

**KẾT QUẢ PHÁT HIỆN ĐỘT BIẾN GENE *EGFR* Ở
BỆNH NHÂN UNG THƯ BIỂU MÔ TUYẾN PHỔI
BẰNG REAL-TIME PCR SỬ DỤNG KHUÔN RNA**

Phạm Thị Mai^{1*}, *Vũ Thị Trang*¹, *Phạm Thị Hoan*¹, *Dương Thùy Linh*¹
*Vũ Hồng Thăng*², *Nguyễn Văn Ba*³, *Hồ Hữu Thọ*⁴

Tóm tắt

Mục tiêu: Phát hiện đột biến gene *EGFR* ở bệnh nhân (BN) ung thư biểu mô tuyến phổi bằng real-time PCR sử dụng khuôn RNA. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang, xét nghiệm đột biến gene *EGFR* ở 149 BN ung thư biểu mô tuyến phổi điều trị nội trú ở Bệnh viện Quân y 103 và Bệnh viện K (cơ sở 3) từ tháng 2/2018 - 8/2024. **Kết quả:** Tỷ lệ đột biến gene *EGFR* ở mức độ RNA trên mẫu mô là 44,3%, trong đó đột biến đơn lẻ chiếm 95,5%, đột biến kép chiếm 4,5%. Tỷ lệ đột biến gene *EGFR* ở mức độ RNA trên mẫu máu là 29,5%. **Kết luận:** Bệnh phẩm mẫu mô khi xét nghiệm đột biến gene *EGFR* bằng phương pháp real-time PCR sử dụng khuôn RNA có tỷ lệ phát hiện đột biến cao hơn sử dụng khuôn DNA là 4,7%, với hệ số phù hợp Kappa là 0,904.

Từ khóa: Ung thư biểu mô tuyến phổi; Đột biến gene *EGFR*; Real-time PCR.

**RESULTS OF *EGFR* GENE MUTATION DETECTION IN
LUNG ADENOCARCINOMA PATIENTS
BY REAL-TIME PCR USING RNA TEMPLATE**

Abstract

Objectives: To detect *EGFR* gene mutations in lung adenocarcinoma patients by real-time PCR using the RNA template. **Methods:** A cross-sectional descriptive study,

¹Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

²Bệnh viện K

³Bệnh viện Quân y 175

⁴Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Phạm Thị Mai (drphamthimai103@gmail.com)

Ngày nhận bài: 06/8/2025

Ngày được chấp nhận đăng: 10/9/2025

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v50si4.1502>

testing *EGFR* gene mutations of 149 patients with lung adenocarcinoma who were hospitalized at the Military Hospital 103 and Vietnam National Cancer Hospital (Campus 3) from February 2018 to August 2024. **Results:** The mutation rate of the *EGFR* gene at the RNA level in tissue samples was 44.3%, with single mutations accounting for 95.5% and double mutations accounted for 4.5%. The mutation rate of the *EGFR* gene at the RNA level in blood samples was 29.5%. **Conclusion:** In *EGFR* gene mutation testing using real-time PCR, tissue specimens using the RNA template yielded a 4.7% higher detection rate than those using the DNA template. The Kappa concordance coefficient between the two methods was 0.904.

Keywords: Lung adenocarcinoma; *EGFR* gene mutation; Real-time PCR.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư phổi là loại ung thư phổ biến thứ 2 trên thế giới, nhưng là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trong nhiều thập kỷ qua. Năm 2020, ở Việt Nam, có 23,667 người mắc mới, nam giới là chủ yếu chiếm > 70%, số người tử vong do ung thư phổi là 20,710 [1]. Điều trị đích trong ung thư phổi ngày càng phát triển, để có thể tiến hành điều trị đích, việc quan trọng là cần xác định đột biến gene *EGFR*. Công nghệ phiên mã ngược với mẫu đầu dò khóa có thể kéo dài chuỗi (extendable blocking probe-Reverse transcription - ExBP-RT) của tác giả Hồ Hữu Thọ và CS đã được công bố trên Tạp chí Nucleic Acids Research (2015). Bản quyền công nghệ ExBP-RT đã được đăng ký bảo hộ trên thế giới [2]. Ứng dụng công nghệ này, sử dụng khuôn RNA để phát hiện đột biến gene *EGFR* có ý nghĩa cho thực hành điều trị

ung thư phổi ở các cơ sở y tế. Chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm: *Phát hiện đột biến gene EGFR ở BN ung thư biểu mô tuyến phổi bằng real-time PCR sử dụng khuôn RNA.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 149 mẫu mô và 149 mẫu máu của 149 BN ung thư biểu mô tuyến phổi điều trị nội trú ở Bệnh viện Quân y 103 và Bệnh viện K cơ sở Tân Triều.

