

tế địa phương cần tăng cường việc sàng lọc để phát hiện sớm rối loạn lo âu. Khuyến khích người dân tăng cường tập thể dục, cải thiện sức khỏe mình tốt hơn, đồng thời nâng cao kiến thức và kỹ năng ứng phó về thiên tai, bảo lụt cho đối tượng nghiên cứu.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **GBD 2019 Disease and Injuries Collaborators.** "Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019", *Lancet*, 2020; 396 (10258), pp. 1204-1222. doi: 10.1016/S0140-6736 (20)30925-9.
2. **Brådvik L.** "Suicide Risk and Mental Disorders", *Int J Environ Res Public Health*, 2018;15(9), pp. 1-4.
3. **Goldmann E, Galea S.** Mental health consequences of disasters. *Annu Rev Public Health*, 2014; 35:169-83. doi: 10.1146/annurev-publhealth-032013-182435
4. **Thủ tướng Chính phủ.** Quyết định số 353/QĐ-TTg ngày 15 tháng 3 năm 2022 về Phê duyệt

- dan sách huyện nghèo, xã đặc biệt khó khăn vùng bãi ngang, ven biển và hải đảo giai đoạn 2021-2025. 2022.
5. **Pollack A. A., Weiss B. và Trung L. T.** "Mental health, life functioning and risk factors among people exposed to frequent natural disasters and chronic poverty in Vietnam", *BJPsych Open*, 2016; 2(3), pp. 221-232. doi: 10.1192/bjpo.bp.115.002170
  6. **Kader Maideen S. F., Mohd Sidik S., Rampal L., Mukhtar F.** "Prevalence, associated factors and predictors of anxiety: a community survey in Selangor, Malaysia", *BMC Psychiatry*, 2015; 15, pp. 262.
  7. **Clare E French, Thomas D Waite, Ben Armstrong, et al.** "Impact of repeat flooding on mental health and health-related quality of life: a cross-sectional analysis of the English National Study of Flooding and Health", *BMJ Open*, 2019; 9(11), pp. e031562.
  8. **Stanke Carla, Virginia Murray, Richard Amlôt, Dr Jo Nurse, Richard Williams.** "The effects of flooding on mental health: Outcomes and recommendations from a review of the literature", *PLoS Curr*, 2012; 4, pp. e4f9f1fa9c3cae.

## ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG BÀI TIẾT TNF- $\alpha$ CỦA TẾ BÀO CAR-T KẾT HỢP VỚI KHÁNG THỂ KHÁNG PD-1 IN VITRO

Nguyễn Thị Hiền Hạnh<sup>1,2</sup>, Bùi Khắc Cường<sup>1</sup>

#### TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Đánh giá khả năng bài tiết TNF- $\alpha$  của tế bào CAR-T kết hợp với kháng thể kháng PD-1. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu thực nghiệm tiến cứu trên 3 dòng tế bào bao gồm: 2 dòng tế bào ung thư CD19(+) (Daudi và Raji) và 1 dòng tế bào CD19(-) (K562). Cả 3 dòng tế bào được đồng nuôi cấy với 4 nhóm PBMC (Peripheral Blood Mononuclear Cell - tế bào đơn nhân máu ngoại vi), kháng thể kháng PD-1 (PD-1 Ab), CAR-T và CAR-T phối hợp với kháng thể kháng PD-1. Nồng độ cytokine TNF- $\alpha$  tại thời điểm 24 giờ và 48 giờ được xác định bằng bộ sinh phẩm TNF- $\alpha$  Human ELISA Kit của hãng Thermo Fisher Scientific. **Kết quả:** Ở cả hai thời điểm 24 giờ và 48 giờ, nồng độ TNF- $\alpha$  trong dịch nuôi cấy của tế bào CAR-T và CAR-T kết hợp với kháng thể kháng PD-1 khi nuôi cấy với các tế bào ung thư bạch cầu Daudi và Raji có CD19(+) đều cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nồng độ TNF- $\alpha$  trong dịch nuôi cấy của tế bào trên với tế bào PBMC (nhóm chứng) và tế bào CD19(-). Tuy nhiên, không thấy có sự khác biệt về các nồng độ cytokine này ở nhóm điều trị đơn liệu pháp tế bào CAR-T và kết hợp tế bào CAR-T với kháng thể kháng

