

round spermatid injection into oocytes: survey of their development from fertilization to 2 years of age. *Fertility and Sterility*, 2018. 110(3): p. 443-451.

9. **Kishigami, S., et al.**, Epigenetic abnormalities of the mouse paternal zygotic genome associated with microinsemination of round spermatids. *Developmental biology*, 2006. 289(1): p. 195-205.

10. **Minh, N., et al.** Histone Deacetylase Inhibitor Corrects Histone H3K9 Modification in Round Spermatid DNA at the 2-Cell Stage and Increases the Development of ROSI Embryos. in 6th International Conference on the Development of Biomedical Engineering in Vietnam (BME6) 6. 2018. Springer.

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG LY GIẢI CÁC DÒNG TẾ BÀO UNG THƯ CD19(+) CỦA LIỆU PHÁP ĐIỀU TRỊ KẾT HỢP TẾ BÀO CAR-T VỚI KHÁNG THỂ ĐƠN DÒNG ỨC CHẾ PD-1 TRÊN THỰC NGHIỆM

Nguyễn Thị Hiền Hạnh^{1,2}, Cán Văn Mão¹, Ngô Thu Hằng¹, Đặng Thùy Linh¹, Bùi Khắc Cường¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá khả năng ly giải các dòng tế bào ung thư CD19(+) của liệu pháp điều trị kết hợp tế bào CAR-T CD19 với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 trên thực nghiệm. **Đối tượng và phương pháp:** Đây là một nghiên cứu tiền cứu thực nghiệm. Tế bào ung thư Daudi, Raji (CD19+) hoặc K562 (CD19-) (target, nhuộm CFSE) được đồng nuôi cấy với tế bào PBMC, CAR-T (effector) theo tỷ lệ 1:2, 1:5, 1:10. Kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 điều trị với nồng độ 20µg/mL. Sau 6 tiếng đồng nuôi cấy, tế bào được nhuộm 7AAD và phân tích bằng máy flowcytometry để đánh giá tỷ lệ tế bào sống chết. **Kết quả:** Tế bào CAR-T và CAR-T kết với với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 có tác dụng ly giải tế bào ung thư CD19+. Nhóm kết hợp CAR-T+PD-1 không làm tăng tỷ lệ ly giải tế bào Daudi nhưng tăng tỷ lệ ly giải tế bào Raji 1,82 lần khi tỷ lệ Raji/CAR-T= 1:10 (p<0.001). Hiệu quả của CAR-T đơn và kết hợp khác biệt không nhiều so với PBMC trên tế bào ung thư có CD19(-). **Kết luận:** Tế bào CAR-T CD19 có tác dụng ly giải các dòng tế bào ung thư Daudi và Raji (CD19+). Liệu pháp CAR-T kết hợp kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 làm tăng 1,82 lần hiệu quả ly giải trên tế bào Raji.

Từ khóa: CAR-T, PD-1, CD19(+), Daudi, Raji

SUMMARY

EVALUATING THE LYTIC EFFECTS OF CAR-T CELLS COMBINED WITH AN ANTI-PD-1 MONOCLONAL ANTIBODY IN VITRO

Objective: Evaluating the lytic efficacy of combination therapy of CD19-targeted CAR-T cells with anti-PD-1 monoclonal antibody on CD19(+) cancer cell lines in vitro. **Methods:** This is an experimentally prospective study. Daudi, Raji (CD19+)

or K562 (CD19-) cancer cells (target, CFSE stained) were co-cultured with PBMC, CAR-T cells (effector) at a ratio of 1:2, 1:5, 1: 10. Anti-PD-1 monoclonal antibody was used at concentration of 20µg/mL. After 6 hours of co-culture, cells were stained with 7AAD and analyzed on a flowcytometry system to evaluate the ratio of live and dead cells. **Results:** CAR-T cells and CAR-T cells combined with anti-PD-1 monoclonal antibody had lytic effect on CD19+ cancer cells. The CAR-T+ anti-PD-1 combination treatment did not increase lysis rate on Daudi cells but increased lysis rate 1.82 times on Raji cell when the Raji/CAR-T ratio= 1:10 (p <0.001). The effectiveness of CAR-T or CAR-T combined with anti-PD-1 were not much different compared to PBMC on cancer cells with CD19(-). **Conclusion:** CAR-T cells and CAR-T cells combined with anti-PD-1 monoclonal antibody had lytic effect on CD19+ cancer cells. The combination therapy of CAR-T cells and anti-PD-1 monoclonal antibody increased lysis rate 1.82 times on Raji cells.

