

PHÁT HIỆN ĐỘT BIẾN TRÊN GEN *RET* Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ TUYẾN GIÁP THỂ TỬY

Nguyễn Hải Hà¹, Trần Thị Hải Yến², Vũ Phương Nhung¹, Ma Thị Huyền Thương¹, Nguyễn Đăng Tôn¹, Nông Văn Hải¹

¹Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Bệnh viện Bạch Mai

Ngày nhận bài: 24.11.2015

Ngày nhận đăng: 20.6.2016

TÓM TẮT

Ung thư tuyến giáp thể tủy (medullary thyroid cancer - MTC) là một loại u có nguồn gốc từ tế bào C của tuyến giáp, xuất hiện với tỷ lệ 5 – 10% trong số bệnh nhân ung thư tuyến giáp ác tính. Khoảng 25% số ca MTC là dạng di truyền trội gây ra chủ yếu bởi các đột biến trên gen tiền ung thư *RET* và thường xuất hiện với triệu chứng đa bướu nội tiết kiểu 2A, 2B hoặc MTC kiểu gia đình. Hướng dẫn kiểm tra di truyền cho bệnh nhân MTC của Hiệp hội tuyến giáp châu Âu đề nghị tám exon 5, 8, 10, 11, 13, 14, 15 và 16 của gen *RET* nên được sàng lọc trước tiên cho các bệnh nhân. Nghiên cứu này nhằm xác định nguyên nhân di truyền của bệnh nhân nam được chẩn đoán mắc chứng MEN2B và u tủy thượng thận. DNA hệ gen được tách chiết từ mẫu máu ngoại vi của bệnh nhân. Tám exon của gen *RET* (exon 5, 8, 10, 11, 13, 14, 15 và 16) được khuếch đại bằng PCR và giải trình tự theo phương pháp Sanger trên máy phân tích gen ABI 3500. Kết quả giải trình tự cho thấy một điểm thay thế C thành T ở dạng dị hợp tử tại vị trí nucleotide 2753 trên exon 16 của gen *RET*. Đột biến c.2753T>C làm thay đổi acid amin methionin thành threonine tại codon 918 (p.M918T) của protein. Đột biến này nằm trong domain xuyên màng tyrosine kinase và được tìm thấy ở hơn 90% các trường hợp MEN2B, do vậy đột biến này chính là nguyên nhân gây bệnh ở bệnh nhân. Do c.2753C>T là đột biến tế bào dòng di truyền trội nên có 50% khả năng di truyền cho con của bệnh nhân. Vì vậy, con trai 6 tuổi của bệnh nhân với tình trạng sức khỏe bình thường đã được tư vấn kiểm tra đột biến này. Kết quả kiểm tra cho thấy cháu không bị di truyền c.2753C>T từ bố.

Từ khóa: Đột biến, gen *RET*, ung thư tuyến giáp thể tủy

MỞ ĐẦU

Tuyến giáp là một tuyến nội tiết lớn nhất trong cơ thể, trọng lượng khoảng 12 - 20 gam, gồm thùy phải và thùy trái nối với nhau bởi eo giáp. Đôi khi có thêm thùy thấp, nằm lệch sang trái so với đường giữa và nối với xương móng bằng một dải xơ, là dấu vết của ống giáp lưỡi. Cấu trúc vi thể tuyến giáp: được tạo bởi các nang tuyến, cấu tạo bởi các tế bào biểu mô tuyến, xếp thành nang và ngoài cùng là lớp vỏ xơ bao bọc, đó là bao tuyến. Nang tuyến là đơn vị hoạt động chức năng của tuyến giáp. Tuyến giáp có hệ thống mạng lưới lympho phong phú, khi tổ chức tuyến giáp bị ung thư, tế bào ung thư dễ dàng di căn vào hệ hạch cổ (Đỗ Xuân Hợp, 1976; Đỗ Quang Trường, 2009).

