

NGHIÊN CỨU MỐI TƯƠNG QUAN GIỮA HOẠT TÍNH CHẾ TIẾT TẾ BÀO NK MÁU NGOẠI VI VÀ KHẢ NĂNG GÂY ĐỘC CỦA TẾ BÀO NK SAU NUÔI CẤY TĂNG SINH TRÊN ĐỐI TƯỢNG BỆNH NHÂN UNG THƯ TUYẾN TIỀN LIỆT

Nguyễn Trọng Phúc¹, Phùng Thế Hải¹, Nguyễn Hoàng Phương¹,
Hoàng Trung Kiên¹, Nguyễn Ngọc Tuấn¹, Cấn Văn Mão¹, Ngô Thu Hằng¹,
Nguyễn Lĩnh Toàn¹, Lê Việt², Đỗ Anh Tuấn², Lê Văn Đông¹, Đỗ Khắc Đại¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Làm rõ mối quan hệ giữa yếu tố hoạt tính chế tiết tế bào NK máu ngoại vi của bệnh nhân ung thư tuyến tiền liệt (UTTTL) xét nghiệm trước nuôi cấy và năng lực giết tế bào đích của tế bào NK sau nuôi cấy tăng sinh. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu thu thập dữ liệu về hoạt tính chế tiết tế bào NK máu ngoại vi của 14 bệnh nhân UTTTL và tiến hành nuôi cấy tăng sinh tế bào NK từ các bệnh nhân kể trên trong vòng 14 ngày. Chúng tôi đánh giá khả năng gây độc tế bào dòng ung thư tuyến tiền liệt (PC3) của tế bào NK vừa phân lập (ngày D0) và tế bào sau nuôi cấy tăng sinh (ngày D14) bằng kỹ thuật tế bào dòng chảy. **Kết quả:** Khả năng giết tế bào đích tăng từ 14,13% ngày D0 lên 51,12% ngày D14. Đặc biệt, nồng độ NKA-IFN γ trong máu ngoại vi bệnh nhân UTTTL có mối tương quan chặt chẽ với hiệu quả giết tế bào PC3 của tế bào NK sau tăng sinh ($r = 0,699$, $p=0,005$). **Kết luận:** Trên đối tượng UTTTL, xét nghiệm hoạt tính chế tiết của tế bào NK máu ngoại vi cho thấy mối tương quan chặt chẽ với năng lực gây độc của tế bào NK sau nuôi cấy tăng sinh. **Từ khóa:** Hoạt tính chế tiết, hoạt tính gây độc của tế bào NK, ung thư tuyến tiền liệt, tế bào dòng ung thư PC3. **Từ khóa:** Hoạt tính NK, tăng sinh ex-vivo, ung thư tuyến tiền liệt, tế bào dòng ung thư PC3.

SUMMARY

THE CORRELATION BETWEEN THE SECRETORY ACTIVITY OF PERIPHERAL BLOOD NK CELLS AND THE CYTOTOXIC CAPACITY OF EX-VIVO EXPANDED NK CELLS DERIVED FROM PROSTATE CANCER PATIENTS

Objective: To clarify the correlation between the secretory activity of NK cells derived from the peripheral blood of prostate cancer patients and the target cell killing capacity of NK cells after ex-vivo expansion. **Research objects and methods:** The study collected data on the peripheral blood NK cell secretory activity of 14 prostate cancer patients and the culturing of NK cells from the above patients within 14 days. We evaluated the killing ability of

