

Vai trò của hạt từ phủ kháng thể CD3/CD28 và IL-2 lên sự tăng sinh tế bào đơn nhân máu ngoại vi người (PBMC)

Effect of CD3/CD28 coated beads and Interleukin-2 on the proliferation of human Peripheral Blood Mononuclear Cell (PBMC)

Phùng Thị Việt Anh¹, Võ Nguyễn Thanh Thảo¹, Nguyễn Đăng Quân^{1*}

¹Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

*Tác giả liên hệ, Email: ndquan.snn@tphcm.gov.vn

THÔNG TIN	TÓM TẮT
DOI:10.46223/HCMCOUJS.tech.vi.17.1.2117.2022	Liệu pháp miễn dịch được coi là một phương pháp đầy hứa hẹn trong điều trị ung thư. Tế bào miễn dịch của bệnh nhân được phân lập, cảm ứng tăng sinh, biến đổi thành các tế bào chức năng khác nhau và sau đó được đưa trở lại người bệnh. Các tế bào miễn dịch được tăng sinh <i>ex vivo</i> có thể kể đến như tế bào giết tự nhiên (NK cell), tế bào biểu hiện thụ thể kháng nguyên dạng khảm (CART cell) và tế bào biểu hiện thụ thể T được biến đổi (TCR cell). Việc ứng dụng liệu pháp miễn dịch tế bào đòi hỏi phải nuôi và tăng sinh tế bào miễn dịch <i>in vitro</i>. Nghiên cứu này khảo sát ảnh hưởng của các nồng độ IL-2 khác nhau lên sự tăng sinh tế bào PBMC cũng như khả năng kích hoạt tế bào PBMC khi sử dụng hạt từ phủ CD3/CD28 với tỉ lệ 01 hạt từ: 03 tế bào trong 04 ngày nuôi cấy. Kết quả nghiên cứu cho thấy, không có sự khác biệt đáng kể lên sự tăng sinh tế bào PBMC ở các nồng độ IL-2 khác nhau trong 04 ngày đầu nuôi cấy. Việc bổ sung hạt từ phủ CD3/CD28 và 30U/mL IL-2 vào môi trường cho thấy có khả năng kích hoạt và tăng sinh tế bào, số lượng tế bào PBMC tăng gấp đôi sau 04 ngày kích hoạt trong đó quần thể CD3⁺ tăng gấp 03 lần đạt gần 70% trong quần thể tế bào PBMC, quần thể tế bào CD4⁺ và CD8⁺ cũng có sự tăng số lượng và đạt tỉ lệ tương đương nhau khoảng 30% mỗi loại.
Ngày nhận: 16/12/2021	
Ngày nhận lại: 24/12/2021	
Duyệt đăng: 31/12/2021	
<i>Từ khóa:</i> hạt từ phủ CD3/CD28; IL-2; liệu pháp miễn dịch; tế bào đơn nhân máu ngoại vi người	ABSTRACT Immunotherapy is considered a promising approach in cancer treatment. The patient's immune cells are isolated, expansion, manipulation, and then transfer back to the patient. Several immune cells are <i>ex vivo</i> proliferated, such as Natural Killer cells (NK cells), Chimeric Antigen Receptor T cells (CART cells) and engineered T Cell Receptor cells (TCR cells). The applications of cellular immunotherapy require <i>in vitro</i> culture and proliferation of immune cells. In this study, we evaluated the effect of different concentrations of IL-2 on PBMC proliferation as well as the ability to activate PBMC using CD3/CD28 coated magnetic beads
<i>Keywords:</i> CD3/CD28 Dynabead; IL-2; immunotherapy; PBMC	

with a ratio of 01 bead to 03 cells. The results showed that there was no significant difference in PBMC proliferation at different concentrations of IL-2 in the first four days of culture. The addition of CD3/CD28 beads and 30U/mL IL-2 into the medium showed the ability to activate and proliferate cells, the number of PBMC doubled after 04 days of activation in which the CD3⁺ cell population increased 03 times, reaching nearly 70% in the PBMC population, the CD4⁺ and CD8⁺ cell populations also increased in number and reached the same proportion, about 30%.