Ung thư tuyến giáp (thyroid cancer) là bệnh ác tính thường gặp, chiếm 90% bệnh nhân ung thư tuyến nội tiết và khoảng 1% các loại ung thư. Ung thư tuyến giáp thể tủy (medullary thyroid cancer-MTC) chiếm 5 – 10% trong số bệnh nhân ung thư

tuyến giáp ác tính. Biểu hiện của bệnh là một khối u ở cổ hoặc tuyến giáp, thường phối hợp với các bệnh lý hạch bạch huyết. Khối u tuyến giáp thể tủy duy trì đặc tính sinh hóa và bệnh lý của tế bào C sản xuất ra calcitonin. Nguồn gốc loại tế bào ung thư này khiến nó khác hẳn tạo với các ung thư biểu mô tuyến giáp biệt hóa khác. Biểu hiện lâm sàng của MTC xuất hiện chủ yếu ở tuổi 40-50 nhưng cũng bắt gặp ở nhiều độ tuổi khác nhau. Khoảng 75% trường hợp MTC là do tự phát và 25% là do rối loạn di truyền với kiểu di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường. Ba kiểu bệnh do rối loạn di truyền đã biết là MTC theo gia đình (FMTC), MTC với hội chứng đa bướu nội tiết (multiple endocrine neoplasia) kiểu 2A (MEN2A) và kiểu 2B (MEN 2B). Với đặc tính di truyền trội theo nhiễm sắc thể thường nên con cái của bệnh nhân mắc hội chứng FMTC và MEN2 có 50% nguy cơ di truyền bệnh từ bố hoặc mẹ. Ngoài ra, đặc điểm sinh học của MTC là ít thuận lợi hơn so với ung thư biểu mô tuyến giáp biệt hóa khác. Tỷ lệ sống được 10 năm của

bệnh nhân MTC là khoảng 50%. Các yếu tố tiên lượng quan trọng nhất là giai đoạn của khối u lúc chẩn đoán. Cả việc chữa trị và tỷ lệ sống sót của bệnh nhân đều được cải thiện bằng cách chẩn đoán sớm, đặc biệt khi khối u còn trong tuyến giáp mà không có dấu hiệu về lây lan hoặc di căn.

Hàng loạt nghiên cứu đã chỉ ra mối liên quan giữa MTC và yếu tố di truyền. Năm 1987, các nhà nghiên cứu đã xác định một locus gen nằm trên nhiễm sắc thể (NST) số 10 có liên quan tới bệnh MEN2 (Mathew *et al.*, 1987; Simpson *et al.*, 1987). Hai năm sau đó, gen ung thư RET được phát hiện nằm trên NST số 10 (Ichizaka *et al.*, 1989). Đến năm 1993, hai nhóm nghiên cứu độc lập đã báo cáo rằng các đột biến điểm dòng mã dạng hoạt động của gen RET là nguyên nhân của bệnh MEN2A và ung thư tuyến giáp thể tủy theo gia đình (FMTC) (Donis-Keller *et al.*, 1993; Mulligan *et al.*, 1993). Sau đó một năm, MEN2B được báo cáo là có liên quan với các đột biến gen RET (Eng *et al.*, 1994). Gen tiền ung thư RET gồm 21 exon, nằm tại vị trí 10q11-2, và mã hóa cho thụ thể xuyên màng tyrosine kinase. Sản phẩm gen được biểu hiện trong các tế bào dòng thần kinh bao gồm các tế bào C tuyến giáp và tủy thượng thận (Lorenz *et al.*, 2005; Wertenbroek *et al.*, 2008). Các phát hiện về sự liên quan giữa các đột biến gen RET với bệnh MEN2/FMTC và việc phát triển các phương pháp xác định đột biến gen ở những bệnh nhân bị ảnh hưởng và người thân của họ đã làm mới các phác đồ chẩn đoán và điều trị ban đầu trong việc quản lý các bệnh nhân. Hiệp hội tuyến giáp châu Âu năm 2012 đã công bố tài liệu hướng dẫn kiểm tra di truyền đối với bệnh nhân MTC. Theo đó, tất cả bệnh nhân MTC, kể cả những người có tiền sử gia đình và người bị bệnh tự phát nên được kiểm tra gen RET. Một khi đột biến RET được xác nhận ở bệnh nhân đầu tiên, thì những người ruột thịt của họ nên được kiểm tra ngay để xác định liệu họ có bị di truyền đột biến gen. Những người thân mang đột biến gen RET phải được theo dõi và bắt đầu phác đồ điều trị dự phòng (Schlumberger *et al.*, 2012).

