

# 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư phổi là bệnh lý ác tính thường gặp nhất và là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu do ung thư trên thế giới, với khoảng 1,3 triệu ca mới mắc trong năm 2003. Ở Việt Nam, theo Nguyễn Bá Đức và cộng sự, năm 2006, ung thư phế quản - phổi chiếm 20% trong tổng số các ung thư, là ung thư phổ biến nhất ở nam giới và đứng hàng thứ ba trong số các ung thư ở nữ giới sau ung thư vú và ung thư dạ dày [1]. Tần suất chung của bệnh trên thế giới ngày càng tăng. Tại thời điểm phát hiện được bệnh, chỉ có 20% bệnh nhân bị ung thư phế quản - phổi có biểu hiện tại chỗ, 25% bệnh nhân đã có biểu hiện lan rộng đến các hạch bạch huyết khu vực, và 55% bệnh nhân đã có những biểu hiện di căn xa. Hiện nay, tỷ lệ sống sót của ung thư phế quản - phổi sau 5 năm kể từ khi chẩn đoán là 14% [2]. Như vậy, ung thư phế quản - phổi nguyên phát là một vấn đề lớn trong y tế và tiên lượng bệnh thường rất dè dặt.

Chẩn đoán ban đầu của ung thư phế quản - phổi hay nhầm với các bệnh phổi phế quản khác. Bệnh thường được phát hiện ở giai đoạn muộn, ảnh hưởng nhiều đến khả năng điều trị và chất lượng sống của bệnh nhân. Chẩn đoán ung thư phổi dựa trên các triệu chứng lâm sàng, X quang phổi chỉ có vai trò định hướng cho chẩn đoán. Chẩn đoán mô bệnh học giúp chẩn đoán xác định, phân loại được một số typ mô bệnh học của ung thư phế quản - phổi, tuy nhiên trong một số trường hợp chưa phân biệt được typ và dưới typ mô học, chưa đánh giá được sự tiến triển và tiên lượng của bệnh. Mặc khác, do hình ảnh vi thể trong ung thư phổi rất đa dạng, nên cần thiết có sự nghiên cứu sâu hơn về hình thái học tế bào ung thư và các tính chất của chúng trên sự hỗ trợ của các kỹ thuật hiện đại cũng như hiểu biết của chúng ta để có thể đưa ra các chẩn đoán chính xác hơn về bệnh học ung thư nói chung và ung thư phổi nói riêng, cũng như phản ánh được tiên lượng bệnh.

Song song với việc chẩn đoán bệnh học ở mức độ tế bào, việc điều trị

các bệnh ung thư nói chung và bệnh ung thư phổi nói riêng hiện nay đang có xu hướng điều trị tận gốc hay điều trị đích. Việc điều trị này cần thiết phải dựa vào các chẩn đoán bệnh học để xác định hình thái và tính chất cũng như nguồn gốc của tế bào. Tại Việt nam, đã có nhiều công trình nghiên cứu về ung thư phổi, nhưng tập trung chủ yếu về khía cạnh dịch tế học, chẩn đoán mô bệnh học và phương pháp điều trị. Nghiên cứu sự bộc lộ các dấu ấn hoá mô miễn dịch để xác định đặc tính của mô và nguồn gốc tế bào trong ung thư phổi và mối liên quan của chúng với một số triệu chứng lâm sàng, mô bệnh học cũng như yếu tố tiên lượng trong ung thư phổi hiện chưa được nghiên cứu nhiều. Xuất phát từ thực tế đó, trên cơ sở về những hiểu biết bước đầu miễn dịch học ung thư, và sự hỗ trợ của kỹ thuật hoá mô miễn dịch, tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: **“Nghiên cứu phân loại mô bệnh học ung thư biểu mô phổi theo WHO 2004 và IASLC/ATS/ERS 2011 có sử dụng dấu ấn hóa mô miễn dịch”**, với các mục tiêu sau:

- *Mục tiêu 1:* Xác định các typ mô bệnh học trong ung thư biểu mô phổi theo phân loại WHO 2004 và IASLC/ATS/ERS 2011 với sự hỗ trợ của hóa mô miễn dịch.
- *Mục tiêu 2:* Đánh giá tần suất bộc lộ các dấu ấn hóa mô miễn dịch và liên quan với typ mô bệnh học của ung thư biểu mô phổi.

## CHƯƠNG 1

### TỔNG QUAN TÀI LIỆU

#### 1.1. Dịch tễ học ung thư phổi

##### 1.1.1. Trên thế giới

Vào cuối thế kỷ XX, ung thư phế quản - phổi đã là một trong những nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trên thế giới. Đó là một bệnh hiếm vào đầu thế kỷ, nhưng sự phơi nhiễm với các tác nhân gây bệnh mới cùng với sự tăng tuổi thọ đã làm cho ung thư phế quản - phổi trở thành một tai họa của thế kỷ [3],[4].

Ung thư phế quản - phổi là nguyên nhân gây tử vong cao nhất trong các bệnh ung thư ở nam giới ở các nước công nghiệp hoá. Do tiên lượng xấu của nó, tỷ lệ mắc mới và tỷ lệ chết gần bằng nhau. Số trường hợp mới mắc hàng năm trên thế giới tăng lên đều đặn, 660.000 trường hợp vào năm 1980, gần 900.000 trường hợp vào năm 1985. Tỷ lệ mắc cao ở các nước công nghiệp hoá, thấp ở châu Phi và trung gian ở châu Á và Nam Mỹ. Từ năm 1985, tỷ lệ mắc giảm xuống ở các nước giảm tiêu thụ thuốc lá (Mỹ, Anh). Ở Pháp, tỷ lệ mắc mới hiện nay gần 25.000 trường hợp/năm, ổn định ở nam giới và tiếp tục tăng ở nữ giới, nhưng nam vẫn trội hơn nữ với tỷ lệ 9/1, trong khi là 2/1 ở Mỹ, nơi mà ở một số bang, ung thư phế quản - phổi ở nữ còn hay gặp hơn cả ung thư vú. Năm 1990, tử vong do ung thư phế quản - phổi ở Pháp là 77,9/100.000 dân ở nam giới và 6/100.000 dân ở nữ giới. Ở Anh năm 1991, ung thư phế quản - phổi là nguyên nhân tử vong của 22.000 nam và 10.000 nữ [5]. Năm 2000, tại Thượng Hải (Trung Quốc), tử vong do ung thư phế quản - phổi tăng lên từ 25,2-40/100.000 dân với mức tăng hàng năm là 1,79%, tỷ lệ mắc ở nam là 72,8/100.000, ở nữ là 30/100.000 dân. Ở Mỹ có 1,3 triệu người chết do ung thư phế quản - phổi vào năm 2000, trong đó có gần 1 triệu nam và hơn 300.000 nữ; hơn thế nữa, ung thư phế quản- phổi còn là bệnh ung thư

gây tử vong nhiều nhất ở nữ giới, cao hơn hẳn ung thư vú mặc dù tỷ lệ nữ mắc ung thư vú cao gấp 2,5 lần nữ ung thư phổi ở Mỹ. Trong vài thập niên gần đây, tỷ lệ tử vong do ung thư phế quản - phổi trên toàn thế giới tăng. Ung thư phế quản - phổi hay gặp ở tuổi từ 50 đến 75 tuổi, đỉnh cao là 65 tuổi [6].

### ***1.1.2. Ở Việt Nam***

Theo thống kê của Bộ Y tế, ung thư phổi đứng hàng thứ 2 về tỷ lệ tử vong của các loại ung thư hàng năm với cả hai giới nam và nữ. Mỗi năm cả nước có hơn 20.000 bệnh nhân ung thư phổi mới được phát hiện và có tới 17.000 trường hợp tử vong. Riêng tại Bệnh viện Phổi Trung ương, tính đến năm 2012, số người mắc bệnh này đến khám và điều trị lên tới 16.677 người. Theo số liệu của ghi nhận ung thư Hà Nội giai đoạn 2001-2004, ước tính hàng năm có 17.073 trường hợp mới mắc ung thư phế quản - phổi, trong đó 12.958 nam và 4.115 nữ và là ung thư đứng hàng đầu ở nam giới. Tỷ lệ mắc chuẩn theo tuổi là 40,2/100.000 dân ở nam và 10,6/100.000 dân ở nữ [7].

### **1.2. Mô bệnh học ung thư biểu mô phổi**

Từ những năm 80 của thế kỷ 20 bắt đầu xuất hiện quan niệm chia ung thư biểu mô phổi thành 2 nhóm lớn là ung thư biểu mô tế bào nhỏ và ung thư biểu mô không tế bào nhỏ. Nhóm thứ nhất chỉ bao gồm typ ung thư biểu mô tế bào nhỏ, nhóm kia bao gồm tất cả các tế typ mô bệnh học còn lại. Sự phân chia đơn giản này bắt nguồn từ thực tế lâm sàng là tất cả các ung thư biểu mô tế bào không nhỏ thích hợp với điều trị bằng phẫu thuật, còn các ung thư biểu mô tế bào nhỏ thì phần lớn thích hợp với xạ trị hay hóa trị. Sự xuất hiện của nhiều phân loại cho thấy tính phong phú về tạo mô học của UTP và đây là vấn đề được rất nhiều người quan tâm, song nó lại tạo ra sự không thống nhất về danh pháp, định nghĩa, cách áp dụng trong thực hành và do vậy, hạn chế khả năng hợp tác quốc tế. Trước thực trạng này, phân loại mô học các u phổi của WHO đã được xuất bản năm 1967 và phân loại mô học các u phổi lần thứ 2 đã được công bố năm 1981. Việc định typ có thể gặp khó khăn khi ở

những phần khác nhau của cùng một loại u lại có mức độ biệt hóa khác nhau, thậm chí có nhiều loại biệt hóa. Theo cách phân loại thường dùng cho các u của các cơ quan khác nhau thì có thể xác định typ mô học dựa trên các mô biệt hóa cao nhất được định tính bằng những tính từ đặc trưng cho mức độ biệt hóa của những phần kém biệt hóa nhất; nói cách khác đây là một “chia độ” mô học. Mặc dù phân loại này đã đáp ứng được những đòi hỏi của việc định typ mô bệnh học ung thư phổi khi đó, song không phải không có những nghiên cứu phân loại mới, ví dụ các u nhầy, ung thư tế bào nhân, ung thư đa hình, các u typ tuyến nước bọt... Những typ mô bệnh học mới này đã được các nhà bệnh học tái hiện lại, bổ sung, hoàn chỉnh thêm và là cơ sở cho phân loại mới của WHO lần thứ 3 (1999). Phân loại mới này có các mã hình thái học của phân loại quốc tế các bệnh u (ICD-O) và danh pháp hệ thống hóa về y học (SNOMED). Nếu so sánh phân loại lần thứ nhất (1967) và lần thứ hai (1981), người ta dễ dàng nhận thấy về cơ bản hai phân loại này không khác nhau nhiều, song phân loại lần thứ 3 có nhiều thay đổi so với hai phân loại trước đó, nhiều typ/thứ typ mới được thừa nhận và chưa từng có trong các phân loại trước đó.

Dù có nhiều phân loại mô học UTP của các tác giả hoặc nhóm tác giả đã công bố và được áp dụng trong thực hành lâm sàng ở nơi này, nơi khác, song kể từ khi có phân loại mô học ung thư phổi của WHO lần đầu tiên (1967), phân loại này ngay lập tức đã được đón nhận khá rộng rãi. Người ta hoan nghênh và đón nhận các phân loại của WHO vì những lý do chính sau: (1) Để xây dựng và hoàn thiện các phân loại này, WHO đã tập hợp được trí tuệ các nhà bệnh học phổi hàng đầu thế giới, do một Ban soạn thảo có uy tín (họ là những người có nhiều nghiên cứu về phân loại mô học UTP đã công bố) đảm trách, được nhiều Trung tâm bệnh học hàng đầu thế giới kiểm định, tái hiện lại và do đó nó mang tính hoàn thiện và tính tổng hợp về mặt tri thức. (2) Việc sử dụng loại của WHO sẽ mang lại hiệu quả trong việc tìm tiếng nói chung

trên toàn cầu, để so sánh đối chiếu các nghiên cứu giữa các quốc gia, khu vực và do vậy dễ dàng cho việc hợp tác nghiên cứu, phòng bệnh, phát hiện và điều trị ung thư phổi. (3) Các phòng xét nghiệm giải phẫu bệnh trên toàn thế giới đều có thể áp dụng được vì nó không đòi hỏi các kỹ thuật nhuộm đặc biệt.

Trong 3 phân loại mô học ung thư phổi và màng phổi của WHO, phân loại cập nhật lần thứ 3 (1999) có nhiều ưu điểm nổi bật so với các phân loại trước đó. Những điểm khác biệt là bảng phân loại không quá phức tạp, không quá chi tiết nên dễ áp dụng (gồm 9 typ), song thể hiện được các đặc điểm về mô bệnh học, phản ánh được tiên lượng bệnh tốt hơn, đặc tính sinh học của tất cả các typ u.

Năm 2004, WHO đã đưa ra một phân loại mới có sửa đổi về phân loại các bệnh của phổi và khối u màng phổi. Hệ thống phân loại khối u rất quan trọng trong việc chẩn đoán, lập kế hoạch điều trị bệnh nhân và để cung cấp cơ sở các nghiên cứu dịch tễ học và hình thái mô bệnh học.

Theo bảng phân loại mô bệnh học ung thư phổi - phế quản năm 2004 của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), ung thư biểu mô phổi được chia thành nhiều loại và được mã hóa.

Mới đây, bảng phân loại mô bệnh học ung thư phổi - phế quản năm 1999 và 2004 của Tổ chức Y tế Thế giới trở nên ít hữu ích hơn vì một quan điểm lâm sàng mới, do hầu hết các loại ung thư biểu mô tuyến typ hỗn hợp và ung thư biểu mô tuyến typ tiểu phế quản phế nang gây nhiều nhầm lẫn giữa các bác sĩ lâm sàng. Do đó, bảng phân loại ung thư tuyến mới đã được giới thiệu vào năm 2011 bởi một nhóm chuyên gia thuộc Hiệp hội Quốc tế về Nghiên cứu Ung thư phổi (IASLC), Hiệp hội lồng ngực Hoa kỳ (ATS) và Hiệp hội Hô hấp châu Âu (ERS). Các chuyên gia này đại diện cho các chuyên gia quốc tế về chuyên ngành bệnh học, sinh học phân tử, X-quang, bác sĩ phẫu thuật lồng ngực. Theo đó, bảng phân loại mới hiện nay phân biệt giữa tổn thương tiền xâm lấn, tổn thương xâm lấn tối thiểu và xâm lấn. Do thuật ngữ ung thư

biểu mô tiểu phế quản phế nang dễ nhầm lẫn nên không được sử dụng nữa và typ mới bao gồm ung thư biểu mô tuyến tại chỗ và ung thư biểu mô tuyến xâm lấn tối thiểu. Việc phân loại mới này nhấn mạnh typ mô bệnh học với tương quan của các kỹ thuật hình ảnh và tác động của nó về chẩn đoán, điều trị và tiên lượng bệnh. Phân loại mới này cũng sẽ có ảnh hưởng đến việc phân loại TNM. Bác sĩ phẫu thuật lồng ngực sẽ tiếp tục đóng một vai trò quan trọng trong việc áp dụng, đánh giá và nâng cao hơn nữa phân loại ung thư biểu mô tuyến mới này [8], [9], [10], [11], [12].

Mục đích phân loại mô bệnh học trong ung thư biểu mô phổi là đem lại sự thống nhất trong chẩn đoán bệnh học, thuận tiện cho việc ghi nhận ung thư và nghiên cứu khoa học cũng như phục vụ các bác sĩ lâm sàng trong việc lập kế hoạch điều trị.

### **1.3. Hóa mô miễn dịch**

#### ***1.3.1. Kỹ thuật hóa mô miễn dịch***

Hóa mô miễn dịch (HMMD) là sự kết hợp giữa mô học và miễn dịch học nhằm xác định sự biểu hiện của một kháng nguyên riêng biệt của một mô và tình trạng kháng nguyên khác nhau của các tế bào trong cùng một mô, dựa vào tính chất đặc hiệu cao của các kháng thể để xác định các kháng nguyên riêng biệt. Từ đó nhận dạng đặc hiệu dòng các quần thể tế bào, xác định được các đặc tính sinh học và chức năng các tế bào trong cùng một dòng.

Trong lĩnh vực giải phẫu bệnh ngoại khoa, HMMD góp phần quan trọng nâng cao chất lượng chẩn đoán. Kỹ thuật HMMD có thể áp dụng trên các tiêu bản cắt từ bệnh phẩm đúc paraffin, tiêu bản tế bào học và tiêu bản cắt lạnh từ các bệnh phẩm mô và dịch cơ thể. Có thể nói việc thực hiện thành công kỹ thuật nhuộm hóa mô miễn dịch trên các mảnh vùi trong paraffin là một cuộc cách mạng trong bệnh học phân tử.

Có nhiều kháng nguyên rất bền vững, nhưng cũng có những kháng nguyên rất nhanh bị phân hủy, một số kháng nguyên chỉ tồn tại trên tiêu bản

cất lạnh nhưng lại bị mất tính kháng nguyên trong quá trình chuyển đúc. Do vậy công tác kỹ thuật sau khi lấy bệnh phẩm là hết sức quan trọng.

HMMD đang được ứng dụng rất rộng rãi trong lĩnh vực chẩn đoán các bệnh ung thư, trong đó có bệnh ung thư phổi, một trong 10 loại ung thư phổ biến nhất hiện nay. Tại Việt Nam, việc nghiên cứu bộc lộ các sản phẩm gen và các dấu ấn miễn dịch bằng nhuộm HMMD trong ung thư biểu mô phổi còn chưa được nghiên cứu nhiều. Tìm hiểu nguyên lý của phương pháp HMMD và các dấu ấn miễn dịch là cơ sở cho các nhà giải phẫu bệnh trong việc góp phần chẩn đoán chính xác bệnh ung thư phổi.

### ***1.3.2. Các nguyên lý của phương pháp hóa mô miễn dịch***

HMMD là một kỹ thuật nhuộm đặc biệt, sử dụng kháng thể (KT) đặc hiệu để xác định sự hiện diện của các kháng nguyên (KN) tương ứng trên các lát cắt mô học hoặc trên các loại tế bào có trong mô. Nguyên tắc là cho KT đặc hiệu lên mô, nếu trong mô có KN sẽ có phản ứng kết hợp KN - KT. Có 2 cách quan sát phức hợp này:

+ Miễn dịch huỳnh quang: KT được gắn với một chất phát huỳnh quang (quan sát kết quả dưới kính hiển vi huỳnh quang).

+ Miễn dịch enzym: KT được gắn với một loại enzym, enzym này xúc tác cho một phản ứng hóa học để chuyển một chất không màu thành một chất có màu (quan sát được dưới kính hiển vi quang học).

- ***Kháng nguyên:*** các KN thường là các protein, một số khác là carbohydrat, có thể từ ngoài cơ thể vào (vi khuẩn, độc tố, virus,...) hoặc từ trong cơ thể (các tơ trung gian, các thụ thể hormon, các protein là sản phẩm của đột biến gen..., có thể hiện diện ở bào tương, màng tế bào hoặc nhân).

Quyết định KN (epitop) là một phần nhỏ của KN, nơi tiếp xúc với KT. Một KN có thể có vài epitop, mỗi epitop được nhận biết bởi một KT riêng biệt. Trong qui trình nhuộm HMMD, cần bộc lộ epitop trước khi cho tiếp xúc



với KT.

- **Kháng thể:** là các protein nhận biết và kết nối với KN đặc hiệu, mỗi KT có ít nhất hai vị trí kết nối KN. KT chủ yếu là IgG, tiếp đến là IgM. KT kết hợp trực tiếp với KN gọi là KT thứ nhất. Tùy theo cách sản xuất, có 2 loại KT:

+ KT đa dòng: được sản xuất bằng cách gây miễn dịch ở động vật với KN đặc hiệu. Động vật đáp ứng miễn dịch và tạo ra kháng huyết thanh bao gồm nhiều loại KT đặc hiệu và không đặc hiệu. Sau đó KT được làm tinh khiết (loại bỏ các KT không cần thiết). KT đa dòng có thể kết hợp với nhiều vị trí của một KN nên độ nhạy cao, tăng khả năng phát hiện. Tuy nhiên, KT đa dòng có thể chứa các KT phản ứng không đặc hiệu với các KN nên có khuynh hướng nhuộm nền cao.

+ KT đơn dòng: được sản xuất bằng kỹ thuật u lai, phối hợp khả năng tạo KT đặc hiệu từ tương bào với lympho bào B ở lách động vật được gây miễn dịch, hình thành nhiều dòng tế bào u lai sản xuất ra KT đặc hiệu. Các tế bào này được lựa chọn và nhân giống trong môi trường nuôi cấy tế bào. KT đơn dòng được sản xuất ra từ một dòng của tế bào u lai nên rất tinh khiết, chỉ phản ứng với một loại quyết định KN. Tuy nhiên, vì KT đơn dòng chỉ phản ứng với một vị trí đặc hiệu chứ không phải toàn bộ KN nên ít nhạy hơn so với KT đa dòng. Hơn nữa, một số KT đơn dòng chỉ phản ứng được trên tiêu bản cắt lạnh.

Cấu trúc của KT có hình chữ Y với 4 chuỗi protein, gồm 2 chuỗi nhẹ và 2 chuỗi nặng. KT có hai vùng:

+ Vùng thay đổi (Fab): hai phần đầu của nhánh chữ Y chứa vị trí kết nối KN.

+ Vùng ổn định (Fc): phần gốc của chữ Y, đây là vùng rất quan trọng vì có thể kết nối với bộ thể hay các tế bào.

- **Hệ thống nhận biết:** vì các phức hợp KN - KT không quan sát thấy được dưới kính hiển vi quang học nên cần một hệ thống để hiển thị vị trí có phản ứng KN-KT. Hệ thống này gồm 2 phần: KT thứ 2 (KT bắc cầu) và hệ

thống phóng đại dấu hiệu nhận biết (gồm enzym, các phân tử phát hiện, chất kết nối và chất màu).

+ Kháng thể thứ hai (KT bắc cầu, KT kết nối): là KT phản ứng đặc hiệu với KT thứ nhất sau khi KT này đã gắn với KN. Nó phản ứng với phân tử globulin miễn dịch huyết thanh của động vật đã sản xuất KT thứ nhất. KT thứ hai thường được gắn biotin và được coi như kit phát hiện chung.

+ Các enzym: enzym là một protein gây ra sự thay đổi hoá học của các chất khác nhưng bản thân nó không thay đổi, enzym đóng vai trò như chất chỉ điểm. Trong kỹ thuật HMMD, enzym cần phải đảm bảo được các điều kiện sau:

- Phải tạo ra một sản phẩm phản ứng mà không thể hoà tan, màu rõ ràng, kết tủa trực tiếp tại sản phẩm đó.

- Phải được bền vững ở nhiệt độ phòng, có thể sản xuất được nhiều và có thể duy trì hầu hết các hoạt động của nó sau khi đã kết nối.

Chỉ có một vài loại enzym đáp ứng được những nhu cầu trên, hai loại enzym được sử dụng rộng rãi do sản xuất dễ và giá thành thấp là peroxidase, được chiết xuất từ rễ cây cải ngựa và phosphatase kiềm (Alkaline phosphatase), chiết xuất từ E.Coli hoặc từ đại tràng.

+ Các phân tử phát hiện: protein A, biotin và avidin là những phân tử phát hiện. Các IgG hoặc những đoạn của nó phải ở dạng đã được tinh chế. Sự kết nối tốt chỉ có thể đạt được khi đoạn phân tử IgG lấy từ huyết thanh được sử dụng như một chất khởi động. Cần lưu ý, các KT không được lẫn với các protein, các peptid hoặc những chất khác có chứa nhóm amino.

Chất kết nối: những chất này phải có hai chức năng:

- Có thể phản ứng với enzym.

- Phản ứng đồng thời hoặc tiếp theo với phân tử phát hiện để hình thành cầu nối giữa các kháng thể.

Sự kết nối hoá học gây nên bởi cầu nối này phải không bị thay đổi và không bị phá huỷ bởi các hoạt động của enzym và của kháng thể. Càng giữ cho hoạt động sinh học của các thành phần này tốt thì quá trình kết nối càng được thực hiện tốt.

+ Chất tạo hợp chất màu: dùng để tạo ra một sản phẩm màu tại vị trí kết hợp KN-KT mà có thể quan sát được trên kính hiển vi quang học. Phản ứng này cũng để chứng minh sự có mặt của enzym. Hiện nay, các phòng xét nghiệm HMMD thường sử dụng diaminobenzidine (DAB), loại này tạo ra một sản phẩm màu nâu, bền vững trong nhiều năm. Ngoài ra, người ta còn sử dụng 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC), tạo ra sản phẩm màu đỏ mà không bị nhầm với sắc tố melanin, vì vậy AEC hay được dùng trong các bệnh của da. AEC hay bị hoà tan trong các dung môi của mô, vì thế phải cần một số vật liệu đặc biệt cho việc gắn. Mặt khác, sản phẩm màu của AEC không bền vững, dễ bị phai màu theo thời gian và nó cũng là một chất có thể gây ung thư nên AEC ít được sử dụng hơn DAB. Hiện nay cũng có một số chất tạo màu tạo ra những sản phẩm phản ứng màu khác như chloronaphthol để tạo ra sản phẩm màu xanh.

### **Các kỹ thuật nhuộm miễn dịch enzym**

+ Miễn dịch enzym trực tiếp: KN mô kết hợp với KT thứ nhất có gắn enzym, phương pháp này đơn giản, nhanh, có tính đặc hiệu nhưng ít nhạy do thiếu hệ thống phóng đại dấu hiệu nhận biết.

+ Miễn dịch enzym gián tiếp (phương pháp cầu nối): gồm KN mô + KT thứ nhất + KT thứ hai (kháng Ig loài của KT thứ nhất) gắn với hệ thống phóng đại dấu hiệu nhận biết.

Hiện nay có nhiều phương pháp nhuộm hóa mô miễn dịch tùy thuộc vào điều kiện của các phòng xét nghiệm giải phẫu bệnh và sự quen dùng của các kỹ thuật viên, trong đó phương pháp miễn dịch men gián tiếp tỏ ra có nhiều

ưu điểm hơn so với phương pháp gắn trực tiếp:

+ Có thể dùng nhiều loại KT thứ nhất khác nhau.

+ Hệ thống phóng đại dấu hiệu nhận biết chỉ gắn với KT thứ hai và có thể tạo ra nhiều vị trí gắn phức hợp nhận biết trên KT thứ hai.

+ KT thứ nhất thường được pha loãng hơn, do đó giảm nhuộm nền hơn.

Các phương pháp thường dùng là:

+ Phương pháp enzym chống enzym (Peroxydase-antiperoxydase): KN mô + KT thứ nhất + KT thứ hai gắn phức hợp enzym chống enzym (peroxydase-antiperoxydase).

+ Phương pháp cầu nối Avidin-Biotin (Avidin-Biotin conjugate), (phương pháp ABC): KN mô + KT thứ nhất + KT thứ hai gắn phức hợp Avidin, Biotin và peroxydase.

+ Phương pháp cầu nối Biotin-streptavidin: KN mô + KT thứ nhất + KT thứ hai gắn phức hợp Biotin, Streptavidin và peroxydase.

+ Phương pháp phosphatase kiềm - kháng phosphatase kiềm (Alkaline phosphatase - antialkaline phosphatase) (phương pháp APAAP).

### ***1.3.3. Yêu cầu kỹ thuật***

Một chất được định vị trong mô trên HMMD phải có các tiêu chuẩn sau:

- Chất đó đã tinh chế sẵn dưới dạng kháng nguyên tương đối thuần khiết (để sản xuất kháng thể đặc hiệu).

- Sự bảo toàn (ít nhất một phần) của chất kháng nguyên muốn định vị trong quá trình thao tác kỹ thuật mô học và HMMD.

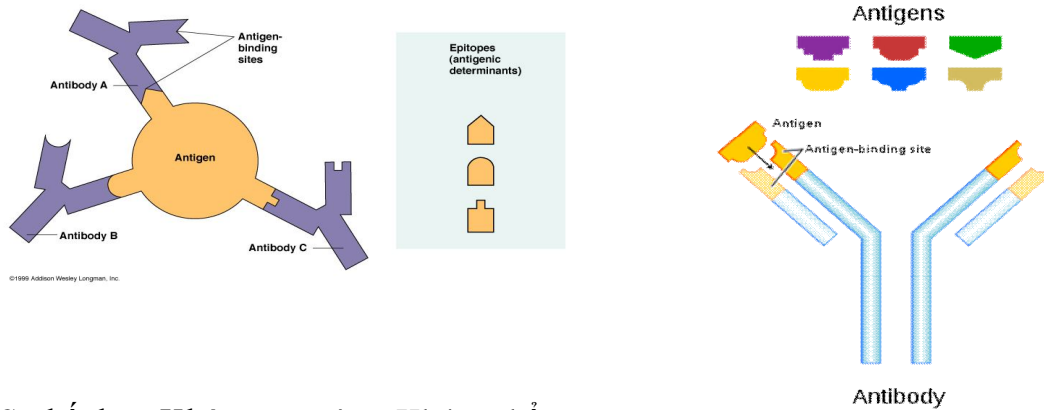
Khi hai điều trên được tôn trọng, kỹ thuật HMMD có thể được thực hiện có hiệu quả.

### ***1.3.4. Phương pháp***

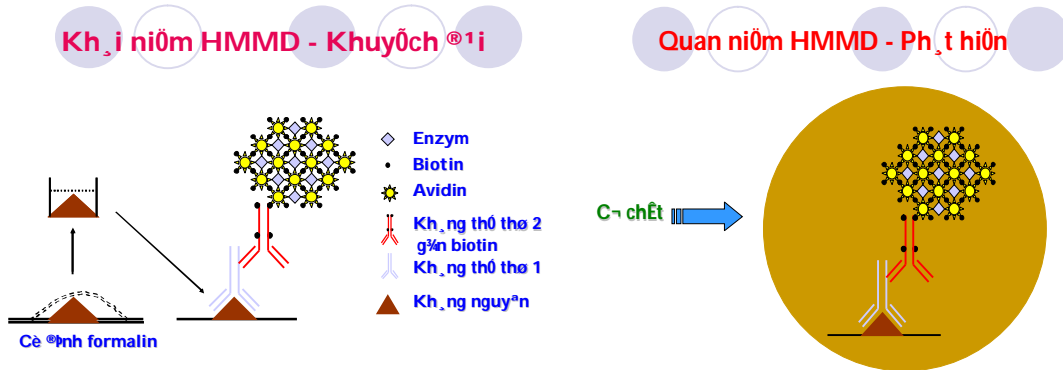
- Vật liệu kháng nguyên (KN) có mặt trong một mô và đặc biệt hơn trong một lát cắt mô phản ứng đặc hiệu với một kháng thể (KT) chống lại nó. Phản ứng miễn dịch này gây một lắng đọng của một KT đặc hiệu trên vùng mô có KN. Kháng thể này được gắn với một enzym, ban đầu người ta gắn với phosphatase acid, nhưng sự kết gắn này khó và không ổn định. Hiện nay người ta gắn với peroxydase ổn định hơn và có thể bảo quản lâu hơn ở 4<sup>0</sup>C.

- Trong kỹ thuật miễn dịch men avidin - biotin, ái lực cao giữa avidin với biotin được sử dụng để ghép cặp peroxidase đánh dấu với kháng thể thứ nhất. Có các phương pháp khác nhau được sử dụng để làm tăng độ nhạy của kỹ thuật. Mục đích của nó là bộc lộ vị trí KN, nó có thể bị che đậy, vì vậy người ta gọi bước này là “bộc lộ KN” hoặc “phục hồi KN”. Kỹ thuật này có thể là làm tiêu với nhiều loại enzym tiêu protein, xử lý bằng lò vi sóng hoặc cho tiếp xúc với tác động kết hợp của nhiệt và áp suất trong nồi áp suất.

HMMD đã thay thế nhiều KT thường qui và ở chừng mực nhất định, đã có nhiều áp dụng chẩn đoán trên hiển vi điện tử. Tuy thế, giống như các kỹ thuật khác, cũng có nhiều cạm bẫy, đó là hoạt động của peroxydase nội sinh và nhuộm nền. Để loại bỏ các yếu tố này, có hai điều quan trọng là khử hoạt động của peroxydase nội sinh bằng hydrogen peoxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) và pha loãng KT ở nồng độ loãng tối ưu nhất. Cần tiến hành các kỹ thuật một cách tỉ mỉ, kiểm tra thường xuyên hoạt động kháng thể, chứng âm và chứng dương.



Sự kết hợp Kháng nguyên - Kháng thể



Hình 1.1: Phương pháp HMMD

**Các bước tiến hành**

- Chuẩn bị tiêu bản
- Cắt tiêu bản
- Chuẩn bị dung dịch Tris-Bufer-Saline (TBS)
- Phục hồi nhóm quyết định kháng nguyên (Epitop Retrieval Techniques)
- Khử hoạt động men nội sinh
- Pha loãng kháng thể
- Nhuộm tiêu bản:

Phương pháp ABC được thực hiện theo các bước:

1. Tiêu bản sau khi tẩy paraffin được nhúng nước cất 2 lần x 5 phút
2. Khử peroxydase nội sinh bằng dung dịch  $H_2O_2$  x 5 phút
3. Rửa tiêu bản bằng nước cất 2 lần x 2 phút
4. Bộc lộ KN bằng protein K hoặc nồi áp suất hoặc lò vi sóng
5. Rửa nước cất 2 lần x 2 phút
6. Rửa tiêu bản bằng dung dịch TBS 2 lần x 2 phút
7. Khử các protein không đặc hiệu với huyết thanh ngựa thường 1% x 5 phút (không được rửa)
8. Phủ KT thứ nhất x 60 phút
9. Rửa tiêu bản TBS 2 lần x 5 phút
10. Phủ KT thứ hai x 30 phút
11. Rửa tiêu bản TBS 2 lần x 5 phút
12. Phủ phức hợp Avidin-Biotin Conjugate (ABC) x 30 phút
13. Rửa tiêu bản TBS 2 lần x 5 phút

14. Phủ dung dịch Diaminno Benzidine (DAB) x 10 phút

15. Rửa nước chảy x 5 phút

16. Nhuộm nhân bằng hematoxyline hoặc xanh methyl x 20-30 giây

Khử nước, làm sạch tiêu bản rồi đọc kết quả trên kính hiển vi quang học

### **Đánh giá kết quả nhuộm**

Điều kiện đọc kết quả:

+ Phải có tiêu bản chứng âm (trong quá trình nhuộm bỏ qua giai đoạn KT thứ nhất) và chứng dương (nhuộm kèm với tiêu bản mô đã biết chắc chắn là dương tính), có thể dùng chứng dương ngay trong tiêu bản nhuộm, được gọi là nội chứng.

+ Phải đối chiếu với tiêu bản nhuộm HE để biết vùng cần đọc kết quả là vùng nào.

+ Biết rõ vị trí KN cần xác định ở nhân, bào tương hay màng tế bào.

Đọc kết quả:

+ Âm tính: chỉ có màu xanh của nhân.

+ Dương tính: màu vàng nâu (nếu dùng màu DAB), màu đỏ (nếu dùng màu AEC), màu xanh (nếu dùng màu chloronaphthol).

