

MỐI LIÊN QUAN GIỮA BIỂU HIỆN CỦA HEXOKINASE 2 VÀ VIRUS EPSTEIN-BARR TRONG U LYMPHO TẾ BÀO NK/T

Trần Tín Nghĩa^{1,2}, Nguyễn Thủy Tiên¹, Nguyễn Kim Đồng¹, Nguyễn Hữu Quốc¹
Nguyễn Thị Thanh Mai³, Nguyễn Đình Thạch³, Mai Xuân Thu⁴, Trần Văn Khánh¹
và Nguyễn Hoàng Việt^{1,✉}

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

³Bệnh viện K3 Tân Triều

⁴Viện Chiến lược và Chính sách Y tế

U lympho tế bào diệt tự nhiên/tế bào T (NK/TL) là một loại ung thư nguy hiểm hiếm gặp bắt nguồn từ sự biến đổi của tế bào diệt tự nhiên và tế bào T, tỷ lệ xuất hiện phổ biến tại các khu vực châu Á. Yếu tố nguy cơ của NK/TL là virus Epstein-Barr (EBV), một thành viên của họ herpesvirus. Biểu hiện của enzym Hexokinase 2 (HK2) từ lâu đã được chứng minh có vai trò trong quá trình đường phân và tăng sinh khối u ở một số bệnh ung thư. Nghiên cứu của chúng tôi được thực hiện trên 22 bệnh nhân được chẩn đoán mắc NK/TL nhằm tìm hiểu mối liên quan giữa HK2 và EBV trong sự phát triển của khối u. Biểu hiện của HK2 được thực hiện bằng kỹ thuật hóa mô miễn dịch (IHC); nồng độ EBV được xác định bằng phương pháp Realtime PCR. Kết quả cho thấy rằng 16 trong số 22 đối tượng nghiên cứu (72,7%) biểu hiện HK2 và có sự khác biệt đáng kể về nồng độ EBV giữa các khối u không biểu hiện HK2 và các khối u biểu hiện HK2 ($p = 0,02$). Kết quả nghiên cứu có ý nghĩa quan trọng và cho thấy cần có những nghiên cứu sâu hơn để làm rõ mối liên hệ giữa EBV và sự biểu hiện của HK2 trong cơ chế hình thành khối u NKTL.

Từ khóa: Hexokinase 2, Virus Epstein-Barr, u lympho tế bào tiêu diệt tự nhiên/tế bào T.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

U lympho là một loại ung thư bắt nguồn từ sự biến đổi của các tế bào lympho của hệ thống miễn dịch. Do đó, khối u có thể phát triển ở nhiều bộ phận và ảnh hưởng đến các cơ quan trong toàn bộ cơ thể. Việc phân loại bệnh có thể phụ thuộc vào loại tế bào lympho có liên quan. Trong đó, u lympho tế bào diệt tự nhiên/tế bào T (NK/TL) liên quan đến sự phát triển bất thường của tế bào tiêu diệt tự nhiên và tế bào T và được phân loại trong nhóm u lympho không Hodgkin. Mặc dù phát triển nhanh chóng và xâm lấn, căn bệnh này rất hiếm gặp trên thế

giới và phổ biến hơn ở một số vùng địa lý, đặc biệt là các khu vực của châu Á.¹

Virus Epstein-Barr (EBV) là virus thuộc họ herpesvirus và được coi là một trong những yếu tố nguy cơ có liên quan tới nhiều loại ung thư như u lympho Burkitt, ung thư biểu mô vòm họng (NPC) hoặc u lympho Hodgkin, u lympho tế bào B lớn lan toả.^{2,3} Những nghiên cứu ở các quốc gia Châu Á như Nhật Bản, Trung Quốc, Hàn Quốc đã chỉ ra tỷ lệ nhiễm EBV trên u lympho tế bào NK/T là rất cao và EBV cũng được xem là một yếu tố nguy cơ liên quan đến NK/TL mặc dù cơ chế gây bệnh vẫn chưa được hiểu rõ.^{4,5}

Hexokinase là một enzym cần thiết cho quá trình trao đổi chất, chịu trách nhiệm phosphoryl hóa glucose trong quá trình đường phân, tạo đường cũng như các quá trình khác.

