

EVALUATING PROLIFERATION POTENTIAL OF CAR-T CELLS WHEN CO-CULTURED WITH CD19 CANCER CELL LINES IN VITRO

Ngo Thu Hang, Can Van Mao*

*Department of Pathophysiology, Vietnam Military Medical University -
160 Phung Hung, Phuc La ward, Ha Dong district, Hanoi, Vietnam*

Received: 16/12/2024

Revised: 07/01/2025; Accepted: 25/04/2025

ABSTRACT

Objective: To evaluate the proliferation ability of CAR - T when co - cultured with CD19+ - expressing cell lines in vitro.

Subjects and methods: Transferring gene into K562 cells using the Transposon - transposase vector system combined with electroporation. PBMC cells were separated and analyzed PBMC by flow cytometry. PBMC were transfected gene using P3 Primary Cells transfection solution, 1 µg SB100X plasmid and 3 µg CD19RCD137/pSB plasmid. Co - culturing CAR - T and CD19+ cells at a ratio of 1:1.

Results: The results showed that on 4 - day culture, both CAR - T CD19RCD137 and CAR - T iCasp9 - IL15 cells had the ability to proliferate during co - culture with CD19+ cells. The number of CD19RCD137 CAR - T cells tended to decrease, but the number of 4th CAR - T generation still increased during co - cultured with K562 without expressing CD19. On 11 - day culture, there were almost no CD19RCD137 CAR - T cells and a significant decrease in the number of iCasp9 - IL15 CAR - T cells.

Conclusion: CAR - T cells have the ability to proliferate strongly during co - culture with CD19+ cell lines but have no ability to proliferate during co - culture with CD19 - cell lines.

Keywords: CAR - T cells, CD19, CD19RCD137 and iCasp9 - IL15.

*Corresponding author

Email: canvanmao@vmmu.edu.vn **Phone:** (+84) 944888323 **Https://doi.org/10.52163/yhc.v66i3.2508**

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG TĂNG SINH CỦA TẾ BÀO CAR-T KHI ĐỒNG NUÔI CẤY VỚI CÁC DÒNG TẾ BÀO UNG THƯ CD19 IN VITRO

Ngô Thu Hằng, Cấn Văn Mão*

Bộ môn Sinh lý bệnh, Học viện Quân y - 160 Phùng Hưng, P. Phúc La, Q. Hà Đông, Tp. Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài: 16/12/2024

Chỉnh sửa ngày: 07/01/2025; Ngày duyệt đăng: 25/04/2025

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá khả năng tăng sinh của CAR - T khi đồng nuôi cấy với các dòng tế bào biểu hiện CD19+ in vitro.

Đối tượng và phương pháp: Chuyển nạp gen vào tế bào K562 sử dụng hệ véc tơ Transposon - transposase kết hợp với xung điện. Tách tế bào PBMC và phân tích PBMC bằng flow cytometry. Chuyển nạp vào PBMC sử dụng dung dịch chuyển nạp P3 Primary Cells, 1 µg plasmid SB100X và 3 µg plasmid CD19RCD137/pSB. Đồng nuôi cấy CAR - T và tế bào CD19+ theo tỉ lệ 1:1.

Kết quả: Trong 4 ngày nuôi cấy, CAR - T CD19RCD137 và CAR - T iCasp9 - IL15 đều có khả năng tăng sinh khi đồng nuôi cấy với các tế bào CD19+. Tuy nhiên, số lượng CAR - T CD19RCD137 có xu hướng giảm dần, nhưng CAR - T thế hệ 4 vẫn tăng về số lượng khi nuôi cấy với K562 không biểu hiện CD19. Ở ngày nuôi cấy 11, gần như không còn tế bào CAR - T CD19RCD137 và suy giảm đáng kể lượng tế bào CAR - T iCasp9 - IL15.

Kết luận: Tế bào CAR - T có khả năng tăng sinh mạnh khi đồng nuôi cấy với các dòng tế bào CD19+ nhưng không có khả năng tăng sinh khi nuôi cấy cùng các dòng tế bào CD19.