Keywords: CAR-T, PD-1, CD19(+), Daudi, Raji

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lơ xê mi là một nhóm bệnh máu ác tính, có tỷ lệ tử vong cao liên quan đến việc sản xuất quá nhiều bạch cầu chưa trưởng thành hoặc bất thường. Tuy nhiên nếu phát hiện sớm thì có thể điều trị được. Hóa trị liệu là liệu pháp điều trị lơ xê mi phổ biến nhất ở nước ta hiện nay. Tuy nhiên, hiệu quả điều trị của liệu pháp này còn hạn chế, các bệnh nhân sau khi điều trị theo phương pháp này thường không lui bệnh hoàn toàn và tỷ lệ tái phát cao. Khi đó, ghép tế bào gốc tạo máu là lựa chọn duy nhất, nhưng phương pháp này gặp nhiều khó khăn như tìm kiếm mẫu tế bào gốc hòa hợp HLA, kỹ thuật phức tạp và chi phí cao [1]. Gần đây, liệu pháp CAR-T được phát triển, đánh giá và ghi nhận các kết quả khả quan. Liệu pháp tế bào CAR-T hướng đích thụ thể CD19 có nhiều kết quả đáng khích lệ trong điều trị lơ xê mi cấp dòng lympho. Cho đến nay, FDA đã phê duyệt sử dụng 6 liệu

¹Học viện Quân y

²Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

Chịu trách nhiệm chính: Bùi Khắc Cường

Email: buikhacuong@gmail.com

Ngày nhận bài: 21.11.2023

Ngày phản biện khoa học: 19.12.2023

Ngày duyệt bài: 23.01.2024

pháp tế bào CAR-T để điều trị các bệnh lý máu ác tính [2]. Mặc dù, hiệu quả điều trị của liệu pháp CAR-T đã được chứng minh và sử dụng trên thế giới tuy nhiên việc ứng dụng liệu pháp này ở Việt Nam chưa khả thi do giá thành cao và yêu cầu sự phát triển các kỹ thuật mới tại mỗi đơn vị điều trị. Với sự phát triển của công nghệ và khoa học liệu pháp tế bào CAR-T đang được phát triển tại Việt Nam và bước đầu đã có kết quả.

Đến nay, CD19 là thụ thể hướng đích phổ biến nhất trong phát triển CAR-T. CD19 biểu hiện với mức độ và tỷ lệ cao ở các tế bào tạo máu ác tính. CAR-T thế hệ thứ hai cho thấy hiệu quả điều trị lơ xê mi tốt. Tuy nhiên, hiệu quả của liệu pháp CAR-T phụ thuộc lớn tỷ lệ CAR-T trong chế phẩm. Vì vậy, tối ưu quy trình để đạt được tỷ lệ CAR-T cao trong chế phẩm được chuẩn bị mới quyết định hiệu quả của liệu pháp điều trị này. PD-1 là một protein trên bề mặt của tế bào T, có vai trò hoạt hóa tế bào T để chống lại khối u. PD-1 thúc đẩy quá trình chết theo chương trình của các tế bào T đặc hiệu với kháng nguyên và làm giảm quá trình chết theo chương trình của các tế bào T điều hòa [3]. Ức chế PD-1 là một liệu pháp miễn dịch khác có hiệu quả trong điều trị ung thư và đã phát triển nhanh chóng. 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. Sự 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 đơn dòng ức chế PD-1 sẽ kích hoạt tế bào CAR-T từ đó giúp tăng cường hiệu quả, nâng cao chức năng của tế bào CAR-T và ở một mức độ nào đó sẽ cải thiện tiên lượng cũng như hiệu quả điều trị. Do đó, sự kết hợp giữa phong tỏa PD-1 và tế bào CAR-T sẽ là một liệu pháp đầy hứa hẹn, có tiềm năng đưa lại hiệu quả điều trị tốt. Trên thế giới đã có một số nghiên cứu kết hợp hai liệu pháp trên và có hiệu quả tốt hơn so với điều trị đơn lẻ. Tuy nhiên ở Việt Nam chưa có nghiên cứu nào đánh giá hiệu quả khi kết hợp hai liệu pháp trên.

