

# XÁC ĐỊNH ĐỘT BIẾN GEN TP53 TRONG MÔ ƯNG THƯ DA BẰNG PHƯƠNG PHÁP GIẢI TRÌNH TỰ GEN

Hồ Quang Huy<sup>✉</sup>, Phạm Đăng Khoa, Phan Thị Hoan, Trần Đức Phần

Trường Đại học Y Hà Nội

Bệnh ung thư da ngày càng có xu hướng gia tăng, trong hàng loạt các tác nhân gây biến đổi làm rối loạn phân bào, tăng sinh không giới hạn và rối loạn biệt hóa tế bào thì cơ thể cũng có những cơ chế bảo vệ chống lại sự rối loạn đó. Một trong các yếu tố đó chính là protein p53 do gen TP53 mã hóa. Khi gen này bị đột biến, làm mất chức năng các tế bào ung thư dễ dàng xuất hiện và phát triển. Nghiên cứu đột biến gen TP53 trong mô ung thư da sẽ góp phần tìm hiểu cơ chế gây ung thư và giúp các nhà lâm sàng tìm ra được phương pháp điều trị đặc biệt là liệu pháp xạ trị. Bằng phương pháp giải trình tự gen 63 bệnh nhân ung thư da chúng tôi đã xác định được đột biến ở các đoạn exon chiếm tỷ lệ 27,0%, biến đổi ở các đoạn intron chiếm tỷ lệ 95,2%. Có 52 vị trí biến đổi trên gen TP53 trong đó có 10 đột biến ở các đoạn exon và 42 biến đổi ở các đoạn intron.

**Từ khóa:** Ung thư da, đột biến gen, giải trình tự, TP53

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh ung thư ngày càng có xu hướng gia tăng trong những thập niên gần đây. Theo ước tính của Tổ chức Y tế thế giới, hàng năm trên toàn cầu có khoảng trên 17 triệu người mắc bệnh ung thư và khoảng trên 9 triệu người chết do căn bệnh này.<sup>1</sup> Ở nước ta, theo ghi nhận sơ bộ ở Hà Nội, thành phố Hồ Chí Minh và một số tỉnh thành khác, ước tính mỗi năm có khoảng 150.000 trường hợp mắc mới và khoảng 75.000 người chết vì ung thư. Tuy nhiên, nhiều căn bệnh ung thư vẫn có thể chữa trị được nếu được phát hiện sớm và điều trị kịp thời. Người mắc bệnh ung thư có thể kéo dài thời gian sống, nâng cao chất lượng cuộc sống nếu có được phương pháp điều trị phù hợp và tận gốc.<sup>2</sup>

Chính vì thế, việc nghiên cứu tìm hiểu cơ chế bệnh sinh ung thư, cũng như cơ chế ức chế tế bào ung thư phát triển để từ đó tìm ra phương pháp điều trị can thiệp là mối quan tâm

hàng đầu của các nhà Y - Sinh học hiện nay. Trong khuynh hướng nghiên cứu về cơ chế bệnh sinh ung thư nói chung và ung thư da nói riêng, các nhà khoa học đi theo hướng tiếp cận chính là nghiên cứu về di truyền phân tử nhằm tìm ra các gen gây ung thư hay các tổn thương của hệ di truyền tế bào do các tác nhân tại chỗ hay các tác nhân bên ngoài.

Trong hàng loạt các tác nhân gây biến đổi làm rối loạn phân bào, tăng sinh không giới hạn và rối loạn biệt hóa tế bào thì cơ thể cũng có những cơ chế bảo vệ chống lại sự rối loạn đó. Một trong các yếu tố đó chính là protein p53 do gen TP53 mã hóa có hoạt tính chống sự tăng sinh tế bào, sửa chữa các DNA tổn thương, ngăn cản sự đột biến tế bào chống biến chuyển ác tính và trong một số trường hợp gây chết tế bào theo chương trình. Khi có các đột biến xảy ra có thể làm mất chức năng của gen TP53 làm các tế bào ung thư dễ dàng xuất hiện và phát triển. Nghiên cứu đột biến gen TP53 trong mô ung thư da sẽ góp phần tìm hiểu cơ chế gây ung thư và giúp các nhà lâm sàng tìm ra được phương pháp điều trị hỗ trợ thích hợp.

Tác giả liên hệ: Hồ Quang Huy

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: hoquanghuy@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 24/06/2022

Ngày được chấp nhận: 29/06/2022

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 1. Đối tượng

Đối tượng nghiên cứu là 63 bệnh nhân đã được chẩn đoán xác định là ung thư da bằng mô bệnh học tại Bệnh viện Da liễu Trung ương.

#### Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân

- Bệnh nhân được chẩn đoán xác định là ung thư da các thể tế bào đáy, tế bào vảy và tế bào hắc tố bằng xét nghiệm mô bệnh học.

- Có đầy đủ các khối nén chứa bệnh phẩm đủ để làm xét nghiệm giải trình tự gen và xét nghiệm hoá mô miễn dịch, có đầy đủ hồ sơ lưu trữ.

#### Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân bị ung thư khác ở da hoặc ung thư từ các cơ quan khác di căn đến da.

- Các ung thư da tái phát, đã được điều trị hoá chất và tia xạ tiền phẫu.

- Những bệnh nhân mắc 2 ung thư trở lên, những bệnh nhân không có đầy đủ hồ sơ bệnh án lưu trữ.

### 2. Phương pháp

Nghiên cứu mô tả cắt ngang, không đối chứng.

- Cờ mẫu được lấy theo phương pháp cờ mẫu thuận tiện

- Nghiên cứu của chúng tôi, n = 63 mẫu ung thư da gồm 03 thể chính: 21 mẫu ung thư tế bào đáy, 21 mẫu ung thư tế bào vảy và 21 mẫu ung thư tế bào hắc tố

Các kỹ thuật dùng xác định đột biến của gen TP53 ở mô ung thư da:

- Kỹ thuật tách chiết DNA tổng số.

- Kỹ thuật PCR.

Các phản ứng PCR khuếch đại đoạn gen TP53 được sử dụng cặp mồi và Taq polymerase của hãng Sigma Aldrich (Mỹ) sản xuất.

Mỗi mẫu đều được giải trình tự ở các exon 2 - 4, 5 - 6, 7 - 9 là các exon thường xảy ra đột biến trong ung thư da với các cặp mồi:<sup>3</sup>

**Bảng 1. Trình tự các cặp mồi khuếch đại các exon**

Mồi	Trình tự 5' - 3'	Sản phẩm (bp)
Exon 2 - 4	F - TCCTGGATCCCCACTTTTCC	611
	R - TCCTGGATCCCCACTTTTCC	
Exon 5 - 6	F - CACTTTCAACTCTGTCTCCTTCC	378
	R - CCCCCCTACTGCTCACCCGG	
Exon 7 - 9	F - TCTTCGGCCTGTGTTATCTCC	755
	R - CAGGTCCCAAGACTTAGTACC	

#### Kỹ thuật giải trình tự gen

Xác định trình tự gen TP53 được thực hiện trên máy ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer. Các thông số và chất lượng đỉnh được thu thập, kiểm định bằng các phần mềm ABI Data Collection v2.0 và Sequencing Analysis Sotwave v5.3. Trình tự các đoạn gen TP53 của mẫu ung thư da người Việt Nam được so sánh

với trình tự tham chiếu công bố trên GenBank thông qua sử dụng phần mềm phân tích BioEdit để xác định các đột biến.

### 3. Đạo đức nghiên cứu

Đây là nghiên cứu mô tả cắt ngang mọi thông tin của cá nhân được mã hóa và giữ bảo mật an toàn. Thu thập số liệu được tiến hành một cách trung thực, chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu.

### III. KẾT QUẢ

#### 1. Đặc điểm chung của nhóm đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên 63 bệnh nhân ung thư da, gồm 3 nhóm ung thư da chính: ung thư tế bào đáy 21 bệnh nhân, ung thư tế bào vảy 21 bệnh nhân và ung thư tế bào hắc tố 21 bệnh nhân (bảng 2)

**Bảng 2. Phân bố tỷ lệ ung thư da theo tuổi**

Loại UT da	UT TB đáy (n = 21)		UT TB vảy (n = 21)		UT TB hắc tố (n = 21)		Tỷ lệ UT da (n = 63)	
	Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %
< 40	1	4,8	0	0	2	9,5	3	4,8
40 - 49	3	14,3	1	4,8	5	23,8	9	19,0
50 - 59	7	33,3	7	33,3	7	33,3	21	33,3
60 - 69	1	4,8	6	28,6	3	14,3	10	15,9
≥ 70	9	42,9	7	33,3	4	19,0	20	31,7
<b>Tổng</b>	<b>21</b>	<b>100</b>	<b>21</b>	<b>100</b>	<b>21</b>	<b>100</b>	<b>63</b>	<b>100</b>

Về tỷ lệ nhóm tuổi trong ung thư da, hai nhóm tuổi 50 - 59 và trên 70 tuổi chiếm tỷ lệ cao ở cả 3 loại ung thư tế bào đáy, tế bào vảy

và tế bào hắc tố, tỷ lệ của các nhóm tuổi này lần lượt là 33,3% và 31,7%; còn nhóm tuổi dưới 40 chiếm tỷ lệ thấp nhất 4,8% (bảng 2).