Từ khóa: Tế bào CAR - T, CD19, CD19RCD137 và iCasp9 - IL15.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các thụ thể kháng nguyên dạng lai (CAR) là protein nhân tạo được tạo thành từ vùng biến đổi chuỗi đơn đặc hiệu kháng nguyên (scFv) kết hợp với các miền truyền tín hiệu nội bào, giúp tế bào T nhận diện và tiêu diệt các tế bào đích mang kháng nguyên mà không phụ thuộc vào phức hợp hòa hợp mô chính (MHC). CAR được biểu hiện trên bề mặt tế bào T, đóng vai trò dẫn hướng và kích hoạt quá trình đáp ứng miễn dịch. Liệu pháp tế bào CAR - T đã cho thấy hiệu quả đáng kể trong điều trị các bệnh lý ác tính của hệ tạo huyết [1], [2], đặc biệt là các bệnh ác tính tế bào B như bệnh bạch cầu lymphoblastic cấp tính (ALL), trong đó CAR - T nhắm CD19 đã giúp nhiều người bệnh đạt lui bệnh hoàn toàn [3], [4]. Một thử nghiệm gần đây ghi nhận tới 90% người bệnh ALL tái phát hoặc kháng điều trị đáp ứng hoàn toàn sau khi sử dụng CAR - T kháng CD19 [5].

Tuy nhiên, việc ứng dụng CAR - T vẫn đối mặt với những hạn chế như độc tính nghiêm trọng. CAR - T thế hệ hai, có nguồn gốc từ scFv FMC63 và SJ25C1, đã được ứng dụng trong nhiều thử nghiệm lâm sàng, cho thấy hiệu quả điều trị tích cực đối với bệnh bạch cầu tế

bào B kháng trị hoặc tái phát. Thiết kế cấu trúc của CAR đóng vai trò quan trọng trong hiệu quả điều trị. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá khả năng tăng sinh của tế bào CAR - T khi được đồng nuôi cấy với các dòng tế bào biểu hiện CD19, nhằm làm rõ mối liên hệ giữa biểu hiện CAR và hiệu quả chống ung thư.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nghiên cứu sử dụng dòng tế bào K562, một dòng tế bào huyết học có nguồn gốc từ người, được nuôi cấy trong môi trường RPMI 1640 (Biowest) có bổ sung huyết thanh bò thai (Fetal Bovine Serum - FBS, Hyclone) và môi trường chuyên biệt CTST™ OpTmizer™ T Cell Expansion (Thermo Fisher Scientific) nhằm hỗ trợ tối ưu cho quá trình tăng sinh tế bào T.

Các bộ kit sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: SF Cell Line và Cell Line Nucleofector® V (Lonza), cũng như bộ kit Ingenio® Electroporation Solution (Mirus Bio),

*Tác giả liên hệ

Email: canvanmao@vmmu.edu.vn Điện thoại: (+84) 944888323 <https://doi.org/10.52163/yhc.v66i3.2508>

được sử dụng cho quá trình chuyển nạp gen vào tế bào. Ngoài ra, mRNA SB (mã hóa enzym Sleeping Beauty transposase) được tổng hợp in vitro tại Phòng Thí nghiệm Kỹ thuật gen, Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội, nhằm phục vụ cho quá trình chuyển nạp gen kết hợp với hệ thống Sleeping Beauty.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chuyển nạp gen vào tế bào K562

Tế bào K562 sau khi thu nhận được rửa bằng dung dịch đệm PBS 1X, ly tâm để loại bỏ dịch nổi, sau đó tái huyền phù trong 100 μ L dung dịch đệm chuyển nạp cùng với plasmid chứa cấu trúc gen cần chuyển. Hỗn hợp này được chuyển vào cuvette chuyên dụng (Lonza Nucleocuvette™), thực hiện xung điện theo chương trình FF - 120 trên hệ thống Amaxa™ 4D - Nucleofector™. Ngay sau khi xung điện, bổ sung 500 μ L môi trường RPMI 1640 chứa 10% FBS đã được làm ấm (37°C), và hỗn hợp được chuyển sang đĩa 24 giếng chứa 1,5 mL môi trường tương tự, nuôi ở điều kiện 37°C, 5% CO₂, độ ẩm > 90%. Các điều kiện chuyển nạp bao gồm tỉ lệ mRNA SB:plasmid lần lượt là 1:20, 2:20 và 5:20; số lượng tế bào được thử nghiệm mỗi lần là 10⁶ hoặc 10⁷ tế bào.

