

ĐÁNH GIÁ TỶ LỆ XÂM NHIỄM LYMPHO TRONG MÔ ĐỆM VÙNG RÌA MÔ UNG THƯ BIỂU MÔ ĐẠI TRỰC TRÀNG

Trương Đình Tiến^{1*}, Trần Ngọc Dũng¹
Phạm Minh Nghĩa², Hoàng Mỹ Tâm²

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá tỷ lệ xâm nhiễm lympho (tumor-infiltrating lymphocytes - TILs) vùng rìa mô u và mối liên quan với các đặc điểm giải phẫu bệnh (GPB) ở bệnh nhân (BN) ung thư biểu mô đại trực tràng (UTBMĐTT). **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 131 BN UTBMĐTT, được phẫu thuật tại Bệnh viện Quân y 103. Bệnh phẩm được xử lý theo quy trình xét nghiệm GPB thường quy. Đánh giá tỷ lệ TILs vùng rìa u trên tiêu bản và xác định mối liên quan với các đặc điểm GPB. **Kết quả:** Tỷ lệ TILs trung bình là $14,96 \pm 17,5\%$, trung vị là 5%; tỷ lệ TILs cao liên quan có ý nghĩa với các yếu tố tiên lượng tốt gồm mức độ u xâm lấn (pT) thấp, độ mô học thấp, giai đoạn bệnh sớm và không có xâm nhập thần kinh. **Kết luận:** Tỷ lệ xâm nhiễm lympho vùng rìa u cao là yếu tố tiên lượng tốt ở BN UTBMĐTT.

Từ khóa: Tình trạng xâm nhiễm lympho (TILs); Ung thư biểu mô đại trực tràng; Vùng rìa.

EVALUATION OF TUMOR-INFILTRATING LYMPHOCYTES IN THE STROMAL INVASIVE MARGIN OF COLORECTAL CARCINOMA

Abstract

Objectives: To evaluate the tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in invasive margins and the correlation with pathologic features in patients with colorectal carcinoma. **Methods:** A cross-sectional descriptive study was conducted on 131 patients diagnosed with colorectal carcinoma who underwent surgical resection to remove the tumor at Military Hospital 103. Tumor samples were processed according to standardized pathological procedures. TILs in the invasive margin were assessed on tumor slides, and their correlation with pathologic features was evaluated.

¹Bộ môn - Khoa Giải phẫu bệnh lý, Pháp y, Bệnh viện Quân y 103

²Hệ 2, Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Trương Đình Tiến (tientruongmmu@gmail.com)

Ngày nhận bài: 31/5/2024

Ngày được chấp nhận đăng: 14/8/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i8.851>

Results: The mean percentage of TILs was 14.96% with a standard deviation of 17.5% and a median of 5%; the higher percentage of TILs was significantly associated with good prognosis pathological factors, including tumors with early tumor stages, low grade, early TNM stages, and non-perineural invasion. **Conclusion:** The lymphocytic infiltration in the stroma at the invasive margins of the tumor could play a significant prognostic role in patients with colorectal carcinoma.

Keywords: Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs); Colorectal carcinoma; Invasive margin.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư biểu mô đại trực tràng là một trong những loại ung thư phổ biến nhất với > 1,9 triệu ca mắc mới và 0,9 triệu ca tử vong trong năm 2022 trên toàn cầu [1]. Tại Việt Nam, UTBMĐTT nằm trong nhóm 5 loại ung thư thường gặp nhất. Những năm gần đây, việc áp dụng các phương pháp điều trị mới cho BN UTBMĐTT đạt được nhiều tiến bộ trong việc cải thiện triệu chứng và thời gian sống thêm. Tuy vậy, đáp ứng điều trị và diễn biến lâm sàng ở các BN vẫn còn hạn chế và không đồng nhất, phụ thuộc nhiều vào giai đoạn bệnh và đặc điểm sinh học của từng khối u. Các đặc điểm mô bệnh học (MBH) của mô cơ bản u như tít mô học, độ biệt hóa, mức độ xâm lấn của u... là các yếu tố kinh điển trong phân loại giai đoạn, lựa chọn phương pháp điều trị cũng như tiên lượng bệnh. Bên cạnh đó, nhiều nghiên cứu cũng cho thấy yếu tố vi môi trường quanh tế bào u cũng đóng vai trò quan trọng trong sự hình thành và phát triển UTBMĐTT ở tất cả các giai đoạn [2]. Các mức độ đáp ứng miễn dịch của cơ thể với khối u