### **1.3.5. Ý nghĩa**

HMMD có thể xác định những đặc tính sau của mô:

- Các tế bào có hình thái kém biệt hóa hoặc không biệt hóa, quá sản hoặc tân sản. Việc xác định nguồn gốc mô học thay đổi tùy loại tế bào và mô.



- Số lượng các thành phần tế bào trong quá trình phát triển của bệnh. Mỗi tương quan giữa tỷ lệ các tế bào mang một loại kháng nguyên nào đó có thể có quan hệ với sự tiến triển của bệnh. Tỷ lệ các tế bào u mang các kháng nguyên nhất định có thể dự báo các bệnh khác nhau, đồng thời cho phép chẩn đoán chính xác bệnh và các tác nhân nhiễm khuẩn.

- Nồng độ thực tế của các kháng nguyên trong tế bào u có thể dự đoán độ ác tính của u đó cũng như dự đoán sự đáp ứng của tế bào u với điều trị.

- Xác định vị trí của các kháng nguyên và sự phân bố của nó trong tế bào và tổ chức, từ đó cung cấp các tiêu chuẩn mới cho chẩn đoán và đánh giá bệnh một cách chính xác hơn.

#### **1.4. Một số dấu ấn hóa mô miễn dịch trong ung thư biểu mô phổi**

##### **1.4.1. p53**

p53 là một protein quan trọng trong điều hòa chu kỳ tế bào - gọi là gen áp chế khối u p53. Khi có tổn thương ở DNA, p53 làm ngừng chu trình tế bào cho đến khi DNA bị tổn thương được sửa chữa hoặc p53 có thể làm cho tế bào chết theo chương trình nếu không còn khả năng sửa chữa DNA.

Những đột biến mất chức năng p53 làm tăng tính bất ổn định di truyền và làm giảm chết tế bào theo chương trình. Người ta phát hiện thấy trên 50% người mắc các bệnh về ung thư (như ung thư vú, ung thư đại tràng, ung thư phổi, ung thư gan...) đều có những điểm khác biệt trên gen mã hoá p53 so với người bình thường [13], [14], [15].

Gen p53 nằm trên đoạn ngắn của nhiễm sắc thể số 17. Gen này có nhiều chức năng, tham gia vào quá trình điều hoà chu kỳ tế bào và ức chế sự chết theo chương trình. Đột biến gen p53 rất hay gặp ở nhiều loại ung thư ở người, hầu hết là các đột biến điểm trong đoạn exon 5 đến 9. Kết quả đột biến là gen này mất chức năng và tạo ra các sản phẩm gọi là protein p53 đột biến (mp53). Những sản phẩm này trở nên bền vững hơn và gây tích tụ với nồng độ cao

trong nhân tế bào và người ta có thể phát hiện được bằng phương pháp nhuộm hoá mô miễn dịch. Sử dụng phương pháp hoá mô miễn dịch nhằm phát hiện các sản phẩm gen này và các kháng nguyên ở ung thư phổi giúp cho việc chẩn đoán và phân loại bệnh này chính xác hơn [16], [17], [18].

#### **1.4.2. p63**

Một thành phần khác của họ p53 là p63, nó có ý nghĩa trong sự phát triển của mô biểu mô và những ung thư biểu mô tế bào vảy [19]. Sự bộc lộ của p63 đã được đánh giá trong 408 trường hợp ung thư phổi bằng vi dây mô trong hai phòng thí nghiệm khác nhau bởi Au và CS [20]. Phần lớn những ung thư biểu mô tế bào vảy của phổi bộc lộ p63, cũng như một số lượng lớn ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào lớn và ung thư biểu mô tế bào nhỏ. Sự bộc lộ của p63 được nhận biết là có ý nghĩa tiên lượng trong ung thư biểu mô thần kinh nội tiết độ cao. Trên quan điểm thực hành, các tác giả này sử dụng sự bộc lộ p63 như một dấu ấn của biệt hóa tế bào vảy. Một số tác giả đã đánh giá sự bộc lộ p63 của nhân bằng hóa mô miễn dịch của 33 trường hợp ung thư biểu mô tuyến, 43 trường hợp phổi lành tính với xơ hóa và dị sản, 5 trường hợp ung thư biểu mô tuyến vảy và 3 trường hợp ung thư biểu mô vảy. Những bệnh lành tính của phổi bao gồm phế viêm kẽ thông thường, sẹo nhu mô, phế viêm tổ chức hóa và tổn thương phế nang lan tỏa. Trong phổi bình thường, p63 bộc lộ trong những tế bào ngẫu nhiên của đơn vị tiểu thùy xa. Trong quá trình phản ứng xơ, nhuộm nhân được quan sát thấy ở tế bào đáy của đường thở và trong biểu mô tiểu phế quản và dị sản vảy. Phản ứng miễn dịch của p63 được nhận xét là bộc lộ kém đồng đều trong tổn thương phổi cấp. Phản ứng mạnh được phát hiện ở 1 trong 33 ung thư biểu mô của 2 trong 5 quá sản u tuyến không điển hình. Ba trường hợp ung thư biểu mô tuyến của phổi chỉ dương tính ở rất hiếm các tế bào u. Các tác giả đi đến kết luận là kết quả của họ chứng minh sự bộc lộ p63 khác nhau qua những tổn thương tiểu phế quản phế nang khác nhau và p63 có thể có lợi trong phân biệt những tăng sinh phản ứng

với những tăng sinh tuyến u trong phổi [20],[21].

### **1.4.3. Nhóm Cytokeratin**

Là nhóm gồm các protein có thể hòa tan trong nước có trọng lượng phân tử nằm trong khoảng 40-79 kD. Chúng được tìm thấy ở cấu trúc vi ống, cấu trúc được xem như là khung xương của các tế bào biểu mô. Có 20 cytokeratin đã được xác định, đánh số từ 1 đến 20 và chúng được chia thành 2 dưới nhóm là nhóm I và nhóm II.

+ Nhóm I bao gồm các cytokeratin acid (Acidic cytokeratins) ( $pI < 5.5$ ), đánh số từ 9 đến 20.

+ Nhóm II bao gồm các cytokeratin base (Basic cytokeratins) ( $pI > 6$ ), đánh số từ 1 đến 8.

Mỗi Cytokeratin nhóm I sẽ bắt cặp với một Cytokeratin nhóm II và trong tất cả các tế bào biểu mô đều chứa ít nhất 2 loại Cytokeratin, ngoại trừ Cytokeratin 19 là chỉ tồn tại riêng lẻ không theo cặp. Các Cytokeratin cũng có thể được phân chia theo trọng lượng phân tử, nhóm có trọng lượng phân tử thấp (như 8, 18 và 19) và nhóm có trọng lượng phân tử cao (như 1, 5, 10 và 14).

Các kháng thể được sử dụng để phát hiện những u phổi không phải thần kinh nội tiết bao gồm những dấu ấn keratin. Hai mươi loại phân tử tồn tại và được phân loại. CK7 bộc lộ trong nhiều tế bào biểu mô của phổi, mặc dù được tìm thấy trong nhiều loại tế bào biểu mô khác và nhiều loại ung thư biểu mô của phổi. CK7 là loại phân tử keratin được tìm thấy phổ biến nhất trong ung thư biểu mô tuyến của phổi. CK5 được tìm thấy chủ yếu trong ung thư biểu mô tế bào vảy. Khi sử dụng chẩn đoán, CK7 thường được sử dụng với CK20 và những kháng thể không keratin khác trong chẩn đoán và phân loại những u tuyến. Hầu hết những ung thư biểu mô phổi tiên phát chứa nhiều loại phân tử keratin, với ngoại lệ ung thư biểu mô tế bào nhỏ, nó thường chứa những keratin trọng lượng phân tử thấp bao gồm CK7 [22].

Chu và CS (2000), đã đánh giá 435 u biểu mô từ những cơ quan khác nhau sử dụng hóa mô miễn dịch với những kháng thể CK7 và CK20 [23]. CK7 được tìm thấy trong nhiều loại ung thư, với ngoại lệ những ung thư biểu mô phát sinh từ đại tràng, tuyến tiền liệt, thận và tuyến ức, những u carcinoid của phổi và đường tiêu hóa và những u tế bào Merkel của da. Phần lớn những ung thư biểu mô vảy từ những cơ quan khác nhau âm tính với CK7, với ngoại lệ ung thư biểu mô vảy của cổ tử cung. CK20 cũng dương tính trong gần như tất cả những ung thư biểu mô đại trực tràng và ung thư biểu mô tế bào Merkel.

#### ***1.4.4. TTF-1***

TTF-1 là yếu tố phiên mã chứa vùng đồng đều (homeodomain), bộc lộ trong tuyến giáp, não trung gian và phổi. TTF-1 điều hoà sự bộc lộ của các gen thyroperoxidase và thyroglobulin trong tuyến giáp. Trong phổi, TTF-1 giữ vai trò quan trọng trong sự bộc lộ đặc hiệu của những protein hoạt tính bề mặt A, B, C và những protein chế tiết của tế bào Clara. Ở phổi, dấu ấn này được báo cáo dương tính trong 72,5% UTBM tuyến, 10% trong UTBM vảy, 26% UTBM tế bào lớn, 75% UTBM thần kinh nội tiết tế bào lớn, trên 90% UTBM tế bào nhỏ và 100% u tuyến phế nang. Trái lại, chỉ 2 trong số 286 UTBM tuyến thuộc các tốp không phải của phổi và tuyến giáp có phản ứng miễn dịch của TTF-1 [24].

Trong một nghiên cứu về UTBMTG và UTBM phổi, Kaufmann và Dietel đã chứng minh rằng, phản ứng dương tính với protein hoạt tính bề mặt A ở 3 trong số 7 UTBMTG dưới dạng ổ.

#### ***1.4.5. Ki-67***

Trong số các dấu ấn sinh học trong ung thư phổi, Ki67 là một yếu tố hữu ích dự báo ung thư phổi. Ki-67 là một kháng nguyên ung thư, được tìm thấy trong sự tăng sinh và phân chia của tế bào và nhân, hiện diện ở kỳ hoạt động của tế bào (G1, S, G2 và phân bào), và vắng mặt trong kỳ nghỉ

ngoi (G0) là một protein nhân liên quan đến các quy luật tiến triển của tế bào. Một số nghiên cứu đã cho thấy mối liên quan giữa Ki-67 và sống thêm ở những bệnh nhân ung thư phổi. 49% bệnh nhân ung thư có Ki67 dương tính, 29% liên quan đến ung thư phổi không tế bào nhỏ (NSCLC), 1% liên quan ung thư biểu mô tế bào nhỏ (SCLC), 2% với khối u carcinoid. Về kết quả sống còn, Ki-67 là một yếu tố tiên lượng, nghĩa là khi Ki-67 tăng, tiên lượng của bệnh rất xấu [25].

#### ***1.4.6. NSE (Neuron Specific Enolase)***

NSE được phát hiện ở u nguyên bào thần kinh, ung thư biểu mô tế bào nhỏ và một số khối u ác tính khác. Sự bộc lộ của NSE gặp chủ yếu u nguyên bào thần kinh hoặc ung thư phổi typ tế bào nhỏ. Giá trị của NSE là một dấu hiệu cho bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, được đánh giá bằng cách sử dụng một kháng thể đơn dòng (MCAB) kháng NSE. NSE cũng có trong các tế bào thần kinh nội tiết ngoại vi và trong các peptid thần kinh nội tiết ở ruột và tụy. Ung thư tế bào nhỏ của phổi được xem như là u typ thần kinh nội tiết.

#### ***1.4.7. Napsin A***

Napsin A cũng là một dấu ấn có nhiều hứa hẹn, được phát hiện trong bào tương của tế bào phổi loại 2 và trong những đại thực bào phế nang. Nó là một aspartic protease có trọng lượng phân tử khoảng 38kDa liên quan đến quá trình lập trình chuỗi N và C tận của protein B bề mặt [26]. Ngoài ra, những nghiên cứu trên cũng khẳng định rằng những đánh giá mô học và tế bào học của ung thư phổi biểu mô tuyến với Napsin A có độ phù hợp cao giữa mô học và tế bào học.

#### ***1.4.8. Claudin***

Claudin là một trong những thành phần của phức hợp các protein trong liên kết chặt của tế bào và số lượng các liên kết này lại tỉ lệ nghịch với tiên lượng và các đợt bùng phát của bệnh nhân ung thư. Trong những dòng tế bào ung thư phổi, có sự bộc lộ thay đổi của các claudin 1, 2, 3, 4 và 7 đã được tìm

thấy [27]. Trong những nghiên cứu sử dụng những mẫu lấy từ các u có phân loại mô học khác nhau cho thấy sự bộc lộ claudin của chúng thay đổi tăng hoặc giảm khác nhau so với số lượng của chúng trong các tế bào phế quản và mô phổi bình thường [28]. Sự bộc lộ khác nhau của các claudin trong các loại ung thư phổi khác nhau có thể một phần liên quan đến nguồn gốc tế bào của chúng. Claudin 1 và 4 thì bộc lộ cao trong ung thư biểu mô tuyến và ung thư biểu mô phế quản phế nang trong khi claudin 2 và 5 bộc lộ thấp trong cả hai loại ung thư này [29]. Ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ cũng cho sự bộc lộ với claudin 2 cao hơn so với ung thư biểu mô tuyến [30].

Tổng kết lại, một số nghiên cứu gần đây đã cho thấy rằng: những thành phần của phức hợp đa protein liên kết chặt có thể thay đổi trong quá trình phát triển của ung thư phổi. Trong một vài trường hợp, sự tăng điều hòa protein một cách ấn tượng đã được quan sát thấy (gần như rất đáng kể, claudin-1 trong ung thư biểu mô tế bào vảy và claudin-5 trong ung thư biểu mô tuyến), và thường hơn là sự giảm bộc lộ được nhận biết [96]. Mặc dù không rõ bằng cách nào những thay đổi này ảnh hưởng lên cấu trúc cũng như chức năng của những mối liên kết chặt trong ung thư biểu mô nhưng người ta có cơ sở khi đưa ra giả thuyết rằng: sự giảm điều hòa chức năng kết dính của các mối liên kết chặt có thể làm tăng tính xâm lấn và di căn [109]. Ngoài ra, sự giảm điều hòa của một số protein liên kết chặt đã được chứng minh là làm tăng sự sinh sản biểu mô trong xương sống và các động vật có xương sống [31]. Sự phá vỡ phức hợp các protein trong liên kết chặt có thể cũng ảnh hưởng đến sự thiết lập và duy trì của kiểu hình được phân cực. Mặc dù nó vẫn còn chưa rõ vì sao và bằng cách nào sự bộc lộ bị thay đổi của bất kỳ protein liên kết chặt đặc hiệu nào là liên quan với sinh bệnh học ung thư, nhưng các nghiên cứu cũng cho thấy rằng nó có thể rất hữu ích trong mô bọc ung thư. Các nghiên cứu nhiều hơn nữa trong tương lai cần được thực hiện để có thể hiểu rõ hơn nữa bằng cách nào mà những bất thường

phân tử trong sự bộc lộ những protein liên kết chặt có thể góp phần vào quá trình hình thành u, và mở rộng phạm vi sử dụng của nó như là một công cụ chẩn đoán, tiên lượng và điều trị trong ung thư.

### **1.5. Các nghiên cứu trong và ngoài nước về vai trò của các dấu ấn miễn dịch trong ung thư phổi.**

#### **1.5.1. Trên thế giới**

Zhang và CS nghiên cứu sự bộc lộ TTF-1 ở 404 trường hợp ung thư phổi không tế bào nhỏ và 2 trường hợp bệnh phổi lành tính bằng phương pháp hóa mô miễn dịch cho kết quả là TTF-1 hoàn toàn âm tính ở nhóm bệnh phổi lành tính, dương tính ít với nhóm ung thư biểu mô vảy và những tế bào biểu mô phế nang bình thường cũng như mô phế quản bình thường. TTF-1 bộc lộ cao ở bệnh nhân nữ, không hút thuốc và không biểu hiện triệu chứng lâm sàng. Độ nhạy của TTF-1 trong việc chẩn đoán ung thư biểu mô tuyến của phổi có biệt hóa vừa và tốt là 84,0% với độ đặc hiệu 89,8% [32].

Zu và CS (2012) nghiên cứu sự bộc lộ TTF-1 và Ki67 bằng phương pháp hóa mô miễn dịch trên 62 trường hợp ung thư biểu mô tuyến của phổi cho kết quả là TTF-1 dương tính 58/62 trường hợp (93%) và Ki67 dương tính 22/62 trường hợp (35%). Những bệnh nhân bộc lộ mạnh với TTF-1 có liên quan có ý nghĩa với độ biệt hóa cao ( $p = 0,006$ ) và tương quan nghịch với sự bộc lộ Ki-67 ( $p = 0,016$ ). Các giả kết luận là TTF-1 có thể là một gen ức chế khối u dựa trên mối tương quan nghịch với hoạt động tăng sản và tăng chết tế bào chương trình của Ki67 [33].

Yu và CS (2013) nghiên cứu các dấu ấn NSE, CA125 và SCC trên 481 bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ cho kết quả là NSE dương tính trong 306 bệnh nhân (chiếm tỉ lệ 63,6%), CA125 dương tính 89 bệnh nhân (chiếm tỉ lệ 18,5%) và SCC dương tính trong 125 bệnh nhân (chiếm tỉ lệ 26,0%). Tỉ lệ sống thêm không bệnh cộng dồn 3 năm của nhóm không bộc lộ NSE và có bộc lộ NSE là 67,7% và 51,8% ( $p = 0,007$ ). Thời gian sống thêm

toàn bộ của nhóm có bộc lộ NSE thấp hơn nhóm không có bộc lộ NSE (34 tháng so với 48 tháng). Phân tích đa biến ngẫu nhiên mức NSE và giai đoạn lâm sàng cho thấy NSE có liên quan với tiên lượng xấu ở bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ có ý nghĩa về mặt thống kê ( $p < 0,05$ ) [34].

Sự thay đổi bộc lộ claudin-5 cũng có thể gặp trong một số loại ung thư khác ở người như: giảm bộc lộ trong các ung thư biểu mô thận và ung thư biểu mô tế bào gan đã được báo cáo trước đây [35]. Sự bộc lộ của claudin-5 trong mạch máu cũng như sự bộc lộ của nó trong những tế bào phế quản và tế bào phổi [28]. Sự bộc lộ cao của claudin-5 trong các tế bào nội mô có thể giải thích vì sao số lượng chuỗi mRNA claudin-5 lại giảm trong ung thư biểu mô tuyến (vì thành phần của nó hầu hết là các tế bào biểu mô) khi so sánh với nhu mô phổi bình thường (nơi mà mạch máu nuôi rất phong phú). Mặt khác, mức độ mRNA claudin-5 thì lại cao trong ung thư biểu mô tuyến khi so sánh với các tế bào phế quản. Trong ung thư biểu mô tế bào vảy, claudin-5 mRNA nhiều hơn (chỉ khi so với các tế bào phế quản bị tổn thương), mặc dù thiếu phản ứng miễn dịch trong các khối u này. Ngoài ra, những loại ung thư khác nhau cũng cho thấy có sự bộc lộ claudin-1 khác nhau và đặc biệt trong hầu hết nghiên cứu đều cho thấy claudin-1 có mối liên hệ có ý nghĩa với tiên lượng bệnh. Ví dụ, sự giảm bộc lộ claudin-1 đã được báo cáo là có mối liên quan với tình trạng tái phát ung thư và tăng độ ác tính của ung thư vú. Mất claudin-1 cũng đã được chứng minh là giữ một vai trò rất quan trọng để đạt được kiểu hình di căn trong các u hắc tố da [36], ung thư biểu mô tế bào gan [37] và ung thư tuyến tiền liệt [38].

Một nghiên cứu gần đây đã chứng minh Napsin A là một dấu ấn hóa mô miễn dịch có khả năng đặc hiệu cho ung thư phổi biểu mô tuyến trong các mẫu tế bào học. Napsin A được đánh giá trong các ung thư phổi được phẫu thuật cắt bỏ với tỷ lệ dương tính trong một nghiên cứu gần đây là 79/95 (83%) các trường hợp ung thư biểu mô tuyến và âm tính 100% (46/46) trường hợp



ung thư biểu mô vảy [39]. Theo Hirano và CS (2003), 39/43 trường hợp (90,7%) ung thư phổi biểu mô tuyến dương tính với Napsin A [40]. Nghiên cứu lớn của Bradley M và cộng sự cho thấy Napsin A phân biệt ung thư phổi biểu mô tuyến nguyên phát với ung thư phổi tế bào nhỏ nguyên phát có độ đặc hiệu là 100% (200/200) [41].

Trong những nghiên cứu trước đây về Napsin A đều cho thấy rằng độ nhạy cũng như độ đặc hiệu của nó đối với ung thư phổi biểu mô tuyến ít nhất là bằng hoặc cao hơn so với TTF-1 [42], [43], [44]. Lisa và CS (2010) nghiên cứu bệnh chứng với nhóm bệnh là 75 bệnh nhân ung thư phổi biểu mô tuyến và nhóm chứng là 95 mẫu tế bào học của các ung thư khác. Kết quả: TTF-1 và napsin A dương tính lần lượt trong 61/75 trường hợp (81,3%) và 49/75 trường hợp (65,3%). Độ nhạy và độ đặc hiệu của TTF-1 đều là 81%. Napsin có độ đặc hiệu cao hơn (96% so với 81%), nhưng độ nhạy thấp hơn (65% so với 81%). Napsin A hoàn toàn không cho phản ứng dương tính với ung thư biểu mô tế bào nhỏ hay trong các ung thư biểu mô khác không có nguồn gốc từ phổi ngoài trừ ung thư biểu mô tế bào thận. Nghiên cứu của tác giả cũng cho thấy Napsin A có độ nhạy cao hơn TTF-1 trong chẩn đoán các trường hợp ung thư phổi biểu mô tuyến biệt hóa cao hoặc biệt hóa vừa. Độ nhạy của Napsin A là 96% trong những mẫu ung thư biểu mô tuyến có dạng nhú, trong khi TTF-1 chỉ có độ nhạy là 78%. Độ nhạy của Napsin A và TTF-1 tương đối bằng nhau đối với những mẫu ung thư biểu mô tuyến phế quản phế nang tiết nhày hay không tiết nhày [45].

Những nghiên cứu ở trên chứng minh rằng: sự bộc lộ đặc hiệu mô của napsin A trong chẩn đoán ung thư phổi biểu mô tuyến nguyên phát. Ngoài sự đặc hiệu của nó trong chẩn đoán ung thư phổi biểu mô tuyến, các nghiên cứu gần đây còn tập trung vào giá trị của napsin A trong việc chẩn đoán ung thư phổi biểu mô tuyến nguyên phát với các ung thư biểu mô tuyến của các cơ quan khác di căn đến phổi. Như trong nghiên cứu của Ueno: xem xét sự bộc

lộ của napsin A trong 118 mẫu ung thư phổi bao gồm cả 16 trường hợp ung thư phổi do di căn bằng phép lai tại chỗ cho thấy: napsin A bộc lộ trong 33/39 trường hợp ung thư phổi biểu mô tuyến nguyên phát (84,6%) nhưng chỉ bộc lộ trong 1 trường hợp ung thư biểu mô tuyến di căn từ thận, còn lại tất cả các loại ung thư phổi di căn khác đều âm tính với napsin A [44]. Suzuki et al cho thấy: napsin A bộc lộ trong 70/83 trường hợp (84,3%) ung thư phổi biểu mô tuyến nguyên phát nhưng lại hoàn toàn âm tính với 32/32 trường hợp ung thư biểu mô tuyến của phổi do di căn từ nơi khác đến (đại tràng, dạ dày, vú, tử cung, tuyến giáp và tuyến dưới hàm) và ngay cả trong các mẫu ung thư biểu mô tuyến lấy từ các vị trí nguyên phát (dạ dày, đại tràng, vú và tuyến giáp) cho di căn đến phổi cũng cho kết quả âm tính [46]. Hirano và CS nghiên cứu 109 trường hợp ung thư phổi gồm: 76 trường hợp ung thư phổi nguyên phát và 33 trường hợp ung thư biểu mô tuyến di căn đến phổi từ các cơ quan khác) cho kết quả: 39/43 trường hợp (90,7%) ung thư phổi biểu mô tuyến dương tính với Napsin A. Còn lại những ung thư biểu mô tuyến hay u trung biểu mô (mesothelioma) di căn đến phổi đều cho kết quả âm tính [40].

Một số nghiên cứu cũng đi sâu vào tìm hiểu mối liên quan giữa Napsin A với các yếu tố lâm sàng và tiên lượng trong bệnh ung thư phổi như: Nghiên cứu của Bishop và CS [39] cũng chứng minh sự bộc lộ của Napsin A và TTF-1 bị giảm đi ở những trường hợp ung thư biểu mô biệt hóa kém. Lisa M và cộng sự: Napsin A dương tính trong 95% trường hợp ung thư biểu mô tuyến phế quản phế nang không tiết nhày, trong 96% trường hợp ung thư phổi biểu mô tuyến dạng nhú và 65% trường hợp ung thư phổi biểu mô tuyến biệt hóa kém [45]. Nghiên cứu của Zhang và CS cho thấy sự bộc lộ của Napsin A thường gặp ở những bệnh nhân chưa có di căn hạch hay không có triệu chứng di căn, hoặc kích thước khối u < 3cm so với nhóm còn lại, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Nó cũng cho thấy sự bộc lộ Napsin nhiều hơn ở nhóm ung thư phổi biểu mô tuyến có độ biệt hóa càng cao. Và khi phân tích các yếu tố lâm sàng, tác giả nhận thấy Napsin A thường thấy ở đối tượng bị ung thư phổi

biểu mô tuyến là phụ nữ không hút thuốc lá [32]. Những dấu hiệu này cho thấy Napsin A có thể đóng vai trò quan trọng trong quá trình hình thành ung thư tại phổi. Một số aspartic proteinase đã được báo cáo là có liên quan đến quá trình hình thành ung thư. Tuy nhiên, một vài nghiên cứu chỉ tập trung vào vai trò của Napsin A. Tuy nhiên, Napsin A được chứng minh là có liên quan đến quá trình xử lý của proSP-B trong các tế bào phổi loại II trong phổi của người. Việc loại bỏ Napsin A bằng chuỗi RNA can thiệp nhỏ dẫn đến làm giảm độ trưởng thành của SP-B [44]. Theo cách giải thích này thì Napsin A đóng vai trò như một emzym đặc hiệu trong các tế bào phổi loại II. Trong nghiên cứu gần đây, Napsin A tái bộc lộ (re-expressed) trong hàng tế bào thận 293 HEK khởi phát u, hình thành những u SCID ở chuột. Kết quả nhuộm Napsin A có liên quan với sự biệt hóa u, sự bộc lộ của nó cho thấy vai trò quyết định của Napsin A trong ung thư phổi. Sự không bộc lộ Napsin A có thể làm tăng giai đoạn bùng phát của ung thư phổi, ảnh hưởng đến tiên lượng bệnh. Tác giả Lee JG và cộng sự: nghiên cứu 110 trường hợp ung thư phổi biểu mô tuyến nhận thấy: ung thư biểu mô tuyến dương tính với Napsin A thường gặp ở những u có đặc tính: nhỏ ( $p = 0,023$ ), ưu thế là không đặc ( $p < 0,001$ ), không tiết nhày ( $p < 0,001$ ), dương tính với TTF-1 ( $p < 0,001$ ) và dương tính với đột biến EGFR ( $p = 0,001$ ). Phân tích đa yếu tố về tỉ lệ sống toàn bộ cho thấy rằng: sự không hiện diện của Napsin A là một yếu tố tiên lượng độc lập với thời gian sống bị giảm xuống ( $p = 0,002$ ) trong ung thư phổi biểu mô tuyến đã được phẫu thuật cắt bỏ [47].

Tuy nhiên, Napsin A cũng có một số hạn chế các ung thư biểu mô tiết nhày. Wu và cộng sự (CS) năm 2013 nghiên cứu 43 trường hợp ung thư phổi biểu mô tuyến tiết nhày và 25 trường hợp ung thư biểu mô tuyến tiết nhày ngoài phổi. Kết quả: 33% khối u dương tính mạnh với Napsin A và 42% dương tính với TTF-1. Mặc dù, tất cả 25 trường hợp ung thư biểu mô tuyến tiết nhày ngoài phổi bộc lộ yếu với Napsin A và TTF-1. Như vậy, nhuộm hóa mô miễn dịch với Napsin A cũng có giá trị hạn chế trong việc phân biệt các

ung thư biểu mô tiết nhày nguyên phát hay di căn đến phổi [48].

Gần đây, một số nghiên cứu cũng cho thấy vai trò phối hợp của Napsin A với một số dấu ấn miễn dịch khác trong quá trình chẩn đoán như:

Tác giả Bishop và CS thực hiện hóa mô miễn dịch với Napsin A và TTF-1 trên: 95 mẫu ung thư phổi biểu mô tuyến, 48 mẫu ung thư phổi biểu mô vảy, 6 ung thư phổi nội mô thần kinh, 5 ung thư biểu mô tuyến đại tràng, 31 ung thư biểu mô tuyến của tuyến tụy, 17 ung thư biểu mô tuyến của tuyến vú, 38 ung thư trung mô ác tính, 118 ung thư biểu mô thận và 81 khối u tuyến giáp, đồng thời làm hóa mô miễn dịch với 15 mẫu mô bình thường khác. Kết quả cho thấy: trong ung thư phổi biểu mô tuyến dương tính với Napsin A 79/95 trường hợp (chiếm 83%) cao hơn so kết quả dương tính với TTF-1: 69/95 trường hợp (chiếm 73%). Có 13 trường hợp dương tính với Napsin A nhưng âm tính với TTF-1 và 2 trường hợp dương tính với TTF-1 nhưng âm tính với Napsin A, như vậy: khi phối hợp làm hóa mô miễn dịch với cả Napsin A và TTF-1 sẽ làm tăng tỉ lệ dương tính tổng cộng lên là 81/95 trường hợp (chiếm 85%). Tất cả các trường hợp ung thư phổi biểu mô vảy và các ung thư biểu mô tuyến của đại tràng, tụy, vú và u trung mô đều âm tính với cả Napsin A và TTF-1 [39]. Tác giả Ye và cs đã thực hiện hóa mô miễn dịch Napsin A và TTF-1 trên 120 trường hợp ung thư phổi biểu mô tuyến và 37 trường hợp ung thư biểu mô phổi do di căn cho kết quả: Trong ung thư phổi biểu mô tuyến thì 95/120 trường hợp (79,2%) đều dương tính với cả Napsin A và TTF-1; 8,3% TTF-1(-)/Napsin A (+); 3,3% TTF-1 (+)/Napsin A (-) và 9,2% TTF-1 (-)/Napsin A (-). Trong ung thư phổi do di căn thì: 8/37 trường hợp (21,6%) dương tính với TTF-1, các trường hợp dương tính này gồm: các ung thư biểu mô thận tế bào sáng (clear-cell renal cell carcinomas) mà hoàn toàn âm tính với Napsin A, mặc dù Napsin A lại dương tính trong 12/15 trường hợp (80,0%) ung thư biểu mô thận dạng nhú nguyên phát và 3/9 trường hợp (33,3%) ung thư biểu mô thận tế bào sáng nguyên phát. Tất cả các trường hợp u tân sinh biểu mô thận đều âm tính với TTF-1 [39]. Zhang và

cộng sự nghiên cứu 351 mẫu mô ung thư phổi bao gồm cả 27 trường hợp là u phổi (trong đó có 19/27 mẫu là ung thư biểu mô tuyến di căn) do di căn cho kết quả: Napsin A bộc lộ trong 180/212 (84,9%) ung thư phổi biểu mô tuyến nguyên phát, trong khi không có trường hợp u phổi do di căn nào cho kết quả bộc lộ với dấu ấn này. Trong khi đó, TTF-1 không những bộc lộ trong 179/212 trường hợp ung thư phổi biểu mô tuyến nguyên phát (84,4%) mà còn dương tính với 12/18 trường hợp ung thư biểu mô tế bào nhỏ (66,7%) và một số ung thư biểu mô vảy, cũng như 1 trường hợp ung thư biểu mô tuyến di căn từ tuyến giáp. Độ nhạy và độ đặc hiệu của Napsin A cho chẩn đoán ung thư phổi biểu mô tuyến nguyên phát là 84,9% và 93,8% cao hơn so với TTF-1 chỉ có độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là: 84,4% và 83,9%. Khi kết hợp cả hai dấu ấn này (napsin A và TTF-1) làm tăng độ nhạy lên 91,0% [32]. Kenneth và CS nghiên cứu 291 mẫu ung thư phổi đã được xác định bằng hình dạng tế bào học (morphologically) gồm: 197 ung thư biểu mô tuyến, 66 ung thư biểu mô vảy và 28 trường hợp không thể phân loại bằng hình ảnh tế bào học. Kết quả nghiên cứu: Napsin có độ nhạy là 83%, độ đặc hiệu là 98% và TTF-1 có độ nhạy là 60%, độ đặc hiệu là 98% trong chẩn đoán loại ung thư phổi biểu mô tuyến. p63 có độ nhạy là 95% và độ đặc hiệu là 86% trong chẩn đoán ung thư biểu mô phổi tế bào vảy. Như vậy khi kết hợp Napsin A và p63 có thể giúp tăng độ nhạy lên 94% và độ đặc hiệu lên 96% trong chẩn đoán phân biệt ung thư biểu mô tuyến với ung thư biểu mô tế bào vảy [50].

Ye và CS thực hiện hóa mô miễn dịch bằng Napsin A, TTF-1 và PAX8 cho 103 trường hợp ung thư biểu mô phổi do di căn và 120 trường hợp ung thư phổi biểu mô tuyến nguyên phát đã cho kết quả: 100% (103/103 trường hợp) ung thư biểu mô phổi do di căn đều âm tính với Napsin A, trong khi đó có 14 trường hợp (13,6%) dương tính yếu với TTF-1. Tất cả các trường hợp ung thư phổi biểu mô tuyến nguyên phát cũng cho kết quả hoàn toàn âm tính với PAX8, trong khi đó có 44 trường hợp (44,7%) ung thư biểu mô do di căn đến phổi cho kết quả dương tính với PAX8. Nghiên cứu đã kết luận: Khi sử

dụng kết hợp cả 3 dấu ấn trên có khả năng phân biệt được ung thư phổi nguyên phát với ung thư phổi do di căn [49].

Một nghiên cứu của Nhật cũng đã so sánh sự hữu dụng của những dấu ấn hóa mô miễn dịch có khả năng gần đây (bao gồm Napsin A) đặc hiệu cho ung thư phổi biểu mô tuyến trong các mẫu tế bào học. Nghiên cứu này cho thấy SP-A (surfactant protein A) dương tính trong 68,7% ung thư phổi biểu mô tuyến và TTF-1 và Napsin A cho kết quả dương tính bằng nhau là 76,1%. Những tỉ lệ này tăng lên lần lượt với SP-A, TTF-1 và Napsin A là 73,7%; 82,5% và 82,5% khi giới hạn lại nhóm ung thư phổi biểu mô tuyến nguyên phát không tiết [51].