PD-1 ( $p > 0,05$ ). **Kết luận:** Nồng độ TNF- $\alpha$  tăng lên trong dịch nuôi cấy của tế bào CAR-T và CAR-T kết hợp với PD-1 Ab khi nuôi cấy với các tế bào ung thư. Đặc biệt khi nuôi với tế bào có CD19(+) nồng độ TNF- $\alpha$  tăng cao hơn so với khi nuôi cấy với tế bào CD19(-).

**Từ khóa:** CAR-T, PD-1 Ab, TNF- $\alpha$

#### SUMMARY

#### EVALUATION OF TNF- $\alpha$ SECRETION CAPACITY OF CAR-T CELLS IN COMBINATION WITH ANTI-PD-1 ANTIBODIES IN VITRO

**Objective:** To evaluate the TNF- $\alpha$  secretion capacity of CAR-T cells in combination with anti-PD-1 antibodies. **Materials and methods:** We performed a prospective experimental study on 3 cell lines, including 2 CD19(+) leukemia cell lines (Daudi and Raji) and 1 CD19(-) cell line (K562). All 3 cell lines were co-cultured with 4 groups of PBMC (Peripheral Blood Mononuclear Cell), anti-PD-1 antibody (PD-1 Ab), CAR-T cells only, and CAR-T cells in combination with anti-PD-1 antibodies. The TNF- $\alpha$  secretion capacity at 24 and 48 hours after co-culture was determined using the TNF- $\alpha$  Human ELISA Kit from Thermo Fisher Scientific. **Results:** At both 24 and 48 hours, TNF- $\alpha$  concentrations in the group of CAR-T cells only and CAR-T cells in combination with anti-PD-1 antibodies when co-cultured with CD19(+) leukemia cell lines (Daudi and Raji) were significantly higher than in the PBMC cells (control group) co-cultured with CD19(+) leukemia cell lines and the CD19(-) cell line. However, there was no difference in TNF- $\alpha$  concentrations between the CAR-T cell only and CAR-T

<sup>1</sup>Học viện Quân y

<sup>2</sup>Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

Chịu trách nhiệm chính: Bùi Khắc Cường

Email: buikhaccuong@gmail.com

Ngày nhận bài: 22.4.2024

Ngày phản biện khoa học: 14.6.2024

Ngày duyệt bài: 5.7.2024

cells in combination with anti-PD-1 antibodies ( $p > 0.05$ ). **Conclusion:** TNF- $\alpha$  concentrations increased in culture media of CAR-T cells and CAR-T combined with PD-1 Ab when co-cultured with cancer cells. Especially when cultured with CD19(+) cells, TNF- $\alpha$  concentrations increased higher than when cultured with CD19(-) cells.