khác nhau cũng ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị cho BN [3]. Tình trạng TILs vùng rìa mô u, một biểu hiện của đáp ứng miễn dịch của cơ thể với khối u, gần đây được chứng minh là yếu tố tiên lượng độc lập ở nhiều loại ung thư, trong đó có UTBMĐTT [4]. Những nghiên cứu đánh giá đặc điểm này ở BN UTBMĐTT tại Việt Nam còn hạn chế. Chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm: *Xác định tỷ lệ xâm nhiễm lympho vùng rìa mô u và mối liên quan với các đặc điểm giải phẫu bệnh ở BN UTBMĐTT.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

131 BN UTBMĐTT được phẫu thuật tại Bệnh viện Quân y 103, từ tháng 01/2020 - 11/2021.

* *Tiêu chuẩn lựa chọn:* BN được chẩn đoán xác định là UTBMĐTT bằng xét nghiệm MBH trên bệnh phẩm phẫu thuật; BN chưa được hóa xạ trị trước phẫu thuật, không mắc ung thư ở cơ quan khác; BN có đủ thông tin hồ sơ bệnh án, tiêu bản lưu trữ đảm bảo chất lượng.

2. Phương pháp nghiên cứu

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

* *Phương pháp chọn mẫu:* Lấy mẫu toàn bộ và có chủ đích, chọn mẫu thỏa mãn các tiêu chuẩn lựa chọn vào nghiên cứu. Các chỉ tiêu được thu thập theo mẫu thống nhất.

* *Phương pháp tiến hành:*

- Lựa chọn BN đáp ứng tiêu chuẩn, thu thập các thông tin lâm sàng.

- Các tiêu bản phẫu tích bệnh phẩm khối u nhuộm Hematoxylin Eosin (HE) không kèm thông tin liên quan, được đọc bởi hai bác sĩ độc lập, đối chiếu kết quả sau khi đọc, các trường hợp có kết quả khác nhau được hội chẩn và thống nhất lại.

- Đánh giá tỷ lệ TILs: Theo khuyến cáo của nhóm làm việc quốc tế về TILs (the International TILs Working Group - ITWG) năm 2014 [5].

+ Vùng đánh giá: Vùng rìa u được định nghĩa là vùng mô có độ dày 1mm với đường trung tâm là đường ranh giới giữa tế bào u với tổ chức lành ở diện xâm lấn sâu nhất [6].

+ Không đánh giá TILs ở vùng trung tâm khối u, vùng ung thư tại chỗ, loét sản, hoại tử, xơ hóa và vùng tổ chức viêm ngoài ranh giới u.

+ Các tế bào đánh giá TILs là các tế bào viêm đơn nhân (lympho bào và tương bào), không tính tới bạch cầu đa nhân các loại.

+ TILs là tỷ lệ phần trăm của vùng mô đệm u bị xâm nhiễm bởi các tế bào viêm

đơn nhân so với toàn bộ mô đệm. Ví dụ: Tỷ lệ TILs là 60% tức là 60% mô đệm u xâm nhiễm bởi các tế bào viêm đơn nhân.

+ Tỷ lệ TILs được làm tròn tới 5% gần nhất, tỷ lệ được ước lượng dựa trên tỷ lệ trung bình của toàn bộ vùng diện xâm lấn sâu nhất của u, không phải chỉ ở vùng có tỷ lệ lớn nhất.

- Đánh giá các đặc điểm MBH khác theo phân loại của Tổ chức Y tế Thế giới năm 2019.

* *Chỉ tiêu nghiên cứu:* Độ tuổi, giới tính, đặc điểm GPB gồm vị trí u, kích thước u (cm), tít MBH, độ mô học, tình trạng xâm lấn (pT), u xâm nhập mạch, xâm nhập thần kinh, di căn hạch, giai đoạn bệnh và tỷ lệ TILs.