Tác giả liên hệ: Nguyễn Hoàng Việt

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: hoangviet@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 06/03/2023

Ngày được chấp nhận: 03/04/2023

Hexokinase bao gồm bốn đồng phân (HK1, 2, 3, 4) và mỗi dạng có thể được biểu hiện trong các cơ quan hoặc mô khác nhau, có ái lực khác nhau với chất nền là glucose.⁶ Hexokinase 2 (HK2) có ái lực cao với glucose nhưng bị ức chế bởi sự dư thừa glucose trong các trường hợp thông thường; enzym này được tìm thấy chủ yếu trong các mô nhạy cảm với insulin như mỡ, cơ xương và cơ tim.⁷ Tuy nhiên, HK2 có thể được biểu hiện quá mức ở một số loại ung thư và trong một số trường hợp HK2 chi phối chức năng thông thường của HK4.⁷ Lượng HK2 tăng cao phù hợp với nhu cầu năng lượng cần cho sự phát triển của khối u khi được tạo ra bằng cách tăng đường phân. Hơn nữa, trong môi trường thiếu oxy, sự kìm hãm quá trình dịch mã nhằm để dự trữ năng lượng; tuy nhiên, trong u lympho tế bào B lớn lan tỏa, quá trình dịch mã và biểu hiện một số gen nhất định bao gồm cả HK2 vẫn xảy ra, ngay cả trong tình trạng thiếu oxy.⁸ HK2 được cho là có liên quan đến sự tái lập trình trao đổi chất trong sự phát triển của khối u. Điều đó cho thấy HK2 có nhiều tiềm năng trong chẩn đoán cũng như điều trị ung thư.

Hiện nay chưa có một nghiên cứu nào đánh giá sự liên quan giữa virus EBV và sự biểu hiện của Hexokinase-2 để làm rõ quá trình hình thành và phát triển của u lympho tế bào NK/T. Chúng tôi tiến hành nghiên cứu này để kiểm tra sự biểu hiện của HK2 bằng cách sử dụng kỹ thuật hóa mô miễn dịch (IHC) và đo nồng độ EBV trong khối u NK/TL bằng kỹ thuật Realtime PCR, nhằm mục đích xác định mối liên hệ giữa các yếu tố này trong NK/TL.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

22 trường hợp bệnh nhân đã được chẩn đoán tại Bệnh viện Ung bướu Trung ương và Đại học Y Hà Nội từ năm 2019 đến năm 2022. Chẩn đoán NK/TL được dựa trên tiêu chuẩn

lâm sàng cùng với kết quả nhuộm hóa mô miễn dịch và theo phân loại của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) năm 2017. Tất cả các mẫu cho nghiên cứu này được thu thập trước khi tiến hành điều trị và được chẩn đoán mắc mới NK/TL.

2. Phương pháp

Tách chiết DNA

Sau khi tiến hành thu thập mẫu mô sinh thiết NK/TL và bảo quản theo điều kiện tiêu chuẩn, những mẫu mô này sẽ được cắt thành các lát mỏng có độ dày khoảng 10µm và được thu thập trong ống eppendorf 1,5mL. Sau đó những mẫu mô này được tách chiết DNA bằng cách phân cắt protein sử dụng 20µL Proteinase K và tinh sạch DNA qua cột lọc gắn màng silica theo hướng dẫn của nhà sản xuất được cung cấp trong bộ kit QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (QIAGEN, 56404). Các mẫu DNA sau tách chiết được bảo quản ở -20°C cho đến khi được sử dụng.

