

Nghiên cứu tạo mô hình organoid ung thư đại trực tràng: kết quả và ứng dụng trong y học cá thể hóa

Nguyễn Hữu Thịnh^{1,2}, Trần Đức Huy^{1,2,*}, Đỗ Thị Thanh Tâm³, Trương Minh Dũng⁴, Jongman Yoo³

¹Khoa Ngoại tiêu hóa, Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Trường Y – Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Revolutionary Organoid Technology, VOS DISCOVERY, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

⁴Trung tâm Công nghệ Sinh học, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Tóm tắt

Mục tiêu: Nghiên cứu nhằm xây dựng mô hình organoid ung thư đại trực tràng (patient-derived organoids - PDO) từ mô bệnh nhân tại Việt Nam và đánh giá đặc điểm mô học, khả năng nuôi cấy, cũng như tiềm năng ứng dụng của các PDO này trong nghiên cứu y học cá thể hóa và sàng lọc điều trị.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Các mẫu mô ung thư đại trực tràng được thu thập, sau đó xử lý bằng enzyme và nuôi cấy trong môi trường 3D chuyên biệt. Quy trình tối ưu hóa thời gian tiêu hóa mô, mật độ gieo cấy và điều kiện nuôi cấy để tạo thành PDO. Các đặc điểm mô học của organoid và mô gốc được so sánh thông qua nhuộm H&E.

Kết quả: Tổng cộng 103 mẫu mô được xử lý, tạo thành 35 dòng PDO với tỷ lệ thành công 33,98%. Các PDO tái hiện tốt các đặc điểm mô học của ung thư đại trực tràng, bao gồm các dạng hình thái đặc, nang và hỗn hợp. Quy trình tiêu hóa mô trong 60 phút và mật độ gieo 1 × 10⁵ tế bào/giếng được xác định là tối ưu. Ngân hàng PDO ung thư đại trực tràng đầu tiên tại Việt Nam đã được thiết lập thành công.

Kết luận: Mô hình PDO ung thư đại trực tràng tái tạo chính xác cấu trúc và đặc tính mô học của khối u gốc, mở ra tiềm năng ứng dụng trong nghiên cứu sinh học ung thư, thử nghiệm thuốc và cá thể hóa điều trị. Ngân hàng PDO này là bước tiến quan trọng trong việc triển khai y học chính xác tại Việt Nam.

Từ khóa: organoid; ung thư đại trực tràng; ngân hàng sinh học; y học chính xác

Abstract

DEVELOPMENT OF COLORECTAL CANCER ORGANOID MODELS: RESULTS AND APPLICATIONS IN PERSONALIZED MEDICINE

Nguyen Huu Thinh, Tran Duc Huy, Do Thi Thanh Tam, Truong Minh Dung, Jongman Yoo

Objectives: This study aimed to establish patient-derived organoid (PDO) models of colorectal cancer (CRC) from Vietnamese patient samples, to evaluate their histological characteristics and culturing capabilities, as well as to explore

Ngày nhận bài: 21-07-2025 / Ngày chấp nhận đăng bài: 25-08-2025 / Ngày đăng bài: 29-08-2025

*Tác giả liên hệ: Trần Đức Huy. Khoa Ngoại tiêu hóa, Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam. E-mail: huy.td@umc.edu.vn

© 2025 Bản quyền thuộc về Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh.

the potential applications of PDOs in cancer biology research and personalized therapy screening.

Methods: Colorectal cancer tissue samples were collected and processed using enzymatic digestion, then cultured in a specialized 3D environment. The protocol was optimized for digestion time, seeding density, and culture conditions to successfully establish PDOs. Histological features of organoids and original tumor tissues were compared using hematoxylin and eosin (H&E) staining.

Results: A total of 103 tumor samples were processed, resulting in the successful establishment of 35 PDO lines, with a success rate of 33.98%. The PDOs accurately reproduced the histological characteristics of primary colorectal cancer, including solid, cystic, and mixed morphological forms. A 60-minute digestion time and a seeding density of 1×10^5 cells per well were identified as optimal conditions. Vietnam's first living PDO biobank for colorectal cancer was successfully established.

Conclusions: The colorectal cancer PDO models accurately recapitulate the structure and histological features of the original tumors, offering great potential for cancer biology studies, drug testing, and personalized treatment strategies. This PDO biobank represents an important step in advancing precision medicine in Vietnam.

Keywords: organoid; colorectal cancer; biobank; precision medicine

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư là một gánh nặng y tế công cộng nghiêm trọng tại Việt Nam, với các loại ung thư phổ biến nhất bao gồm ung thư gan, phổi, đại trực tràng, vú và thận [1,2]. Mặc dù tỷ lệ mắc ung thư đại trực tràng trong nước ngày càng gia tăng – đáng chú ý là ở nhóm bệnh nhân trẻ tuổi – song dữ liệu về các yếu tố di truyền và sinh học liên quan đến bệnh lý này vẫn còn rất hạn chế, chủ yếu do thiếu năng lực nghiên cứu chuyên sâu [2].

Trong bối cảnh đó, công nghệ organoid – tức các mô hình khối u ba chiều được nuôi cấy từ chính tế bào ung thư của bệnh nhân – đã nổi lên như một công cụ nghiên cứu lý tưởng nhằm tìm hiểu tính không đồng nhất của khối u cũng như đánh giá khả năng đáp ứng điều trị [3,4]. Về bản chất, organoid là những cụm tế bào có khả năng sinh trưởng trong môi trường nuôi cấy ba chiều, đồng thời vẫn duy trì các đặc trưng mô học và thông tin di truyền của mô khối u ban đầu. Việc sử dụng organoid cho phép mô phỏng một cách chính xác quá trình tiến triển của khối u, qua đó hỗ trợ sàng lọc thuốc và tối ưu hóa các phác đồ điều trị theo hướng cá thể hóa [5,6].