prostate cancer (PC3) cells from freshly isolated NK cells (day D0) and cells after proliferation culture (day D14) using flow cytometry. **Results:** The ability to kill target cells increased from 14.13% on day 0 to 51.12% on day 14. In particular, the amount of NKA-IFN γ released from NK cells in prostate cancer patients strongly correlates to how well post-proliferative NK cells kill PC3 cells ($r = 0.699$, $p = 0.005$). **Conclusion:** In prostate cancer patients, the secretory activity of peripheral blood NK cells showed a strong correlation with the cytotoxic capacity of the NK cells after expansion. **Keywords:** NK cell activity, proliferation in ex-vivo, prostate cancer, PC3 cell lines.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở bệnh nhân ung thư, hệ thống miễn dịch có thể bị ức chế trong quá trình phát triển kéo dài của tế bào ung thư, cuối cùng dẫn đến sự suy giảm miễn dịch thứ phát do bệnh lý. Liệu pháp tăng cường miễn dịch tự thân (AIET) bằng cách tăng sinh ngoài cơ thể (ex-vivo) làm tăng lên đáng kể số lượng tế bào NK (thường trong 14-21 ngày) và truyền lại vào cơ thể người bệnh sau khi thu hoạch, từ đó cải thiện khả năng miễn dịch tự nhiên của bệnh nhân ung thư. Các nghiên cứu trước đây đã báo cáo kết quả tích cực ở một số loại ung thư bằng liệu pháp tế bào NK tự thân, chẳng hạn như thử nghiệm do Nagai thực hiện trên các bệnh nhân ung thư giai đoạn muộn [1] bao gồm ung thư tuyến tụy, ung thư đại trực tràng, ung thư buồng trứng, ung thư thận và ung thư tuyến nước bọt; nghiên cứu đã chứng tỏ tính an toàn và khả thi của phương pháp này. Ngoài ra, Dedeepiya đã có báo cáo tóm tắt 6 năm ứng dụng AIET ở Ấn Độ [2], cho thấy việc truyền tế bào NK và TCD8+ (CTL) sau khi tăng sinh ex-vivo ở bệnh nhân ung thư giai đoạn III-IV đang hóa trị đã làm giảm kích thước khối u và kéo dài thời gian sống thêm lên đến 15 tháng. Nghiên cứu gần đây được thực hiện bởi H.T.M. Nhung và Hoàng P. Nguyễn tại Việt Nam cũng đã chứng minh tính an toàn và hiệu quả của liệu pháp AIET trên đối tượng bệnh nhân ung thư phổi và ung thư đại trực tràng [3,4]. Tuy nhiên, chúng tôi nhận thấy liệu pháp AIET thường có chi phí cao và đến nay còn thiếu một công cụ dự đoán để đánh giá khả năng thành

¹Học viện Quân Y

²Bệnh viện K Trung Ương

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Trọng Phúc

Email: nguyentrongphuc82@gmail.com

Ngày nhận bài: 16.11.2023

Ngày phản biện khoa học: 25.12.2023

Ngày duyệt bài: 18.01.2024

công của liệu pháp trước khi lấy máu bệnh nhân để tăng sinh. Vì vậy, cần thiết có một công cụ để đánh giá khả năng thành công của liệu pháp trước khi thực hiện nhằm nâng cao tỷ lệ điều trị thành công, đồng thời hạn chế việc sử dụng liệu pháp không cần thiết.

Chúng tôi quan sát thấy xét nghiệm đánh giá hoạt tính chế tiết của tế bào NK máu ngoại vi (NKA-IFN γ) phát triển bởi hãng ATGen (Có IVD – tiêu chuẩn chẩn đoán trong phòng thí nghiệm) đã được sử dụng rộng rãi ở nhiều quốc gia (Hàn Quốc, Nhật Bản, Hoa Kỳ, Canada, Thái Lan..) như một công cụ sàng lọc để đánh giá nguy cơ ung thư và đánh giá sức khỏe tế bào miễn dịch tự nhiên của con người. Do vậy, chúng tôi thấy cần đánh giá xem liệu những thay đổi về NKA-IFN γ ở bệnh nhân ung thư tuyến tiền liệt có liên quan đến khả năng ly giải tế bào đích của tế bào NK sau nuôi cấy tăng sinh hay không. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy rằng nồng độ NKA-IFN γ của tế bào NK trong máu ngoại vi của bệnh nhân UTTTL có mối liên hệ chặt chẽ với hiệu lực của các tế bào NK sau tăng sinh ex-vivo trong việc tiêu diệt các dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt PC3 in-vitro.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân.

Bệnh nhân tham gia nghiên cứu dựa trên các tiêu chí sau: Có chẩn đoán ung thư tuyến tiền liệt bằng phương pháp mô bệnh học, độ tuổi từ 57 đến 74 (trung bình 62,5 tuổi), chưa phát hiện mắc bệnh ung thư nào khác, hiện đang không dùng trong đợt điều trị liên tục đối với nhiễm trùng cấp tính hoặc mãn tính hoặc các bệnh tự miễn.