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 Daudi (ATCC CCL-213) 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(-).

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

2.1.2. Nguyên vật liệu nghiên cứu

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

- Các loại môi trường nuôi cấy tế bào: TexMACS, TCell, 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 μm (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 CO₂, máy ly tâm, tủ mát 4°C, tủ -20°C, tủ -80°C, bình bảo quản chứa Nitơ lỏng.

- Máy đếm tế bào dòng chảy Flow cytometry BD FACSLyric.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

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

***Phương pháp, kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu:**

- Kỹ thuật nuôi cấy tế bào bào PBMC và CAR-T
+ Lấy ống tế bào (PBMC và CAR-T) đã được bảo quản trong nitơ lỏng -196°C. Chuyển tế bào vào bể ổn nhiệt 37°C trong 1 phút để rã đông. Nhanh chóng chuyển tế bào vào 10 mL TexMacs đã làm ấm và ly tâm 300g/phút trong 5 phút để lắng tế bào xuống và loại bỏ dịch nổi, thêm vào 5 ml môi trường nuôi cấy tế bào T đã được làm ấm trước để tạo dịch huyền phù.

+ Cho môi trường nuôi cấy tế bào tương ứng với từng kích thước đĩa nuôi cấy và mật độ là 10⁶ tế bào/ml. Duy trì trong tủ nuôi 37°C, 5% CO₂, độ ẩm > 90%. Môi trường nuôi cấy được thay mỗi 3-4 ngày nhằm duy trì mật độ tế bào ở 10⁶/mL. IL-2 (100U/mL) được bổ sung hai ngày một lần. Sau tăng sinh, tế bào PBMC và CAR-T được bảo quản ở nitơ lỏng -196°C trong dung dịch FBS + 10% DMSO đến khi sử dụng (mật độ 2x10⁶/mL).

+ Từ 2-3 ngày đếm tế bào 1 lần, duy trì mật độ tế bào tổng số ở 10⁶ tế bào/ml.

- Kỹ thuật nuôi cấy các dòng tế bào ung thư: Tế bào Daudi, Raji và K562 được nuôi cấy

trong môi trường nuôi cấy tế bào RPMI bổ sung thêm 10% huyết thanh bê FBS (Fetal Bovine Serum) và 1% kháng sinh. Tế bào được nuôi cấy trên đĩa hoặc chai nuôi cấy tế bào.

+ Lấy ống tế bào đã được bảo quản trong nitơ lỏng -196°C. Chuyển tế bào vào bể ổn nhiệt 37°C trong 1 phút để rã đông.

+ Cho môi trường nuôi cấy tế bào tương ứng với từng kích thước đĩa hoặc chai nuôi cấy.

+ Dùng pipet trộn đều sau đó hút dịch tế bào ở ống lưu tế bào cho vào đĩa môi trường nuôi cấy.

Kiểm tra tế bào trên kính hiển vi soi ngược để đánh giá đặc điểm hình thái tế bào và mật độ tế bào.

+ Cho đĩa nuôi vào tủ nuôi cấy tế bào có 5% CO₂, nhiệt độ 37°C.

+ Kiểm tra tế bào sau 48 giờ nuôi cấy trên kính hiển vi soi ngược, xem tế bào có tăng sinh không và đánh giá mật độ tế bào, tỷ lệ sống chết.

+ Kiểm tra và thay môi trường 2-3 lần/tuần.

- Quá trình tăng sinh tế bào: Khi tế bào phát triển đạt mật độ cao thì tiến hành tách tế bào để cấy chuyển sang đĩa nuôi mới với quy trình sau:

+ Hút toàn bộ môi trường trong đĩa nuôi cấy vào ống falcon. Ly tâm loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ.

+ Sau khi ly tâm xong loại bỏ toàn bộ môi trường nuôi cấy cũ bằng pipet. Cho dung dịch PBS 1X vào ly tâm và rửa tế bào 1-2 lần.

