

CAR-NK RESEARCH - A PROMISING DIRECTION OF IMMUNE THERAPIES AGAINST CANCER

Tran Thi Thanh Huong

TNU - University of Information and Communication Technology

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 04/10/2021 Revised: 20/12/2021 Published: 12/01/2022	Today, scientists are always trying to find valuable applications new methods based on free in-body service providers. NK is a very important component of the immune system, we can kill cancer cells without induction. However, cancer cells use a variety of tactics to experiment, creating the immune system's failure to block the application. So, they used gene editing technology to introduce CAR - a beneficiary material into NK, which enhances the anti-tumor activity of NK. The objective of this paper is to provide information on the structure of CAR, commonly used NK sources, and methods of CAR conversion and activation in NK to create a complete CAR-NK. The research method of the article is a synthesis of articles on CAR-NK generation methods. The results we obtained are as follows: CAR has a structure of 3 regions, commonly used NK sources are NK92 and PBMC lines; there are two ways to transfer CAR into NK: viral loading and transduction; user to be used to active CAR in NK to CAR-NK has a stronger anti-tumor effect. Clinical application of CAR-NK will become a promising weapon in the fight against cancer.
KEYWORDS	
Cell Immunity Activated Tumor Cytokines	

NGHIÊN CỨU CAR-NK – MỘT HƯỚNG ĐI ĐẦY HỨA HẸN CỦA LIỆU PHÁP MIỄN DỊCH CHỐNG UNG THƯ

Trần Thị Thanh Hương

Trường Đại học Công nghệ Thông tin và Truyền thông – ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 04/10/2021 Ngày hoàn thiện: 20/12/2021 Ngày đăng: 12/01/2022	Ngày nay, các nhà khoa học luôn nỗ lực để tìm kiếm phương pháp điều trị ung thư mới dựa vào các tế bào miễn dịch trong cơ thể. NK là thành phần rất quan trọng của hệ miễn dịch, chúng có thể tiêu diệt tế bào ung thư mà không cần cảm ứng. Tuy nhiên, tế bào ung thư sử dụng nhiều chiến thuật để lẩn trốn, khiến cho hệ miễn dịch thất bại trong các đáp ứng chống khối u. Vì vậy, người ta đã dùng công nghệ chỉnh sửa gen để đưa CAR - một thụ thể kháng nguyên vào NK, điều này giúp tăng cường hoạt động chống khối u của NK. Mục tiêu của bài báo này là cung cấp các thông tin về cấu trúc của CAR, các nguồn NK thường được sử dụng, phương pháp chuyển và kích hoạt CAR trong NK để tạo ra một CAR-NK hoàn chỉnh. Phương pháp nghiên cứu của bài báo là tổng hợp các bài viết tổng quan về phương pháp tạo CAR-NK. Kết quả chúng tôi thu được như sau: CAR có cấu trúc gồm 3 vùng, nguồn NK thường được sử dụng là dòng NK92 và PBMC; có hai cách chuyển CAR vào NK là tải nạp bằng virus và chuyển nạp; người ta dùng thụ thể để kích hoạt CAR trong NK để CAR-NK có hiệu quả chống khối u mạnh mẽ hơn. Việc áp dụng các CAR-NK trên lâm sàng hứa hẹn sẽ trở thành vũ khí đầy tiềm năng trong cuộc chiến chống lại bệnh ung thư.
TỪ KHÓA	
Tế bào Miễn dịch Kích hoạt Khối u Cytokine	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.5111>

Email: ttthuong@ictu.edu.vn

<http://jst.tnu.edu.vn>

28

Email: jst@tnu.edu.vn

1. Mở đầu

Ung thư luôn là căn bệnh chiếm tỷ lệ tử vong hàng đầu trên thế giới. Liệu pháp miễn dịch ung thư đang là phương pháp điều trị ung thư được các nhà khoa học trên thế giới đặc biệt quan tâm nghiên cứu, nó kích hoạt hệ thống miễn dịch của chính cơ thể bệnh nhân và trở thành một lựa chọn điều trị ngày càng hiệu quả đối với bệnh ung thư.