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tối ưu hóa quy trình giải trình tự và tiến hành sàng lọc đột biến một số đoạn gen RET ở một bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh MEN2B. Kết quả sàng lọc đột biến gen RET trên bệnh nhân là thông tin có giá trị cho các bác sĩ trong việc xây dựng lộ trình chữa bệnh cho bệnh nhân, đồng thời là cơ sở để tiến hành tư vấn di truyền cho người thân của bệnh nhân về nguy cơ mắc bệnh và biện pháp bảo vệ sức khỏe trong tương lai.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Bệnh nhân

Bệnh nhân là nam giới, 41 tuổi tại thời điểm xét nghiệm gen, bệnh nhân được chẩn đoán mắc hội chứng đa u tuyến nội tiết type 2B (MEN2B). Tiền sử bệnh nhân có nhiều cơn tăng huyết áp trong một năm trước thời điểm nhập viện, huyết áp cao là 200 mmHg, cơn kéo dài vài phút sau đó tự hết, trong cơn đau đầu vã mồ hôi, chóng mặt. Siêu âm phát hiện tuyến giáp và tuyến thượng thận đều có u hai bên. Xét nghiệm catecholamin (adrenalin, noradrenalin, dopamin) trong máu, niệu cho thấy nồng độ tăng cao gấp 20 – 40 lần so với người bình thường, calcitonin máu tăng 20 lần. Bệnh nhân đã được phẫu thuật loại bỏ u tuyến giáp và u thượng thận, kết quả giải phẫu bệnh cho thấy bệnh nhân bị ung thư giáp thể tủy và u tủy thượng thận (pheochromocytoma).

Hóa chất dùng trong nghiên cứu

Bộ kit tách chiết DNA tổng số từ máu của hãng Omega Biotek (Mỹ), các hóa chất dùng cho PCR và tinh sạch sản phẩm PCR của hãng Thermo Scientific (Mỹ), hóa chất giải trình tự Big dye của hãng Applied Biosystem (Mỹ), các hóa chất dùng cho sinh học phân tử khác như ethidium bromide, agarose, dung dịch đệm TAE ... từ hãng MERK (Đức). Các cặp mồi dùng cho PCR được đặt mua từ hãng IDT (Mỹ).

Phương pháp nghiên cứu

DNA tổng số được tách chiết từ mẫu máu bệnh nhân sử dụng bộ kit của hãng Omega. Các bước tách chiết được tiến hành theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Phản ứng PCR được thực hiện với tổng thể tích 25 μ l bao gồm 25 ng DNA tổng số, 2,5 μ l 10X PCR buffer, 0,5 μ l dNTPs (10mM/ μ l), 0,125 μ l Taq polymerase (5U/ μ l), 0,5 μ l mỗi mồi (10pM/ μ l). Phản ứng được thực hiện trên máy luân nhiệt PCR Verity 96 well Thermal Cycler (ABI) theo chu kỳ 94°C/5 phút, 35 chu kỳ (95°C/30 giây, 60°C/15 giây, 72°C/30 giây), 72°C/8 phút, giữ ở 4°C.

Sản phẩm PCR được tinh sạch bằng bộ kit của hãng Omega và giải trình tự trên máy ABI 3500 (Mỹ). Kết quả giải trình tự được so sánh với trình tự chuẩn đã công bố trên Ngân hàng gen của gen RET với mã số NM_020975.4 bằng phần mềm BioEdit.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

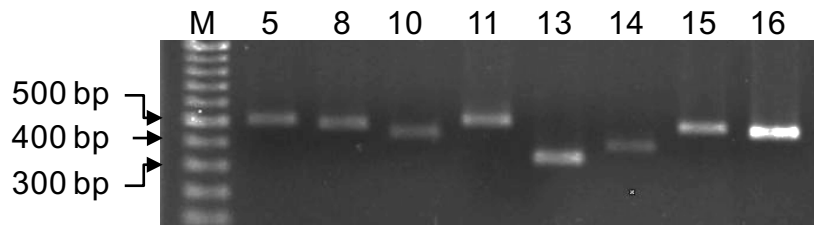
Tách chiết DNA tổng số và khuếch đại 8 exon của gen *RET*

DNA tổng số được tách chiết từ mẫu máu ngoại vi của bệnh nhân và con trai. Sau khi kiểm tra chất lượng và nồng độ, các mẫu DNA được sử dụng cho phản ứng PCR.

