

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Nguyễn Hoàng Giang

**NGHIÊN CỨU VAI TRÒ ĐIỀU HÒA CỦA MỘT SỐ GEN
DEUBIQUITINASE ĐẾN CHỨC NĂNG TẾ BÀO TUA VÀ TẾ BÀO
NON TRÊN BỆNH NHÂN BẠCH CẦU CẤP TÍNH**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG

Ngành: Công nghệ sinh học

Mã số: 9420201

Hà Nội - 2026

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện
Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn khoa học:

1. Người hướng dẫn 1: PGS.TS. Nguyễn Thị Xuân – Viện Sinh học – Viện
Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
2. Người hướng dẫn 2: PGS. TS. Vũ Xuân Nghĩa – Bệnh viện Trung ương
Quân đội 108

Phản biện 1: PGS.TS. Hoàng Thị Mỹ Dung – Trường Đại học Khoa học Tự
nhiên – Đại học Quốc gia Hà Nội

Phản biện 2: TS. Lê Thị Huyền – Viện Sinh học – Viện Hàn lâm Khoa học
và Công nghệ Việt Nam

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện
hợp tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công
nghệ Việt Nam vào hồi giờ, ngày tháng
năm

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
2. Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

Bệnh bạch cầu cấp là bệnh ung thư máu đặc trưng bởi sự tăng sinh và tích lũy nhanh chóng của các tế bào bạch cầu non chưa trưởng thành trong máu và tủy xương. Sự phát triển bất thường này làm suy giảm quá trình tạo máu bình thường, gây thiếu máu, giảm tiểu cầu, suy giảm miễn dịch và tăng nguy cơ nhiễm trùng, xuất huyết. Bệnh bao gồm hai nhóm chính là Bạch cầu cấp dòng lympho và Bạch cầu cấp dòng tủy. Mặc dù các phương pháp điều trị như hóa trị, ghép tế bào gốc tạo máu và liệu pháp miễn dịch đã cải thiện tiên lượng bệnh, nhưng tình trạng tái phát, kháng thuốc đi kèm rối loạn miễn dịch vẫn là những thách thức lớn trong điều trị.

Tế bào tua là các tế bào trình diện kháng nguyên chuyên biệt, tham gia điều hòa đáp ứng miễn dịch thông qua khả năng xử lý và trình diện kháng nguyên cho tế bào lympho T. Tuy nhiên, ở bệnh bạch cầu cấp, các tế bào ác tính có thể làm suy giảm chức năng của tế bào tua thông qua các cytokine ức chế miễn dịch, góp phần tạo môi trường thuận lợi cho sự tồn tại của tế bào ung thư.

Nhiều con đường tín hiệu như NF- κ B, JAK/STAT, MAPK, PI3K/AKT/mTOR và Wnt/ β -catenin có liên quan chặt chẽ đến tăng sinh, kháng thuốc và thoát miễn dịch của tế bào bạch cầu. Trong đó, các gen mã hóa enzyme deubiquitinase như A20 và CYLD đóng vai trò điều hòa âm tính các tín hiệu viêm và miễn dịch. Tuy nhiên, vai trò của các gen này đối với chức năng miễn dịch của tế bào tua và tế bào non trong vi môi trường bạch cầu cấp vẫn chưa được làm sáng tỏ đầy đủ. Vì những lý do trên mà luận án: *“Nghiên cứu vai trò điều hòa của một số gen deubiquitinase đến chức năng tế bào tua và tế bào non trên bệnh nhân bạch cầu cấp tính”* được thực hiện.

- **Mục tiêu nghiên cứu của luận án**

- Xác định đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng, biểu hiện gen liên quan đến viêm và kiểu hình miễn dịch ở bệnh nhân bạch cầu cấp;
- Xác định vai trò điều hòa của một số gen mã hóa enzyme deubiquitinase

(A20, CYLD) và tín hiệu nội bào liên quan như NF- κ B, JAK/STAT, MAPKp38 và Wnt đến hoạt động của tế bào tua và tế bào non trên bệnh nhân bạch cầu cấp.

• **Nội dung nghiên cứu chính của luận án**

- Xác định đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng, biểu hiện gen liên quan đến viêm (gen mã hóa enzyme deubiquitinase và gen tín hiệu) cũng như kiểu hình miễn dịch ở bệnh nhân bạch cầu cấp;
- Đánh giá mối liên quan giữa các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng biểu hiện gen liên quan đến viêm và kiểu hình miễn dịch ở bệnh nhân bạch cầu cấp;
- Xác định vai trò điều hòa của gen mã hóa enzyme deubiquitinase đến chức năng tế bào non trên bệnh nhân bạch cầu cấp;
- Xác định vai trò điều hòa của gen tín hiệu đến hoạt động của tế bào tua ở bệnh nhân bạch cầu cấp khi tiếp xúc với hoạt chất Malloapelta C và Doxorubicin.

Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Bệnh bạch cầu cấp tính

1.1.1. Bạch cầu cấp dòng lympho

Bạch cầu cấp dòng lympho (BCLC) là bệnh ác tính của hệ tạo máu, đặc trưng bởi sự tăng sinh không kiểm soát của các tế bào lympho B hoặc T chưa trưởng thành trong tủy xương và cơ quan lympho. BCLC có tính di truyền cao, với nhiều bất thường nhiễm sắc thể và tái sắp xếp gen ảnh hưởng trực tiếp đến cơ chế sinh bệnh, đáp ứng điều trị và tiên lượng. Theo hướng dẫn của NCCN, bệnh nhân được phân nhóm nguy cơ: trung bình và xấu, dựa trên các đột biến gen và công thức nhiễm sắc thể.

1.1.2. Bạch cầu cấp dòng tủy

Bạch cầu cấp dòng tủy (BCTC) là bệnh ác tính đặc trưng bởi sự tăng sinh không kiểm soát của các tế bào non dòng tủy trong tủy xương và máu ngoại vi, dẫn đến suy giảm chức năng tạo máu bình thường. Chẩn

đoán BCTC được xác định khi tỷ lệ non $\geq 20\%$. Theo phân loại của ELN và NCCN, bệnh nhân được chia thành các nhóm nguy cơ thuận lợi, trung bình và xấu, đóng vai trò quan trọng trong định hướng điều trị và tiên lượng bệnh.

1.2. Gen deubiquitinase

CYLD và *A20 (TNFAIP3)* là các deubiquitinase quan trọng tham gia điều hòa tín hiệu miễn dịch, viêm và sinh ung thư thông qua kiểm soát quá trình ubiquitination. *CYLD* thuộc họ USP, có khả năng thủy phân chọn lọc các chuỗi polyubiquitin liên kết Lys63 và M1, từ đó điều hòa các con đường tín hiệu như NF- κ B, Wnt, JNK và p38 MAPK thông qua deubiquitination các protein trung gian như TRAF2, TRAF6 và TAK1. *A20* thuộc họ OTU, có cấu trúc đặc biệt với miền deubiquitinase ở đầu N và miền E3 ubiquitin ligase ở đầu C, cho phép vừa loại bỏ chuỗi ubiquitin Lys63 vừa gắn chuỗi Lys48 lên RIP1, dẫn đến thoái hóa RIP1 và ức chế hoạt hóa NF- κ B. Rối loạn chức năng của các deubiquitinase này có thể dẫn đến hoạt hóa NF- κ B kéo dài, tăng tiết cytokine tiền viêm và thúc đẩy sự sống còn của tế bào ác tính

1.3. Tế bào tua

Tế bào tua (DC) là tế bào trình diện kháng nguyên chuyên nghiệp, đóng vai trò trung tâm trong việc kết nối miễn dịch bẩm sinh và miễn dịch thích nghi. DC phân bố nhiều ở các mô tiếp xúc kháng nguyên như da, niêm mạc hô hấp và tiêu hóa; sau khi bắt giữ kháng nguyên, DC di chuyển về cơ quan lympho để trình diện kháng nguyên qua MHC I/II, kích hoạt và định hướng biệt hóa tế bào T và hỗ trợ đáp ứng của tế bào B. Trong ung thư, các yếu tố từ khối u có thể ức chế trưởng thành DC, thúc đẩy Treg/Th17 và tạo môi trường ức chế miễn dịch, góp phần giúp khối u né tránh đáp ứng miễn dịch.