+ Cho tế bào đã rửa vào đĩa môi trường nuôi cấy mới.

+ Thu hoạch và bảo quản tế bào: sau 2 tuần nuôi cấy lượng tế bào tăng sinh đủ lớn có thể tiến hành thu hoạch và cất giữ tế bào. Mật độ tế bào trong môi trường được xác định bằng cách sử dụng kính hiển vi quang học hoặc máy đếm tế bào sống chết. Chuẩn nồng độ tế bào về 10⁷ tế bào/ml dung dịch bảo quản tế bào (FBS + 10% DMSO).

- Đánh dấu CFSE và đồng nuôi cấy CAR-T với các tế bào CD19(+):

+ Một ngày trước khi thực hiện thí nghiệm, tế bào CAR-T được rã đông nhanh trong bể ổn định nhiệt 37°C, hòa tan trong 10 mL TexMacs đã được làm ấm và ly tâm thu tế bào (300 g/phút trong 10 phút). Sau khi rửa hai lần với PBS 1X (ly tâm 300g trong 10 phút và loại bỏ dịch nổi), tế bào được hòa tan trong TexMacs, 10% FBS về mật độ 10⁶ /mL và được nuôi qua đêm trong tủ ấm 37°C, 5% CO₂, độ ẩm > 90%.

+ Các dòng tế bào ung thư Daudi (CD19+), Raji (CD19+) và K562 (CD19-) được đánh dấu bằng CFSE thông qua sử dụng bộ kit Cayman 7-

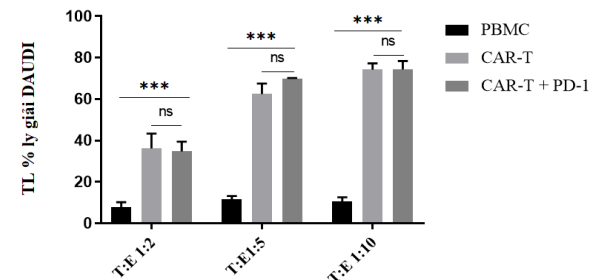
AAD CFSE cytotoxicity assay. Chuyển 5x10⁴ tế bào/mL vào giếng của đĩa 24 giếng. Sau 30 phút bổ sung tế bào CAR-T hoặc PBMC (effector) được thu bằng ly tâm và được bổ sung vào các giếng nuôi chứa tế bào ung thư CD19(+) hoặc K562(CD19-) (target) theo tỷ lệ target:effector (T:E) 1:2, 1:5, 1:10 với cỡ mẫu mỗi tỷ lệ n = 3. Kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 điều trị với nồng độ 20µg/mL. Hỗn hợp tế bào được nuôi trong tủ ấm 37°C, 5% CO₂ trong 6 giờ trước khi được phân tích bằng máy Flow Cytometry.

- Đánh giá khả năng ly giải in vitro tế bào của CAR-T: Sau 6 giờ đồng nuôi cấy, thu tế bào và rửa 2 lần bằng PBS 1X, sau đó được nhuộm với 1 µl 7-AAD 1X trong 100 µL PBS 1X, 0,1% BSA trong 30 phút ở 4°C. Sau khi ủ, tế bào được rửa bằng PBS 1X và hòa tan bằng 300 µL FACS Buffer và phân tích bằng máy BD FACS Lyric. Quần thể CFSE+ được chọn để đếm tỷ lệ tế bào sống chết, từ đó đánh giá khả năng ly giải tế bào đích của khối tế bào CAR-T ở các tỷ lệ khác nhau.