**Bảng 3. Phân bố tỷ lệ ung thư da theo giới**

Loại UT da	UT TB đáy (n=21)		UT TB vảy (n=21)		UT TB hắc tố (n=21)		Tỷ lệ UT da (n = 63)	
	Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %
Nam	11	52,4	13	61,9	9	42,9	33	52,4
Nữ	10	47,6	8	38,1	12	57,1	30	47,6
<b>Tổng</b>	<b>21</b>	<b>100</b>	<b>21</b>	<b>100</b>	<b>21</b>	<b>100</b>	<b>63</b>	<b>100</b>

Về tỷ lệ giới tính trong nghiên cứu thu được tỷ lệ nam, nữ gần tương đương nhau, tỷ

lệ giới nam/nữ là 1,1 (bảng 3).

## 2. Đặc điểm các đột biến gen *TP53* được xác định trong nghiên cứu

Tỷ lệ biến đổi các đoạn gen *TP53* ở từng loại ung thư da

**Bảng 4. Tỷ lệ biến đổi gen *TP53* của các thể ung thư da**

Loại biến đổi gen <i>TP53</i>	UT TB đáy (n = 21)		UT TB vảy (n = 21)		UT TB hắc tố (n = 21)		Tổng số (n = 63)	
	Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %
Có biến đổi gen <i>TP53</i>	21	100	21	100	21	100	63	<b>100</b>
Exon	14	66,7	3	14,3	0	0	17	<b>27,0</b>
Intron	18	85,7	21	100	21	100	60	<b>95,2</b>
Cả exon và intron	11	52,4	3	14,3	0	0	14	<b>22,2</b>

Bảng 4 cho thấy 100% các mẫu ung thư da có biến đổi gen *TP53* trong đó tỷ lệ đột biến ở các đoạn exon trong ung thư da chiếm 27,0 % trong tổng số 63 bệnh nhân nghiên cứu, trong đó loại ung thư tế bào đáy là cao nhất chiếm 66,7%, ung thư tế bào vảy là 14,3%, không

phát hiện thấy đột biến exon trong loại ung thư tế bào hắc tố. Biến đổi trong các đoạn intron của ung thư da có tỷ lệ khá cao chiếm 95,2% trong tổng số ung thư da nói chung. Biến đổi phối hợp các đoạn exon và intron chiếm tỷ lệ 22,2%.

Các vị trí đột biến trên các exon gen *TP53*

**Bảng 5. Các loại đột biến gen *TP53* trên các đoạn exon ở các mẫu ung thư da (n = 63)**

Đoạn exon	Vị trí biến đổi trên gen	Vị trí biến đổi trên cDNA	Codon thay đổi	Vị trí biến đổi acid amin
Exon 3	g.12112G > T	c.187G > T	GCT → TCT	p.A63S(*)
	g.12139C > A	c.215C > A	CCC → CAC	p.P72H
	g.12143T > A	c.218T > A	GTG → GAG	p.V73E(*)
	g.12145G > T	c.220G > T	GCC → TCC	p.A74S(*)
	g.12239G > A	c.314G > A	GGC → GAC	p.G105D(*)
Exon 4	g.13150C > T	c.471C > T	GTC → GTT	p.V157V
	g.13151C > T	c.472C > T	CGC → TGC	p.R158C
Exon 6	g.14049C > T	c.722C > T	TCC → TTC	p.S241F
	g.14060G > T	c.733G > T	GGC → TGC	p.G245C
	g.14062C > A	c.735C > A	GGC → GGA	p.G245G

Khi phân tích gen *TP53* các đoạn từ exon 2 đến exon 9 ở các mẫu ung thư da, phát hiện được 10 đột biến, các đột biến này đều nằm ở exon 3, exon 4 và exon 6, không phát hiện được các đột biến ở exon 2, exon 5, exon 7 và exon 8. Có hai đột biến đồng thời xảy ra tại exon 6 là đột biến c.733G>T và c.735C>A, đột biến này xảy ra tại 1 codon, GGC mã hóa cho acid amin Glycine (G) bị biến đổi thành TGA là mã kết thúc (X).