Tám cặp môi nhân đặc hiệu các exon 5, 8, 10, 11, 13, 14, 15 và 16 đã được thiết kế dựa trên trình tự chuẩn của gen *RET* công bố trên ngân hàng gen với mã số NM_020975.4. Đây là những đoạn gen có tần xuất xuất hiện đột biến cao ở các bệnh nhân MEN 2A và MEN 2B và được đề nghị ưu tiên kiểm tra trước các vùng khác của gen *RET* bởi hiệp hội nghiên cứu tuyến giáp châu Âu.

Để tối ưu hóa điều kiện nhân gen, chúng tôi đã sử dụng mẫu DNA tổng số tách chiết từ một người khỏe mạnh làm khuôn cho các phản ứng PCR với điều kiện khác nhau về thành phần phản ứng và nhiệt độ gắn môi. Kết quả chúng tôi đã xác định được một tỷ lệ thích hợp cho thành phần PCR và nhiệt độ gắn môi là 60°C để đảm bảo các sản phẩm PCR nhân lên là đặc hiệu. Sau khi hoàn thành tối ưu quy trình PCR, mẫu DNA của bệnh nhân đã được dùng để khuếch đại 8 exon cần sàng lọc đột biến gen.

Kết quả điện di kiểm tra sản phẩm PCR cho thấy 8 đoạn gen đặc hiệu đã được nhân lên từ mẫu bệnh nhân có kích thước tương ứng với kích thước thiết kế tương ứng là 493, 475, 434, 499, 333, 462, 479 và 466 bp (Hình 1). Các sản phẩm PCR được tinh sạch cho phản ứng giải trình tự gen.



Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm PCR của 8 đoạn gen *RET* ở bệnh nhân MTC trên gel agarose 1,5%. M: Marker DNA 100bp plus; 5, 8, 10, 11, 13, 14, 15, 16: ký hiệu exon tương ứng của gen *RET*.

Kết quả giải và phân tích trình tự

Các sản phẩm PCR được giải trình tự cả hai chiều bằng phương pháp Sanger trên hệ thống máy ABI 3500. Kết quả giải trình tự được so sánh với trình tự chuẩn đã công bố trên ngân hàng gen của gen *RET* với mã số NM_020975.4 bằng phần mềm BioEdit.