**Keywords:** CAR-T, PD-1 Ab, TNF- $\alpha$

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các tế bào lympho T sở hữu thụ thể tế bào đặc hiệu, nhạy cảm và tương tác với các tín hiệu ung thư, qua đó kích thích đáp ứng miễn dịch khi xác định được các kháng nguyên ung thư. Tuy nhiên, tế bào T thông thường chỉ có thể tấn công yếu ớt hoặc không thể chống lại tế bào ung thư đã bị biến đổi do: tính sinh kháng nguyên nghèo nàn, không biểu hiện kiểu hình rõ ràng và khả năng tương tác và ức chế đáp ứng miễn dịch cao của các tế bào biến đổi [1]. Do vậy thụ thể kháng nguyên dạng khảm (Chimeric Antigen Receptors, CARs) đã được phát triển để kích thích và hoạt hoá đáp ứng của tế bào T chống lại tế bào ung thư [1], [2]. Cơ chế tác động chính của tế bào CAR-T là do CARs chuyển các tín hiệu nhận dạng kháng nguyên thành một thác truyền tín hiệu tác động lên các chức năng đáp ứng của tế bào T như: tiết các nhân tố gây độc, các cytokine tiền viêm. PD-1, một protein trên bề mặt của tế bào T, có vai trò hoạt hóa tế bào T để chống lại khối u [3]. Sự hiện diện của PD-1 trên bề mặt tế bào CAR-T được cho là góp phần làm giảm chức năng của liệu pháp CAR-T, đặc biệt là trong khối u rắn. Do vậy phong tỏa PD-1 trên tế bào CAR-T bằng chất ức chế hoặc kháng thể loại trừ PD-1 giúp tăng cường hiệu quả tiêu diệt khối u của tế bào CAR-T [4]. Kháng thể kháng PD-1 sẽ kích hoạt tế bào CAR-T giúp tăng cường hiệu quả, nâng cao chức năng của tế bào CAR-T từ đó sẽ cải thiện được tiên lượng, giảm sự xuất hiện tác dụng phụ cũng như hiệu quả điều trị. Tế bào CAR-T kết hợp với kháng thể kháng PD-1 đã được sử dụng rộng rãi trong các mô hình tiền lâm sàng và thử nghiệm lâm sàng để nâng cao hiệu quả của liệu pháp điều trị ung thư. Phong tỏa PD-1 được coi là một hướng mới đầy hứa hẹn để cải thiện chức năng của tế bào CAR-T mang lại hiệu quả điều trị tốt [5]. Trên thế giới đã có các nghiên cứu kết hợp hai liệu pháp trên bệnh ung thư hạch và có hiệu quả tốt hơn so với điều trị đơn lẻ.

Yếu tố hoại tử khối u alpha (TNF- $\alpha$ ) là một cytokine tiền viêm được sản xuất và tiết ra bởi các tế bào lympho gây độc tế bào khi nhận ra mục tiêu của khối u, đóng vai trò quan trọng trong liệu pháp miễn dịch điều trị ung thư. Do

đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm đánh giá khả năng bài tiết TNF- $\alpha$  của liệu pháp điều trị kết hợp kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 với tế bào CAR-T trên thực nghiệm để có cơ sở cho việc phát triển kỹ thuật này và ứng dụng trong điều trị trên lâm sàng.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng, vật liệu nghiên cứu

#### 2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

- Tế bào CAR-T CD19+ (sản phẩm của đề tài mã số KC 10.39/16-20).

- Kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 được nhập khẩu từ Mỹ dưới tên thương mại là Keytruda hàm lượng 25mg/ml.

- Tế bào Daudi (ATCC CCL-231) dòng tế bào ung thư hạch lympho CD19(+) Burkitt (ATCC, Hoa Kỳ). Tế bào Raji (ATCC CCL-86) là dòng tế bào ung thư bạch cầu lympho B CD19(+). Tế bào K562 (ATCC CCL-243) dòng tế bào ung thư bạch cầu mạn tính dòng tủy CD19(-).

#### 2.1.2. Nguyên vật liệu nghiên cứu

- Các loại môi trường nuôi cấy tế bào: TexMACS, RPMI pha với 10% dung dịch FBS (fetal bovin serum) huyết thanh bào thai bò và 1% kháng sinh penicillin, streptomycin.

- Các loại vật tư tiêu hao cho nuôi cấy tế bào: Đĩa và chai nuôi cấy tế bào các kích thước (Chai T75, T25; Đĩa 10cm, 6cm, 6 giếng, 12 giếng, 24 giếng). Ống falcon các kích cỡ khác nhau (50ml, 15ml). Đầu côn, eppendorf, lọc vi khuẩn 0,45  $\mu$ m (ATCC, Hoa Kỳ) và một số dụng cụ tiêu hao khác.

- Hệ thống phòng thí nghiệm sạch đảm bảo tiêu chuẩn phục vụ nuôi cấy tế bào, kính hiển vi soi ngược, tủ ẩm CO<sub>2</sub>, máy ly tâm, tủ mát 4°C, tủ -20°C, tủ -80°C, bình bảo quản chứa Nitơ lỏng.

- Bộ kit ELISA định lượng nồng độ TNF- $\alpha$  (Thermo Fisher Scientific).