2.2. Xét nghiệm hoạt tính tế bào NK (NKA-IFN γ). Bộ sinh phẩm NK Vue™ (NKMax Co./Republic of Korea) được sử dụng để đo khả năng chế tiết IFN- γ từ tế bào NK. 1 ml mẫu máu toàn phần được thu thập vào ống PROMOCA™ và ủ trong 24 giờ trong tủ ấm CO₂ ở 37°C. Dịch nổi được thu thập và nồng độ IFN- γ từ tế bào NK chế tiết ra được đo dựa theo nguyên lý của kỹ thuật ELISA [5].

2.3. Tinh sạch tế bào NK. Phân lập khối tế bào NK được thực hiện bằng thiết bị MidiMACS™ với cột LS Magnet và Bộ kháng thể tách tế bào NK (mã số 130-092-657, Miltenyi Biotec, Đức).

2.4. Tăng sinh tế bào NK. Bộ sinh phẩm thương mại KBM-NK (Kohjin Bio Co. Ltd., Nhật Bản) được sử dụng để tăng sinh tế bào NK. Vào ngày thứ 14, khối tế bào được thu thập, đánh giá số lượng, chất lượng, và chuẩn bị cho thử nghiệm và đồng nuôi cấy với dòng tế bào PC3.

2.5. Đồng nuôi cấy NK với tế bào PC3.

Tế bào đích được sử dụng trong thử nghiệm này là dòng tế bào PC3 (mã: CRL-1435 ATCC). Tỷ lệ tế bào NK:PC3 (E:T) được thiết lập theo công thức: 150 μ L chứa 150.000 tế bào tế bào NK và 30 μ L chứa 30.000 tế bào PC3, đạt tổng thể tích 180 μ L, với tỷ lệ E:T là 5:1, công thức này được chúng tôi chuẩn bị dựa theo thành công từ thử nghiệm của tác giả F. Wang và S.P Hood đã thực hiện trước đó [6,7]. Hỗn hợp tế bào được chứa trong ống nghiệm polycarbonate 12 x 75 mm và ủ ở 37°C với 5% CO₂ trong 6 giờ. Nguồn tế bào NK là tế bào NK vừa phân lập từ máu ngoại vi (ngày D0) và tế bào NK sau nuôi cấy tăng sinh (ngày D14). Chúng tôi đánh giá mức độ ly giải tế bào PC3 trên hệ thống đếm tế bào dòng chảy.

2.6. Xét nghiệm đếm tế bào dòng chảy.

Hệ thống đếm tế bào dòng chảy được sử dụng trong nghiên cứu này là NovoCyte/ACEA Biosciatics/USA. Các kháng thể được sử dụng bao gồm CD3-FITC, CD56-PE, CD44-APC và 7-AAD (Biolegends). CD44 được sử dụng làm điểm đánh dấu để xác định quần thể PC3. Để có đối chứng, một ống chứa 30.000 tế bào PC3 trong 180 μ L RPMI với 10% FBS để xác định tỷ lệ tế bào chết tự nhiên (background) của thử nghiệm. Quá trình thực hiện chúng tôi nhận thấy, sau mỗi thử nghiệm đồng nuôi cấy luôn có một tỷ lệ nhỏ (không đáng kể) tế bào PC3 dương tính với 7AAD hoặc bị ly giải sau 6 giờ tiếp xúc ở ống đối chứng (dưới 1%). Do đó, tổng số tế bào đích ly giải (chết) sau 6 giờ đồng nuôi cấy được tính bằng công thức:

$$\text{Tỷ lệ \% tế bào PC3 bị ly giải} = \frac{[(\text{PC3 lúc 0 giờ} - \text{PC3 lúc 6 giờ}) / \text{PC3 lúc 0 giờ}] \times 100}{1}$$

2.8. Phân tích thống kê. Phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng 2 phương pháp bao gồm: kiểm định Mann-Whitney U Test và Independent-Samples T Test cho 2 biến độc lập; kiểm định Wilcoxon Signed Ranks Test và Paired Samples T Test cho 2 biến trước sau (SPSS), giá trị p nhỏ hơn 0,05 được coi là khác biệt có ý nghĩa thống kê.

2.9. Đạo đức nghiên cứu. Nghiên cứu cũng được thực hiện theo các tiêu chuẩn đạo đức được quy định trong Tuyên bố Helsinki. Đồng thời đã được Hội đồng đạo đức Học viện Quân y phê duyệt (số phê duyệt: 02/2022/CNChT-HDDD).