1.4. Một số hóa chất điều hòa hoạt động tế bào

Doxorubicin là một kháng sinh anthracycline được sử dụng rộng rãi trong điều trị nhiều loại ung thư rắn và ác tính huyết học, với cơ chế chính là xen kẽ DNA, ức chế topoisomerase II và tạo các gốc oxy hóa, từ đó gây tổn thương DNA và apoptosis nhưng cũng kèm độc tính tim và ức chế tủy xương. Malloapelta C là một diterpenoid tự nhiên phân lập từ cây Bùm búp, thể hiện hoạt tính chống ung thư mạnh với IC_{50} thấp trên nhiều dòng tế bào, có khả năng liên quan đến ức chế NF- κ B và cảm ứng apoptosis. SB203580 là chất ức chế chọn lọc p38 MAPK, thường được dùng như công cụ nghiên cứu để làm rõ vai trò của p38 MAPK trong viêm, stress tế bào và tiến triển ung thư. Everolimus là dẫn xuất rapamycin, ức chế chọn lọc mTORC1, làm gián đoạn chu kỳ tế bào, ức chế tăng sinh và tạo mạch, được ứng dụng rộng rãi trong liệu pháp điều trị trúng đích. Wnt-C59 là chất ức chế mạnh con đường Wnt thông qua ức chế enzyme Porcupine, cho thấy tiềm năng lớn trong ức chế tiến triển khối u và điều hòa tín hiệu Wnt/ β -catenin. Nifuroxazide là một dẫn xuất nitrofurane có hoạt tính kháng khuẩn đường ruột, đồng thời được xác định là chất ức chế mạnh tín hiệu STAT3 thông qua ngăn cản phosphoryl hóa Tyr705 bằng cách ức chế JAK2 và Tyk2.

Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

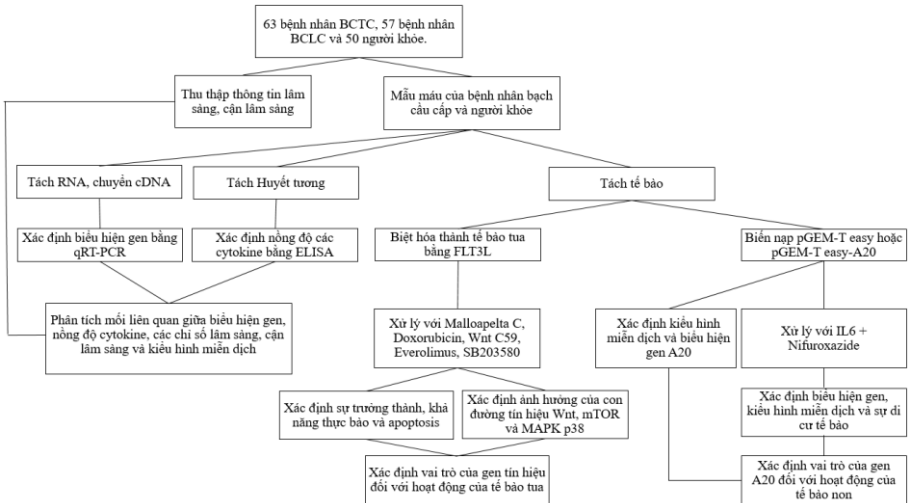
Nghiên cứu được thực hiện trên nhóm bệnh nhân bao gồm 63 bệnh nhân bạch cầu cấp dòng tủy, 57 bệnh nhân bạch cầu cấp dòng lympho và 50 người khỏe mạnh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thu mẫu
- Phân loại tiên lượng bệnh
- Phân lập tế bào đơn nhân máu ngoại vi từ máu
- Phân lập và nuôi cấy tế bào tua từ tế bào PBMC

- Tách chiết RNA và tổng hợp cDNA và phản ứng RT-qPCR
- Biến nạp plasmid
- Flow cytometry
- ELISA
- Di cư tế bào
- Phân tích số liệu

2.3. Sơ đồ nghiên cứu



Hình 2.1: Sơ đồ các bước thực hiện nghiên cứu

Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Phân tích đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng ở bệnh nhân bạch cầu cấp tính

3.1.1 Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng ở bệnh nhân BCTC

Phân tích Bảng 3.1 cho thấy tuổi trung bình tăng dần từ nhóm tiên lượng tốt đến nhóm xấu ($p = 0.004$). Nhóm tiên lượng thuận lợi có nồng độ creatinine, bilirubin toàn phần và bilirubin gián tiếp thấp hơn rõ rệt so với hai nhóm còn lại ($p < 0.05$). Ngược lại, số lượng hồng cầu có nhân tăng cao ở nhóm tiên lượng trung bình và xấu ($p = 0.006$), số lượng bạch cầu khác

biệt có ý nghĩa giữa các nhóm ($p = 0.015$), và số lượng lympho giảm rõ rệt ở nhóm tiên lượng kém ($p = 0.016$).

Bảng 3.1: Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân BCTC.

Chỉ số	Ngưỡng bình thường	Nhóm bệnh nhân BCTC			
		Tiên lượng tốt (n=14)	Tiên lượng trung bình (n=34)	Tiên lượng xấu (n=15)	p-value
Tuổi		31.21 ± 20.80	50.53 ± 21.28	58.47 ± 15.62	0.004
Creatinine (μmol/L)	62- 120	61.00 (54.00 - 83.00)	88.50 (69.50 - 99.00)	81.00 (72.00 - 92.00)	0.048
Bilirubin tổng số (μmol/L)	≤17	7.90 (6.00 - 9.60)	11.10 (7.875 - 14.250)	9.60 (7.00 - 11.70)	0.041
Bilirubin gián tiếp (μmol/L)	≤12.7	6.10 (4.95 - 8.15)	8.75 (6.40 - 11.250)	7.20 (5.50 - 8.80)	0.021
Số lượng hồng cầu có nhân (G/L)	0	0 (0 - 0.01)	0.04 (0 - 0.20750)	0.020 (0 - 0.040)	0.006
Số lượng bạch cầu (G/L)	3.5- 10.5	10.13 (4.52 - 24.12)	33.75 (6.58 - 81.38)	6.01 (4.66 - 19.03)	0.015
Số lượng tế bào lympho (G/L)	1.2- 3	1.82 (1.15 - 5.305)	3.7 (2.07- 6.305)	1.74 (1.16 - 2.58)	0.016

3.1.2 Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng ở bệnh nhân BCLC

Kết quả Bảng 3.2 cho thấy nhóm tiên lượng xấu có tuổi trung bình cao hơn đáng kể ($p = 0.044$). Nhóm tiên lượng xấu cũng có nồng độ glucose thấp hơn ($p = 0.044$) và LDH tăng rõ rệt ($p = 0.013$). Đặc biệt, số

lượng bạch cầu, bạch cầu trung tính và lympho đều tăng mạnh ở nhóm tiên lượng xấu so với nhóm trung bình ($p < 0.01$).