1. Giới thiệu

Miễn dịch trị liệu hiện đang là phương pháp hấp dẫn trong chữa trị bệnh ung thư. Đây là phương pháp dùng các tế bào miễn dịch đã được can thiệp gene và tăng sinh để chuyển vào người bệnh nhằm loại bỏ tế bào ung thư, phương pháp này có thể dùng điều trị đơn lẻ hoặc kết hợp với các phương pháp khác như xạ trị, hóa trị và phẫu thuật. Một trong những điểm thú vị của liệu pháp miễn dịch trị liệu đó là việc sử dụng các tế bào miễn dịch để chống lại các tế bào ung thư. Hiện có ba dạng tế bào bạch cầu được quan tâm trong phương pháp này, bao gồm tế bào lympho xâm nhiễm khối u (tumor-infiltrating lymphocytes, TIL), tế bào biểu hiện thụ thể tế bào T (engineered T cell receptor, TCR), và tế bào biểu hiện thụ thể kháng nguyên dạng khảm (chimeric antigen receptor T cells, CART), trong đó, CART cell đang được nghiên cứu rất nhiều trong nghiên cứu cơ bản và thử nghiệm lâm sàng (Fesnak, June, & Levine, 2016; Hartmann, Schüssler-Lenz, Bondanza, & Buchholz, 2017; Rohaan, Wilgenhof, & Haanen, 2019).

Để cung cấp đủ các tế bào miễn dịch đặc hiệu một cách hiệu quả, việc tăng sinh đủ lượng tế bào miễn dịch là một bước rất quan trọng và tiên quyết để điều trị thành công (Trickett, Kwan, Cameron, & Dwyer, 2002). Để tăng sinh, các tế bào bạch cầu ban đầu cần được kích hoạt bởi tín hiệu sơ cấp và thứ cấp thông qua việc kích hoạt CD3 và CD28. Việc kích hoạt tế bào có thể thực hiện bằng kháng thể kháng - CD3 (OKT3) kết hợp với các tế bào hỗ trợ; tuy nhiên, phương pháp gần đây sử dụng các hạt từ tính nhỏ đã được phủ kháng thể kháng CD3/CD28 để kích hoạt chúng (Martkamchan, Onlamoon, Wang, Pattanapanyasat, & Ammaranond, 2016). Các hạt nhỏ này có thể thay thế cho các tế bào trình diện kháng nguyên (APC) và là một trong các phương pháp kích hoạt được chấp thuận trong các thử nghiệm lâm sàng. Các hạt từ này cũng dễ dàng sử dụng và loại bỏ, và có thể dùng để phân lập bất kỳ tập con nào của quần thể tế bào miễn dịch. Số lượng hạt so với tế bào, gọi là tỉ lệ hạt-tế bào (bead-to-cell, B:C), là một yếu tố quyết định đến cường độ tín hiệu và sự tăng sinh của tế bào. Nếu tỉ lệ hạt-tế bào quá cao sẽ dẫn đến suy yếu tế bào T, ngược lại tỉ lệ quá thấp lại thất bại trong việc kích hoạt tế bào T, cả hai yếu tố trên dẫn đến việc kích hoạt tăng sinh tế bào T dưới mức tối ưu (Shi & ctg., 2013; Yu & ctg., 2017).

Thêm vào đó, các tế bào T cần các nhân tố tăng trưởng để tăng sinh, các nhân tố này thường có trong môi trường và huyết thanh. Một trong số đó là interleukin-2 (IL-2), liên kết với các thụ thể trên tế bào T và kích hoạt quá trình tăng sinh. Do đó, trong khi nuôi cấy cần bổ sung IL-2 vào môi trường cứ mỗi 02 - 03 ngày. Các nghiên cứu được công bố đã sử dụng khoảng từ 20 đến 10,000U/mL IL-2 cho việc tăng sinh tế bào, mặc dù sự khác biệt về hiệu quả tăng sinh của chúng vẫn không rõ ràng (Ghaffari & ctg., 2021; Ross & Cantrell, 2018).

