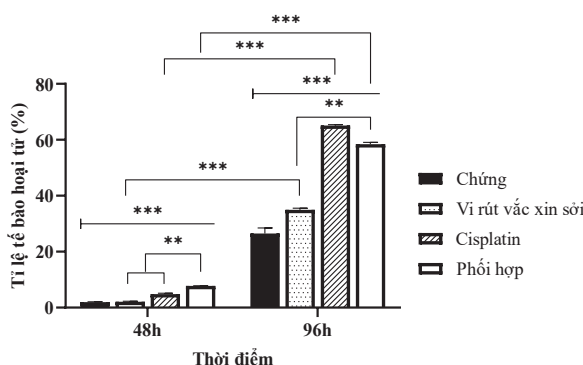


Hình 2. Tỷ lệ tế bào chết apoptosis tại thời điểm 48 giờ và 96 giờ.

Tỷ lệ tế bào apoptosis có xu hướng giảm dần theo thời gian ở các nhóm điều trị, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p_{MeV} 48-96h = 0,001$, $p_{Cisplatin} 48-96h$ và $p_{PH} 48-96h < 0,0001$ với dòng tế bào H460. Tại thời điểm 96 giờ sau điều trị, số lượng tế bào apoptosis ở các nhóm điều trị có xu hướng giảm, trong khi số lượng tế bào chết do hoại tử tăng lên.

3. Tỷ lệ tế bào hoại tử ở các nhóm nghiên cứu

Tỷ lệ tế bào chết do hoại tử ở cả ba nhóm điều trị đều tăng đáng kể về mặt thống kê so với nhóm chứng với $p_{48h} < 0,001$ và $p_{96h} < 0,0001$. Tác dụng gây hoại tử tế bào khi sử dụng phối hợp MeV và Cis tăng cao rõ rệt so với sử dụng đơn độc virus hoặc Cis ($p < 0,0001$ ở cả 2 thời điểm 48 và 96 giờ). Hơn nữa, tại thời điểm 96 giờ, tỷ lệ tế bào chết do hoại tử ở cả ba nhóm điều trị đều cao hơn so với thời điểm 48 giờ, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở tất cả các nhóm với $p_{48-96h} < 0,0001$ (Hình 3).



Hình 3. Tỷ lệ tế bào H460 hoại tử.

BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu này, để đánh giá tỷ lệ tế bào apoptosis và hoại tử, chúng tôi sử dụng kháng thể anti-annexin V gắn màu FITC, có khả năng tương tác với lớp phosphatidylserine trên bề mặt màng tế bào, cùng với chất nhuộm nhân tế bào phát huỳnh quang PI. Kết quả nghiên cứu cho thấy phối hợp MeV và Cis làm tăng khả năng gây chết tế bào H460 *in vitro* qua trung gian kích hoạt quá trình apoptosis và hoại tử tế bào ở các thời điểm nghiên cứu. Tỷ lệ tế bào chết tổng thể và tế bào apoptosis ở nhóm chứng không điều trị thấp hơn so với ba nhóm điều trị tại cả hai thời điểm 48 giờ và 96 giờ ($p < 0,001$) (Hình 1, 2).

MeV và Cis đã được chứng minh có tác dụng kích thích tế bào ung thư apoptosis và hoại tử [6, 7]. Ngoài ra, MeV và Cis còn có các cơ chế khác góp phần gây chết tế bào khối u, trong đó có cơ chế hoại tử tế bào. Do đó, trong nghiên cứu này, bên cạnh việc đánh giá tỷ lệ tế bào apoptosis, chúng tôi còn tiến hành đánh giá tỷ lệ tế bào chết do hoại tử. Kết quả cho thấy ở các nhóm sử dụng MeV và Cis thì tỷ lệ tế bào chết hoại tử đều cao hơn có ý nghĩa thống kê với nhóm chứng không điều trị tại cả hai thời điểm 48 giờ và 96 giờ (Hình 3).

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi còn chỉ ra thời gian càng dài, tỷ lệ tế bào

chết hoại tử càng tăng. Nhiều nghiên cứu trước đây cũng lựa chọn các thời điểm khảo sát tương tự như chúng tôi, cụ thể là ngày thứ 2 và ngày thứ 4, và đã chứng minh được tác dụng tế bào apoptosis của MeV trên nhiều dòng tế bào ung thư người khác nhau, bao gồm ung thư máu [8], ung thư gan [9] và ung thư đại trực tràng [10]. Thử nghiệm của chúng tôi đã xác nhận sự kết hợp giữa MeV và Cis làm tăng tỷ lệ tế bào apoptosis so với điều trị đơn lẻ tại các thời điểm nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu này là tiền đề để tiếp tục nghiên cứu tiền lâm sàng tiếp theo đánh giá tác dụng, cơ chế kháng ung thư của MeV kết hợp Cis.

KẾT LUẬN

MeV phối hợp với Cis làm tăng khả năng tế bào H460 apoptosis và hoại tử *in vitro*, gợi ý một sự tác dụng chống ung thư hiệp đồng có hiệu quả giữa hai liệu pháp điều trị ung thư này.

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. Pidelaserra-Martí, G and CE Engeland. Mechanisms of measles virus oncolytic immunotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2020; 56:28-38.
3. Kryczka J, et al., Molecular Mechanisms of Chemoresistance

Induced by Cisplatin in NSCLC Cancer Therapy. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(16).

4. Zoń A and I Bednarek. Cisplatin in ovarian cancer treatment-known limitations in therapy force new solutions. *Int J Mol Sci*. 2023; 24(8).

5. Kusaka T, et al. Treatment outcomes and prognostic factors of concurrent chemoradiotherapy with docetaxel, cisplatin, and fluorouracil in advanced head and neck cancer. *Anticancer Res*. 2022; 42(12):6047-6056.

6. Ahmed EA, et al. Beta-caryophyllene enhances the anti-tumor activity of cisplatin in lung cancer cell lines through regulating cell cycle and apoptosis signaling molecules. *Molecules*. 2022; 27(23).

7. Liu L, et al. Berberine in combination with cisplatin induces necroptosis and apoptosis in ovarian cancer cells. *Biol Res*. 2019; 52(1):37.

8. Maurer S, et al. Suicide gene-armed measles vaccine virus for the treatment of AML. *Int J Oncol*. 2019; 55(2):347-358.

9. Lampe J, et al. An armed oncolytic measles vaccine virus eliminates human hepatoma cells independently of apoptosis. *Gene Ther*. 2013; 20(11):1033-1041.

10. Zhang CD, et al. A recombinant Chinese measles virus vaccine strain rMV-Hu191 inhibits human colorectal cancer growth through inducing autophagy and apoptosis regulating by PI3K/AKT pathway. *Transl Oncol*. 2021; 14(7):101091.