Những tiến bộ khoa học gần đây đã củng cố vai trò của mô hình organoid trong nghiên cứu ung thư. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng organoid từ ung thư đại trực tràng có thể tái hiện một cách đáng tin cậy đáp ứng lâm sàng của khối u đối với các phác đồ hóa-xạ trị, đặc biệt là ở các

trường hợp ung thư trực tràng tiến triển tại chỗ (LARC) [7,8]. Song song đó, nhiều quốc gia trên thế giới đã thiết lập các ngân hàng organoid ung thư nhằm lưu trữ và khai thác hiệu quả nguồn tài nguyên sinh học từ bệnh nhân, qua đó thúc đẩy nghiên cứu tiền lâm sàng và hỗ trợ phát triển thuốc mới [3].

Tại Việt Nam, lĩnh vực organoid ung thư vẫn còn rất mới mẻ; tuy nhiên, những bước đi đầu tiên theo định hướng y học chính xác đang dần được triển khai. Việc hình thành ngân hàng organoid sống được xem là một bước tiến chiến lược quan trọng nhằm thu hẹp khoảng cách giữa nghiên cứu cơ bản và ứng dụng lâm sàng.

Nghiên cứu này tập trung vào việc xây dựng ngân hàng organoid ung thư trực tràng đầu tiên tại Việt Nam. Cụ thể, các mẫu mô khối u trực tràng từ bệnh nhân được thu thập, xử lý và nuôi cấy trong môi trường ba chiều để tạo ra các organoid. Tính phù hợp của mô hình được xác nhận bằng so sánh đặc điểm mô học giữa organoid và mẫu mô gốc.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Các trường hợp ung thư đại trực tràng được chẩn đoán xác định bằng mô bệnh học và được phẫu thuật cắt u. Nghiên cứu được tiến hành tại bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố

Hồ Chí Minh (TP.HCM) kết hợp với phòng thí nghiệm VOS Discovery từ tháng 08/2023 đến tháng 05/2025.

2.1.1. Tiêu chuẩn chọn

Bệnh nhân có kết quả giải phẫu bệnh là ung thư biểu mô tuyến (carcinôm tuyến) từ đại tràng. Bệnh nhân được phẫu thuật cắt đoạn đại trực tràng mang u.

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

Người bệnh có biểu hiện nghi ngờ nhiễm trùng cấp tính trên lâm sàng hoặc cận lâm sàng (sốt, đau bụng liên tục, bạch cầu tăng cao).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả loạt ca.

2.2.2. Cơ mẫu

Nghiên cứu thực hiện lấy mẫu liên tục thuận tiện thỏa tiêu chuẩn chọn vào và tiêu chuẩn loại trừ nhằm đánh giá khả năng xây dựng mô hình mô hình organoid ung thư đại trực tràng, dự kiến 100 trường hợp.

2.2.3. Phương pháp nghiên cứu

Xử lý mô

Mô ung thư đại trực tràng được lựa chọn ngẫu nhiên (mỗi lần 1–2 mẫu), trong đó một phần được cố định trong dung dịch formalin để phục vụ đánh giá mô bệnh học. Phần mô còn lại được cắt thành các mảnh kích thước khoảng 2–4mm³; một nửa số mảnh này được làm lạnh nhanh và bảo quản ở -80°C cho bước chiết xuất DNA sau này, trong khi nửa còn lại được ủ trong dung dịch organoidEZ Dissociation Buffer I (OrganoidSciences) trong 60 phút. Hỗn hợp tế bào thu được sau đó được lọc qua rây 100 µm để tách tế bào khỏi u, rồi ly tâm thu cạn. Cặn tế bào sau ly tâm được xử lý với dung dịch ly giải hồng cầu 1× (Invitrogen) và ly tâm lần hai để loại bỏ tạp nhiễm, thu về tế bào khối u đã tinh sạch. Cuối cùng, tế bào này được trộn đồng nhất với Matrigel và ương trong môi trường organoidEZ CRC (OrganoidSciences) chuyên biệt cho organoid đại trực tràng.

Thời gian phân rã mẫu mô phụ thuộc vào vài biến số, chẳng hạn như thời gian từ việc tách mô đến giai đoạn phân rã, kích thước và độ đồng nhất của mô, cũng như chất lượng và hoạt tính của hóa chất. Việc lưu trữ mô lâu trước khi xử

lý hoặc sử dụng enzyme sẽ giảm thời gian phân rã, trong khi mô rắn, chắc chắn hoặc hóa chất cũ sẽ làm tăng thời gian phân rã. Chúng tôi đã sử dụng lượng organoidEZ Dissociation Buffer I phù hợp với khối lượng mô theo hướng dẫn của nhà sản xuất và tiến hành phân rã với mốc thời gian 45 phút [9]. Các nghiên cứu về việc tạo CRC organoid từ mô bệnh cũng tiến hành thử nghiệm trên mốc thời gian phân rã 45 phút. Tuy nhiên, tùy theo tính chất của mô và loại hóa chất mà từng phòng thí nghiệm có thể điều chỉnh thời gian phân rã mô. Chúng tôi đã theo dõi cẩn thận quá trình phân rã dưới kính hiển vi, đánh giá kích thước của các cụm tế bào được phân rã từ khối u để xác định khi nào thì nên dừng lại. Việc phân rã quá mức có thể làm hư hại tế bào và giảm sản lượng của organoid, vì vậy rất quan trọng để tránh xử lý quá nhiều [10]. Do đó, Enzyme organoidEZ Dissociation Buffer I được ủ ở 37°C trên máy lắc với các khoảng thời gian thử nghiệm 45, 60 và 90 phút để xác định điều kiện tiêu hóa tối ưu.