Ueno và cộng sự nghiên cứu 118 mẫu lấy từ u phổi gồm: 39 trường hợp ung thư biểu mô tuyến gồm cả 7 trường hợp ung thư biểu mô phế quản phế nang, 11 ung thư biểu mô tế bào lớn, 31 ung thư biểu mô vảy, 15 ung thư biểu mô tế bào nhỏ, 6 carcinoid và 16 trường hợp là u di căn đến phổi. Kết quả sau là 33/39 ung thư biểu mô tuyến (84,6%) bộc lộ với napsin mRNA, 2/11 ung thư tế bào lớn bộc lộ với napsin mRNA. Một trường hợp ung thư biểu mô thận di căn đến phổi cũng bộc lộ với napsin mRNA, phù hợp với hình ảnh mô học dương tính với napsin A của u này trong các nghiên cứu trước đây trong những tế bào biểu mô của những ống thận [26]. Còn lại các loại u khác đều âm tính với Napsin mRNA. Độ nhạy và độ đặc hiệu cho chẩn đoán ung thư biểu mô tuyến trong số ung thư biểu mô phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) so với các dấu ấn khác là TTF-1, Sp-A, Sp-B là: Về độ nhạy: napsin là 84,6%, ngay bằng với TTF-1, nhưng cao hơn Sp-A (61,5%), Sp-B (61,5%); Về độ đặc hiệu: Napsin cho kết quả cao nhất (94,3%), trong khi đó TTF-1 là 76,7%, Sp-A là 77,4%; Sp-B là 80%. Có hai trường hợp ung thư phổi biểu mô tuyến dương tính với napsin nhưng lại cho phản ứng âm tính với TTF-1. Khi kết hợp dấu ấn Napsin và TTF-1 giúp cho việc chẩn đoán ung thư phổi biểu mô tuyến tăng lên (89,7% trong khi dùng riêng rẽ từng dấu ấn chỉ cho độ nhạy đều là 84,6%.

Suzuki và CS nghiên cứu mẫu mô của 120 trường hợp ung thư biểu mô phổi nguyên phát và 40 trường hợp ung thư biểu mô tuyến của các cơ quan khác, 32 trường hợp ung thư biểu mô tuyến di căn đến phổi và 21 mẫu hạch di căn của ung thư phổi biểu mô tuyến, 45 mẫu hạch di căn của ung thư biểu mô tuyến của các cơ quan khác. Kết quả: sự bộc lộ Napsin A và SP-A (surfactant protein A) lần lượt trong 84,3% và 53,0% vị trí nguyên phát của 83 trường hợp ung thư phổi biểu mô tuyến, nhưng cả Napsin A và SP-A đều âm tính với những loại u nguyên phát khác của phổi hoặc với ung thư biểu mô tuyến nguyên phát hay di căn từ những cơ quan khác. Riêng ung thư phổi biểu mô tuyến, Napsin A và SP-A bộc lộ lần lượt 81,0% và 19,0% hạch di căn và lần lượt 87,5% và 37,5% tại những vị trí tái phát. Vậy, rõ ràng Napsin A giúp phân biệt ung thư phổi biểu mô tuyến nguyên phát với ung thư biểu mô tuyến của các cơ quan khác tại vị trí nguyên phát hay di căn đến phổi và vị trí tái phát cao hơn so với SP-A [46].

Như vậy, trong những nghiên cứu trước đây về Napsin A đều cho thấy rằng độ nhạy cũng như độ đặc hiệu của nó đối với ung thư phổi biểu mô tuyến nguyên phát và giúp phân biệt ung thư phổi biểu mô tuyến nguyên phát với các ung thư biểu mô di căn đến phổi rất cao đặc biệt khi thực hiện đồng thời nhuộm hóa mô miễn dịch với Napsin A và TTF-1 [41],[50]. Như vậy, Napsin A cũng đặc hiệu hơn TTF-1 trong việc phân biệt ung thư phổi biểu mô tuyến nguyên phát với tất cả các loại u khác (ngoại trừ u thận) ( $p < 0,001$ ), đặc biệt là đối với ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ nguyên phát và ung thư biểu mô tuyến giáp nguyên phát. Ngoài ra, khi kết hợp Napsin A và TTF-1 rất hữu ích trong việc phân biệt ung thư phổi biểu mô tuyến nguyên phát (Napsin A (+), TTF-1 (+)) với ung thư phổi biểu mô vảy nguyên phát (Napsin A (-), TTF-1 (-)) và ung thư phổi tế bào nhỏ nguyên phát (Napsin A (-), TTF-1 (+)) [41]. Sự không bộc lộ napsin A có thể làm tăng giai đoạn bùng phát của ung thư phổi, ảnh hưởng đến tiên lượng bệnh [30]. Tuy nhiên, Napsin A có giá trị hạn chế trong việc phân biệt các ung thư biểu mô tiết nhày nguyên phát hay di căn đến phổi [48].

### **1.5.2. Trong nước**

Theo Lê Trung Thọ (2007) để chẩn đoán phân biệt UTBMT của phổi và UTBMT di căn, thì hóa mô miễn dịch sẽ cho thấy: UTBMT của phổi dương tính với CK7, âm tính với CK20, ung thư đường tiêu hóa di căn đến phổi thì tế bào tuyến dương tính với CK17, CK18 và CK20 [52].

## **CHƯƠNG 2**

### **ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

#### **2.1. Đối tượng nghiên cứu**

Các bệnh nhân được chẩn đoán là ung thư phổi đến khám và điều trị tại Bệnh viện Phổi Trung ương và Bệnh viện K.

##### **❖ Tiêu chuẩn chọn lựa bệnh nhân**

- Các bệnh nhân có hồ sơ bệnh án, được sinh thiết hoặc điều trị phẫu thuật tại Bệnh viện Phổi Trung ương và Bệnh viện K và còn khối nên lưu trữ.

- Tất cả các trường hợp được chẩn đoán ung thư biểu mô phổi dựa trên chẩn đoán mô bệnh học bằng Hematoxylin - Eosin.

##### **❖ Tiêu chuẩn loại trừ**

Bệnh nhân không thỏa mãn hai điều kiện chọn mẫu nêu trên.

Kết quả: chúng tôi đã lựa chọn được 185 trường hợp ung thư biểu mô không tế bào nhỏ và 73 trường hợp ung thư biểu mô tế bào nhỏ.

#### **2.2. Phương pháp nghiên cứu**

##### **2.2.1. Phương pháp nghiên cứu**

Phương pháp nghiên cứu mô tả cắt ngang.

##### **2.2.2. Cách tiến hành**

###### **2.2.2.1. Lập phiếu nghiên cứu**

Lập phiếu nghiên cứu dựa trên bệnh án bệnh nhân được chẩn đoán ung



thư phổi đến khám và nhập viện tại Bệnh viện Phổi Trung ương và Bệnh viện  
K từ năm 2010 đến năm 2013.

### 2.2.2.2. Nghiên cứu mô bệnh học

Các khối nén sau thu thập, đủ tiêu chuẩn được cắt tiêu bản và nhuộm bằng phương pháp nhuộm Hematoxylin và Eosin (H&E), sau đó đọc và phân tích kết quả trên kính hiển vi quang học.

Phân loại mô học: tất cả các tiêu bản ung thư phổi được phân loại theo bảng phân loại của WHO 2004 và bảng phân loại ung thư biểu mô tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011.

### **Các tiêu chuẩn chẩn đoán và phân loại của các typ mô học theo WHO 2004**

#### **Ung thư biểu mô vảy**

+ Chẩn đoán ác tính dựa trên sự không điển hình về tế bào và tính chất xâm nhập.

+ Chẩn đoán typ tế bào vảy dựa trên việc xác định trên các lát cắt Hematoxylin-Eosin sự sừng hóa và/hoặc các cầu nối gian bào.

+ Sự hình thành keratin có thể thấy trong các tế bào riêng lẻ hoặc phổ biến hơn dưới các thể “cầu sừng”.

+ Các tế bào hoại tử bị cô lập được phân biệt với các tế bào sừng hóa.

+ Sự hình thành vòng xoắn và sự lát tầng rõ rệt của các tế bào u được sử dụng như một bằng chứng của biệt hóa vảy khi không có những đặc điểm đã liệt kê.

#### **Ung thư biểu mô tuyến**

+ Hai dấu hiệu hình thái học của biệt hóa tuyến, thường được tìm thấy cùng với nhau là sự hình thành các ống hoặc nhú và sự chế tiết chất nhầy.

+ Phụ thuộc vào sự ưu thế tương đối của những hình ảnh này, những ung thư biểu mô tuyến được chia thành ung thư biểu mô tuyến nang, nhú và đặc có sản xuất chất nhầy, nhưng có sự trùng lặp lớn giữa các nhóm này.

### **Ung thư biểu mô tuyến vảy**

Thuật ngữ ung thư biểu mô tuyến vảy được sử dụng cho các u phổi, trong đó bằng chứng chắc chắn của biệt hóa vảy và tuyến được tìm thấy trong cùng một u với khối lượng gần như bằng nhau.

### **Ung thư biểu mô tế bào lớn (không biệt hóa)**

+ Tiêu chuẩn chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào lớn (không biệt hóa) là những u biểu mô ác tính đa hình thái không có bằng chứng chắc chắn của biệt hóa vảy hoặc biệt hóa tuyến.

+ Các tế bào u lớn, ít nhất khi so sánh với các tế bào của ung thư biểu mô tế bào nhỏ.

### **Ung thư biểu mô dạng sacom và carcinosacom**

Các ung thư có các hình ảnh giống sacom bao gồm chủ yếu là những tế bào thoi nhưng còn xác định được như biểu mô trên cơ sở hình thái học hoặc hóa mô miễn dịch, chúng được gọi là ung thư biểu mô tế bào thoi hoặc dạng sacom.

### **Ung thư biểu mô tế bào sáng**

+ Ung thư biểu mô tế bào sáng được định nghĩa như một typ của ung thư biểu mô phổi, chủ yếu hoặc chỉ gồm những tế bào với bào tương sáng.

+ Những tế bào sáng này thường chứa nhiều glycogen và cũng có thể chứa chất nhầy.

### **Ung thư biểu mô tiểu phế quản phế nang**

+ Ung thư biểu mô tiểu phế quản phế nang được chia thành các typ nhày và không nhày.

Typ nhày được hình thành bởi những tế bào hình trụ chứa nhày biệt hóa cao lót các khoang hô hấp, không xâm nhập vào mô đệm. Sự liên tục giữa các tế bào u lót các phế nang và biểu mô của các tiểu phế quản hô hấp hoặc các ống phế nang có thể được chứng minh.

Typ không nhày có hình thái phát triển là “dạng vẩy” không có xâm nhập mô đệm. Các tế bào u có hình khối vuông hơn là hình trụ và thường có bào tương ưa eosin sáng. Mức độ không điển hình của nhân và sự nổi trội của hạt nhân thường lớn hơn so với trong biến thể nhày.

### **Ung thư biểu mô tế bào nhỏ**

Hình thái phát triển thường là đặc, nhưng có thể thành hàng và dải, hoa hồng và giả hoa hồng, hoặc ống và ống nhỏ.

### **Ung thư biểu mô thần kinh nội tiết**

U carcinoid điển hình của WHO là “một u với hình thái học của carcinoid và dưới 2 nhân chia/ 10 vi trường phóng đại cao ( $2\text{mm}^2$ ) không có hoại tử và 0,5cm hoặc lớn hơn”.

U carcinoid không điển hình là một u với hình thái học thần kinh nội tiết có giữa 2 và 10 nhân chia/ 10 vi trường phóng đại cao ( $2\text{mm}^2$ ) và / hoặc với những ổ hoại tử chấm hoặc cả hai.

Ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào lớn là “một ung thư biểu mô tế bào lớn có những hình ảnh mô học như các hình thái dạng cơ quan, bè, giống hoa hồng và dấu gợi ý biệt hóa thần kinh nội tiết.

### **Phân loại ung thư biểu mô tuyến phổi theo IASLC/ATS/ERS 2011**

<b>Loại</b>	<b>Tiêu chuẩn chẩn đoán</b>
Vây cá	Các tế bào u phát triển dọc theo các cấu trúc phế nang có sẵn Mở rộng vách phế nang cùng với xơ hóa phổ biến Không có các hình thái nhú hoặc vi nhú và các tế bào u trong lòng phế nang
Tuyến nang	Các tuyến hình tròn hoặc hình trái xoan với lòng ở trung tâm được vây quanh bởi các tế bào u Sắp xếp kiểu mắt sàng
Nhú	Sự phát triển của các tế bào hình trụ dọc theo các lõi xơ huyết quản ở trung tâm Các cấu trúc nhú lấp đầy các khoang phế nang, kể cả u có hình thái phát triển dạng vây cá.
Đặc	Các tế bào u đa diện tạo thành các dải không có các hình thái khác của ung thư biểu mô tuyến có thể nhận biết được

Áp dụng bảng phân loại mô bệnh học ung thư phổi năm 2004 của WHO, ung thư biểu mô phổi được chia thành các loại và được mã hóa các mã số sau đây:

UTBM tế bào vây	8070/3
Nhú	8052/3
Tế bào sáng	8084/3
Tế bào nhỏ	8073/3
Dạng đáy	8083/3
UTBM tế bào nhỏ	8041/3
UTBM tế bào nhỏ tổ hợp	8045/3
UTBM tuyến	8140/3
UTBM tuyến, tít hỗn hợp	8255/3

UTBM tuyến nang	8550/3
UTBM tuyến nhú	8260/3
UTBM tuyến tiêu PQ-PN	8250/3
Không chế nhầy	8252/3
Chế nhầy	8253/3
Chế nhầy và không chế nhầy hỗn hợp hoặc không xác định	8254/3
UTBM tuyến đặc có chế nhầy	8230/3
UTBM tuyến phôi	8333/3
UTBM nhầy (“ dạng keo”)	8480/3
UTBM tuyến nang nhầy	8470/3
UTBM tuyến tế bào nhẵn	8490/3
UTBM tuyến tế bào sáng	8310/3
UTBM tế bào lớn	8012/3
UTBM thần kinh nội tiết tế bào lớn	8013/3
UTBM thần kinh nội tiết tế bào lớn tổ hợp	8013/3
UTBM dạng đày	8123/3
UTBM dạng lympho - biểu mô	8082/3
UTBM tế bào sáng	8310/3
UTBM tế bào lớn có phenotype dạng cơ vân	8014/3
UTBM tuyến vảy	8560/3
UTBM dạng sarcoma	8033/3
UTBM đa hình	8022/3
UTBM tế bào hình thoi	8032/3

UTBM tế bào khổng lồ	8031/3
Carcino- sarcoma	8980/3
U nguyên bào phổi	8972/3

### **Nghiên cứu hóa mô miễn dịch**

#### **Kháng thể sử dụng**

#### **Ung thư biểu mô không tế bào nhỏ**

Các khối nền được cắt tiêu bản và nhuộm HMMD với các dấu ấn CK7, CK5/6, P63, TTF-1, Napsin A, Claudin-1, Claudin -5, Ki67 và p53.

Những trường hợp đặc biệt được nhuộm thêm với các dấu ấn dưới đây:

Synaptophysin, Chromogranin: Ung thư biểu mô thần kinh nội tiết.

HepPar-1: Ung thư biểu mô dạng gan.

Beta-HCG: Ung thư biểu mô màng đệm.

#### **Ung thư biểu mô tế bào nhỏ**

CK7, TTF-1, NSE, Chromogranin, CEA, Ki-67, p53

Quy trình nhuộm đều theo phương pháp ABC.

## **Quy trình kỹ thuật nhuộm hóa mô miễn dịch**

### ***Các bước tiến hành***

- Bước 1: Cắt tiêu bản

▪ Kỹ thuật viên sử dụng khối nền có chứa bệnh phẩm cắt thành tiêu bản có độ dày 4  $\mu\text{m}$  (tương tự như làm tiêu bản trong mô bệnh học thông thường)

- Bước 2: Tẩy parafin:

▪ Ủ tiêu bản trong tủ ấm qua đêm ở nhiệt độ 56

▪ Nhúng tiêu bản qua lần lượt các bể: Xylen 1, Xylen 2, Xylen 3; mỗi bể 03 phút.

▪ Nhúng tiếp tiêu bản qua các bể: Cồn 700, 900, Cồn tuyệt đối; mỗi bể 03 phút.

▪ Nhúng tiêu bản qua bể nước cất 2 lần; mỗi lần 5 phút.

- Bước 3: Bộc lộ kháng nguyên:

▪ Cho tiêu bản vào bể đun bộc lộ KN có chứa dung dịch pH6, pH9 đặt vào trong nồi áp suất bộc lộ kháng nguyên đun, trong 15 phút.

▪ Lấy ra để nguội tại nhiệt độ phòng

- Bước 4: Rửa tiêu bản bằng nước cất trong 5 phút

- Bước 5: Khử men nội sinh

▪ Ủ tiêu bản bằng H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, 10 phút

- Bước 6: Rửa tiêu bản bằng dung dịch TBS trong 3 bể, mỗi bể 3 phút

- Bước 7: Phủ kháng thể I: 60 phút

- Bước 8: Rửa tiêu bản bằng dung dịch TBS trong 3 bể, mỗi bể 3 phút

- Bước 9: Phủ kháng thể II, 30 phút

- Bước 10: Rửa tiêu bản bằng dd TBS trong 3 bể, mỗi bể 3 phút



- Bước 11: Nhuộm dd màu DAB, 10 phút
- Bước 12: Rửa bằng nước cất, 5 phút
- Bước 13: Nhuộm nhân bằng Hematoxylin 30s-1 phút
- Bước 14: Rửa bằng nước chảy, 5 phút
- Bước 15: Nhúng qua các bể cồn 70, 90, 100, mỗi bể 3 phút
- Bước 16: Nhúng qua 3 bể xylen, mỗi bể 3 phút
- Bước 17: Gắn lamên lên lam kính.

❖ **Đọc tiêu bản**

❖ **Kiểm soát chất lượng**

- Kiểm tra chất lượng hóa chất, thuốc nhuộm thường xuyên, đảm bảo đậm độ hợp lý với thời gian nhuộm.

- Sử dụng chứng âm, chứng dương và tiêu bản mô bệnh học thông thường để so sánh, đối chiếu.

- Hạn chế âm tính giả, dương tính giả và nhầm lẫn tiêu bản:

Đọc kết quả:

- CK7: Phản ứng dương tính có màu nâu đỏ ở bào tương tế bào
- CK5/6: Phản ứng dương tính có màu nâu đỏ ở màng tế bào
- P53: Phản ứng dương tính có màu nâu đỏ ở nhân tế bào
- P63: Phản ứng dương tính có màu nâu đỏ ở nhân tế bào
- TTF-1: Phản ứng dương tính có màu nâu đỏ ở nhân tế bào
- Ki67: Phản ứng dương tính có màu nâu đỏ ở nhân tế bào
- Napsin: Phản ứng dương tính có màu nâu đỏ ở bào tương tế bào
- Claudin-1: Phản ứng dương tính có màu nâu đỏ ở bào tương tế bào
- Claudin-5: Phản ứng dương tính có màu nâu đỏ ở bào tương tế bào

- NSE: Phản ứng dương tính có màu nâu đỏ ở bào tương tế bào
- Chromogranin: Phản ứng dương tính có màu nâu đỏ ở bào tương tế bào
- Synaptophysin: Phản ứng dương tính có màu nâu đỏ ở bào tương tế bào
- CEA: Phản ứng dương tính có màu nâu đỏ ở bào tương tế bào
- HepPar-1: Phản ứng dương tính có màu nâu đỏ ở bào tương tế bào
- Beta-HCG: Phản ứng dương tính có màu nâu đỏ ở bào tương tế bào

Điểm ngưỡng dương tính chung cho mọi dấu ấn là 10% số tế bào dương tính.

### 2.2.2.3. Biến số nghiên cứu

#### ❖ **Biến số nền:**

- Giới tính (định tính)
- Độ tuổi (định lượng)
- Giới: phân thành 2 nhóm nam, nữ

#### ❖ **Phân loại ung thư phổi WHO 2004:**

##### ***Ung thư biểu mô không tế bào nhỏ:***

##### ***Ba nhóm lớn***

- UTBM tế bào vảy
- UTBM tuyến
- Các typ khác

##### ***Ung thư biểu mô không tế bào nhỏ***

#### ❖ **Dấu ấn hóa mô miễn dịch:**

- CK7: tỷ lệ dương tính
- CK5/6: tỷ lệ dương tính
- P53: tỷ lệ dương tính

- P63: tỷ lệ dương tính
- TTF-1 tỷ lệ dương tính
- Ki67: tỷ lệ dương tính
- Napsin: tỷ lệ dương tính
- Claudin-1: tỷ lệ dương tính
- Claudin-5: tỷ lệ dương tính
- NSE: tỷ lệ dương tính
- Chromogranin: tỷ lệ dương tính
- CEA: tỷ lệ dương tính

#### *2.2.2.4. Thu thập số liệu vào phiếu điều tra*

#### **2.2.3. Xử lý số liệu**

Chúng tôi xử lý số liệu sau khi thu thập bằng phương pháp thống kê y học sử dụng phần mềm SPSS 16.0 và Microsoft Excel 2003.

- Sử dụng phép kiểm Chi-square để phân tích sự khác biệt giữa các biến định tính, nếu trong các nhóm định lượng có bất kỳ giá trị nào  $< 5$  thì chúng tôi sẽ chọn phép kiểm Fisher để kiểm định với tiêu chí  $p < 0,05$  là có ý nghĩa về mặt thống kê.

- Sử dụng phép kiểm Student – t để phân tích sự khác biệt giữa hai biến định lượng có phân phối chuẩn, chọn  $p < 0,05$  là có ý nghĩa về mặt thống kê.

- Sử dụng phép kiểm Mann-Whitney (U-test) phân tích sự khác biệt giữa hai biến định lượng không có phân phối chuẩn, chọn  $p < 0,05$  là có ý nghĩa về mặt thống kê.

### **2.3. Đạo đức nghiên cứu**

Nghiên cứu không vi phạm y đức vì đây là nghiên cứu khoa học ứng dụng đem lại lợi ích cho người tham gia nghiên cứu vì những lý do sau:

- Các thông tin về bệnh nhân được bảo mật hoàn toàn và chỉ sử dụng cho mục đích nghiên cứu khoa học.

- Nghiên cứu này chỉ đem lại lợi ích cho bệnh nhân, không nhằm quảng cáo và hoàn toàn không nhận tài trợ của bất kỳ công ty dược nào.

- Việc xử lý bệnh phẩm sau mổ không gây bất kỳ tổn thương nào cho bệnh nhân.

**CHƯƠNG 3****KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU****3.1. Tuổi và giới****3.1.1. Ung thư phổi không tế bào nhỏ****3.1.1.1. Phân bố bệnh nhân theo nhóm tuổi****Bảng 3.1. Phân bố theo nhóm tuổi**

<b>Nhóm tuổi</b>	<b>Số ca</b>	<b>Tỉ lệ %</b>
≤ 19	4	2,2
20 – 29	1	0,5
30 – 39	19	10,3
40 – 49	92	49,7
50 – 59	55	29,7
60 – 69	14	7,6
≥ 70	4	2,2
<b>Tổng</b>	<b>185</b>	<b>100</b>

**Nhận xét:** Nhóm 40 – 49 tuổi chiếm tỉ lệ cao nhất (49,7%), đứng hàng thứ hai là nhóm 50 -59, tuổi chiếm tỉ lệ 29,7%. Nếu tính chung nhóm tuổi từ 40-59 tuổi là 79,4%.

## 3.1.1.2. Phân bố bệnh nhân theo giới

**Bảng 3.2. Phân bố bệnh nhân theo giới**

Giới	Số ca	Tỉ lệ %
Nam	141	76,2
Nữ	44	23,8
Tổng	185	100

**Nhận xét:** Trong ung thư phổi không tế bào nhỏ, nam giới chiếm tỉ lệ cao hơn nữ giới. Tỷ lệ nam/nữ là 3,2/1.

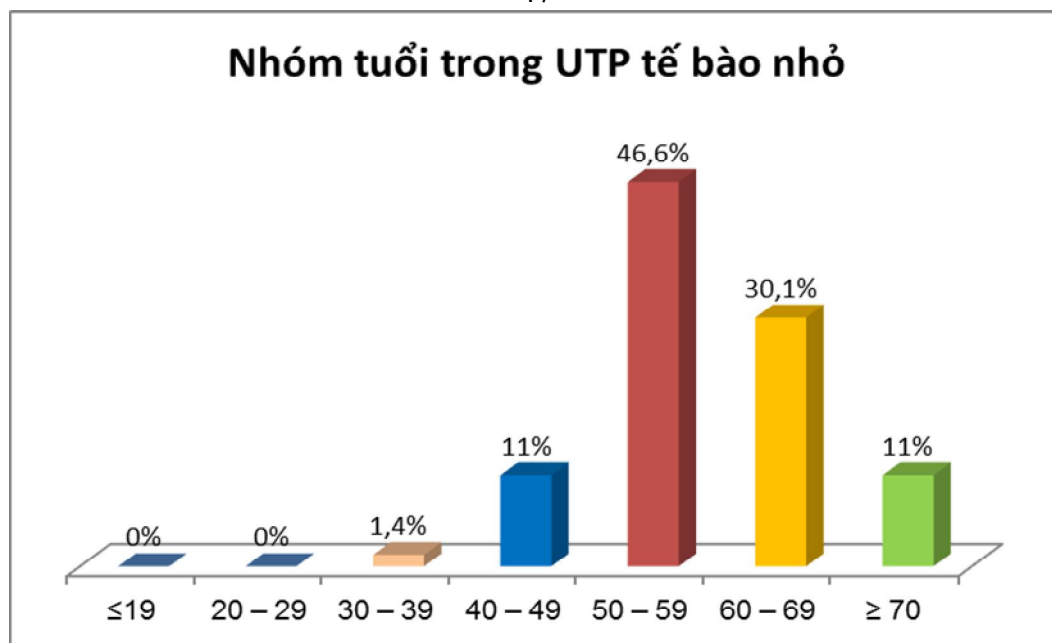
## 3.1.2. Ung thư phổi tế bào nhỏ

## 3.1.2.1. Phân bố bệnh nhân theo nhóm tuổi

**Bảng 3.3. Phân bố bệnh nhân theo nhóm tuổi**

Nhóm tuổi	Số ca	Tỉ lệ %
≤19	0	0
20 – 29	0	0
30 – 39	1	1,4
40 – 49	8	11,0
50 – 59	34	46,6
60 – 69	22	30,1
≥ 70	8	11,0
Tổng	73	100,0

**Nhận xét:** Nhóm 50 – 59 tuổi chiếm tỉ lệ cao nhất (46,6%), đứng hàng thứ hai là nhóm 60 – 69, tuổi chiếm tỉ lệ 30,1%. Nếu tính chung nhóm tuổi từ 50-69 tuổi là 76,7%.



**Biểu đồ 3.1. Phân bố theo nhóm tuổi của UTBM phổi tế bào nhỏ**

### 3.1.2.3. Phân bố bệnh nhân theo giới

**Bảng 3.4. Phân bố bệnh nhân theo giới**

Giới	Số ca	Tỷ lệ %
Nam	65	89
Nữ	8	11
Tổng	73	100

**Nhận xét:** Tỷ lệ nam/nữ của bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào nhỏ là 8,1/1.

## 3.2. MÔ HỌC

Nghiên cứu của chúng tôi gồm 185 bệnh nhân ung thư biểu mô phổi không tế bào nhỏ và 73 bệnh nhân ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ.

### 3.2.1. Ung thư biểu mô phổi không tế bào nhỏ

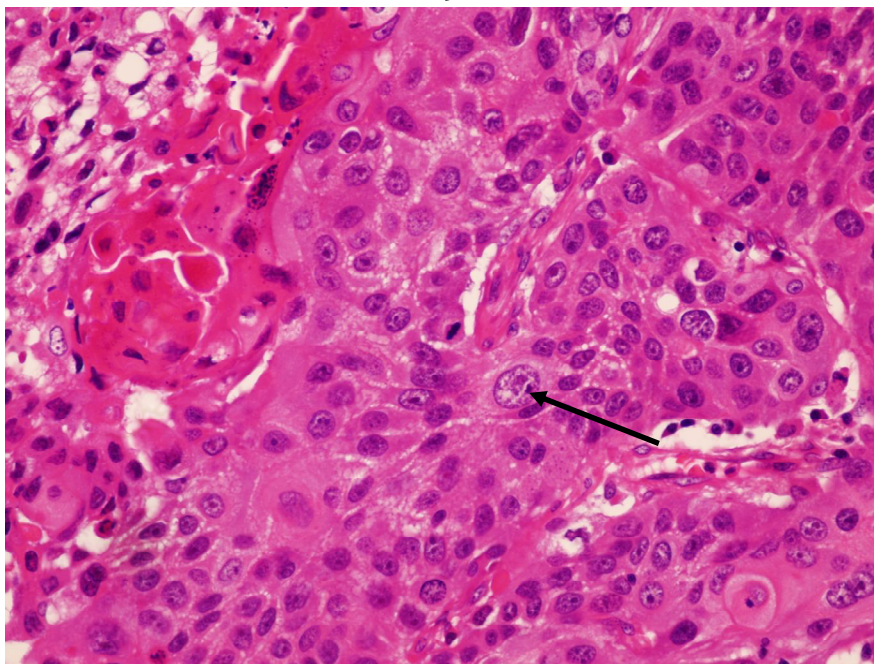
#### 3.2.1.1. Phân typ mô học theo WHO 2004

**Bảng 3.5. Phân typ mô học theo WHO 2004**

Typ mô học theo WHO 2004	Đã xếp loại bởi WHO	Tổng số ca	Tỷ lệ %
UTBM VÂY	Có	21	11,4
UTBM TUYẾN	Có	124	67,1
UTBM tuyến vảy	Có	6	3,2
UTBM dạng sarcom	Có	2	1,1
UTBM tế bào khổng lồ	Có	4	2,1
UTBM thần kinh nội tiết	Có	5	2,7
UTBM biểu bì nhày	Có	2	1,1
UTBM dạng gan	Không	2	1,1
UTBM màng đệm	Không	1	0,5
UTBM kém biệt hóa	Không	12	6,4
U biểu mô ác tính	Không	6	3,2
Tổng		185	100

**Nhận xét:** Ung thư biểu mô tuyến chiếm tỷ lệ cao nhất (67,1%), ung thư biểu mô vảy chiếm 11,4%, ung thư biểu mô kém biệt hóa chiếm 6,4%, các loại khác chiếm tỷ lệ thấp. Các loại hiếm gặp chưa có trong phân loại WHO 2004 là ung thư biểu mô dạng gan (1,1%) và ung thư biểu mô màng đệm (0,5%).





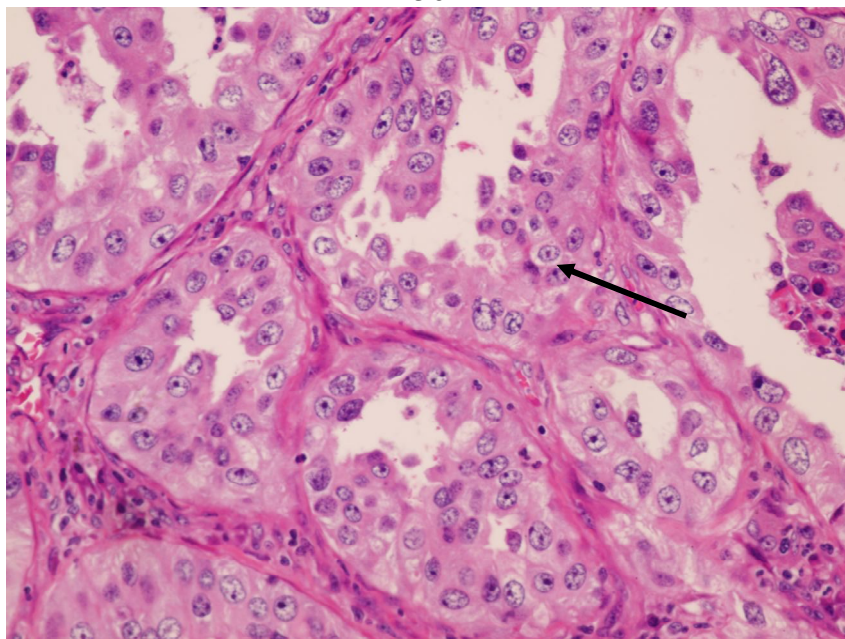
**Ảnh 3.1: Đặng Ngọc Đ., 1958, số tiêu bản: 3740: UTBM vảy, HE x 400**

### 3.2.1.2. Phân typ mô học UTBM tuyến theo WHO 2004

**Bảng 3.6. Phân typ mô học UTBM tuyến theo WHO 2004**

Typ mô học theo WHO 2004	Tổng số ca	Tỷ lệ %
UTBM tuyến hỗn hợp	49	39,5
UTBM typ chùm nang	19	15,3
UTBM thể nhú	18	14,5
UTBM tuyến đặc	13	10,5
UTBM TPQPN	12	9,7
UTBM thể nhày	8	6,5
UTBM tuyến tế bào sáng	5	4,0
Tổng	124	100

**Nhận xét:** Ung thư biểu tuyến hỗn hợp chiếm tỷ lệ cao nhất (39,5%), sau đó theo thứ tự giảm dần là typ chùm nang (15,3%), typ nhú (14,5%), typ đặc (10,5%), typ tiểu phế quản phế nang (9,7%), hai typ còn lại chiếm tỷ lệ thấp.



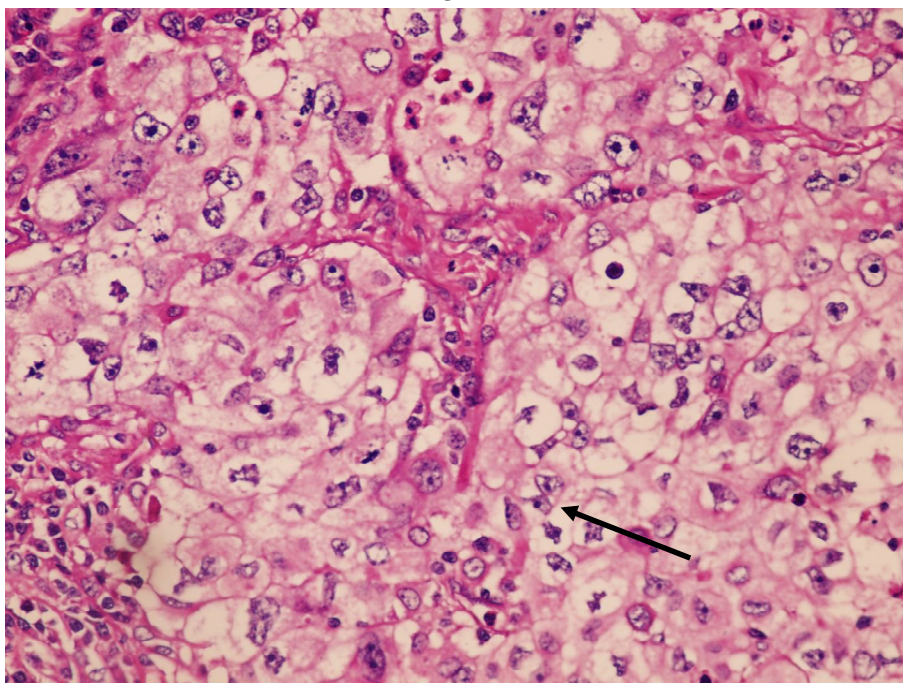
**Ảnh 3.2: Nguyễn Văn Ph., 51 tuổi, số tiêu bản: 4417: UTBM tuyến hỗn hợp, HE x 400.**

### 3.2.1.3. Phân typ mô học UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011

**Bảng 3.7. Phân typ mô học UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011**

<b>Typ mô học theo IASLC/ATS/ERS 2011</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
UTBM typ chùm nang	52	41,9
UTBM thể nhú	19	15,3
UTBM thể vi nhú	5	4,0
UTBM tuyến đặc	18	14,5
UTBM dạng vảy cá	17	13,7
UTBM thể nhầy	8	6,5
UTBM tuyến tế bào sáng	5	4,0
Tổng	124	100

**Nhận xét:** Typ chùm nang chiếm 41,9%, typ nhú chiếm 19,3%, typ đặc chiếm 14,5%, dạng vảy cá chiếm 13,7%, các biến thể nhầy, vi nhú và tế bào sáng chiếm tỷ lệ thấp (6,5%, 4% và 4% theo thứ tự).