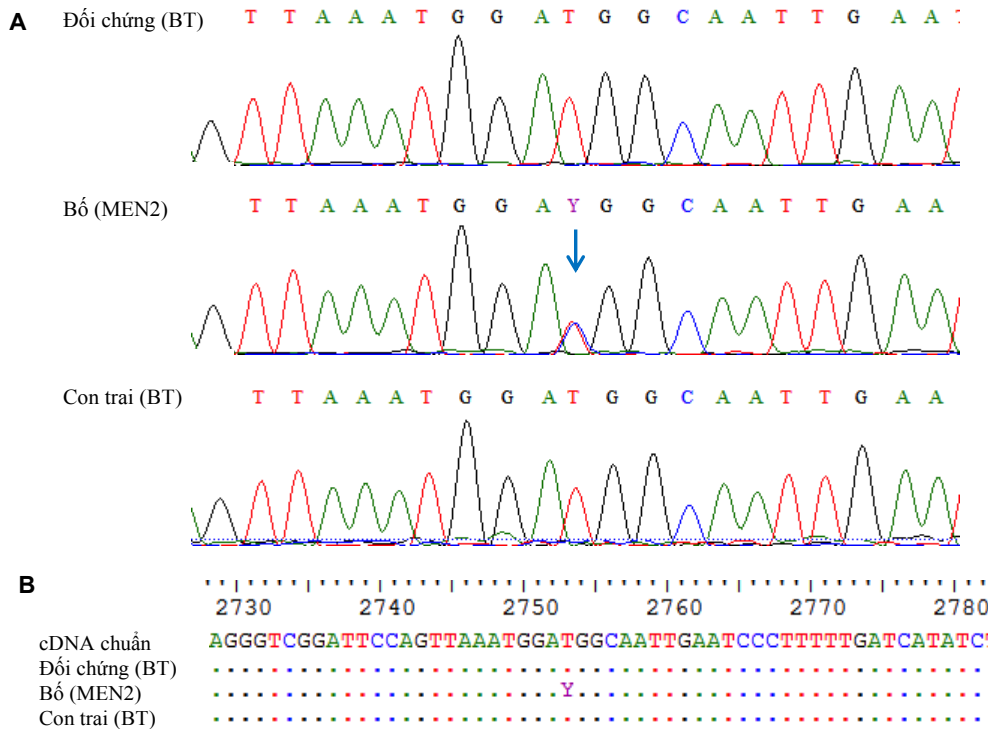
Kết quả là trên các exon 5, 8, 10, 11, 13, 14 và 15 ở mẫu bệnh nhân không có điểm sai khác so với trình tự chuẩn. Riêng exon 16, tại vị trí nucleotide 2753 đã phát hiện 1 điểm thay đổi nucleotide từ T thành C (kí hiệu c.2753T>C) dẫn đến thay đổi acid amin methionine thành threonine (kí hiệu p.M918T). Đột biến này không có ở mẫu đối chứng người khỏe mạnh (Hình 2). Đột biến nhầm nghĩa p.M918T nằm trong domain xuyên màng tyrosine kinase và được tìm thấy ở hơn 95% các trường hợp MEN2B (Eng *et al.*, 1994; Jindřichová *et al.*, 2004; Margraf *et al.*, 2009). Do các đột biến dạng hoạt động của gen *RET* có tính trội nên dù c.2753T>C xuất hiện ở dạng dị hợp tử

trên bệnh nhân, nó hoàn toàn có khả năng gây bệnh (Lai *et al.*, 2007).

Theo những công bố trước đây, đột biến gen *RET* có mối liên quan nhất định với hình thái bệnh. Khoảng 98% bệnh nhân MEN 2A có đột biến *RET* ở vùng ngoại bào giàu cysteine, đặc biệt trên các codon 609, 611, 618, 620 và 634 của exon 10 và 11. Đột biến ở codon 634 của exon 11 (chủ yếu TGC thành CGC) là phổ biến nhất, thống kê có 85% trường hợp MEN 2A. Trong khi đó, đột biến tại codon 918 trên exon 16 (ATG thành ACG) hầu như luôn liên quan với MEN 2B. Đột biến M918T liên quan rất chặt chẽ với MTC, thường phát triển khi còn nhỏ, thường chỉ một vài năm sau khi sinh ra. Một đột biến hiếm khác tại vùng nội bào protein cũng được phát hiện trên codon 883 của exon 15 của bệnh nhân MEN2B. Trường hợp FMTC, các đột biến phân bố rộng rãi ở 5 codon cysteine 609, 611, 618, 620 và 634 là phổ biến nhất và trong codon không chứa cysteine khác như codon 804 ở exon 14, codon 891 ở exon 15 (Elisei *et al.*, 2013).

Trong trường hợp này, biểu hiện lâm sàng và kết quả phát hiện đột biến gen của bệnh nhân đều điển hình cho hội chứng MEN2B. Đột biến gen c.2753T>C của bệnh nhân là đột biến di truyền tế bào dòng và có 50% khả năng truyền cho con cái. Do đó, con trai

sáu tuổi với tình trạng sức khoẻ bình thường đã được tư vấn tham gia xét nghiệm gen *RET* trên exon 16. Kết quả may mắn cho thấy cháu không mang đột biến c.2753T>C của bố (Hình 2).