Có 2 đột biến không gây thay đổi acid amin: 1 xảy ra ở exon 4, vị trí biến đổi trên bộ gen là g.13150C>T, vị trí tương ứng trên cDNA là

c.471C>T, mã qui định là GTC bị biến đổi thành GTT, nhưng acid amin không thay đổi do cả hai bộ ba này đều mã hóa cho acid amin valine, một loại biến đổi nữa là ở exon 6, vị trí biến đổi trên bộ gen là g.14062C>A, vị trí tương ứng trên cDNA là c.735C>A, có sự thay thế Adenine thành Cytosine, mã qui định là GGC nay bị đổi thành GGA nhưng acid amin không thay đổi vẫn qui định Glycine. Trong 10 đột biến ở vùng exon này có 6 đột biến đã được các tác giả khác công bố, còn 4 đột biến chưa thấy tác giả nào công bố được đánh dấu (\*) đều là các đột biến trên exon 3 (bảng 5).

#### Các vị trí đột biến trên các intron gen *TP53*

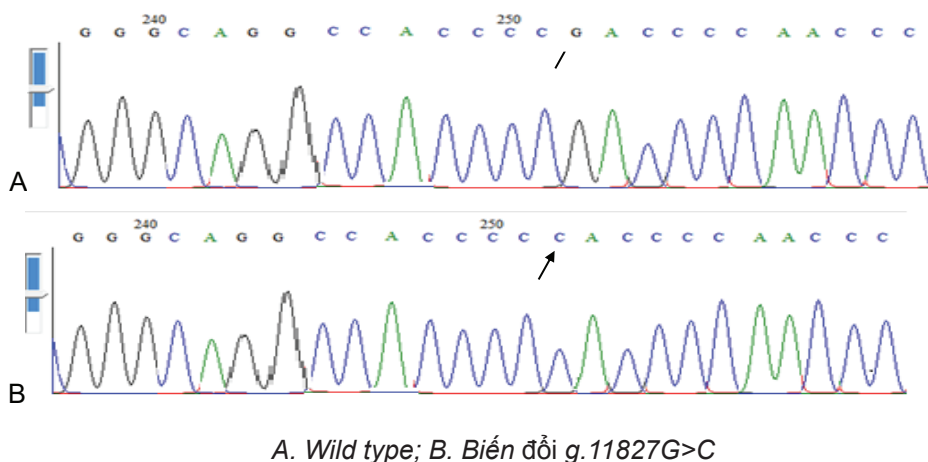
**Bảng 6. Các loại biến đổi gen *TP53* trên các đoạn intron ở các mẫu ung thư da (n = 63)**

Đoạn intron	Vị trí biến đổi trên gen
IVS1 (6 biến đổi)	g.11827C>G, g.11849G>A, g.11903T>A, g.11818-11819insC, g.11827-11828insC, g.11874-11875insC
IVS5 (1 biến đổi)	g.13451G>C
IVS6 (35 biến đổi)	g.14129C>A, g.14181C>T, g.14133C>A, g.14170T>G, g.14177G>T, g.14187T>G, g.14183T>C, g.14185T>C, g.14189T>C, g.14201T>G, g.14203G>T, g.14236T>C, g.14237T>C, g.14238C>T, g.14239C>T, g.14242T>C, g.14243T>C, g.14245-14246insG, g.14247-14248insG, g.14251-14252insG, g.14274T>C, g.14276T>C, g.14280C>T, g.14319A>C, g.14320C>A, g.14321A>C, g.14322C>A, g.14322C>T, g.14323T>A, g.14324T>C, g.14325C>A, g.14325A>T, g.14326C>A, g.14328T>C, g.14329A>T

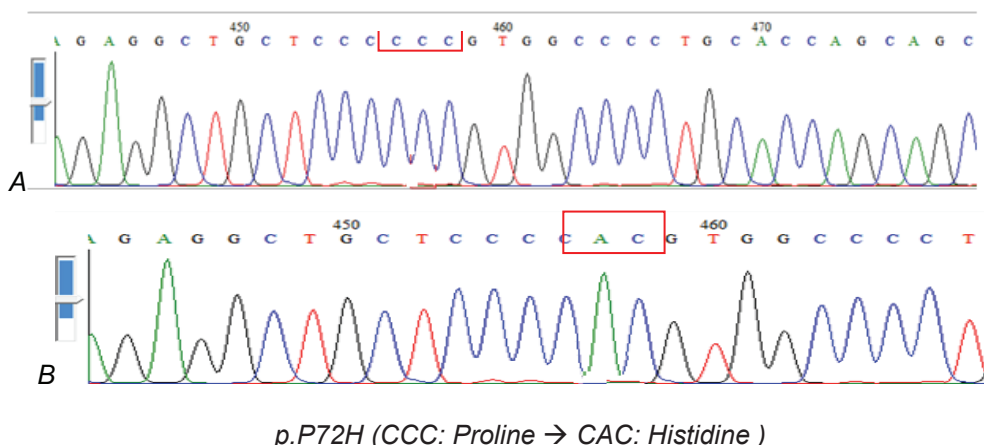
Phân tích trình tự các nucleotid trên các đoạn intron, phát hiện được tổng số có 42 biến đổi trên vùng intron của các mẫu ung thư da, trong đó chỉ phát hiện biến đổi ở đoạn IVS1, IVS5, IVS6, không thấy các biến đổi trên các