Tế bào NK (natural killer cell, tế bào diệt tự nhiên) là một tế bào miễn dịch đặc biệt vì chúng có một cơ chế tự nhiên để nhận biết tế bào ung thư mà không cần kháng nguyên đặc hiệu. Tuy nhiên, tế bào NK gặp phải khó khăn khi di chuyển và gây độc trong môi trường khối u. Hơn nữa, tế bào ung thư sử dụng nhiều cách để trì hoãn, thay đổi hoặc thậm chí ngừng phản ứng miễn dịch chống khối u, làm cho hệ miễn dịch thất bại trong việc kiểm soát sự phát triển của ung thư. Do đó, các đáp ứng chống khối u của tế bào NK gặp rất nhiều hạn chế [1].

Người ta đã sử dụng nhiều chiến lược để khắc phục những vấn đề trên như bổ sung các chất kích thích miễn dịch để tạo ra tác dụng hiệp đồng hoặc biến đổi gen của các tế bào NK để chúng mạnh hơn và đàn hồi hơn [2].

Với sự phát triển của công nghệ chỉnh sửa gen, tế bào NK có thể được điều chỉnh bằng cách đưa vào CAR (chimeric antigen receptor, thụ thể kháng nguyên dạng khảm) hoặc loại bỏ các gen ức chế [2]. CAR là các protein thụ thể đã được thiết kế để cho phép nhận biết cụ thể một protein đích và cảm ứng tín hiệu thứ cấp. Vùng nhận biết thường có nguồn gốc từ vùng liên kết kháng nguyên của kháng thể. Điều này được thể hiện trên bề mặt tế bào nhờ vùng bản lề tạo ra tính linh hoạt cho CAR. Sau đó, vùng này liên kết với các miền tín hiệu nội bào nhờ miền xuyên màng, thường là CD3-zeta. Trong miền nội bào cũng có các miền kích thích để tăng cường tín hiệu và kéo dài tuổi thọ cho CAR sau kích hoạt [3]. Sử dụng các kỹ thuật như vậy, tế bào NK từ những bệnh nhân có khối u ác tính có thể nhanh chóng tiêu diệt các tế bào khối u tự thân [4]-[6].

Trong bài báo này, chúng tôi tổng hợp các nghiên cứu liên quan đến việc biến đổi gen của tế bào NK bằng cách đưa CAR đã được thiết kế vào tế bào NK để tạo nên CAR-NK đặc hiệu với tế bào khối u. Điều này giúp tăng cường hoạt động chống ung thư của tế bào NK, mở ra một hướng đi hoàn toàn mới và đầy triển vọng cho các nhà khoa học trong việc tìm kiếm phương pháp điều trị ung thư mới.

2. Cấu trúc của CAR

Trước đây, người ta sử dụng cấu trúc CAR đã được thiết kế cho tế bào CAR-T để sử dụng cho cả tế bào CAR-NK. Hiện nay, CAR đã được thiết kế chuyên biệt cho tế bào NK nhằm sử dụng các phân tử tín hiệu nội bào và tối ưu hóa tiềm năng điều trị của tế bào NK.

CAR được thiết kế giúp cho các tế bào miễn dịch có thể nhận ra kháng nguyên trên bề mặt khối u mà không chịu sự hạn chế của HLA (Human leukocyte antigens, kháng nguyên bạch cầu người) nhờ miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, đặc trưng là scFv (single chain antibody fragment, đoạn biến đổi chuỗi đơn) có nguồn gốc từ kháng thể đơn dòng và miền tín hiệu nội bào, thường là chuỗi CD3ζ của TCR (T cell receptor, thụ thể tế bào T) [6]. CAR là một loại protein xuyên màng loại I bám trên màng tế bào, do tế bào miễn dịch tiết ra thông qua con đường chuyển vị đồng dịch mã [7]. Về bản chất, CAR là một protein có trình tự bắt đầu bằng một peptide tín hiệu ngắn, chúng nằm ở đầu cuối N của protein, mang thông tin cho quá trình lắp ráp sau dịch mã của protein trong lưới nội chất và bào quan Golgi biểu hiện trên màng [6]. Trong tế bào nhân thực, đoạn peptide tín hiệu ngắn được xác định bằng hạt nhận dạng tín hiệu trong khi protein vẫn đang dịch mã trong ribosome. Sau khi protein sơ khai vượt qua màng lưới nội chất, peptide tín hiệu sẽ bị peptidase tín hiệu cắt ra, sau đó quá trình lắp ráp và gấp protein sẽ bắt đầu [8].

Phân tử CAR được thiết kế chuyên dụng cho tế bào NK gồm ba vùng: ectodomain (vùng ngoại bào), vùng xuyên màng và endodomain (vùng nội bào).

