

ĐA HÌNH ĐƠN RS2596542 VÀ MỨC ĐỘ BIỂU HIỆN CỦA MICA/B TRONG UNG THƯ VÒM HỌNG

Vũ Hải Linh^{1,2}, Nguyễn Tấn Đông¹, Nguyễn Hoàng Việt¹, Nguyễn Minh Ngọc¹

Trần Ngọc Minh¹, Nguyễn Kim Đồng¹, Trần Văn Khánh¹

Tạ Thành Đạt¹ và Nguyễn Quý Linh^{1,✉}

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện K

MICA/B (Major histocompatibility complex class I chain-related A/B) là các kháng nguyên trên bề mặt của tế bào khối u, có vai trò kích hoạt hệ thống miễn dịch phát hiện và tiêu diệt các tế bào u. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định vai trò của đa hình đơn rs2596542 C > T trong điều hòa mức độ biểu hiện của MICA/B ở mô ung thư vòm họng. 58 mô ung thư vòm họng đã được lựa chọn tham gia vào nghiên cứu. Kiểu gen của rs2596542 được xác định bằng kỹ thuật realtime-PCR và mức độ biểu hiện protein MICA/B được thực hiện bằng phương pháp nhuộm hóa mô miễn dịch. Kết quả đã cho thấy sự biểu hiện của MICA/B trên các mô ung thư vòm họng thấp nhất khi mang kiểu gen CC ($p = 0,03$). Các khối u mang alen rs2596542T có mức độ biểu hiện MICA/B cao hơn có ý nghĩa so với những khối u mang alen rs2596542C ($p = 0,04$). Do đó, alen T và sự biểu hiện của protein MICA/B có tiềm năng trở thành dấu ấn sinh học cho phát triển liệu pháp miễn dịch trong điều trị ung thư vòm họng.

Từ khóa: ung thư vòm họng, mức độ biểu hiện MICA/B, rs2596542.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư vòm họng là loại ung thư phổ biến, được phân bố chủ yếu ở Châu Á, đặc biệt là khu vực phía Bắc của Trung Quốc.¹ Trong các dạng của ung thư vòm họng, thể không biệt hóa là dạng phổ biến nhất và quá trình điều trị của dạng này phụ thuộc phần lớn vào giai đoạn bệnh. Ở giai đoạn sớm, xạ trị là phương pháp điều trị cho kết quả khả quan nhất. Tỷ lệ sống của các bệnh nhân ung thư vòm họng đã được điều trị bằng xạ trị, bao gồm tỷ lệ sống sót sau 5 năm, không tái phát bệnh và di căn, vượt quá 90%. Tuy nhiên, tiên lượng điều trị cho ung thư vòm họng đã tiến triển thấp hơn đáng kể so với tỷ lệ điều trị thất bại và di căn xa tới 20 - 30%.^{2,3} Bên cạnh đó, 20 - 30% bệnh nhân ung thư thất

bại trong quá trình điều trị với sự di căn của khối u.^{4,5} Do đó, việc phát triển dấu ấn sinh học mới ứng dụng trong phương pháp điều trị đích là cần thiết để mang lại kết quả điều trị tích cực cho bệnh nhân.

Tế bào diệt tự nhiên (NK) là tế bào bạch huyết trong hệ thống miễn dịch, đóng vai trò trong việc tiêu diệt tế bào u. Khả năng lẩn trốn các tế bào NK ở giai đoạn sớm cho phép tế bào ung thư phát triển và di căn sang các khu vực khác.⁶ Tế bào NK được hoạt hóa bởi sự kích hoạt các thụ thể trong màng tế bào. Trong đó, thụ thể miễn dịch NKG2D (natural killer group 2 member D) là một thụ thể hoạt hóa quan trọng của tế bào NK trong việc kích hoạt khả năng ly giải tế bào để tiêu diệt tế bào ung thư.⁷

MICA (Major histocompatibility complex class I chain-related peptide A) và MICB (Major histocompatibility complex class I chain-related peptide B) được mã hóa bởi gen *MICA* và gen *MICB* và là 2 phối tử của thụ thể NKG2D biểu hiện trên bề mặt của các tế bào u. Sự tương

Tác giả liên hệ: Nguyễn Quý Linh

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: quylinh@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 01/11/2021