đoạn IVS2, IVS3, IVS4, IVS7 và IVS8. Ở đoạn IVS1, có 6 biến đổi, đoạn IVS5 chỉ có 1 biến đổi, đoạn IVS6 xảy ra nhiều biến đổi nhất, tổng cộng đoạn này xảy ra 35 biến đổi. Các biến đổi hầu hết là thay thế và chèn thêm nucleotid (bảng 6).

Một số hình ảnh biến đổi gen TP53 qua phân tích gen bằng phương pháp xác định trình tự gen



Hình 1. Biến đổi g.11827G>C ở IVS1



Hình 2. Đột biến g.12319C>A (c.215C>A) ở exon 3

#### IV. BÀN LUẬN

Cũng như một số bệnh ung thư khác, ung thư da có liên quan đến một số các đặc trưng cá nhân như tuổi, giới, chủng tộc, nơi sinh sống... của bệnh nhân. Các nghiên cứu ở trong nước và ngoài nước đều cho thấy nguy cơ ung thư da đều liên quan đến tuổi tác, người lớn tuổi thường có nguy cơ dễ mắc ung thư da hơn người trẻ tuổi và có khoảng trên 90% bệnh nhân ung thư da xuất hiện ở lứa tuổi 50 và cao hơn nữa.<sup>4, 5</sup> Nghiên cứu của chúng tôi độ tuổi hay mắc ung thư da nhất cũng từ 40 tuổi trở

lên, trong đó cao nhất ở lứa tuổi 50 - 59 và trên 70 tuổi có tỷ lệ tương ứng là 33,3% và 31,7%, ở lứa tuổi dưới 40 tỷ lệ ung thư da là thấp nhất 4,8%. Kết quả này cũng phù hợp với một số nghiên cứu khác ở một số nước trên thế giới.<sup>4,6</sup> Điều này cho thấy tuổi đóng vai trò quan trọng trong việc hình thành và phát triển ung thư da. Các nghiên cứu đều cho thấy ung thư da nói chung và đặc biệt là ung thư tế bào đáy thường có liên quan đến tiếp xúc với ánh sáng mặt trời kéo dài và thường xuyên, giống các yếu tố phơi

nhiểm khác, tiếp xúc với ánh sáng mặt trời phụ thuộc vào 2 yếu tố, đó là cường độ tiếp xúc và thời gian tiếp xúc. Các nghiên cứu về ung thư da ở châu Âu, Mỹ và châu Úc đều cho thấy tỷ lệ ung thư ở nam giới cao hơn so với nữ giới<sup>4, 7</sup>. Trong khi đó, các nghiên cứu ở châu Á đều cho thấy có sự chênh lệch không nhiều giữa nam và nữ.<sup>4, 6</sup> Nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ bệnh ở nam và nữ là gần tương đương nhau, tỷ lệ giới nam/nữ trong số bệnh nhân ung thư da là 1,1. Sự khác biệt về tỷ lệ giới tính nam/nữ trong ung thư da có thể do sự khác nhau về màu da cũng như lối sống, khí hậu và thời gian làm việc ngoài trời.

Trong các đoạn gen *TP53* đã phân tích ở các mẫu ung thư da, tỷ lệ các mẫu ung thư da có đột biến gen *TP53* là 100%, trong đó ở các đoạn exon tỷ lệ đột biến là 27,0%, chủ yếu là các đột biến xảy ra ở exon 3, exon 4 và exon 6. Các đoạn exon 2, exon 5 và exon 7 đến 9 không phát hiện thấy đột biến. Biến đổi ở các đoạn intron xảy ra ở hầu hết các mẫu ung thư da chiếm 95,2%, các đoạn có nhiều mẫu biến đổi chủ yếu là IVS1, IVS5 và IVS6. Các đoạn IVS2, IVS3, IVS4 và IVS7, IVS8 không thấy có biến đổi. Biến đổi phối hợp các đoạn exon và intron của gen *TP53* chiếm tỷ lệ 22,2%.