3. Vùng ngoại bào

Vùng ngoại bào được tạo thành từ một peptide tín hiệu, chứa miền nhận dạng kháng nguyên (ScFv hoặc NKG2D (Natural-killer Group 2, tế bào giết tự nhiên nhóm 2)). Vùng ngoại bào gồm ScFv (có chuỗi nặng, chuỗi nhẹ) và vùng bản lề [9].

ScFv là vùng liên kết với kháng nguyên khối u của CAR, các scFv khác nhau có thể liên kết với các biểu mô khác nhau của cùng một loại protein, do đó, miền này sẽ xác định cả tính đặc hiệu và chức năng của tế bào CAR-NK [9].

Vùng bản lề, còn được gọi là vùng đệm, là cấu trúc ngoại bào của CAR kết nối các đơn vị scFv với miền xuyên màng, tạo cho CAR khả năng định hướng và tính linh hoạt để liên kết với các kháng nguyên khối u và tác động đến các hoạt động CAR-NK. Vùng này giúp CAR biểu hiện mạnh mẽ và ổn định trong các tế bào hiệu ứng [6].

Vùng xuyên màng (CD3, CD8, CD28, NKG2D, 2B4)

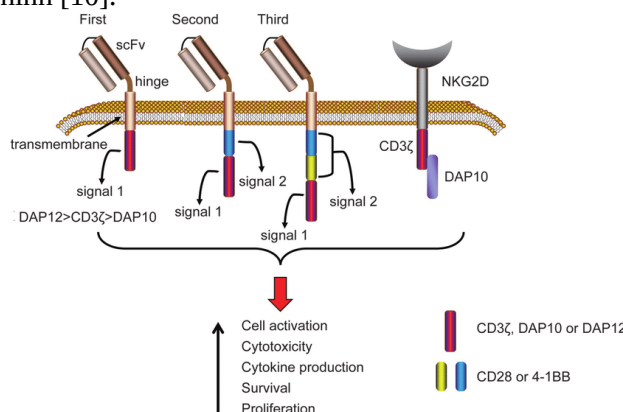
Vùng xuyên màng nằm giữa vùng bản lề và vùng nội bào, bao gồm các phân tử CD3 ζ , HLA-A2 hoặc CD28. Vùng xuyên màng kết nối vùng ngoại bào của CAR với các vùng truyền tín hiệu hoạt hóa nội bào và gắn thụ thể vào màng tế bào NK, chúng phải tuân theo hướng tự nhiên (thứ tự N- đến C) của protein xuyên màng trên tế bào T hoặc tế bào NK [8].

Vùng xuyên màng có ảnh hưởng đến chức năng của CAR, do đó sẽ quyết định hoạt động của CAR-NK [6]. Người ta dùng dòng tế bào NK-92 để sàng lọc chức năng CAR có miền xuyên màng chứa CD28, CD16, Nkp44, Nkp46, NKG2D, DNAM-1 và 2B4. Vùng xuyên màng có chứa các phân tử hay biểu hiện trên tế bào NK như DNAM-1, 2B4 và NKG2D sẽ dẫn đến sự phân hủy CD107a nhiều hơn và độc tính tế bào cao hơn [8].

Vùng nội bào

Số lượng vùng kích hoạt nội bào quyết định khả năng của CAR. Người ta sử dụng các tổ hợp miền kích hoạt khác nhau để tạo ra một phản ứng chống khối u mạnh mẽ.

Phần lớn miền nội bào CAR chứa vùng kích hoạt có nguồn gốc từ CD3 ζ , là vùng nội bào cổ điển nhất bao gồm ba ITAM (the immunoreceptor tyrosine-activated motifs, kiểu thụ thể miền dịch kích hoạt tyrosine). Để tăng khả năng sinh sản và gây độc tế bào của tế bào biến đổi CAR, người ta thêm vào đuôi tế bào chất các thụ thể protein đồng kích thích như CD28, 4-1BB, CD134, ICOS. CAR thế hệ đầu chỉ có miền báo hiệu chứa CD3 ζ hoặc DAP12. CD3 ζ là miền báo hiệu tốt hơn DAP10 và DAP12 có thể kích hoạt tế bào NK tốt hơn CD3 ζ . CAR thế hệ thứ hai, người ta đã kết hợp CD3 ζ với tín hiệu thứ hai (là CD28 hoặc 4-1BB). CAR thế hệ thứ ba chứa hai miền tín hiệu kích thích. Dựa trên cơ chế NKG2D kích hoạt các tế bào NK, một cấu trúc CAR độc đáo đã được phát triển - có chứa NKG2D là miền ngoại bào và kết nối DAP10 và CD3 ζ như các phân tử tín hiệu chính [10].