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Hiệu quả tinh sạch và tăng sinh tế bào NK ở nhóm nghiên cứu

Bảng 1. Kết quả tinh sạch tế bào NK tại hai thời điểm D0 và D14

Phân loại	Độ tinh sạch NK (%) Mean \pm SD (Median)		p ^d
	D0	D14	
UT TTL (n = 14)	89,75 \pm 7,45 (92,71)	89,68 \pm 6,58 (90,38)	>0,05

Mean (Trung bình); SD (Độ lệch chuẩn); Median (Trung vị); (d) Wilcoxon Signed Ranks Test và Paired Samples T Test

Kết quả tinh sạch tế bào (**Bảng 1**) cho thấy độ tinh sạch tế bào NK tại thời điểm ngày đầu nuôi cấy (D0) cho thấy; sau khi sử dụng cột từ để loại bỏ các tế bào không mong muốn có trong khối PBMCs thu thập từ máu ngoại vi, độ tinh sạch của tế bào NK đạt 89,75%, trung vị đạt 92,71%. Kết quả này cho thấy việc áp dụng phương pháp tinh sạch tế bào NK bằng cột từ của chúng tôi đạt kết quả tương tự như một số tác giả đã sử dụng phương pháp này trước đó

Bảng 2. Kết quả tăng sinh tế bào NK

NKA-IFN γ (pg/mL)	Tổng số tb đầu vào ($\times 10^6$)	Tổng số tb thu hoạch ($\times 10^6$)	Số lần tăng sinh (lần)
	Mean \pm SD (Median)		
(n = 14)	1,84 \pm 0,34 (2,00)	276,93 \pm 170,22 (205,50)	149,51 \pm 79,83 (129,30)
Theo ngưỡng NKA-IFNγ 500 pg/mL			
> 500 (n = 4)	1,64 \pm 0,46 (1,75)	239,88 \pm 148,22 (177,00)	143,03 \pm 60,63 (122,30)
\leq 500 (n = 10)	1,92 \pm 0,27 (2,00)	291,75 \pm 183,50 (228,00)	152,10 \pm 89,18 (133,25)
p ^a	>0,05	>0,05	>0,05
Theo ngưỡng NKA-IFNγ 200 pg/mL			
> 200 (n = 6)	1,62 \pm 0,45 (1,75)	228,0 \pm 118,46 (181,74)	139,77 \pm 47,97 (129,30)
\leq 200 (n = 8)	2,0 \pm 0,0 (2,00)	313,63 \pm 200,48 (258,00)	156,81 \pm 100,24 (129,00)
p ^a	>0,05	>0,05	>0,05

(a) Mann-Whitney U Test và Independent-Samples T Test

Kết quả nuôi cấy (**Bảng 2**) của chúng tôi cho thấy với lượng tế bào đầu vào trung bình là 1,84 triệu tế bào thì tổng số tế bào thu hoạch sau 14 ngày nuôi cấy trung bình là 276,93 triệu tế bào. Như vậy trung bình số lần tăng sinh tế bào NK ở bệnh nhân UT TTL 149,51 lần (trung vị 129,3). Mặc dù số lần tăng sinh ở bệnh nhân UT TTL không cao song điều này phần nào cũng đã được lý giải bởi nghiên cứu của Pasero và cộng sự [10] đã chứng minh rằng TGF- β 1 được tiết nhiều ở môi trường UT TTL và có tác động ức chế lên tế bào NK. Vì thế các tế bào NK máu ngoại vi của chúng tôi phân lập từ bệnh nhân UT TTL có thể đã tương đối kém đáp ứng với môi trường nuôi cấy tăng sinh - biệt hóa, cũng cần có nghiên cứu sâu hơn để làm rõ vấn đề này.

Mặc dù kết quả tăng sinh tế bào NK ở bệnh nhân ung thư nói chung bị hạn chế so với người khỏe mạnh. Tuy nhiên, để có thêm cơ hội ứng

[1] và cao hơn một số phương pháp dùng kháng thể kháng CD3, CD52 đơn thuần [3,6,8]. Bên cạnh đó, phương pháp còn cho thấy một số ưu điểm như: (1) sử dụng hạt bead sinh học siêu nhỏ (microbead) nên có thể ít ảnh hưởng đến sinh lý tế bào; (2) thời gian thực hiện ngắn (30-45 phút), giảm thời gian tế bào qua các khâu xử lý tế bào trước nuôi cấy.