Các biến đổi trong ung thư da phát hiện thấy có cả ở vùng intron (IVS) là vùng không mã hóa và vùng exon là vùng mã hóa chi phối tổng hợp phân tử protein. Đồng thời gặp rất nhiều loại biến đổi nucleotid trên các đoạn gen *TP53* khác nhau, tổng số loại biến đổi chúng tôi gặp là 52 loại. Trong đó, vị trí biến đổi nucleotid xuất hiện trên các đoạn exon là 10 loại, ở vùng intron có đến 42 loại. Với biến đổi trên gen *TP53*, người ta chia 2 loại là:

#### **Biến đổi ở các đoạn intron**

Các biến đổi trên vùng intron là các biến đổi đa hình di truyền, các biến đổi này không làm thay đổi cấu trúc và chức năng của phân

tử protein. Kết quả ở bảng 3 cho thấy, các biến đổi trên vùng IVS1 có 6 biến đổi, trong đó chủ yếu là biến đổi thay thế và chèn thêm nucleotid. Các biến đổi nucleotid ở vùng intron hầu hết không ảnh hưởng gì đến biểu hiện gen, nhất là các thay thế, đảo vị trí của nucleotide không gây ra hậu quả gì, loại biến đổi này lại là biến đổi nhiều nhất. Tuy nhiên với các đột biến chèn nucleotide hoặc mất nucleotide thì đôi khi có thể ảnh hưởng đến exon tiếp theo của intron này. Việc cả một vùng của exon 2 trình tự nucleotid không thể so sánh được với trình tự gen gốc cần được nghiên cứu tiếp vì khi tham khảo các nghiên cứu của các tác giả khác thì họ cũng chỉ đưa ra nhận xét là có nhiều biến đổi ở vùng intron chứ không bình luận, liệu có loại nào trong số này có thể gây ảnh hưởng đến exon tiếp theo. Các tác giả cũng chủ yếu phân tích các biến đổi nucleotid ở các vùng exon.

Ở vùng IVS2, IVS3, IVS4 không phát hiện thấy có biến đổi trình tự nucleotid ở tất cả các mẫu ung thư da.

Vùng IVS5, chỉ phát hiện được 1 biến đổi nucleotid vị trí g.13451 thay thế nucleotid Guanine thành Cytosine (g.13451G>C). Biến đổi này cũng chỉ quan sát thấy ở 1 mẫu ung thư tế bào đáy, còn ung thư tế bào vảy và ung thư tế bào hắc tố đều không phát hiện được.

Các biến đổi xảy ra ở IVS6 gặp với tần suất cao, trong đó ung thư tế bào đáy cũng chiếm chủ yếu các biến đổi ở IVS6, tiếp đó là ung thư tế bào vảy và cuối cùng là ung thư tế bào hắc tố. Mặc dù số lượng các biến đổi IVS6 ở ung thư tế bào hắc tố ít, nhưng là toàn bộ mẫu xảy ra cùng một biến đổi. Những biến đổi thay thế và chèn thêm nucleotid xảy ra ở IVS là vùng không mã hóa vì vậy về lý thuyết sẽ không làm biến đổi các acid amin của phân tử protein.

Các vùng intron IVS7, IVS8 cũng không phát hiện thấy có biến đổi trình tự nucleotid ở tất cả các mẫu ung thư da. Các biến đổi phần lớn là

thay thế nucleotid này bằng nucleotid khác, hiện tượng này xảy ra ở hầu hết các đoạn gen được phân tích và tìm thấy biến đổi. Với loại biến đổi chèn nucleotid thì cả 6 loại mà chúng tôi gặp đều ở các vùng intron, 3 loại gặp ở IVS1, 3 loại còn lại gặp ở IVS6. Kết quả này cũng tương tự kết quả của các tác giả khác.<sup>8,9</sup>

### **Biến đổi ở các đoạn exon**

Khi giải trình tự gen *TP53* các đoạn từ exon 2 đến exon 9 ở các mẫu mô bệnh nhân ung thư da, đây là vùng thường xảy ra đột biến của gen *TP53*.<sup>7</sup> Kết quả chúng tôi phát hiện 10 vị trí biến đổi nucleotid nằm rải rác trên các đoạn exon. Các biến đổi là các đột biến điểm xảy ra ở exon 3, exon 4 và exon 6, không thấy các biến đổi ở exon 2, exon 5 và exon 7 đến exon 9.