Ngày được chấp nhận: 09/11/2021

tác giữa MICA/B và NKG2D điều hòa quá trình hoạt hóa của tế bào NK cũng như tế bào T độc (Cytotoxic T lymphocytes - CTLs).⁸ Khả năng tiêu diệt tế bào u bị suy giảm ở bệnh nhân mắc ung thư vòm họng so với người bình thường.⁹

Gần đây, đa hình đơn (SNP) rs2596542 ở vùng promoter của gen *MICA* được chứng minh có vai trò quan trọng trong điều hòa quá trình hoạt hóa tế bào NK, biểu hiện trong ung thư biểu mô tế bào gan (Hepatocellular carcinoma - HCC).^{10,11} Những bệnh nhân mang alen T của rs2596542 được ghi nhận có nguy cơ cao trong việc hình thành HCC. Trong nghiên cứu của Nguyễn Phương Thoa và cộng sự (2021) đã chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về kiểu gen TT và alen T giữa bệnh nhân ung thư vòm họng và người khỏe mạnh.¹²

Để chứng minh vai trò của rs2596542 trong việc hình thành khối u ở người, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với mục đích xác định mối liên quan giữa sự biểu hiện của MICA/B và rs2596542 trong ung thư vòm họng.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng nghiên cứu

Tổng số có 58 mẫu mô đúc nén được chẩn đoán ung thư vòm họng tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội từ tháng 4 năm 2019 đến tháng 11 năm 2020. Những bệnh nhân này chưa nhận bất kỳ một phương pháp điều trị nào, mẫu mô ung thư được chẩn đoán và lưu trữ tại khoa Giải phẫu bệnh, trường Đại học Y Hà Nội.

2. Phương pháp

Tách chiết DNA và xác định kiểu gen của SNP

Các mẫu DNA được tách từ mẫu mô FFPE bằng kit QIAamp DNA FFPE Tissue (Qiagen, 56404). Mẫu mô ung thư vòm họng được cắt thành những lát mỏng rồi trữ trong ống eppendorf. Quy trình tách chiết DNA được thực

hiện theo đúng khuyến cáo của hãng sản xuất. Kiểu gen của SNP rs2596542 C/T được xác định bằng phương pháp Real-time PCR (TaqMan®: C_27301153_10, Applied Biosystems, Thermo Fisher Brand, Foster City, USA) trên hệ thống Quantstudio3™ Real-Time PCR (Applied Biosystems Inc., Foster City, USA).¹²

Nhuộm hóa mô miễn dịch

Sự biểu hiện của MICA/B được đánh giá bằng phương pháp hóa mô miễn dịch và được nhuộm trên thiết bị BenchMark XT. Mảnh sinh thiết vùi trong parafin được cắt thành tiêu bản có độ dày 4 μ m và trải lên lam kính điện. Theo sau đó là quá trình khử parafin trong xylen và khử nước lần lượt trong cồn 100%, 90% và 80%. Tiếp theo, tiêu bản được ủ trong đệm Citrate (pH = 9) tại 95°C trong 1 giờ. Men peroxidase nội sinh được bất hoạt bởi ultraVIEW Universal DAB (Ventana, Cat#253-4291) trong 4 phút ở 37°C. Sau khi rửa 3 lần bằng đệm PBS (phosphate-buffered saline), tiêu bản được ủ với kháng thể đa dòng MICA/B kháng thô (tỉ lệ pha loãng 1: 100, Abcam, 203679) trong 32 phút tại 37°C. Chứng âm và chứng dương đều được thực hiện song song với mẫu nghiên cứu (Hình 1). Trong đó, chứng dương được sử dụng là mẫu mô của ung thư biểu mô phổi theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Chứng âm là mẫu nghiên cứu không được phủ kháng thể 1. Tiếp theo, mẫu được rửa lại 3 lần bằng PBS rồi đem ủ với ultraVIEW Universal HRP Multimerto (Ventana, Catalog number 253-4290) trong 8 phút tại 37°C. Tiếp tục rửa với PBS 3 lần, tiêu bản được quan sát thông qua một kết tủa màu nâu, tạo ra bởi HRP khi bổ sung ultraVIEW Universal hydrogen peroxide (Ventana, Cat#253-4293) và kit nhuộm ultraVIEW Universal DAB (Ventana, Cat#253-4292) trong 8 phút tại 37°C. DAB được đổi màu khi thêm vào ultraVIEW Universal Copper (Ventana, Cat#253-4294) trong 4 phút