Hình 1. Cấu trúc của CAR thế hệ thứ nhất, thứ 2 và thứ 3 [10]

Hình 1 minh họa cấu trúc của CAR- mỗi CAR gồm vùng ngoại bào, vùng xuyên màng và vùng nội bào (hay còn gọi là vùng tín hiệu). Các thế hệ CAR khác nhau ở vùng tín hiệu.

Cấu trúc của vùng tín hiệu nội bào xác định cường độ của tín hiệu kích hoạt CAR-NK, vùng này có chứa các kiểu kích hoạt tyrosine thụ thể miễn dịch (ITAM), miền truyền tín hiệu cung cấp tín hiệu để kích hoạt tế bào NK [8].

Nguồn tế bào NK

Tế bào NK có thể lấy từ máu ngoại vi, tế bào gốc đa năng hoặc từ máu cuống rốn. Hiện nay, người ta sử dụng hai dòng tế bào NK chính là dòng NK92 và dòng tế bào NK đơn nhân máu ngoại vi.

Dòng tế bào NK92 có khả năng tăng sinh không giới hạn trong ống nghiệm và giảm độ nhạy đối với các chu kỳ đông lạnh/rã đông lặp lại, do đó nó dễ dàng nhân lên trong môi trường nuôi cấy (bình, túi thẩm khí hay lò phản ứng sinh học tuân thủ GMP). Vì vậy, ưu điểm của phương pháp này là luôn “có sẵn” tế bào NK để sử dụng trong lâm sàng với thời gian sản xuất ít và chi phí thấp hơn. Tuy nhiên, tế bào NK92 là một dòng tế bào khối u có nguy cơ gây khối u tiềm ẩn, thiếu biểu hiện CD16 và NKp44. Ngoài ra, NK92 cần chiếu xạ trước khi đưa vào ứng dụng lâm sàng nên rất khó mở rộng in vivo. Các vấn đề nói trên làm cho tế bào NK92 không phải là nguồn tế bào lý tưởng cho các phương pháp tiếp cận liệu pháp tế bào CAR-NK [11].

Dòng tế bào NK có nguồn gốc từ PBMC (peripheral blood mononuclear cells, tế bào đơn nhân máu ngoại vi) ở người cũng là một nguồn tế bào NK quan trọng đã được sử dụng trong nhiều thử nghiệm lâm sàng. Bằng cách sử dụng bộ dụng cụ phân lập tế bào NK, có thể dễ dàng phân lập đủ số lượng tế bào NK trực tiếp từ PBMC của một người hiến tặng khỏe mạnh, sau đó kích thích và nhân lên trong môi trường dành riêng cho tế bào NK với các cytokin cho tiền lâm sàng. Tế bào CAR-NK có nguồn gốc từ PBMC có ưu điểm là biểu hiện một loạt các thụ thể hoạt hóa sử dụng được mà không cần chiếu xạ, điều này cho phép chúng mở rộng in vivo. Hơn nữa, chúng có 90% là tế bào NK có ít thụ thể CD56, nhiều thụ thể CD16- thường biểu hiện kiểu hình trưởng thành, tăng độc tính tế bào và giảm khả năng sinh sản, do đó chúng dễ dàng sử dụng được trong lâm sàng để tạo ra loạt tế bào NK có chất lượng cao [12].

Vì tế bào CAR-T tự thân được tạo ra từ tế bào lympho máu ngoại vi của chính bệnh nhân ung thư, nên năng suất, hiệu quả truyền tải, phân bố tế bào T và trạng thái kích hoạt có thể khác nhau, ảnh hưởng đến thành phần và chất lượng tổng thể của sản phẩm. Ngược lại, tế bào NK có thể được sử dụng một cách an toàn cho người nhận không phù hợp với HLA. Do đó, các tế bào NK máu ngoại vi và máu dây rốn có nguồn gốc từ người hiến tặng cung cấp các nguồn sẵn có, không chỉ để truyền tế bào lympho của người hiến tặng, mà còn để tạo ra các tế bào NK được biến đổi gen [13].