Nuôi cấy organoid

Môi trường nuôi cấy organoid được thay mới ba lần mỗi tuần nhằm duy trì nồng độ dưỡng chất và các yếu tố tăng trưởng cần thiết cho sự sinh trưởng ổn định. Các organoid có nguồn gốc từ bệnh nhân ung thư đại trực tràng (patient-derived organoids, PDOs) được tách chuyển định kỳ mỗi 7–14 ngày để bảo đảm tính ổn định về đặc tính di truyền và sinh học của dòng tế bào. Trong quy trình tách chuyển, organoid được xử lý với TrypLE™ Express (Gibco) trong 5 phút để phân giải thành tế bào đơn, sau đó các tế bào này được gieo cấy lại với mật độ khoảng 1×10^5 tế bào mỗi giếng nhằm khôi phục và duy trì mô hình ba chiều trong điều kiện nuôi cấy.

Đảm bảo khả năng sống của tế bào trong quá trình chuẩn bị và gieo cấy tế bào là rất quan trọng để hình thành organoid thành công. Để tạo ra các cơ quan organoid ung thư đại trực tràng (CRC), mật độ 5×10^5 tế bào trong 500 µl chất nền ngoại bào (Extracellular Matrix – ECM) được khuyến nghị [11]. Mật độ này cho phép có đủ tương tác giữa các tế bào và sự sẵn có của yếu tố tăng trưởng bên trong ma trận Matrigel. Do đó, chúng tôi tiến hành thử nghiệm hai mật độ tế bào 5×10^4 và 10^5 trong 20 µl ECM.

Mô bệnh học

Mẫu mô khối u đại trực tràng nguyên phát và các organoid sau nuôi cấy được cố định trong dung dịch formaldehyde 4% (Fisher) rồi đúc vùi trong paraffin (Leica Biosystems). Khối

paraffin sau khi đông được cắt thành những lát mỏng, sau đó khử paraffin và tái ngâm nước theo quy trình chuẩn. Cuối cùng, các lát mô được nhuộm haematoxylin và eosin (H&E; Leica Biosystems) để đánh giá chi tiết các đặc điểm mô bệnh học của cả mô khối u nguyên phát và mô hình organoid tương ứng.

2.2.4. Biến số nghiên cứu

Các biến số được thu thập bao gồm đặc điểm nhân khẩu học (tuổi, giới), đặc điểm bệnh học (chẩn đoán mô bệnh học, mức độ biệt hóa, giai đoạn xâm lấn), cũng như các thông số kỹ thuật trong quá trình xử lý và nuôi cấy mẫu mô. Tuổi bệnh nhân được phân nhóm dưới 40 tuổi (ung thư khởi phát sớm) và từ 40 tuổi trở lên. Về xử lý mô, các điều kiện tiêu hóa enzyme (45, 60 và 90 phút) và mật độ gieo tế bào (5×10^4 và 1×10^5 tế bào/giếng) được xem xét như các biến số đầu vào. Các biến số kết quả bao gồm tỷ lệ sống sót của tế bào sau xử lý, khả năng hình thành organoid, hình thái học của organoid (dạng đặc, dạng nang, dạng hỗn hợp) và sự tương đồng mô học giữa organoid với mô khối u gốc qua nhuộm H&E. Ngoài ra, nghiên cứu còn ghi nhận số thể hệ organoid duy trì trước khi bảo quản đông và tỷ lệ thành công tạo mô hình organoid (PDO).

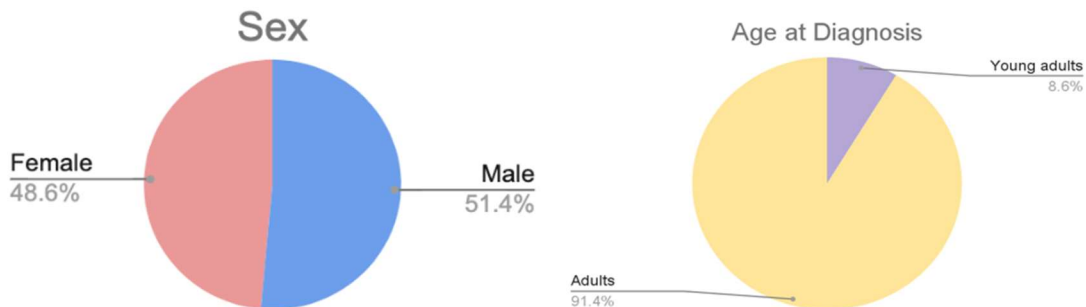
2.2.5. Xử lý và phân tích dữ liệu

Dữ liệu được nhập và quản lý bằng phần mềm SPSS. Các biến định tính (giới, nhóm tuổi, đặc điểm mô học, hình thái organoid) được trình bày dưới dạng tần số và tỷ lệ phần trăm. Các biến định lượng (tuổi trung bình, thời gian tiêu hóa enzyme, mật độ gieo cấy tế bào) được biểu diễn bằng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn hoặc trung vị (khoảng tứ phân vị), tùy theo phân phối dữ liệu. So sánh tỷ lệ thành công tạo organoid giữa các nhóm điều kiện nuôi cấy (thời gian tiêu hóa khác nhau, mật độ gieo khác nhau) được thực hiện bằng kiểm định Chi-square hoặc Fisher's exact test khi thích hợp. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ

3.1. Thu thập mẫu

Một trăm linh ba mẫu mô ung thư đại trực tràng nguyên phát được thu thập từ 106 bệnh nhân điều trị tại bệnh viện Đại học Y Dược TP.HCM và ngay lập tức chuyển từ Khoa Tiêu hóa đến phòng thí nghiệm VOS Discovery để tách chiết và khởi tạo organoid. Hình 1 cho thấy nhóm nghiên cứu gồm 51,4% nam và 48,6% nữ; phân tích độ tuổi chẩn đoán cho thấy 91,4% ($n = 97$) bệnh nhân được xác định ở nhóm tuổi trưởng thành, trong khi chỉ 8,6% ($n = 9$) thuộc nhóm ung thư khởi phát sớm.