2.2.2. Phương pháp tách PBMC

Mẫu máu ngoại vi tươi có chống đông được pha loãng với dung dịch PBS 1X (pH 7,2), sau đó cho vào ống falcon 15 mL đã chứa sẵn 3 mL Ficoll - Paque PREMIUM (tỉ trọng 1,077 g/mL). Lưu ý tránh làm trộn lẫn Ficoll với hỗn hợp máu. Sau ly tâm, lớp tế bào PBMC (nằm giữa lớp plasma và Ficoll) được hút ra, rửa bằng PBS 1X chứa 0,5% BSA, pH 7,2, và ly tâm lạnh ở 160 g trong 10 phút. Tế bào sau khi thu nhận được tái huyền phù trong môi trường CTS Optimizer hoàn chỉnh để chuẩn bị cho các bước phân tích tiếp theo.

2.2.3. Phân tích PBMC thu nhận được

PBMC sau khi phân lập được quan sát dưới kính hiển vi soi ngược, đánh giá tỉ lệ sống/chết bằng nhuộm xanh Trypan 0,4%. Các thông số như tổng số tế bào đơn nhân, tỉ lệ sống và tỉ lệ lymphocyte trong quần thể PBMC được xác định thông qua phân tích dòng chảy tế bào (flow cytometry).

2.2.4. Chuyển nạp vào PBMC

Sau khi phân lập, 10⁷ PBMC sống được rửa sạch (ly tâm 300 g, 10 phút) với PBS 1X và tái huyền phù trong 5 mL môi trường có bổ sung hạt từ Dynabeads™ CD3/CD28 (tỉ lệ 1:1 giữa số lượng tế bào và hạt). Sau 60 giờ nuôi cấy để kích hoạt tế bào T, các hạt từ được loại bỏ bằng nam châm, và 10⁶ tế bào được thu để tiến hành chuyển nạp. Sinh khối tế bào được tái huyền phù trong 100 μ L dung dịch chuyển nạp P3 Primary Cells (Lonza), cùng với 1 μ g plasmid SB100X và 3 μ g plasmid CD19RCD137/pSB. Hỗn hợp này được đưa vào cuvette và chuyển nạp bằng máy 4D Amaxa™

Nucleofector™ sử dụng chương trình EO - 115. Sau xung điện, tế bào được nuôi trong đĩa 6 giếng chứa 5 mL môi trường nuôi cấy, ủ 24 giờ trước khi đánh giá hiệu suất chuyển nạp và thực hiện đồng nuôi cấy với tế bào trình diện kháng nguyên nhân tạo (aAPC).

2.2.5. Đồng nuôi cấy CAR - T và tế bào CD19+

Các tế bào dòng Daudi, 1D2 hoặc K562 được chuẩn bị ở nồng độ 5x10⁶ tế bào/mL, sau đó chiếu xạ bằng tia X - ray ở liều 100 Gy để bất hoạt khả năng phân chia. Sau chiếu xạ, tế bào được rửa hai lần bằng PBS 1X, rồi bảo quản đông sâu ở - 80°C trong môi trường chứa FBS và 10% DMSO với nồng độ 10⁷ tế bào/mL. Trước khi sử dụng, tế bào được rã đông nhanh tại 37°C, rửa lại bằng RPMI 1640 và PBS 1X, rồi tái huyền phù về nồng độ ban đầu. Các dòng tế bào đích được đồng nuôi cấy với CAR - T theo tỉ lệ 1:1 để đánh giá hoạt tính của tế bào CAR - T sau chuyển nạp [6].