Đo số bản sao EBV

EBV trong các mô khối u được phát hiện và đo bằng kỹ thuật Realtime PCR sử dụng bộ kit GeneProof Epstein-Barr Virus (EBV) PCR kit nhắm đến gen đích là *EBNA1*, theo quy trình khuyến cáo của nhà sản xuất. Các chuẩn dương của số bản sao EBV được cung cấp trong bộ với phạm vi từ 10^2 đến 10^7 . Các phản ứng được thực hiện và phân tích bằng hệ thống QuantStudio 3 Real-time trong các điều kiện: hoạt hóa ở 50°C trong 2 phút, biến tính ở 95°C trong 10 phút và 42 chu kỳ ở 95°C trong 15 giây, 60°C trong 50 giây. Số bản sao EBV trong các mô khối u được tính trên đơn vị microgram DNA (bản sao/µg DNA) dựa vào số bản sao tính toán được trong phản ứng Realtime PCR (đơn vị là bản sao/µL) và nồng độ DNA của mẫu thu được (đơn vị là ng DNA/µL).

Hóa mô miễn dịch (IHC)

Sự biểu hiện của HK2 trong các mẫu mô NK / TL được đánh giá bằng phương pháp hóa mô miễn dịch (IHC) bằng bộ dụng cụ phát

hiện UltraView Universal DAB (Ventana, USA). Các mẫu mô đúc nền NK / TL được cắt thành các phần dày 4µm, khử parafin bằng EZ prep (Ventana, Hoa Kỳ). Bước bóc lộ kháng nguyên được xử lý bằng dung dịch CC1 (Ventana, USA) trong 60 phút ở 95°C và sau đó được block bằng peroxidase nội sinh. Sau đó, các mẫu được nhúng vào kháng thể Anti-Hexokinase II (pha loãng 1:250, Abcam) trong 32 phút ở 37°C. Các đối chứng âm và dương cũng được nhuộm màu theo khuyến nghị của nhà sản xuất. Sau khi rửa bằng PBS, các mẫu được ủ với Goat Anti-Mouse IgG H&L (HRP) và sau đó được biểu thị bằng ultraView Universal hydrogen peroxide (Ventana, USA) và ultraView Universal DAB (Ventana, USA) trong 8 phút ở 37°C. DAB được làm rõ màu bằng cách bổ sung ultraView Universal Copper (Ventana, USA) trong 4 phút ở 37°C trước khi mẫu được nhuộm bằng hematoxylin II (Ventana, USA) và sau đó được ủ với Bluing Reagent (Ventana, USA) trong cùng một điều kiện. Các mẫu được rửa sạch bằng hỗn hợp nước - chất tẩy rửa, khử nước bằng các nồng độ ethanol khác nhau, làm sạch bằng xylene, được bao phủ bởi Richard-Allan Scientific Mounting Medium (ThermoFisher Scientific, USA), đậy nắp thủ công và cuối cùng được quan sát dưới kính hiển vi.

III. KẾT QUẢ

1. Đặc điểm chính của đối tượng nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm chính của đối tượng nghiên cứu

Tuổi (Trung bình ± SD)	45 ± 12,04
Giới tính	
Nam	18 (81,8%)
Nữ	4 (18,2%)
Vị trí chính của khối u	
Trong khoang mũi	11 (50%)

Tổng cộng, 22 mẫu NK/TL đã được quan sát và đánh giá. HK2 được biểu hiện trên tế bào chất của tế bào u lympho. Mức độ biểu hiện HK2 được đánh giá bằng cường độ màu nhuộm của các tế bào u lympho. Cường độ phản ứng miễn dịch được phân thành 4 cấp độ: Âm tính (-), dương tính yếu (+), dương tính trung bình (++) và dương tính mạnh (+++). Tổng cộng có 22 mẫu được đánh giá bởi 2 chuyên gia giải phẫu bệnh học độc lập của Trường Đại học Y Hà Nội sau khi đánh mù mã số. Không có kết quả mâu thuẫn giữa 2 chuyên gia.

Xử lý số liệu

Sự khác biệt về nồng độ EBV dựa trên mức độ biểu hiện HK2 ở các mô NK/TL được kiểm định bằng phương pháp Mann-Whitney test. Sự khác biệt về tỷ lệ dương tính, âm tính của EBV dựa trên phân loại mức độ biểu hiện của HK2 được kiểm định bằng phương pháp Fisher's. Tất cả các phép tính được xử lý bằng phần mềm GraphPad Prism 8 (San Diego, Mỹ), $p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu đã được thực hiện và được phê duyệt bởi hội đồng đạo đức Trường Đại học Y Hà Nội theo số 26/ HMUIRB vào ngày 01/7/2019.