2. Phương pháp nghiên cứu

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

* *Cỡ mẫu nghiên cứu:* Tính theo công thức:

$$n = Z_{(1-\frac{\alpha}{2})}^2 \frac{p(1-p)}{d^2}$$

Trong đó: n là cỡ mẫu nhỏ nhất phải đạt được cho BN ung thư phổi biểu mô

tuyến; Z là hệ số tin cậy, ở mức xác suất 95%, $Z = 1,96$; p là tỷ lệ đột biến gene *EGFR* ở BN ung thư phổi biểu mô tuyến, $p = 0,642$ dựa theo kết quả của nghiên cứu Pioneer về tỷ lệ đột biến gene *EGFR* ở châu Á, công bố năm 2011; d là độ chính xác kỳ vọng, $d = 0,08$.

Xét nghiệm real-time PCR được làm tại Phòng Công nghệ Gen và Di truyền, Viện nghiên cứu Y Dược học, Học viện Quân y bởi thạc sĩ chuyên ngành công nghệ sinh học.

* *Xử lý số liệu*: Bằng phần mềm SPSS 20.0.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được thông qua Hội đồng Đạo đức Trường Đại học Y Hà Nội theo Quyết định số 14NCS17/HĐĐĐĐHYHN ngày 08/02/2018. Số liệu nghiên cứu được Bệnh viện K và Bệnh viện Quân y 103 cho phép sử dụng và công bố. Nhóm tác giả cam kết không có xung đột về lợi ích trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Đặc điểm tuổi, giới tính của nhóm nghiên cứu.

Tuổi, giới tính	Số BN (n)	Tỷ lệ (%)
34 - < 40	2	1,3
40 - 49	21	14,1
50 - 59	43	28,9
60 - 69	60	40,2
70 - < 80	23	15,5
$\bar{X} \pm SD$	59,8 $\pm$ 8,9	
Tổng	149	100
Nam	115	72,2
Nữ	34	22,8

Tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là 59,8 $\pm$ 8,9, độ tuổi ≥ 40 chiếm 98,7%. Tuổi thấp nhất là 34, tuổi cao nhất là 80.

Bảng 2. Giá trị ngưỡng của các quy trình ExBP-RT phát hiện đột biến gene *EGFR* ở mức độ RNA.

Phản ứng	Giá trị ngưỡng ΔC_{t}đột biến-chứng	Độ nhạy kỹ thuật ($2^{-\Delta C_{\text{t}}}$) (%)
Đột biến điểm T790M ở exon 20	14,0	0,006
Đột biến mất đoạn ở exon 19	11,5	0,035
Đột biến điểm L858R ở exon 21	12,3	0,020
Đột biến điểm G719X ở exon 18	12,8	0,014
Đột biến thêm đoạn ở exon 20	13,8	0,007

Đột biến mất đoạn ở exon 19 có giá trị ngưỡng ΔC_{t} là 11,5.

Bảng 3. Tỷ lệ đột biến gene *EGFR* ở mức độ RNA.

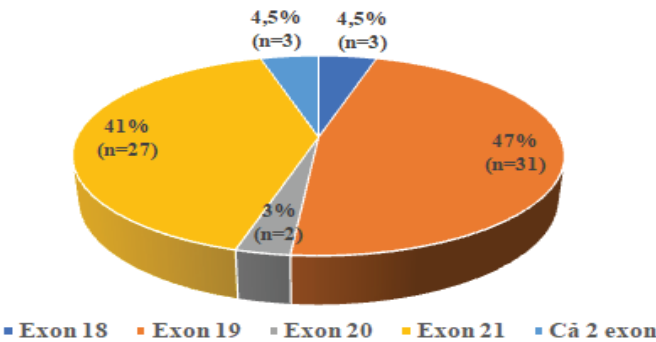
Gene <i>EGFR</i>	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Có đột biến	66	44,3
Không đột biến	83	55,7
Tổng	149	100

Tỷ lệ đột biến gene *EGFR* ở mức độ RNA là 44,3%.

Bảng 4. Tỷ lệ BN theo số lượng đột biến gene *EGFR* ở mức độ RNA.