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

\* **Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu được tiến hành theo phương pháp thực nghiệm, can thiệp, tiến cứu. Nghiên cứu có so sánh với nhóm chứng.

Khả năng bài tiết cytokine của các tế bào CAR-T phối hợp với kháng thể kháng PD-1 khi đồng nuôi cấy với tế bào CD19+ sẽ được tiến hành trên hai dòng tế bào ung thư CD19+ là Daudi và Raji tại 2 thời điểm 24 giờ và 48 giờ bằng phương pháp ELISA. Tế bào CD19(-) được sử dụng đối chứng là K562 và nhóm chứng sử dụng tế bào PBMC.

- Nghiên cứu được thiết kế trên 4 nhóm:

+ Nhóm PBMC (chứng) (n=3): 10<sup>6</sup>/mL tế bào PBMC được nuôi đồng thời cùng 10<sup>6</sup>/mL tế

bào ung thư (Daudi/Raji/K562).

+ Nhóm PD-1 Ab (n=3):  $10^6$ /mL tế bào ung thư (Daudi/Raji/K562) được nuôi đồng thời cùng 20 $\mu$ g/mL PD-1 Ab.

+ Nhóm CAR-T (n=3):  $10^6$ /mL tế bào CAR-T được nuôi đồng thời cùng  $10^6$ /mL tế bào ung thư (Daudi/Raji/K562).

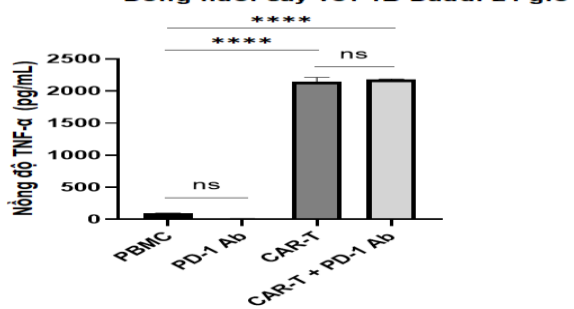
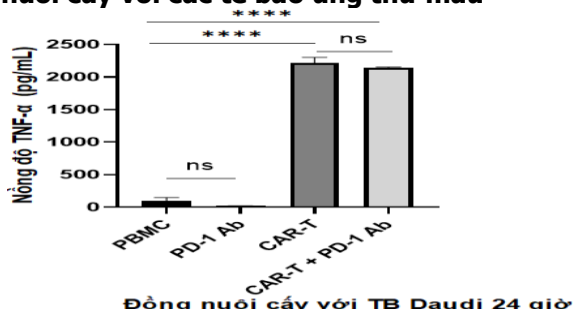
+ Nhóm CAR-T+PD-1 Ab (n=3):  $10^6$ /mL tế bào CAR-T + 20 $\mu$ g/mL PD-1 Ab được nuôi đồng thời cùng  $10^6$ /mL tế bào ung thư (Daudi/Raji/K562).

- Sau 24 giờ và 48 giờ hỗn hợp tế bào được thu và tách dịch nuôi cấy tế bào để định lượng nồng độ TNF- $\alpha$  bằng các bộ sinh phẩm TNF- $\alpha$  Human ELISA Kit của hãng Thermo Fisher Scientific.

**2.3. Xử lý thống kê.** So sánh trung bình của các nhóm bằng phân tích phương sai ANOVA một chiều. Xử lý số liệu nghiên cứu bằng phần mềm SPSS 20.0. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi  $p < 0,05$ .

### III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

**3.1. Kết quả so sánh khả năng bài tiết TNF- $\alpha$  giữa 4 nhóm nghiên cứu (PBMC, CAR-T, PD-1 và CAR-T + PD-1) khi đồng nuôi cấy với các tế bào ung thư máu**