*Ảnh 3.3: Bùi Hữu T., 61 tuổi, Số tiêu bản: 307: UTBM tế bào sáng, HE x 400.*

#### 3.2.1.4. Phân typ mô học của các nhóm lớn của UTBM theo WHO 2004

**Bảng 3.8. Phân typ mô học của các nhóm lớn của UTBM theo WHO 2004**

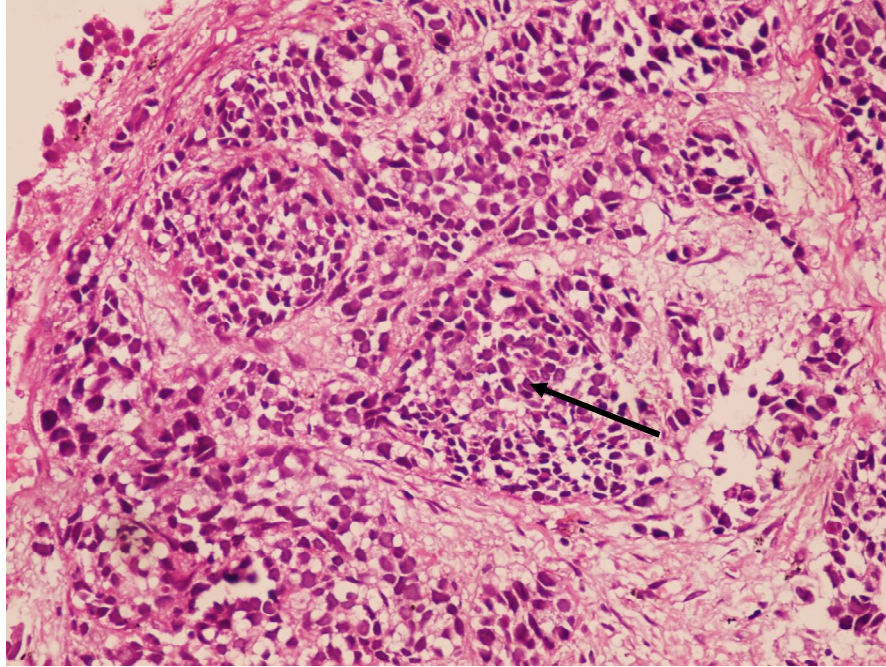
<b>Nhóm chính theo WHO 2004</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
UTBM vảy	21	11,4
UTBM tuyến	124	67,1
Các typ khác	40	32,2
<b>Tổng</b>	<b>185</b>	<b>100</b>

**Nhận xét:** Ung thư biểu mô tuyến chiếm tỷ lệ cao nhất (67,1%), các typ khác đứng hàng thứ hai (32,2%), ung thư biểu mô vảy chiếm tỷ lệ thấp nhất (11,4%).



### 3.2.2. Ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ

Có 73 bệnh nhân ung thư biểu mô phổi được chẩn đoán là ung thư biểu mô tế bào nhỏ. Không có trường hợp nào thuộc typ hỗn hợp. Tất cả các trường hợp đều được chẩn đoán qua sinh thiết.



*Ảnh 3.4: Đỗ Văn S., 65 tuổi, Số tiêu bản: 81871: UTBM tế bào nhỏ, HE x 400.*

### 3.3. HOÁ MÔ MIỄN DỊCH

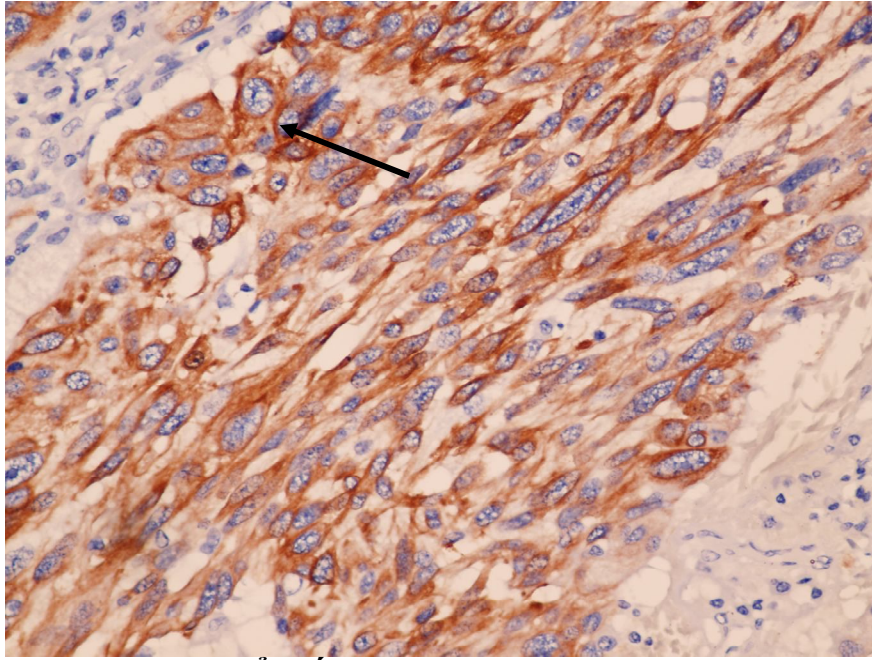
#### 3.3.1. Hoá mô miễn dịch ung thư phổi không tế bào nhỏ

##### 3.3.1.1. CK7

**Bảng 3.9. Bộc lộ CK7 trong các typ mô học theo WHO 2004**

Typ mô học theo WHO 2004	Tổng số ca	Số ca dương tính với CK7	Tỷ lệ %
UTBM vảy	21	17	81,0
UTBM tuyến	124	119	96,0
UTBM tuyến vảy	6	6	100,0
UTBM dạng sarcom	2	2	100,0
UTBM tế bào khổng lồ	4	3	75,0
UTBM thần kinh nội tiết	5	2	40,0
UTBM kém biệt hóa	12	11	91,7
UTBM dạng gan	2	2	100,0
UTBM màng đệm	1	1	100,0
UTBM biểu bì nhày	2	2	100,0
U biểu mô ác tính	6	3	50,0
Tổng	185	168	90,8

**Nhận xét:** Có 90,8% các trường hợp ung thư biểu mô phổi bộc lộ CK7, trong đó có 96% ung thư tuyến và 81% ung thư biểu mô vảy. Các typ hiếm gặp cũng có tỷ lệ bộc lộ CK7 cao.

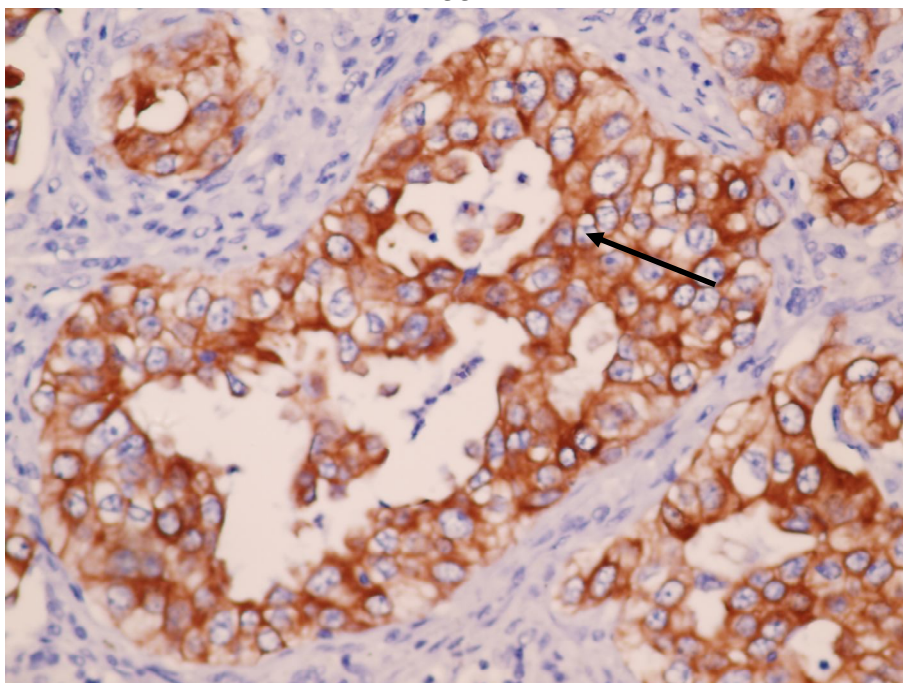


*Ảnh 3.5: Hà Thị C., 59 tuổi, Số tiêu bản: 3985: UTBM dạng sarcom, CK7 x 400.*

**Bảng 3.10. Bộc lộ CK7 trong các typ mô học UTBM tuyến theo WHO 2004**

<b>Typ mô học theo WHO 2004</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Số ca dương tính với CK7</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
UTBM tuyến hỗn hợp	49	48	98,0
UTBM typ chùm nang	19	19	100,0
UTBM typ nhú	18	18	100,0
UTBM tuyến đặc	13	10	76,9
UTBM TPQPN	12	12	100,0
UTBM typ nhày	8	8	100,0
UTBM tuyến tế bào sáng	5	4	80,0
<b>Tổng</b>	<b>124</b>	<b>119</b>	<b>96,0</b>

**Nhận xét:** Các ung thư biểu mô tuyến typ chùm nang, typ nhú, typ đặc và typ nhày đều có tỷ lệ bộc lộ CK7 rất cao (100%), sau đó là ung thư biểu mô tuyến hỗn hợp (98%), ung thư biểu mô tuyến tế bào sáng và ung thư biểu mô tuyến đặc có tỷ lệ bộc lộ CK7 thấp hơn (80% và 76,9% theo thứ tự).



*Ảnh 3.6: Nguyễn Văn Ph., 1963, Số tiêu bản: 4417: UTBM tuyến hỗn hợp, CK7 x 400.*

**Bảng 3.11. Bộc lộ CK7 của các typ UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011**

Typ mô học theo IASLC/ATS/ERS 2011	Tổng số ca	Số ca dương tính với CK7	Tỷ lệ %
UTBM typ chùm nang	52	51	98,1
UTBM thể nhú	19	19	100,0
UTBM thể vi nhú	5	5	100,0
UTBM tuyến đặc	18	15	83,3
UTBM dạng vảy cá	17	17	100,0
UTBM thể nhầy	8	8	100,0
UTBM tuyến tế bào sáng	5	4	80,0
Tổng	124	119	96,0

**Nhận xét:** Trong các typ mô học phân loại theo IASLC/ATS/ERS 2011, các typ nhú, vi nhú, dạng vảy cá và typ nhầy có tỷ lệ bộc lộ CK7 rất cao (100%), typ chùm nang cũng có tỷ lệ bộc lộ CK7 cao (98,1%), các typ đặc và tế bào sáng có tỷ lệ bộc lộ CK7 thấp hơn (83,3% và 80% theo thứ tự).

**Bảng 3.12. Bộc lộ CK7 các typ UTBM tuyến và UTBM vảy theo WHO 2004**

Nhóm chính theo WHO 2004	Tổng số ca	Số ca dương tính với CK7	Tỷ lệ %
UTBM vảy	21	17	81,0
UTBM tuyến	124	119	96,0
P	0,09 (Fisher test)		

**Nhận xét:** Ung thư biểu mô tuyến có tỷ lệ dương tính với CK7 cao hơn so với ung thư biểu mô vảy nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ),

### 3.3.1.2. CK5/6

**Bảng 3.13. Bộc lộ CK5/6 của các typ mô học theo WHO 2004**

Typ mô học theo WHO 2004	Tổng số ca	Số ca dương tính	Tỷ lệ %
UTBM vảy	21	5	23,8
UTBM tuyến	124	0	0,0
UTBM tuyến vảy	6	2	33,3
UTBM dạng sarcom	2	0	0,0
UTBM tế bào khổng lồ	4	0	0,0
UTBM thần kinh nội tiết	5	0	0,0
UTBM kém biệt hóa	12	1	8,3
UTBM dạng gan	2	0	0,0
UTBM màng đệm	1	0	0,0
UTBM biểu bì nhầy	2	0	0,0
U biểu mô ác tính	6	1	16,7
Tổng	185	9	4,9

**Nhận xét:** Ung thư biểu mô tuyến vảy có tỷ lệ dương tính với CK5/6 là 33,3%, sau đó là ung thư biểu mô vảy (23,8%), các typ khác có tỷ lệ dương tính với CK5/6 thấp hoặc hoàn toàn âm tính với CK5/6. Tất cả các trường hợp ung thư biểu mô tuyến đều âm tính với CK5/6.

**Bảng 3.14. Bộc lộ CK5/6 của UTBM tuyến và UTBM vảy (WHO 2004)**

Nhóm chính theo WHO	Tổng số ca	Số ca dương	Tỷ lệ %
---------------------	------------	-------------	---------



<b>2004</b>		<b>tính với CK5/6</b>	
UTBM vảy	21	5	23,8
UTBM tuyến	124	0	0
P	<b>0,001 (Fisher test)</b>		

**Nhận xét:** Bộc lộ CK5/6 của UTBM tuyến và UTBM vảy theo WHO 2004 có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )

### 3.3.1.3. p63

**Bảng 3.15. Bộc lộ p63 trong các typ mô học theo WHO 2004**

<b>Typ mô học theo WHO 2004</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Số ca dương tính</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
UTBM vảy	21	12	57,1
UTBM tuyến	124	11	8,9
UTBM tuyến vảy	6	2	33,3
UTBM dạng sarcom	2	0	0,0
UTBM tế bào khổng lồ	4	0	0,0
UTBM thần kinh nội tiết	5	1	20,0
UTBM kém biệt hóa	12	0	0,0
UTBM dạng gan	2	0	0,0
UTBM màng đệm	1	1	100,0
UTBM biểu bì nhầy	2	0	0,0
U biểu mô ác tính	6	1	16,7
<b>Tổng</b>	<b>185</b>	<b>28</b>	<b>15,1</b>

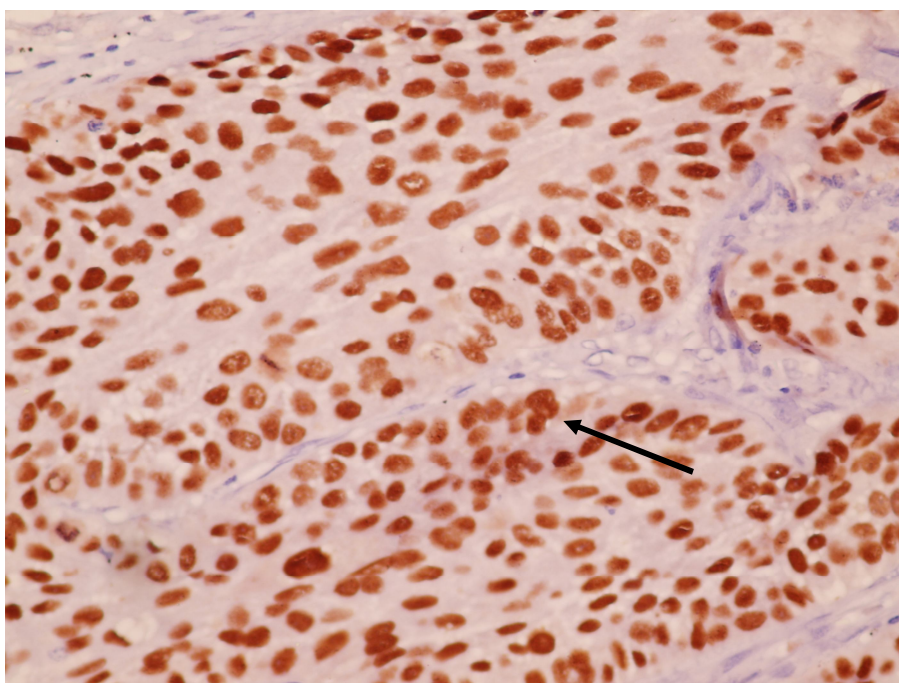
**Nhận xét:** Ung thư biểu mô vảy có tỷ lệ dương tính cao nhất với p63 (57,1%), sau đó là ung thư biểu mô tuyến vảy (33,3%) và ung thư biểu mô thần kinh nội tiết (20%). Các typ khác có tỷ lệ dương tính thấp. Các typ mô học âm tính với p63 gồm các ung thư biểu mô dạng sarcom, tế bào khổng lồ, kém biệt hóa, dạng gan và biểu bì nhầy.

**Bảng 3.16. Bộc lộ p63 của các typ mô học UTBM tuyến theo WHO 2004**

<b>Typ mô học theo WHO 2004</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Số ca dương tính</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
---------------------------------	-------------------	-------------------------	----------------

UTBM tuyến hỗn hợp	49	3	6,1
UTBM typ chùm nang	19	2	10,5
UTBM thể nhú	18	1	5,6
UTBM tuyến đặc	13	2	15,4
UTBM TPQPN	12	2	16,7
UTBM thể nhày	8	1	12,5
UTBM tuyến tế bào sáng	5	0	0,0
Tổng	124	11	8,9

**Nhận xét:** Các typ mô học của ung thư biểu mô tuyến theo WHO 2004 đều có tỷ lệ dương tính thấp với p63 với tỷ lệ thấp, từ 5,6% đến 16,7%.



**Ảnh 3.7:** Đặng Ngọc Đ., 56 tuổi, Số tiêu bản: 3740: UTBM vảy, p63 x 400.

**Bảng 3.17.** Bộc lộ p63 của các typ UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011

Typ mô học theo IASLC/ATS/ERS 2011	Tổng số ca	Số ca dương tính	Tỷ lệ %
------------------------------------	------------	------------------	---------

UTBM typ chùm nang	52	5	9,6
UTBM thể nhú	19	1	5,3
UTBM thể vi nhú	5	0	0
UTBM tuyến đặc	18	2	11,1
UTBM dạng vảy cá	17	2	11,8
UTBM thể nhầy	8	1	12,5
UTBM tuyến tế bào sáng	5	0	0,0
Tổng	124	11	8,9

**Nhận xét:** Các typ mô học của ung thư biểu mô tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011 đều có tỷ lệ dương tính thấp với p63, từ 5,3% đến 12,5%.

**Bảng 3.18. Bộc lộ p63 của UTBM vảy và UTBM tuyến theo WHO 2004**

Nhóm chính theo WHO 2004	Tổng số ca	Số ca dương tính với p63	Tỷ lệ %
UTBM vảy	21	12	57,1
UTBM tuyến	124	11	8,9
P	<b>0,001 (Chi – square)</b>		

**Nhận xét:** Bộc lộ p63 của UTBM vảy và UTBM tuyến theo WHO 2004 có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

#### 3.3.1.4. TTF-1

**Bảng 3.19. Bộc lộ TTF-1 của các typ mô học theo WHO 2004**

Typ mô học theo WHO 2004	Tổng số ca	Số ca dương tính với TTF-1	Tỷ lệ %
--------------------------	------------	----------------------------	---------

UTBM vảy	21	6	28,6
UTBM tuyến	124	89	71,8
UTBM tuyến vảy	6	3	50,0
UTBM dạng sarcom	2	0	0,0
UTBM tế bào khổng lồ	4	0	0,0
UTBM thần kinh nội tiết	5	3	60,0
UTBM kém biệt hóa	12	2	16,7
UTBM dạng gan	2	2	100,0
UTBM màng đệm	1	0	0,0
UTBM biểu bì nhày	2	0	0,0
U biểu mô ác tính	6	1	16,7
Tổng	185	106	57,3

**Nhận xét:** Ung thư biểu mô tuyến của phổi có tỷ lệ dương tính cao với TTF-1 (71,8%), sau đó là ung thư biểu mô thần kinh nội tiết (60%) và ung thư biểu mô tuyến vảy (50%). Chỉ có 28,6% các trường hợp ung thư biểu mô vảy dương tính với TTF-1.

**Bảng 3.20. Bộ lậ TTF-1 của các typ mô học UTBM tuyến theo WHO 2004**

<b>Typ mô học theo WHO 2004</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Số ca dương tính với TTF-1</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
UTBM tuyến hỗn hợp	49	38	77,6
UTBM typ chùm nang	19	14	73,7
UTBM thể nhú	18	12	66,7
UTBM tuyến đặc	13	9	69,2
UTBM TPQPN	12	8	66,7
UTBM thể nhày	8	5	62,5
UTBM tuyến tế bào sáng	5	3	60,0
Tổng	124	89	71,8

**Nhận xét:** Các typ mô học của ung thư biểu mô tuyến theo WHO 2004 đều có tỷ lệ dương tính cao với TTF-1 (từ 60% đến 77,6%), trong đó ung thư biểu mô tuyến hỗn hợp có tỷ lệ dương tính cao nhất (77,6%), sau đó là ung thư biểu mô typ chùm nang (73,7%).

**Bảng 3.21. Bộc lộ TTF-1 của các typ UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011**

<b>Typ mô học theo IASLC/ATS/ERS 2011</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Số ca dương tính với TTF-1</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
UTBM typ chùm nang	52	44	84,6
UTBM thể nhú	19	12	63,2
UTBM thể vi nhú	5	3	60
UTBM tuyến đặc	18	13	72,2
UTBM dạng vảy cá	17	9	52,9
UTBM thể nhày	8	5	62,5
UTBM tuyến tế bào sáng	5	3	60,0
<b>Tổng</b>	<b>124</b>	<b>89</b>	<b>71,8</b>

**Nhận xét:** Các typ mô học của ung thư biểu mô tuyến IASLC/ATS/ERS 2011 đều có tỷ lệ dương tính cao với TTF-1 (từ 52,9% đến 84,6%), trong đó ung thư biểu mô typ chùm nang có tỷ lệ dương tính cao nhất (84,6%), sau đó là ung thư biểu mô typ đặc (72,2%).

**Bảng 3.22. Bộc lộ TTF-1 của UTBM vảy và UTBM tuyến theo WHO 2004**

<b>Nhóm chính theo WHO 2004</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Số ca dương tính với TTF-1</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
UTBM vảy	21	6	28,6
UTBM tuyến	124	89	71,8
<b>P</b>	<b>0,001 (Chi – square)</b>		

**Nhận xét:** Bộc lộ TTF-1 của ung thư biểu mô tuyến và ung thư biểu mô vảy theo WHO 2004 có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

### 3.3.1.5. Napsin A

**Bảng 3.23. Bộ lộ Napsin A của các typ mô học theo WHO 2004**

<b>Typ mô học theo WHO 2004</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Số ca dương tính với Napsin A</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
UTBM VẢY	21	6	28,6
UTBM TUYẾN	124	103	83,1
UTBM tuyến vảy	6	5	83,3
UTBM dạng sarcom	2	0	0,0
UTBM tế bào khổng lồ	4	1	25,0
UTBM thần kinh nội tiết	5	2	40,0
UTBM kém biệt hóa	12	2	16,7
UTBM dạng gan	2	0	0,0
UTBM màng đệm	1	0	0,0
UTBM biểu bì nhày	2	2	100,0
U biểu mô ác tính	6	2	33,3
<b>Tổng</b>	<b>185</b>	<b>123</b>	<b>66,5</b>

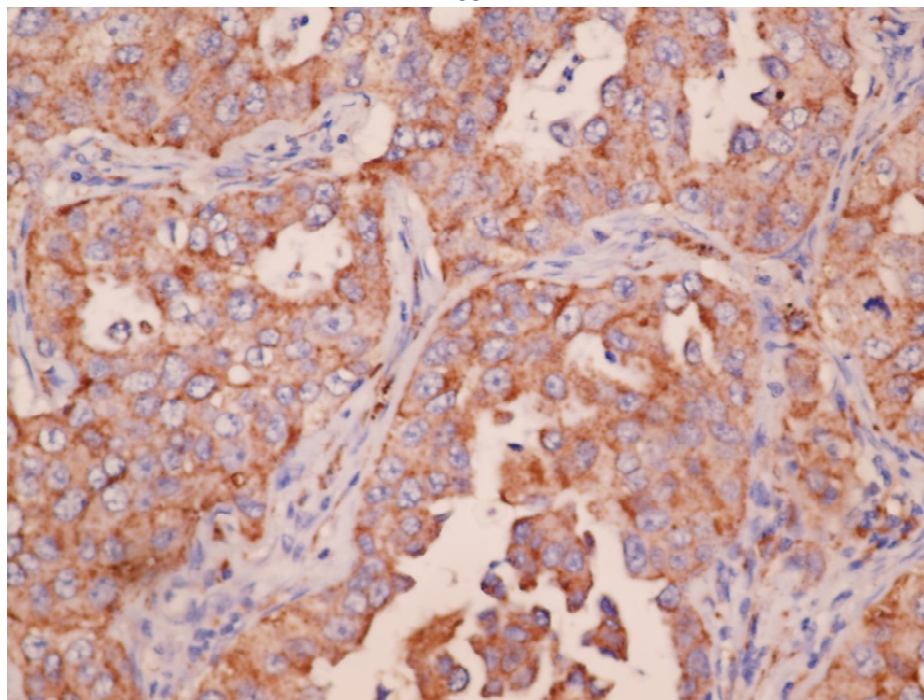
**Nhận xét:** Ung thư biểu mô tuyến và ung thư biểu mô tuyến vảy đều có tỷ lệ dương tính cao với Napsin A (83,1% và 83,3%), sau đó là ung thư biểu mô thần kinh nội tiết (40%). Chỉ có 28,6% ung thư biểu mô vảy dương tính với Napsin A.

**Bảng 3.24. Bộ l  Napsin A của các typ m  học UTBM tuyển theo WHO 2004**

<b>Typ m� học theo WHO 2004</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Số ca dương tính với Napsin A</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
UTBM tuyển hỗn hợp	49	41	83,7
UTBM typ chùm nang	19	17	89,5
UTBM thể nh�	18	16	88,9
UTBM tuyển đặc	13	9	69,2
UTBM TPQPN	12	10	83,3
UTBM thể nh�y	8	6	75,0
UTBM tuyển tế bào s�ng	5	4	80,0
Tổng	124	103	83,1

**Nhận xét:** Ung thư biểu m  tuyển typ chùm nang, typ nh , typ hỗn hợp và typ tiểu phế quản phế nang đều có tỷ lệ dương tính cao với Napsin (89,5%, 88,9%, 83,7% và 83,3% theo thứ tự). Các typ có tỷ lệ dương tính thấp hơn là các typ tế bào s ng, nh y và đặc chiếm 80%, 75% và 69,2% theo thứ tự.





*Ảnh 3.8: Nguyễn Văn Ph., 1963, Số tiêu bản: 4417: UTBM tuyến hỗn hợp, Napsin A x 400.*

**Bảng 3.25. Bộc lộ Napsin A của các typ UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011**

<b>Typ mô học theo IASLC/ATS/ERS 2011</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Số ca dương tính với Napsin A</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
UTBM typ chùm nang	52	44	84,6
UTBM thể nhú	19	17	89,5
UTBM thể vi nhú	5	5	100
UTBM tuyến đặc	18	12	66,7
UTBM dạng vảy cá	17	15	88,2
UTBM thể nhầy	8	6	75,0
UTBM tuyến tế bào sáng	5	4	80,0
<b>Tổng</b>	<b>124</b>	<b>103</b>	<b>83,1</b>

**Nhận xét:** Ung thư biểu mô typ vi nhú, typ nhú, dạng vảy cá và typ chùm nang có tỷ lệ dương tính cao với Napsin A (100%, 89,5%, 88,2% và

84,6% theo thứ tự), toàn nhóm ung thư biểu mô tuyến có tỷ lệ dương tính cao với Napsin A (83,1%).

**Bảng 3.26. Bộc lộ Napsin A của UTBM tuyến và UTBM vảy theo WHO 2004**

Nhóm chính theo WHO 2004	Tổng số ca	Số ca dương tính với Napsin A	Tỷ lệ %
UTBM vảy	21	6	28,6
UTBM tuyến	124	103	83,1
P	<b>0,001 (Chi – square)</b>		

**Nhận xét:** Bộc lộ Napsin A của ung thư biểu mô tuyến và ung thư biểu mô vảy theo WHO 2004 có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )

### 3.3.1.6. Claudin-1

**Bảng 3.27. Bộc lộ Claudin-1 của các typ mô học theo WHO 2004**

Typ mô học theo WHO 2004	Tổng số ca	Số ca dương tính với Claudin-1	Tỷ lệ %
UTBM vảy	21	15	71,4
UTBM tuyến	124	46	37,1
UTBM tuyến vảy	6	4	66,7
UTBM dạng sarcom	2	0	0,0
UTBM tế bào khổng lồ	4	0	0,0
UTBM thần kinh nội tiết	5	2	40,0
UTBM kém biệt hóa	12	5	41,7
UTBM dạng gan	2	0	0,0
UTBM màng đệm	1	1	100,0
UTBM biểu bì nhầy	2	0	0,0
U biểu mô ác tính	6	2	33,3
Tổng	185	75	40,5

**Nhận xét:** Ung thư biểu mô vảy và ung thư biểu mô tuyến vảy có tỷ lệ dương tính cao với Claudin-1 (71,4% và 66,7% theo thứ tự). Các typ khác có tỷ lệ dương tính với Claudin-1 theo thứ tự thấp dần là ung thư biểu mô kém

biệt hóa (41,7%), ung thư biểu mô thần kinh nội tiết (40%) và ung thư biểu mô tuyến (37,1%).

**Bảng 3.28. Bộc lộ Claudin-1 của các typ UTBM tuyến theo WHO 2004**

Typ mô học theo WHO 2004	Tổng số ca	Số ca dương tính	Tỷ lệ %
UTBM tuyến hỗn hợp	49	20	40,8
UTBM typ chùm nang	19	7	36,8
UTBM thể nhú	18	8	44,4
UTBM tuyến đặc	13	3	23,1
UTBM TPQPN	12	4	33,3
UTBM tuyến nhày	8	3	37,5
UTBM tuyến tế bào sáng	5	1	20,0
Tổng	124	46	37,1

**Nhận xét:** Ung thư biểu mô thể nhú và ung thư biểu mô tuyến hỗn hợp có tỷ lệ dương tính cao với Claudin-1 (44,4% và 40,8% theo thứ tự), sau đó là ung thư biểu mô tuyến nhày (37,5%), typ chùm nang (36,8%), ung thư biểu mô tiểu phế quản phế nang (33,3%). Các typ còn lại có tỷ lệ dương tính thấp với Claudin-1.

**Bảng 3.29. Bộc lộ Claudin-1 của các typ UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011**

<b>Typ mô học theo IASLC/ATS/ERS 2011</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Số ca dương tính</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
UTBM typ chùm nang	52	22	42,3
UTBM thể nhú	19	8	42,1
UTBM thể vi nhú	5	2	40,0
UTBM tuyến đặc	18	5	27,8
UTBM dạng vảy cá	17	5	29,4
UTBM thể nhày	8	3	37,5
UTBM tuyến tế bào sáng	5	1	20,0
<b>Tổng</b>	<b>124</b>	<b>46</b>	<b>37,1</b>

**Nhận xét:** Các typ ung thư biểu mô tuyến typ chùm nang, thể nhú và vi nhú có tỷ lệ dương tính khá cao với Claudin-1 (42,3%, 42,1% và 40% theo thứ tự). Ung thư biểu mô tuyến nhày có tỷ lệ dương tính thấp hơn (37,5%), sau đó là dạng vảy cá (29,4%) và tuyến đặc (27,8%).

**Bảng 3.30. Bộc lộ Claudin-1 của UTBM tuyến và UTBM vảy theo WHO 2004**

<b>Nhóm chính theo WHO 2004</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Số ca dương tính với Claudin-1</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
UTBM vảy	21	15	71,4
UTBM tuyến	124	46	37,1
P	<b>0,03 (Chi – square)</b>		

**Nhận xét:** Bộc lộ Claudin-1 của ung thư biểu mô tuyến và ung thư biểu mô vảy theo WHO 2004 có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

### 3.3.1.7. Claudin-5

**Bảng 3.31. Bộc lộ Claudin-5 của các typ mô học theo WHO 2004**

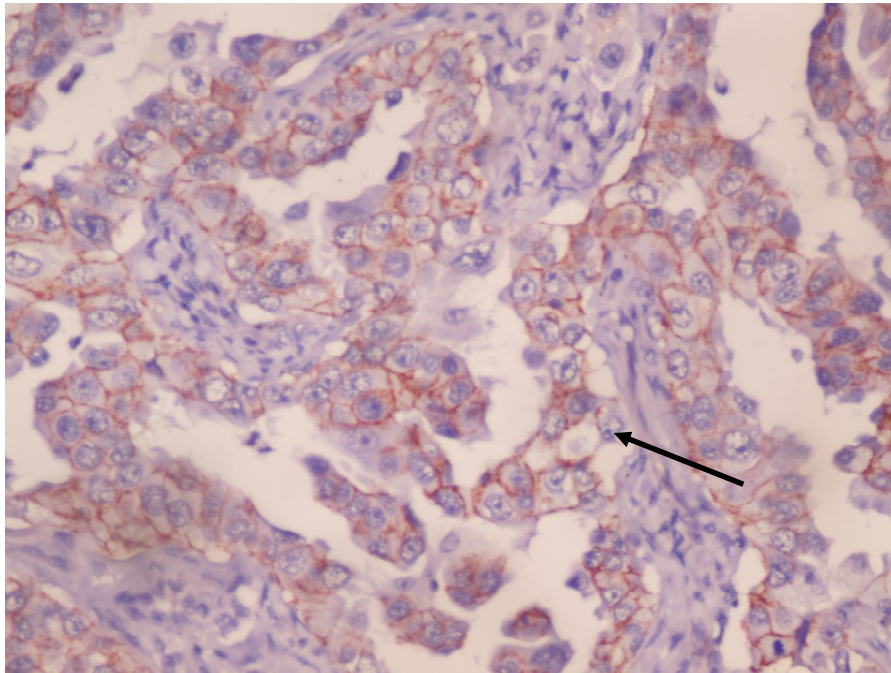
<b>Typ mô học theo WHO 2004</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Số ca dương tính với Claudin-5</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
UTBM vảy	21	9	42,9
UTBM tuyến	124	44	35,5
UTBM tuyến vảy	6	2	33,3
UTBM dạng sarcom	2	0	0,0
UTBM tế bào khổng lồ	4	1	25,0
UTBM thần kinh nội tiết	5	0	0,0
UTBM kém biệt hóa	12	5	41,7
UTBM dạng gan	2	0	0,0
UTBM màng đệm	1	0	0,0
UTBM biểu bì nhày	2	0	0,0
U biểu mô ác tính	6	1	16,7
Tổng	185	62	33,5

**Nhận xét:** Ung thư biểu mô vảy có tỷ lệ dương tính cao nhất với Claudin -5 (42,9%), sau đó là các typ ung thư biểu mô kém biệt hóa (41,7%), ung thư biểu mô tuyến (35,5%), ung thư biểu mô tuyến vảy (33,3%). Các typ ung thư biểu mô thần kinh nội tiết, dạng sacom, dạng gan, ung thư biểu mô màng đệm và ung thư biểu mô biểu bì nhày đều âm tính với Claudin-5.