2.3. Xử lý thống kê: Xử lý số liệu nghiên cứu bằng phần mềm SPSS 20.0 và GraphPad Prism 6. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi p < 0,05. So sánh trung bình của 3 nhóm bằng phân tích phương sai ANOVA.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả đánh giá khả năng ly giải tế bào Daudi của liệu pháp tế bào CAR-T và CAR-T kết hợp với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1

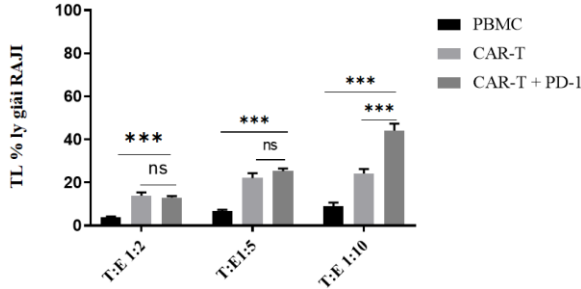


Hình 1: Tỷ lệ tế bào Daudi bị ly giải sau 6 giờ đồng nuôi cấy với PBMC, CAR-T hoặc CAR-T kết hợp với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 ở các tỷ lệ khác nhau

Tế bào CAR-T và CAR-T kết hợp với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 thể hiện khả năng ly giải tốt đối với tế bào Daudi (CD19+) (Hình 1). Tỷ lệ tế bào ly giải tăng khi tỷ lệ đồng nuôi cấy CAR-T/Daudi tăng, đạt từ 36,19% – 74,21%; Phương pháp kết hợp tế bào CAR-T với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 đạt tỷ lệ ly giải từ 34,73 – 74,28%. Không thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ ly giải giữa nhóm điều trị CAR-T

và nhóm kết hợp CAR-T với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1. Trong khi đó, PBMC kích hoạt thể hiện hoạt tính ly giải tế bào Daudi thấp (<12%).

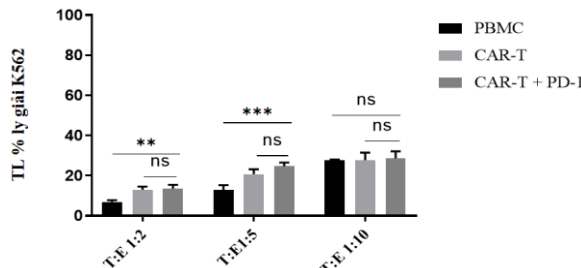
3.2. Kết quả đánh giá khả năng ly giải tế bào Raji của liệu pháp tế bào CAR-T và CAR-T kết hợp với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1



Hình 2. Tỷ lệ tế bào Raji bị ly giải sau 6 giờ đồng nuôi cấy với PBMC, CAR-T hoặc CAR-T kết hợp với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 ở các tỷ lệ khác nhau

Tế bào CAR-T cũng thể hiện khả năng ly giải tế bào Raji (CD19+) tốt hơn so với PBMC (Hình 2). Tỷ lệ tế bào ly giải tế bào Raji tăng khi tỷ lệ đồng nuôi cấy CAR-T/Raji tăng, tỷ lệ đạt từ 13,89% - 24,2%. Hiệu quả ly giải của CAR-T trên Raji thấp hơn nhiều so với Daudi (36,19% - 74,21%). Tuy nhiên, ở nhóm kết hợp CAR-T+PD-1, có xu hướng tăng hiệu quả ly giải rõ rệt khi tăng tỷ lệ CAR-T/Raji. Đặc biệt, với tỷ lệ Raji/CAR-T= 1:10, hiệu quả ly giải tăng từ 24,2% lên 44,11%, tương đương tăng hiệu quả 1,82 lần. Trong khi đó, PBMC kích hoạt thể hiện hoạt tính ly giải tế bào Raji không đáng kể (<9%). Như vậy, kết hợp kháng thể đơn dòng kháng PD-1 với CAR-T làm tăng hiệu quả ly giải tế bào Raji (p<0.001).

3.3. Kết quả đánh giá khả năng ly giải tế bào K562 của liệu pháp tế bào CAR-T và CAR-T kết hợp với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1



Hình 3. Tỷ lệ tế bào K562 bị ly giải sau 6 giờ đồng nuôi cấy với PBMC, CAR-T hoặc CAR-T kết hợp với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 ở các tỷ lệ khác nhau

Đối với tỷ lệ K562/CAR-T 1:2 và 1:5, CAR-T và CAR-T+PD-1 có tác dụng ly giải tế bào tốt hơn PBMC nhưng đều ở mức thấp. Với tỷ lệ K562/CAR-T=1:10, kết quả cho thấy tỷ lệ tế bào K562 (CD19-) bị ly giải khi đồng nuôi cấy với PBMC 27,52%, CAR-T 27,67% và CAR-T kết hợp với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 28,59% là tương đồng nhau (Hình 3).