Điều quan trọng, trong ứng dụng liệu pháp truyền tế bào miễn dịch, đặc biệt trong ghép đồng loài, Berg 2010 [9] đã có phân tích và khuyến cáo về tính an toàn và hiệu quả của sản phẩm tăng sinh và truyền trên người cần đạt độ tinh sạch là từ 90% tế bào NK trở lên khi sử dụng phương pháp truyền đồng loài. Điều này đã đạt được trong kết quả nghiên cứu của chúng tôi khi sử dụng bộ sinh phẩm KBM nuôi cấy thì độ tinh sạch của khối sản phẩm ở ngày D14 đạt 89,68% và trung vị đạt 90,38.

dùng điều trị cho người bệnh bị ung thư, đến nay nhiều nghiên cứu về nuôi cấy tăng sinh NK cho nhiều loại bệnh khác nhau vẫn được triển khai rộng rãi ở nhiều nước trên thế giới. Ở Việt Nam có công bố về nuôi cấy NK cho trị liệu tế bào đầu tiên của nhóm tác giả H.TM.Nhung, N.T.Liêm và cs năm 2018 trên bệnh nhân ung thư phổi sử dụng bộ sinh phẩm BINKIT cho kết quả tăng sinh gấp 637,5 lần và độ tinh sạch 84,3% (sử dụng kháng thể đơn clone OK-432 và CD16) [3]. Như vậy, với quy trình nuôi cấy tăng sinh được chúng tôi áp dụng là sử dụng bộ sinh phẩm KBM (Kohjin-Bio, Nhật Bản) sau khi tinh sạch bằng công nghệ từ tính vẫn cho thấy tỷ lệ tăng sinh đáng kể của tế bào NK với trung bình lên 150 lần so với lượng NK đầu vào. Kết quả này tương đương với nhóm tác giả Fangming Wang [6] tăng trên 100 lần ở người khỏe mạnh và nhóm tác giả Kazuhiro Nagai [1] tăng trên

200 lần ở một số loại ung thư tạng đặc.

Để phân tích sâu hơn, chúng tôi đánh giá thêm các yếu tố chỉ điểm (marker) khác có thể dự báo kết quả nuôi cấy tăng sinh, một trong các yếu tố chỉ điểm đó có thể là hoạt tính tế bào NK. Theo đó, chúng tôi tiến hành chia nhóm UTTL (n=14) theo 2 ngưỡng NKA-IFN γ là 500 pg/mL hoặc 200 pg/mL (**Bảng 2**). Kết quả cho thấy

không có sự khác biệt về số lần tăng sinh giữa nhóm NKA-IFN γ \leq 500 pg/mL với nhóm trên 500 pg/mL, kết quả tương tự ở nhóm NKA-IFN γ thấp \leq 200 pg/mL với nhóm trên 200 pg/mL. Điều này phủ định giả thiết ban đầu của chúng tôi là hoạt tính NK thấp sẽ ảnh hưởng lên hiệu quả tăng sinh khối tế bào NK sau nuôi cấy.

3.2. Hiệu quả giết tế bào đích của tế bào NK trước và sau nuôi cấy của bệnh nhân ung thư tuyến liệt

Bảng 3. Kết quả giết tế bào PC3 bởi tế bào NK của bệnh nhân UTTL trước và sau nuôi cấy

Phân loại	Tỉ lệ PC3 bị ly giải (%)		Tỉ lệ ly giải PC3 tăng lên (D14-D0) %	p ^{d(1-2)}
	D0 ¹	D14 ²		
UTTL (n = 14)	14,13 \pm 9,99 (13,77)	51,12 \pm 20,48 (52,16)	36,99 \pm 20,79 (33,17)	<0,001
Theo ngưỡng NKA-IFNγ 500 pg/mL				
> 500 pg/mL (n=4)	11,93 \pm 7,37 (11,83)	72,91 \pm 15,42 (72,95)	60,99 \pm 14,66 (55,29)	<0,001
\leq 500 pg/mL (n=10)	15,00 \pm 11,09 (14,30)	42,40 \pm 15,20 (43,58)	27,39 \pm 13,95 (26,01)	<0,01
p ^a	>0,05	<0,01	<0,01	
Theo ngưỡng NKA-IFNγ 200 pg/mL				
> 200 pg/mL (n=6)	13,52 \pm 6,24 (15,30)	62,50 \pm 20,78 (62,32)	48,98 \pm 22,58 (52,76)	<0,001
\leq 200 pg/mL (n=8)	14,58 \pm 12,53 (11,81)	42,58 \pm 16,61 (43,58)	28,00 \pm 14,92 (26,01)	<0,01
p ^a	>0,05	>0,05	>0,05	