Hình 2. Kết quả xác định đột biến điểm trên exon 16 gen *RET*. (A) Hình ảnh giải trình tự đoạn gen xác định được đột biến điểm c.2753T>C thuộc exon 16 trên mẫu bệnh nhân (Bố) ở dạng dị hợp tử; Mẫu người bình thường (Đối chứng) và mẫu con trai bệnh nhân không mang đột biến. (B) So sánh trình tự nucleotide của mẫu đối chứng, mẫu bệnh nhân và con trai của bệnh nhân với trình tự cDNA chuẩn mã số NM_020975.

KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này chúng tôi đã tối ưu hóa điều kiện phản ứng PCR tạo sản phẩm đặc hiệu cho bước giải trình tự 8 đoạn gen *RET*. Bệnh nhân MEN2B đã được giải trình tự và sàng lọc đột biến trên cả 8 đoạn gen *RET*. Tại exon 16 đã phát hiện một đột biến c.2753T>C dẫn đến thay đổi acid amin methionine thành threonine xuất hiện ở dạng dị hợp tử. Đây là đột biến gây bệnh điển hình ở các ca MEN2B đã được công bố trên cơ sở dữ liệu gen *RET*. Kết quả này góp phần định hướng phác đồ điều trị cho bệnh nhân và là cơ sở tiến hành tư vấn di truyền cho thân nhân bệnh nhân.

Lời cảm ơn: Nhóm nghiên cứu chân thành cảm ơn bệnh nhân và gia đình đã hợp tác trong nghiên cứu này. Các thí nghiệm được tiến hành có sử dụng trang thiết bị tại Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm khoa học và công nghệ Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Donis-Keller H, Dou S, Chi D, Carlson KM, Toshima K, Lairmore TC, Howe JR, Moley JF, Goodfellow P, Wells SA (1993) Mutations in the *RET* proto-oncogene are associated with MEN 2A and FMTC. *Hum Mol Genet* 2(7): 851–856.

Elisei R, Alevizaki M, Conte-Devolx B, Frank-Raue K, Leite V, Williams GR (2013) 2012 European Thyroid Association Guidelines for Genetic Testing and Its Clinical

Consequences in Medullary Thyroid Cancer. *Eur Thyroid J* 1(4): 216–231.

Eng C, Smlth DP, Mulligan LM, Nagal MA, Healey CS, Ponder MA, Gardner E, Scheumann GFW, Jackson CE, Tunnacliffe A, Ponder BAJ (1994) Point mutation within the tyrosine kinase domain of the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2B and related sporadic tumours. *Hum Mol Genet* 3(2): 237–241.

Hợp Đỗ Xuân (1976) *Giải phẫu đầu mặt cổ*. Nhà xuất bản Y học.

Ichizaka Y, Itoh F, Tahira T, Ikeda I, Sugimura T, Tucker J, Fertitta A, Carrano A, Nagao M (1989) Human ret proto-oncogene mapped to chromosome 10q11.2. *Oncogene* 183: 257–265.

Jindřichová Š, Včelák J, Vlček P, Neradilová M, Němec J, Bendlová B (2004) Screening of six risk exons of the RET proto-oncogene in families with medullary thyroid carcinoma in the Czech Republic. *Journal of Endocrinology* 183(2): 257–265.

Lai AZ, Gujral TS, Mulligan LM (2007) RET signaling in endocrine tumors: Delving deeper into molecular mechanism. *Endocr Pathol* 18(2): 57–67.

Lorenz K, Brauckhoff M, Behrmann C, Sekulla C, Ukkat J, Brauckhoff K, Gimm O, Dralle H (2005) Selective arterial chemoembolization for hepatic metastases from medullary thyroid carcinoma. *Surgery* 138(6): 986–993.

Margraf RL, Crockett DK, Krautscheid PMF, Seamons R, Calderon FRO, Wittwer CT, Mao R (2009) Multiple endocrine neoplasia type 2 RET protooncogene database: Repository of MEN2-associated RET sequence variation

and reference for genotype/phenotype correlations. *Human Mutation* 30(4): 548–556.