IV. BÀN LUẬN

Lơ xê mi cấp dòng lympho là bệnh ung thư nhi khoa phổ biến nhất với khoảng 6.000 trường hợp được chẩn đoán hàng năm ở Hoa Kỳ, chiếm gần 25% số ca chẩn đoán ung thư ở trẻ em [5]. Dựa trên đặc điểm kiểu hình miễn dịch, Lơ xê mi cấp dòng lympho được phân loại thành là B-ALL hoặc T-ALL, trong đó B-ALL chiếm khoảng 85% trường hợp. Trong nửa thế kỷ qua, tỷ lệ sống sót toàn bộ (OS) 5 năm đã được cải thiện đáng kể lên trên 90% ở các nước có thu nhập cao nhờ việc triển khai các phương pháp theo dõi bệnh và chẩn đoán cải tiến, tối ưu hóa các phác đồ hóa trị liệu phân tầng nguy cơ đa tác nhân và chăm sóc hỗ trợ tốt hơn. Tuy nhiên, khoảng 10 - 15% bệnh nhân vẫn tái phát và 2% không đáp ứng với liệu pháp tấn công [6]. Do đó, các phương pháp điều trị mới là cần thiết để cải thiện khả năng sống sót ở những bệnh nhân mắc bệnh tái phát hoặc khó chữa. Điều trị bằng liệu pháp CAR-T hướng CD19 có tỷ lệ thuyên giảm cao, ngay cả ở những bệnh nhân đã thất bại trong việc cấy ghép tế bào gốc và đã quan sát thấy tình trạng thuyên giảm kéo dài lên đến 24 tháng [7]. CD19 là một glycoprotein xuyên màng cần thiết cho sự phát triển tế bào B bình thường ở người và được biểu hiện trên bề mặt tế bào trong tất cả các giai đoạn biệt hóa tế bào B. CD19 là mục tiêu điều trị hấp dẫn vì nó được biểu hiện ở trên 95% khối u ác tính của tế bào B bào gồm B-ALL, bệnh lơ xê mi mạn tính dòng lympho và u lympho non Hodgkin tế bào B. Trong những năm qua, đã có rất nhiều bằng chứng tiền lâm sàng thuyết phục chỉ ra rằng biểu hiện của thụ thể kháng nguyên khảm (CAR) nhắm mục tiêu CD19 trong tế bào T máu ngoại vi phát huy hiệu quả điều trị trong các mô hình ác tính tế bào B khác nhau. Do vậy hiện nay các nghiên cứu lâm sàng đang được tiến hành ở một số trung tâm trong đó các tế bào CAR-T đặc hiệu CD19 tự thân đang được đánh giá ở những bệnh nhân mắc bệnh lơ xê mi cấp và mạn tính dòng lympho và ung thư hạch khó chữa [8]. Vì vậy cho đến nay hầu hết các thử nghiệm lâm sàng liệu pháp tế bào CAR-T điều trị lơ xê mi cấp