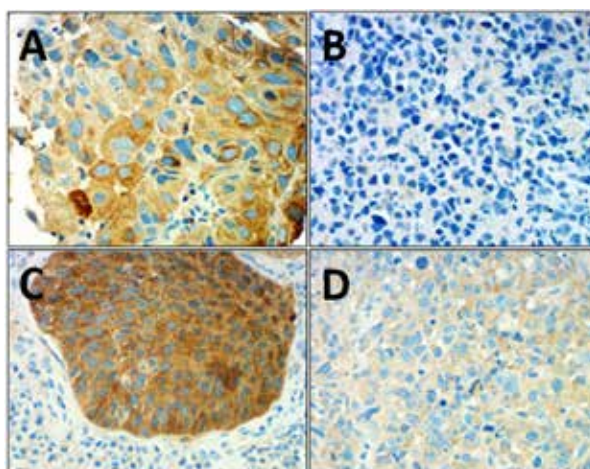
Vị trí chính của khối u

Ngoài khoang mũi, trong đường hô hấp - tiêu hóa trên	6 (27,3%)
Ngoài đường hô hấp - tiêu hóa trên	5 (22,7%)
Tổng số mẫu	22

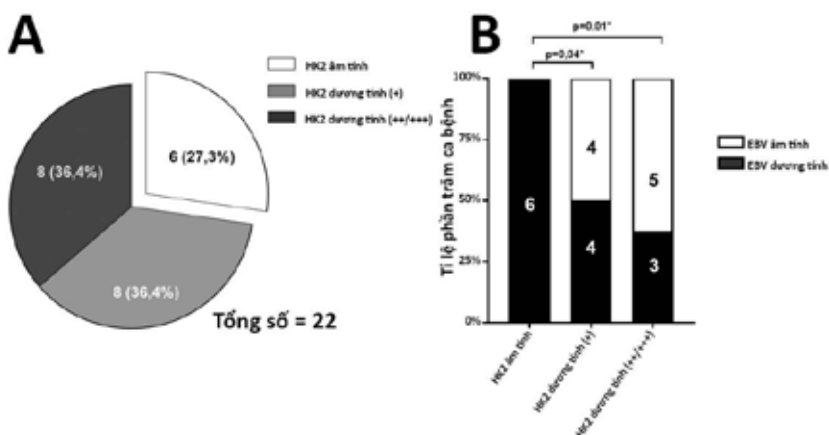
Trong 22 đối tượng nghiên cứu, chiếm chủ yếu là nam giới với 81,8%, còn lại là nữ giới với 18,2%. Tuổi trung bình của đối tượng tham gia nghiên cứu là $45 \pm 12,04$. Trong số đó, chúng tôi thu thập 11 mẫu (50%) có khối u có vị trí ở vùng khoang mũi, 6 mẫu (27,3%) khối u nằm

ngoài khoang mũi, trong đường hô hấp - tiêu hóa trên và 5 mẫu (22,7%) khối u nằm ngoài đường hô hấp - tiêu hóa trên. Tất cả các đặc điểm của đối tượng nghiên cứu được mô tả trong Bảng 1.

2. Mức độ biểu hiện HK2 trong các mô NK/TL



Hình 1. Hình ảnh biểu hiện protein HK2 trong mô NK/TL bằng nhuộm hóa mô miễn dịch. A. Đối chứng dương: HK2 được phát hiện trong mô ung thư biểu mô phổi ở người. B. Đối chứng âm: Mô NK/TL được nhuộm trong cùng điều kiện nhưng không có kháng thể kháng HK2. C. Biểu hiện HK2 cao trong mô NK/TL. Và D. Biểu hiện HK2 thấp trong mô NK/TL. Độ phóng đại x200 ở các hình