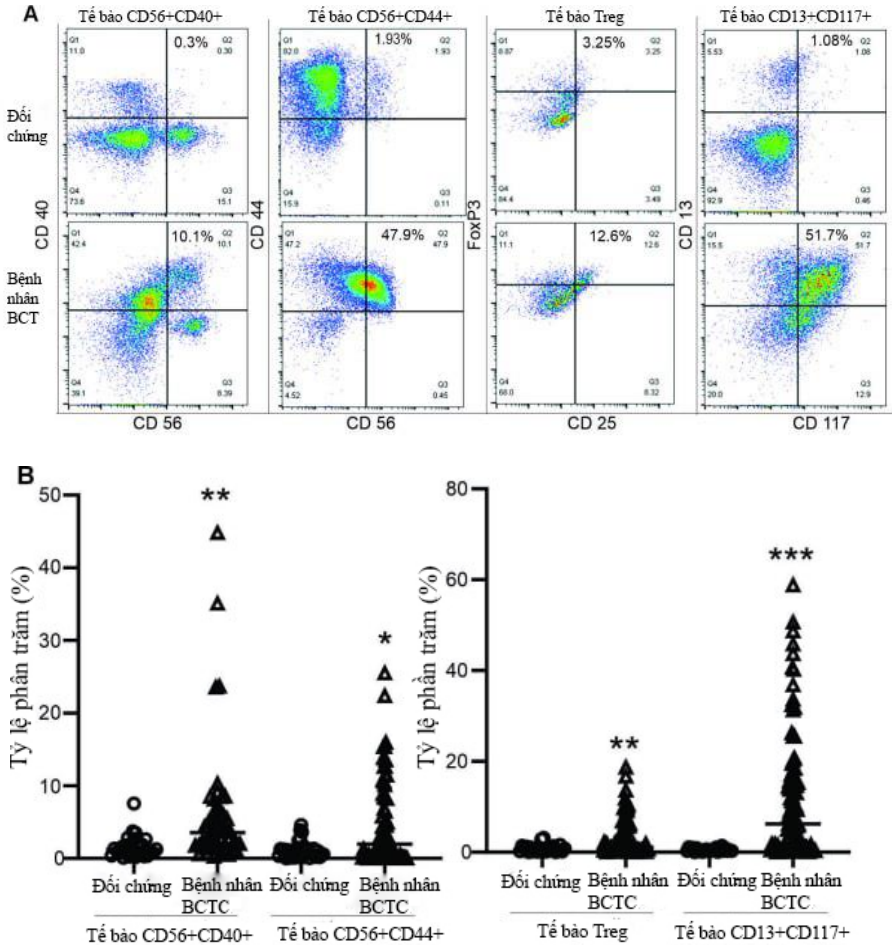
Bảng 3.2: Các chỉ số lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân BCTC.

Chỉ số	Ngưỡng bình thường	Nhóm bệnh nhân BCLC		p-value
		Nhóm tiên lượng trung bình (n=36)	Nhóm tiên lượng xấu (n=21)	
Tuổi		28.78 ± 20.61	40.00 ± 18.04	0.044
Glucose (mmol/l)	3.9-6.4	6.4 (5.3-7.7)	5.3 (5-6.3)	0.044
LDH (U/L)	230-460	1078 (477-2718)	2230 (1538.25-4824)	0.013
Số lượng tế bào bạch cầu (G/L)	3.5-10.5	10.01 (2.45-48.66)	65.58 (22.27-127.4)	0.003
Số lượng bạch cầu trung tính (G/L)	1 -7.5	1.84 (0.54-5.82)	4.39 (2.55-10.24)	0.004
Số lượng tế bào lympho (G/L)	1.2-3	2.44 (1.31-7.14)	6.74 (3.24-14.5)	0.001

3.2. Đánh giá kiểu hình miễn dịch ở bệnh nhân bạch cầu cấp

3.2.1. Kết quả đánh giá kiểu hình miễn dịch ở bệnh nhân BCTC

Phân tích flow cytometry (Hình 3.1A–B) cho thấy tỷ lệ tế bào NK hoạt hóa CD56⁺CD40⁺ và NK CD56⁺CD44⁺ tăng đáng kể so với nhóm đối chứng. Đồng thời, tế bào T điều hòa CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ tăng rõ ở bệnh nhân. Đáng chú ý, quần thể tiền thân dòng tủy CD13⁺CD117⁺ tăng vượt trội, trong khi các chỉ số hoạt hóa chung của tế bào T không thay đổi đáng kể.

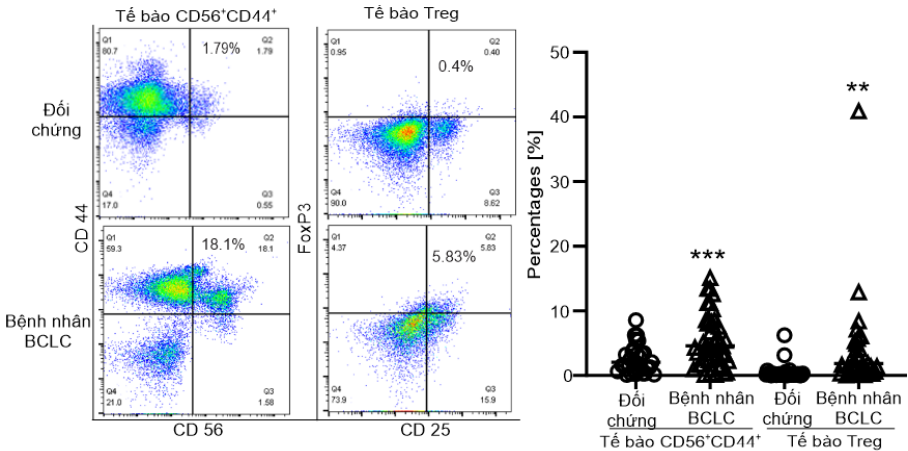


Hình 3.1: Biểu hiện miễn dịch ở bệnh nhân BCTC và nhóm đối chứng khỏe mạnh.

3.2.2 Kết quả đánh giá kiểu hình miễn dịch ở bệnh nhân BCLC

Kết quả phân tích flow cytometry Hình 3.2 cho thấy tỷ lệ tế bào NK hoạt hóa mang kiểu hình CD56⁺CD44⁺ tăng đáng kể ở bệnh nhân BCLC so với nhóm đối chứng khỏe mạnh. Đồng thời, quần thể Treg được xác định bởi kiểu hình CD3⁺CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ cũng gia tăng rõ rệt ở nhóm bệnh nhân. Ngược lại, các chỉ số phản ánh trạng thái hoạt hóa chung

của tế bào T, bao gồm $CD4^+CD25^+$ và $CD4^+CD44^+$, không khác biệt đáng kể giữa hai nhóm.

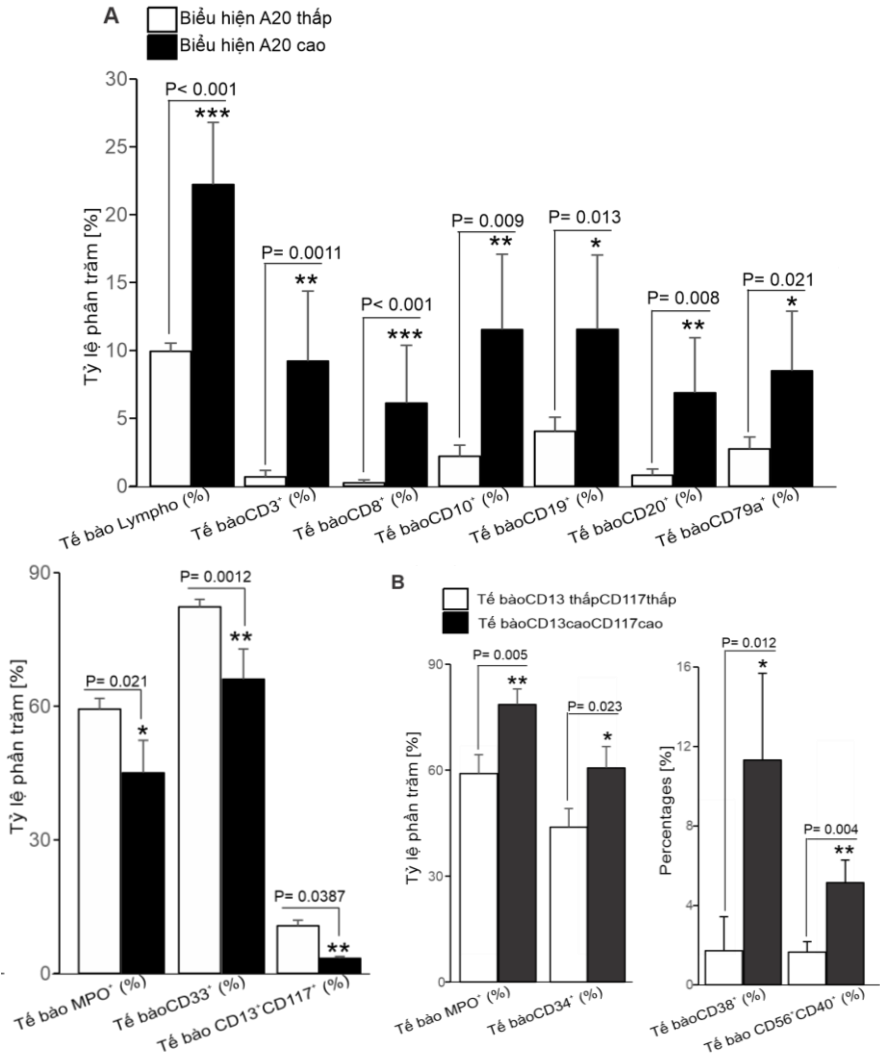


Hình 3.2: Nồng độ cytokine và kiểu hình miễn dịch ở bệnh nhân BCLC.