* *Xử lý số liệu:* Phân tích dữ liệu bằng phần mềm thống kê SPSS 22.0, vẽ biểu đồ bằng phần mềm Microsoft Office 365. Sử dụng kiểm định Mann Whitney và Kruskal-Wallis để đánh giá liên quan giữa các biến. Giá trị $p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tuân thủ chặt chẽ các quy định về mặt y đức. Các thông tin thu thập trong nghiên cứu được bảo mật. Nghiên cứu nhằm nâng cao hiệu quả chẩn đoán và điều trị, không dùng cho mục đích khác. Việc nghiên cứu không ảnh hưởng đến sức khỏe và lợi ích của bệnh nhân. Số liệu trong nghiên cứu được Bệnh viện Quân y 103 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

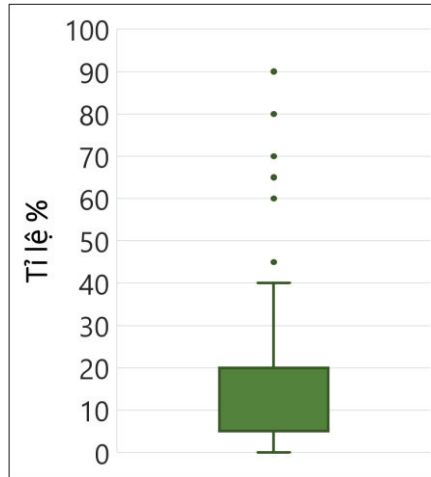
131 BN UTBMĐTT có đặc điểm tuổi, giới tính và các đặc điểm giải phẫu bệnh như sau:

Bảng 1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu.

Chỉ tiêu nghiên cứu		Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Tuổi	$\bar{X} \pm SD$ (min - max)	62,7 ± 14,1 (20 - 91)	
	< 60	49	37,4
	≥ 60	82	62,6
Giới tính	Nữ	40	30,5
	Nam	91	69,5
Vị trí u	Đại tràng phải	39	29,8
	Đại tràng trái	49	37,4
	Trực tràng	43	32,8
Kích thước u ($\bar{X} \pm SD$) (min - max)		4,26 ± 2,06 (1,0 - 12,0)	
Týp MBH	UTBM tuyến thông thường	117	89,3
	UTBM tuyến nhày	12	9,2
	UTBM tế bào nhẵn	2	1,5
Độ mô học (n = 117)	Độ 1 (biệt hóa cao)	32	27,4
	Độ 2 (biệt hóa vừa)	76	65,0
	Độ 3 (biệt hóa kém)	9	7,7
Xâm lấn (pT)	T1	4	3,1
	T2	23	17,6
	T3	67	51,1
	T4	37	28,2
Di căn hạch	N0	81	61,8
	N1	37	28,3
	N2	13	9,9
Xâm nhập mạch	Không	88	67,2
	Có	43	32,8
Xâm nhập thần kinh	Không	99	75,6
	Có	32	24,4
Giai đoạn bệnh	Giai đoạn I	22	16,8
	Giai đoạn II	65	49,6
	Giai đoạn III	44	33,6

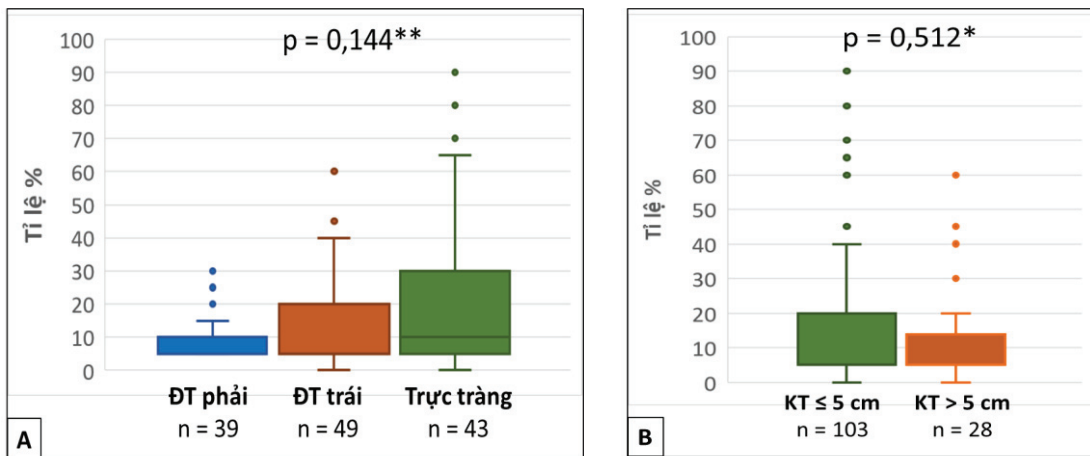
Tuổi trung bình của nhóm BN là 62,7 ± 14,1. BN > 60 tuổi chiếm 62,6%. BN nam chiếm đa số với tỷ lệ nam/nữ là 2,3/1. Về đặc điểm GPB: U gặp nhiều ở đại

tràng trái (37,4%) với kích thước trung bình $4,26 \pm 2,06\text{cm}$, UTBM tuyến tụy thông thường và biệt hóa vừa là chủ yếu (89,3% và 65,0%). Phần lớn BN có mức độ xâm lấn sâu T3 và T4 (51,1% và 28,2%).