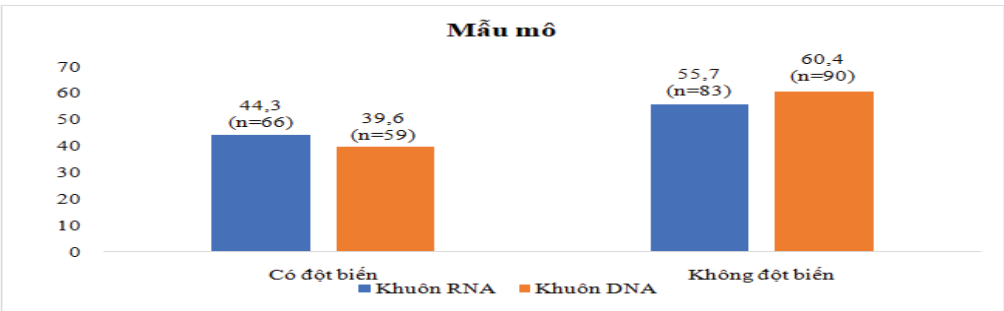
Số lượng đột biến	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Đột biến đơn lẻ	63	95,5
Đột biến kép	3	4,5
Tổng	66	100

Đột biến gene *EGFR* ở mức độ RNA xảy ra ở 1 vị trí chiếm 95,5%.



Biểu đồ 1. Biểu hiện đột biến gene *EGFR* ở mức độ RNA.

Đột biến gene *EGFR* ở mức độ RNA xảy ra ở exon 19 là 47%, exon 21 là 41%.



Biểu đồ 2. So sánh tỷ lệ phát hiện đột biến gene *EGFR* trên mẫu mô bằng xét nghiệm real-time PCR khuôn RNA và khuôn DNA.

Xét nghiệm real-time PCR sử dụng khuôn RNA phát hiện đột biến gene *EGFR* có tỷ lệ dương tính đạt 44,3%. Sử dụng khuôn DNA để xét nghiệm đột biến *EGFR* có tỷ lệ dương tính đạt 39,6%.

Bảng 5. Kết quả đối chiếu phát hiện đột biến gene *EGFR* bằng khuôn RNA so với khuôn DNA trên mẫu mô.

Khuôn RNA	Khuôn DNA		HS Cohen's Kappa
	Có đột biến	Không đột biến	
Có đột biến	59	7	0,904
Không đột biến	0	83	

(HS: Hệ số)

Trên mẫu mô, sử dụng khuôn RNA để phát hiện đột biến so với phương pháp sử dụng khuôn DNA có mức độ phù hợp với hệ số Kappa là 0,904.

Bảng 6. Kết quả đối chiếu phát hiện đột biến gene *EGFR* bằng khuôn RNA trên mẫu máu và mẫu mô.

Mẫu máu	Mẫu mô		HS Cohen's Kappa
	Có đột biến	Không đột biến	
Có đột biến	43	1	0,521
Không đột biến	23	82	

(HS: Hệ số)

Sử dụng khuôn RNA để phát hiện đột biến gene *EGFR*, thấy tỷ lệ đột biến gene *EGFR* ở mẫu máu phù hợp với mẫu mô, với hệ số Kappa 0,521.

BÀN LUẬN

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nam giới chiếm chủ yếu (77,2%), tuổi trung bình của BN trong nghiên cứu là $59,8 \pm 8,9$, tuổi thấp nhất là 34, cao nhất là 80, nhóm tuổi ≥ 40 chiếm 98,7%. Số liệu trên phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Thị Lan Anh (2017) về đột biến gene *EGFR* ở 152 BN ung thư biểu mô tuyến phổi tại Bệnh viện Bạch Mai cho thấy tuổi trung bình nhóm nghiên cứu là $59,6 \pm 9,9$, tuổi thấp nhất là 32, tuổi cao nhất là 80 [3].

Việc sử dụng phân tử RNA làm khuôn trong các xét nghiệm phân tích đột biến có thể mang lại nhiều ưu điểm đáng chú ý so với khuôn DNA. Một trong những ưu điểm là trong mỗi tế bào thường có nhiều bản sao của mRNA trong khi chỉ có 2 bản sao của DNA, do đó, phân tích đột biến sử dụng khuôn RNA có thể sẽ đạt được độ nhạy cao hơn [4]. Phân tích đột biến sử dụng

khuôn RNA không chỉ xác nhận sự xuất hiện của đột biến ở mức phiên mã mà còn có thể đánh giá mức độ biểu hiện tương đối của alen đột biến so với alen đại, với các kỹ thuật định lượng phù hợp như RNA-seq hoặc digital PCR. Nghiên cứu cho thấy công nghệ mới ExBP-RT dùng khuôn RNA để phát hiện đột biến gene *EGFR* có khả năng phát hiện đột biến với độ nhạy cao.