**Bảng 3.32. Bộc lộ Claudin-5 của các typ mô học UTBM tuyến theo WHO 2004**

<b>Typ mô học theo WHO 2004</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Số ca dương tính với Claudin-5</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
UTBM tuyến hỗn hợp	49	13	26,5
UTBM typ chùm nang	19	6	31,6
UTBM thể nhú	18	12	66,7
UTBM tuyến đặc	13	5	38,5
UTBM TPQPN	12	5	41,7
UTBM thể nhày	8	1	12,5
UTBM tuyến tế bào sáng	5	2	40,0
<b>Tổng</b>	<b>124</b>	<b>44</b>	<b>35,5</b>

**Nhận xét:** Ung thư biểu mô thể nhú có tỷ lệ dương tính cao nhất với Claudin-5 (66,7%), sau đó tỷ lệ dương tính thấp dần là typ tiểu phế quản phế nang (41,7%), tuyến tế bào sáng (40%), tuyến đặc (38,5%) và typ chùm nang (31,6%). Các typ còn lại có tỷ lệ dương tính thấp.



**Ảnh 3.9:** Nguyễn Văn Ph., 1963, Số tiêu bản: 4417: UTBM tuyến hỗn hợp, Claudin - 5 x 400.

**Bảng 3.33. Bộc lộ Claudin-5 của các typ UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011**

Typ mô học theo IASLC/ATS/ERS 2011	Tổng số ca	Số ca dương tính	Tỷ lệ %
UTBM typ chùm nang	52	15	28,8
UTBM thể nhú	19	10	52,6
UTBM thể vi nhú	5	3	60,0
UTBM tuyến đặc	18	7	38,9
UTBM dạng vảy cá	17	6	35,3
UTBM thể nhầy	8	1	12,5
UTBM tuyến tế bào sáng	5	2	40,0
Tổng	124	44	35,5

**Nhận xét:** Ung thư biểu mô thể vi nhú và nhú có tỷ lệ dương tính cao với Claudin-5 (60% và 52,6%), sau đó là các typ tuyến tế bào sáng (40%), tuyến đặc (38,9%) và dạng vảy cá (35,3%), Hai typ còn lại có tỷ lệ dương tính thấp hơn.

**Bảng 3.34. Bộc lộ Claudin-5 của UTBM tuyến và UTBM vảy theo WHO 2004**

Nhóm chính theo WHO 2004	Tổng số ca	Số ca dương tính với Claudin-5	Tỷ lệ %
UTBM vảy	21	9	42,9
UTBM tuyến	124	44	35,5
Tổng	0,516 (Chi – square)		

**Nhận xét:** Bộc lộ Claudin-5 của ung thư biểu mô tuyến và ung thư biểu mô vảy theo WHO 2004 không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

### 3.3.1.8. Ki67

**Bảng 3.35. Bộc lộ Ki67 của các typ mô học theo WHO 2004**

Typ mô học theo WHO 2004	Tổng số ca	Số ca dương tính	Tỷ lệ %
UTBM VẢY	17	14	82,4
UTBM TUYẾN	92	48	52,2
UTBM tuyến vảy	6	3	50,0
UTBM dạng sarcom	2	2	100,0
UTBM tế bào khổng lồ	1	1	100,0
UTBM thần kinh nội tiết	5	4	80,0
UTBM kém biệt hóa	6	3	50,0
UTBM dạng gan	2	1	50,0
UTBM màng đệm	1	1	100,0
UTBM biểu bì nhày	2	0	0,0
U biểu mô ác tính	6	1	16,7
Tổng	141	78	55,3

**Nhận xét:** Trong 185 cas, chúng tôi tiến hành nhuộm Ki-67 trên 141 cas trong số 185 cas. Theo đó, ung thư biểu mô vảy và ung thư biểu mô thần kinh nội tiết có tỷ lệ dương tính cao với Ki-67 (82,4% và 80% theo thứ tự). Ung thư biểu mô tuyến có tỷ lệ dương tính thấp hơn (52,2%).

**Bảng 3.36. Bộc lộ Ki67 của các typ UTBM tuyến theo WHO 2004**



<b>Typ mô học theo WHO 2004</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Số ca dương tính với Ki67</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
UTBM tuyến hỗn hợp	33	23	69,7
UTBM typ chùm nang	11	5	45,5
UTBM thể nhú	14	3	21,4
UTBM tuyến đặc	12	9	75,0
UTBM TPQPN	12	4	33,3
UTBM thể nhày	6	2	33,3
UTBM tuyến tế bào sáng	4	2	50,0
Tổng	92	48	52,2

**Nhận xét:** Ung thư biểu mô tuyến đặc và ung thư biểu mô tuyến hỗn hợp có tỷ lệ dương tính cao với Ki-67 (75% và 69,7% theo thứ tự), sao đó là ung thư biểu mô tế bào sáng và typ chùm nang (50% và 45,5% theo thứ tự).

**Bảng 3.37. Bộc lộ Ki67 của các typ UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011**

<b>Typ mô học theo IASLC/ATS/ERS 2011</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Số ca dương tính với Ki67</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
UTBM typ chùm nang	32	19	59,4
UTBM thể nhú	15	5	33,3
UTBM thể vi nhú	4	1	25,0
UTBM tuyến đặc	14	11	78,6
UTBM dạng vảy cá	17	8	47,1
UTBM thể nhày	6	2	33,3
UTBM tuyến tế bào sáng	4	2	50,0
<b>Tổng</b>	<b>92</b>	<b>48</b>	<b>52,2</b>

**Nhận xét:** Ung thư biểu mô tuyến đặc có tỷ lệ dương tính cao nhất với Ki-67 (78,6%), sau đó là typ chùm nang (59,4%), typ tế bào sáng (50%) và dạng vảy cá (47,2%).

**Bảng 3.38. Bộc lộ Ki-67 của UTBM tuyến và UTBM vảy theo WHO 2004**

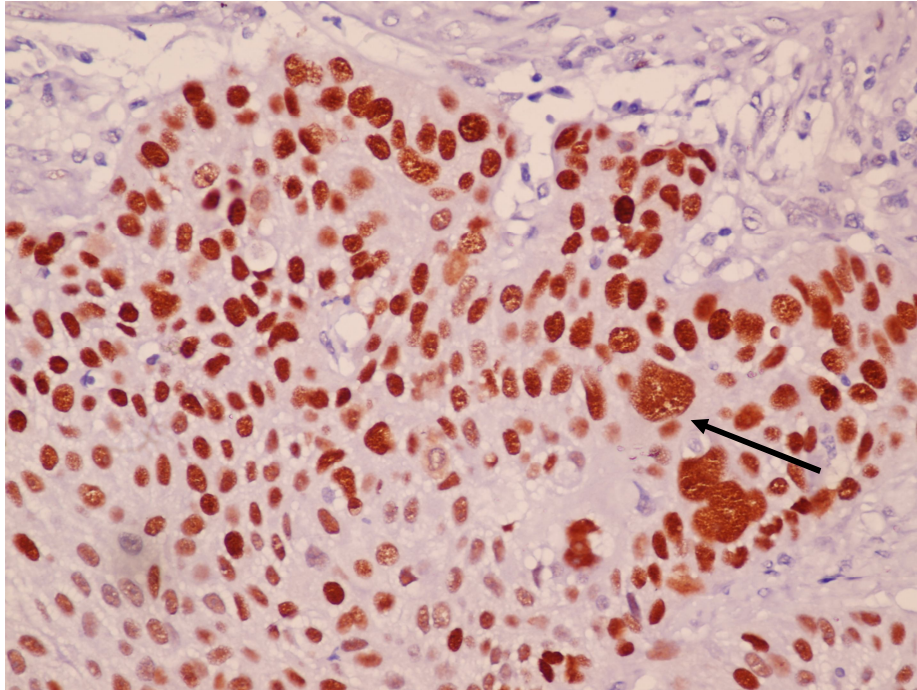
<b>Nhóm chính theo WHO 2004</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Số ca dương tính với Ki67</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
UTBM vảy	17	14	82,4
UTBM tuyến	92	47	52,2
<b>P</b>	<b>0,022 (Fisher test)</b>		

**Nhận xét:** Bộc lộ Ki-67 của ung thư biểu mô tuyến và ung thư biểu mô vảy theo WHO 2004 có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

**Bảng 3.39. Bộ lạc p53 của các typ mô học theo WHO 2004**

<b>Typ mô học theo WHO 2004</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Số ca dương tính</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
UTBM vảy	21	13	61,9
UTBM tuyến	124	52	41,9
UTBM tuyến vảy	6	5	83,3
UTBM dạng sarcom	2	2	100,0
UTBM tế bào khổng lồ	4	2	50,0
UTBM thần kinh nội tiết	5	3	60,0
UTBM kém biệt hóa	12	7	58,3
UTBM dạng gan	2	1	50,0
UTBM màng đệm	1	1	100,0
UTBM biểu bì nhầy	2	0	0,0
U biểu mô ác tính	6	0	0,0
Tổng	185	86	46,5

**Nhận xét:** Ung thư biểu mô tuyến vảy có tỷ lệ dương tính cao với p53 (83,3%), sau đó là ung thư biểu mô vảy 61,9%, ung thư biểu mô thần kinh nội tiết (60%) và ung thư biểu mô kém biệt hóa (58,3%).



**Ảnh 3.10:** Đặng Ngọc Đ., 1958, Số tiêu bản: 3740: Carcinoma vảy, p53 x 400.

**Bảng 3.40. Bộc lộ p53 của các typ UTBM tuyến theo WHO 2004**

Typ mô học theo WHO 2004	Tổng số ca	Số ca dương tính với p53	Tỷ lệ %
UTBM tuyến hỗn hợp	49	22	44,9
UTBM typ chùm nang	19	10	52,6
UTBM thể nhú	18	8	44,4
UTBM tuyến đặc	13	3	23,1
UTBM TPQPN	12	6	50,0
UTBM thể nhầy	8	2	25,0
UTBM tuyến tế bào sáng	5	1	20,0
Tổng	124	52	41,9

**Nhận xét:** Ung thư biểu mô typ chùm nang có tỷ lệ dương tính cao nhất với p53 (52,6%), sau đó là các typ tiểu phế quả phế nang (50%), ung thư biểu mô tuyến hỗn hợp (44,9%) và typ nhú (44,4%).

**Bảng 3.41. Bộc lộ p53 của các typ UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011**

<b>Typ mô học theo IASLC/ATS/ERS 2011</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Số ca dương tính với p53</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
UTBM typ chùm nang	52	24	46,2
UTBM thể nhú	19	7	36,8
UTBM thể vi nhú	5	2	40,0
UTBM tuyến đặc	18	6	33,3
UTBM dạng vảy cá	17	10	58,8
UTBM thể nhày	8	2	25,0
UTBM tuyến tế bào sáng	5	1	20,0
<b>Tổng</b>	<b>124</b>	<b>52</b>	<b>41,9</b>

**Nhận xét:** Ung thư biểu mô dạng vảy cá có tỷ dương tính cao nhất với p53 (58,8%), sau đó là các typ chùm nang (46,2%), vi nhú (40%), và typ nhú (33,3%).

**Bảng 3.42. Bộc lộ p53 của UTBM tuyến và UTBM vảy theo WHO 2004**

<b>Nhóm chính theo WHO 2004</b>	<b>Tổng số ca</b>	<b>Số ca dương tính với p53</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
UTBM vảy	21	13	61,9
UTBM tuyến	124	52	41,9
<b>P</b>	<b>0,089 (Chi – square)</b>		

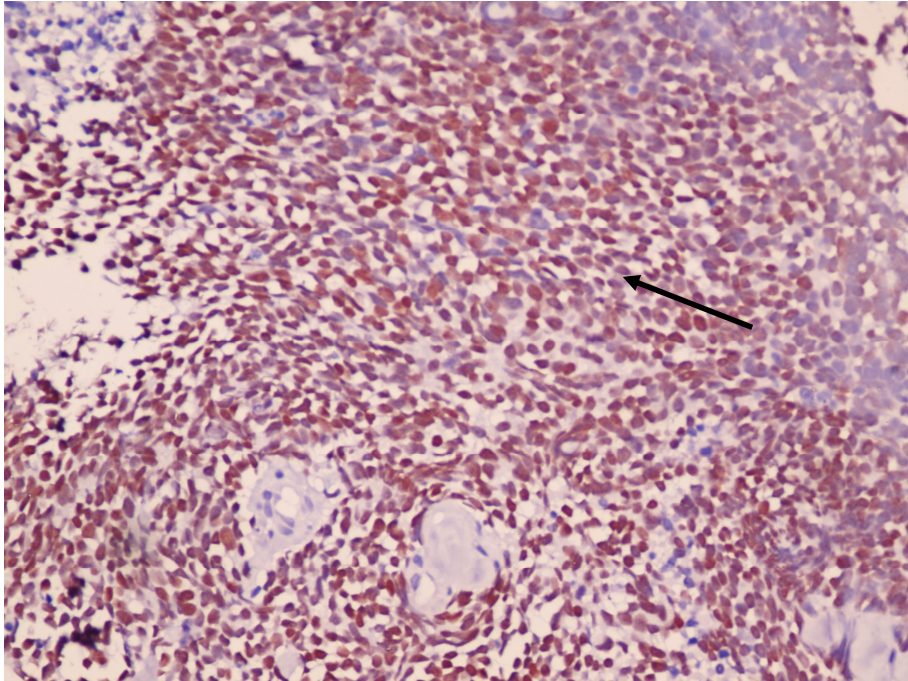
**Nhận xét:** Bộc lộ p53 của ung thư biểu mô tuyến và ung thư biểu mô vảy theo WHO 2004 không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ )

### 3.3.2. Hoá mô miễn dịch ung thư phổi tế bào nhỏ

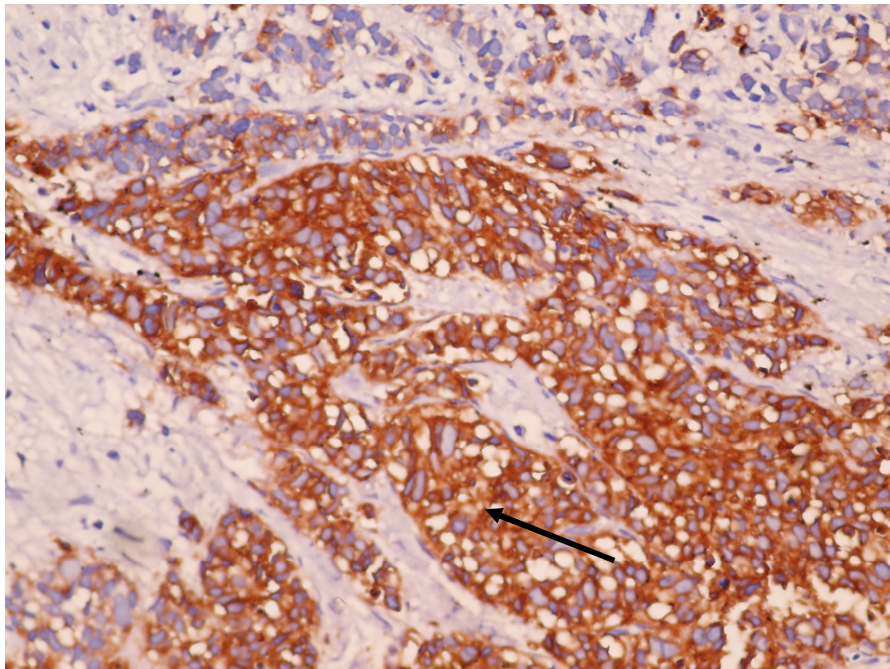
**Bảng 3.43. Tỷ lệ bộc lộ HMMH của ung thư phổi tế bào nhỏ**

Dấu ấn	Số dương tính/số xét nghiệm	Tỷ lệ (%)
Ki67	47/57	82,5
NSE	38/61	62,3
P53	36/73	49,3
CEA	34/73	46,6
CD56	7/24	29,2
Chromogranin	15/59	25,4
TTF-1	30/43	69,7

**Nhận xét:** Ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ có tỷ lệ dương tính cao nhất với Ki-67 (82,5%), sau đó thấp dần với TTF-1 (69,7), NSE (62,3%), p53 (49,3%) CEA (46,6%). CD56 và chromogranin có tỷ lệ dương tính thấp hơn (29,2% và 25,4% theo thứ tự).



*Ảnh 3.11: Nguyễn Ngọc Th., 70 tuổi, Số tiêu bản: 82186: UTBM tế bào nhỏ, TTF-1 x 400.*



*Ảnh 3.12: Đỗ Văn S., 65 tuổi, Số tiêu bản: 81871: UTBM tế bào nhỏ, CEA x 400.*



## CHƯƠNG 4

### BÀN LUẬN

#### 4.1. Tuổi và giới

##### 4.1.1. Ung thư biểu mô không tế bào nhỏ

Nghiên cứu về tuổi của ung thư biểu mô phổi không tế bào nhỏ của chúng tôi cho thấy nhóm 40 - 49 tuổi chiếm tỉ lệ cao nhất (49,7%), đứng hàng thứ hai là nhóm 50 - 59, tuổi chiếm tỉ lệ 29,7%. Nếu tính chung nhóm tuổi từ 40 - 59 tuổi là 79,4%. Tuổi trung bình khi phát hiện ung thư phổi là  $57,6 \pm 8,6$  tuổi, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai giới nam và nữ ( $p > 0,05$ ). Một số nghiên cứu của các tác giả khác trong nước cũng đã công bố về tuổi của bệnh nhân ung thư phổi. Theo Hoàng Đình Chân (1996), tỷ lệ ung thư biểu mô phân bố theo các nhóm tuổi như sau: <20 tuổi: 0%, 20 - 40 tuổi: 10,3%, 40 - 60 tuổi: 75,9% > 60 tuổi: 13,8% [53]. Một nghiên cứu khác của Phùng Thị Phương Anh cho biết tỷ lệ ung thư biểu mô theo nhóm tuổi như sau: < 40 tuổi: 7,75%, 40 - 60 tuổi: 59,68% > 60 tuổi: 32,56% [54]. Theo Lê Trung Thọ (2002), phân bố ung thư biểu mô tuyến theo nhóm tuổi như sau: < 30 tuổi: 0,35%, từ 30 - 40 tuổi: 9,22%, từ 41 - 50 tuổi: 25,18%, từ 51 - 60 tuổi: 24,82%, từ 61 - 70 tuổi: 31,56%, > 70 tuổi: 8,86% [55]. Theo Nguyễn Ngọc Hùng (210), bệnh nhân mắc bệnh nhiều nhất ở độ tuổi 50 - 59 tuổi (33,3%), thấp nhất là độ tuổi 20 - 29 tuổi (2,4%). Nhìn chung, theo các tác giả thì ung thư phổi vẫn là bệnh của người có tuổi, bệnh chỉ có biểu hiện lâm sàng khi tuổi đã lớn và ít gặp ở lứa tuổi còn trẻ hơn [56].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tuổi trung bình khi phát hiện ung thư phổi là  $57,6 \pm 8,6$  tuổi, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai giới nam và nữ ( $p > 0,05$ ). Tuổi thấp nhất là 28, cao nhất là 92. Kết quả này phù hợp với kết quả của Nguyễn Thị Diệu Hồng, Bệnh viện Bạch Mai (2008), tuổi trung bình mắc ung thư phổi là  $54 \pm 15,18$ , thấp nhất 19 tuổi, cao nhất là 80 tuổi [57].



Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ nam/nữ là 3,2/1. So sánh với một vài tác giả khác nữa thì tỉ lệ của chúng tôi có thấp hơn so với nghiên cứu của Phùng Thị Phương Anh (1999), tỷ lệ nam/ nữ của UTBMT là 3,4/1 [54], của Hoàng Đình Chân (1996), tỷ lệ nam/nữ là 4,27/1 [53], của Tô Kiều Dung và CS tại BV Lao và bệnh phổi TW trên 235 bệnh nhân ung thư phổi với tỉ lệ nam/nữ là 5,5/1 [57]. Nhìn chung, các kết quả trong và ngoài nước đều cho thấy rằng nam giới có tỉ lệ hút thuốc lá gấp nhiều lần so với nữ giới nên tỉ lệ ung thư phổi cũng gấp ở nam nhiều hơn. Tuy nhiên từ những năm cuối thập niên 1990 thì tỉ lệ hút thuốc lá có chiều hướng giảm ở giới nam trong khi lại có sự gia tăng ở giới nữ đồng nghĩa với gia tăng tỉ lệ mắc bệnh ung thư phổi ở giới này. Hơn nữa, cùng với nền công nghiệp phát triển song song với ô nhiễm môi trường, hóa chất độc hại, đột biến gen cũng thay đổi. Do đó, các yếu tố đó cũng góp phần làm thay đổi tỉ lệ nam/nữ trong ung thư phổi.

#### ***4.1.2. Ung thư biểu mô tế bào nhỏ***

Nghiên cứu về tuổi của ung thư biểu mô tế bào nhỏ của chúng tôi cho thấy nhóm 50 - 59 tuổi chiếm tỉ lệ cao nhất (46,6%), đứng hàng thứ hai là nhóm 60 - 69, tuổi chiếm tỉ lệ 29,7%. Nếu tính chung nhóm tuổi từ 50 - 69 tuổi là 76,7%. Tuổi trung bình là  $58,0 \pm 8,2$ , thấp nhất 38 tuổi, cao nhất 77 tuổi.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ nam/nữ của bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào nhỏ là 8,1/1. Tỉ lệ này cao hơn nhiều so với các tác giả trên thế giới. Nghiên cứu của Mitsuoka và CS (2004) là 4,7/1 [59]; Okamoto và CS (2005) là  $\approx 6,8/1$  [60] và Cronenberger và cs (2006) báo cáo năm 2006 là 2,8/1 [61]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng cao hơn của Đặng Thanh Hồng và cs (2005) là 4,4/1 [62].

## **4.2. Phân loại mô học**

### ***4.2.1. Ung thư biểu mô phổi không tế bào nhỏ***

**Đặc điểm hình thái của các typ mô học chính theo WHO 2004**

Nhiều phân loại vi thể ung thư biểu mô phổi đã được công bố. Phân loại được sử dụng rộng rãi nhất có nguồn gốc từ phân loại ban đầu được đề nghị bởi Kreyberg và được chấp nhận (với những thay đổi tất yếu do những tiến bộ mới trong lĩnh vực này) bởi WHO, 2004 [63]. Các tỷ lệ tương đối của các typ mô học khác nhau của ung thư biểu mô phổi thay đổi theo thời gian. Ung thư biểu mô tế bào vảy phải là typ phổ biến hơn, nhưng hiện nay phần lớn các trường hợp là những ung thư biểu mô tuyến [64], [65].

**Ung thư biểu mô vảy**

Trên vi thể, chẩn đoán ác tính của ung thư biểu mô vảy dựa trên sự không điển hình về tế bào và tính chất xâm nhập và chẩn đoán typ tế bào vảy dựa trên việc xác định trên các lát cắt Hematoxylin-eosin sự sừng hóa và/hoặc các cầu nối gian bào. Sự hình thành keratin có thể thấy trong các tế bào riêng lẻ hoặc phổ biến hơn dưới các thể “cầu sừng”. Các tế bào hoại tử bị cô lập không được nhầm với các tế bào sừng hóa. Sự hình thành vòng xoáy và sự lát tầng rõ rệt của các tế bào u đã được sử dụng bởi một số tác giả như một bằng chứng có khả năng là sự biệt hóa vảy khi không có những đặc điểm đã liệt kê, nhưng theo phân loại WHO, các u phải được xếp vào loại tế bào lớn không biệt hóa. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tất cả các trường hợp ung thư biểu mô tế bào vảy đều có hình ảnh không điển hình, không có trường hợp nào có hình ảnh cầu sừng, chỉ có hiện tượng sừng hóa của một số tế bào riêng lẻ. Chúng tôi không gặp các biến thể tế bào nhỏ, tế bào sáng, như biệt hóa cao hoặc dạng đáy. Trong biến thể tế bào nhỏ, các tế bào u nhỏ với sừng hóa thành ổ. Sự phân biệt với ung thư biểu mô tế bào nhỏ và ung thư biểu mô tế bào nhỏ/ung thư biểu mô tế bào vảy, có thể khó. Trong biến thể tế bào nhỏ của ung thư biểu mô vảy, nhân có hình túi hơn và có hạt nhân được xác định rõ hơn, các ổ tế bào u có giới hạn rõ, mô đệm rõ hơn và có ít hoại tử. Trong

biến thể tế bào sáng, các tế bào sáng thường nhiều (thường do sự tích lũy glycogen), nhưng u còn có bằng chứng rõ ràng của sừng hóa. Tuy nhiên, thay đổi tế bào sáng xảy ra phổ biến hơn trong các typ khác của ung thư biểu mô phổi, đặc biệt là ung thư biểu mô tuyến.

### **Ung thư biểu mô tuyến**

Những ung thư biểu mô tuyến bao gồm trên một nửa tất cả các ung thư biểu mô phổi ở phụ nữ và một tỷ lệ thấp hơn của những ung thư phổi ở nam giới. Tuy nhiên, trong số lượng tuyệt đối, chúng phổ biến hơn ở nam giới so với ở phụ nữ. Có bằng chứng dịch tễ học chứng tỏ rằng ung thư biểu mô tuyến ngày càng phổ biến hơn so với các typ khác của ung thư phổi, đến mức hiện nay nó trở thành thể phổ biến nhất [64], [65]. Về vi thể, các ung thư biểu mô tuyến có một giới hạn rộng về biệt hóa, một thái cực là ung thư biểu mô tiểu phế quản phế nang và thái cực kia là ung thư biểu mô tế bào lớn không biệt hóa [66], [67], [68], [69]. Hai dấu hiệu hình thái học của biệt hóa tuyến, thường được tìm thấy cùng với nhau là sự hình thành các ống hoặc nhú và sự chế tiết chất nhầy. Phụ thuộc vào sự ưu thế tương đối của những hình ảnh này, những ung thư biểu mô tuyến được chia thành ung thư biểu mô tuyến nang, nhú và đặc có sản xuất chất nhầy, nhưng có sự trùng lặp lớn giữa các nhóm này. Ung thư biểu mô nhú là thể đáng quan tâm đặc biệt của ung thư biểu mô phổi vì mối liên quan còn nhiều tranh cãi của nó với ung thư biểu mô tiểu phế quản phế nang và đôi khi nó có sự tương tự về hình thái học với ung thư biểu mô tuyến giáp thể nhú di căn, điều này trở nên phức tạp do sự thực là hai khối u này có cùng phản ứng miễn dịch với TTF-1 [70]. Trường hợp ngoại lệ, ung thư biểu mô nhú có thể có hình ảnh hình thành phổi dâu chiếm ưu thế [71]. Những trường hợp khác có thể có hình ảnh vi nhú, một hình ảnh được cho là kết hợp với tiên lượng xấu [72], [73], [74].

### **Ung thư biểu mô tuyến vảy**

Thuật ngữ ung thư biểu mô tuyến vảy được sử dụng cho các u phổi, trong đó bằng chứng chắc chắn của biệt hóa vảy và tuyến được tìm thấy trong cùng một u với khối lượng gần như bằng nhau [75]. Những ung thư biểu mô vảy có các tế bào sản xuất chất nhầy một cách ngẫu nhiên hoặc những ung thư biểu mô tuyến với những ổ biệt hóa vảy rất nhỏ được đặt tên theo thành phần ưu thế của chúng. Theo định nghĩa này, những ung thư biểu mô tuyến vảy chiếm dưới 10% những ung thư phổi. Hầu hết các trường hợp khu trú ở ngoại vi và thường kết hợp với một sẹo, gợi ý sự liên quan chặt chẽ hơn với ung thư biểu mô tuyến hơn là với ung thư biểu mô tế bào vảy [76], [77].

### **Ung thư biểu mô dạng sacom**

Cũng như trong các cơ quan khác (đặc biệt trong đường hô hấp tiêu hóa trên), trong phổi cũng có một nhóm các ung thư có các hình ảnh giống sacom [78], [79], [80]. Các tên của các u này có được phụ thuộc vào những biến đổi nhỏ trong hình ảnh vi thể của u và thiên kiến về tạo mô học của nhà nghiên cứu. Khi có chứa một khối lượng lớn những tế bào khổng lồ u, chúng được đặt tên là ung thư biểu mô tế bào khổng lồ. Khi bao gồm chủ yếu là những tế bào thoi nhưng còn xác định được như biểu mô trên cơ sở hình thái học, siêu cấu trúc hoặc hóa mô miễn dịch, chúng được gọi là ung thư biểu mô tế bào thoi hoặc dạng sacom [81], [82], [83], [84].

### **Ung thư biểu mô thần kinh nội tiết**

Typ hiếm gặp của ung thư biểu mô không tế bào là ung thư biểu mô thần kinh nội tiết. Những ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tiên phát khác bao gồm carcinoid điển hình, carcinoid không điển hình và ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào lớn. Định nghĩa u carcinoid điển hình của WHO là “một u với hình thái học của carcinoid và dưới 2 nhân chia/ 10 vi trường phóng đại cao ( $2\text{mm}^2$ ) không có hoại tử và 0,5cm hoặc lớn hơn”.

Sự nhầm lẫn có ý nghĩa xung quanh nhóm bệnh này được biết là carcinoid không điển hình và nhiều tên khác nhau đã được áp dụng. Thuật ngữ carcinoid không điển hình được sử dụng bởi Arrigoni và cộng sự [86] để mô tả một u thần kinh nội tiết của phổi khác với carcinoid không điển hình. Carcinoid không điển hình cũng được gọi là carcinoid ác tính [85], ung thư biểu mô thần kinh nội tiết biệt hóa cao, ung thư biểu mô tế bào nhỏ ngoại vi của phổi giống u carcinoid [87] và ung thư biểu mô tế bào Kulchitky II. Phân typ mô học quốc tế của phổi hiện nay của WHO, cùng với Travis và CS mô tả carcinoid không điển hình là một u với hình thái học thần kinh nội tiết có giữa 2 và 10 nhân chia/ 10 vi trường phóng đại cao ( $2\text{mm}^2$ ) và / hoặc với những ổ hoại tử chấm hoặc cả hai [88].

Những báo cáo bổ sung mới công bố so sánh giữa những carcinoid phổi điển hình và không điển hình [89]. Một báo cáo của Thomas và CS cung cấp bằng chứng là các u carcinoid không điển hình của phổi có di căn hạch vùng có tỷ lệ phát sinh bệnh tái phát cao nếu chỉ điều trị bằng cắt bỏ bằng phẫu thuật và bệnh nhân có kết cục xấu hơn có ý nghĩa so với những bệnh nhân có u carcinoid điển hình có tổn thương hạch lồng ngực [90].

Sự tồn tại của ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào lớn của phổi đã được gợi ý bởi Gould và Chejfec trong năm 1978 [91] và được mô tả tiếp bởi Hammond và Sause trong năm 1985 [92], Neal và CS [66] trong năm 1986 [93]. Không biết chắc chắn là liệu u được mô tả bởi McDowell [68] là ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào lớn hoặc ung thư biểu mô phổi tế bào không nhỏ có biệt hóa nội tiết [94].

Travis và CS (1991) đã báo cáo 35 u thần kinh nội tiết của phổi trong năm 1991 bao gồm 5 u thần kinh nội tiết tế bào lớn của phổi [95]. Các tác giả đã bổ sung những tiêu chuẩn sau đây để chuẩn đoán một u là ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào lớn:

- Hình ảnh thần kinh nội tiết trên hiển vi quang học bao gồm hình thái dạng cơ quan, bè, hình đậu hoặc hoa hồng.

- Các tế bào lớn với hầu hết các tế bào lớn hơn đường kính nhân của ba lympho bào nhỏ ở trạng thái nghỉ ngơi.

- Tỷ lệ nhân/nguyên sinh chất thấp, các tế bào hình đa diện, bào tương ưa eosin dạng hạt mịn, chất nhuộm sắc của nhân thô và thường có hạt nhân.

- Tỷ lệ nhân chia lớn hơn 10 nhân chia cho 10 vi trường phóng đại cao.

- Hoại tử

- Hình ảnh thần kinh nội tiết được phân biệt bằng hóa mô miễn dịch, hiển vi điện tử hoặc cả hai.

Phân loại mô học quốc tế các khối u của WHO mô tả ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào lớn là “một ung thư biểu mô tế bào lớn có những hình ảnh mô học như các hình thái dạng cơ quan, bè, giống hoa hồng và đậu gợi ý biệt hóa thần kinh nội tiết, có thể được chứng minh bằng hóa mô miễn dịch hoặc hiển vi điện tử”. Như Hammar và CS công bố trong năm 1989, một giới hạn rộng của biệt hóa cho những u thần kinh nội tiết của phổi tồn tại và một số u không phù hợp với một loại đã được xác định [96].

Những tài liệu bổ sung mới được công bố về ung thư biểu mô thần kinh nội tiết [97], [98], [99], [10], [101], [102]. Những bài báo này tiếp tục chỉ rõ là ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào lớn là một u xâm lấn. Công bố bởi Peng và CS [102] chỉ rõ rằng hình ảnh hóa mô miễn dịch của ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào lớn hơn có đặc điểm dấu ấn sinh học tương tự như ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ và đặc điểm sinh học khác biệt với ung thư biểu mô tế bào lớn với đặc điểm thần kinh nội tiết. Tuy nhiên, sự mất đi hợp tử (LOH) được ghi nhận ở nhiễm sắc thể 3 trong ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào lớn với hình ảnh thần kinh nội tiết và ung thư biểu mô tế bào nhỏ. Các tác giả gợi ý là sự biệt hóa thần kinh nội tiết về hình thái học có thể

không giống với sự biệt hóa thần kinh nội tiết về sinh học trong ung thư biểu mô tế bào lớn của phổi.

Trong một bài báo tổng quan của Lim và CS (2008) được công bố năm 2008, 1% đến 2% các u của phổi là những carcinoid điển hình và không điển hình, carcinoid điển hình chiếm phần lớn các trường hợp, trong khi carcinoid không điển hình chiếm 11% đến 24% những carcinoid phổi. Những carcinoid điển hình thường có cấu trúc dạng cơ quan và / hoặc bè với các tế bào đa hình thái nhẹ, bao gồm những nhân với chất nhiễm sắc dạng hạt và các hạt nhân không rõ với lượng bào tương của eosin vừa phải. Các nhân chia thường dưới 2 cho  $2\text{mm}^2$  và không có hoại tử. Những carcinoid điển hình đôi khi phát sinh trên nền một quá sản tế bào thần kinh nội tiết vô căn lan tỏa (DIPNECH) [103].

Những carcinoid không điển hình được phân biệt với carcinoid điển hình bởi sự có mặt của hoại tử và/hoặc 2 đến 10 nhân chia cho  $2\text{mm}^2$ . Những carcinoid không điển hình có rối loạn cấu trúc lớn hơn và tính đa hình thái tăng nhưng đây không phải là những tiêu chuẩn phân biệt.

Theo một trong các tác giả [103], những ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào lớn và ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ là hai loại u đội cao trong nhóm u thần kinh nội tiết. Ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào lớn và ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ chiếm 3% và 15% đến 20% theo thứ tự của tất cả các ung thư phổi xâm nhập. Không có tổn thương tiền xâm nhập được nhận biết. Khoảng 80% những ung thư biểu mô tế bào lớn là đơn thuần, 20% kết hợp với các typ mô học khác như ung thư biểu mô tuyến và ung thư biểu mô tế bào vảy. Rossi và CS (2004) đã tìm thấy tỷ lệ phần trăm sau đây của sự bộc lộ hóa mô miễn dịch trong ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào lớn; chromogranin A, 65%; synaptophysin, 53% và CD 56, 93%. Sự biệt hóa thần kinh nội tiết có thể thấy trong 10% đến 20% ung thư biểu mô phổi không tế bào nhỏ, hầu hết là ung thư biểu mô tuyến [104].