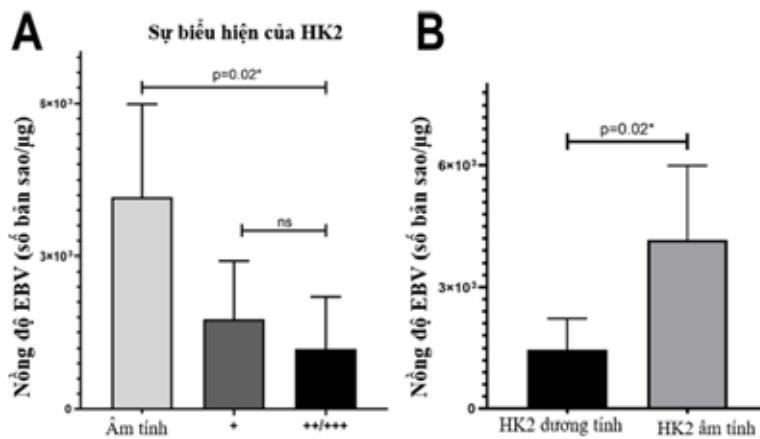


Hình 2. Đánh giá biểu hiện HK2 và tỷ lệ nhiễm EBV ở 22 mô NK/TL

Trong tổng số 22 mẫu khối u, kết quả nhuộm hóa mô miễn dịch cho thấy biểu hiện HK2 dương tính được tìm thấy ở 16/22 (72,7%) số bệnh nhân, trong khi 6/22 (27,3%) ca bệnh có biểu hiện âm tính (Hình 2A). Qua đánh giá mức độ biểu hiện của HK2 thì phát hiện 8/16 ca dương tính ở mức độ thấp (+) và 8/16 ca dương tính ở mức độ trung bình trở lên (++)/+++ Trong tổng số 22 mẫu nghiên cứu, kết quả cho thấy rằng toàn bộ 6 mẫu khối u không có biểu hiện HK2 thì dương tính 100% với EBV. Trong khi đó 16 khối u có biểu hiện HK2 dương tính thì có tới 9

mẫu âm tính với EBV (56,25%). Với 8 mẫu khối u biểu hiện HK2 dương tính (+) thì có tới 4/8 (50%) mẫu âm tính với EBV, còn lại 8 mẫu khối u có biểu hiện HK2 dương tính (++)/+++ thì có 5/8 (62,5%) mẫu âm tính với EBV. Sự khác biệt giữa tỷ lệ nhiễm EBV và mức độ biểu hiện HK2 âm tính và HK2 có biểu hiện yếu (+) và HK2 có biểu hiện trung bình/ mạnh (++)/+++ có sự khác biệt ý nghĩa thống kê lần lượt với $p = 0,04$ và $p = 0,01$ (Hình 2B).

2. Tương quan giữa biểu hiện HK2 và EBV trong khối u



Hình 3. Tương quan giữa nồng độ EBV (bản sao/ μg DNA) và biểu hiện HK2 trong NK/TL.

Biểu hiện HK2 bằng hóa mô miễn dịch được phân ra thành các nhóm biểu hiện dương tính và âm tính (Hình 2). Tất cả 22 đối tượng nghiên cứu được chia thành 2 nhóm dựa trên biểu hiện HK2, HK2 Dương tính và HK2 Âm tính, sau đó so sánh dựa trên nồng độ EBV (bản sao/ μg DNA). Trong nhóm dương tính với HK2, các mô khối u có 2 phân nhóm chính biểu thị dương tính yếu (+) và dương tính trung bình/mạnh với (++)/+++). Kết quả cho thấy nồng độ EBV ở khối u với biểu hiện HK2 trung bình / mạnh thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với những khối u không có biểu hiện HK2 ($p = 0,02$) tuy nhiên nồng độ EBV có xu hướng giảm không có khác biệt thống kê khi biểu hiện HK2 yếu ($p > 0,05$)

(Hình.3A). Mặt khác, nồng độ EBV trong khối u có khác biệt thống kê ở các mẫu u có biểu hiện dương tính với HK2 so với các mô không có sự biểu hiện của HK2 ($p = 0,02$) (Hình 3B).