3.3. Mối liên quan giữa biểu hiện gen *A20* và *CYLD* với đặc điểm miễn dịch và lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân bạch cầu cấp tính

3.3.1. Mối liên quan giữa biểu hiện gen *A20* và *CYLD* với kiểu hình miễn dịch ở bệnh nhân BCLC

Kết quả đã chỉ ra rằng biểu hiện gen *CYLD* không ảnh hưởng đến đặc điểm kiểu hình miễn dịch ở bệnh nhân BCLC. Tỷ lệ các tế bào thuộc dòng lympho bao gồm tế bào lympho tổng số, $CD3^+$, $CD8^+$, $CD10^+$, $CD19^+$, $CD20^+$ và $CD79a^+$ đều giảm đáng kể ở nhóm *A20* thấp so với nhóm *A20* cao (Hình 3.3A). Ngược lại, các marker thuộc dòng tủy như MPO^+ , $CD33^+$ và $CD13^+CD117^+$ lại tăng cao đáng kể ở nhóm này.



Hình 3.3: Mối liên quan giữa biểu hiện gen A20 với kiểu hình miễn dịch ở bệnh nhân BCTC.

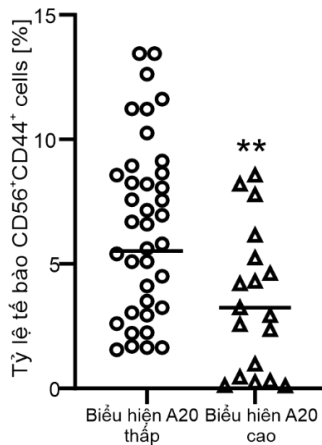
3.3.2. Mối liên quan giữa biểu hiện gen A20 và CYLD với đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng ở bệnh nhân BCTC

Bảng 3.3: Mối tương quan giữa biểu hiện gen A20 với đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng.

Chỉ số	Biểu hiện gen A20		p-value
	Nhóm biểu hiện thấp (n=47)	Nhóm biểu hiện cao (n=16)	
Albumin (g/L)	38,81 (26,6 - 51,1)	48,7 (32,9–64,6)	0,029
Số lượng tiểu cầu	51 (31 -115.5)	28 (12.5 -61.5)	0,039

Kết quả cho thấy rằng, mức độ biểu hiện của gen *CYLD* không ảnh hưởng đến các chỉ số lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân BCTC. Trong khi đó, mức độ biểu hiện gen A20 cho thấy có mối liên quan với albumin và số lượng tiểu cầu ($p<0,05$).

3.3.3. Mối liên quan giữa biểu hiện gen A20 và *CYLD* với kiểu hình miễn dịch ở bệnh nhân BCLC



Hình 3.4: Biểu đồ biểu thị tỷ lệ tế bào CD56+CD44+ ở bệnh nhân BCLC có biểu hiện A20 thấp và A20 cao.

Tương tự bệnh nhân BCTC, mức độ biểu hiện của gen *CYLD* cũng không ảnh hưởng đến đặc điểm kiểu hình miễn dịch ở bệnh nhân BCLC khi

tiến hành phân tích. Kết quả cho thấy những bệnh nhân có mức biểu hiện A20 thấp cho thấy số lượng tế bào CD56⁺CD44⁺ tăng đáng kể so với những bệnh nhân có mức biểu hiện A20 cao (Hình 3.4).

3.3.4. Mối liên quan giữa biểu hiện gen A20 và CYLD với đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng ở bệnh nhân BCLC

Bảng 3.4: Mối liên quan giữa biểu hiện gen A20, CYLD đến đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân BCLC

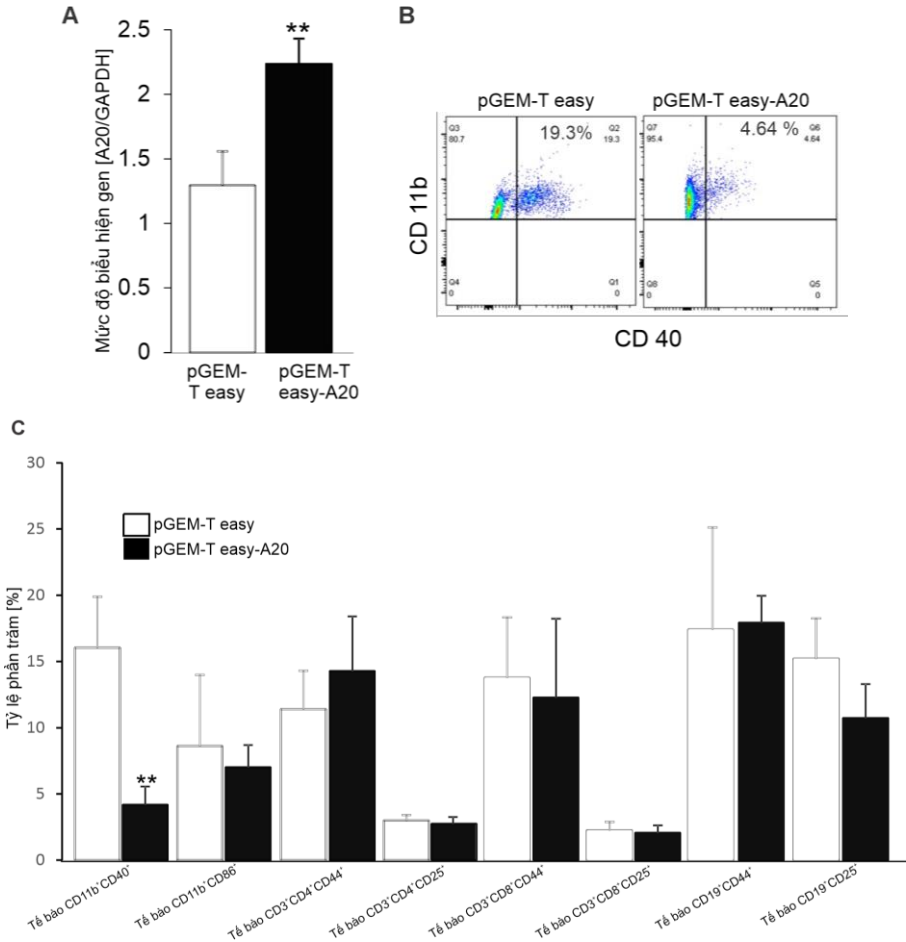
Chỉ số		Số lượng tế bào lympho (G/L)	Urê (mmol/L)
Ngưỡng đối chứng		1-3	2,5 -7,5
Biểu hiện A20/ GAPDH	Nhóm biểu hiện thấp (n=39) Median (Q1-Q3)	3,33 (1,71 – 8,02)	5,3 (3,95 – 6,7)
	Nhóm biểu hiện cao (n=18) Median (Q1-Q3)	7 (2,03 – 10,29)	7,25 (6,15 – 11,93)
	p-value	0,39	0,012
Biểu hiện CYLD/ GAPDH	Nhóm biểu hiện thấp (n=48) Median (Q1-Q3)	3,93 (2,24 – 9,05)	5,4 (4,2 – 6,8)
	Nhóm biểu hiện cao (n=9) Median (Q1-Q3)	1,3 (0,63- 4,61)	8,7 (3,15 –17,2)
	p-value	0,032	0,36

Phân tích mối liên quan giữa biểu hiện gen A20 và các thông số lâm sàng cho thấy nhóm bệnh nhân có biểu hiện A20 cao có nồng độ urê cao hơn so với nhóm biểu hiện thấp ($p = 0,012$). Đối với gen CYLD, nhóm bệnh nhân có biểu hiện CYLD cao có xu hướng giảm số lượng tế bào lympho so với nhóm biểu hiện thấp, với sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê

($p = 0,032$). Bên cạnh đó, nhóm này lại có nồng độ ure cao hơn khi so với nhóm thấp ($p > 0,05$).