Hình 1. Đặc điểm nhân khẩu học của các bệnh nhân trong nghiên cứu. Người trẻ: từ 18 đến 39 tuổi và người lớn: từ 40 tuổi trở lên

3.2. Xử lý mẫu

Organoid bệnh nhân được hình thành từ mô tươi của bệnh nhân, trong đó mô được cắt nhỏ và tế bào tách chiết bằng kết hợp tiêu hóa enzyme và xử lý cơ học. Việc bổ sung chất ức chế ROCK Y-27632 trong quá trình phân tách giúp ngăn chặn chết rụng (anoikis) và nâng cao tỷ lệ sống sót của tế bào đơn. Enzyme organoiEZ Dissociation Buffer I được ủ ở 37°C trên máy lắc với các khoảng thời gian thử nghiệm 45,

60 và 90 phút để xác định điều kiện tiêu hóa tối ưu. Sau 45 phút, nhiều mảnh mô vẫn không phân rã hoàn toàn (Hình 2A); ở 60 phút, mô phân tách hiệu quả thành tế bào đơn và cụm nhỏ; ở 90 phút, mặc dù phân tách triệt để, số lượng tế bào chết tăng lên đáng kể. Mặc dù cả ba điều kiện đều cho phép hình thành organoid sau một ngày nuôi cấy (Hình 2B), điều kiện 90 phút còn phát sinh nhu cầu thay môi trường vào ngày thứ tư để loại bỏ tế bào chết. Kết quả này cho thấy tiêu

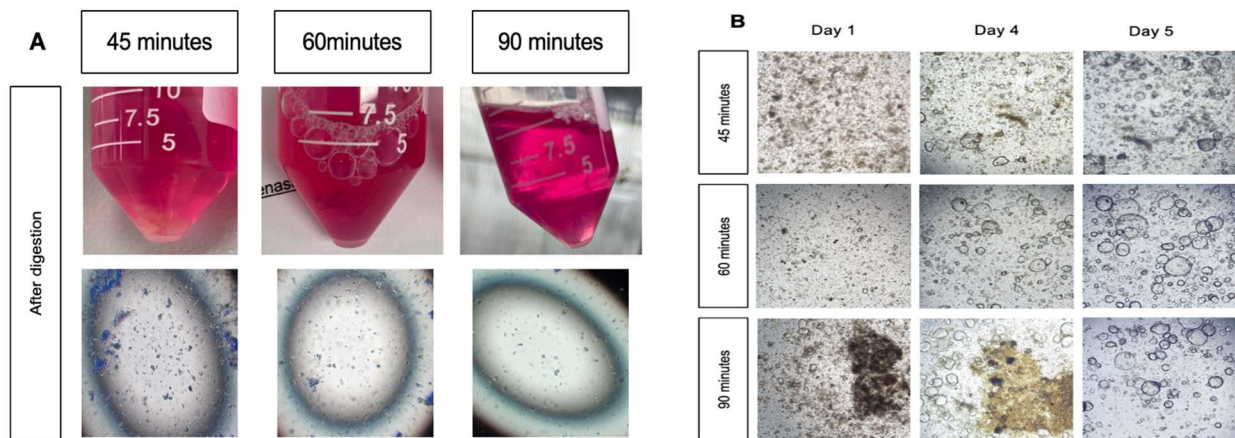
hóa enzyme trong 60 phút là điều kiện tối ưu, vừa đảm bảo hiệu quả tách mô, vừa duy trì sức sống tế bào cao.

3.3. Nuôi cấy organoid

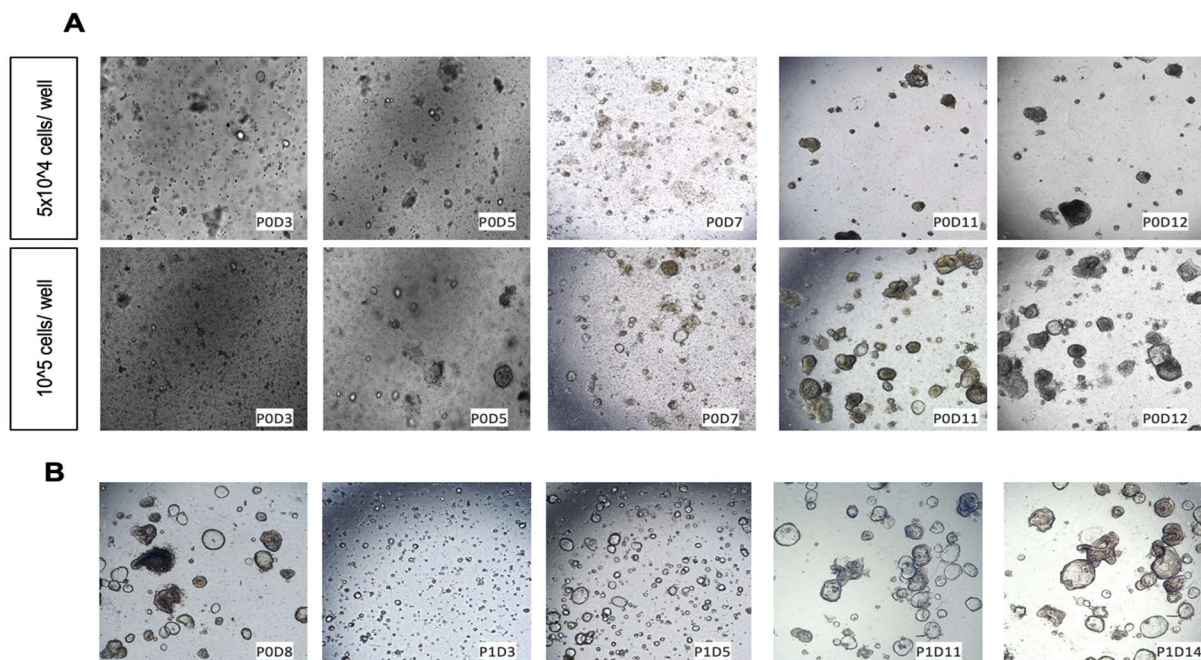
Mô khối u được nhúng trong ma trận Matrigel và nuôi cấy trong môi trường organoid chuyên biệt tối đa hai tuần mà không tiến hành tách chuyển. Hai mật độ gieo tế bào 5×10^4 và 1×10^5 tế bào/giếng đã được thử nghiệm để tối ưu vi môi trường (pH, oxy, dinh dưỡng); kết quả cho thấy mật độ 1×10^5 tế bào/giếng tạo ra số lượng organoid cao hơn (Hình 3A). Sau 7–14 ngày, các organoid kích thước lớn bắt đầu phân mảnh và