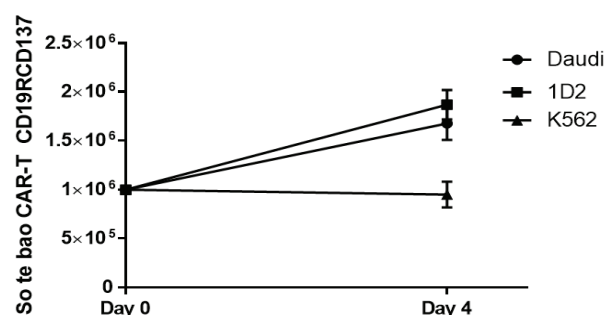
2.2.6. Xử lý và phân tích số liệu

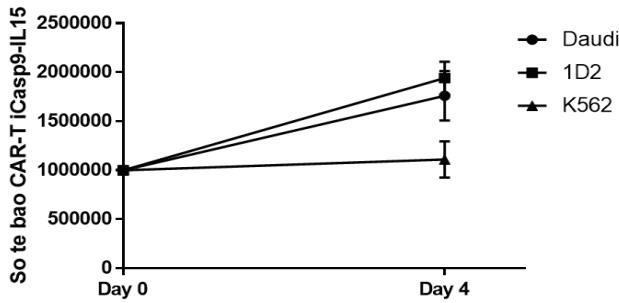
Dữ liệu về khả năng tăng sinh của tế bào CAR - T sau khi đồng nuôi cấy với các dòng tế bào biểu hiện hoặc không biểu hiện kháng nguyên CD19 được thu thập theo từng mốc thời gian nuôi cấy (ngày thứ 4 và ngày thứ 11). Số lượng tế bào sống và chết được xác định thông qua nhuộm Trypan Blue và đếm bằng buồng đếm hoặc máy đếm tự động. Ngoài ra, phân tích dòng chảy tế bào (flow cytometry) được sử dụng để đánh giá sự hiện diện và tỉ lệ sống còn của tế bào CAR - T, đồng thời xác nhận sự biểu hiện đặc hiệu của cấu trúc CAR trên bề mặt tế bào T.

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và GraphPad Prism. Các biểu đồ tăng sinh được xây dựng nhằm so sánh sự thay đổi số lượng tế bào CAR - T giữa các nhóm nuôi cấy với tế bào đích CD19+ (Daudi, 1D2) và nhóm đối chứng (K562 không biểu hiện CD19). Khả năng tăng sinh được đánh giá dựa trên số lượng tuyệt đối tế bào thu nhận được theo thời gian, đồng thời phân tích xu hướng tăng/giảm nhằm đánh giá mối liên hệ giữa sự hiện diện của CD19 và mức độ tăng sinh của CAR - T CD19RCD137 và CAR - T iCasp9 - IL15.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Khả năng tăng sinh của CAR - T khi nuôi cấy với các dòng tế bào CD19+



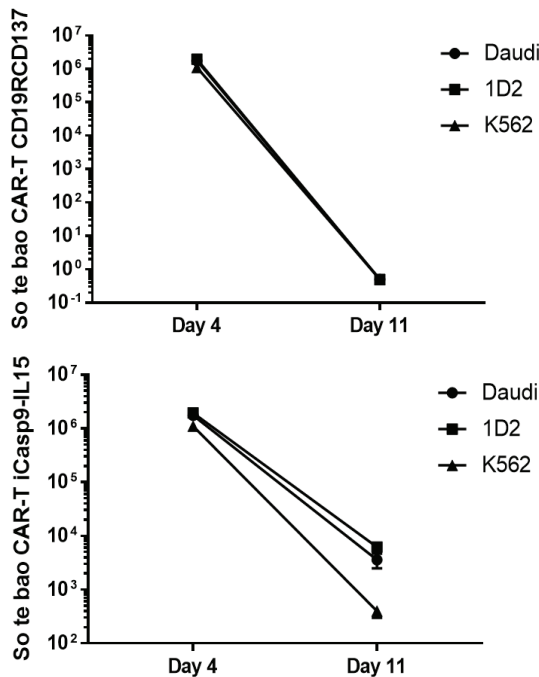


Hình 1. Khả năng tăng sinh của CAR - T CD19RCD137 và CAR - T iCasp9 - IL15 khi đồng nuôi cấy với các dòng tế bào CD19+ và tế bào K562