Chuyển gen CAR vào tế bào NK

Nhờ các tiến bộ trong công nghệ chỉnh sửa gen, người ta đã sử dụng nhiều phương pháp để chuyển CAR vào tế bào NK. Trong đó, hai phương pháp chính được sử dụng là tải nạp virus (sử dụng lentivirus hoặc retrovirus), hoặc chuyển nạp với DNA plasmid trần, tích hợp qua trung gian DNA của transposase hoặc mRNA bằng cách điện hóa [14].

Mặc dù phương pháp tải nạp trong vài thập kỷ qua đã hiệu quả hơn, nhưng quá trình tải nạp retrovirus vẫn còn phụ thuộc vào sự tồn tại của một bộ phận tế bào đang hoạt động, điều này làm cho phương pháp này không hiệu quả nếu các tế bào NK không được kích hoạt. Với các vectơ lentivirus, tiềm ẩn nguy cơ gây đột biến gen khi virus chèn vào bộ gen của tế bào NK. Hơn nữa, các tế bào NK bị chết sau chuyển gen đã hạn chế việc sử dụng các tế bào NK được biến đổi gen. Chỉ có một số nghiên cứu đã ghi nhận tế bào NK hoạt động thành công sau khi tải nạp virus. Các đặc tính bẩm sinh đặc trưng của tế bào NK có thể làm giảm hiệu quả của chúng sau khi truyền virus. Để CAR biểu hiện lâu hơn (nhiều tuần) trong các tế bào sơ cấp, người ta sử dụng virus để tải nhiều hơn sử dụng phương pháp chuyển nạp [14].

So với tải nạp virus, phương pháp chuyển nạp vào tế bào NK sẽ giúp biểu hiện gen chuyển nhanh hơn với mức độ chết thấp hơn, ít biến động hơn giữa các cá thể và hiệu quả chuyển gen cao hơn. Tuy nhiên, DNA ngoại sinh thường không được tích hợp vào bộ gen của tế bào đích, do đó, gen chuyển chỉ biểu hiện nhất thời và giảm dần sau khoảng 3-5 ngày chuyển nạp. Vì vậy, người ta đã kết hợp phương pháp chuyển nạp với các kỹ thuật tích hợp DNA để tạo ra các tế bào

biểu hiện gen chuyển ổn định, đồng thời sử dụng cơ chế “cắt và dán” để chuyển gen mong muốn từ nhiễm sắc thể vào vector.

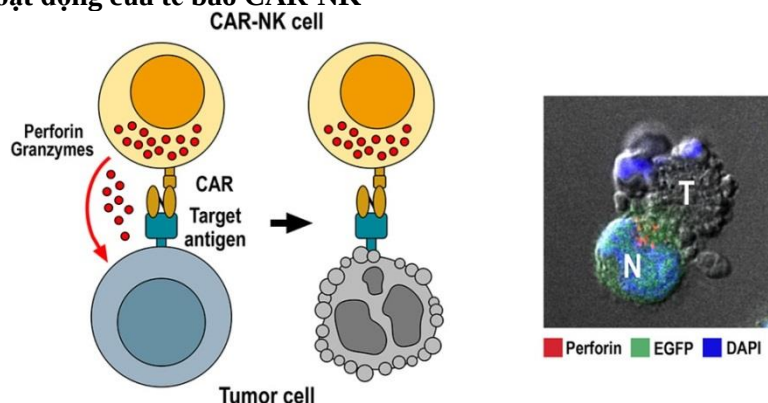
Cho đến nay, người ta đã công bố 64 nghiên cứu tiền lâm sàng sử dụng virus để tải CAR vào tế bào NK và 11 nghiên cứu sử dụng quá trình chuyển nạp bằng điện hoặc qua trung gian hạt nano. Với phương pháp tải nạp các tế bào NK bằng các vector retrovirus, hiệu suất đạt được dao động từ 27% đến 52% sau một vòng tải nạp [15].

Kích hoạt CAR trong tế bào NK

Các vùng kích hoạt sẽ kích hoạt tế bào NK khi nhận ra kháng nguyên đích. Trái ngược với tế bào lympho T, tế bào NK kích hoạt bằng nhiều loại thụ thể khác nhau, trong đó thụ thể cytokine cũng là chất điều hòa quan trọng đối với sự phát triển, trưởng thành và hoạt hóa của tế bào NK. Mỗi thể hệ CAR có số lượng tín hiệu kích hoạt nội bào khác nhau: CAR thế hệ thứ nhất có một tín hiệu kích hoạt, CAR thế hệ thứ hai có hai tín hiệu [16].