III. BÀN LUẬN

EBV được cho là yếu tố nguy cơ cao liên quan đến nhiều loại ung thư, mặc dù cơ chế gây bệnh vẫn chưa được làm rõ. Tuy nhiên, EBV có thể gây ra sự tái lập trình trao đổi chất của tế bào vật chủ góp phần tạo ra khối u.⁹ EBV có thể biểu hiện một số gen ở dạng tiềm ẩn để duy trì ở trạng thái ngủ đông trên các tế bào bị nhiễm; trong quá trình phát triển ung thư, những gen tiềm ẩn này có thể tham gia vào quá trình biến

đổi tế bào B và do vậy có liên quan đến một số dạng u lympho.¹⁰ Đáng kể nhất là gen Latent Membrane Protein 1 (LMP1) được biểu hiện trong một số bệnh ung thư, bao gồm có NK/TL.³ Trong ung thư vòm họng, LMP1 có thể không có vai trò trực tiếp trong việc bắt đầu hình thành khối u; tuy nhiên, LMP1 lại hoạt động với vai trò thay đổi gen ức chế khối u của tế bào vật chủ dẫn đến biến đổi chu trình tế bào, do đó ngăn cản quá trình tế bào chết theo chương trình, kết quả làm biến đổi các tế bào biểu mô hình thành ung thư biểu mô.¹¹ LMP1 cũng được chứng minh là có liên quan đến sự gia tăng đường phân ở ung thư vòm họng, cho thấy protein này góp một phần trong việc tái lập trình trao đổi chất ở các tế bào ung thư vòm họng gây ra bởi EBV.¹² Hơn nữa, các trường hợp dương tính với EBV được phát hiện có mối liên quan đến tiên lượng kém trong nhiều dạng ung thư khác nhau, cho thấy tầm quan trọng của virus EBV như một công cụ tiên lượng trước và sau điều trị.¹³ Các nghiên cứu trước cũng gợi ý việc kiểm tra EBV có thể được cân nhắc xem xét khi đánh giá giai đoạn cho bệnh nhân NK/TL.¹⁴

Mặt khác, liệu rằng EBV có thực sự đóng vai trò quan trọng trong sự tiến triển của NK/TL hay không vẫn chưa được làm rõ. Đánh giá các trường hợp âm tính EBV khi tìm hiểu về NK/TL có thể làm sáng tỏ vấn đề này, tuy nhiên, kết quả phân tích tổng hợp một số nghiên cứu từ một số quốc gia ở châu Á đã chỉ ra rằng các ca bệnh NK/TL không nhiễm EBV là khá hiếm gặp, đáng kể là các nước Nhật Bản, Trung Quốc hoặc Hàn Quốc, các quốc gia thuộc châu Á có tỷ lệ mắc bệnh phổ biến hơn.⁵ Tỷ lệ sống sót trong 150 tháng cũng được so sánh giữa nhóm âm tính và dương tính với EBV không tìm thấy sự khác biệt đáng kể, cho thấy rằng EBV có thể không có mối quan hệ trực tiếp với sự tiến triển của bệnh. Tuy nhiên, có thể suy đoán rằng EBV đóng vai trò trong các con đường kênh tín hiệu khác trong quá trình phát triển và hình thành của NK/TL.¹⁵

Trong khi đó, biểu hiện HK2 đã cho thấy tiềm năng đầy hứa hẹn trong chẩn đoán cũng như điều trị ung thư bởi mối tương quan chặt chẽ với quá trình đường phân trong sự phát triển của khối u. Ở những bệnh nhân bị ung thư cổ tử cung, biểu hiện HK2 trong các khối u cổ tử cung cao hơn so với biểu hiện ở các tế bào bình thường và sự biểu hiện quá mức của enzym này cũng có liên quan đến tiên lượng xấu trong khi kim hãm biểu hiện HK2 có thể ngăn chặn sự tăng sinh và gây chết tế bào ung thư.¹⁵ Tương tự, trong ung thư phổi, ức chế biểu hiện HK2 làm kim hãm sự phát triển của khối u.¹⁶