Biểu đồ 1 thể hiện sự thay đổi số lượng tế bào CAR - T CD19RCD137 (trên) và CAR - T iCasp9 - IL15 (dưới) sau 4 ngày đồng nuôi cấy với các dòng tế bào Daudi, 1D2 (đều biểu hiện CD19) và K562 (không biểu hiện CD19).

Đối với CAR - T CD19RCD137, số lượng tế bào tăng đáng kể khi đồng nuôi cấy với Daudi và 1D2, trong khi số lượng giảm nhẹ khi nuôi với K562, cho thấy sự phụ thuộc vào kháng nguyên CD19 trong việc kích thích tăng sinh.

Tương tự, CAR - T iCasp9 - IL15 cũng tăng sinh rõ rệt khi đồng nuôi với tế bào CD19+ (Daudi, 1D2), nhưng mức độ tăng sinh thấp hơn khi nuôi với K562, cho thấy thể hệ CAR - T này vẫn có khả năng tăng sinh nhất định ngay cả khi không có sự hiện diện của CD19.



Hình 2. Sự thay đổi số lượng tế bào CAR - T 9RCD137 và CAR - T iCasp9 - IL15 từ ngày 4 đến ngày 11 sau khi đồng nuôi cấy với các dòng tế bào Daudi, 1D2 và K562

Biểu đồ 2 thể hiện số lượng tế bào CAR - T CD19RCD137 ở các nhóm sau 4 ngày và 11 ngày nuôi cấy. Kết quả cho thấy số lượng tế bào giảm mạnh ở tất cả các nhóm, đặc biệt không còn phát hiện tế bào sống ở ngày thứ 11, bất kể được nuôi với dòng tế bào biểu hiện CD19 (Daudi, 1D2) hay không biểu hiện CD19 (K562).

Tế bào CAR - T iCasp9 - IL15 cũng có xu hướng giảm đáng kể về số lượng từ ngày 4 đến ngày 11. Tuy nhiên, khác với CAR - T CD19RCD137, một lượng nhỏ CAR - T iCasp9 - IL15 vẫn được phát hiện ở ngày thứ 11, đặc biệt là khi đồng nuôi với Daudi và 1D2, cho thấy loại tế bào này có khả năng sống sót tốt hơn sau thời gian nuôi cấy kéo dài.

4. BÀN LUẬN

Việc đánh giá khả năng tăng sinh của tế bào CAR - T trong các điều kiện nuôi cấy in vitro là bước quan trọng nhằm xác định tiềm năng phát triển tiền lâm sàng của liệu pháp tế bào T. Trong nghiên cứu này, để mô phỏng môi trường đồng nuôi cấy không bị ảnh hưởng bởi sự nhân lên của tế bào đích, các dòng tế bào Daudi, 1D2 và K562 đã được chiếu xạ bằng tia X với liều 100 Gy để bất hoạt khả năng phân chia trước khi tiến hành đồng nuôi cấy với CAR - T. Kết quả cho thấy cả hai dòng tế bào CAR - T - CD19RCD137 và iCasp9 - IL15 đều có khả năng tăng sinh khi tiếp xúc với tế bào biểu hiện CD19. Điều này phù hợp với nhiều nghiên cứu trước đây, vốn đã ghi nhận khả năng nhận diện đặc hiệu CD19 và hoạt tính tiêu diệt mạnh mẽ của CAR - T đối với các dòng tế bào B ác tính, cả trong môi trường in vitro và in vivo [7].