### **Ung thư biểu mô dạng gan**

Trên chẩn đoán hiện nay cho ung thư biểu mô tuyến dạng gan của phổi bao gồm ung thư biểu mô tuyến hoặc nhú điển hình và một thành phần giống ung thư biểu mô tế bào gan và bọc lộ - fetoprotein (AFP). Việc phân biệt ung thư biểu mô tuyến dạng gan của phổi với ung thư biểu mô tế bào gan di căn đến phổi khó khăn ở những bệnh nhân có khối u ở cả phổi và gan và ở những bệnh nhân có nguy cơ ung thư phổi và gan do hút thuốc và viêm gan do virus theo thứ tự. Haninger và CS (2013) đã báo cáo về 5 trường hợp ung thư biểu mô dạng gan của phổi được nhuộm đồng loạt với 14 dấu ấn hóa mô miễn dịch. Hai trường hợp ung thư biểu mô tế bào gan của phổi có các thành phần tế bào nhẵn. Ba trường hợp là ung thư biểu mô tuyến dạng gan đơn thuần không có các thành phần ung thư biểu mô tuyến chùm nang hoặc nhú, các tế bào nhẵn hoặc ung thư biểu mô thần kinh nội tiết [137]. Trong nghiên cứu của chúng tôi có hai trường hợp được xếp vào typ ung thư biểu mô dạng gan. Cả hai trường hợp đều chỉ có tổn thương ở gan và được xác định bằng hóa mô miễn dịch

#### **Tỷ lệ các typ mô học của ung thư biểu mô phổi theo WHO 2004**

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy ung thư biểu mô tuyến chiếm tỷ lệ rất cao (67,1%), trong khi ung thư biểu mô vảy chỉ chiếm 11,4%, ung thư biểu mô kém biệt hóa chiếm 6,4%, các loại khác chiếm tỷ lệ thấp. Đáng chú ý là trong nghiên cứu của chúng tôi, các typ hiếm gặp khác cũng được xác định như ung thư biểu mô thần kinh nội tiết (2,7%), ung thư biểu mô dạng gan (1,1% và ung thư biểu mô màng đệm (0,5%).

Các kết quả nghiên cứu của các tác giả trong nước rất khác nhau về tỷ lệ các typ mô học của ung thư biểu mô phổi. Theo nghiên cứu của Lê Trung Thọ áp dụng phân loại mô học UTP (1999) của TCYTTG tìm thấy 9 typ mô bệnh học, trong đó thứ tự gặp lần lượt từ nhiều đến ít là: UTBM vảy: 40,45%; UTBM tuyến: 27,58%; UTBM tế bào nhỏ: 9,7%; UTBM tế bào lớn: 9,19%;



UTBM tuyến vảy: 5,28%; UTBM với các phần tử sacôm hay dạng sacôm, đa hình: 2,75%; u carcinoid: 2,3%; UTBM không xếp loại: 2,06% và ít gặp nhất là UTBM typ tuyến nước bọt với 0,69% [37].

Nghiên cứu của Tô Kiều Dung và CS tại BV Lao và bệnh phổi TW trên 235 trường hợp UTP không tế bào nhỏ được phẫu thuật cho tỉ lệ UTBM tuyến là 40,43% so với 25,53% UTBM vảy [57]. Kết quả của Võ Tuấn (n = 522) với tỉ lệ UTBM tuyến là 47,5%, nhưng tần suất UTBM vảy là 22,4% [105].

Như vậy, tuy thống kê kết quả giải phẫu bệnh trên bệnh nhân ung thư phổi còn khác nhau nhưng UTBM tuyến hiện nay vẫn chiếm ưu thế hơn so với UTBM vảy.

Theo nghiên cứu của Montezuma và CS (2013), trong số 443 bệnh phẩm được sinh thiết, 325 được chẩn đoán là ung thư biểu mô nguyên phát của phổi, 198 (44,7%) là ung thư biểu mô tuyến, 9 (2%) là ung thư biểu mô tuyến vảy, 127 (28,7%) là ung thư biểu mô tế bào vảy và 40 (9%) là ung thư biểu mô không tế bào nhỏ không phân loại tiếp được. Mười trường hợp (2,3%) được xếp loại là ung thư biểu mô tuyến nguồn gốc không rõ và 58 (13%) là di căn [106].

#### 4.2.1.2. Phân loại ung thư biểu mô tuyến theo WHO 2004

Trong nghiên cứu của chúng tôi, phân loại ung thư biểu mô tuyến theo WHO 2004 cho kết quả là ung thư biểu mô tuyến hỗn hợp chiếm 39,5%, typ chùm nang chiếm 15,3%, typ nhú chiếm 14,5%, typ đặc 10,5%, typ tiểu phế quản phế nang chiếm 9,7%, các typ nhày và tế bào sáng chiếm tỷ lệ thấp (6,5% và 4% theo thứ tự).

Khác với kết quả nghiên cứu của chúng tôi, trong một nghiên cứu về ung thư biểu mô tuyến của Lê Trung Thọ (2002), thứ typ hỗn hợp và nhú lại có tỷ lệ cao nhất (33,75% và 26,7%) [55]. Tỷ lệ phân bố các thứ typ ung thư biểu mô tuyến trong nghiên cứu này cũng có sự khác biệt với kết quả nghiên cứu

về thứ tự ung thư biểu mô tuyến trên bệnh phẩm sau phẫu thuật của Ngô Văn Trung. Theo tác giả này, tỷ lệ các thứ tự như sau: ung thư biểu mô tuyến nhú là 43,75%, ung thư biểu mô tuyến đặc chế nhày là 25%, ung thư biểu mô tuyến hỗn hợp là 12,5% và thứ tự tiểu phế quản phế nang là 6,25% [107]. Như vậy, dù tỷ lệ các thứ tự ít nhiều có sự khác biệt trong đáng tiếc, thứ tự tiểu phế quản phế nang có tiên lượng tốt nhất lại thường rất ít gặp.

Nghiên cứu phân loại ung thư biểu mô tuyến theo WHO (2004) của Sakurai và CS (2013) cho thấy ung thư biểu mô tuyến hỗn hợp chiếm 36,3%, ung thư biểu mô tuyến nhú chiếm 32,2%, ung thư biểu mô tiểu phế quản phế nang chiếm 22,3%, ung thư biểu mô chùy nang chiếm 7,5% và ung thư biểu mô tuyến đặc có chất nhày chiếm 1,7% [108].

#### *4.2.1.3. Phân loại mô học UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011*

Mới đây, phân loại của WHO 1999/2004 về ung thư biểu mô tuyến đã trở nên ít hữu ích về mặt lâm sàng vì hầu hết các ung thư biểu mô tuyến thuộc loại hỗn hợp và thuật ngữ ung thư biểu mô tiểu phế quản phế nang đã làm phát sinh nhiều nhầm lẫn giữa các nhà lâm sàng. Vì những lý do này, một phân loại ung thư biểu mô tuyến mới đã được đưa vào trong năm 2011 do một nhóm làm việc liên hợp của Hội quốc tế nghiên cứu ung thư phổi (IASLC), Hội lồng ngực Mỹ (ATS) và Hội hô hấp Châu Âu (ERS). Đây là một nỗ lực quốc tế đa ngành liên kết các nhà bệnh học, sinh học phân tử, bác sĩ lâm sàng hô hấp, các nhà ung thư học lồng ngực, các nhà X quang và phẫu thuật lồng ngực. Trong phân loại này, có sự phân biệt giữa những tổn thương tiền xâm nhập, những tổn thương xâm nhập tối thiểu và tổn thương xâm nhập. Thuật ngữ ung thư biểu mô tiểu phế quản phế nang không được sử dụng nữa và những loại mới bao gồm ung thư biểu mô tuyến tại chỗ và ung thư biểu mô tuyến xâm nhập tối thiểu [8], [9], [10].

Phân loại mô học ung thư biểu mô tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011 cho kết quả là loại chùy nang chiếm 41,9%, loại nhú chiếm 19,4%, loại đặc

chiếm 14,5%, dạng vảy cá chiếm 13,7%, các biến thể nhày, vi nhú và tế bào sáng chiếm tỷ lệ thấp (6,5%, 4% và 4% theo thứ tự). Trong nước chưa có công trình khoa học nào phân loại ung thư biểu mô tuyến của phổi theo IASLC/ATS/ERS 2011. Urer và CS (2013) đã nghiên cứu phân loại 226 ung thư biểu mô tuyến của phổi theo IASLC/ATS/ERS 2011. Kết quả cho thấy các u typ chùm nang chiếm 43,8%, typ đặc chiếm 39,3%, dạng vảy cá chiếm 8,8%, typ nhú 4,8%, trong khi 3% là những biến thể của ung thư biểu mô tuyến [109]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với kết quả của nghiên cứu của Urer và CS là ung thư biểu mô typ chùm nang chiếm tỷ lệ cao nhất. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của Urer và CS, typ đặc đứng hàng thứ hai với 39,3% trong khi trong nghiên cứu của chúng tôi typ nhú đứng hàng thứ hai chỉ với 19,4%.

#### ***4.2.2. Ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ***

Về vi thể, ung thư biểu mô tế bào nhỏ cần phải được coi như một typ u đặc biệt hơn là một thể không biệt hóa của ung thư phổi. Hình thái phát triển thường là đặc, nhưng có thể thành dòng và dải, hoa hồng và giả hoa hồng, hoặc ống và ống nhỏ. Phân loại dưới nhóm của ung thư biểu mô tế bào nhỏ trước hết dựa trên những tiêu chuẩn tế bào học [110]. Thuật ngữ đã thay đổi theo thời gian như sau: [111], [112]

Kreyberg (1962)

Tế bào hạt lúa mạch

Đa diện

WHO (1967)

Giống lympho bào

Đa diện

Hình thoi

WHO (1981)

Tế bào hạt lúa mạch

Trung gian

Kết hợp

Hội quốc tế nghiên cứu ung thư phổi (IASLC) (1988)

Tế bào nhỏ (kinh điển)

Hỗn hợp tế bào nhỏ/tế bào lớn

Kết hợp

WHO (2004)

Tế bào nhỏ

Tế bào nhỏ kết hợp

Không một phân loại nào trong những phân loại này là hoàn toàn thỏa đáng và những ý đồ tiếp tục cải thiện đã được đề nghị, đó là một phân loại được đề nghị bởi WHO năm 2004, ung thư biểu mô tế bào nhỏ được coi là một bệnh riêng biệt, nó có thể biểu hiện như một thể “đơn thuần” hoặc hỗn hợp (“kết hợp”) với các typ tế bào khác [113]. Thể “đơn thuần” của ung thư biểu mô tế bào nhỏ, nó là thể phổ biến nhất, có đặc điểm bởi những tế bào tròn hoặc trái xoan nhỏ giống lympho bào [114], [115]. Các nhân có dạng hạt mịn và rất sẫm màu, các hạt nhân không rõ, nhân chia phổ biến và bào tương thường hẹp đến mức gần như không thể nhận biết được trên những tiêu bản nhuộm thông thường. Trong một số trường hợp, các tế bào có hình thoi biến thể “hình thoi” của một phân loại trước đây. “Sự đúc khuôn” của nhân, một thay đổi lần đầu tiên được mô tả trên các phiên đồ tế bào học cũng có thể được xác định trên các tiêu bản vi thể. Một hình ảnh giả tạo rất phổ biến, đặc biệt nổi trội trong những bệnh phẩm sinh thiết nhỏ, sự kéo dài của nhân với sự biến dạng, sự cụm lại và khuếch tán của chất nhiễm sắc. Nếu biến đổi này có trên khắp bệnh phẩm, có thể không chẩn đoán được. Rất đáng chú ý, hình ảnh

kinh điển của ung thư biểu mô tế bào nhỏ thấy gần như độc nhất trong các sinh thiết phế quản nhỏ. Trong các bệnh phẩm thu được từ các hạch bạch huyết hoặc những di căn xa hoặc từ những bệnh phẩm cắt bỏ hiếm hoi của u nguyên phát, các tế bào u thường lớn hơn và với bào tương rộng hơn [116]. Điều đó gợi ý rằng một mức độ nào đó của sự co rúm giả tạo ít nhất là nguyên nhân của kiểu hình “tế bào nhỏ”.

Trong một sơ đồ phân loại trước đây, loại ung thư biểu mô tế bào nhỏ và lớn mới được đề nghị cho những u có một hỗn hợp các tế bào u nhỏ và lớn. Tuy nhiên, loại này còn chưa được xác định rõ, và tên gọi cũng không hoàn toàn chính xác. Hầu hết những u được gọi như vậy không bao gồm một hỗn hợp của hai quần thể tế bào, một nhỏ và một lớn, như tên gọi ngụ ý. Hơn nữa, chúng là những tế bào u với những hình ảnh của nhân giống nhân của ung thư biểu mô tế bào nhỏ nhưng có kích thước lớn hơn. Cuối cùng, những nhận định trước đây là ung thư biểu mô hỗn hợp tế bào nhỏ và lớn đã không được chứng minh trong những loạt nghiên cứu tiếp theo. Vì tất cả những lý do này, loại ung thư biểu mô hỗn hợp tế bào nhỏ/tế bào lớn đã bị loại khỏi phân loại hiện nay.

Ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ là u thần kinh nội tiết phổ biến nhất của phổi. Những thứ typ mô tả trước đây giống lympho bào và đa diện trung gian/tế bào thoi, hiện nay được gộp vào là ung thư biểu mô tế bào nhỏ (55). Nhóm bệnh được gọi là ung thư biểu mô tế bào lớn - tế bào nhỏ đã được loại trừ.

Phân loại mô học quốc tế cao khối u của WHO định nghĩa ung thư biểu mô tế bào nhỏ là một u biểu mô ác tính bao gồm những tế bào nhỏ với bào tương nghèo nàn, giới hạn tế bào không rõ, chất nhuộm sắc nhận dạng hạt mịn không có hoặc hạt nhân không rõ rệt. Các tế bào hình tròn, hình trái xoan và hình thoi và đường gờ của nhân thường rõ rệt. Số đếm nhân chia cao. Một biến thể của ung thư biểu mô tế bào nhỏ gọi là ung thư biểu mô tế bào nhỏ kết hợp và được định nghĩa là một ung thư biểu mô tế bào nhỏ kết hợp với một

thành phần phụ thêm bao gồm bất kỳ một typ mô học nào của ung thư biểu mô tế bào không nhỏ, thường là ung thư biểu mô tuyến, ung thư biểu mô vảy, hoặc ung thư biểu mô tế bào lớn, nhưng ít phổ biến hơn, ung thư biểu mô tế bào thoi hoặc tế bào khổng lồ.

### 4.3. Hoá mô miễn dịch trong ung thư biểu mô tế bào không nhỏ

#### CK7

Những keratin là một họ các polypeptid được phân biệt theo trọng lượng phân tử và điểm đẳng điện (cicid hoặc kiềm). Hai mươi loại phân tử tồn tại và đã được xếp loại. CK7 bộc lộ trong nhiều tế bào biểu mô của phổi, mặc dù được tìm thấy trong nhiều loại tế bào biểu mô khác và trong nhiều loại ung thư biểu mô không phải của phổi. (14). CK7 được tìm thấy phổ biến nhất trong ung thư biểu mô tuyến tiên phát của phổi.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 90,8% các trường hợp ung thư biểu mô phổi bộc lộ CK7, trong đó có 96% ung thư tuyến và 81% ung thư biểu mô vảy. Các typ hiếm gặp cũng có tỷ lệ bộc lộ CK7 cao. Trong các typ ung thư biểu mô tuyến theo WHO 2004, ung thư biểu mô tuyến typ chùm nang, typ nhú, typ đặc và typ nhày đều có tỷ lệ bộc lộ CK7 rất cao (100%), sau đó là ung thư biểu mô tuyến hỗn hợp (98%), ung thư biểu mô tuyến tế bào sáng và ung thư biểu mô tuyến đặc có tỷ lệ bộc lộ CK7 thấp hơn (80% và 76,9% theo thứ tự). Trong các typ mô học phân loại theo IASLC/ATS/ERS 2011, các typ UTBM thể nhú, vi nhú, dạng vảy cá, typ nhày có tỷ lệ bộc lộ CK7 rất cao (100%), UTBM typ chùm nang cũng có tỷ lệ bộc lộ CK7 cao (98,1%), các typ đặc và tế bào sáng có tỷ lệ bộc lộ CK7 thấp hơn (83,3% và 80% theo thứ tự). Đối chiếu với kết quả nghiên cứu của các tác giả khác cho thấy theo Peiguo và CS, CK7 dương tính 100% trong ung thư tuyến ở phổi, buồng trứng, tử cung, tuyến nước bọt, tuyến giáp; 96% trong ung thư biểu mô tuyến vú; 93% ung thư biểu mô đường mật; 88% trong ung thư tế bào chuyển tiếp, trong khi đó chỉ có 5% trong ung thư tuyến đại tràng, thậm chí là 7% ung thư biểu mô thận, 28% ung thư dạ dày. Đối với ung thư biểu mô vảy, CK7 âm tính 100%, thường CK7 dương tính với ung thư biểu mô vảy của tế bào cổ tử cung (87%); ung thư biểu mô vảy vùng đầu mặt là 27% và ung thư biểu mô vảy thực quản là 21% [22]. Như vậy, CK7 được sử dụng như một dấu ấn quan trọng trong

việc chẩn đoán phân biệt ung thư phổi với ung thư đại trực tràng. Theo Chu và CS, sự bộc lộ của CK7 được phát hiện trong 10/10 (100%) UTBM tuyến, 3/7 (43%) UTBM tế bào nhỏ, 2/9 (22%) những u carcinoid và 0/15 (0%) UTBM vảy của phổi, tác giả nhận định: CK7 đặc hiệu cho UTBM tuyến [23]. Tuy nhiên, kết quả này có khác với nghiên cứu của chúng tôi, có 81% ung thư biểu mô tế bào vảy dương tính với CK7. Ngoài ra, trong nghiên cứu của Satoshi và cs cho thấy CK7 dương tính với 90,9% mẫu ung thư biểu mô tuyến nguyên phát nhưng lại chỉ dương tính với 5,3% ung thư đại trực tràng di căn đến phổi, mặt khác thì hoàn toàn âm tính với nhóm thư đại trực tràng nguyên phát. Từ đó tác giả kết luận là CK7 rất hữu ích cho việc phân biệt giữa ung thư phổi do di căn từ hậu môn trực tràng với ung thư biểu mô tuyến của phổi [118]. Theo Nguyễn Ngọc Hùng [56], CK7 dương tính trong ung thư biểu mô tuyến chiếm tỉ lệ (92,5%) và không có trường hợp nào dương tính với CK20.

### **CK5/6 và p63**

Trong nghiên cứu của chúng tôi, ung thư biểu mô tuyến vảy có tỷ lệ dương tính với CK5/6 (33,3%), sau đó là ung thư biểu mô vảy (23,8%), các typ khác có tỷ lệ dương tính với CK5/6 thấp hoặc hoàn toàn âm tính với CK5/6. Tất cả các trường hợp ung thư biểu mô tuyến đều âm tính với CK5/6. Bộc lộ CK5/6 của ung thư biểu mô tuyến và ung thư biểu mô vảy theo WHO 2004 có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )

Trong nghiên cứu của chúng tôi, ung thư biểu mô vảy có tỷ lệ dương tính cao nhất với p63 (57,1%), sau đó là ung thư biểu mô tuyến vảy (33,3%) và ung thư biểu mô thần kinh nội tiết (20%). Các typ khác có tỷ lệ dương tính thấp. Các typ mô học âm tính với p63 gồm các ung thư biểu mô dạng saccô, tế bào khổng lồ, kém biệt hóa, dạng gan và biểu bì nhầy. Các typ mô học của ung thư biểu mô tuyến theo WHO 2004 đều có tỷ lệ dương tính thấp với p63, từ 5,6% đến 16,7%. Các typ mô học của ung thư biểu mô tuyến theo



IASLC/ATS/ERS 2011 cũng đều có tỷ lệ dương tính thấp với p63, từ 5,3% đến 12,5%. Bộc lộ p63 của ung thư biểu mô vảy và ung thư biểu mô tuyến theo WHO 2004 cũng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ), Như vậy, p63 có ý nghĩa trong việc phân biệt giữa ung thư biểu mô vảy và ung thư biểu mô tuyến trong những trường hợp khó phân biệt trên tiêu bản nhuộm Hematoxylin-Eosin, ung thư biểu mô vảy dương tính với p63, trong khi ung thư biểu mô tuyến âm tính với p63.

Năm 2007, trong nghiên cứu vai trò chẩn đoán của CK5/6 và p63 trong chẩn đoán phân loại ung thư phổi, Kargi và cs đã xác định giá trị của CK5/6 và p63 trong chẩn đoán phân loại ung thư biểu mô của phổi. Theo đó, 100% ung thư biểu mô tuyến đều âm tính với p63, trong khi có 80% ung thư biểu mô tuyến âm tính với CK5/6. CK5/6 rất hữu ích cho việc phân biệt hai loại ung thư biểu mô tuyến và ung thư tế bào nhỏ với ung thư biểu mô vảy [119].

### **TTF-1 và Napsin A**

**TTF-1.** TTF-1 là yếu tố phiên mã tuyến giáp 1, nó bộc lộ hằng định trong đường khí phổi bình thường, nổi lên như một dấu ấn có lợi nhất của các u biểu mô phổi [121]. Nó bộc lộ trong khoảng ba phần tư các ung thư biểu mô tuyến và trong một tỷ lệ nhỏ hơn các typ ung thư biểu mô phổi khác. Vì vậy, việc phát hiện nó trong các di căn ở não và các vị trí khác là một chỉ điểm gần như chắc chắn là u nguyên phát ở phổi [122]. Chỉ có điều thận trọng chính là như tên gọi của nó chỉ rõ, trong một mô khác trong đó TTF-1 bộc lộ một cách hằng định là biểu mô tuyến giáp [123], [124], [125], [126]. Chính vì vậy, TTF-1 thường được sử dụng là một dấu ấn để xác định khối u ác tính có nguồn gốc từ tế bào biểu mô phế quản, phế nang. Trong nghiên cứu của chúng tôi ung thư biểu mô tuyến của phổi có tỷ lệ dương tính cao với TTF-1 (71,8%), sau đó là ung thư biểu mô thần kinh nội tiết (60%) và ung thư biểu

mô tuyến vảy (50%). Chỉ có 28,6% các trường hợp ung thư biểu mô vảy dương tính với TTF-1. Các typ mô học của ung thư biểu mô tuyến theo WHO 2004 đều có tỷ lệ dương tính cao với TTF-1 (từ 60% đến 77,6%), trong đó ung thư biểu mô tuyến hỗn hợp có tỷ lệ dương tính cao nhất (77,6%), sau đó là ung thư biểu mô typ chùm nang (73,7%). Các typ mô học của ung thư biểu mô tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011 cũng đều có tỷ lệ dương tính cao với TTF-1 (từ 52,9% đến 84,6%), trong đó ung thư biểu mô typ chùm nang có tỷ lệ dương tính cao nhất (84,6%), sau đó là ung thư biểu mô typ đặc (72,2%). Bộc lộ TTF-1 của ung thư biểu mô tuyến và ung thư biểu mô vảy theo WHO 2004 cũng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Cho đến nay, tại Việt Nam, các nghiên cứu TTF-1 trong ung thư còn chưa nhiều. Theo Nguyễn Ngọc Hùng, TTF-1 dương tính trong ung thư biểu mô tế bào nhỏ chiếm tỉ lệ cao nhất (87,5%), dương tính trong ung thư biểu mô tuyến chiếm tỉ lệ thứ hai (77,8%), sau đó đến ung thư biểu mô tế bào lớn (40%), ung thư biểu mô tuyến vảy (33,3%). Không có trường hợp nào của ung thư biểu mô nhú dương tính với TTF-1 (0%) [56].

Trong một nghiên cứu mới đây, Kadota và CS (2013) đã đánh giá liệu sự bộc lộ yếu tố phiên mã 1 của tuyến giáp (TTF-1) có liên quan với phân loại mô học ung thư biểu mô tuyến của phổi theo Hội Quốc tế nghiên cứu ung thư phổi (IASLC)/ Hội lồng ngực Mỹ (ATS)/ Hội Hô Hấp Châu Âu (ERS) và liệu nó có giúp xếp lớp các bệnh nhân với ung thư biểu mô tuyến của phổi giai đoạn I theo sự tái phát của bệnh. Tổng số 452 trường hợp phù hợp cho phân tích này. Cường độ bộc lộ của TTF-1 của bệnh nhân được phân làm 2 mức như âm tính (điểm 0 hoặc dương tính (điểm 1-3)). Tỷ lệ tích lũy tái phát được sử dụng để đánh giá xác suất tái phát (CIR). Sự bộc lộ của TTF-1 được xác định ở 92% bệnh nhân, bao gồm 100% bệnh nhân với ung thư biểu mô

tuyến tụy vảy cá chiếm ưu thế, 93% các bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến vi nhú chiếm ưu thế, 86% các bệnh nhân ung thư biểu mô đặc chiếm ưu thế và 67% các bệnh nhân ung thư biểu mô keo chiếm ưu thế, 47% các bệnh nhân với ung thư biểu mô nhầy. Tỷ lệ tích lũy tái phát CIR với những bệnh nhân bộc lộ TTF-1 âm tính (n = 34 bệnh nhân, CIR-5 năm, 40%) cao hơn có ý nghĩa với tăng nguy cơ tái phát bệnh. Như vậy, sự bộc lộ của TTF-1 là một yếu tố dự báo độc lập tái phát bệnh, được xếp theo u độ trung gian thành 2 phân nhóm tiên lượng và nó liên quan với phân loại IASLC/AST/ERS [127].

Barletta và CS (2009) nghiên cứu 89 bệnh nhân bị ung thư biểu mô tuyến của phổi với phương pháp nhuộm hóa mô miễn dịch để bộc lộ TTF-1 và phương pháp lai tại chỗ huỳnh quang để phát hiện gen bộc lộ TTF-1. Nghiên cứu cho kết quả TTF-1 dương tính mạnh trong 48% trường hợp, dương tính yếu trong 24% trường hợp và hoàn toàn âm tính trong 28% trường hợp. Những bệnh nhân có bộc lộ TTF-1 nhưng không có gen khuếch đại TTF-1 có cải thiện thời gian sống toàn bộ có ý nghĩa ( $p < 0,001$ ). Những bệnh nhân có bộc lộ gen TTF-1 cao thì có nguy cơ tử vong cao hơn, gấp gần 3 lần so với những bệnh nhân có bộc lộ gen TTF-1 thấp (thời gian sống toàn bộ trung bình là 77,8 tháng so với 30,5 tháng), sự khác biệt này là có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,002$ ) [128]. So sánh tỷ lệ bộc lộ TTF-1 trong ung thư biểu mô tuyến của phổi của các tác giả được trình bày ở bảng dưới đây:

**Bảng 4.1. Tỷ lệ bộc lộ TTF-1 của UTBM tuyến phổi theo tác giả**

Tác giả	Số ca xét nghiệm	Tỷ lệ (%)
Barletta và CS (2009) [128]	89	72,0
Zhang và CS (2010) [129]	212	84,4
Ye và CS (2010)	120	79,2

Bishop và CS (2010)	95	73,0
Kadota và CS (2013)	452	93,0
Phạm Nguyên Cường (2014)	124	71,8

Bảng trên cho thấy tỷ lệ bộc lộ TTF-1 của ung thư biểu mô tuyến của phổi trong giới hạn cao từ 71,8% đến 93%.

**Napsin A.** Trong nghiên cứu của chúng tôi, ung thư biểu mô tuyến và ung thư biểu mô tuyến vảy đều có tỷ lệ dương tính cao với Napsin A (83,1% và 83,3%), sau đó là ung thư biểu mô thân kinh nội tiết (40%). Chỉ có 28,6% ung thư biểu mô vảy dương tính với Napsin A. Trong các typ mô học của ung thư biểu mô tuyến theo WHO, ung thư biểu mô tuyến typ chùm nang, typ nhú, typ hỗn hợp và typ tiểu phế quản phế nang đều có tỷ lệ dương tính cao với Napsin A (89,5%, 88,9%, 83,7% và 83,3% theo thứ tự). Các typ có tỷ lệ dương tính thấp hơn là các typ tế bào sáng, nhầy và đặc (80%, 75% và 69,2% theo thứ tự). Trong các typ mô học của ung thư biểu mô tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011 ung thư biểu mô typ vi nhú, nhú, dạng vảy cá và typ chùm nang có tỷ lệ dương tính cao với Napsin A (100%, 89,5%, 88,2% và 84,6%; theo thứ tự), Tính chung, toàn nhóm ung thư biểu mô tuyến có tỷ lệ dương tính cao với Napsin A (83,1%). Bộc lộ Napsin A của ung thư biểu mô tuyến và ung thư biểu mô vảy theo WHO 2004 cũng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Uemo và CS (2004) nghiên cứu sự bộc lộ Napsin trên 118 bệnh nhân bị ung thư phổi gồm 39 trường hợp ung thư biểu mô tuyến, 11 trường hợp ung thư biểu mô tế bào lớn, 31 trường hợp ung thư biểu mô tế bào vảy, 15 trường hợp ung thư biểu mô tế bào nhỏ, 6 trường hợp carcinoid và 16 trường hợp ung thư phổi do di căn từ nơi khác đến. Nghiên cứu cho kết quả Napsin A bộc lộ trong 33/39 ung thư biểu mô tuyến (chiếm 84,6%), 2/11 ung thư biểu mô tế bào lớn, 1/16 trường hợp ung thư phổi do di căn từ ung thư biểu mô tế bào

thận. Sự bộc lộ Napsin A dương tính có liên quan với ung thư biểu mô tuyến biệt hóa cao. Tác giả kết luận Napsin A là một yếu tố chẩn đoán có độ nhạy cao (đến 94,3%) đối với ung thư biểu mô tuyến nguyên phát của phổi [44].

Zhang và CS (2010) phân tích hóa mô miễn dịch bộc lộ Napsin A và TTF-1 trên 351 bệnh nhân bị ung thư phổi, trong đó bao gồm 27 trường hợp là do di căn đến phổi cho kết quả Napsin A dương tính ở 180/212 ung thư biểu mô tuyến nguyên phát (chiếm tỉ lệ 84,9%) nhưng lại hoàn toàn âm tính trong nhóm ung thư phổi do di căn bao gồm cả 19 trường hợp là ung thư biểu mô tuyến di căn. Ngược lại, TTF-1 lại cho kết quả dương tính không chỉ với 176/212 mẫu ung thư biểu mô tuyến nguyên phát (chiếm tỉ lệ 84,4%), mà còn dương tính ở 12/18 trường hợp ung thư biểu mô tế bào nhỏ (chiếm tỉ lệ 66,7%) và dương tính ở một số trường hợp ung thư biểu mô tế bào vảy và dương tính với 1 trường hợp ung thư biểu mô tuyến do di căn từ tuyến giáp. Độ nhạy và độ đặc hiệu của Napsin đối với ung thư biểu mô tuyến nguyên phát là 84,9% và 93,8% cao hơn so với TTF-1 (84,4% và 83,9%). Sự kết hợp giữa Napsin A và TTF-1 làm tăng độ nhạy lên đến 91,0%. Hơn nữa, độ nhạy và độ đặc hiệu còn liên quan đến giới, tiền sử hút thuốc lá, tình trạng lâm sàng, mô bệnh học, kích thước khối u và di căn hạch [129].

Wu và CS (2013) nghiên cứu 43 trường hợp ung thư biểu mô tuyến phổi tiết nhầy và 25 trường hợp ung thư biểu mô tuyến tiết nhầy ngoài phổi. Kết quả là 33% khối u dương tính mạnh với Napsin A và 42% dương tính với TTF-1. Tất cả 25 trường hợp ung thư biểu mô tuyến tiết nhầy ngoài phổi không bộc lộ Napsin A và TTF-1. Như vậy, những u tiết nhầy của phổi thường bộc lộ Napsin A. Do đó, đánh giá hóa mô miễn dịch với Napsin A có giá trị hạn chế trong việc phân biệt các ung thư biểu mô tiết nhầy nguyên phát hay di căn đến phổi [48].

Theo Bradley và CS (2012), Napsin A cũng dương tính trong một tỉ lệ nhỏ ung thư biểu mô phổi tế bào vảy nguyên phát (5/200 trường hợp; 2,5%),

tất cả các trường hợp này đều cho phản ứng dương tính yếu hơn so với phản ứng dương tính của ung thư biểu mô tuyến của phổi [53]. Gần đây một số nghiên cứu hóa mô miễn dịch đã báo cáo có khoảng 25% ung thư biểu mô vảy phổi dương tính với Napsin A, vốn được tin là một dấu ấn đặc hiệu với ung thư biểu mô tuyến của phổi [54].

Ye và CS (2012) đã tiến hành nhuộm hóa mô miễn dịch Napsin A và TTF-1 trên 120 trường hợp ung thư biểu mô tuyến phổi và 37 trường hợp ung thư biểu mô phổi do di căn. Kết quả là trong ung thư biểu mô tuyến phổi, 95/120 trường hợp (79,2%) đều dương tính với cả Napsin A và TTF-1. Sự kết hợp đồng thời nhuộm hóa mô miễn dịch với Napsin A và TTF-1 cho độ đặc hiệu cao trong chẩn đoán ung thư biểu mô tuyến phổi và giúp phân biệt ung thư biểu mô tuyến phổi nguyên phát với các ung thư biểu mô di căn đến phổi [49].

Bishop và CS (2010) đã tiến hành nhuộm hóa mô miễn dịch với Napsin A và TTF-1 trên 95 mẫu ung thư biểu mô tuyến, 48 mẫu ung thư biểu mô vảy của phổi và 6 ung thư thần kinh nội tiết của phổi, 5 ung thư biểu mô tuyến đại tràng, 31 ung thư biểu mô tuyến của tụy, 17 ung thư biểu mô tuyến của tuyến vú, 38 u trung mô ác tính, 118 ung thư biểu mô thận và 81 khối u tuyến giáp, đồng thời làm hóa mô miễn dịch với 15 mẫu mô bình thường khác. Kết quả cho thấy ung thư biểu mô tuyến phổi dương tính với Napsin A ở 79/95 trường hợp (chiếm 83%) cao hơn so kết quả dương tính với TTF-1: 69/95 trường hợp (chiếm 73%). Có 13 trường hợp dương tính với Napsin A nhưng âm tính với TTF-1 và 2 trường hợp dương tính với TTF-1 nhưng âm tính với Napsin A, như vậy khi phối hợp hóa mô miễn dịch của cả Napsin A và TTF-1 sẽ làm tăng tỉ lệ dương tính tổng cộng lên là 81/95 trường hợp (85%). Tất cả các trường hợp ung thư phổi biểu mô vảy và các ung thư biểu mô tuyến của đại tràng, tụy, vú và u trung mô đều âm tính với cả Napsin A và TTF-1 [39].