Trong nghiên cứu này, với mục tiêu phân lập và tăng sinh tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC), chúng tôi sử dụng hạt từ phủ kháng thể CD3/CD28 cũng như khảo sát các nồng độ IL-2 trong việc kích hoạt và tăng sinh các tế bào này.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

05 tình nguyện viên khỏe mạnh được kêu gọi trong nghiên cứu này. Tất cả các tình nguyện viên tham gia đều ký vào “Giấy xác nhận tự nguyện hiến máu cho mục đích nghiên cứu khoa học” được Giám đốc Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh đồng ý và xác nhận. Mỗi người hiến máu sẽ được bác sĩ chuyên môn thu nhận khoảng 15 - 20mL máu và đựng trong ống chống đông chứa EDTA (HTM). Các mẫu máu sau đó được pha loãng và tiến hành tách tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC) sử dụng Ficoll-Paque (Sigma).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp tách tế bào đơn nhân máu ngoại vi PBMC

Pha loãng 10mL máu với PBS - EDTA 2mM theo tỉ lệ 1:1. Nhẹ nhàng chuyển hỗn hợp này vào ống 50mL chứa sẵn 10mL Ficoll-Paque (Sigma) sao cho tạo thành hai lớp không hòa lẫn vào nhau. Ly tâm 500g trong 30 phút, nhiệt độ phòng. Loại bỏ lớp plasma trên cùng, chuyển lớp giữa là lớp chứa PBMC sang ống sạch. Bổ sung 10mL PBS, ly tâm 350g trong 05 phút, nhiệt độ phòng. Lặp lại bước rửa trên thêm 01 lần, loại dịch và huyền phù tế bào thu được trong môi trường CTS AIM V bổ sung 5% Immune Cell SR (Gibco), 100 units/mL penicillin/streptomycin (Gibco). Kiểm tra kết quả phân lập và thành phần PBMC bằng phương pháp nhuộm Trypan Blue và phân tích tế bào theo dòng chảy flow cytometry (FACS Aria III - BD).

2.2.2. Phương pháp khảo sát các nồng độ Interleukin-2 (IL-2) lên sự tăng sinh PBMC

1×10^6 tế bào/mL PBMC trong môi trường CTS AIM V bổ sung 5% Immune Cell SR (Gibco), 100 units/mL penicillin/streptomycin (Gibco) và được nuôi trong đĩa 06 giếng. Bổ sung interleukin-2 (Preprotech) với các nồng độ 0, 20, 50, 100, 300U/mL và nuôi trong tủ ủ 37°C , 5% CO_2 . Huyền phù và theo dõi mật độ tế bào mỗi 24 giờ bằng nhuộm Trypan Blue.

2.2.3. Phương pháp kích hoạt PBMC bằng hạt từ phủ CD3/CD28

1×10^6 tế bào/mL PBMC được bổ sung hạt từ Dynabead CD3/CD28 (Gibco) theo tỉ lệ 1 hạt: 3 tế bào (B:C = 1:3) và nuôi trong môi trường CTS OpTmizer bổ sung 5% Immune Cell SR (Gibco), 100 units/mL penicillin/streptomycin (Gibco), 30U/mL IL-2 (Preprotech), nuôi trong tủ ủ 37°C , 5% CO_2 . Tiến hành cấy chuyển khi mật độ tế bào đạt 2×10^6 tế bào/mL hoặc khi môi trường chuyển màu.

2.2.4. Phương pháp phân tích quần thể tế bào

PBMC sau khi phân lập và nuôi tăng sinh sẽ được phân tích thành phần T $\text{CD}3^+$, T $\text{CD}4^+$ và T $\text{CD}8^+$ bằng cách nhuộm với kháng thể kháng CD4 gắn cộng hợp với phycoerythrin, PE (Becton-Dickinson), kháng thể kháng CD3 gắn cộng hợp với fluorescein isothiocyanate, FITC (Becton-Dickinson), và kháng thể kháng CD8 gắn cộng hợp với fluorescein isothiocyanate, FITC (Invitrogen). 1×10^5 tế bào được rửa với PBS và huyền phù trong 100 μL FACS buffer (PBS, 0.1% BSA), bổ sung kháng thể theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Ủ 15 phút ở nhiệt độ phòng, tránh sáng. Các mẫu sau đó được phân tích bằng máy FACS Aria III - BD.