Trong khi đó, biểu hiện HK2 được tìm ra là có liên hệ với LMP1 trong ung thư vòm họng, cho thấy vai trò của cả HK2 và LMP1 trong sự tăng sinh tế bào ung thư.¹¹ Tương tự như kết quả đã đề cập ở trên đối với ung thư vòm họng, việc ức chế HK2 cũng được phát hiện là giảm khả năng sống sót của các tế bào ung thư vòm họng biểu hiện LMP1 quá mức, đặc biệt là sau khi xạ trị, cho thấy tác dụng tiềm ẩn của HK2 đối với các tế bào NPC bị nhiễm EBV.¹¹

Trong nghiên cứu của chúng tôi, chúng tôi phát hiện ra rằng trong số 22 bệnh nhân được chẩn đoán NK/TL, phần lớn biểu hiện HK2 dương tính. Mặt khác, có sự khác biệt đáng kể giữa nhóm có biểu hiện HK2 và nhóm không biểu hiện khi so sánh theo nồng độ EBV. Chúng tôi nhận thấy rằng số lượng bản sao của EBV trong các khối u không biểu thị HK2 không chỉ cao hơn đáng kể so với khối u biểu hiện HK2 mà còn cả các khối u có biểu hiện HK2 trung bình/mạnh.

Việc phát hiện biểu hiện HK2 trên đa số bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu HK2 có liên quan đến sự phát triển của khối u; tuy nhiên, kết quả của chúng tôi không phù hợp với giả thuyết về mối tương quan thuận giữa EBV và HK2. Chúng tôi đặt giả thiết rằng có thể có hai con đường bệnh lý độc lập

giữa EBV và HK2 trong sự hình thành ung thư không phải thể rắn như các nghiên cứu trước đây. Tuy nhiên, quy mô nghiên cứu của chúng tôi còn nhỏ; tỷ lệ sống sót tương đối của bệnh nhân NK/TL và cơ chế phát triển EBV đối với biểu hiện HK2 là những hạn chế trong nghiên cứu này. Bước đầu, chúng tôi đã tìm hiểu thành công mối liên hệ giữa biểu hiện EBV và HK2 ở bệnh nhân NK/TL với kết quả đáng chú ý; nhưng cần có nghiên cứu sâu hơn với nhiều đối tượng hơn để nghiên cứu cơ chế của bệnh.

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu của chúng tôi đã chỉ ra sự khác biệt có thống kê của nồng độ EBV tích lũy trong khối u NK/ TL có biểu hiện HK2 và không biểu hiện. Điều này cho thấy mối quan hệ chặt chẽ giữa EBV và biểu hiện HK2, tuy nhiên, sự suy giảm biểu hiện HK2 ở những bệnh nhân có nồng độ EBV cao là một phát hiện cần được nghiên cứu sâu thêm về mặt cơ chế bệnh học trong tương lai.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia Việt Nam (NAFOSTED) trong đề tài mã số 108.02-2018.312.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Park S, Ko YH. Peripheral T cell lymphoma in Asia. *Int J Hematol*. 2014; 99(3): 227-239. doi:10.1007/s12185-014-1520-3.
2. Young LS, Murray PG. Epstein-Barr virus and oncogenesis: from latent genes to tumours. *Oncogene*. 2003; 22(33): 5108-5121. doi:10.1038/sj.onc.1206556.
3. Shannon-Lowe C, Rickinson AB, Bell AI. Epstein-Barr virus-associated lymphomas. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2017; 372(1732): 20160271. doi:10.1098/rstb.2016.0271.