Điểm đáng chú ý là CAR - T CD19RCD137 không tăng sinh khi nuôi với tế bào K562 không biểu hiện CD19 và thậm chí có xu hướng giảm số lượng trong 4 ngày nuôi cấy. Ngược lại, CAR - T iCasp9 - IL15 vẫn tăng nhẹ về số lượng khi được nuôi với K562, cho thấy ưu thế của thể hệ CAR - T này. Thiết kế tích hợp IL - 15 trong cấu trúc CAR có thể đóng vai trò hỗ trợ tồn tại và tăng sinh độc lập một phần với tín hiệu từ kháng nguyên CD19, phù hợp với cơ chế đã được đề xuất trong các nghiên cứu trước, nơi IL - 15 giúp duy trì khả năng sống và chức năng của tế bào T hiệu quả hơn trong môi trường ức chế miễn dịch [8].

Sau 4 ngày đồng nuôi cấy ban đầu, môi trường được thay mới hoàn toàn mà không bổ sung thêm tế bào CD19+, nhằm đánh giá khả năng tồn tại dài hạn của CAR - T trong điều kiện thiếu kháng nguyên đích. Kết quả ở ngày nuôi thứ 11 cho thấy gần như toàn bộ tế bào CAR - T CD19RCD137 biến mất, trong khi số lượng CAR - T iCasp9 - IL15 cũng giảm mạnh nhưng vẫn còn tồn tại một tỉ lệ nhỏ. Điều này phản ánh nhu cầu thiết yếu của CAR - T đối với kháng nguyên CD19 để duy trì sự tăng sinh sinh lý, đồng thời khẳng định rằng các thiết kế CAR - T có tích hợp yếu tố hỗ trợ như IL - 15 có thể cải thiện khả năng sống sót và hiệu suất điều trị trong môi trường thiếu kháng nguyên - một đặc điểm thường thấy ở các khối u thoát miễn dịch.

Kết quả nghiên cứu cũng mở rộng nhận thức về tầm quan trọng của thời gian và điều kiện nuôi cấy. Sau 11 ngày nuôi cấy không có CD19, hiện tượng kiệt sức và mất khả năng tồn tại là rõ rệt, nhất là ở CAR - T CD19RCD137. Điều này phù hợp với các báo cáo cho thấy rằng thời gian nuôi cấy kéo dài, đặc biệt trong môi trường thiếu kích thích, làm tăng biểu hiện các dấu hiệu kiệt sức miễn dịch như PD - 1, TIM - 3, và LAG - 3, làm suy giảm khả năng tăng sinh và tiêu diệt khối u của CAR - T [9]. Ngoài ra, các yếu tố như tình trạng thiếu oxy (hypoxia), adenosine ngoại bào, và các tín hiệu chuyển hóa bất lợi trong vi môi trường u cũng được biết là có thể ức chế mạnh mẽ hiệu suất của CAR - T [10].

Về mặt ứng dụng, kết quả này cung cấp bằng chứng rõ ràng rằng sự hiện diện liên tục của kháng nguyên CD19 là cần thiết cho quá trình tăng sinh và tồn tại của CAR - T sau khi truyền. Điều này có ý nghĩa đặc biệt trong điều trị các khối u B - cell, nơi kháng nguyên có thể mất dần sau liệu pháp do hiện tượng “antigen escape”. Đồng thời, dữ liệu này cũng nhấn mạnh tiềm năng của việc thiết kế CAR - T tích hợp các cytokine như IL - 15, hoặc kết hợp các yếu tố đồng kích thích như CD28/ICOS nhằm tối ưu hóa khả năng chống ung thư và duy trì hiệu lực lâu dài trong cơ thể người bệnh [11].