Biểu đồ 1. Phân bố tỷ lệ TILs trong UTBMĐTT.

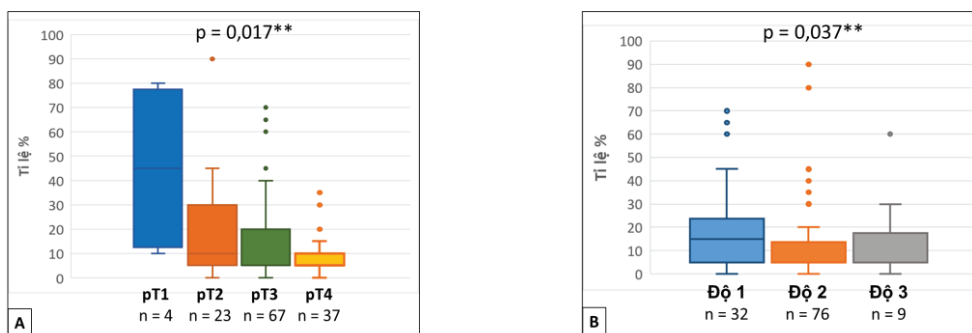
Tỷ lệ TILs của nhóm BN UTBMĐTT thay đổi từ 0 - 90%, giá trị trung bình $14,96 \pm 17,5\%$, trung vị là 5%, đa số BN có tỷ lệ TILs < 20% (75%).



Biểu đồ 2. Mối liên quan giữa tỷ lệ TILs với vị trí u (A) và kích thước u (B).

*: Kiểm định Mann-Whitney; **: Kiểm định Kruskal-Wallis.

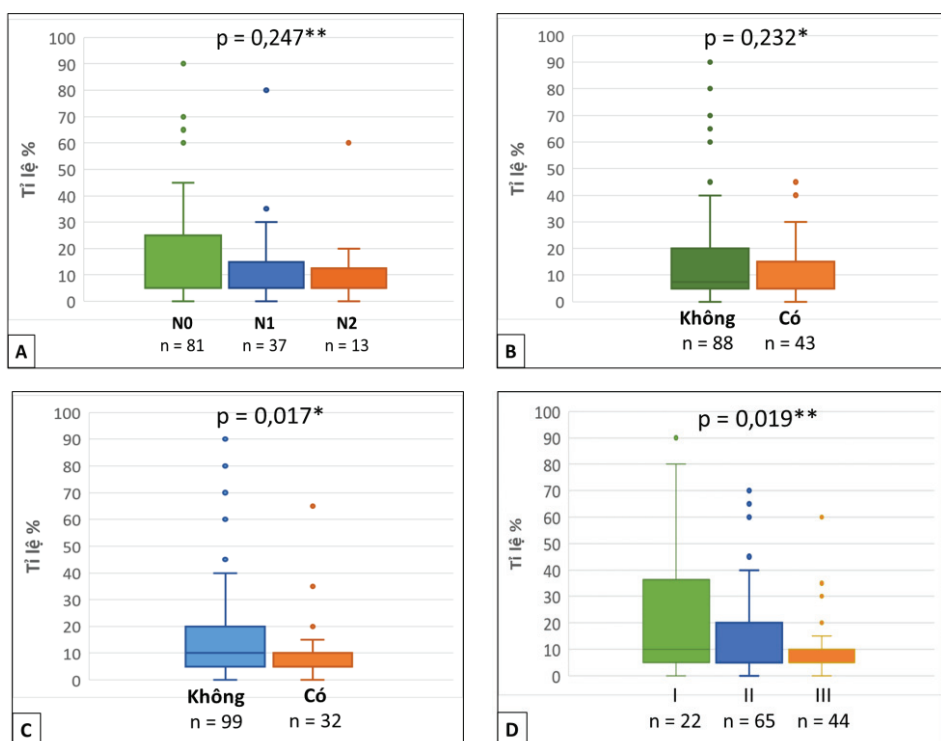
Không có mối liên quan giữa tỷ lệ TILs trong UTBMĐTT với các đặc điểm vị trí u và kích thước u ($p > 0,05$).