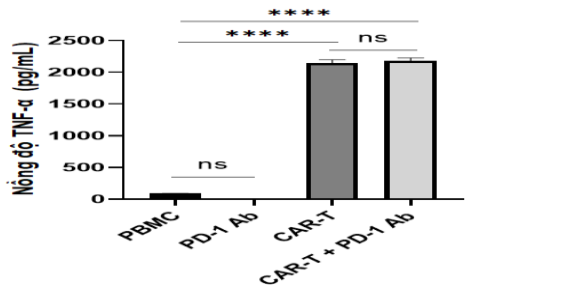
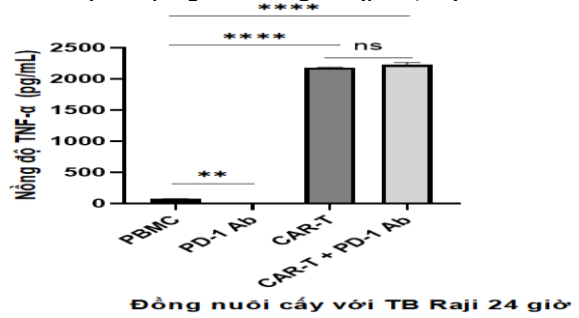
**Hình 3.1. So sánh khả năng bài tiết TNF- $\alpha$  khi đồng nuôi cấy với TB Daudi ở 4 nhóm sau 24 và 48 giờ**

(ns:  $p > 0,05$ ; \*\*\*\*:  $p < 0,0001$ )

Sau cả hai thời điểm 24 và 48 giờ kết quả cho thấy nồng độ TNF- $\alpha$  trong dịch nuôi cấy của tế bào CAR-T và CAR-T kết hợp với PD-1 Ab khi

đồng nuôi cấy với tế bào ung thư Daudi CD19+ đều cao hơn có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với nồng độ TNF- $\alpha$  trong dịch nuôi cấy của nhóm chứng tế bào PBMC.

Nồng độ TNF- $\alpha$  của nhóm PBMC cao hơn nhóm PD-1 Ab tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở cả hai thời điểm. Và cả hai thời điểm 24 và 48 giờ thì nồng độ IL-2 của nhóm CAR-T và CAR-T kết hợp với PD-1 Ab cũng không khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

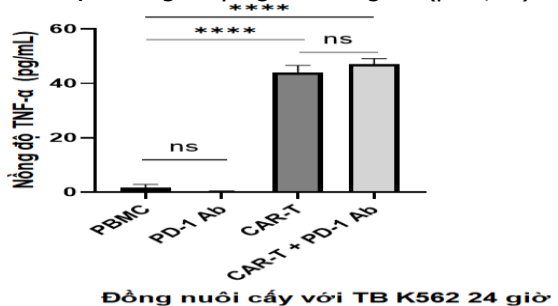


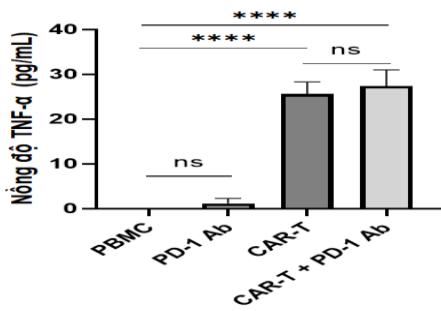
**Hình 3.2. So sánh khả năng bài tiết TNF- $\alpha$  khi đồng nuôi cấy với TB Raji ở 4 nhóm sau 24 và 48 giờ**

(ns:  $p > 0,05$ ; \*\*:  $p < 0,01$ ; \*\*\*\*:  $p < 0,0001$ )

Kết quả cho thấy tại thời điểm 24 và 48 giờ nồng độ TNF- $\alpha$  trong dịch nuôi cấy của tế bào CAR-T và CAR-T kết hợp với PD-1 Ab khi đồng nuôi cấy với tế bào ung thư Raji có CD19+ đều cao hơn có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với nồng độ TNF- $\alpha$  trong dịch nuôi cấy của nhóm chứng tế bào PBMC.

Cả hai thời điểm 24 và 48 giờ thì nồng độ IL-6 của nhóm CAR-T và CAR-T kết hợp với PD-1 Ab khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).