Trong các biến đổi ở exon, khi so sánh với genbank, ở 10 loại biến đổi phát hiện được, chúng tôi thấy có 8 biến đổi nucleotid có sự thay đổi acid amin trong phân tử protein, đây chính là các đột biến của gen *TP53*. Có 2 loại biến đổi thay thế nucleotid tại vị trí g.13150C>T ở exon 4 và g14062C>A, cả 2 biến đổi này đều không gây ra sự thay đổi acid amin của phân tử protein.

Ở đoạn exon 3, có 5 vị trí đột biến, tất cả các đột biến này đều là đột biến thay thế các nucleotid, sự thay thế này đều làm thay đổi acid amin trên phân tử protein. Ở vị trí g.12072 của gen *TP53* Adenine được thay thế bằng Guanine (g.12112A>G) dẫn đến acid amin ở vị trí 63 biến đổi từ Alanin thành Serine (p.A63S). Tương tự như vậy ở vị trí g.12139 biến đổi Cytosine được thay thế bằng Adenine (g12139C>A), làm cho acid amin ở vị trí 72 bị biến đổi từ Proline hoặc Histamine (p.P72H). Vị trí g12143T>A trên gen *TP53* bị thay thế Thymine bằng Adenine làm phân tử protein bị đột biến ở acid amin 73 chuyển Valine thành Glutamate (p.V73E). Vị trí g.12145 của gen Guanine thay thế bằng Thymine (g12145G>T),

sự thay thế này làm thay đổi acid amin ở vị trí 74 Alanine thành Serine (p.A74S). Tại vị trí g12239, thay thế nucleotid Guanine bằng Adenine (g.12239G>A), làm biến đổi acid amin ở vị trí 105 Glycine thành Apartate (p.G105D).

Trong đoạn exon 4, xảy ra 2 vị trí đột biến, trong đó chỉ 1 vị trí đột biến làm thay đổi acid amin đó là vị trí g.13151 Cytosine bị thay thế bằng Thymine, làm cho phân tử protein ở vị trí 158 bị biến đổi acid amin từ Arginin thành Cysteine (p.A158C). Vị trí g.13150 cũng bị thay thế nucleotid Cytosine thành Thymine làm thay đổi bộ ba GTC thành GTT, nhưng không làm thay đổi acid amin vì cả hai bộ ba này đều mã hóa cho Valine.

Đoạn exon 6 của gen *TP53*, có 3 vị trí đột biến, là vị trí g.14049 được thay thế nucleotid Cytosine bằng Thymine, làm cho acid amin biến đổi Serine thành phenylalanine (p.S241F), còn vị trí g.14060 nucleotid Guanine được thay thế bằng Thymine làm biến đổi acid amin ở vị trí 245 thay thế acid amin Glycine thành Cysteine (p.G245C). Tại vị trí g.14062, Cytosine được thay thế bằng Adenine, bộ ba mã hóa GGC chuyển thành GGA, nhưng không làm thay đổi acid amin của phân tử protein vì cả hai bộ ba này đều mã hóa cho acid amin Glycine (p.G245G). Cũng tại exon này, có mẫu đồng thời xảy ra hai đột biến ở vị trí g.14060 và g.14062 của gen dẫn đến thay đổi trên cDNA là c.733G>T và c.735C>A, đột biến này xảy ra tại 1 codon, GGC mã hóa cho acid amin Glycine (G) bị biến đổi thành TGA là mã kết thúc (X). Trường hợp này, sự biến đổi trong phân tử protein là nhiều vì gen sẽ ngừng lại, kết thúc ngay khi xuất hiện đột biến.

Trong 10 đột biến của gen *TP53* mà chúng tôi phát hiện thấy ở bệnh nhân ung thư da, có 6 đột biến đã được một số tác giả khác đề cập là p. P72H, p.V157V, p.R158C, p.S241F, p.G245C, p.G245G, 4 đột biến còn lại chỉ thấy



ở trong nghiên cứu của chúng tôi là p.A63S, p.V73E, p.A74S, p.G105D. Trong 2 đột biến thay thế nucleotid mà không gây biến đổi acid amin của phân tử protein, một đột biến ở exon 4 (c.471C>T: biểu hiện trên protein là p.V157V) và một ở exon 6 c.735C>A (ở protein là p.G245G) thì đột biến ở exon 4 đã được đề cập trong bảng danh mục về đột biến ở bệnh nhân ung thư,<sup>10</sup> đột biến ở exon 6 là c.735C>A (biểu hiện trên protein là p.G245G) cũng đã được Guiseppina Giglia Mari và Alanin Sarasin (2003) đề cập trong nghiên cứu ở các bệnh nhân bị ung thư da.<sup>11</sup>

Các đột biến p.A63S, p.V73E, p.A74S và p.G105D tuy chưa được các tác giả khác đề cập nhưng khi các đột biến có gây thay đổi acid amin trong phân tử protein thì đều có ảnh hưởng đến kiểu hình phân tử protein của cá thể mang đột biến đó.