4. Wang H, Fu BB, Gale RP, Liang Y. NK-/T-cell lymphomas. *Leukemia*. 2021; 35(9): 2460-2468. doi:10.1038/s41375-021-01313-2.
5. Wang W, Nong L, Liang L, et al. Extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type without evidence of EBV infection. *Oncol Lett*. 2020; 20(3): 2665-2676. doi:10.3892/ol.2020.11842.
6. Mathupala SP, Ko YH, Pedersen PL. Hexokinase II: cancer's double-edged sword acting as both facilitator and gatekeeper of malignancy when bound to mitochondria. *Oncogene*. 2006; 25(34): 4777-4786. doi:10.1038/sj.onc.1209603.
7. Roberts DJ, Miyamoto S. Hexokinase II integrates energy metabolism and cellular protection: Acting on mitochondria and TORCing to autophagy. *Cell Death Differ*. 2015; 22(2): 248-257. doi:10.1038/cdd.2014.173.
8. Bhalla K, Jaber S, Nahid M N, et al. Role of hypoxia in Diffuse Large B-cell Lymphoma: Metabolic repression and selective translation of HK2 facilitates development of DLBCL. *Sci Rep*. 2018; 8(1): 744. doi:10.1038/s41598-018-19182-8.
9. Piccaluga PP, Weber A, Ambrosio MR, Ahmed Y, Leoncini L. Epstein-Barr Virus-Induced Metabolic Rearrangements in Human B-Cell Lymphomas. *Front Microbiol*. 2018; 9:1233. doi:10.3389/fmicb.2018.01233.
10. Young LS, Dawson CW, Eliopoulos AG. The expression and function of Epstein-Barr virus encoded latent genes. *Mol Pathol*. 2000; 53(5): 238-247.
11. Dawson CW, Port RJ, Young LS. The role of the EBV-encoded latent membrane proteins LMP1 and LMP2 in the pathogenesis of nasopharyngeal carcinoma (NPC). *Semin Cancer Biol*. 2012; 22(2): 144-153. doi:10.1016/j.semcancer.2012.01.004.
12. Xiao L, Hu ZY, Dong X, et al. Targeting

Epstein-Barr virus oncoprotein LMP1-mediated glycolysis sensitizes nasopharyngeal carcinoma to radiation therapy. *Oncogene*. 2014; 33(37): 4568-4578. doi:10.1038/onc.2014.32.

13. Fei Q, Tian XK, Wu J, et al. Prognostic significance of Epstein-Barr virus DNA in NK/T-cell lymphoma: a meta-analysis. *OncoTargets Ther*. 2018; 11:997-1004. doi:10.2147/OTT.S153942.

14. Lee J, Suh C, Huh J, et al. Effect of positive bone marrow EBV in situ hybridization in staging and survival of localized extranodal natural killer/T-cell lymphoma, nasal-type. *Clin*

Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 2007; 13(11): 3250-3254. doi:10.1158/1078-0432.CCR-06-2373.

15. Liu C, Wang X, Zhang Y. The Roles of HK2 on Tumorigenesis of Cervical Cancer. *Technol CancerRes Treat*. 2019; 18:1533033819871306. doi:10.1177/1533033819871306.

16. Wang H, Wang L, Zhang Y, Wang J, Deng Y, Lin D. Inhibition of glycolytic enzyme hexokinase II (HK2) suppresses lung tumor growth. *Cancer Cell Int*. 2016; 16(1): 9. doi:10.1186/s12935-016-0280-y.

Summary

EPSTEIN-BARR VIRUS ASSOCIATION HEXOKINASE 2 EXPRESSION IN NATURAL KILLER/T-CELL LYMPHOMA

Natural Killer/T cell lymphoma (NK/TL) is an aggressive type of cancer originated from the transformation of natural killer cells and T cells and is more typical in Asia. The common risk factor is Epstein-Barr virus (EBV), a member of the herpes virus family. Hexokinase 2 enzyme (HK2) expression has long been found to play a certain role in glycolysis and tumor proliferation in several cancers. Our study was conducted on 22 patients diagnosed with NK/TL to investigate the relationship between HK2 and EBV in cancer progression. HK2 expression was measured using the immunohistochemistry (IHC) technique; EBV status was determined using Realtime PCR. Our data showed 16 out of 22 research subjects (72.7%) were positive with HK2 expression. Our results showed a significant difference in EBV copy numbers in tumors between tumors not expressing HK2 and tumors expressing HK2 ($p = 0.02$). This can be a significant finding and suggests further research is required to understand the relationship and pathological mechanism of EBV and HK2 on NK/TL.

Keywords: Hexokinase 2, Epstein-Barr virus, Natural Killer/T-cell Lymphoma.