Thời gian gần đây, có nhiều nghiên cứu trên thế giới cũng như ở Việt Nam chứng minh hiệu quả điều trị BN ung thư biểu mô tuyến phổi bằng các thuốc ức chế tyrosin kinase. Thuốc ức chế tyrosine kinase của thụ thể *EGFR* được dùng như một phương pháp thay thế cho hóa trị liệu ở một số BN có đột biến gene *EGFR* dương tính [3]. Vì vậy, kết quả xác định đột biến gene *EGFR* là một thông tin quan trọng giúp các bác sĩ lâm sàng cân nhắc sử dụng liệu pháp điều trị đích cho BN ung thư biểu mô

tuyến phổi. Tỷ lệ đột biến gene *EGFR* trên BN ung thư biểu mô tuyến phổi chiếm khoảng 5 - 15% BN ở người da trắng và khoảng 30 - 60% BN châu Á, gặp nhiều hơn ở nữ giới, không hút thuốc lá và có mô bệnh học là ung thư biểu mô tuyến phổi [3].

Kết quả của nghiên cứu đã xác định được 66/149 BN có đột biến gene *EGFR* ở mức độ RNA (44,3%), trong đó đột biến đơn lẻ chiếm 95,5%, đột biến kép chiếm 4,5%.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, việc xét nghiệm đột biến gene *EGFR* sử dụng khuôn DNA có tỷ lệ phát hiện đột biến chỉ là 39,6%. Phương pháp xét nghiệm mới làm tăng tỷ lệ phát hiện đột biến trên mẫu mô thêm 4,7%, tương ứng với có thêm 7 BN có cơ hội nhận được lợi ích từ các thuốc ức chế tyrosin kinase.

Bảng 5, 6 so sánh, đối chiếu cho thấy toàn bộ 59 BN đột biến gene *EGFR* dương tính trên khuôn DNA đều được phát hiện trên khuôn RNA, hệ số phù hợp Kappa = 0,904. Có 7 BN xét nghiệm đột biến gene *EGFR* âm tính trên khuôn DNA nhưng lại phát hiện đột biến gene *EGFR* trên khuôn RNA, các BN này đều được tiếp cận thuốc ức chế tyrosin kinase. Trong số 7 BN đó, có 1 BN cao tuổi (73 tuổi), nhờ việc dùng thuốc ức chế tyrosin kinase, BN tránh

được việc truyền hoá chất và các tác dụng phụ của hoá chất, nhờ đó chất lượng cuộc sống được cải thiện.

Trong thực hành lâm sàng, việc lấy mẫu mô để xét nghiệm đột biến không phải lúc nào cũng thuận lợi. Có những trường hợp mẫu mô đủ để xác định chẩn đoán mô bệnh học, nhưng lại không đáp ứng yêu cầu cho các phân tích đột biến do hạn chế về số lượng hoặc chất lượng mẫu [4, 5].

Hiện nay, trên thế giới không có nhiều nghiên cứu về sử dụng khuôn RNA để xét nghiệm đột biến gene *EGFR*. Tác giả Gallegos Ruiz MI và Floor K khẳng định khuôn RNA là nguồn ưu tiên cho xét nghiệm đột biến gene *EGFR* ở BN ung thư phổi [6].

Tác giả Muller S, Janke F (2020) nhận thấy các micro RNA có nhiều thuận lợi để ứng dụng làm dấu ấn sinh học dựa trên sinh thiết lỏng bao gồm độ ổn định cao, độ phong phú tương đối cao và sự hiện diện gần như ở tất cả các chất lỏng trong cơ thể, do đó, việc ứng dụng các RNA để xác định các đột biến trong ung thư phổi đang mở ra một kỷ nguyên mới về giá trị của sinh thiết lỏng trong chẩn đoán, theo dõi đáp ứng điều trị ung thư phổi [7].

Kỹ thuật ExBP-RT phát hiện đột biến trên RNA đã được tác giả Hồ Hữu Thọ và CS công bố với độ nhạy cao hơn từ 10 - 30 lần so với các phương pháp

được sử dụng phổ biến hiện nay, mở ra triển vọng lớn trong các ứng dụng lâm sàng khác nhau. Đặc biệt, ứng dụng phát hiện đột biến gene liên quan đến ung thư từ mẫu máu ngoại vi và các dịch cơ thể bằng kỹ thuật mới trên các BN ung thư phổi không tế bào nhỏ, phục vụ chẩn đoán, tiên lượng và theo dõi bệnh sau điều trị. Với thành công trong phân tích đột biến trên gene KRAS và BRAF với độ nhạy cao, tương ứng 0,017 - 0,09% và $p < 0,05\%$ [2].