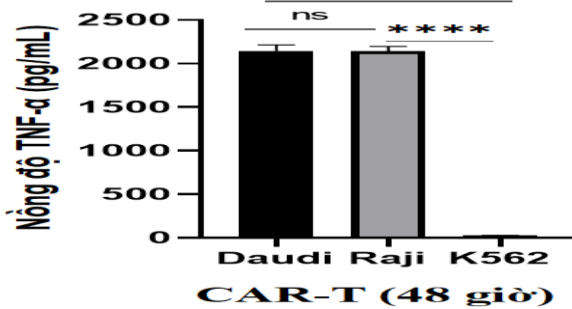
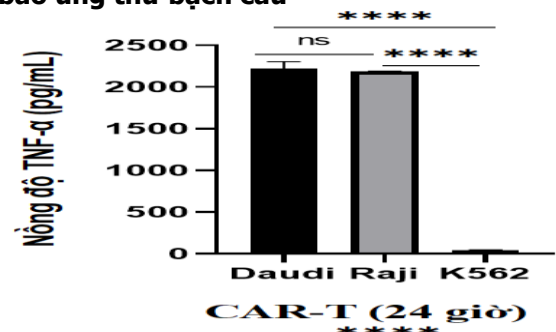


**Hình 3.3.** So sánh khả năng bài tiết TNF-α khi đồng nuôi cấy với TB K562 ở 4 nhóm sau 24 và 48 giờ

(ns:  $p > 0,05$ ; \*\*\*\*:  $p < 0,0001$ )

Nồng độ TNF-α trong dịch nuôi cấy của tế bào CAR-T và CAR-T kết hợp với PD-1 Ab khi đồng nuôi cấy với tế bào ung thư K562 CD19- tại cả hai thời điểm đều cao hơn có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với nồng độ TNF-α trong dịch nuôi cấy của nhóm chứng PBMC. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nồng độ TNF-α của nhóm PBMC và nhóm PD-1 Ab ( $p > 0,05$ ).

**3.2. Kết quả so sánh khả năng bài tiết TNF-α của tế bào CAR-T và CAR-T kết hợp với kháng thể kháng PD-1 với ba nhóm tế bào ung thư bạch cầu**

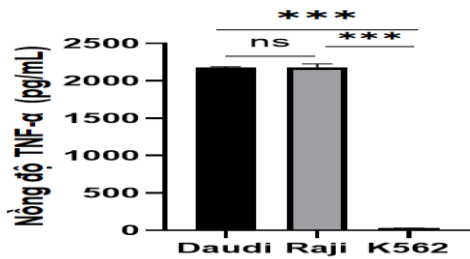
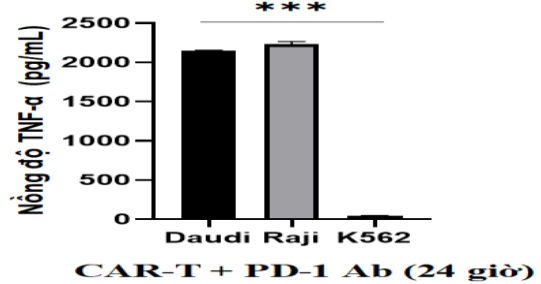


**Hình 3.4.** So sánh khả năng bài tiết TNF-α của TB CAR-T đồng nuôi cấy với TB ung thư bạch cầu sau 24 và 48 giờ

(ns:  $p > 0,05$ ; \*\*\*\*:  $p < 0,0001$ )

Nồng độ TNF-α trong dịch nuôi cấy của tế bào CAR-T khi nuôi cấy với các tế bào ung thư có CD19+ (Raji và Daudi) ở cả thời điểm 24 và

48 giờ đều cao hơn có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ) so với nồng độ TNF-α trong dịch nuôi cấy của tế bào CAR-T khi nuôi cấy với tế bào CD19- (K562). Nồng độ TNF-α trong dịch nuôi cấy của tế bào CAR-T khi nuôi cấy với các tế bào ung thư có CD19+ là Raji và Daudi thì không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).