ở 37°C. Sau đó, mẫu bệnh phẩm được nhuộm bằng hematoxylin II (Ventana, Cat#790-2280) và ủ với Bluing Reagent (Ventana, Cat#790-2037) trong cùng điều kiện. Cuối cùng, mẫu được rửa bằng hỗn hợp nước rửa và khử nước bằng cồn, làm sạch bằng xylen, được bao phủ bởi Richard-Allan Scientific Mounting Medium (ThermoFisher Scientific, ID 4112) và quan sát dưới kính hiển vi.

Định lượng mức độ biểu hiện protein MICA/B trên mô

Protein MICA/B được biểu hiện trên bề mặt của tế bào biểu mô. Mức độ biểu hiện của MICA/B được xác định bằng việc đánh giá cường độ nhuộm và tỉ lệ dương tính của tế bào biểu mô. Cường độ nhuộm được chấm điểm theo hệ thống chấm điểm Allred: âm tính (0); yếu (+); trung bình (++) và mạnh (+++). Tỉ lệ dương tính của tế bào mô được chấm điểm lần lượt là: âm tính (0P); < 1% (1P); 1 - 10% (2P); 11 - 33% (3P); 34 - 66% (4P) và > 67% (5P). Mức độ biểu hiện MICA/B tổng thể được tính toán bằng cách tính tổng cường độ và tỉ lệ phần trăm kết quả, giá trị nằm trong khoảng từ 0 đến 8. Cuối cùng, 58 mẫu bệnh phẩm được đánh giá và tính điểm bởi 2 chuyên gia mô bệnh học độc lập tại trường Đại học Y Hà Nội. Kết quả không ghi nhận thấy sự khác biệt giữa 2 bên.

Phân tích thống kê

Sự biểu hiện khác nhau của MICA/B trong mỗi kiểu gen và alen của rs2596542 trên nhóm bệnh nhân ung thư vòm họng được thống kê

bằng Student's T-test. Trong tất cả các kết quả phân tích, $p < 0,05$ được chỉ ra sự khác biệt thống kê có ý nghĩa. Các giả thuyết được kiểm định bằng phần mềm GraphPad Prism 8 (San Diego, USA).

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu này đã được chấp thuận bởi Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học của Trường Đại học Y Hà Nội số 26/HMUIRB. Các thông tin cá nhân hoàn toàn được bảo mật.

III. KẾT QUẢ

1. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm của bệnh nhân trong nghiên cứu