2.2.5. Phương pháp xử lý số liệu

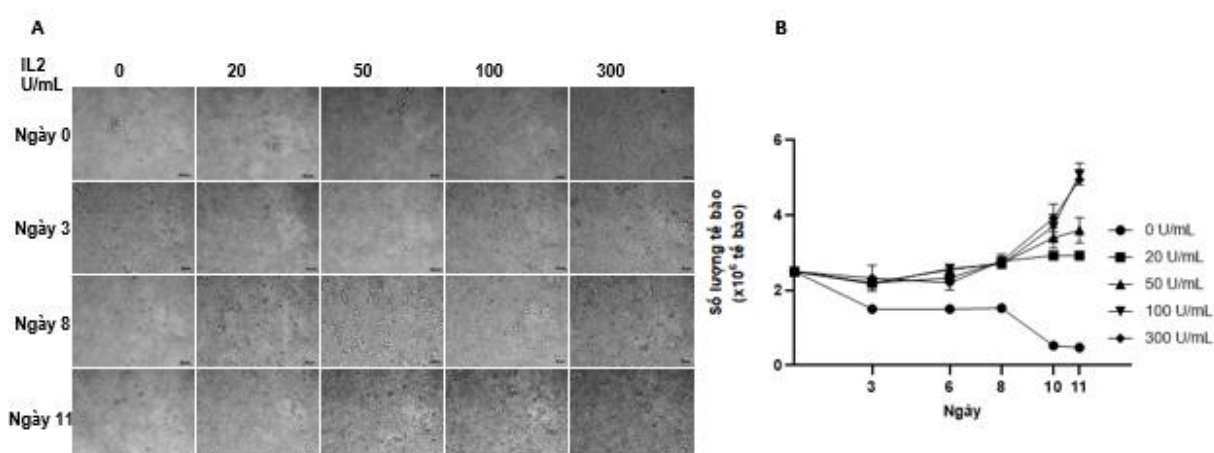
Thí nghiệm được thực hiện lặp lại ít nhất 03 lần. Kết quả được phân tích bằng phần mềm Microsoft Excel và xử lý thống kê bằng phương pháp t-test, độ tin cậy 95%. Kết quả được cho là có sự khác biệt về mặt thống kê khi p-value < 0.05.

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Kết quả nghiên cứu

3.1.1. Ảnh hưởng của nồng độ Interleukin-2 lên sự tăng sinh PBMCs

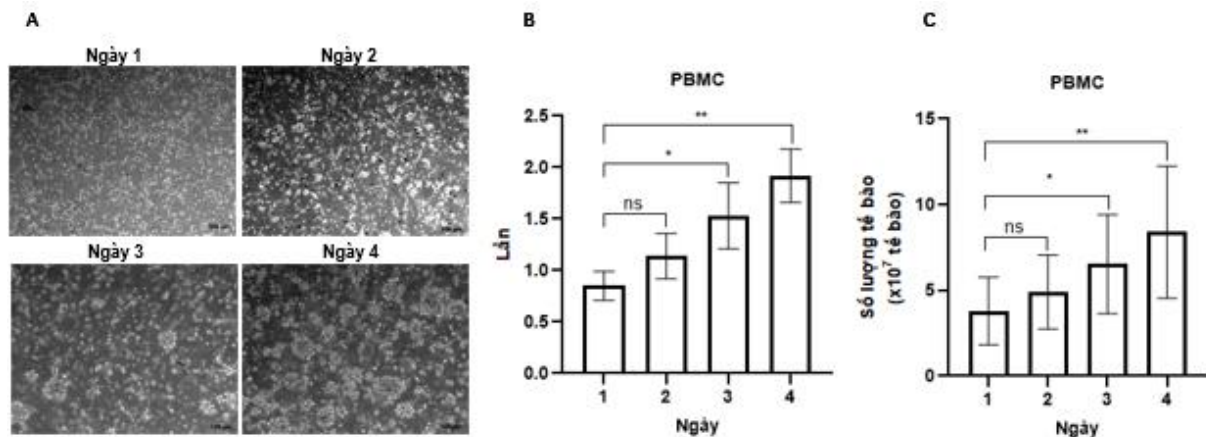
Tế bào đơn nhân máu ngoại vi được nuôi ở các nồng độ IL-2 khác nhau (20, 50, 100, 300U/mL) để khảo sát ảnh hưởng của IL-2 lên sự tăng sinh của chúng. Nhìn chung, càng tăng nồng độ IL-2 thì tỉ lệ tăng sinh tế bào cũng tăng, tuy nhiên, không có sự khác biệt đáng kể ở các nồng độ trong 08 ngày đầu nuôi cấy. Sau 11 ngày nuôi cấy, tế bào được bổ sung 20U/mL IL-2 có tỉ lệ tăng sinh thấp nhất so với các nhóm khác. Khi nồng độ tăng lên 50U/mL thì nhận thấy có sự tăng nhẹ số lượng tế bào PBMC. Đáng chú ý, khi tăng nồng độ lên 100 và 300U/mL thì có sự tăng rõ rệt số lượng tế bào PBMC khi so với nồng độ 20U/mL và không có sự khác biệt đáng kể giữa 100U/mL và 300U/mL (Hình 1).