3.4. Đánh giá vai trò của gen A20 điều hòa hoạt động tế bào non ở bệnh bạch cầu cấp tính

3.4.1. Vai trò của gen A20 điều hòa sự tăng sinh tế bào miễn dịch ở bệnh bạch cầu cấp

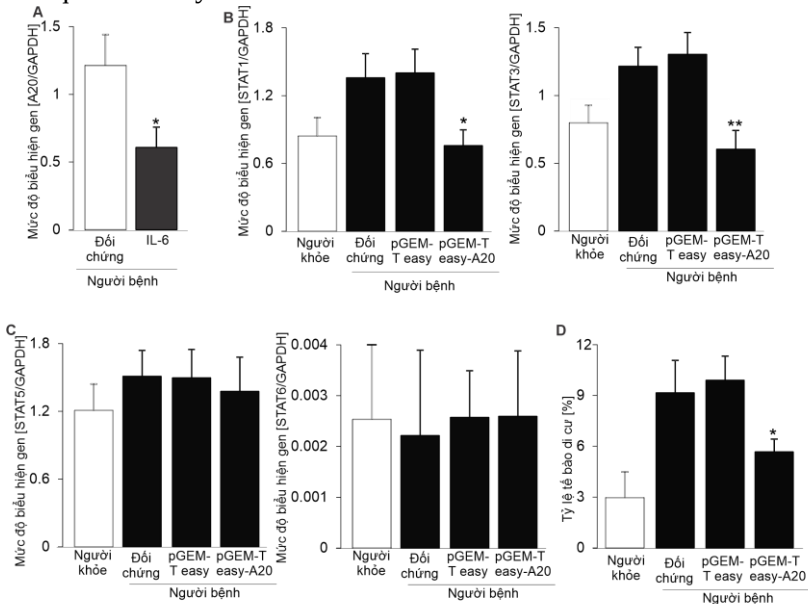


Hình 3.5: Ảnh hưởng của A20 đến kiểu hình miễn dịch ở bệnh nhân bạch cầu cấp

Kết quả RT-qPCR như Hình 3.5 xác nhận pGEM-T easy-A20 làm tăng đáng kể biểu hiện A20. Phân tích flow cytometry cho thấy tăng biểu hiện A20 làm giảm rõ rệt tỷ lệ tế bào CD11b⁺CD40⁺, trong khi không ảnh hưởng đến các quần thể tế bào miễn dịch hoạt hóa khác.

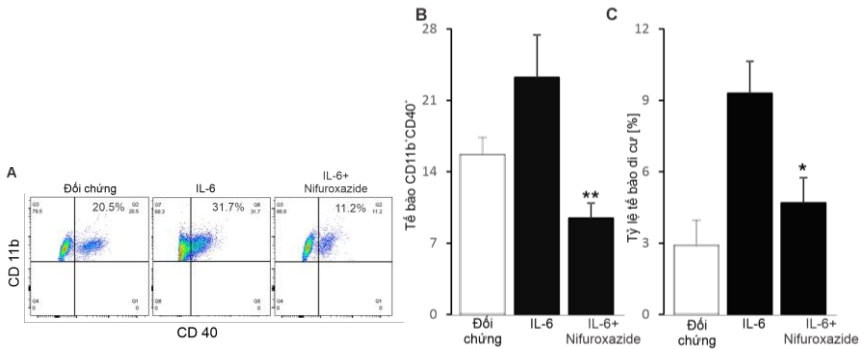
3.4.2. Vai trò của gen A20 điều hòa tín hiệu STAT và sự di cư của tế bào bạch cầu non

Kết quả cho thấy IL-6 làm giảm biểu hiện gen A20, đồng thời kích thích hoạt hóa STAT1 và STAT3, nhưng không ảnh hưởng đáng kể đến STAT5 và STAT6 (Hình 3.6). Sự gia tăng hoạt hóa STAT1/STAT3 do IL-6 bị ức chế khi tăng cường biểu hiện A20, chứng tỏ A20 có vai trò điều hòa âm tính con đường STAT trong bối cảnh viêm. Tuy nhiên, trong thí nghiệm di cư tế bào, IL-6 làm tăng khả năng di chuyển của tế bào non khi kích thích bằng CXCL12 và sự thay đổi biểu hiện A20 không ảnh hưởng đáng kể đến quá trình này.



Hình 3.6: Ảnh hưởng của A20 đến biểu hiện tín hiệu STAT và sự di cư của tế bào bạch cầu non

3.4.3. Vai trò của tín hiệu STAT trong điều hòa sự di chuyển của tế bào bạch cầu non



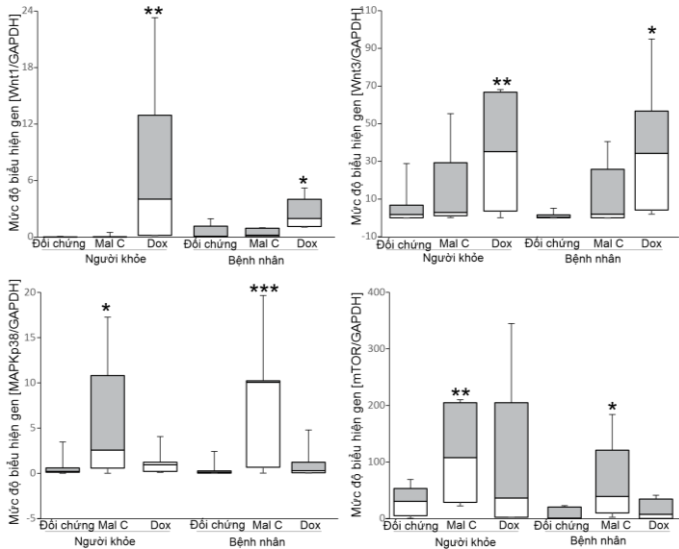
Hình 3.7: Vai trò của tín hiệu STAT trong điều hòa sự hoạt hóa của tế bào bạch cầu non

Kết quả Hình 3.7 cho thấy IL-6 làm tăng rõ rệt tỷ lệ tế bào CD11b⁺CD40⁺, đồng thời thúc đẩy khả năng di chuyển của tế bào dòng tủy và tế bào non. Tuy nhiên, các tác động này bị suy giảm đáng kể khi ức chế tín hiệu STAT bằng Nifuroxazide, chứng tỏ hiệu ứng của IL-6 phụ thuộc một phần vào con đường STAT. Đáng chú ý, việc ức chế STAT không làm thay đổi ảnh hưởng của mức độ biểu hiện A20 lên sự di chuyển của tế bào non, cho thấy A20 không trực tiếp điều hòa quá trình di chuyển qua trục IL-6/STAT mà chủ yếu tham gia kiểm soát trạng thái hoạt hóa miễn dịch của tế bào dòng tủy.