Xét nghiệm mẫu máu có tỷ lệ đột biến gene *EGFR* ở mức độ RNA trong nghiên cứu là 29,5%. Có 4 trường hợp xét nghiệm trên mẫu mô bằng khuôn DNA âm tính nhưng phát hiện đột biến gene *EGFR* trên mẫu máu. Nguyên nhân do mẫu mô là hỗn hợp của nhiều loại tế bào khác nhau, bao gồm các tế bào của tổ chức liên kết và các tế bào khối u với phổ đột biến và thông tin di truyền đa dạng, ngay cả một mẫu sinh thiết thuần nhất thuộc về một khối u nào đó cũng không đồng nhất về mặt di truyền, do đó, mẫu mô là một phần của khối u không thể đại diện cho toàn bộ các biến đổi gene trong toàn bộ khối u. Trong nhiều trường hợp lượng DNA kiểu dại lại nhiều hơn rất nhiều so với lượng DNA đột biến, khiến cho việc phát hiện đột biến gặp khó khăn, nhất là khi DNA đột biến trong mẫu bệnh phẩm có nồng độ thấp. Những BN này nhờ có phương pháp xét nghiệm tìm đột biến

gene *EGFR* trên bệnh phẩm khác mà BN có thêm cơ hội được tiếp cận thuốc ức chế tyrosin kinase.

Có 17 trường hợp mẫu máu không phát hiện đột biến gene *EGFR*, nhưng khi làm trên mẫu mô bằng khuôn RNA lại phát hiện có đột biến. Tỷ lệ đột biến gene ở mẫu máu thấp hơn ở mẫu mô là do lượng gene đích lưu hành trong máu thấp hơn nhiều so với lượng gene đích khu trú trong khối u, đặc biệt là các gene mang đột biến. Tuy nhiên, xét nghiệm mẫu máu vẫn có ưu việt vì đây là phương pháp ít xâm lấn, có thể thực hiện được nhiều lần trong quá trình BN điều trị bệnh, do đó, việc áp dụng các phương pháp phát hiện đột biến gene *EGFR* trên mẫu máu với độ nhạy cao sẽ mang lại nhiều lợi ích trong tiên lượng và theo dõi đáp ứng điều trị.

KẾT LUẬN

Qua xét nghiệm 149 mẫu mô, 149 mẫu máu của BN ung thư biểu mô tuyến phổi cho thấy tỷ lệ đột biến gene *EGFR* ở mức độ RNA trên mẫu mô là 44,3%, trong đó, đột biến đơn lẻ chiếm 95,5%, đột biến kép chiếm 4,5%. Bệnh phẩm mẫu mô khi xét nghiệm đột biến gene *EGFR* bằng phương pháp real-time PCR sử dụng khuôn RNA có tỷ lệ phát hiện đột biến cao hơn sử dụng khuôn DNA là 4,7%, với hệ số phù hợp Kappa là 0,904. Tỷ lệ đột biến gene *EGFR* ở mức độ RNA trên mẫu máu là 29,5%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2021.
2. Ho TH, Dang KX, Lintula S, et al. Extendable blocking probe in reverse transcription for analysis of RNA variants with superior selectivity. *Nucleic Acids Res*. 2015; 43(1):e4.
3. Nguyễn Thị Lan Anh. Nghiên cứu đặc điểm đột biến gen EGFR và mối liên quan với lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân ung thư phổi biểu mô tuyến. *Nội hô hấp*. 2017.
4. El-Hefnawy T, Raja S, Kelly L, et al. Characterization of amplifiable, circulating RNA in plasma and its potential as a tool for cancer diagnostics. *Clin Chem*. 2004; 50(3):564-573.
5. Shi Y, Au JS, Thongprasert S, et al. A prospective, molecular epidemiology study of EGFR mutations in Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer of adenocarcinoma histology (PIONEER). *J Thorac Oncol*. 2014; 9(2):154-162.
6. Gallegos Ruiz MI, Floor K, Rijmen F, et al. EGFR and K-ras mutation analysis in non-small cell lung cancer: Comparison of paraffin-embedded versus frozen specimens. *Cell Oncol*. 2007; 29(3):257-264.
7. Muller S, Janke F, Dietz S, et al. Circulating MicroRNAs as potential biomarkers for lung cancer. *Recent Results Cancer Res*. 2020; 215:299-318.