Ngoài yếu tố tăng sinh, tính bền vững về chức năng của tế bào CAR - T trong môi trường thiếu vắng kháng nguyên cũng là một khía cạnh quan trọng cần được quan tâm trong bối cảnh lâm sàng. Một trong những thách thức lớn trong điều trị bằng CAR - T là hiện tượng “antigen loss” - mất biểu hiện kháng nguyên đích như CD19 trên bề mặt tế bào u sau liệu pháp, dẫn đến tái phát bệnh và thất bại điều trị. Các nghiên cứu gần đây đã cho thấy rằng sự mất kháng nguyên có thể xảy ra thông qua cơ chế thay đổi splice, đột biến hoặc chọn lọc dòng không mang kháng nguyên (escape variants). Trong bối cảnh này, các thiết kế CAR - T có khả năng tồn tại và duy trì trạng thái sẵn sàng hoạt động, ngay cả trong giai đoạn không có kháng nguyên, là cần thiết để tạo nên hiệu ứng “giám sát miễn dịch” dài hạn, phòng ngừa tái phát. CAR - T iCasp9 - IL15, với sự hỗ trợ từ IL - 15 nội sinh, có thể là một đại diện phù hợp cho hướng tiếp cận này, bởi IL - 15 đã được chứng minh là có khả năng hỗ trợ tế bào T nhớ trung tâm (Tcm) và T nhớ dạng hiệu ứng (Tem), kéo dài thời gian sống và duy trì chức năng miễn dịch lâu dài.

Hơn nữa, kết quả nghiên cứu còn mở ra triển vọng về việc kết hợp CAR - T với các công nghệ điều biến miễn dịch khác để vượt qua rào cản trong vi môi trường u. Ví dụ, việc chỉnh sửa gen để giảm biểu hiện thụ thể ức chế như PD - 1 hoặc LAG - 3, hay tích hợp các thụ thể đồng kích thích nhân tạo (synthetic co - stimulatory receptors) đã được đề xuất nhằm nâng cao chức năng và khả năng chống chịu của CAR - T trong môi trường giàu tín hiệu ức chế. Ngoài ra, các chiến lược “armor CAR - T”, như bổ sung IL - 18, IL - 12, hoặc các enzyme chuyển hóa adenosine (như ADA), đã cho thấy hiệu quả trong việc cải thiện tăng sinh và độc tính miễn dịch trong các mô hình tiền lâm sàng (DeBenedette và cộng sự, 2023;

Klysz và cộng sự, 2022). Đây là hướng phát triển có tiềm năng cao, đặc biệt đối với các loại ung thư rắn hoặc các ca bệnh tái phát kháng trị.

Cuối cùng, để hướng tới ứng dụng lâm sàng, các nghiên cứu tiền lâm sàng cần mở rộng thêm các đánh giá chức năng như khả năng tiết cytokine, khả năng tiêu diệt tế bào đích thời gian thực (real - time killing), và đánh giá kiểu hình miễn dịch bằng flow cytometry đa thông số. Bên cạnh đó, việc xây dựng các mô hình đồng nuôi cấy 3D hoặc sử dụng vi chip mô phỏng vi môi trường u (tumor - on - chip) sẽ giúp mô phỏng chính xác hơn điều kiện in vivo. Đây là bước quan trọng nhằm chuyển đổi từ nghiên cứu in vitro đơn lớp sang các mô hình tiền lâm sàng có độ tin cậy cao hơn. Đồng thời, nghiên cứu cũng cần mở rộng đánh giá độc tính tiềm ẩn như hội chứng giải phóng cytokine (CRS) và độc tính thần kinh (ICANS), những biến chứng thường gặp trong lâm sàng, để đảm bảo an toàn trước khi thử nghiệm trên người. Những bước đi này sẽ giúp thu hẹp khoảng cách giữa nghiên cứu cơ bản và ứng dụng điều trị, tạo điều kiện để CAR - T tiếp tục khẳng định vai trò tiên phong trong liệu pháp miễn dịch cá thể hóa.

Tuy nhiên, nghiên cứu vẫn tồn tại một số hạn chế nhất định. Thứ nhất, chỉ số tăng sinh được đánh giá dựa trên số lượng tế bào sống mà chưa phân tích sâu về kiểu hình miễn dịch hoặc dấu hiệu kiệt sức của CAR - T sau nuôi cấy. Thứ hai, hiệu quả tiêu diệt tế bào đích chưa được đo lường trực tiếp qua các chỉ số chức năng như phóng thích IFN - γ , TNF - α hay đánh giá tỉ lệ tiêu diệt qua mô hình co - culture hoặc real - time killing assay. Ngoài ra, mô hình nuôi cấy hiện tại chưa mô phỏng được các yếu tố vi mô khối u như hypoxia, gradient cytokine hay tác động của tế bào ức chế miễn dịch (Tregs, MDSCs), điều vốn có thể ảnh hưởng lớn đến hiệu quả thực tế của liệu pháp.