3.5. Vai trò của gen viêm điều hòa tế bào tua ở bệnh nhân bạch cầu cấp tính dưới tác động của Doxorubicin và Malloapelta C

Phân tích RT-qPCR cho thấy Mal C làm tăng rõ rệt biểu hiện mRNA của *mTOR* và *MAPK p38* ở cả hai nhóm (Hình 3.8), đặc biệt mạnh ở bệnh nhân. Ngược lại, Dox chủ yếu làm tăng biểu hiện các gen thuộc con đường Wnt, bao gồm *Wnt1* và *Wnt3*. *Wnt1* tăng mạnh ở DC người khỏe mạnh khi xử lý Dox, trong khi ở bệnh nhân mức tăng chỉ nhẹ. Biểu hiện *Wnt3* tăng ở cả hai nhóm khi xử lý Mal C hoặc Dox. Ở người khỏe mạnh,

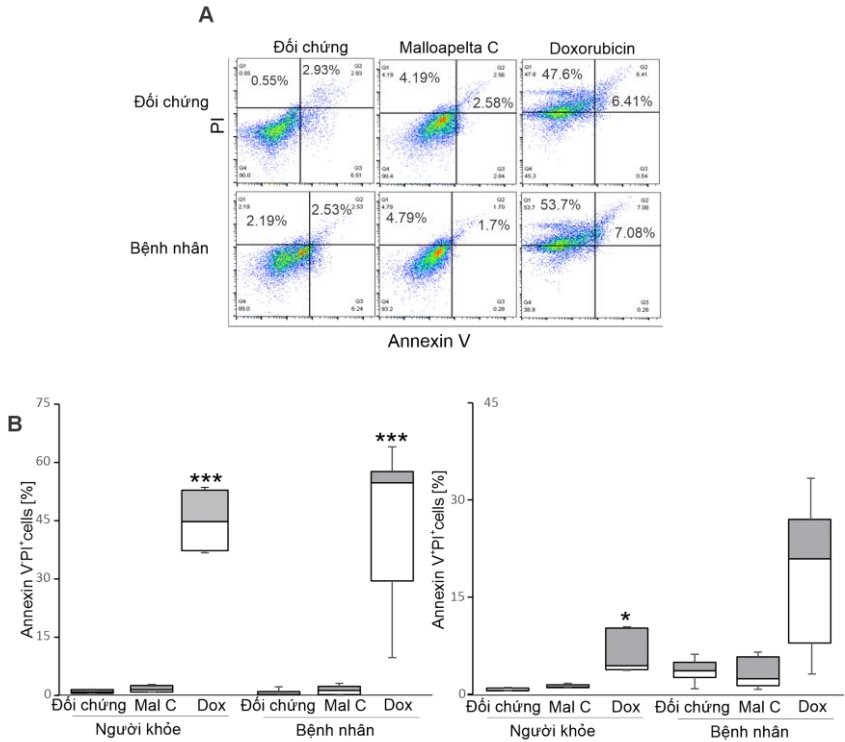
cả Mal C và Dox đều làm tăng *mTOR*, nhưng ở bệnh nhân chỉ Mal C có tác dụng này. Các gen *ERK2* và *AKT1* không thay đổi đáng kể sau xử lý.



Hình 3.8: Tác dụng của Dox và Mal C lên sự biểu hiện của các phân tử tín hiệu mTOR, MAPK38 và Wnt ở người khỏe và bệnh nhân BCLC.

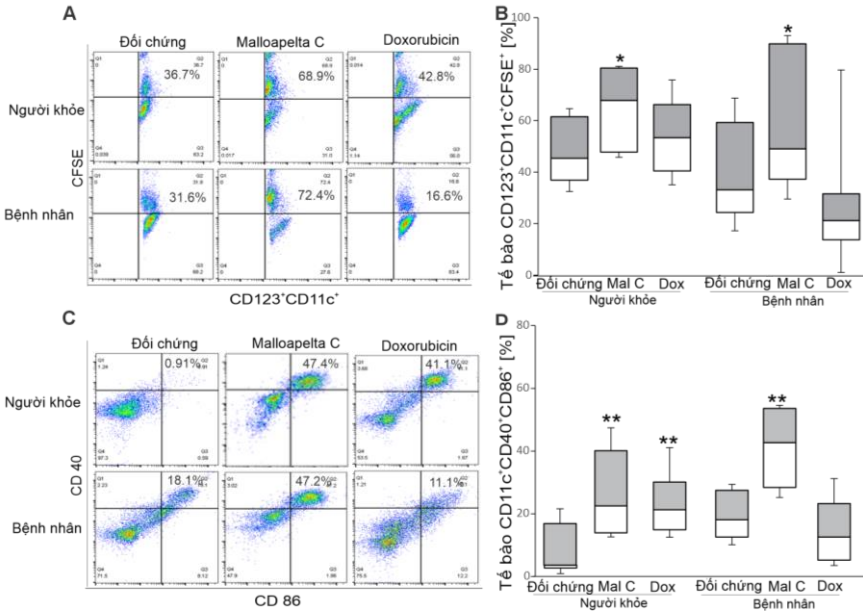
3.5.1. Ảnh hưởng của Doxorubicin và Malloapelta C đến sự trưởng thành, apoptosis và thực bào của tế bào tua trên bệnh nhân BCLC

Kết quả Hình 3.9 cho thấy Mal C và Dox đều ảnh hưởng rõ rệt đến sự trưởng thành, khả năng thực bào và apoptosis của DC. Ở người khỏe mạnh, Mal C 20 μM và Dox 5 μM làm tăng đáng kể các quần thể DC $\text{CD40}^+\text{CD86}^+$, $\text{CD11c}^+\text{CD123}^+$ và các tế bào $\text{Annexin V}^+/\text{PI}^+$, do đó hai nồng độ này được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo. Phân tích sống sót tế bào cho thấy Mal C chỉ làm tăng nhẹ tỷ lệ hoại tử ($\text{Annexin V}^+/\text{PI}^+$) ở cả hai nhóm, trong khi Dox gây độc tế bào mạnh, làm tăng rõ rệt apoptosis và hoại tử. Những kết quả này cho thấy Mal C không phải là chất gây độc mạnh mà chủ yếu tác động theo hướng điều hòa miễn dịch của tế bào DC, trái ngược với tác dụng gây độc rõ rệt của Dox.



Hình 3.9: Ảnh hưởng của Dox và Mal C đến chức năng tế bào DC từ người khỏe mạnh và bệnh nhân BCLC.

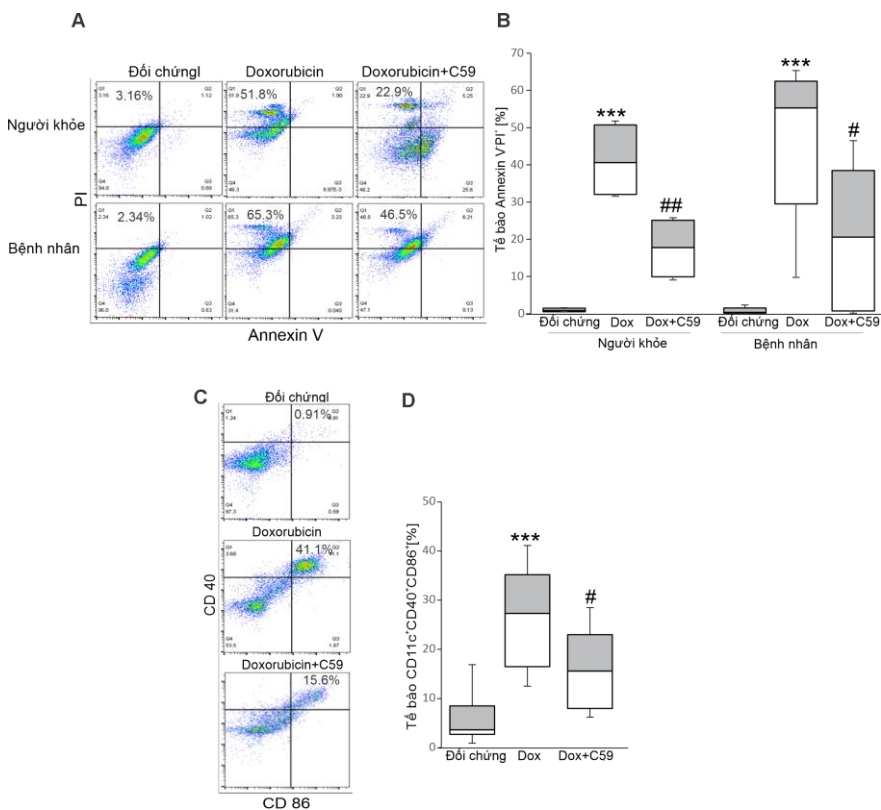
Tiếp theo, khả năng thực bào của các quần thể DC ($CD11c^+CD123^-$, $CD11c^+CD123^+$ và $CD11c^-CD123^+$) từ người khỏe mạnh và bệnh nhân BCC được đánh giá sau xử lý Mal C và Dox. Kết quả Hình 3.10 cho thấy Mal C làm tăng rõ rệt khả năng thực bào của DC $CD11c^+CD123^+$ ở cả hai nhóm, đặc biệt ở bệnh nhân BCC với tỷ lệ tăng gần gấp đôi so với đối chứng (31.6% lên 72.4%), cho thấy Mal C thúc đẩy biệt hóa và chức năng thực bào của DC. Ngược lại, Dox làm giảm mạnh quần thể DC $CD11c^+CD123^+$ ở bệnh nhân (xuống 16.6%), phản ánh độc tính tế bào và sự ức chế quá trình hình thành DC.