Người ta đã phát triển các tế bào CAR-NK với một protein giúp tăng cường sự sinh sôi và tồn tại của tế bào NK, đồng thời kết hợp CAR với IL-15 và một gen tự sát cảm ứng. Chiến lược này giúp tăng cường chức năng tế bào CAR-NK trong ống nghiệm thông qua việc tăng quá trình đường phân hiếu khí. Điều này có lợi trong vì môi trường khối u do nó thường hay bị giới hạn ở mức IL-15. Do đó, khi thay đổi tín hiệu cytokine trong tế bào CAR-NK có thể cải thiện khả năng của tế bào CAR-NK. Các tín hiệu kích hoạt có thể tạo ra phản ứng chống khối u mạnh mẽ, nhưng cũng có thể làm cho các tế bào tác động bị cạn kiệt nhanh chóng. Do đó, người ta có thể sử dụng các miền đồng kích thích để hiệu chỉnh đáp ứng mong muốn của tế bào miễn dịch [16].

Đánh giá hoạt động của tế bào CAR-NK



Hình 2. Hoạt động của tế bào CAR-NK [17]

Hình 2 minh họa hoạt động của tế bào CAR-NK: miền ngoại bào của CAR-NK bám vào kháng nguyên của tế bào ung thư, khi đã bám được vào mục tiêu, tế bào NK giải phóng Perforin và Granzymes để tiêu diệt tế bào ung thư.

Mặc dù liệu pháp CAR-NK vẫn đang được nghiên cứu lâm sàng, ta có thể thấy tế bào NK có nhiều ưu điểm hơn tế bào T khi biểu hiện CAR và khi được sử dụng để điều trị ung thư. Thứ nhất, tế bào NK rất dễ bị cô lập và có tuổi thọ tương đối ngắn. Do đó, nguy cơ phát triển không kiểm soát của các tế bào CAR-NK đã chuyển ở bệnh nhân là tương đối thấp. Thứ hai, các cytokine do tế bào NK tiết ra chủ yếu bao gồm IFN- γ (Interferon gamma) và GM-CSF (granulocyte macrophage colony-stimulating factor, yếu tố kích thích đại thực bào thuộc dòng bạch cầu hạt), tương đối an toàn hơn các cytokine do tế bào CAR-T hoạt hóa tiết ra - như TNF- α và IL-6. Đặc biệt, các cytokine tiền viêm tạo ra từ các tế bào CAR-T có thể gây ra CRS (cytokine release syndrome, hội chứng giải phóng cytokine) sẽ có nguy cơ gây tử vong - một tác dụng phụ phổ biến và nghiêm trọng nhất của liệu pháp CAR-T [18]. Thứ ba, các tế bào CAR-NK có thể kích hoạt quá trình ly giải các tế bào đích theo cả cách hoạt động phụ thuộc CAR và không phụ thuộc vào CAR, điều này càng làm tăng thêm hoạt động tiêu diệt của chúng. Ngoài ra, liệu pháp

CAR-NK dự kiến sẽ ít tốn kém hơn, vì tế bào NK có thể được lấy từ PBMC, dòng tế bào NK và HPSC (human pluripotent stem cells, tế bào gốc đa năng của người) còn các tế bào T được sử dụng cho liệu pháp CAR-T bắt buộc phải là tế bào tự thân [18].

Mặc dù có những lợi thế đáng kể và tiềm năng to lớn, nhưng vẫn còn những thách thức cần được giải quyết một cách thận trọng để tránh cản trở việc áp dụng điều trị CAR-NK trên lâm sàng. Thứ nhất, thiết kế cấu trúc tối ưu của CAR trên tế bào NK vẫn chưa được nghiên cứu có hệ thống. Vị trí của biểu mô liên kết CAR và khoảng cách của nó đến bề mặt tế bào CAR-NK có ảnh hưởng đến sự liên kết với các kháng nguyên, sự hình thành tối ưu của các khớp thần kinh miễn dịch và kích hoạt tế bào CAR-NK. Các quan sát thực nghiệm từ các tế bào CAR-T chỉ ra rằng, cấu trúc của các miền bản lề và xuyên màng có thể ảnh hưởng đến tính đặc hiệu và hoạt động của CAR. Ngoài ra, có một yêu cầu khác biệt về tín hiệu kích thích giữa dòng tế bào NK-92 đã được thiết lập, tế bào NK chính và tế bào NK có nguồn gốc HPSC [18].