**Hình 3.5.** So sánh khả năng bài tiết TNF-α của TB CAR-T kết hợp với PD-1 Ab đồng nuôi cấy với TB ung thư bạch cầu sau 24 và 48 giờ

(ns:  $p > 0,05$ ; \*\*\*\*:  $p < 0,001$ )

Nồng độ TNF-α trong dịch nuôi cấy của tế bào CAR-T kết hợp với kháng thể kháng PD-1 khi nuôi cấy với các tế bào ung thư có CD19+ (Raji và Daudi) ở cả thời điểm 24 và 48 giờ đều cao hơn có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với nồng độ TNF-α trong dịch nuôi cấy của tế bào CAR-T khi nuôi cấy với tế bào CD19- (K562).

**IV. BÀN LUẬN**

Tế bào CAR-T có thể tiêu diệt khối u theo cách phụ thuộc vào tiếp xúc (tiêu diệt trực tiếp) hoặc gián tiếp hơn, ví dụ, thông qua giải phóng cytokine (ví dụ, liên quan đến IFN-γ và TNF-α) hoặc bằng cách tác động lên các tế bào khác (tiêu diệt gián tiếp) [6]. Khi nhận ra các kháng nguyên khối u, tế bào CAR-T tiết ra các cytokine gây viêm, bao gồm IFN-γ và TNF-α, để gây ra hiện tượng chết của tế bào khối u, kích thích đại thực bào sản xuất cytokine. Ngoài ra, các đại thực bào có thể được kích hoạt bởi các cytokine do tế bào CAR-T sản xuất, chẳng hạn như TNF-α, IL-2, GM-CSF và IFN-γ [7]. Một trong những nguồn chính của các cytokine gây viêm là các tế bào tủy được kích hoạt trong quá trình trị liệu bằng tế bào CAR-T. Sau khi truyền và nhận dạng

tế bào đích, các tế bào CAR-T được kích hoạt và tiết ra nhiều yếu tố gây viêm khác nhau, chẳng hạn như GM-CSF, có thể kích hoạt các tế bào tủy và thúc đẩy sản xuất và bài tiết nhanh chóng các cytokine gây viêm như IL-6 và IL-1 $\beta$  góp phần gây độc tính gây viêm [8]. Để điều hòa các chức năng tác động tiêu diệt tế bào, tế bào T chủ yếu sử dụng hai con đường chính: xuất bào của các hạt gây độc tế bào có chứa perforin và granzyme, và sự biểu hiện của các phối tử họ yếu tố hoại tử khối u gắn màng (TNF), gây ra hiện tượng apoptosis của tế bào đích khi gắn kết với thụ thể tương ứng của chúng [9]. Trong khi thiết kế tế bào CAR-T dựa trên việc đạt được sự ly giải khối u thông qua tương tác trực tiếp giữa tế bào T và tế bào khối u, thì việc sản xuất cytokine bằng tế bào CAR-T được kích hoạt có thể tăng cường hơn nữa khả năng chống khối u của chúng [9]. TNF- $\alpha$  là yếu tố hoại tử khối u và là một trong những cytokine dồi dào nhất được tiết ra bởi các tế bào CAR-T khi xâm nhập khối u. TNF- $\alpha$  là chất trung gian chính của quá trình kích hoạt nội mô tế bào CAR-T gây ra. Mức độ TNF- $\alpha$  tăng cao đã được báo cáo ở những bệnh nhân điều trị bằng liệu pháp tế bào CAR-T, điều này có liên quan đến độc tính của tế bào CAR-T như hội chứng giải phóng cytokine CRS, hội chứng nhiễm độc thần kinh liên quan đến tế bào tác động miễn dịch ICANS [10]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy ở cả hai thời điểm 24 giờ và 48 giờ nồng độ TNF- $\alpha$  trong dịch nuôi cấy của tế bào CAR-T và CAR-T kết hợp với kháng thể kháng PD-1 khi nuôi cấy với các tế bào ung thư bạch cầu Daudi và Raji có CD19(+) đều cao hơn có ý nghĩa thống kê so với tế bào PBMC (nhóm chứng). Kết quả này phù hợp với các báo cáo trước đây về sự tăng nồng độ TNF- $\alpha$  sau liệu pháp tế bào CAR-T. Dựa vào cơ chế tác dụng của liệu pháp tế bào CAR-T có thể thấy điều này là hoàn toàn phù hợp. Tuy nhiên, không thấy có sự khác biệt về nồng độ cytokine này ở nhóm điều trị đơn liệu pháp tế bào CAR-T và kết hợp tế bào CAR-T với kháng thể kháng PD-1. Điều này cho thấy khi điều trị kết hợp hai liệu pháp khả năng bài tiết cytokine không tăng nên nguy cơ xảy ra tác dụng phụ mạnh hơn so với đơn liệu pháp tế bào CAR-T là chưa thấy trong nghiên cứu của chúng tôi.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy nồng độ TNF- $\alpha$  trong dịch nuôi cấy của tế bào CAR-T kết hợp với kháng thể kháng PD-1 khi đồng nuôi cấy với các tế bào ung thư có