Nghiên cứu của Suzuki và CS (2005) cho thấy Napsin A bộc lộ trong 70/83 trường hợp (84,3%) ung thư phổi biểu mô tuyến nguyên phát nhưng lại hoàn toàn âm tính với 32/32 trường hợp ung thư biểu mô tuyến của phổi do di căn từ nơi khác đến (đại tràng, dạ dày, vú, tử cung, tuyến giáp và tuyến dưới hàm) và ngay cả trong các mẫu ung thư biểu mô tuyến lấy từ các vị trí nguyên phát (dạ dày, đại tràng, vú và tuyến giáp) cho di căn đến phổi cũng cho kết quả âm tính [46].

Hirano và CS (2003) nghiên cứu 109 trường hợp ung thư phổi gồm: 76 trường hợp ung thư phổi nguyên phát và 33 trường hợp ung thư biểu mô tuyến di căn đến phổi từ các cơ quan khác cho kết quả là 39/43 trường hợp (90,7%) ung thư phổi biểu mô tuyến dương tính với Napsin A. Còn lại những ung thư biểu mô tuyến hay u trung biểu mô di căn đến phổi đều cho kết quả âm tính [40]. So sánh tỷ lệ bộc lộ Napsin A trong ung thư biểu mô tuyến của phổi của các tác giả được trình bày ở bảng dưới đây:

**Bảng 4.2. Tỷ lệ bộc lộ Napsin A của UTBM tuyến phổi theo các tác giả**

Tác giả	Số ca xét nghiệm	Tỷ lệ (%)
Hirano và CS (2003)	43	90,7
Suzuki và CS (2005)	83	84,3
Ye và CS (2010)	120	79,2
Zhang và CS (2010)	212	84,9
Bishop và CS (2010)	95	83,0
Phạm Nguyên Cường (2014)	124	83,1

Bảng trên cho thấy tỷ lệ bộc lộ Napsin A của ung thư biểu mô tuyến của phổi trong giới hạn cao từ 79,2% đến 90,7%.

### **CK5/6 và p63/ TTF-1 và Napsin A**

Bộ các dấu ấn CK5/6 và p63/TTF-1 và Napsin A thường được đánh giá về khả năng phân biệt giữa ung thư biểu mô vảy và ung thư biểu mô tuyến của phổi. Trong nghiên cứu của Cadioli và CS (2014), tính không đồng nhất về hóa mô miễn dịch (nghĩa là nhuộm “khác thường”) cũng được đánh giá sử dụng một nhóm các dấu ấn của các ung thư biểu mô tuyến (TTF-1, Napsin và CK7), ung thư biểu mô tế bào vảy (p63, CK5/6) và biệt hóa thần kinh nội tiết (chromogranin và synaptophysin) trên các trên các sinh thiết dương tính và bệnh phẩm của ung thư phổi. Tính không đồng nhất hóa mô miễn dịch được ghi nhận trong 22,6% các trường hợp với sự bộc lộ của p63 và CK5/6 trong một số trường hợp ung thư biểu mô tuyến (25 trường hợp, 25,5%), CK7 trong 17,4% ung thư biểu mô tế bào vảy, và synaptophysin trong 6 trường hợp u không thần kinh nội tiết (4%, 6/155) [130].

Trong nghiên cứu của Withaus và CS (2012), 291 ung thư phổi được đánh giá về hình thái học (197 ung thư biểu mô tuyến [75%]; 66 ung thư biểu mô tế bào vảy [25%]; 28 trường hợp không được xếp loại) và được nghiên cứu hóa mô miễn dịch để tìm các dấu ấn có giá trị phân biệt ung thư biểu mô tuyến với ung thư biểu mô vảy. Kết quả cho thấy Napsin A có độ nhạy 83% và độ đặc hiệu 98% và TTF-1 có độ nhạy 60% và độ đặc hiệu 98% với ung thư biểu mô tuyến. Cytokeratin 5/6 có độ nhạy 53% và độ đặc hiệu 96% và P63 có độ nhạy 95% và độ đặc hiệu 86% với ung thư biểu mô tế bào vảy. Cặp hai dấu ấn Napsin A và P63 có độ đặc hiệu 94% và độ nhạy 96% trong phân biệt ung thư biểu mô tuyến với ung thư biểu mô tế bào vảy [131].

Trong nghiên cứu của Kim và CS (2012), Napsin A và TTF-1 dương tính ở 81% và 70% ung thư biểu mô tuyến và trong 0% và 2% ung thư biểu mô vảy, trong khi P63 và CK5/6 dương tính ở 91% và 90% ung thư biểu mô vảy và



trong 9% và 4% ung thư biểu mô tuyến. Rõ ràng là sự kết hợp của Napsin A, TTF-1, CK5/6 và P63 là bộ các dấu ấn hóa mô miễn dịch có lợi nhất trong phân biệt ung thư biểu mô tuyến với ung thư biểu mô vảy của phổi [120].

Theo Bradley và CS (2012), kết hợp Napsin A và TTF-1 rất hữu ích trong việc phân biệt ung thư biểu mô tuyến nguyên phát của phổi (napsin A (+), TTF-1 (+)) với ung thư biểu mô vảy nguyên phát của phổi (Napsin A (-), TTF-1 (-)) và ung thư phổi tế bào nhỏ nguyên phát (Napsin A -, TTF-1 +) [41].

Nghiên cứu của Mukhopadhyay và CS (2011) cũng đi đến kết luận là nhuộm hóa mô miễn dịch đồng thời các dấu ấn Napsin A, TTF-1, p63 và CK5/6 cho phép phân loại các phân lớp nhỏ của ung thư biểu mô phổi không tế bào nhỏ biệt hóa kém trong hầu hết các trường hợp sinh thiết. Tuy nhiên, sự khác biệt về nhuộm hóa mô miễn dịch giữa sinh thiết tại chỗ và phẫu thuật vùng thì không được biết [132].

Kenneth và CS (2012) nghiên cứu 291 mẫu ung thư phổi đã được xác định bằng hình thái tế bào học gồm 197 ung thư biểu mô tuyến, 66 ung thư biểu mô vảy và 28 trường hợp không thể phân loại bằng hình ảnh tế bào học. Kết quả nghiên cứu cho thấy Napsin có độ nhạy là 83%, độ đặc hiệu là 98% và TTF-1 có độ nhạy là 60%, độ đặc hiệu là 98% trong chẩn đoán loại ung thư biểu mô tuyến phổi. p63 có độ nhạy là 95% và độ đặc hiệu là 86% trong chẩn đoán ung thư biểu mô phổi tế bào vảy. Như vậy khi kết hợp Napsin A và p63 có thể giúp tăng độ nhạy lên 94% và độ đặc hiệu lên 96% trong chẩn đoán phân biệt ung thư biểu mô tuyến với ung thư biểu mô tế bào vảy [50].

Brunnström và CS (2013) đã đánh giá kết quả nhuộm hóa mô miễn dịch của 209 trường hợp ung thư phổi nguyên phát, bao gồm 121 ung thư biểu mô tuyến, 65 ung thư biểu mô tế bào vảy, 15 ung thư biểu mô tế bào lớn, 5 ung thư biểu mô tuyến vảy, 2 ung thư biểu mô dạng sacom và 1 ung thư biểu mô tế bào nhỏ. Kết quả là cytokeratin 5 (CK5) và P63 cả hai dương tính ở 10%

hoặc nhiều hơn các tế bào trong 97% ung thư biểu mô tế bào vảy, với P63 dương tính (<10% các tế bào) chỉ ở 2 ung thư biểu mô tế bào không vảy. TTF-1 và napsin A dương tính ở 10% hoặc nhiều hơn các tế bào trong 88% và 87% ung thư biểu mô tuyến theo thứ tự với 94% ung thư biểu mô dương tính với ít nhất 1 dấu ấn. Các tác giả rút ra kết luận là CK5, TTF1 và napsin A là những dấu ấn nhạy với ung thư biểu mô tế bào vảy và ung thư biểu mô tuyến của phổi [133].

Tóm lại, nghiên cứu của các tác giả khác cũng như nghiên cứu của chúng tôi cho thấy Napsin A, TTF-1, CK5/6 và p63 là bộ các dấu ấn hóa mô miễn dịch có lợi nhất trong phân biệt ung thư biểu mô tuyến với ung thư biểu mô vảy của phổi.

### **Claudin-1 và Claudin-5**

Một số nghiên cứu trên thế giới cho thấy các kiểu bộc lộ Claudin có thể thay đổi tùy thuộc vào mô học của u. Ví dụ, sự bộc lộ Claudin-5 được tìm thấy trong ung thư biểu mô tuyến nhưng lại không bộc lộ trong ung thư biểu mô tế bào vảy. Sự bộc lộ mạnh claudin-1 lại gặp trong ung thư biểu mô tế bào vảy. Ngược lại, mất sự bộc lộ claudin-1 lại không thấy trong ung thư phổi biểu mô tuyến [28]. Sự thay đổi bộc lộ claudin-5 cũng có thể gặp trong một số loại ung thư khác ở người như giảm bộc lộ trong các ung thư biểu mô thận và ung thư biểu mô tế bào gan đã được báo cáo trước đây [35]. Một số nghiên cứu khác cũng chỉ ra rằng claudin-5 đặc biệt bộc lộ cao trong các tế bào nội mô [49]. Sự bộc lộ của claudin-5 trong mạch máu cũng như sự bộc lộ của nó trong những tế bào phế quản và tế bào phổi [28].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, ung thư biểu mô vảy và ung thư biểu mô tuyến vảy có tỷ lệ dương tính cao với Claudin-1 (71,4% và 66,7% theo thứ tự). Các typ khác có tỷ lệ dương tính với Claudin-1 theo thứ tự thấp dần là ung thư biểu mô kém biệt hóa (41,7%), ung thư biểu mô thần kinh nội tiết

(40%) và ung thư biểu mô tuyến (37,1%). Trong các typ mô học của ung thư biểu mô tuyến theo WHO 2004, ung thư biểu mô thể nhú và ung thư biểu mô tuyến hỗn hợp có tỷ lệ dương tính cao với Claudin-1 (44,4% và 40,8% theo thứ tự), sau đó là ung thư biểu mô tuyến nhày (37,5%), typ chùm nang (36,8%), ung thư biểu mô tiểu phế quản phế nang (33,3%). Các typ còn lại có tỷ lệ dương tính thấp với Claudin-1. Trong các typ mô học của ung thư biểu mô tuyến theo IASLC/ ATS/ERS 2011, các typ ung thư biểu mô tuyến typ chùm nang, thể nhú và vi nhú có tỷ lệ dương tính khá cao với Claudin-1 (42,3%, 42,1% và 40% theo thứ tự). Ung thư biểu mô tuyến nhày có tỷ lệ dương tính thấp hơn (37,5%), sau đó là dạng vảy cá (29,4%) và tuyến đặc (27,8%). Bộc lộ Claudin-1 của ung thư biểu mô tuyến và ung thư biểu mô vảy theo WHO 2004 có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Trong nghiên cứu của chúng tôi, ung thư biểu mô vảy có tỷ lệ dương tính cao nhất với Claudin -5 (42,9%), sau đó là các typ ung thư biểu mô kém biệt hóa (41,7%), ung thư biểu mô tuyến (35,5%), ung thư biểu mô tuyến vảy (33,3%). Các typ ung thư biểu mô thần kinh nội tiết, dạng sacom, dạng gan, ung thư biểu mô màng đệm và ung thư biểu mô biểu bì nhày đều âm tính với Claudin-5. Trong các typ mô học của ung thư biểu mô tuyến theo WHO 2004, ung thư biểu mô thể nhú có tỷ lệ dương tính cao nhất với Claudin-5 (66,7%), sau đó tỷ lệ dương tính thấp dần là typ tiểu phế quản phế nang (41,7%), tuyến tế bào sáng (40%), tuyến đặc (38,5%) và typ chùm nang (31,6%). Các typ còn lại có tỷ lệ dương tính thấp. Trong các typ mô học của ung thư biểu mô tuyến theo IASLC/ ATS/ERS 2011, ung thư biểu mô thể vi nhú và nhú có tỷ lệ dương tính cao với Claudin-5 (60% và 52,6%), sau đó là các typ tuyến tế bào sáng (40%), tuyến đặc (38,9%) và dạng vảy cá (35,3%), Hai typ còn lại có tỷ lệ dương tính thấp hơn. Bộc lộ Claudin-5 của ung thư biểu mô tuyến và ung

thư biểu mô vảy theo WHO 2004 không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ )

### **Ki-67 và p53**

**Ki-67.** Ki-67 là một protein nhân không Histon, trọng lượng phân tử 345- 395 kDa, bộc lộ bởi các tế bào trong các pha tăng sinh G1, G2, M và S và không có mặt trong pha nghỉ G0 của chu kỳ tế bào. Ki-67 có vai trò quan trọng trong tăng sinh tế bào tương tự như PCNA (proliferating cellular nuclear antigen) là một đồng yếu tố của DNA polymerase trong tổng hợp DNA ở pha S của chu kỳ tế bào.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, ung thư biểu mô vảy và ung thư biểu mô thân kinh nội tiết có tỷ lệ dương tính cao với Ki-67 (82,4% và 80% theo thứ tự). Ung thư biểu mô tuyến có tỷ lệ dương tính thấp hơn (52,2%). Trong các typ mô học của ung thư biểu mô tuyến theo WHO 2004, ung thư biểu mô tuyến đặc và ung thư biểu mô tuyến hỗn hợp có tỷ lệ dương tính cao với Ki-67 (75% và 69,7% theo thứ tự)., sau đó là ung thư biểu mô tế bào sáng và typ chùm nang (50% và 45,5% theo thứ tự). Trong các typ mô học của ung thư biểu mô tuyến theo IASLC/ ATS/ERS 2011, ung thư biểu mô tuyến đặc có tỷ lệ dương tính cao nhất với Ki-67 (78,6%), sau đó là typ chùm nang (59,4%), typ tế bào sáng (50%) và dạng vảy cá (47,2%). Bộc lộ Ki-67 của ung thư biểu mô tuyến và ung thư biểu mô vảy theo WHO 2004 có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )

### **p53.**

P53 là một gen ức chế u và đột biến một cách phổ biến trong nhiều ung thư ở người. Trong bệnh học ngoại khoa chuẩn đoán thông thường, tình trạng đột biến được đánh giá dựa trên sự bộc lộ của p53 bằng hóa mô miễn dịch.

Dòng kháng thể D07 nhận biết cả protein p53 typ hoang dại và đột biến. Tuy nhiên vì protein đột biến có nửa đời sống dài hơn protein hoang dại, protein hoang dại nhuộm mạnh và lan tỏa hơn trên hóa mô miễn dịch.

Trong ung thư phổi hay gặp những bất thường về gen p53, do đó những gen này được cho là vai trò trung tâm trong việc phát triển ung thư phổi. Đột biến gen p53 làm tăng mức protein p53 trong tế bào, vì protein bị đột biến có nửa đời sống dài hơn các protein bình thường, nên có thể phát hiện được bằng hóa mô miễn dịch. Murakami (2000) nghiên cứu biểu lộ p53 ở 70 bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ ở giai đoạn tiến triển không mổ được (IIIa, IIIb, IV) thấy thời gian sống ở nhóm p53 (+) là 17 tuần, thấp hơn có ý nghĩa với nhóm p53 (-) là 39 tuần (không phụ thuộc vào yếu tố lâm sàng và điều trị). Các tác giả cũng cho rằng: những khối u có đột biến p53 hay kháng lại hóa chất hơn là không đột biến, do đó những bệnh nhân có p53 (-) nên được điều trị hóa chất hỗ trợ [135].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, ung thư biểu mô tuyến vảy có tỷ lệ dương tính cao với p53 (83,3%), sau đó là ung thư biểu mô vảy 61,9%, ung thư biểu mô thần kinh nội tiết (60%) và ung thư biểu mô kém biệt hóa (58,3%). Trong các typ mô học của ung thư biểu mô tuyến theo WHO 2004, ung thư biểu mô typ chùm nang có tỷ lệ dương tính cao nhất với p53 (52,6%), sau đó là các typ tiểu phế quản phế nang (50%), ung thư biểu mô tuyến hỗn hợp (44,9%) và typ nhú (44,4%). Trong các typ mô học của ung thư biểu mô tuyến theo IASLC/ ATIS/ERS 2011, ung thư biểu mô dạng vảy cá có tỷ lệ dương tính cao nhất với p53 (58,8%), sau đó là các typ chùm nang (46,2%), vi nhú (40%). và typ nhú (33,3%). Bộc lộ p53 của ung thư biểu mô tuyến và ung thư biểu mô vảy theo WHO 2004 không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ )

Nguyễn Minh Hải và CS [136] nghiên cứu biểu lộ p53 ở 62 bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ ghi nhận tỷ lệ biểu lộ p53 là 41,9%. Tuy xu hướng hay gặp ở giai đoạn muộn và ở typ ung thư tế bào vảy hơn nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê. Thời gian sống thêm toàn bộ là  $12,7 \pm 1,6$  tháng. P53 có ý nghĩa tiên lượng thời gian sống thêm: nhóm có biểu lộ p53 có thời gian sống thêm trung bình là  $7,9 \pm 1,8$  tháng, ngắn hơn có ý nghĩa so với nhóm không biểu lộ p53 (thời gian sống thêm trung bình là  $15,9 \pm 2,3$  tháng).

#### 4.4. Hoá mô miễn dịch trong ung thư biểu mô tế bào nhỏ

Ung thư biểu mô tế bào nhỏ là typ ung thư có độ ác tính cao, dễ di căn xa. Về mặt vi thể, nó được đặc trưng bởi sự phát triển lan rộng của các tế bào u nhỏ (chỉ lớn gấp 2 – 3 lần tế bào lympho thành thực).

Paik và CS (2006) nghiên cứu sự bộc lộ p53, bcl-2 và Ki-67 trên 107 bệnh nhân ung thư phổi tế bào nhỏ cho kết quả là tỉ lệ dương tính của p53, bcl-2 và Ki-67 lần lượt là 62%, 70% và 49%. Không thấy có mối liên quan có ý nghĩa giữa sự bộc lộ p53, bcl-2 và Ki-67 với giai đoạn lâm sàng, đáp ứng với hóa trị liệu cũng như đối với tiên lượng sống toàn bộ [25].

Lê Trung Thọ nghiên cứu 50 trường hợp UBTM tế bào nhỏ đã được chẩn đoán trên HE cho tỷ lệ dương tính với chromogranin là 88%, có 6 trường hợp âm tính với chromogranin (chiếm 12%), có 30/50 trường hợp dương tính với synaptophysin (60%) và 100% dương tính với NSE và EA1/EA3 [52].

Theo Nguyễn Ngọc Hùng và Nguyễn Hồng Phúc (2010), tỉ lệ dương tính của TTF-1 trong ung thư phổi tế bào nhỏ là 87,5% lại cao hơn nhiều so với nghiên cứu của chúng tôi (69,7%) [56]. Yatabe và CS (2002) giải thích việc TTF-1 có tỉ lệ dương tính cao trong ung thư phổi tế bào nhỏ là vì (1) thứ nhất các tế bào ung thư tế bào nhỏ xuất nguồn từ các tế bào thần kinh nội tiết có thể sản xuất ra TTF-1 như là một hormon lạc chỗ, (2) thứ hai đây có thể là sự trở lại trạng thái kém biệt hóa của tế bào ung thư [24]. Tỉ lệ bộc lộ TTF-1 trong ung thư phổi tế bào nhỏ còn chưa thống nhất.

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy có mối liên quan có ý nghĩa về mặt thống kê giữa một số dấu ấn hóa mô miễn dịch với kết quả mô bệnh học phân loại theo WHO 2011 trong ung thư phổi không tế bào nhỏ. Nhuộm hóa mô miễn dịch giúp chẩn đoán một số dưới typ của ung thư biểu mô tuyến và giúp phân biệt ung thư biểu mô vảy với các loại ung thư phổi không tế bào nhỏ

khác. Tuy nhiên vai trò lâm sàng của các dấu ấn hóa mô miễn dịch này cần được nghiên cứu nhiều hơn trong tương lai.

#### **4.5. Hoá mô miễn dịch trong các typ ung thư biểu mô hiếm gặp**

Trong nghiên cứu của chúng tôi, hai trường hợp u thần kinh nội tiết được chẩn đoán là carcinoid không điển hình đều dương tính mạnh với synaptophysin và chromogranin trong khi âm tính với TTF-1. Một trường hợp ung thư biểu mô thần kinh nội tiết dương tính với synaptophysin và TTF-1, một trường hợp khác dương tính với synaptophysin, chromogranin trong khi âm tính với TTF-1 và p63. Một trường hợp là ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào lớn dương tính với synaptophysin, TTF-1, CAM5.2 và Keratin.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, hai trường hợp được chẩn đoán là ung thư biểu mô dạng gan của phổi. Một trường hợp có dương tính bào tương với TTF-1, dương tính với HepPar-1, CK7, trong khi p63, Napsin A và Arg-1. Trong chẩn đoán hiện nay cho ung thư biểu mô tuyến dạng gan của phổi bao gồm ung thư biểu mô tuyến hoặc nhú điển hình và một thành phần giống ung thư biểu mô tế bào gan và bộc lộ alpha-fetoprotein (AFP). Việc phân biệt ung thư biểu mô tuyến dạng gan của phổi với ung thư biểu mô tế bào gan di căn đến phổi khó khăn ở những bệnh nhân có khối u ở cả phổi và gan và ở những bệnh nhân có nguy cơ ung thư phổi và gan do hút thuốc và viêm gan do virus theo thứ tự. Haminger và C (2013) đã báo cáo về 5 trường hợp ung thư biểu mô dạng gan của phổi được nhuộm đồng loạt với 14 dấu ấn hóa mô miễn dịch. Hai trường hợp ung thư biểu mô tế bào gan của phổi có các thành phần tế bào nhẵn. Ba trường hợp là ung thư biểu mô tuyến dạng gan đơn thuần không có các thành phần ung thư biểu mô tuyến chùm nang hoặc nhú, các tế bào nhẵn hoặc ung thư biểu mô thần kinh nội tiết. Giống như ung thư biểu mô tế bào gan, ung thư biểu mô dạng gan của phổi bộc lộ CK8 (5/5), CK18 (5/5),



AFP (3/5), Heppar-1 (5/5), nhuộm bào tương với TTF-1 (5/5) và không bộc lộ CK14 (0/5). Không giống như ung thư biểu mô tế bào gan, nó bộc lộ CK5/6 (1/5), CK7 (3/5), CK19 (4/5), CK20 (1/5), HEA125 (5/5), MOC31 (5/5), CEA đơn dòng (3/5) và napsin A (1/5). Một nhóm các dấu ấn bao gồm các loại cytokeratin, CE đơn dòng và các dấu ấn EpCAM (HEA125 và MOC31) giúp cho việc phân biệt ung thư biểu mô dạng gan của phổi với ung thư biểu mô tế bào gan di căn đến phổi, đặc biệt khi đối chiếu với các biểu hiện lâm sàng và X-quang [137].

Qua nghiên cứu 258 trường hợp ung thư biểu mô phổi, trong đó có 185 trường hợp UTBM không tế bào nhỏ và 73 trường hợp UTBM tế bào nhỏ, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

### **1. Mô học**

+ Phân loại mô học theo WHO 2004, ung thư biểu mô tuyến chiếm tỷ lệ cao nhất (67,1%), ung thư biểu mô vảy chiếm 11,4%; ung thư biểu mô kém biệt hóa chiếm 6,4%, các loại khác chiếm tỷ lệ thấp, trong đó có các typ hiếm gặp là ung thư biểu mô dạng gan (1,5%) và ung thư biểu mô màng đệm (0,5%).

+ Trong các typ mô học của ung thư biểu mô tuyến theo WHO 2004, typ hỗn hợp chiếm tỷ lệ cao nhất (39,5%), sau đó theo thứ tự giảm dần là typ chùm nang (15,3%), typ nhú (14,5%), typ đặc (10,5%), typ tiểu phế quản phế nang (9,7%), hai typ còn lại chiếm tỷ lệ thấp.

+ Trong các typ mô học UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011 typ chùm nang chiếm 41,9%, typ nhú chiếm 19,4%, typ đặc chiếm 14,5%, dạng vảy cá chiếm 13,7%, các biến thể nhày, vi nhú và tế bào sáng chiếm tỷ lệ thấp (6,5%, 4% và 4% theo thứ tự).

### **2. Hóa mô miễn dịch**

**CK7.** Có 90,8% các trường hợp ung thư biểu mô phổi bộc lộ CK7, trong đó có 96% ung thư tuyến và 81% ung thư biểu mô vảy. Các typ hiếm gặp cũng có tỷ lệ bộc lộ CK7 cao.

**CK5/6 và p63/ TTF-1 và Napsin A.** (1) Bộc lộ của CK5/6, p63, TTF-1 và Napsin A của ung thư biểu mô vảy và ung thư biểu mô tuyến có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ); (2) CK5/6 và p63 có tỷ lệ dương tính trong ung thư biểu mô vảy cao hơn so với ung thư biểu mô tuyến, trái lại ung thư

biểu mô tuyến có tỷ lệ dương tính cao với TTF-1 (71,8%) và Napsin A (83,1%), so với ung thư biểu mô vảy (28,6% và 28,6% theo thứ tự); (3) CK5/6 và p63, TTF-1 và Napsin A là bộ các dấu ấn có lợi nhất trong chẩn đoán phân biệt với ung thư biểu mô vảy với ung thư biểu mô tuyến.

**Claudin-1.** Ung thư biểu mô vảy và ung thư biểu mô tuyến vảy có tỷ lệ dương tính cao với Claudin-1 (71,4% và 66,7% theo thứ tự). Bộc lộ Claudin-1 của ung thư biểu mô tuyến và ung thư biểu mô vảy theo WHO 2004 có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

**Claudin-5.** Ung thư biểu mô vảy có tỷ lệ dương tính cao nhất với Claudin -5 (42,9%), sau đó là các typ ung thư biểu mô kém biệt hóa (41,7%), ung thư biểu mô tuyến (35,5%), ung thư biểu mô tuyến vảy (33,3%). Bộc lộ Claudin-5 của ung thư biểu mô tuyến và ung thư biểu mô vảy theo WHO 2004 không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

**Các dấu ấn Chromogranin, synaptophysin, HepPar-1 và Beta-HCG** giúp xác định các typ ung thư biểu mô thần kinh nội tiết, ung thư biểu mô dạng gan và ung thư biểu mô màng đệm.

**Ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ** có tỷ lệ dương tính cao nhất với Ki-67 (82,5%), sau đó thấp dần với TTF-1 (69,7%) và NSE (62,3%). NSE và chromogranin giúp xác định ung thư biểu mô tế bào nhỏ thần kinh nội tiết và không thần kinh nội tiết.

## **DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. Phạm Nguyên Cường, Lê Đình Roanh, Nguyễn Văn Hưng, Ngô Thế Quân (2013) “*Đặc điểm bộc lộ một số dấu ấn hóa mô miễn dịch trong ung thư biểu mô phổi không tế bào nhỏ*”, Tạp chí Lao và bệnh phổi, số 15, tháng 12/2013, trang 31 – 37.
2. Phạm Nguyên Cường, Lê Đình Roanh, Nguyễn Văn Hưng, Ngô Thế Quân (2012) “*Nghiên cứu sự bộc lộ các dấu ấn hóa mô miễn dịch trong một số typ mô bệnh học của ung thư biểu mô phổi theo WHO 2004*”, Tạp chí Y học thực hành, số 837, tháng 8/2012; trang 15 - 20.

*Số bệnh án:.....*

*MS bệnh phẩm:.....*

## MẪU BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU

Họ và tên bệnh nhân:.....Tuổi:....., dân tộc:.....

Nghề nghiệp: .....Giới: Nam  Nữ

Địa chỉ:.....

- Kết quả mô bệnh học:

UTBM VẢY  UTBM TUYẾN  UTBM tuyến vảy

UTBM dạng sarcom  UTBM tế bào khổng lồ

UTBM thần kinh nội tiết

UTBM biểu bì nhầy  UTBM dạng gan  UTBM màng đệm

UTBM kém biệt hóa  U biểu mô ác tính  UTBM tế bào nhỏ

- Kết quả hoá mô miễn dịch CK7:

+ Dương tính

+ Âm tính

- Kết quả hoá mô miễn dịch CK5/6:

+ Dương tính

+ Âm tính

- Kết quả hoá mô miễn dịch gen p53:

+ Dương tính

+ Âm tính

- Kết quả hoá mô miễn dịch gen p63:

+ Dương tính

+ Âm tính

- Kết quả hoá mô miễn dịch Ki67:

+ Dương tính

+ Âm tính

- Kết quả hoá mô miễn dịch TTF1:

+ Dương tính

+ Âm tính

- Kết quả hoá mô miễn dịch NSE:

+ Dương tính

+ Âm tính

- Kết quả hoá mô miễn dịch Napsin A:
  - + Dương tính
  - + Âm tính
- Kết quả hoá mô miễn dịch Claudin1:
  - + Dương tính
  - + Âm tính
- Kết quả hoá mô miễn dịch Claudin 5:
  - + Dương tính
  - + Âm tính
- Kết quả hoá mô miễn dịch HepPar-1:
  - + Dương tính
  - + Âm tính
- Kết quả hoá mô miễn dịch Beta-HCG:
  - + Dương tính
  - + Âm tính
- Kết quả hoá mô miễn dịch Chromogranin:
  - + Dương tính
  - + Âm tính
- Kết quả hoá mô miễn dịch Synaptophysin:
  - + Dương tính
  - + Âm tính

*Ngày .... tháng ..... năm 2014*

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Bá Đức và cộng sự (2006). Tình hình ung thư ở Việt Nam giai đoạn 2001- 2004 qua ghi nhận ung thư tại năm tỉnh thành Việt Nam. *Y học thực hành*, số 541-2006, 9-17.
2. Nguyễn Đình Giang, Nguyễn Lam Hòa (2006). Nhận xét 68 trường hợp ung thư phế quản phổi được xạ trị, hóa xạ trị phối hợp tại khoa Ung bướu Bệnh viện Việt-Tiếp Hải Phòng. *Y học thực hành*, số 541-2006, 572-575.
3. Đái Duy Ban và cộng sự (2000). Thuốc lá, rượu, thuốc phiện gây ra ung thư”, *Phòng bệnh ung thư*, Nhà xuất bản Y học, 5.
4. Nguyễn Việt Cồ, Hoàng Long Phát, Đồng Khắc Hưng và cộng sự (1999). Thuốc lá với vấn đề ung thư phổi ở Việt Nam. *Y học Việt Nam*, số 1-1999, 26-30.
5. Alberg AJ. et al.(2003). Epidemiology of lung cancer. *Chest*, 123, 21-49.
6. Phan Lê Thắng (2002). *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học ung thư phổi nguyên phát đã phẫu thuật tại bệnh viện K Hà Nội*. Luận án thạc sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
7. Phạm Duy Hiền, Trần Văn Thuận, Đặng Thế Căn và cộng sự (2009). Kết quả ghi nhận ung thư tại một số vùng ở Việt Nam giai đoạn 2006-2007. *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh, chuyên đề Ung bướu học, phụ bản của tập 13, số 5*, 53-64.
8. Van Schil PE, Sihoe AD, Travis WD (2013). Pathologic classification of adenocarcinoma of lung. *J Surg Oncol*, 108(5), 320-6.
9. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al (2011). International association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 6(2), 244-85.

10. Travis WD, Brambilla E, Riely GJ (2013). New pathologic classification of lung cancer: relevance for clinical practice and clinical trials. *J Clin Oncol*, 31(8), 992-1001.
11. Ha SY, Roh MS (2013). The New 2011 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society Classification of Lung Adenocarcinoma in Resected Specimens: Clinicopathologic Relevance and Emerging Issues. *Korean J Pathol*, 47(4), 316-325.
12. Kerr KM (2013). Clinical relevance of the new IASLC/ERS/ATS adenocarcinoma classification. *J Clin Pathol*. 66(10), 832-8.
13. Muller PA, Vousden KH, Norman JC (2011). P53 and its mutants in tumor cell migration and invasion. *J Cell Biol*. 192(2), 209-18.
14. Oren M, Rotter V (2010). Mutant p53 gain-of-function in cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2(2), 001-107.
15. Weisz L, Damalas A, Lontos M, et al (2007). Mutant p53 enhances nuclear factor kappa B activation by tumor necrosis factor alpha in cancer cells. *Cancer*, 67(6), 2396-401.
16. Martynova E, Pozzi S, Basile V, et al (2012). Gain-of-function p53 mutants have widespread genomic locations partially overlapping with p63. *Oncotarget*, 3(2), 132-43.
17. Melino G (2011). P63 is a suppressor of tumorigenesis and metastasis interacting with mutant p53. *Cell Death Differ*, 18(9), 1487-99.
18. Neilsen PM, Noll JE, Suetani RJ, et al (2011). Mutant p53 uses p63 as a molecular chaperone to alter gene expression and induce a pro-invasive secretome. *Oncotarget*, 2(12), 1203-17.
19. Moll UM, Slade N (2004). P63 and p73: roles in development and tumor formation. *Mol Cancer Res*, 2, 371-86.



20. Au N.H.C., Gown A.M., Cheang M., et al (2004). P63 expression in lung carcinomas: A tissue microarray study of 408 cases. "*Appl Immunohistochemistry*" *Mol Morphol*, 12, 240-247.
21. Khayyara S, Yun S, Pasha T, et al (2009). Value of P63 and CK5/6 in distinguishing squamous cell carcinoma from adenocarcinoma in lung fine-needle aspiration specimens. *Diagn Cytopathol*, 37, 178 – 183.
22. Peiguo C, Emerald W, Lawrence MW (2000). Cytokeratin 7 and cytokeratin 20 expression in Epithelial Neoplasmas: A Survey of 435 cases. *Mod Pathol*, 13(9), 962-972.
23. Chu P, Wu E, Weiss LM (2000). Cytokeratin 7 and cytokeratin 20 expression in epithelial neoplasma: a survey of 435 cases. *Mod Pathol*, 13(9), 962-72.
24. Yatabe Y, Mitsudomi T, Takahashi T (2002). TTF-1 expression in pulmonary adenocarcinomas. *Am J Surg Pathol*, 26(6), 767-773.
25. Paik KH, Park YH, Ryoo BY, Yang SH, Lee JC, et al (2006). Prognostic value of immunohistochemical staining of p53, bcl-2 and Ki-67 in small cell lung cancer. *J Korean Med Sci*, 21, 35-39.
26. Ueno T, Linder S, Na CL, Rice WR, Johansson J, Weaver TE (2004). Processing of pulmonary surfactant protein B by napsin and cathepsin H. *J Bio Chem*, 279, 16178 – 16184.
27. Merikallio H, Kaartenaho R, Paakko P, Lehtonen s, Hirvikoski P, Makitaro R, Harju T, Soini Y (2010). Impact of smoking on the expression of claudins in lung carcinoma. *Eur J Cancer*, 47, 620-630.
28. Paschoud S, Bongiovanni M, Pache JC, Citi S (2007). Claudin-1 and claudin-5 expression patterns differentiate lung squamous cell carcinomas from adenocarcinomas. *Mod Pathol*, 20, 947-54.