Mặc dù có những thách thức nhất định, nhưng không thể phủ nhận những ưu điểm vượt trội của CAR-NK. Tính đến tháng 6 năm 2020, có mười chín nghiên cứu được đăng ký trên Clinicaltrials.gov đánh giá tính an toàn và hiệu quả của tế bào CAR-NK ở bệnh nhân ung thư tham gia thử nghiệm, trong đó có 12/19 thử nghiệm đang trong pha I/IIa. Trong hầu hết các thử nghiệm này, các tế bào CAR-NK nhắm mục tiêu vào các dòng CD19, CD22, BCMA, CD33 hoặc CD7 trên các khối u ác tính của máu. Một số tế bào CAR-NK nhắm vào các khối u rắn di căn biểu hiện các kháng nguyên liên quan đến khối u như HER2, PSMA, mesothelin, ROBO1 hoặc MUC1 [18].

Liệu pháp CAR-NK đã được đưa vào thử nghiệm trên bệnh nhân ung thư. Theo báo cáo từ Trung tâm Ung thư MD Anderson của Đại học Texas, phần lớn bệnh nhân ung thư tái phát/kháng với điều trị tham gia thử nghiệm pha I/IIa đã cho thấy có đáp ứng lâm sàng với liệu pháp CAR-NK. Kết quả được công bố trên Tạp chí Y học New England cho thấy, thời gian theo dõi trung bình khoảng 13,8 tháng. Tám trong số 11 bệnh nhân (73%) có đáp ứng khách quan với điều trị, 7 bệnh nhân đáp ứng hoàn toàn. Thời gian đáp ứng được cho là khá nhanh, xảy ra trong vòng một tháng sau khi truyền CAR-NK.

Trên thế giới, sản phẩm CAR-NK đầu tiên có tên là FT596, T596 đã chứng minh khả năng tiêu diệt tế bào bạch cầu ung thư tương đương với tế bào CAR-T tiêu chuẩn. FDA đã phê duyệt đơn đăng ký thuốc mới của công ty Fate Therapeutics cho FT596 vào tháng 9 năm 2019 và bệnh nhân đầu tiên được điều trị vào tháng 3 năm 2020 [10].

Ở Việt Nam, vì điều kiện kinh tế, kiến thức và kinh nghiệm còn nhiều giới hạn nên CAR-NK vẫn chưa thể triển khai nghiên cứu và điều trị. Tuy nhiên, Việt Nam sẽ kết hợp với Nhật Bản và một số nước khác để triển khai kế hoạch nghiên cứu và thử nghiệm ở nước nhà.

4. Kết luận

Hiện nay, liệu pháp miễn dịch ung thư đang được tích cực khai thác để tăng cường chức năng miễn dịch chống khối u qua các tế bào miễn dịch khác nhau, trong đó có tế bào NK. Biến đổi các tế bào NK với năng suất và chất lượng cao là một cách tiếp cận trực tiếp và cơ bản để thay thế, phục hồi và cải thiện chức năng của hệ thống miễn dịch [19].

NK là một tế bào miễn dịch đặc biệt, tế bào NK luôn có sẵn để sử dụng trong lâm sàng. Người ta thường dùng tế bào NK thuộc dòng NK-92 và PBMC. CAR được thiết kế chuyên biệt cho tế bào NK có ba vùng chính là vùng ngoại bào, vùng xuyên màng và vùng nội bào. Các thể hệ CAR-NK khác nhau ở vùng nội bào. CAR được chuyển vào tế bào NK bằng cách dùng virus để chuyển nạp hoặc tải nạp. Khi vào trong NK, người ta dùng các thụ thể (thường là cytokine) để kích hoạt CAR, do đó CAR có thể tăng cường hiệu quả và thể hiện nhiều ưu thế hơn hẳn so với CAR-T.