	Tổng số (n = 58)
Giới tính	
Nam	37 (63,79%)
Nữ	21 (36,33%)
Tuổi	52,24 ± 12,94

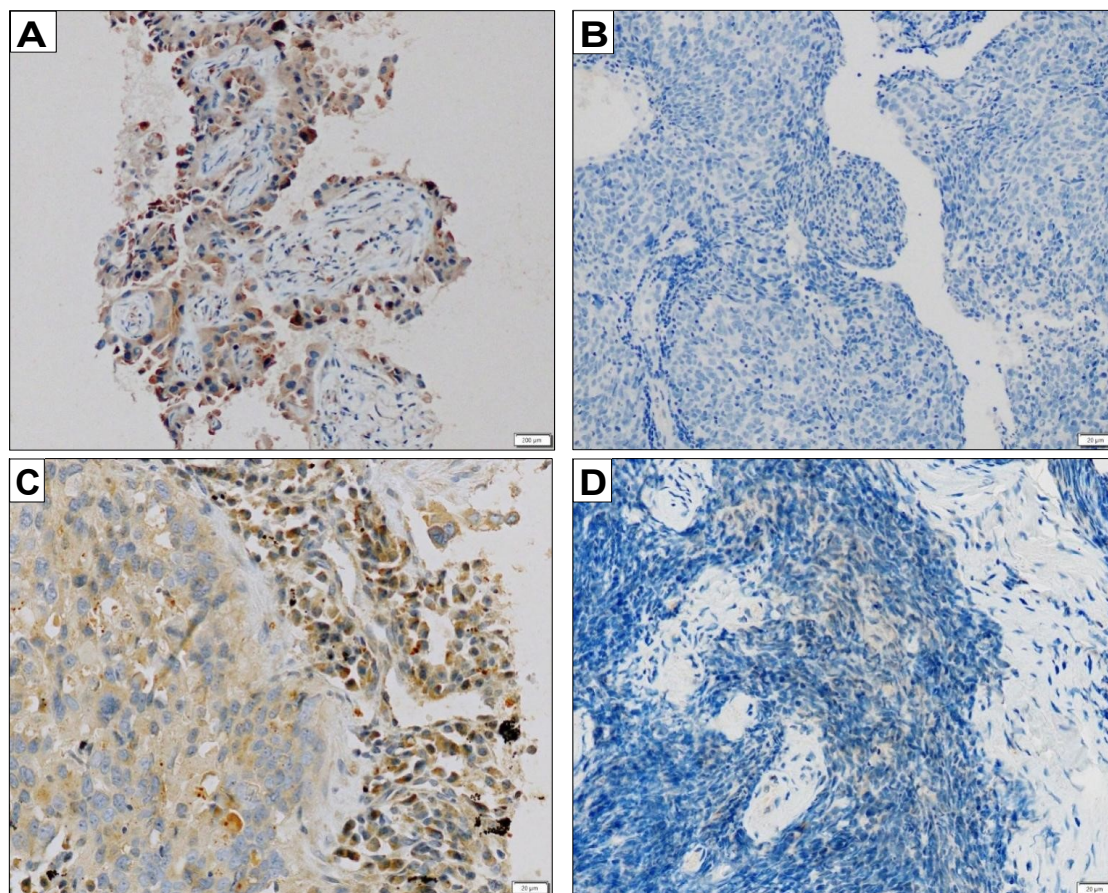
Nghiên cứu thực hiện trên 58 mẫu bệnh phẩm được chẩn đoán ung thư vòm họng thể không biệt hóa, trong đó tỉ lệ nam giới và nữ giới lần lượt là 63,79% và 36,33%. Độ tuổi trung bình tham gia nghiên cứu là 52,24 ± 12,94 (Bảng 1). Bệnh nhân được lựa chọn có độ tuổi nằm trong khoảng từ 20 đến 88 tuổi.

2. Sự phân bố kiểu gen và alen của rs2596542 trên bệnh nhân

Bảng 2. Sự phân bố kiểu gen và alen của SNP rs2596542 trên đối tượng nghiên cứu

	Kiểu gen			Alen	
	CC	CT	TT	C	T
Tổng số (n = 58)	23 (39,66%)	23 (39,66%)	12 (20,68%)	69 (59,48%)	47 (40,52%)

Tỉ lệ kiểu gen của MICA rs2596542 C > T được thể hiện ở bảng 2, kiểu gen CC và CT chiếm tỉ lệ cao nhất với 39,66% và kiểu gen TT chiếm 20,68%. Sự phân bố của alen T và C trong rs2596542 lần lượt là 40,52% và 59,48% (Bảng 2).