Biểu đồ 3. Mối liên quan giữa tỷ lệ TILs với mức độ xâm lấn (A) và độ mô học (B).

**· Kiểm định Kruskal-Wallis.

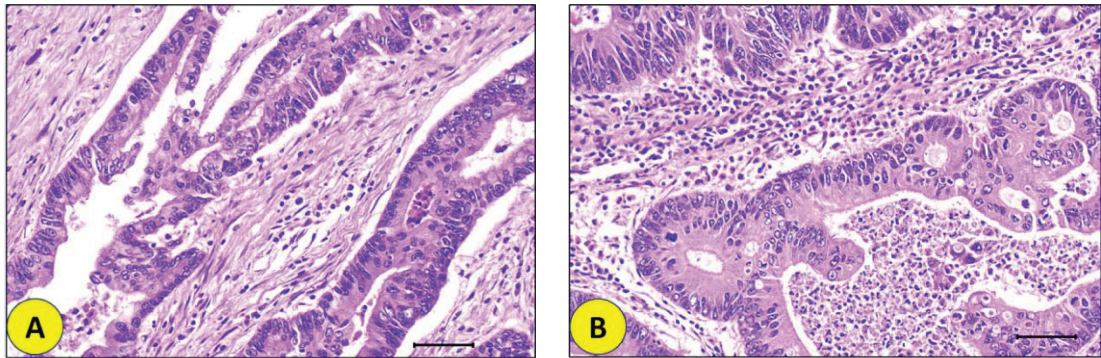
Có sự khác biệt giữa tỷ lệ TILs ở các u có độ xâm lấn khác nhau và độ mô học khác nhau, tỷ lệ TILs cao gặp ở các BN có u ít xâm lấn ($p = 0,017$) và có độ mô học thấp ($p = 0,037$).



Biểu đồ 4. Mối liên quan giữa tỷ lệ TILs với đặc điểm di căn hạch (A), xâm nhập mạch (B), xâm nhập thần kinh (C) và giai đoạn bệnh (D).

**· Kiểm định Kruskal-Wallis; *· Kiểm định Mann-Whitney.

Tỷ lệ TILs cao liên quan có ý nghĩa với các đặc điểm u không xâm nhập thân kinh ($p = 0,017$) và BN ở giai đoạn sớm ($p = 0,019$).



Hình 1. Xâm nhiễm lympho trong diện xâm lấn ở các mức độ khác nhau.

A: 10%; B: 90% (nhuộm HE, 200x).

BÀN LUẬN

1. Đặc điểm về tuổi, giới tính và vị trí u

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy độ tuổi trung bình của nhóm BN là $62,7 \pm 14,1$, nhỏ nhất là 20 tuổi và lớn nhất là 91 tuổi, nhóm tuổi gặp nhiều nhất là > 60 (62,6%). BN nam mắc nhiều hơn so với nữ. Kết quả này của chúng tôi phù hợp với nhiều nghiên cứu trong và ngoài nước trước đây. UTBMĐTT gặp ưu thế ở nam giới và ở nhóm BN > 60 tuổi, đặc biệt là độ tuổi 60 - 69 tuổi.

Về vị trí khối u, đại tràng trái là vị trí thường gặp nhất (37,4%), sau đó là trực tràng (32,8%). Nhiều nghiên cứu khác cũng cho kết quả tương tự, UTBMĐTT thường gặp nhất ở các vị trí trực tràng, đại tràng Sigma, manh tràng. Sự khác

biệt về vị trí u có thể do sự khác nhau về đặc điểm phân tử, môi trường vi khuẩn tại chỗ và phân bố mạch máu giữa các vị trí.