Nhờ những tiến bộ trong phương pháp biến đổi gen các tế bào NK, việc áp dụng các tế bào CAR-NK hứa hẹn sẽ trở thành vũ khí mạnh mẽ trong cuộc chiến chống lại bệnh ung thư.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] J. North *et al.*, "Tumor-primed human natural killer cells lyse NK-resistant tumor targets: evidence of a two-stage process in resting NK cell activation," *Jornal of Immunology*, vol. 178, pp. 85-94, 2007.
- [2] A. M. Abel *et al.*, "Natural killer cells: development, maturation, and clinical utilization," *Frontiers Immunology*, vol. 9, pp. 1860-1869, 2018.
- [3] K. Rezvani *et al.*, "Engineering natural killer cells for cancer immunotherapy," *Molecular Therapy*, vol. 25, no. 8, pp. 1769-1781, 2017.
- [4] H. Fujisaki *et al.*, "Expansion of highly cytotoxic human natural killer cells for cancer cell therapy," *Cancer Research*, vol. 69, pp. 4010-4017, 2009.
- [5] D. A. Lee "Regulatory considerations for NK cells used in human immunotherapy applications," *Methods in Molecular Biology*, vol. 7, pp. 347-361, 2016.
- [6] W. Glienke, R. Esser, C. Priesner, J. D. Suerth, A. Schambach, W. S. Wels, M. Grez, S. Kloess, L. Arseniev, and U. Koehl, "Advantages and applications of CAR-expressing natural killer cells," *Frontiers Pharmacology*, vol. 6, pp. 18-21, 2015.
- [7] M. Luevano, A. Madrigal, and A. Saudemont, "Transcription factors involved in the regulation of natural killer cell development and function: an Update," *Frontiers Immunology*, vol. 3, pp. 315-319, 2012.
- [8] L. Boissel, H. Klingemann, J. Khan, and P. Soon-Shiong, "Intra-tumor injection of CAR-engineered NK cells induces tumor regression and protection against tumor re-challenge," *Blood*, vol. 5, pp. 128-466, 2016.
- [9] J. Chu, Y. Deng, D. M. Benson, S. He, T. Hughes, J. Zhang, Y. Peng, H. Mao, L. Yi, and K. Ghoshal, "CS1-specific chimeric antigen receptor (CAR)-engineered natural killer cells enhance in vitro and in vivo antitumor activity against human multiple myeloma," *Leukemia*, vol. 28, pp. 917-927, 2014.
- [10] X. Tang *et al.*, "First-in-man clinical trial of CAR NK-92 cells: safety test of CD33-CAR NK-92 cells in patients with relapsed and refractory acute myeloid leukemia," *Cancer Research*, vol. 8, pp. 1083-1089, 2018.
- [11] F. Cichocki, B. Grzywacz, and J. S. Miller, "Human NK cell development: one road or many?" *Frontiers Immunology*, vol. 10, pp. 2075-2078, 2019.
- [12] M. A. Geller and J. S. Miller, "Use of allogeneic NK cells for cancer immunotherapy," *Immunotherapy*, vol. 3, pp.1445-1459, 2011.
- [13] S. Oelsner, M. E. Friede, C. Zhang, J. Wagner, S. Badura, P. Bader, E. Ullrich, O. G. Ottmann, H. Klingemann, T. Tonn, and W. S. Wels, "Continuously expanding CAR NK-92 cells display selective cytotoxicity against B-cell leukemia and lymphoma," *Cytotherapy*, vol. 19, pp. 235-249, 2017.
- [14] L. Ruggeri *et al.*, "Role of natural killer cell alloreactivity in HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation," *Blood*, vol. 94, no. 1, pp. 333-339, 1999.
- [15] T. Tonn, D. Schwabe, H. G. Klingemann, S. Becker, R. Esser, U. Koehl, M. Suttorp, E. Seifried, O. G. Ottmann, and G. Bug, "Treatment of patients with advanced cancer with the natural killer cell line NK-92," *Cytotherapy*, vol. 15, pp. 1563-1570, 2013.
- [16] M. J. Smyth *et al.*, "Activation of NK cell cytotoxicity," *Mol Immunol*, vol. 42, pp. 501-510, 2005.
- [17] C. Chabannon *et al.*, "Manufacturing natural killer cells as medicinal products," *Frontiers Immunology*, vol. 7, pp. 500-504, 2016.
- [18] P. Berraondo *et al.*, "Cytokines in clinical cancer immunotherapy," *Bristish Jornal Cancer*, vol. 120, pp. 06-15, 2019.
- [19] A. Cerwenka and L. L. Lanier, "Natural killer cell memory in infection, inflammation and cancer," *Nature Review Immunology*, vol. 16, pp. 112-123, 2016.