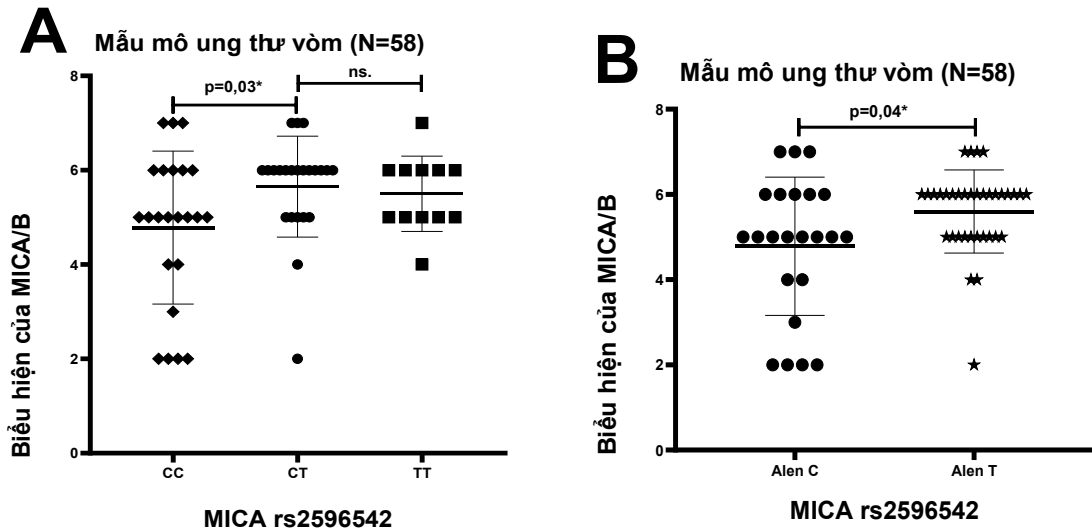


Hình 1. Sự biểu hiện của MICA/B trong tế bào ung thư biểu mô bàng phân tích hóa mô miễn dịch. (A) Chứng dương: MICA/B được phát hiện trên mô của ung thư biểu mô tế bào phổi. (B) Chứng âm: mẫu mô ung thư vòm họng được nhuộm trong cùng điều kiện mà không có sự có mặt của kháng thể anti-MICA/B. (C) Biểu hiện cao của MICA/B trên mô ung thư vòm họng. (D) Biểu hiện thấp của MICA/B trên mô ung thư vòm họng

Kết quả nhuộm hóa mô miễn dịch cho thấy sự đặc hiệu của kháng thể mục tiêu với tín hiệu mạnh trên vùng MICA/B biểu hiện cao và tín hiệu yếu trên vùng MICA/B biểu hiện thấp ở mẫu mô ung thư vòm họng (Hình 1).

Trong nghiên cứu của chúng tôi, hệ số biểu hiện của 58 mẫu mô được đánh giá nằm trong khoảng từ 2 đến 7 với hệ số trung bình là 5,36. Theo đó, 2 - 5 điểm là mức độ biểu hiện thấp và từ 5 điểm trở lên là mức độ biểu hiện cao của MICA/B trên mô ung thư vòm họng. Trong 58 mẫu nghiên cứu, biểu hiện thấp của MICA/B được ghi nhận trên 9/58 mẫu với tỉ lệ là 15,52% và biểu hiện cao ghi nhận trên 49/58 mẫu chiếm tỉ lệ là 84,48%.

3. Đánh giá sự liên quan giữa mức độ biểu hiện của MICA và SNP rs2596542



Hình 2. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện của MICA/B với kiểu gen và alen của rs2596542

Trong 58 mẫu mô ung thư vòm họng, mức độ biểu hiện của MICA/B trong kiểu gen CC thấp hơn đáng kể so với kiểu gen CT ($p = 0,03$) (Hình 2A). Trong khi đó, kiểu gen đồng hợp tử TT được ghi nhận có mức độ biểu hiện tương đương so với CT ($p > 0,05$). Ngược lại, sự biểu hiện của MICA/B trong alen T cao hơn đáng kể so với alen C ($p = 0,04$) (Hình 2B).

IV. BÀN LUẬN

MICA/B là những phối tử của thụ thể miễn dịch NKG2D, được biểu hiện rộng rãi trong ung thư ác tính và các tế bào bị nhiễm virus. Mặc dù cơ chế trên vẫn chưa được làm sáng tỏ, đa hình đơn rs2596542 C > T của gen MICA/B được chứng minh liên quan đến sự lây nhiễm của HBV và sự phát triển của HCC.^{10,13} Nghiên cứu này đánh giá mối liên quan của đa hình đơn rs2596542 C > T và mức độ biểu hiện của MICA/B trong mô ung thư vòm họng thể không biệt hóa. Nghiên cứu đã chỉ ra sự biểu hiện của MICA/B tăng lên đáng kể trong những bệnh nhân có alen T so với alen C của rs2596542.

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng những thay đổi về vật chất di truyền của rs2596542 dẫn tới nguy cơ cao phơi nhiễm với HBV, HCV và sự tiến triển của ung thư gan. Hơn nữa, rs2596542 được phát triển như một dấu ấn sinh học trong việc sàng lọc HCC. Những bệnh nhân có kiểu gen TT có nguy cơ cao hình thành HCC hơn so với hai kiểu gen CT và CC.^{10,11,14} Bên cạnh đó, nghiên cứu của chúng tôi đã chỉ ra kiểu gen TT cũng làm tăng nguy cơ gây ra ung thư vòm họng.