Hình 3.10: Ảnh hưởng của Dox và Mal C lên quá trình thực bào và trưởng thành của tế bào DC ở người khỏe mạnh và bệnh nhân BCLC.

3.5.2. Vai trò của con đường tín hiệu Wnt trong tác động của Doxorubicin đối với sự trưởng thành và apoptosis của tế bào tua

Kết quả cho thấy Dox làm tăng mạnh tỷ lệ tế bào hoại tử Annexin V-PI⁺ ở cả người khỏe mạnh và bệnh nhân BCC (Hình 3.11), trong khi phối hợp Dox với Wnt C59 làm giảm đáng kể tỷ lệ này và loại bỏ gần như hoàn toàn quần thể Annexin V-PI⁺. Ngoài ra, Dox làm tăng rõ rệt tỷ lệ tế bào DC trưởng thành CD40⁺CD86⁺ ở người khỏe mạnh, nhưng hiệu ứng này bị ức chế khi có mặt Wnt C59.

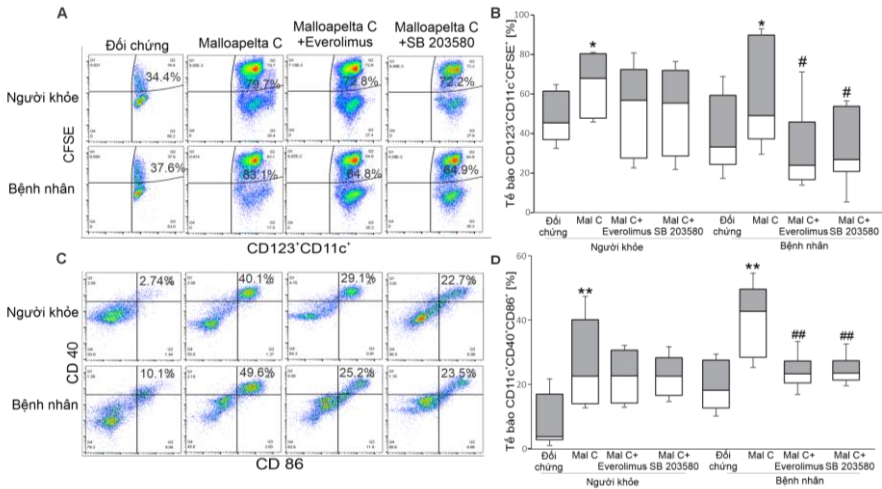


Hình 3.11: Ảnh hưởng của con đường Wnt đến sự trưởng thành và apoptosis của tế bào DC ở người khỏe mạnh và bệnh nhân BCLC

3.5.3. Vai trò của các con đường tín hiệu mTOR và MAPKp38 trong tác động của Malloapelta C lên quá trình trưởng thành và thực bào của tế bào tua

Kết quả Hình 3.12 cho thấy Mal C làm tăng mạnh khả năng thực bào của tế bào DC CD11c⁺CD123⁺ ở bệnh nhân BCC, tuy nhiên hiệu ứng này bị suy giảm rõ rệt khi bổ sung Everolimus hoặc SB203580. Tương tự, Mal C thúc đẩy đáng kể quá trình trưởng thành của DC (CD40⁺CD86⁺) ở bệnh nhân BCC, nhưng mức tăng này giảm mạnh khi ức chế mTOR hoặc

MAPKp38. Ngược lại, ở người khỏe mạnh, các chất ức chế chỉ làm giảm nhẹ tác dụng của Mal C và không gây thay đổi đáng kể.



Hình 3.12: Ảnh hưởng của các con đường mTOR và MAPKp38 đến sự trưởng thành và thực bào của tế bào DC ở người khỏe mạnh và bệnh nhân BCLC.

CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN

4.1. Ảnh hưởng của A20 đến hoạt động tế bào bạch cầu non ở bệnh bạch cầu cấp tính

Kết quả nghiên cứu cho thấy A20 có vai trò điều hòa trạng thái hoạt hóa của tế bào dòng tủy trong bệnh bạch cầu cấp tính thông qua làm giảm quần thể CD11b⁺CD40⁺. CD40 là phân tử đồng kích thích quan trọng tham gia hoạt hóa các con đường tín hiệu NF- κ B và MAPK, từ đó thúc đẩy đáp ứng viêm và miễn dịch. Việc giảm biểu hiện CD40 dưới tác động của A20 cho thấy gen này có khả năng hạn chế trạng thái hoạt hóa tiền viêm của tế bào dòng tủy. Điều này phù hợp với các nghiên cứu trước đây khi cho thấy giảm biểu hiện A20 dẫn đến hoạt hóa quá mức tế bào dòng tủy và tăng tiết cytokine viêm. Đáng chú ý, A20 chủ yếu tác động lên quần thể

dòng tủy mà không gây ảnh hưởng rõ rệt lên tế bào lympho T và B, gợi ý vai trò điều hòa miễn dịch chọn lọc của gen này trong bệnh bạch cầu cấp.

Bên cạnh đó, IL-6 được ghi nhận làm tăng hoạt hóa STAT1 và STAT3 đồng thời làm giảm biểu hiện A20 ở tế bào bạch cầu non. Sự tăng biểu hiện A20 có khả năng ức chế hoạt hóa STAT cảm ứng bởi IL-6, cho thấy A20 đóng vai trò điều hòa âm tính đối với trục tín hiệu IL-6/STAT. Tuy nhiên, mặc dù A20 ức chế hiệu quả tín hiệu STAT, gen này không thể đảo ngược hoàn toàn khả năng di chuyển của tế bào dưới tác động của IL-6 và CXCL12. Điều này cho thấy sự di chuyển của tế bào bạch cầu non không chỉ phụ thuộc vào STAT mà còn liên quan đến các con đường tín hiệu khác như CXCL12/CXCR4, PI3K/Akt và MAPK.

Ngoài ra, việc sử dụng Nifuroxazide, một chất ức chế STAT, làm giảm đáng kể quần thể CD11b⁺CD40⁺ và khả năng di chuyển của tế bào, khẳng định vai trò trung tâm của tín hiệu IL-6/STAT trong điều hòa hoạt hóa và di chuyển của tế bào bạch cầu non. Những kết quả này cho thấy A20 góp phần kiểm soát môi trường viêm và hoạt động của tế bào bạch cầu non thông qua điều hòa tín hiệu IL-6/STAT, từ đó gợi mở tiềm năng ứng dụng A20 như một mục tiêu điều hòa miễn dịch trong bệnh bạch cầu cấp tính.

4.2. Vai trò của gen tín hiệu điều hòa tế bào tua ở bệnh nhân bạch cầu lympho cấp tính khi tiếp xúc với Doxorubicin và Malloapelta C

Kết quả nghiên cứu cho thấy Mal C và Dox điều hòa chức năng tế bào tua (DC) thông qua các cơ chế tín hiệu khác nhau. Mal C chủ yếu hoạt hóa các con đường mTOR và MAPKp38, trong khi Dox ưu tiên kích hoạt tín hiệu Wnt, phản ánh hai cơ chế điều hòa miễn dịch và gây độc tế bào khác biệt.

Mal C làm tăng biểu hiện mTOR và MAPKp38, phù hợp với vai trò của các con đường này trong thúc đẩy trưởng thành, trình diện kháng nguyên và hoạt hóa miễn dịch của DC. Sự hoạt hóa này đi kèm với tăng biểu hiện CD40/CD86 và tăng khả năng thực bào mà không gây độc tế bào

rõ rệt, cho thấy Mal C hoạt động chủ yếu như một chất điều hòa miễn dịch hơn là tác nhân gây độc tế bào trực tiếp. Ngược lại, Dox làm tăng biểu hiện Wnt1/Wnt3, đồng thời gây tăng mạnh apoptosis và hoại tử tế bào DC. Điều này phù hợp với vai trò của tín hiệu Wnt/ β -catenin trong đáp ứng stress và điều hòa sự sống còn tế bào.