được tách chuyển theo tốc độ phát triển; sau khi cấy lại, sự tăng trưởng rõ rệt được ghi nhận từ ngày thứ ba (Hình 3B). Các dòng organoid được duy trì qua 3–8 thế hệ trước khi được bảo quản đông ở giai đoạn tăng trưởng sớm nhằm nâng cao khả năng hồi phục sau rã đông.

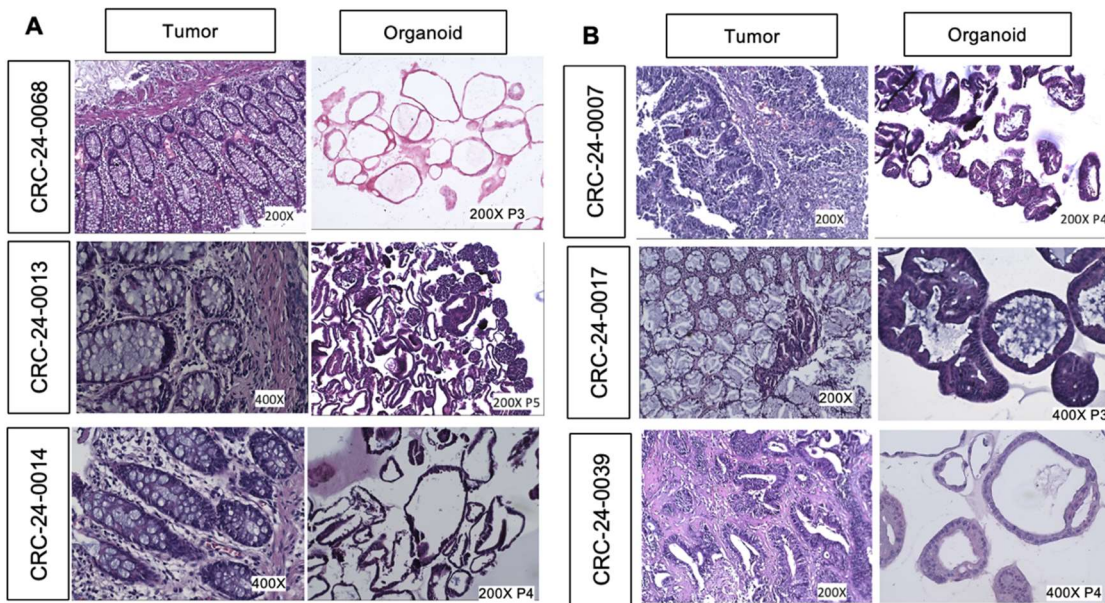
Trên cơ sở quy trình này, một ngân hàng sống PDO ung thư đại trực tràng đã được thiết lập thành công với 35 dòng PDO, đạt tỷ lệ thành công 33,98%. Các dòng này thể hiện sự đa dạng hình thái đáng kể, minh họa tính không đồng nhất sinh học của khối u CRC.



Hình 2. A. Kích thước các mảnh mô, hình thái kết tụ và số lượng tế bào tại các thời điểm khác nhau trong quá trình phân rã mô; **B.** Sự hình thành organoid từ tế bào và cụm tế bào được thu nhận tại các thời điểm khác nhau



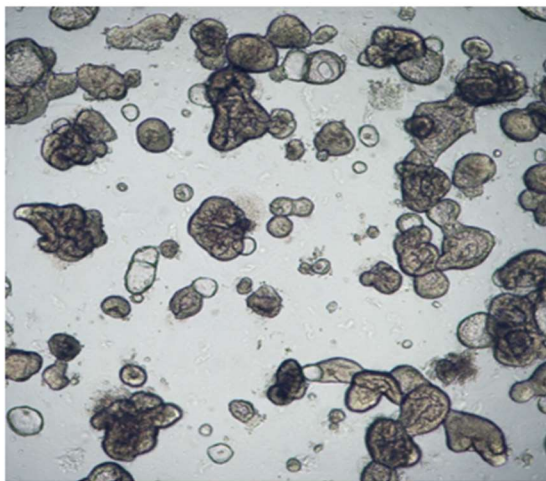
Hình 3. A. Thay đổi hình thái của organoid ba chiều dưới hai điều kiện mật độ tế bào khác nhau được quan sát bằng kính hiển vi tương phản pha vào các ngày 3, 5, 7, 11 và 12. **B.** Các organoid khối u hình thành trong vòng 3 ngày sau khi tách chuyển và có thể được tách chuyển khoảng mỗi 10–14 ngày



Hình 4. A. Nhuộm H&E các mô khối u gốc có loạn sản mức thấp (A) và cao (B) và các organoid được tạo ra từ các mô tương ứng

3.4. Mô bệnh học

Phân tích mô bệnh học toàn diện, bao gồm nhuộm H&E, trên cả mẫu khối u nguyên phát và organoid nuôi cấy ex vivo nhằm khẳng định sự hiện diện của tế bào ung thư và bảo toàn các đặc tính mô học điển hình của khối u. Kết quả Hình 4 cho thấy organoid tái hiện đầy đủ phổ biến hiện mô học của ung thư đại trực tràng, từ loạn sản mức thấp, loạn sản mức cao đến ung thư biểu mô xâm lấn.