29. Moldvay J, Jackel M, Paska C, Soltesz I, Schaff Z, Kiss A (2007). Distinct claudin expression profile in histologic subtypes of lung cancer. *Lung Cancer*, 57, 159-67.
30. Sormunen R, Paakko P, Kaarteenaho-Wiik R, Soini Y (2007). Differential expression of adhesion molecules in lung tumours. *Histopathology*, 50, 282-4.
31. Guillemot L, Citi S (2006). Cingulin regulates claudin-2 expression and cell proliferation through the small GTPase RhoA. *Mol Biol Cell*, 17, 3569-3577.
32. Zhang P, Han Y, Huang L, Li Q, Ma D (2009). Expression and clinical significance of TTF-1 and p63 in NSCLC. *Chin.J.Lung Cancer*, 12(9), 995-999.
33. Zu YF, Wang XC, Chen Y, Wang JY, Liu X, Li X, et al (2012). Thyroid transcription factor 1 represses the expression of Ki-67 apoptosis in non-small cell lung cancer. *Oncology Report*, 28, 1544-1550.
34. Yu D, Du K, Liu T, Chen G (2013). Prognostic value of tumor markers, NSE, CA125 and SCC, in operable NSCLC patients. *Int.J.Mol.Sci*, 14, 11145-11156.
35. Soini Y (2005). Expression of claudin 1, 2, 3, 4, 5 and 7 in various type of tumours. *Histopathology*, 46, 551-560.
36. Cohn ML, Goncharuk VN, Diwan AH, Zhang PS, Shen SS, Prieto VG (2005). Loss of claudin-1 expression in tumor-associated vessels correlates with acquisition of metastatic phenotype in melanocytic neoplasms. *J Cutan Pathol*, 32, 533-536.
37. Higashi Y, Suzuki S, Sakaguchi T, Nakamura T, Baba S, Reinecker HC, Nakamura S, Konno H (2007). Loss of claudin-1 expression correlates with malignancy of hepatocellular carcinoma. *J Surg Res*, 139, 68-76.

38. Krajewska M, Olson AH, Mercola D, Reed JC, Krajewski S (2007). Claudin-1 immunohistochemistry for distinguishing malignant from benign epithelial lesions of prostate. *Prostate*, 67, 907–910.
39. Bishop JA, Sharma R, et al (2010). Napsin A and thyroid transcription factor – 1 expression in carcinomas of the lung, breast, pancreas, colon, kidney, thyroid, and malignant mesothelioma. *Hum Pathol*, 41(1), 20 -5.
40. Hirano T, Gong Y, Yoshida K, Kato Y, et al (2003). Usefulness of TA02 (napsin A) to distinguish primary lung adenocarcinoma from metastatic lung adenocarcinoma. *Lung Cancer*, 41(2), 155 – 62.
41. Bradley M, Turner MD, et al (2012). Napsin A, a new marker for lung adenocarcinoma, is complementary and more sensitive and specific than thyroid transcription factor 1 in the differential diagnosis of primary pulmonary carcinoma. *Arch Pathol Lab Med*, 136, 163-171.
42. Dejmeek A, Naucler P, Smedjeback A, et al (2007). Napsin A (TA02) is a useful alternative to thyroid transcription factor-1 (TTF-1) for the identification of pulmonary adenocarcinoma of cells in pleural effusions. *Diagn Cytopathol*, 35(8), 493-497.
43. Jagirdar J (2008). Application of immunohistochemistry to the diagnosis of primary and metastatic carcinoma of the lung. *Arch Pathol Lab Med*, 132(3), 384-396.
44. Ueno T, Linder S, Elmberger G (2003). Aspartic proteinase napsin is a useful marker for diagnosis of primary lung adenocarcinoma. *Br J Cancer*, 88(8), 1229-1233.
45. Lisa M, Michael W, et al (2010). The Utility of Napsin – A in the identification of primary and metastatic lung adenocarcinoma among cytologically poorly differentiated carcinomas. *Cancer Cytopathology*, 118, 441 – 9.

46. Suzuki A, Shijubo N, Yamada G, Ichimiya S, Satoh M, Abe S, Sato N (2005). Napsin A is useful to distinguish primary lung adenocarcinoma from adenocarcinomas of other organs. *Pathol Res Pract*, 201(8-9), 579-86.
47. Lee JG, Kim S, Shim HS (2012). Napsin A is an independent prognostic factor in surgically resected adenocarcinoma of the lung. *Lung Cancer*, 77(1), 156 – 161.
48. Wu J, Chu PG, Jiang Z, Lau SK (2013). Napsin A expression in primary mucin-producing adenocarcinomas of the lung: an immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol*, 139(2), 160 – 166.
49. Ye J, Hameed O, Findeis – Hosey JJ, Fan L, Li F, McMahon LA, Yang O, Wang HL, Xu H (2012). Diagnostic utility of PAX 8, TTF-1 and napsin A for discriminating metastatic carcinoma from primary adenocarcinoma of the lung. *Biotech Histochem*, 87(1), 30 – 4.
50. Kenneth W, Junya F, Thomas J (2012). Evaluation of napsin A, cytokeratin 5/6, p63, and Thyroid Transcription Factor 1 in Adenocarcinoma Versus Squamous Cell Carcinoma of the Lung. *Arch Pathol Lab Med*, 136, 155-162.
51. Yasuo S, Koji T, Kiyooki N, et al (2011). Immunocytochemical study of specific immunohistochemical markers for primary lung adenocarcinoma-surfactant apoprotein A, napsin A, thyroid transcription factor – 1. *J Jpn Soc Clin Cytol*, 45, 6 -11.
52. Lê Trung Thọ (2007). *Nghiên cứu áp dụng mô bệnh học ung thư biểu mô phế quản của Tổ Chức Y Tế Thế Giới (1999)*. Luận án tiến sĩ y học trường Đại học Y Hà Nội.
53. Hoàng Đình Chân (1996). *Nghiên cứu kết quả điều trị phẫu thuật ung thư phế quản theo các tip mô bệnh học và các giai đoạn lâm sàng*. Luận án PTS Y học Hà Nội.

54. Phùng Thị Phương Anh (1999). *Typ mô học của ung thư phế quản qua 4 năm 1995 - 1998 ở những bệnh nhân đã phẫu thuật*. Luận án Thạc sĩ y học; Đại học Y Hà Nội.
55. Lê Trung Thọ (2002). Đặc điểm mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến phế quản theo phân loại của TCYTTG lần thứ 3 - 1999. *Báo cáo khoa học Hội nghị nghiên cứu sinh 11/2002*; Đại học Y Hà Nội.
56. Nguyễn Ngọc Hùng, Nguyễn Hồng Phúc (2010). Nghiên cứu mô bệnh học và hóa mô miễn dịch ung thư phổi tại bệnh viện 103. *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh, chuyên đề Ung bướu học, phụ bản của tập 14, số 5, 23-39*.
57. Tô Thị Kiều Dung, Phùng Thị Phương Anh, Phạm Lê Huy (2004). Điều trị UTPQ bằng phẫu thuật tại BV Lao và Bệnh phổi TW trong 2 năm 2003 – 2004. *Y học TPHCM – tập 8 – phụ bản của số 4, 233*.
58. Nguyễn Thị Diệu Hồng (2008). *Nhận xét giá trị của sinh thiết xuyên thành phế quản qua nội soi phế quản ống mềm trong chẩn đoán một số bệnh phổi*. Luận văn thạc sĩ y học trường Đại học Y Hà Nội.
59. Mitsuoka S, Kudoh S, Takada Y, Matsui K vaf CS (2004). Phase II study of cisplatin, etoposide and concurrent thoracic radiotherapy (TRT) followed by irinotecan and cisplatin in patients with limited stage small-cell lung cancer (SCLC); updated results of WJTOG9902. *J Clin Oncol*, 22(15), 7044.
60. Okamoto H, Watanabe K, Kunikane H, yokoyama A, Kudoh S, IshizukaN, Fukuda H vaf CS (2005). Randomized phase III trial of carboplatin© plus etoposide (E) vs. split doses of cisplatin (P) plus etoposide (E) in elderly or poor-risk patients with extensive disease small cell lung cancer (ED-SCLC): JCOG9702. *J Clin Oncol*, 23(1), 7010.

61. Cronenberger E, Rodrigues A, Small I, De Biase P, et al (2006). Role of chemotherapy (CT) in performance status 3 and 4 small cell lung cancer (SCLC) patients. *J Clin Oncol*, 24(20), 17026.
62. Đặng Thanh Hồng và cs (2004). Chẩn đoán và điều trị ung thư phổi tế bào nhỏ tại Bệnh viện Ung Bướu TP Hồ Chí Minh. *Tạp chí Y học thực hành số 489*. Bộ Y tế xuất bản, 125-129.
63. Travis WD, Brambilla E, Müller - Hermlink HK, Harris CC et al (2004). World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of the lung, pleura, thymus and heart, Lyon: IARC Press.
64. Valaitis J, Warren S, Gamble D (1981). Increasing incidence of adenocarcinoma of the lung. *Cancer*, 47, 1042-1046.
65. Wahbah M, Boroumand N, Castro C, El-Zeky F, Eltorkey M (2007). Changing trends in the distribution of the histologic types of lung cancer: a review of 4439 cases. *Ann Diagn Pathol*, 11, 89-96.
66. Kerr KM (2009). Pulmonary adenocarcinomas: classification and reporting. *Histopathology*, 54, 12 - 27.
67. Linnoila RI (1990). Pathology of non-small cell lung cancer. New diagnostic approaches. *Hematol Oncol Clin North Am*, 4, 1027-1051.
68. Moran CA (2006). Pulmonary adenocarcinoma: the expanding spectrum of histologic variants. *Arch Pathol Lab Med*, 130, 958-962.
69. Terasaki H, Niki T, Matsuno Y et al (2003). Lung adenocarcinoma with mixed bronchioloalveolar and invasive components. *Am J Surg Pathol*, 27, 937 - 951.
70. Rodig SJ, Mino - Kenudson M, Dacic S et al (2009), Chirieac LR: Unique clinicopathologic features characterize ALK-rearranged lung adenocarcinoma in the western population. *Clin Cancer Res*, 15, 5216-5223.

71. Moran CA, Jagirdar J, Suster S (2004). Papillary lung carcinoma with prominent 'morular' component. *Am J Clin Pathol*, 122, 106-109.
72. Amin MB, Tamboli P, Merchant SH et al (2002). Micropapillary component in lung adenocarcinoma: a distinctive histologic feature with possible prognostic significance. *Am J Surg Pathol*, 26, 358-364.
73. Miyoshi T, Satoh Y, Okumura S et al (2002). Early-stage lung adenocarcinomas with a micropapillary pattern, a distinct pathologic marker for a significantly poor prognosis. *Am J Surg Pathol*, 27, 101-109.
74. Tsutsumida H, Nomoto M, Goto M et al (2007). A micropapillary pattern is predictive of a poor prognosis in lung adenocarcinoma, and reduced surfactant apoprotein A expression in the micropapillary pattern is an excellent indicator of a poor prognosis. *Mod Pathol*, 20, 638-647.
75. Fitzgibbons PL, Kern WH (1985). Adenosquamous carcinoma of the lung. A clinical and pathologic study of seven cases. *Hum Pathol*, 16, 463 - 466.
76. Ishida T, Kaneko S, Yokoyama H, Inoue T, Sugio K, Sugimachi K (1992). Adenosquamous carcinoma of the lung. Clinicopathologic and immunohistological features. *Am J Clin Pathol*, 97, 678 - 685.
77. Takamori S, Noguchi M, Morinaga S, Goya T, Tsugane S, Kakegawa T, Shimamoto Y (1991). Clinicopathologic characteristics of adenosquamous carcinoma of the lung. *Cancer*, 67, 649-654.
78. Nakajima M, Kasai T, Hashimoto H, Iwata Y, Manabe H (1999). Sarcomatoid carcinoma of the lung: a clinicopathologic study of 37 cases. *Cancer*, 86, 608 - 616.
79. Rossi G, Cavazza A, Sturm N et al (2003). Pulmonary carcinomas with pleomorphic, sarcomatoid, or sarcomatous elements. *Am J Surg Pathol*, 27, 311 - 324.

80. Wick MR, Ritter JH, Humphrey PA (1997). Sarcomatoid carcinomas of the lung: a clinicopathologic review. *Am J Clin Pathol*, 108, 40-53.
81. Fishback NF, Travis WD, Moran CA et al (1994). Pleomorphic (spindle/giant cell) carcinoma of the lung. A clinicopathologic correlation of 78 cases. *Cancer*, 73, 2925-2936.
82. Franks TJ, Galvin JR (2010). Sarcomatoid carcinoma of the lung: histologic criteria and common lesions in the differential diagnosis. *Arch Pathol Lab Med*, 134, 49-54.
83. Matsui K, Kitagawa M (1991). Spindle cell carcinoma of the lung: a clinicopathologic study of three cases. *Cancer*, 67, 2361-2367.
84. Matsui K, Kitagawa M, Miwa A (1992). Lung carcinoma with spindle cell components. Sixteen cases examined by immunohistochemistry. *Hum Pathol*, 23, 1289-1297.
85. Leschke H (1956). Über nur regionär bösartige und über krebsig entartete Bronchusadenome bzw. Carcinoide. *Virch Arch*, 328, 635-657.
86. Arrigoni MG, Woolner LB, Berantz PE (1972). Atypical carcinoid tumors of the lung. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 64, 413-421.
87. Mark EJ, Ramirerz JF (1985). Peripheral small-cell carcinoma of the lung resembling carcinoid tumor: a clinical and pathologic study of 14 cases. *Arch Pathol Lab Med*, 109, 263-269.
88. Travis WD, Colby TV, Corrin B, et al (1999). Histological Typing of Lung and Pleural Tumors. *Springer-Verlag New York*.
89. Slodkowska J, Langfort R, Rudzinski P, et al (1998). Typical and atypical pulmonary carcinoids—pathologic and clinical analysis of 77 cases. *Pneumonol Alergol Pol*, 66, 297-303.
90. Thomas CF, Tazelaar HD, Jett JR (2001). Typical and atypical pulmonary carcinoids: outcome in patients presenting with regional lymph node involvement. *Chest*, 119, 1143-1150.



91. Gould VE, Chejfec G (1978). Ultrastructural and biochemical analysis of pulmonary "undifferentiated" carcinomas. *Hum Pathol*, 9, 377-384.
92. Hammond ME, Sause WT (1985). Large cell neuroendocrine tumors of the lung: Clinical significance and histological definition. *Cancer*, 56, 1624-1629.
93. Neal MH, Kosinki R, Cohen P, et al (1986). Atypical endocrine tumors of the lung: A histologic, ultrastructural and clinical study of 19 cases. *Hum Pathol*, 17, 1264-1277.
94. McDowell EM, Wilson TS, Trump BF (1981). Atypical endocrine tumors of the lung. *Arch Pathol Lab Med*, 105, 20-28.
95. Travis WD, Linnoila I, Tsokos MG, et al (1991). Neuroendocrine tumors of the lung with proposed criteria for large cell neuroendocrine carcinoma: an ultrastructural, immunohistochemical and flow cytometric study of 35 cases. *Am J Surg Pathol*, 15, 529-533.
96. Hammar S, Bockus D, Remington F, et al (1989). The unusual spectrum of neuroendocrine lung neoplasms. *Ultra Pathol*, 13, 515-560.
97. Jiang SX, Kameya T, Shoji M, et al (1998). Large cell neuroendocrine carcinoma of the lung: a histologic and immunohistochemical study of 22 cases. *Am J Surg Pathol*, 22, 526-537.
98. Sturm N, Lantuejoul S, Laverriere MH, et al (2001). Thyroid transcription factor-1 and cytokeratins 1, 5, 10, 14 (34 $\beta$ E12) expression in basaloid and large cell neuroendocrine carcinomas of the lung. *Hum Pathol*, 32, 918-925.
99. Mazieres J, Daste G, Molinier L, et al (2002). Large cell neuroendocrine carcinoma of the lung: pathological study and clinical outcome of 18 resected cases. *Lung Cancer*, 37, 287-292.
100. Paci M, Cavazza A, Annessi V, et al (2004). Large cell neuroendocrine carcinoma of the lung: a 10 year clinicopathologic retrospective study. *Ann Thorac Surg*, 77, 1163-1167.

101. Doddoli C, Barlesi F, Chetaille B, et al (2004). Large cell neuroendocrine carcinoma of the lung: an aggressive disease potentially treatable with surgery. *Ann Thorac Surg*, 77, 1168-1172.
102. Peng WX, Sano T, Oyama T, et al (2005). Large cell neuroendocrine carcinoma of the lung: a comparison with large cell carcinoma with neuroendocrine morphology and small cell carcinoma. *Lung Cancer*. 47, 225-233.
103. Lim E, Goldstraw P, Nicholson AG, et al (2008). Proceedings of the IASLC International Workshop on Advances in Pulmonary Neuroendocrine Tumors 2007. *J Thorac Oncol*, 3, 1194-1201.
104. Rossi G, Marchioni A, Milani M, et al (2004). TTF-1, cytokeratin 7, 34betaE12, and CD56/NCAM immunostaining in the subclassification of large cell carcinomas of the lung. *Am J Clin Pathol*. 122, 884-893.
105. Võ Tuấn (1999). *Ung thư phổi nguyên phát: dịch tễ học, chẩn đoán và điều trị*. Luận văn thạc sĩ Y học TPHCM.
106. Montezuma D, Azevedo R, Lopes P, Vieira R, Cunha AL, Henrique R (2013). A panel of four immunohistochemical markers (CK7, CK20, TTF-1, and p63) allows accurate diagnosis of primary and metastatic lung carcinoma on biopsy specimens. *Virchows Arch*. 463(6), 749-54.
107. Ngô Văn Trung (2001). *Nghiên cứu mô bệnh học ở các vị trí khác nhau của bệnh phẩm ung thư phổi sau phẫu thuật*. Luận văn Thạc sĩ Y học. Hà Nội.
108. Sakurai H, Asamura H, Miyaoka E et al (2013). Differences in the prognosis of resected lung adenocarcinoma according to the histological subtype: a retrospective analysis of Japanese lung cancer registry data. *Eur J Cardiothorac Surg*. 31.

109. Urer HN, Kocaturk CI, Gunluoglu MZ, Arda N, Bedirhan MA, Fener N (2013). Dincer SI. Relationship between Lung Adenocarcinoma Histological Subtype and Patient Prognosis. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*, 31.
110. Mcue PA, Finkel GC (1993). Small-cell lung carcinoma. An evolving histopathological spectrum. *Semin Oncol*, 20, 153-162.
111. Colby TV, Koss MN, Travis WD (1995). Tumors of the lower respiratory tract. Atlas of tumor pathology, third series, fascicle 13. Washington, DC. *Armed Forces Institute of Pathology*.
112. World Health Organization (1982). The World Health Organization histological typing of lung tumours. *Am J Clin Pathol*, 77, 123-136.
113. Travis WD, Brambilla E, Müller - Hermlink HK, Harris CC, et al (2004). World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of the lung, pleura, thymus and heart, Lyon. *IARC Press*.
114. Vollmer RT (1982). The effect of cell size on the pathologic diagnosis of small and large cell carcinomas of the lung. *Cancer*, 50, 1380-1383.
115. Warren WM, Memoli VA, Jordan AG, Gould VE (1990). Reevaluation of pulmonary neoplasms resected as small cell carcinomas. Significance of distinguishing between well-differentiated and small cell neuroendocrine carcinomas. *Cancer*, 65, 1003-1010.
116. Fushimi H, Kikui M, Morino H, Hosono Y, Fukuoka M, Kusunoki Y, Aozasa K, Matsumoto K (1992). Detection of large cell component in small cell lung carcinoma by combined cytologic and histologic examinations and its clinical implication. *Cancer*, 70, 599-605.
117. Klein-Szanto AJP, Barr RJ, Reiners JJ, et al (1984). Filaggrin distribution in keratoacanthomas and squamous cell carcinomas. *Arch Pathol Lab Med*. 108, 888-890.

118. Satoshi I, Masahiko F, Satoshi S, Masazumi O, et al (2006). Combined immunohistochemistry of  $\beta$ -catenin, cytokeratin 7, and cytokeratin 20 is useful in discriminating primary lung adenocarcinomas from metastatic colorectal cancer. *BMC Cancer*, 6, 31.
119. Kargi A<sup>1</sup>, Gurel D, Tuna B (2007). The diagnostic value of TTF-1, CK 5/6, and p63 immunostaining in classification of lung carcinomas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol. Dec*, 15(4), 415-20.
120. Kim MJ, Shin HC, Shin KC, Ro JY (2013). Best immunohistochemical panel in distinguishing adenocarcinoma from squamous cell carcinoma of lung: tissue microarray assay in resected lung cancer specimens. *Ann Diagn Pathol*. 17(1), 85-90.
121. Lau SK, Luthringer DJ, Eisen RN (2002). Thyroid transcription factor-1: a review. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 10, 97-102.
122. Srodon M, Westra WH (2002). Immunohistochemical staining for thyroid transcription factor - 1: a helpful aid in discerning primary site of tumor origin in patients with brain metastases. *Hum Pathol*, 33, 642-645.
123. Ordóñez NG (2000). Value of thyroid transcription factor-1 immunostaining in distinguishing small cell lung carcinomas from other small cell carcinomas. *Am J Surg Pathol*, 24, 1217-1223.
124. Pelosi G, Frassetto F, Pasini F et al (2002). Immunoreactivity for thyroid transcription factor-1 in stage I non-small cell carcinomas of the lung. *Am J Surg Pathol*, 25, 363-372.
125. Yatabe Y, Mitsudomi T, Takahashi T (2002). TTF-1 expression in pulmonary adenocarcinomas. *Am J Surg Pathol*, 26, 767-773.
126. Zamecnik J, Kodet R (2002). Value of thyroid transcription factor-1 and surfactant apoprotein A in the differential diagnosis of pulmonary carcinomas: a study of 109 cases. *Virchows Arch*, 440, 353-361.

127. Kadota K, Nitadori J, Sarkaria IS (2013). Thyroid transcription factor-1 expression is an independent predictor of recurrence and correlates with the IASLC/ATS/ERS histologic classification in patients with stage I lung adenocarcinoma. *Cancer*, 119(5), 931-8.
128. Barletta JA, Perner S, Iafrate AJ, Yeap BY, et al (2009). Clinical significance of TTF-1 protein and TTF-1 gen amplification in lung adenocarcinoma. *J Cell Mol Med*. 13(8), 1977-1986.
129. Zhang P, Han Y, Huang L, Li Q, Ma D (2010). Value of napsin A and thyroid transcription factor – 1 in the identification of primary lung adenocarcinoma. *Oncology letter*. 1, 899-903.
130. Cadioli A, Rossi G, Costantini M, Cavazza A, Migaldi M, Colby TV (2014). Lung Cancer Histologic and Immunohistochemical Heterogeneity in the Era of Molecular Therapies: Analysis of 172 Consecutive Surgically Resected, Entirely Sampled Pulmonary Carcinomas. *Am J Surg Pathol*. 16.
131. Whithaus K<sup>1</sup>, Fukuoka J, Prihoda TJ, Jagirdar J (2012). Evaluation of napsin A, cytokeratin 5/6, p63, and thyroid transcription factor 1 in adenocarcinoma versus squamous cell carcinoma of the lung. *Arch Pathol Lab Med*, 136(2), 155-62.
132. Mukhopadhyay S, Katzenstein AL (2011). Subclassification of non – small cell lung carcinomas lacking morphologic differentiation on biopsy specimens: Utility of an immunohistochemical panel containing TTF-1, Napsin A, p63, and CK5/5. *Am J Surg pathol*, 35(1), 15 – 25.
133. Brunnström H, Johansson L, Jirström K, Jönsson M, Jönsson P, Planck M (2013). Immunohistochemistry in the differential diagnostics of primary lung cancer: an investigation within the Southern Swedish Lung Cancer Study. *Am J Clin Pathol*, 140(1), 37-46.

134. Morita K, Sasaki H, Furuse M, et al (1999). Endothelial claudin: claudin-5/TMVCF constitutes tight junction strands in endothelial cells. *J Cell Biol.* 147, 185-194.
135. Mukarami I, Hiyama K, Ishioka S, et al (2000). P53 gene mutations are associated with shortened survival in patients with advanced non-small cell lung cancer: an analysis of medically managed patients. *Clin Cancer Res* 6, 526-530.
136. Nguyễn Minh Hải, Trịnh Tuấn Dũng, Đồng Khắc Hưng (2011). Biểu lộ p53 và ý nghĩa tiên lượng ung thư phổi không tế bào nhỏ. *Tạp chí dược lâm sàng* 108. Tập 6 – số đặc biệt tháng 3/2011.
137. Haninger DM, Kloecker GH, Bousamra Ii M, Nowacki MR, Slone SP (2013). Hepatoid adenocarcinoma of the lung: report of five cases and review of the literature. *Mod Pathol*, 13.

Bé gi, o dōc vµ ®µo t<sup>1</sup> o

bé y tō

**TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI**



**PHẠM NGUYỄN CƯỜNG**

NGHIÊN CØU PHẪN LO<sup>1</sup>I Mα BÖNH HăC  
UNG TH| BIÖU Mα PHæI THEO WHO 2004 Vµ  
IASLC/ATS/ERS 2011 Că SÖ DÔNG DÊU ÊN HăA Mα  
MIÔN DÛCH

**LuËn , n TiÕn sử y hăc**

**Hµ Néi - 2014**

Bé gi, o dōc vμ®μo t' o

bé y tō

**TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI**



**PHẠM NGUYỄN CƯỜNG**

**NGHIÊN CỨU PHÂN LOẠI MÔ BỆNH HỌC  
UNG THƯ BIỂU MÔ PHÔI THEO WHO 2004  
VÀ IASLC/ATS/ERS 2011 CÓ SỬ DỤNG  
DẤU ẤN HÓA MÔ MIỄN DỊCH**

**Chuy<sup>a</sup>n ngành: Giải phẫu bệnh và pháp y**

**M. sè : 62720105**

**l uËn , n tiÕn sũ y hăc**

*Người hướng dẫn khoa học:*

**1. PGS.TS. Lê Đình Roanh**

**2. PGS.TS. Nguyễn Văn Hưng**

**hμ Néi - 2014**



## MỤC LỤC

<b>ĐẶT VẤN ĐỀ.....</b>	<b>1</b>
<b>CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....</b>	<b>3</b>
1.1. Dịch tế học ung thư phổi.....	3
1.1.1. Trên thế giới.....	3
1.1.2. Ở Việt Nam.....	4
1.2. Mô bệnh học ung thư biểu mô phổi.....	4
1.3. Hóa mô miễn dịch.....	7
1.3.1. Kỹ thuật hóa mô miễn dịch.....	7
1.3.2. Các nguyên lý của phương pháp hóa mô miễn dịch.....	8
1.3.3. Yêu cầu kỹ thuật.....	12
1.3.4. Phương pháp.....	12
1.3.5. Ý nghĩa.....	16
1.4. Một số dấu ấn hóa mô miễn dịch trong ung thư biểu mô phổi.....	17
1.4.1. p53.....	17
1.4.2. p63.....	18
1.4.3. Nhóm Cytokeratin.....	19
1.4.4. TTF-1.....	20
1.4.5. Ki-67.....	20
1.4.6. NSE.....	21
1.4.7. Napsin A.....	21
1.4.8. Claudin.....	21
1.5. Các nghiên cứu trong và ngoài nước về vai trò của các dấu ấn miễn dịch trong ung thư phổi.....	23
1.5.1. Trên thế giới.....	23
1.5.2. Trong nước.....	32
<b>CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>32</b>
2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	32
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	32

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu.....	32
2.2.2. Cách tiến hành .....	32
2.2.3. Xử lý số liệu .....	43
2.3. Đạo đức nghiên cứu .....	44
<b>CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>45</b>
3.1. Tuổi và giới.....	45
3.1.1. Ung thư phổi không tế bào nhỏ .....	45
3.1.2. Ung thư phổi tế bào nhỏ.....	46
3.2. MÔ HỌC .....	47
3.2.1. Ung thư biểu mô phổi không tế bào nhỏ .....	48
3.2.2. Ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ .....	52
3.3. HOÁ MÔ MIỄN DỊCH.....	53
3.3.1. Hoá mô miễn dịch ung thư phổi không tế bào nhỏ .....	53
3.3.2. Hoá mô miễn dịch ung thư phổi tế bào nhỏ.....	78
<b>CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN.....</b>	<b>80</b>
4.1. Tuổi và giới.....	80
4.1.1. Ung thư biểu mô không tế bào nhỏ .....	80
4.1.2. Ung thư biểu mô tế bào nhỏ .....	81
4.2. Phân loại mô học.....	81
4.2.1. Ung thư biểu mô phổi không tế bào nhỏ .....	81
4.2.2. Ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ .....	91
4.3. Hoá mô miễn dịch trong ung thư biểu mô tế bào không nhỏ .....	95
4.4. Hoá mô miễn dịch trong ung thư biểu mô tế bào nhỏ.....	111
4.5. Hoá mô miễn dịch trong các typ ung thư biểu mô hiếm gặp.....	112
<b>KẾT LUẬN.....</b>	<b>114</b>
<b>DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN</b>	
<b>ĐẾN LUẬN ÁN</b>	
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b>	
<b>PHỤ LỤC</b>	

## DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1.	Phân bố theo nhóm tuổi .....	45
Bảng 3.2.	Phân bố bệnh nhân theo giới.....	46
Bảng 3.3.	Phân bố bệnh nhân theo nhóm tuổi .....	46
Bảng 3.4.	Phân bố bệnh nhân theo giới.....	47
Bảng 3.5.	Phân typ mô học theo WHO 2004.....	48
Bảng 3.6.	Phân typ mô học UTBM tuyến theo WHO 2004.....	49
Bảng 3.7.	Phân typ mô học UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011 .....	50
Bảng 3.8.	Phân typ mô học của các nhóm lớn của UTBM theo WHO 2004 ...	51
Bảng 3.9.	Bộc lộ CK7 trong các typ mô học theo WHO 2004 .....	53
Bảng 3.10.	Bộc lộ CK7 trong các typ mô học UTBM tuyến theo WHO 2004 ..	54
Bảng 3.11.	Bộc lộ CK7 của các typ UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011.	55
Bảng 3.12.	Bộc lộ CK7 các typ UTBM tuyến và UTBM vảy theo WHO 2004	55
Bảng 3.13.	Bộc lộ CK5/6 của các typ mô học theo WHO 2004 .....	56
Bảng 3.14.	Bộc lộ CK5/6 của UTBM tuyến và UTBM vảy (WHO 2004)....	56
Bảng 3.15.	Bộc lộ p63 trong các typ mô học theo WHO 2004.....	57
Bảng 3.16.	Bộc lộ p63 của các typ mô học UTBM tuyến theo WHO 2004 ..	57
Bảng 3.17.	Bộc lộ p63 của các typ UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011.	58
Bảng 3.18.	Bộc lộ p63 của UTBM vảy và UTBM tuyến theo WHO 2004 ...	59
Bảng 3.19.	Bộc lộ TTF-1 của các typ mô học theo WHO 2004 .....	59
Bảng 3.20.	Bộc lộ TTF-1 của các typ mô học UTBM tuyến theo WHO 2004 ..	61
Bảng 3.21.	Bộc lộ TTF-1 của các typ UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011 .	62
Bảng 3.22.	Bộc lộ TTF-1 của UTBM vảy và UTBM tuyến theo WHO 2004.....	62
Bảng 3.23.	Bộc lộ Napsin A của các typ mô học theo WHO 2004.....	63
Bảng 3.24.	Bộc lộ Napsin A của các typ mô học UTBM tuyến theo WHO 2004 .	64
Bảng 3.25.	Bộc lộ Napsin A của các typ UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011.	65

Bảng 3.26. Bộc lộ Napsin A của UTBM tuyến và UTBM vảy theo WHO 2004	66
Bảng 3.27. Bộc lộ Claudin-1 của các typ mô học theo WHO 2004 .....	66
Bảng 3.28. Bộc lộ Claudin-1 của các typ UTBM tuyến theo WHO 2004.....	67
Bảng 3.29. Bộc lộ Claudin-1 của các typ UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS2011.	68
Bảng 3.30. Bộc lộ Claudin-1 của UTBM tuyến và UTBM vảy theo WHO 2004.	69
Bảng 3.31. Bộc lộ Claudin-5 của các typ mô học theo WHO 2004 .....	69
Bảng 3.32. Bộc lộ Claudin-5 của các typ mô học UTBM tuyến theo WHO 2004	70
Bảng 3.33. Bộc lộ Claudin-5 của các typ UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS2011	71
Bảng 3.34. Bộc lộ Claudin-5 của UTBM tuyến và UTBM vảy theo WHO 2004.	71
Bảng 3.35. Bộc lộ Ki67 của các typ mô học theo WHO 2004.....	72
Bảng 3.36. Bộc lộ Ki67 của các typ UTBM tuyến theo WHO 2004 .....	72
Bảng 3.37. Bộc lộ Ki67 của các typ UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011 ..	74
Bảng 3.38. Bộc lộ Ki-67 của UTBM tuyến và UTBM vảy theo WHO 2004	74
Bảng 3.39. Bộc lộ p53 của các typ mô học theo WHO 2004.....	75
Bảng 3.40. Bộc lộ p53 của các typ UTBM tuyến theo WHO 2004 .....	76
Bảng 3.41. Bộc lộ p53 của các typ UTBM tuyến theo IASLC/ATS/ERS 2011 ..	76
Bảng 3.42. Bộc lộ p53 của UTBM tuyến và UTBM vảy theo WHO 2004 ...	77
Bảng 3.43. Tỷ lệ bộc lộ HMMH của ung thư phổi tế bào nhỏ.....	78
Bảng 4.1. Tỷ lệ bộc lộ TTF-1 của UTBM tuyến phổi theo tác giả.....	99
Bảng 4.2. Tỷ lệ bộc lộ Napsin A của UTBM tuyến phổi theo các tác giả.	103

## **DANH MỤC BIỂU ĐỒ**

Biểu đồ 3.1. Phân bố theo nhóm tuổi của UTBM phổi tế bào nhỏ .....	47
--	----

## DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1: Phương pháp HMMD .....	14
----------------------------------	----

## DANH MỤC ẢNH

Ảnh 3.1: Đặng Ngọc Đ., 1958, số tiêu bản: 3740: UTBM vảy .....	49
Ảnh 3.2: Nguyễn Văn Ph., 51 tuổi, số tiêu bản: 4417: UTBM tuyến hỗn hợp.	50
Ảnh 3.3: Bùi Hữu T., 61 tuổi, Số tiêu bản: 307: UTBM tế bào sáng .....	51
Ảnh 3.4: Đỗ Văn S., 65 tuổi, Số tiêu bản: 81871: UTBM tế bào nhỏ .....	52
Ảnh 3.5: Hà Thị C., 59 tuổi, Số tiêu bản: 3985: UTBM dạng sarcom.....	54
Ảnh 3.6: Nguyễn Văn Ph., 1963, Số tiêu bản: 4417: UTBM tuyến hỗn hợp	55
Ảnh 3.7: Đặng Ngọc Đ., 56 tuổi, Số tiêu bản: 3740: UTBM vảy.....	58
Ảnh 3.8: Nguyễn Văn Ph., 1963, Số tiêu bản: 4417: UTBM tuyến hỗn hợp	65
Ảnh 3.9: Nguyễn Văn Ph., 1963, Số tiêu bản: 4417: UTBM tuyến hỗn hợp	71
Ảnh 3.10: Đặng Ngọc Đ., 1958, Số tiêu bản: 3740: Carcinoma vảy .....	76
Ảnh 3.11: Nguyễn Ngọc Th., 70 tuổi, Số tiêu bản: 82186: UTBM tế bào nhỏ ...	79
Ảnh 3.12: Đỗ Văn S., 65 tuổi, Số tiêu bản: 81871: UTBM tế bào nhỏ.....	79