MICA/B là những protein xuyên màng, được phân cắt bởi họ enzyme matrix metalloproteinase (MMPs). Thông thường, mức độ biểu hiện của MICA/B giảm dần sau đó protein hòa tan được giải phóng ra khỏi tế bào. Nghiên cứu trước đây đã chỉ ra phối tử NKG2D hòa tan, cụ thể là MICA hòa tan (soluble MICA (sMICA)), được tìm thấy với nồng độ huyết thanh cao trong HCC, bệnh nhân nhiễm HBV và ung thư vòm họng, so với người khỏe mạnh.^{10,15,16} Tuy nhiên, alen T của rs2596542 được tìm thấy làm giảm nồng độ của MICA hòa tan trong huyết thanh trên bệnh

nhân nhiễm HBV và HCV. Có giả thiết cho rằng alen T làm giảm mức độ biểu hiện của protein liên kết màng MICA/B. Hơn nữa, sự giải phóng sMICA trong huyết thanh làm ảnh hưởng tới quá trình giám sát miễn dịch bởi alen này.^{10,11,16-18} Trong nghiên cứu của chúng tôi, MICA/B biểu hiện cao trong các mô ung thư vòm họng. Kết quả này có thể được giải thích bởi sự lưu giữ nội bào của protein MICA/B được đặt trong các ngăn nội bào. Điều này là phù hợp với kết quả nhuộm hóa mô miễn dịch IHC để chỉ ra sự biểu hiện của protein MICA/B trên màng tế bào cũng như trong tế bào chất. Do đó, rs2596542 được cho là có tác động khác đến hiệu quả vận chuyển trên bề mặt tế bào, hoặc trong việc tái chế thành các ngăn nội bào sau khi biểu hiện trong màng sinh chất.¹⁹

Giới tính và độ tuổi của đối tượng tham gia trong nghiên cứu này có sự tương đồng đối với các nghiên cứu trước đây, chẳng hạn như số lượng nam giới nhiều hơn so với nữ giới. Bên cạnh đó, nghiên cứu của chúng tôi không tập trung chi tiết vào đặc điểm khác của bệnh nhân, độ tuổi và giới tính được xem là yếu tố đánh giá quan trọng nhất trong HCC gây ra bởi HCV.^{20,21} Đánh giá các yếu tố liên quan tới sự điều hòa biểu hiện của MICA/B là rất cần thiết, đặc biệt trong ung thư vòm họng. Mặc dù cơ chế về sự liên quan của đa hình đơn rs2596542 với ung thư vòm họng vẫn chưa được biết đến, các nghiên cứu về đa hình này đã gợi ý chúng có ảnh hưởng đến sự liên kết giữa khả năng miễn dịch và các tế bào khối u.

Với quy mô nghiên cứu tương đối nhỏ và thiếu các dữ liệu về kết quả bệnh, chẳng hạn như tỷ lệ sống, khả năng đáp ứng với liệu pháp điều trị, cũng như các dấu ấn sinh học khác tạo nên những hạn chế lớn của nghiên cứu hiện tại, tuy nhiên, tính đồng nhất cao của quần thể người Việt Nam cho thấy độ tin cậy của các nghiên cứu liên kết gen được báo cáo tại đây.

Về vấn đề này, các biến thể của MICA được cho là có khả năng ảnh hưởng tới hiệu quả điều trị và tiên lượng bệnh. Tuy nhiên, việc thiếu dữ liệu về quá trình theo dõi bệnh nhân khiến cho vai trò của các SNP trong việc đáp ứng với các phương pháp điều trị hoặc khả năng sống sót ở ung thư vòm họng vẫn chưa được làm sáng tỏ.