5. KẾT LUẬN

Tổng kết lại, nghiên cứu này cung cấp bằng chứng thực nghiệm cho thấy CAR - T phụ thuộc vào sự hiện diện của kháng nguyên CD19 để duy trì sự tăng sinh, và các thiết kế CAR tích hợp IL - 15 có thể mang lại ưu thế sinh tồn nhất định trong điều kiện thiếu kích thích. Những kết quả này góp phần quan trọng vào quá trình phát triển và sàng lọc CAR - T trước lâm sàng, đồng thời mở ra hướng tiếp cận mới trong việc thiết kế cấu trúc CAR nhằm nâng cao hiệu quả điều trị ung thư huyết học và cải thiện độ bền của tế bào sau truyền.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Curran K.J, Brentjens R.J, Chimeric antigen receptor T cells for cancer immunotherapy, 2015, 33 (15): 1703-6.
- [2] Maus M.V, Grupp S.A, Porter D.L, June C.H, The Journal of the American Society of Hematology, Antibody-modified T cells: CARs take

- the front seat for hematologic malignancies, 2014, 123 (17): 2625-35.
- [3] Brentjens R.J, Davila M.L, Riviere I, Park J, Wang X, Cowell L.G et al, CD19-targeted T cells rapidly induce molecular remissions in adults with chemotherapy-refractory acute lymphoblastic leukemia, 2013, 5 (177): 177ra38-ra38.
 - [4] Grupp S.A, Kalos M, Barrett D, Aplenc R, Porter D.L, Rheingold S.R et al, Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia, 2013, 368 (16): 1509-18.
 - [5] Maude S.L, Frey N, Shaw P.A, Aplenc R, Barrett D.M, Bunin N.J et al, Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia, 2014, 371 (16): 1507-17.
 - [6] Kim G.H, Dang H.N, Phan M.T.T, Kweon S.H, Chun S, Cho D, X-ray as irradiation alternative for K562 feeder cell inactivation in human natural killer cell expansion, 2018, 38 (10): 5767-72.
 - [7] Hu S.I, Ko M.C, Dai Y.H, Lin H.A, Chen L.C, Huang K.Y et al, Pre-clinical assessment of chimeric antigen receptor t cell therapy targeting CD19+ B cell malignancy, 2020, 8 (9): 584.
 - [8] Mark D, Terence J.P, James Ryan M, Ana P, Marcus S.N, Alicia G et al, CD19-CAR Cytokine Induced Killer Cells Armored with IL-18 Control Tumor Burden, Prolong Mouse Survival and Result in In Vivo Persistence of CAR-Clk Cells in a Model of B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia, Blood, 2023, 142 (Supplement 1): 6826, 10.1182/blood-2023-178793.
 - [9] Prativa S, Xin Y, Daniel A, Davide M, Vikram A, David F et al, Mathematical deconvolution of CAR T-cell proliferation and exhaustion from real-time killing assay data. Journal of the Royal Society Interface, 2020, 17 (162): 20190734, 10.1098/RSIF.2019.0734.
 - [10] Dorota K, Meena M, Katherine A.F, Malek B, Louai L, Peng X et al, Abstract 1362: Metabolic engineering of CAR-T cells overcomes suppressive adenosine signaling and enhances functionality, Cancer Research, 2022, 82 (12 Supplement): 1362, 10.1158/1538-7445.am2022-1362.
 - [11] Jianghua W, Luo W, Lu T, ZhaoZhao C, Jie Z, Chenggong L et al, Dual Co-Stimulation with CD28 and ICOS Enhances T Cell Activation and Optimizes CAR-T Cell Antitumor Activity, Blood, 2023, 10.1182/blood-2023-181472.