## V. KẾT LUẬN

Tỷ lệ biến đổi gen TP53 ở 63 mẫu mô ung thư da:

100% các mẫu đều có biến đổi gen TP53, đột biến ở các đoạn exon chiếm tỷ lệ 27,0%, biến đổi ở các đoạn intron chiếm tỷ lệ 95,2%.

Xác định được 52 vị trí biến đổi trên gen TP53 trong đó có 10 đột biến ở các đoạn exon và 42 biến đổi ở các đoạn intron. Có 4 đột biến mới trên gen TP53 chưa thấy công bố trong các nghiên cứu ở các bệnh nhân ung thư da trên thế giới là: c.187G>T (p.A63S), c.218T>A (p.V73E), c.220G>T (p.A74S), c.314G>A (p.G105D).

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bulliard J.L, Panizzon R.G, Levi F, et al. Epidemiology of epithelial skin cancers. 2009, 22, 5(200), 882-888.

2. Nguyễn Bá Đức. *Phòng và phát hiện sớm bệnh ung thư*. NXB Hà Nội; 2006.

3. Bukhari M.H, Niazi S., Khaleel M.E et al. Elevated frequency of p53 genetic mutations and AgNOR values in squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis*. 2011, 32(3), 327-30.

4. Chang J.M, Gao X.M, et al. Clinical and histopathological characteristics of basal cell carcinoma in Chinese patients. *Chin. Med. J (Engl)*. 2013, 126(2), 211-214.

5. Raasch B.A, Buettner P.G, Garbe C., et al. Basal cell carcinoma: histological classification and body - site distribution. *Br. J. Dermatol*. 2006, 155, 401-407.

6. Demers A.A, Nugent Z., Mihalciou C. et al. Trends of nonmelanoma skin cancer from 1960 through 2000 in a Canadian population. *J. Am. Dermatol*. 2005, 53, 320-328.

7. Pelucchi C., Landro A.D, Naldi L. et al. Risk factors for Histological Types and Anatomic Sites of Cutaneous Basal-Cell Carcinoma: An Italian Case-Control Study. *J. Invest. Dermatol*. 2007, 127, 935-944.

8. Ling G., Ahmadian A., Persson A. et al. PATCHED and p53 gene alterations in sporadic and hereditary basal cell cancer. *Oncogene*. 2001, 20, 7770- 78.

9. Reifemberger J., Wolter M., Knobbe C.B et al. Somatic mutations in the *PTCH*, *SMOH*, *SUFUH* and *TP53* genes in sporadic basal cell carcinomas. *Br. J. Dermatol*. 2005, 152, 43-51.

10. Hahn H., Wicking C., Zaphiropoulos P.G et al. Mutations of the human homolog of *Drosophila patched* in the nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Cell*. 1996, 85, 841 - 851.

11. Guiseppina G.M, Alanin S., et al. *TP53* mutation in Human skin cancers. *Human mutation*. 2003, 21, 217 - 228.

## Summary

### MUTATION *TP53* GENE IDENTIFICATION IN DIFFERENT FORMATS OF SKIN CANCER USING GENE SEQUENCING

Skin cancers are increasingly on the rise with a series of change agents disrupting cell division inducing unlimited proliferation and cell differentiation disorders; however, the body has mechanisms to protect against skin cancer. One of the main factors is P53 protein encoded by the *TP53* gene. When this gene is mutated, there is loss of function triggering tumor cells development . Research of *TP53* gene mutations in skin cancer tissue will contribute to understanding the mechanism causing cancer and support clinicians to plan for treatments especially radiotherapy. By gene sequencing of skin cancer of 63 patients initially, we identified mutation in gene *TP53* in different forms ; mutation in the exons held 27%, transformation in the intron segments accounted for 95.2%. We identified 52 transformation positions in gene *TP53*, of which 10 mutations were found in the exons and 42 changes in the intron segments.

**Keywords:** Skin cancer, gene mutation, sequencing, *TP53*.