(a) Mann-Whitney U Test và Independent-Samples T Test; (d) Wilcoxon Signed Ranks Test và Paired Samples T Test

Kết quả cho thấy ở ngày D0 (quần thể tế bào NK phân lập từ khối PBMCs máu ngoại vi) tỉ lệ tế bào NK này giết PC3 sau 6 giờ nuôi cấy (với tỉ lệ E:T là 5:1) trung bình đạt 14,13% tăng lên 51,12% sau 14 ngày nuôi cấy (p<0,001). Như vậy, tỉ lệ giết tế bào đích tăng thêm được ở ngày D14 so với D0 là 36,99%. Kết quả này chứng tỏ rằng hiệu quả giết tế bào đích PC3 bởi tế bào NK đã tăng mạnh sau giai đoạn tế bào NK được kích thích tăng sinh, hoạt hóa (14 ngày) bằng môi trường nuôi cấy KBM.

Khi sử dụng chỉ số ngưỡng cut-off là 500 pg/mL, chúng tôi nhận thấy khả năng ly giải PC3 tại thời điểm D0 là không khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05) với lần lượt trung bình là 11,93% và 15% ở nhóm NKA-IFN γ trên 500 pg/mL và NKA-IFN γ thấp (\leq 500 pg/mL). Tuy nhiên, tại thời điểm D14, tế bào NK ở nhóm NKA-IFN γ thấp chỉ có khả năng giết PC3 trung bình là 42,4% so với tế bào NK ở nhóm trên 500 pg/mL với trung bình là 72,91%, khác biệt có ý

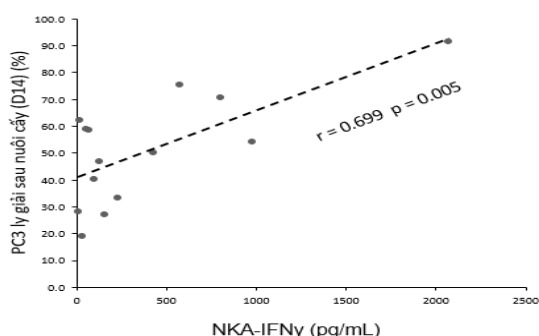
nghĩa thống kê với p < 0,01 (**Bảng 3**). Điều này cho thấy hoạt tính tế bào NKA-IFN γ \leq 500 pg/mL có thể dự đoán khả năng giết PC3 của tế bào NK sau tăng sinh kém hơn so với nhóm trên 500 pg/mL.

Với ngưỡng cut-off NKA-IFN γ là 200 pg/mL, chúng tôi nhận thấy khả năng ly giải PC3 tại thời điểm D0 là không khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05) với lần lượt trung bình là 13,52% và 14,58% ở nhóm NKA-IFN γ > 200 pg/mL và NKA-IFN γ \leq 200 pg/mL. Tuy nhiên, tại thời điểm D14, tế bào NK ở nhóm NKA-IFN γ thấp \leq 200 pg/mL chỉ có khả năng giết PC3 trung bình là 42,58% so với tế bào NK ở nhóm trên 200 pg/mL với trung bình là 62,5%, khác biệt không có ý nghĩa thống kê với p > 0,05 (**Bảng 3**).

Như vậy, khi phân tích khả năng giết tế bào đích PC3 của tế bào NK sau nuôi cấy theo các ngưỡng NKA-IFN γ chúng tôi thu được kết quả: Với ngưỡng NKA-IFN γ 500 pg/mL, khả năng giết tế bào đích đều tăng khác biệt so với trước nuôi cấy nhưng ở nhóm có NKA-IFN γ thấp hơn 500 pg/mL thì khả năng giết là yếu hơn nhóm trên 500 pg/mL ở ngày D14. Tuy nhiên, so sánh giữa

hai nhóm thấp ≤ 200 pg/mL với nhóm trên 200 pg/mL lại cho thấy không có sự khác biệt về khả năng giết PC3 ở ngày D14. Vì vậy, chúng tôi cho rằng ở ngưỡng hoạt tính NK là 500 pg/mL cho phép phân biệt rõ hơn về khả năng giết tế bào đích của tế bào NK/D14 ở bệnh nhân UTTTL. Trong khi đó, ở ngưỡng 200 pg/mL không cho phép phân biệt được mức độ giết này.