Hình 5. Sự đa dạng hình thái trong các organoid ba chiều

Quá trình hình thành và phát triển organoid được theo dõi liên tục trong 12 ngày, cho thấy các cấu trúc ba chiều rõ rệt dần sinh trưởng, dù đường kính không tăng đều do quá trình tái tổ chức nội bào. Dựa trên hình thái, PDOs được phân thành ba

nhóm: dạng đặc (solid), gồm các khối tế bào đồng nhất không có khoang trung tâm; dạng nang (cystic), với khoang lõi bao quanh bởi một lớp biểu mô mỏng; và dạng hỗn hợp (mixed), kết hợp đồng thời đặc tính của cả hai hình thái hoặc thể hiện cấu trúc không đồng nhất (Hình 5).

4. BÀN LUẬN

Kết quả nghiên cứu chứng minh mô hình organoid bệnh nhân (PDO) tái hiện một cách trung thực cấu trúc ba chiều và các đặc trưng vi kiến trúc của khối u trực tràng nguyên phát. Cụ thể, các PDO duy trì hình thái tuyến mật độ cao, sự phân bố biểu mô dạng ống với các nhánh kết nối, đồng thời thể hiện rõ các dấu hiệu phân hóa như nhân lệch tâm [12-14], tăng tỷ lệ nguyên phân và sự xâm nhập quanh mô nền giống mẫu gốc [15-17]. Hơn nữa, ba kiểu hình thái chính (solid, cystic và mixed) tương ứng với mức độ biệt hóa và giai đoạn khối u ban đầu cũng xuất hiện đồng nhất trong mô hình organoid. Những kết quả này khẳng định rằng PDO không chỉ bảo tồn các dấu ấn mô học kinh điển của ung thư trực tràng mà còn có khả năng làm mẫu thay thế tin cậy cho nghiên cứu cơ chế bệnh sinh và thử nghiệm đáp ứng điều trị ex vivo [18].

Phân bố giới tính cân bằng (51,4% nam, 48,6% nữ) và tỷ lệ 8,6% bệnh nhân khởi phát sớm (<50 tuổi) phản ánh đặc điểm dịch tễ của CRC tại TP.HCM [19], đồng thời khẳng định quy trình thu – chuyển mẫu nhanh chóng đã bảo toàn chất lượng

mô cho nuôi cấy organoid. Mặc dù quy mô nhóm khởi phát sớm còn hạn chế, dữ liệu này vẫn tạo tiền đề quan trọng để mở rộng nghiên cứu về đa hình di truyền và đáp ứng điều trị của ung thư đại trực tràng ở Việt Nam. So với các nghiên cứu trước đây ở châu Âu và Mỹ [8] - ghi nhận tỉ lệ bệnh nhân CRC khởi phát sớm khoảng 7–10% và phân bố giới tính gần ngang bằng - tập hợp mẫu của chúng tôi (8,6% khởi phát sớm; 51,4% nam) cho thấy sự tương đồng chặt chẽ về dịch tễ. Tỷ lệ này cũng khớp với báo cáo của Ooft SN về nhóm bệnh nhân ung thư trực tràng tại chỗ tiến triển [7].

Thời gian tiêu hóa enzyme 60 phút cùng với việc bổ sung chất ức chế ROCK Y-27632 vượt trội so với điều kiện 45 và 90 phút, tương tự kết quả mà Sato và cộng sự báo cáo khi thiết lập organoid ruột non, trong đó khoảng 1 giờ tiêu hóa đạt tỷ lệ tế bào đơn cao nhất mà vẫn duy trì khả năng sống sót tốt. Việc trải qua tiêu hóa quá ngắn làm hạn chế hiệu quả tách chiết, còn tiêu hóa kéo dài như trường hợp 90 phút, cũng giống báo cáo của Vlachogiannis G về organoid ung thư đại tràng, dẫn đến gia tăng tế bào chết và cần phải thay môi trường sớm để loại bỏ mảnh vụn tế bào [8]. Bổ sung Y-27632 không chỉ giúp ngăn ngừa anoikis mà còn khớp với các nghiên cứu trước trong nuôi cấy tế bào gốc đa năng, cho thấy vai trò thiết yếu của ROCK inhibitor trong việc nâng cao tỷ lệ thành công khi khởi tạo PDO. Kết hợp các kinh nghiệm từ tài liệu và dữ liệu thực nghiệm của nghiên cứu, quy trình tiêu hóa 60 phút được chứng minh là cân bằng tối ưu giữa hiệu suất tách chiết và khả năng sống sót của tế bào, đặt nền móng vững chắc cho việc thiết lập ngân hàng PDO ung thư đại trực tràng với tính tái lập cao.

Kết quả cho thấy mật độ gieo 1×10^5 tế bào/giếng vượt trội so với 5×10^4 , tương tự quan sát của Sato T về việc tối ưu hóa mật độ ban đầu để tạo organoid ruột, khi tỷ lệ hình thành và số lượng cấu trúc ba chiều tăng rõ rệt [4]. Quá trình phân mảnh tự phát sau 7 - 14 ngày và nhu cầu tách chuyển kịp thời phù hợp với khuyến cáo của Vlachogiannis G [8], nhằm tránh stress dinh dưỡng và duy trì tốc độ sinh trưởng ổn định. Việc nuôi cấy qua 3–8 thế hệ trước khi bảo quản đông ở giai đoạn tăng trưởng sớm đã chứng minh hiệu quả cao trong việc nâng cao khả năng hồi phục sau rã đông, như Fatehullah A đã ghi nhận trên mô hình khác [5]. Tỷ lệ thành công 33,98% khi thiết lập ngân hàng 35 dòng PDO tương đồng với phạm vi 30 - 40% được báo cáo trong nhiều nghiên cứu về CRC organoid [7], đồng thời sự đa dạng hình thái quan sát được nhấn mạnh tính không đồng nhất sinh học của khối u, như van de Wetering M đã minh chứng [6]. Những điểm tương đồng này khẳng định

quy trình nuôi cấy và bảo quản hiện tại là nền tảng vững chắc để phát triển ngân hàng sống PDO CRC với tính tái lập và ứng dụng cao.