2. Đặc điểm mô bệnh học

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy phần lớn UTBMĐTT thuộc tít tuyến thông thường (89,3%), sau đó là ung thư biểu mô tuyến nhày (9,2%). Đây cũng là hai tít MBH thường gặp nhất theo các nghiên cứu trong và ngoài nước. Độ mô học của u được chứng minh là yếu tố tiên lượng độc lập ở nhiều loại u khác nhau, trong đó có UTBMĐTT. Các u có độ mô học cao có tỷ lệ di căn hạch cao hơn và di căn xa sớm hơn. Việc phân độ mô học đối với tít tuyến nhày phụ thuộc vào tình trạng mất ổn định vi vệ tinh, nếu tế bào u có biểu hiện mất ổn định vi vệ tinh độ cao

thì u có độ mô học thấp hơn, tiên lượng tốt hơn so với nhóm còn lại. Chúng tôi cũng nhận thấy phần lớn các u có mức độ xâm lấn sâu, tới lớp cơ và sâu hơn nữa (T3, T4) với tỷ lệ tới 79,3%.

Xâm nhập mạch, xâm nhập thần kinh là hai đặc điểm MBH có ý nghĩa tiên lượng ở UTBMĐTT. Nhiều nghiên cứu trước đây đã cho thấy trên các khối u có hình ảnh xâm nhập mạch, thần kinh thì nguy cơ di căn hạch cao hơn, đáp ứng điều trị kém cũng như thời gian sống thêm thấp hơn. Xâm nhập mạch và thần kinh còn liên quan có ý nghĩa với đặc điểm khác, gồm kích thước u lớn, xâm lấn sâu và độ mô học cao. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ xâm nhập mạch và thần kinh lần lượt là 32,8% và 24,4%. Kết quả này tương đồng với nhiều nghiên cứu trước đó.

3. Tỷ lệ xâm nhiễm lympho và mối liên quan với đặc điểm MBH

Vi môi trường khối u là môi trường nơi tế bào u phát triển, đồng thời cũng là môi trường diễn ra quá trình đáp ứng chống lại tế bào u của cơ thể. Một trong những biểu hiện phản ánh đáp ứng miễn dịch chống u là tình trạng xâm nhiễm lympho ở vi môi trường u. Các nghiên cứu đã cho thấy TILs đóng vai trò quan trọng trong ức chế sự phát triển của tế bào u, giúp nâng cao hiệu quả của liệu pháp miễn dịch điều trị ung thư [7]. Tỷ lệ TILs cao liên quan với kéo dài

thời gian sống thêm toàn bộ ở BN UTBMĐTT. Fuchs TL và CS nghiên cứu trên 1.034 BN cho thấy thời gian sống thêm trung bình ở nhóm TILs cao, trung bình và thấp lần lượt là 75 tháng, 67 tháng và 53 tháng ($p = 0,0001$) [5]. Các tế bào lympho xâm nhiễm trong mô u bao gồm một quần thể đa dạng các loại lympho như lympho T, lympho B và tế bào NK. Tùy thuộc thành phần tế bào viêm nào chiếm ưu thế trong vi môi trường sẽ biểu hiện các hoạt động chống lại khối u khác nhau. Ngoài ra, phản ứng của cơ thể ở các vị trí u khác nhau cũng không giống nhau, đối với BN UTBMĐTT, TILs trong mô đệm vùng rìa u có giá trị tiên lượng tốt hơn so với vùng trung tâm u [6]. TILs còn phụ thuộc vào tình trạng BN, vị trí u nguyên phát hay di căn, các biện pháp điều trị trước phẫu thuật. Do đó, để đảm bảo tỷ lệ TILs phản ánh đúng phản ứng ban đầu của cơ thể với khối u, đảm bảo tính đồng nhất của nhóm nghiên cứu, chúng tôi chỉ lựa chọn các BN có UTBMĐTT nguyên phát, được phẫu thuật điều trị triệt căn mà không có hóa xạ trị tân bổ trợ trước đó.

Có nhiều phương pháp dùng để đánh giá tình trạng xâm nhiễm lympho, tùy vào từng loại u khác nhau. Một hệ thống được sử dụng khá phổ biến là thang điểm Klintrup Makinen. Theo đó, sự xâm nhiễm các tế bào miễn dịch trong u được chia thành thang từ 0 - 3 điểm,