Mal C làm tăng đáng kể tỷ lệ DC trưởng thành CD40⁺CD86⁺ và quần thể DC CD123⁺CD11c⁺ có khả năng thực bào, đặc biệt ở bệnh nhân BCLC, cho thấy khả năng phục hồi chức năng miễn dịch của DC trong môi trường leukemia. Trái lại, Dox gây độc tính mạnh lên DC với sự gia tăng rõ rệt các tế bào Annexin V-PI⁺ và Annexin V-PI⁺, đồng thời làm suy giảm khả năng trưởng thành và thực bào của DC ở bệnh nhân BCLC. Điều này cho thấy mặc dù Dox có khả năng kích thích trưởng thành DC ở người khỏe mạnh, nhưng trong môi trường bệnh lý của BCLC, tác động gây độc tế bào lại chiếm ưu thế.

Việc sử dụng chất ức chế Wnt C59 làm giảm rõ rệt apoptosis và sự trưởng thành DC cảm ứng bởi Dox, chứng minh tín hiệu Wnt đóng vai trò trung tâm trong cả hai quá trình này. Đồng thời, các chất ức chế Everolimus và SB203580 làm suy giảm đáng kể khả năng thực bào và trưởng thành DC do Mal C cảm ứng, xác nhận vai trò then chốt của mTOR và MAPKp38 trong điều hòa chức năng DC.

Tổng hợp lại, kết quả nghiên cứu cho thấy Mal C thúc đẩy trưởng thành và hoạt hóa chức năng DC thông qua tín hiệu mTOR/MAPKp38 mà không gây độc tính mạnh, trong khi Dox chủ yếu kích hoạt tín hiệu Wnt dẫn đến apoptosis và suy giảm chức năng DC ở bệnh nhân BCLC. Những phát hiện này gợi ý tiềm năng ứng dụng Mal C như một chất điều hòa miễn dịch nhằm phục hồi chức năng DC và tăng cường đáp ứng miễn dịch chống khối u trong bệnh bạch cầu lympho cấp tính

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

1. Đã xác định được đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng, biểu hiện các gen liên quan đến viêm và kiểu hình miễn dịch ở bệnh nhân bạch cầu cấp tính.

a) Đã xác định được đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân bạch cầu cấp tính. Về lâm sàng, đa số bệnh nhân BCTC và BCLC đều biểu hiện rõ các hội chứng suy tủy điển hình (thiếu máu, xuất huyết, nhiễm trùng), trong đó BCTC nổi bật với thâm nhiễm ngoài tủy (phì đại nước, tổn thương da), còn BCLC ưu thế với hội chứng thâm nhiễm hệ lympho (hạch to, gan lách to và đau nhức xương). Ở BCTC, số lượng tế bào bạch cầu, tế bào lympho tăng cao ở nhóm tiên lượng trung bình. Bên cạnh đó, nồng độ IL-6, TNF- α , tỷ lệ tế bào NK, Treg và CD13+CD117+ đều tăng cao, trong khi TGF- β giảm so với người khỏe mạnh. Ở BCLC, nhóm tiên lượng xấu ghi nhận LDH, số lượng bạch cầu và lympho cao hơn nhóm tiên lượng trung bình. Đồng thời, nồng độ IL-6, TNF- α , IL-35, cùng tỷ lệ tế bào NK và Treg tăng cao, trong khi nồng độ TGF- β giảm so với nhóm đối chứng khỏe mạnh.

b) Đã xác định được biểu hiện của các gen mã hóa enzyme deubiquitinase, đặc biệt là A20, liên quan chặt chẽ đến sự điều hòa vi môi trường viêm và kiểu hình miễn dịch, trong khi CYLD cũng giảm biểu hiện ở bệnh nhân bạch cầu cấp nhưng chưa ghi nhận mối liên hệ xác định với các chỉ số huyết học hay nồng độ cytokine. Điều này cho thấy A20 và CYLD có vai trò điều hòa khác nhau ở bệnh nhân bạch cầu cấp.

c) Bệnh nhân BCTC có biểu hiện A20 thấp có số lượng tế bào dòng lympho thấp bao gồm tế bào lympho tổng số, tế bào CD3+, CD8+, CD10+, CD19+, CD20+ và CD79a+ và số lượng các tế bào dòng tủy như: tế bào MPO+, CD33+ và CD13+CD117+ tăng đột biến cao so với bệnh nhân có biểu hiện A20 cao.

2. Đã xác định được vai trò điều hòa của A20, CYLD và một số tín hiệu nội

bào liên quan đến chức năng của tế bào non và tế bào tua ở bệnh nhân bạch cầu cấp tính.

a) Xác định được vai trò của A20 điều hòa hoạt hóa của tế bào dòng tủy và tế bào non bạch cầu cấp tính thông qua ức chế tín hiệu STAT1/STAT3 phụ thuộc IL-6, làm giảm quần thể CD11b⁺CD40⁺ và hạn chế sự di chuyển của tế bào non, góp phần kiểm soát quá trình hoạt hóa miễn dịch.

b) Đã xác định được vai trò của các con đường tín hiệu mTOR và MAPK/p38 trong điều hòa chức năng của tế bào tua ở bệnh nhân bạch cầu cấp tính; sự hoạt hóa các con đường này dưới tác động của Malloapelta C làm tăng quá trình trưởng thành và thực bào của tế bào tua mà không ảnh hưởng đến khả năng sống sót của tế bào.

KIẾN NGHỊ

1. Tăng cường cỡ mẫu trong các nghiên cứu tiếp theo để đảm bảo đại diện đầy đủ cho các phân nhóm bệnh (theo tuổi, giới, giai đoạn bệnh...), từ đó nâng cao độ chính xác và độ tin cậy của nghiên cứu cũng như khả năng khái quát hóa kết quả nghiên cứu;
2. Nghiên cứu tiếp theo về ảnh hưởng của gen mã hóa enzyme deubiquitinase đến chức năng của các loại tế bào miễn dịch khác trên bệnh nhân bạch cầu cấp tính.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Đã xác định được vai trò của gen A20 ảnh hưởng đến chức năng của tế bào non trên bệnh nhân bạch cầu cấp.
2. Đã xác định được vai trò một số tín hiệu bao gồm: mTOR, MAPKp38 và Wnt đến hoạt động của tế bào tua ở bệnh nhân bạch cầu cấp khi tiếp xúc với hoạt chất Malloapelta C và Doxorubicin.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ ĐÃ CÔNG BỐ

1. Le Thuy Ha, **Nguyen Hoang Giang**, Nguyen Linh Toan, Nguyen Van Giang, Can Van Mao, Nguyen Quoc Nhat, Tran Dang Quan, Nguyen Huy Hoang, Ngo Thu Hang, Nguyen Thi Xuan., 2025. Cross-Sectional Study: Associations of A20 and Cezanne with Leukocyte Accumulation in B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Medicina (Kaunas)*, 61(7):1166. doi: 10.3390/medicina61071166. PMID: 40731796; PMCID: PMC12299410.
2. **Hoang Giang Nguyen**, Xuan Nghia Vu, Thi Trang Do and Thi Xuan Nguyen., 2026. Expression of immunophenotype, inflammatory response and chromosomal abnormality in Acute Lymphoid Leukemia. *Vietnam Journal of Biotechnology*, 24(1), 13–27. doi: <https://doi.org/10.15625/vjbt-24015>
3. **Hoang Giang Nguyen**, Xuan Nghia Vu, Hong Hanh Ha and Thi Xuan Nguyen., 2026. Expression of several inflammation-related genes, immunophenotype and chromosome abnormalities in Acute Myeloid Leukemia. *Vietnam Journal of Biotechnology*, , 24(2),147-160 doi: <https://doi.org/10.15625/vjbt-23474>