Sự xuất hiện đồng thời ba hình thái trong 12 ngày nuôi cấy phản ánh tính không đồng nhất sinh học vốn có của khối u đại trực tràng và tương đồng với những báo cáo trước đây về PDO CRC [6,8]. Biến đổi không đều về đường kính organoid không chỉ cho thấy quá trình tái tổ chức tế bào bên trong mà còn minh chứng cho khả năng thích nghi với tín hiệu vi môi trường ba chiều, tương tự như mô hình in vivo. Dạng đặc thường liên quan đến khối u biệt hóa thấp, trong khi dạng nang tương ứng với khối u biệt hóa cao hơn - điều đã được ghi nhận trong các nghiên cứu mô học [4]. Hình thái hỗn hợp, dù ít gặp hơn, lại thể hiện sự xen kẽ của các quần thể tế bào với trạng thái phân hóa khác nhau, cho thấy PDO có thể duy trì các phân nhóm đột biến và đặc tính sinh học riêng biệt. Do đó, phân loại hình thái không chỉ là chỉ số đánh giá ban đầu về tính trung thực của mô hình mà còn mở ra hướng nghiên cứu mối liên hệ giữa cấu trúc ba chiều và đáp ứng điều trị ở cấp độ cá thể.

Các mô hình tiền lâm sàng truyền thống như dòng tế bào ung thư hay động vật đã được sử dụng rộng rãi để thử nghiệm thuốc, nhưng chúng tồn tại nhiều hạn chế: không tái tạo được cấu trúc 3D, có biến đổi di truyền lớn, mất đi đặc tính sinh học ban đầu hoặc không phản ánh chính xác cơ chế bệnh sinh của người bệnh. Sự ra đời của mô hình organoid bắt nguồn từ bệnh nhân (PDO) khắc phục nhược điểm này khi bảo tồn đặc điểm mô bệnh học và dấu ấn sinh học, đồng thời mô phỏng đáp ứng thuốc của khối u tương ứng. Nhiều nghiên cứu cho thấy PDO có giá trị dự đoán, phản ánh sự khác biệt giữa các bệnh nhân trong đáp ứng với đơn trị hoặc phối hợp thuốc, mở ra tiềm năng ứng dụng PDO trong y học cá thể hóa và tối ưu hóa lựa chọn phác đồ điều trị.

Kết quả nghiên cứu chứng minh mô hình PDO có khả năng tái tạo chính xác mô học của ung thư trực tràng. Việc phát hiện các đột biến trùng lặp giữa mô gốc và PDO cho thấy tính ứng dụng cao trong sàng lọc thuốc và phát triển dấu ấn sinh học [8]. So với các mô hình động vật, PDO có ưu thế về thời gian, chi phí và độ chính xác [7].

Hơn nữa, hệ thống nuôi cấy organoid cho phép thử nghiệm phản ứng thuốc theo thời gian thực với mô bệnh cụ thể. Một số nghiên cứu quốc tế đã chứng minh PDO có thể dự đoán đáp ứng với hóa trị hoặc liệu pháp nhắm trúng đích với độ chính xác >80% [6]. Việc phát triển ngân hàng PDO tại Việt Nam có

thể hỗ trợ bác sĩ lâm sàng lựa chọn phác đồ tối ưu cho từng bệnh nhân.

Các kết quả trên mở ra nhiều cơ hội cho nhiều hướng nghiên cứu sắp tới. Các dòng CRC PDO phản ánh tính đa dạng di truyền và dị biệt khối u giữa các bệnh nhân. Việc thử nghiệm một loạt các hợp chất hoặc phác đồ hóa trị liệu trên từng dòng PDO có thể giúp (1) xác định đáp ứng cá thể hóa của từng bệnh nhân với thuốc hiện hành hoặc thuốc thử nghiệm; (2) phát hiện các cơ chế kháng thuốc, thông qua phân tích gen hoặc biểu hiện protein hậu điều trị và (3) sàng lọc nhanh các ứng viên thuốc tiềm năng trước khi chuyển sang thử nghiệm in vivo hoặc lâm sàng. Đây là bước quan trọng hướng tới điều trị theo hướng y học chính xác trong ung thư đại trực tràng.

Hạn chế của nghiên cứu

Số lượng mẫu còn hạn chế, chưa phân tích đầy đủ các yếu tố miễn dịch và mô đệm quanh khối u. Việc kết hợp organoid với tế bào miễn dịch (co-culture với T cell hoặc NK cell) sẽ là bước tiếp theo để mô phỏng toàn diện hơn phản ứng khối u trong môi trường vi sinh học. Đồng thời, việc mở rộng ngân hàng, xây dựng nền tảng dữ liệu số hóa (digital biobank) sẽ giúp chia sẻ thông tin và hỗ trợ ra quyết định trong tương lai.

5. KẾT LUẬN

Chúng tôi đã thành công thiết lập ngân hàng organoid ung thư trực tràng đầu tiên tại Việt Nam, từ thu thập mô, tạo dòng PDO đến phân tích mô học. Các dòng organoid tái hiện tốt đặc điểm của mô gốc, có tiềm năng lớn trong nghiên cứu sinh học ung thư, sàng lọc thuốc và phát triển phác đồ điều trị cá thể hóa. Ngân hàng này sẽ là nền tảng để thúc đẩy y học chính xác và hợp tác quốc tế trong nghiên cứu ung thư.

Nguồn tài trợ

Nghiên cứu không nhận tài trợ.

Xung đột lợi ích

Không có xung đột lợi ích tiềm ẩn nào liên quan đến bài viết này được báo cáo.