Bên cạnh đó, nghiên cứu cũng còn những hạn chế khi sử dụng phương pháp hóa mô miễn dịch trong việc xác định mức độ biểu hiện của MICA/B bởi sự tương đồng về cấu trúc của chúng. Kháng thể được thiết kế để phát hiện protein MICA là kháng thể đa dòng, do đó, chúng có thể đồng thời phát hiện được cả protein MICB. Mặc dù protein MICA và MICB được mã hóa bởi các gen khác nhau, cả hai đều nằm trên locus MHC của nhiễm sắc thể số 6. Chúng có cấu trúc domain tương tự được tạo thành từ domain $\alpha1\alpha2\alpha3$ ngoài màng, xuyên màng, và đuôi C tận trong tế bào chất và là phối tử cho thụ thể miễn dịch NKG2D, tuy nhiên, MICA đã được nghiên cứu rộng rãi hơn. Vì vậy, hầu hết các kháng thể sẵn có trên thị trường đều nhận diện được cả hai protein này. Thực tế trong một số nghiên cứu, nhằm mục đích tìm hiểu sự tương tác sinh học của MICA, các kháng thể chẳng hạn như dòng 6D4 và dòng 159207 được sử dụng để xác định cả 2 loại protein trên. Ở một mức độ nào đó, trong kết quả nghiên cứu IHC của chúng tôi, khả năng phát hiện protein MICB có thể đã góp phần vào kĩ thuật nhuộm mô, tuy nhiên, thực tế là MICA được biểu hiện khác biệt trong các mô từ những bệnh nhân có alen T của MICA rs2596542 là phù hợp với giả định rằng mức độ protein MICA trong các mô khối u ung thư vòm họng có thể bị ảnh hưởng bởi các biến thể di truyền được phân tích trong nghiên cứu này.

V. KẾT LUẬN

Kết quả của chúng tôi gợi ý sự liên quan của rs2596542 đến mức độ biểu hiện của protein

MICA/B. rs2596542T là alen nguy cơ đối với ung thư vòm họng và điều hòa sự biểu hiện của MICA/B trong các mô ung thư. Các kết quả cho thấy rằng alen T trong rs2596542 kết hợp với biểu hiện MICA/B là một dấu ấn sinh học tiềm năng cho việc điều trị ung thư vòm họng 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) dưới mã số 108.02-2018.312.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lee AWM, Ma BBY, Ng WT, Chan ATC. Management of Nasopharyngeal Carcinoma: Current Practice and Future Perspective. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2015;33(29):3356-3364. doi: 10.1200/JCO.2015.60.9347.
2. Lee AWM, Ng WT, Chan LLK, et al. Evolution of treatment for nasopharyngeal cancer--success and setback in the intensity-modulated radiotherapy era. *Radiother Oncol J Eur Soc Ther Radiol Oncol*. 2014;110(3):377-384. doi: 10.1016/j.radonc.2014.02.003.
3. Wu F, Wang R, Lu H, et al. Concurrent chemoradiotherapy in locoregionally advanced nasopharyngeal carcinoma: treatment outcomes of a prospective, multicentric clinical study. *Radiother Oncol J Eur Soc Ther Radiol Oncol*. 2014;112(1):106-111. doi: 10.1016/j.radonc.2014.05.005.
4. Zong J, Lin S, Lin J, et al. Impact of intensity-modulated radiotherapy on nasopharyngeal carcinoma: Validation of the 7th edition AJCC staging system. *Oral Oncol*. 2015;51(3):254-259. doi: 10.1016/j.oraloncology.2014.10.012.
5. Lin S, Pan J, Han L, et al. Update report of nasopharyngeal carcinoma treated with reduced-volume intensity-modulated radiation therapy and hypothesis of the optimal margin. *Radiother Oncol J Eur Soc Ther Radiol Oncol*. 2014;110(3):385-389. doi: 10.1016/j.radonc.2014.01.011.
6. Trinchieri G. Biology of natural killer cells. *Adv Immunol*. 1989;47:187-376. doi: 10.1016/s0065-2776(08)60664-1.
7. Guillerey C, Huntington ND, Smyth MJ. Targeting natural killer cells in cancer immunotherapy. *Nat Immunol*. 2016;17(9):1025-1036. doi: 10.1038/ni.3518.
8. Jinushi M, Takehara T, Tatsumi T, et al. Impairment of natural killer cell and dendritic cell functions by the soluble form of MHC class I-related chain A in advanced human hepatocellular carcinomas. *J Hepatol*. 2005;43(6):1013-1020. doi: 10.1016/j.jhep.2005.05.026.
9. Lynn TC, Wang JH, Yang CS, Tu SM. [Natural killer cell activity in patients with nasopharyngeal carcinoma]. *Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Ji Mian Yi Xue Za Zhi*. 1986;19(3):177-182.
10. Kuang XJ, Mo DC, Qin Y, et al. Single nucleotide polymorphism of rs2596542 and the risk of hepatocellular carcinoma development. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(11):e14767. doi: 10.1097/MD.00000000000014767.
11. Kumar V, Kato N, Urabe Y, et al. Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for HCV-induced hepatocellular carcinoma. *Nat Genet*. 2011;43(5):455-458. doi: 10.1038/ng.809.
12. Nguyễn PT, Vũ HL, Nguyễn VC, et al. Nghiên cứu xác định đa hình đơn Nucleotide RS2596542 của gen mica ở bệnh nhân ung thư vòm họng. 2021;05(03). doi: 10.38148/JHDS.0503SKPT21-012.
13. Zhang J, Basher F, Wu JD. NKG2D Ligands in Tumor Immunity: Two Sides of a Coin. *Front Immunol*. 2015;6:97. doi: 10.3389/fimmu.2015.00097.
14. Salih HR, Rammensee HG, Steinle A. Cutting edge: down-regulation of MICA