CD19(+) (Raji và Daudi) ở cả thời điểm 24 giờ và 48 giờ đều cao hơn có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với nồng độ TNF- $\alpha$  trong dịch nuôi cấy của tế bào CAR-T khi đồng nuôi cấy với tế bào CD19(-) (K562). Kết quả này phù hợp với cơ chế tác dụng của liệu pháp tế bào CAR-T CD19 đặc hiệu trên tế bào CD19(+). Kết quả này gợi ý cho thấy khi điều trị kết hợp trên tế bào CD19(+) có sự tương tác kích thích làm tăng khả năng bài tiết TNF- $\alpha$  của tế bào CAR-T.

## V. KẾT LUẬN

Nồng độ TNF- $\alpha$  tăng lên trong dịch nuôi cấy của tế bào CAR-T và CAR-T kết hợp với PD-1 Ab khi nuôi cấy với các tế bào ung thư. Đặc biệt khi nuôi với tế bào có CD19(+) nồng độ TNF- $\alpha$  tăng cao hơn so với khi nuôi cấy với tế bào CD19(-).

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **D'Aloia M. M., Zizzari I. G., Sacchetti B., et al.** (2018). CAR-T cells: the long and winding road to solid tumors. *Cell Death Dis*, 9(3): 282.
2. **Dai H., Wang Y., Lu X., et al.** (2016). Chimeric Antigen Receptors Modified T-Cells for Cancer Therapy. *J Natl Cancer Inst*, 108(7).
3. **Han Y., Liu D., Li L.** (2020). PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer. *Am J Cancer Res*, 10(3): 727-742.
4. **Wang Z., Li N., Feng K., et al.** (2021). Phase I study of CAR-T cells with PD-1 and TCR disruption in mesothelin-positive solid tumors. *Cell Mol Immunol*, 18(9): 2188-2198.
5. **Zhou Y., Mu W., Wang C., et al.** (2023). Ray of dawn: Anti-PD-1 immunotherapy enhances the chimeric antigen receptor T-cell therapy in Lymphoma patients. *BMC Cancer*, 23(1): 1019.
6. **Boulch M., Cazaux M., Loe-Mie Y., et al.** (2021). A cross-talk between CAR T cell subsets and the tumor microenvironment is essential for sustained cytotoxic activity. *Sci Immunol*, 6(57).
7. **Xiao Xinyi, Huang Shengkang, Chen Sifei, et al.** (2021). Mechanisms of cytokine release syndrome and neurotoxicity of CAR T-cell therapy and associated prevention and management strategies. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 40(1): 367.
8. **Fischer J. W., Bhattarai N.** (2021). CAR-T Cell Therapy: Mechanism, Management, and Mitigation of Inflammatory Toxicities. *Front Immunol*, 12: 693016.
9. **Meiraz A., Garber O. G., Harari S., et al.** (2009). Switch from perforin-expressing to perforin-deficient CD8(+) T cells accounts for two distinct types of effector cytotoxic T lymphocytes in vivo. *Immunology*, 128(1): 69-82.
10. **Chen Y., Li R., Shang S., et al.** (2021). Therapeutic Potential of TNF $\alpha$  and IL1 $\beta$  Blockade for CRS/ICANS in CAR-T Therapy via Ameliorating Endothelial Activation. *Front Immunol*, 12: 623610.