ORCID

Nguyễn Hữu Thịnh

<https://orcid.org/0000-0002-0981-7274>

Trần Đức Huy

<https://orcid.org/0000-0003-4830-2334>

Đóng góp của các tác giả

Ý tưởng nghiên cứu: Nguyễn Hữu Thịnh, Trương Minh Dũng, Jongman Yoo

Đề cương và phương pháp nghiên cứu: Trần Đức Huy, Trương Minh Dũng, Đỗ Thị Thanh Tâm

Thu thập dữ liệu: Trần Đức Huy, Trương Minh Dũng, Đỗ Thị Thanh Tâm

Giám sát nghiên cứu: Nguyễn Hữu Thịnh, Jongman Yoo

Nhập dữ liệu: Trần Đức Huy, Trương Minh Dũng, Đỗ Thị Thanh Tâm

Quản lý dữ liệu: Trần Đức Huy, Trương Minh Dũng, Đỗ Thị Thanh Tâm

Phân tích dữ liệu: Trần Đức Huy, Trương Minh Dũng, Đỗ Thị Thanh Tâm

Viết bản thảo đầu tiên: Trương Minh Dũng, Đỗ Thị Thanh Tâm

Góp ý bản thảo và đồng ý cho đăng bài: Trần Đức Huy, Nguyễn Hữu Thịnh, Jongman Yoo

Cung cấp dữ liệu và thông tin nghiên cứu

Tác giả liên hệ sẽ cung cấp dữ liệu nếu có yêu cầu từ Ban biên tập.

Chấp thuận của Hội đồng Đạo đức

Nghiên cứu đã được thông qua Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, số 99/GCN-HĐĐĐ ngày 15/12/2023.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyen TP, Luu HN, Nguyen MVT, Tran MT, Tuong TTV, Tran CTD, et al. Attributable Causes of Cancer in Vietnam. JCO Glob Oncol. 2020;6:195-204.
2. Pham T, Bui L, Kim G, Hoang D, Tran T, Hoang M. Cancers in Vietnam-Burden and Control Efforts: A Narrative Scoping Review. Cancer Control.

- 2019;26(1):1073274819863802.
3. Clevers H. Modeling Development and Disease with Organoids. *Cell*. 2016;165(7):1586-97.
4. Sato T, Stange DE, Ferrante M, Vries RG, Van Es JH, Van den Brink S, et al. Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett's epithelium. *Gastroenterology*. 2011;141(5):1762-72.
5. Fatehullah A, Tan SH, Barker N. Organoids as an in vitro model of human development and disease. *Nat Cell Biol*. 2016;18(3):246-54.
6. van de Wetering M, Francies HE, Francis JM, Bounova G, Iorio F, Pronk A, et al. Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients. *Cell*. 2015;161(4):933-45.
7. Ooft SN, Weeber F, Dijkstra KK, McLean CM, Kaing S, van Werkhoven E, et al. Patient-derived organoids can predict response to chemotherapy in metastatic colorectal cancer patients. *Sci Transl Med*. 2019;11(513):eaay2574.
8. Vlachogiannis G, Hedayat S, Vatsiou A, Jamin Y, Fernandez-Mateos J, Khan K, et al. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers. *Science*. 2018;359(6378):920-6.
9. Coppo R, Kondo J, Onuma K, Inoue M. Tracking the growth fate of single cells and isolating slow-growing cells in human colorectal cancer organoids. *STAR Protoc*. 2023;4(3):102395.
10. Okazawa Y, Mizukoshi K, Koyama Y, Okubo S, Komiyama H, Kojima Y, et al. High-sensitivity Detection of Micrometastases Generated by GFP Lentivirus-transduced Organoids Cultured from a Patient-derived Colon Tumor. *J Vis Exp*. 2018;doi: 10.3791/57374.
11. Chan WY, Chua W, Wilkinson K, Epitakaduwa C, Mandaliya H, Descallar J, et al. The Prognostic and Predictive Utility of CDX2 in Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci*. 2024;25(16):8673.
12. Fujii M, Shimokawa M, Date S, Takano A, Matano M, Nanki K, et al. A Colorectal Tumor Organoid Library Demonstrates Progressive Loss of Niche Factor Requirements during Tumorigenesis. *Cell Stem Cell*. 2016;18(6):827-38.
13. Chaudhary N, La Ferlita A, Choudhary BS, Jog E, Kazi M, Yahya S, et al. Patient-Derived Organoids and Xenografts Uncover Therapeutic Vulnerabilities in Colorectal Signet Ring Cell Carcinomas. *Clin Cancer Res*. 2025;31(7):1359-73.
14. Barbachano A, Fernandez-Barral A, Bustamante-Madrid P, Prieto I, Rodriguez-Salas N, Larriba MJ, et al. Organoids and Colorectal Cancer. *Cancers (Basel)*. 2021;13(11):2657.
15. Xiao Y, Li Y, Jing X, Weng L, Liu X, Liu Q, et al. Organoid models in oncology: advancing precision cancer therapy and vaccine development. *Cancer Biol Med*. 2025;doi: 10.20892/j.issn.2095-3941.2025.0127.
16. Atanasova VS, de Jesus Cardona C, Hejret V, Tiefenbacher A, Mair T, Tran L, et al. Mimicking Tumor Cell Heterogeneity of Colorectal Cancer in a Patient-derived Organoid-Fibroblast Model. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2023;15(6):1391-419.
17. Heydari Z, Devasahayam Arokia Balaya R, Sarkar G, Boardman L. The Role of Organoids in Advancing Colorectal Cancer Research: Insights and Future Directions. *Cancers (Basel)*. 2025;17(13):2129.
18. Palazzolo G, Mollica H, Lusi V, Rutigliani M, Di Francesco M, Pereira RC, et al. Modulating the Distant Spreading of Patient-Derived Colorectal Cancer Cells via Aspirin and Metformin. *Transl Oncol*. 2020;13(4):100760.
19. Nguyen HT, Nguyen TV, Nguyen Hoang VA, Tran DH, Le Trinh NA, Le MT, et al. Tumor genomic profiling and personalized tracking of circulating tumor DNA in Vietnamese colorectal cancer patients. *Front Oncol*. 2022;12:1069296.