từ không hiện diện tế bào viêm đến viêm nổi bật trong u. Nghiên cứu trên 229 BN UTBMĐTT, Klintrup và CS nhận thấy rằng tỷ lệ BN sống sau 5 năm ở nhóm xâm nhiễm viêm độ cao (độ 3 và 4) cao hơn nhiều so với nhóm xâm nhiễm viêm độ thấp (87,6% so với 47%) [8]. Năm 2014, nhóm ITWG đưa ra cách tiếp cận chuẩn hóa về đánh giá TILs trên tiêu bản nhuộm HE cho ung thư vú và sau đó phương pháp này được đề xuất áp dụng cho nhiều loại ung thư mô đặc khác nhau, trong đó có UTBMĐTT [9]. Phương pháp này tương đối đơn giản, trực quan, dễ thực hiện và cho kết quả chi tiết. Hệ thống này cũng khuyến cáo đánh giá TILs ở diện xâm lấn rìa u riêng biệt với TILs bên trong khối u, trong đó, TILs bên trong khối u thường có số lượng ít hơn, tính đồng nhất kém hơn. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp của ITWG, kết quả cho thấy đa số BN có tỷ lệ TILs thấp với trung vị là 5% và 3/4 số trường hợp có TILs < 20%. Tỷ lệ TILs cao liên quan có ý nghĩa với các yếu tố mô bệnh học tiên lượng tốt hơn, bao gồm mức độ u xâm lấn (pT) thấp, độ mô học thấp hơn (biệt hóa cao hơn), giai đoạn bệnh sớm hơn và không có xâm nhập thần kinh. Nghiên cứu của Fuchs TL và CS cũng cho thấy kết quả tương tự [5]. Park JH và CS nghiên cứu các đặc điểm vi môi trường u trên 331 BN UTBMĐTT nhận thấy phần lớn BN

có tỷ lệ TILs thấp, tỷ lệ TILs giảm dần theo mức độ u xâm lấn (pT), tỷ lệ sống 5 năm ở BN có TILs cao cũng cao hơn đáng kể [9]. Do đó, đánh giá tỷ lệ TILs cũng có ý nghĩa quan trọng giúp tiên lượng BN UTBMĐTT ở các giai đoạn khác nhau.

KẾT LUẬN

Đánh giá tình trạng xâm nhiễm lympho (TILs) vùng rìa mô UTBMĐTT trên 131 BN thu được kết quả: Tỷ lệ TILs trung bình là $14,96 \pm 17,5\%$, trung vị là 5%, tỷ lệ BN có TILs < 20% chiếm đa số (75%); tỷ lệ TILs cao liên quan có ý nghĩa với các yếu tố tiên lượng tốt gồm giai đoạn pT thấp, độ mô học thấp, giai đoạn bệnh sớm và không có xâm nhập thần kinh.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn các BN đã tham gia nghiên cứu và Bệnh viện Quân y 103 đã tạo điều kiện để nghiên cứu được thực hiện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2024; 74(3):229-263.
2. Li J, Chen D, and Shen M. Tumor microenvironment shapes colorectal cancer progression, metastasis, and treatment responses. *Front Med*. 2022;9.

3. Bell PD and Pai RK. Immune response in colorectal carcinoma: A review of its significance as a predictive and prognostic biomarker. *Histopathology*. 2022; 81(6):696-714.
4. Hendry S, Salgado R, Gevaert T, et al. Assessing tumor infiltrating lymphocytes in solid tumors: A practical review for pathologists and proposal for a standardized method from the International Immunology Biomarkers Working Group. *Adv Anat Pathol*. 2017; 24(6):311-335.
5. Fuchs TL, Sioson L, Sheen A, et al. Assessment of tumor-infiltrating lymphocytes using international tils working group (ITWG) system is a strong predictor of overall survival in colorectal carcinoma: A study of 1034 patients. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2020; 44(4):536.
6. Hendry S, Salgado R, Gevaert T, et al. Assessing tumor-infiltrating lymphocytes in solid tumors: A practical review for pathologists and proposal for a standardized method from the international immunooncology biomarkers working group: Part 1: Assessing the host immune response, TILs in invasive breast carcinoma and ductal carcinoma in situ, metastatic tumor deposits and areas for further research. *Advances in Anatomic Pathology*. 2017; 24(5):235-251.
7. Bai Z, Zhou Y, Ye Z, et al. Tumor-Infiltrating lymphocytes in colorectal cancer: The fundamental indication and application on immunotherapy. *Front Immunol*. 2022; 12.
8. Klintrup K, Mäkinen JM, Kauppila S, et al. Inflammation and prognosis in colorectal cancer. *Eur J Cancer*. 2005; 41(17):2645-2654.
9. Park JH, Van Wyk H, Roxburgh CSD, et al. Tumour invasiveness, the local and systemic environment and the basis of staging systems in colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2017; 116(11): 1444-1450.