3.3. Môi tương quan giữa hoạt tính tế bào NK với hiệu quả giết tế bào PC3 của tế bào NK sau tăng sinh



Biểu đồ 1. Môi tương quan giữa NKA-IFN γ với hiệu quả giết PC3 của các tế bào NK sau tăng sinh ex-vivo

Chúng tôi đã tính hệ số tương quan tuyến tính giữa NKA-IFN γ và tỷ lệ ly giải PC3 vào ngày D14. Kết quả cho thấy mối tương quan thuận, mức độ chặt chẽ với hệ số tương quan $r = 0,699$, $p=0,005$ (**Biểu đồ 1**). Cần nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn để làm rõ liệu hoạt tính chế tiết tế bào NK máu ngoại vi (NKA-IFN γ) ở bệnh nhân ung thư tuyến tiền liệt có thể dự đoán năng lực gây độc của các tế bào NK sau tăng sinh ex-vivo hay không.

IV. KẾT LUẬN

Nhóm UTTTL có hoạt tính tế bào NK dưới 500 pg/mL cho thấy khả năng giết tế bào PC3 kém hơn so với nhóm UTTTL có hoạt tính trên 500 pg/mL. Nghiên cứu cũng chỉ ra có mối tương quan thuận giữa hoạt tính tế bào NK và khả năng giết tế bào dòng ung thư PC3 bởi tế bào NK sau nuôi cấy ở đối tượng UTTTL.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **K. Naqai, Y. Harada, H. Harada, et al.** Highly Activated Ex Vivo-expanded Natural Killer Cells in Patients With Solid Tumors in a Phase I/IIa Clinical Study. *Anticancer Res.* 2020 Oct;40(10):5687-5700.
2. **V. Dedeepiya, H. Terunuma, S. Maniunath, et al.** Autologous Immune Enhancement Therapy for cancer using NK cells and CTLs without feeder layers: our six year experience in India, *J Stem Cells Regen Med.* 2011 Oct 30;7(2):95.
3. **H.T.M. Nhung, B.V. Anh, T.L. Huven, D.T. Hiep, C.T. Thao, P.N. Lam, N.T. Liem.** Ex vivo expansion of human peripheral blood natural killer cells and cytotoxic T lymphocytes from lung cancer patients, *Oncol Lett.* 2018 Apr;15(4):5730-5738.
4. **H.P. Nguyen, D.D. Pham, N.D. Dinh, P.V. Nguyen, V.A. Bui, M.T. Hoang, L.T. Nguyen.** Evaluating the Safety and Quality of Life of Colorectal Cancer Patients Treated by Autologous Immune Enhancement Therapy (AIET) in Vinmec International Hospitals. *Int J Mol Sci.* 2022 Sep 26;23(19):11362.
5. **S.B. Lee, J. Cha, I.K. Kim, J.C. Yoon, et al.** A high-throughput assay of NK cell activity in whole blood and its clinical application. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014 Mar 14;445(3):584-90.
6. **F. Wang, X. Dong, J. Wang, F. Yang, et al.** Allogeneic Expanded Human Peripheral NK Cells Control Prostate Cancer Growth in a Preclinical Mouse Model of Castration-Resistant Prostate Cancer. *J Immunol Res.* 2022 Apr 11;2022:1786395.
7. **S.P. Hood, G.A. Foulds, H. Imrie, et al.** Phenotype and Function of Activated Natural Killer Cells From Patients With Prostate Cancer: Patient-Dependent Responses to Priming and IL-2 Activation. *Front Immunol.* 2019 Jan 25;9:3169.
8. **Rezaeifard S, Heike Y, Masuyama JI, et al.** Autologous Natural Killer Cell-enrichment for Immune Cell Therapy: Preclinical Setting Phase. Shiraz Experience. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2021;17;20(2):233-243.
9. **M. Berg, et al.** Ex-vivo expansion of NK cells: What is the priority - high yield or high purity?. *Cytotherapy.* 2010;12: 969-970.
10. **Pasero C., Gravis G., Guerin M., et al.** Inherent and tumor-driven immune tolerance in the prostate microenvironment impairs natural killer cell antitumor activity. *Cancer Res.* 2016;76:2153-65.