dòng lympho đều tập trung nhằm đích là thụ thể CD19. Tế bào CAR-T trong nghiên cứu của chúng tôi có khả năng nhắm đích kháng nguyên CD19, liên kết với tế bào thông qua thụ thể này và gây ly giải các tế bào ung thư có biểu hiện CD19(+) là tế bào Daudi và tế bào Raji. Ngược lại kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy chúng ít gây ly giải tế bào ung thư có CD19(-) là tế bào K562. Khả năng ly giải của liệu pháp tế bào CAR-T và liệu pháp kết hợp CAR-T với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 cũng tăng theo sự tăng của tỷ lệ CAR-T và CAR-T kết hợp với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 được đồng nuôi cấy với tế bào ung thư có CD19(+). Kết quả của chúng tôi là bước đầu cho những nghiên cứu tiếp theo về tác dụng ly giải và gây chết tế bào ung thư của liệu pháp tế bào CAR-T và liệu pháp kết hợp CAR-T với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tế bào CAR-T CD19 có tác dụng ly giải các dòng tế bào ung thư Daudi và Raji (CD19+). Liệu pháp CAR-T kết hợp kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 làm tăng 1,82 lần hiệu quả ly giải trên tế bào Raji.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Sheykhasan M., Manoochehri H., Dama P.** (2022). Use of CAR T-cell for acute lymphoblastic leukemia (ALL) treatment: a review study. *Cancer Gene Ther*, 29(8-9): 1080-1096.
2. **Institute National Cancer** (2022), CAR T Cells: Engineering Patients' Immune Cells to Treat Their Cancers.
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. **Muller Bradley J., Inaba Hiroto %J Translational Pediatrics** (2023). Chimeric antigen receptor T-cells in B-acute lymphoblastic leukemia: history, current situation, and future. 2023, 12(10): 1900-1907.
6. **Inaba H., Pui C. H.** (2021). Advances in the Diagnosis and Treatment of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Med*, 10(9).
7. **Maude S. L., Frey N., Shaw P. A., et al.** (2014). Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N Engl J Med*, 371(16): 1507-17.
8. **Maher John %J Current gene therapy** (2014). Clinical immunotherapy of B-cell malignancy using CD19-targeted CAR T-cells14(1): 35-43.

TÁC ĐỘNG CỦA COVID-19 ĐẾN SỨC KHỎE THỂ CHẤT CỦA NHÂN VIÊN Y TẾ TUYẾN HUYỆN THAM GIA PHÒNG CHỐNG DỊCH COVID-19

Lê Minh Giang¹, Đỗ Nam Khánh¹, Trần Thị Hảo¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu nhằm mô tả một số tác động của COVID-19 đến nhân viên y tế (NVYT) tuyến huyện tham gia phòng chống COVID-19 tại 7 tỉnh thành trọng điểm năm 2021-2022. **Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang. **Kết quả nghiên cứu:** Trong 249 NVYT tuyến huyện tham gia nghiên cứu, chủ yếu có trình độ đại học (55,8%), trình độ Thạc sĩ/CK1 chỉ có 12,5%. Trong khi đó mới chỉ có 1 NVYT (0,4%) có trình độ CK2 và còn hơn 30% NVYT có trình độ cao đẳng (19,7%) và trung cấp (11,6%). Trong lần chống dịch đầu tiên năm 2021, thời gian trung bình NVYT tuyến huyện tiếp xúc bệnh nhân COVID-19 hoặc người nghi nhiễm chiếm tỷ lệ cao nhất ở khoảng từ 8-12 giờ/ngày (32,4%). Sang năm 2022, có tới 32,7% NVYT tuyến huyện phải tiếp xúc với bệnh nhân hoặc người nghi nhiễm trong thời gian

trung bình là ≥ 12 giờ/ngày. Có 66 (26,5%) người không mắc COVID-19 trong toàn bộ quá trình tham gia chống dịch năm 2021 và 2022. Số NVYT tuyến huyện mắc/nghi mắc COVID-19 một lần chiếm tỷ lệ cao nhất với 153 (61,5%). Việc mắc COVID-19 khi tham gia chống dịch tại cơ quan đang công tác là bối cảnh thường gặp nhất (57,9%) của NVYT tuyến huyện. Có 2 NVYT chưa tiêm vắc xin phòng COVID-19 do có tiền sử quá mẫn khi tiêm phòng vắc xin. Tỷ lệ tiêm từ 3 mũi trở lên ở NVYT tuyến huyện chiếm đến 89,6%. **Kết luận:** COVID-19 tác động tiêu cực đến sức khỏe thể chất của NVYT tuyến huyện trực tiếp tham gia chống dịch COVID-19 năm 2021-2022.

Từ khóa: Thể chất, nhân viên y tế, COVID-19, tuyến huyện.

SUMMARY

EFFECTS OF COVID-19 TO DISTRICT HEALTH WORKERS PARTICIPATING IN AGAINST COVID-19

Objective: The study aims to describe some impacts of COVID-19 on district health worker participating in against COVID-19 in 7 key provinces and cities in 2021-2022. **Research design:** Cross-

¹Trường Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Đỗ Nam Khánh

Email: donamkhanh@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 17.11.2023

Ngày phản biện khoa học: 18.12.2023

Ngày duyệt bài: 22.01.2024