on human tumors by proteolytic shedding. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2002;169(8):4098-4102. doi: 10.4049/jimmunol.169.8.4098.

15. Ben Chaaben A, Ouni N, Douik H, et al. Soluble MICA and anti-MICA Antibodies as Biomarkers of Nasopharyngeal Carcinoma Disease. *Immunol Invest*. 2020;49(5):498-509. doi: 10.1080/08820139.2019.1690506.

16. Tong HV, Toan NL, Song LH, Bock CT, Kreamsner PG, Velavan TP. Hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma: functional roles of MICA variants. *J Viral Hepat*. 2013;20(10):687-698. doi: 10.1111/jvh.12089.

17. Kumar V, Yi Lo PH, Sawai H, et al. Soluble MICA and a MICA variation as possible prognostic biomarkers for HBV-induced hepatocellular carcinoma. *PLoS One*. 2012;7(9):e44743. doi: 10.1371/journal.pone.0044743.

18. Xing S, Ferrari de Andrade L. NKG2D and MICA/B shedding: a "tag game" between NK cells and malignant cells. *Clin Transl Immunol*. 2020;9(12):e1230. doi: 10.1002/cti2.1230.

19. Isernhagen A, Schilling D, Monecke S, et al. The MICA-129Met/Val dimorphism affects plasma membrane expression and shedding of the NKG2D ligand MICA. *Immunogenetics*. 2016;68:109-123. doi: 10.1007/s00251-015-0884-8.

20. Luo X, Wang Y, Shen A, Deng H, Ye M. Relationship between the rs2596542 polymorphism in the MICA gene promoter and HBV/HCV infection-induced hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *BMC Med Genet*. 2019;20(1):142. doi: 10.1186/s12881-019-0871-2.

21. Mohamed AA, Elsaid OM, Amer EA, et al. Clinical significance of SNP (rs2596542) in histocompatibility complex class I-related gene A promoter region among hepatitis C virus related hepatocellular carcinoma cases. *J Adv Res*. 2017;8(4):343-349. doi: 10.1016/j.jare.2017.03.004.

22. Xing S, Ferrari de Andrade L. NKG2D and MICA/B shedding: a "tag game" between NK cells and malignant cells. *Clin Transl Immunol*. 2020;9(12):e1230. doi: 10.1002/cti2.1230.

Summary

SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM rs2596542 AND MICA/B EXPRESSION IN NASOPHARYNGEAL CARCINOMA

Major histocompatibility complex class I chain-related A/B (MICA/B) are tumor antigens. MICA/B are greatly expressed in human on the surface of malignant cancerous cells and trigger immune system response. This study was conducted to identify the genetic variant rs2596542 C>T in regulating MICA/B expression in nasopharyngeal carcinoma (NPC). A total of 58 tumor tissues from nasopharyngeal carcinoma patients were examined in this study. Single nucleotide polymorphism (SNP) association was determined by genotyping real-time PCR. MICA/B protein expression was quantified by performing immunohistochemistry staining. Tumors derived from CC genotype had the lowest MICA/B expression ($p = 0.03$). Tumors derived from rs2596542T allele had greater MICA/B expression levels than those with tumors with the rs2596542C allele ($p = 0.04$). Levels of MICA/B expression in NPC tissue were highly correlated with the patients who carried the T allele of rs2596542. The high-risk T allele of rs2596542 on the *MICA* gene and level of MICA/B protein expression can become potential targets for immunotherapy treatment in NPC.

Keywords: nasopharyngeal carcinoma, MICA/B expression, rs2596542.