Mathew CGP, Chin KS, Easton DF, Thorpe K, Carter C, Liou GI, Fong SL, Bridges CDB, Haak H, Kruseman ACN, Schifter S, Hansen HH, Telenius H, Telenius-Berg M, Ponder BAJ (1987) A linked genetic marker for multiple endocrine neoplasia type 2A on chromosome 10. *Nature* 328(6130): 527–528.

Mulligan LM, Kwok JBJ, Healey CS, Elsdon MJ, Eng C, Gardner E, Love DR, Mole SE, Moore JK, Papi L, Ponder MA, Telenius H, Tunnacliffe A, Ponder BAJ (1993) Germ-line mutations of the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2A. *Nature* 363(6428): 458–460.

Schlumberger M, Bastholt L, Dralle H, Jarzab B, Pacini F, Smit JWA, The European Thyroid Association Task F (2012) 2012 European Thyroid Association Guidelines for Metastatic Medullary Thyroid Cancer. *Eur Thyroid J* 1(1): 5–14.

Simpson NE, Kidd KK, Goodfellow PJ, McDermid H, Myers S, Kidd JR, Jackson CE, Duncan AMV, Farrer LA, Brasch K, Castiglione C, Genel M, Gertner J, Greenberg CR, Gusella JF, Holden JJA, White BN (1987) Assignment of multiple endocrine neoplasia type 2A to chromosome 10 by linkage. *Nature* 328(6130): 528–530.

Trương Đỗ Quang (2009) Điều trị phẫu thuật ung thư tuyến giáp tại Bệnh viện Ung Bướu Hà Nội. *Tap chí Y học thực hành, Bộ Y tế xuất bản* 1076–1077.

Wertenbroek MWJLAE, Links TP, Prins TR, Plukker JTM, van der Jagt EJ, de Jong KP (2008) Radiofrequency Ablation of Hepatic Metastases from Thyroid Carcinoma. *Thyroid* 18(10): 1105–1110.

IDENTIFICATION OF MUTATION IN THE *RET* GENE IN A PATIENT WITH MEDULLARY THYROID CANCER

Nguyen Hai Ha^{1,✉}, Tran Thi Hai Yen², Vu Phuong Nhung¹, Ma Thi Huyen Thuong¹, Nguyen Dang Ton¹, Nong Van Hai¹

¹Institute of Genome Research, Vietnam Academy of Science and Technology

²Bach Mai Hospital

SUMMARY

Medullary thyroid carcinoma (MTC) is a type of tumors derived from thyroid parafollicular cells (C-cells), comprises 5–10% of all thyroid malignancies. About 25% of MTC cases occur as an autosomal dominant hereditary disorder which is mostly caused by activating mutations of RET pro-oncogen and they occur as components of the multiple endocrine neoplasia type 2 syndromes (MEN 2A and 2B) or familial MTC. The guidelines for genetic testing in MTC of the European Thyroid Association recommend that exons 5, 8, 10, 11, 13, 14, 15 and 16 should always be screened starting in patients. This study aims to identify the genetic causes of a male patient diagnosed with MEN2 and pheochromocytoma. Genomic DNA was extracted from peripheral blood of patient. Eight recommended exons (5, 8, 10, 11, 13, 14, 15 and 16) of the *RET* gene were

✉ Authors for correspondence: E-mail: nguyenhaiha@igr.ac.vn

amplified by PCR and sequenced by Sanger method on the ABI 3500 genetic analyzer. The results showed a heterozygous C to T transition at nucleotide 2753 in exon 16 of the *RET* gene. The c.2753 C>T transition resulted in a missense mutation of methionine to threonine (p.M918T) in the RET protein. This mutation was located in the intracellular tyrosine kinase domain of protein and has been reported in 95% of MEN2B cases, therefore, it would be the causative mutant of our patient. Our patient harboring a pM918T germline mutation and there is a 50% probability that he will pass this mutation to a child. Thus, his six-year-old boy with normal health status was advised to have the genetic test for this mutation. The results showed that he had not inherited the mutation c.2753T> C from his father.

Keywords: *Mutation, Medullary Thyroid Cancer, RET gene*