Hình 1. Ảnh hưởng của nồng độ Interleukin-2 lên sự tăng sinh tế bào PBMC. (A) Hình chụp tế bào dưới kính hiển vi (20X) khi nuôi ở các nồng độ IL-2 khác nhau ở các ngày khác nhau; (B) Đồ thị biểu diễn số lượng tế bào khi nuôi ở các nồng độ IL-2 khác nhau ở các ngày khác nhau

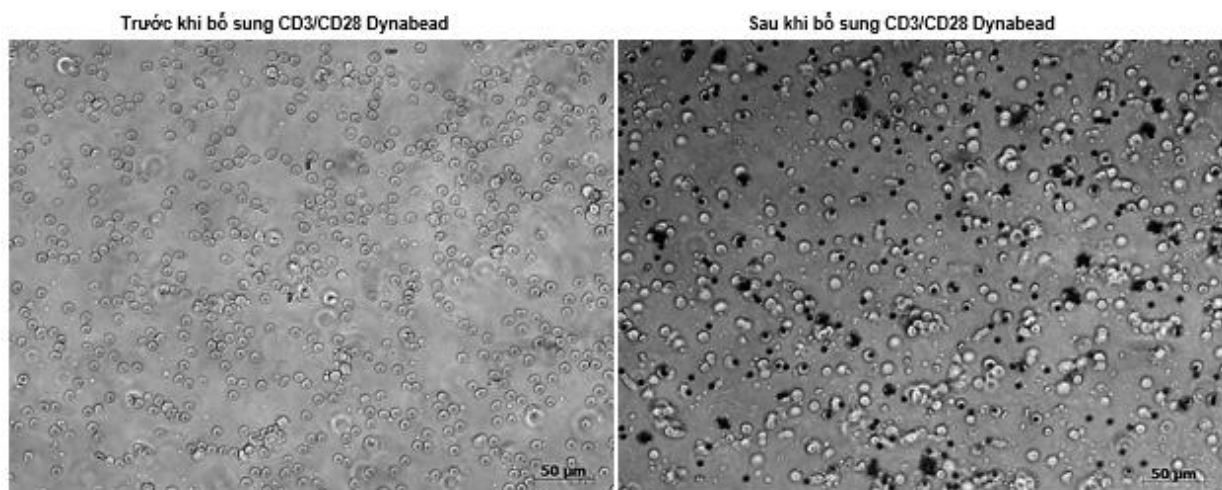
3.1.2. Kết quả tăng sinh tế bào PBMC sau khi kích hoạt với hạt từ phủ CD3/CD28

Theo kết quả trên, nồng độ IL-2 càng cao thì tỉ lệ tăng sinh tế bào PBMC càng cao khi nuôi cấy trong thời gian dài, tuy nhiên lại không có sự khác biệt trong 04 ngày đầu nuôi cấy. Thêm vào đó, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu nuôi tăng sinh tế bào PBMC sử dụng để chuyển nạp vector biểu hiện thụ thể dạng khảm vào tế bào bạch cầu bằng phương pháp điện biến nạp, theo đó hiệu suất biến nạp sẽ tốt nhất khi thực hiện sốc điện vào ngày nuôi tăng sinh thứ 04. Vì vậy, khả năng kích hoạt và tăng sinh tế bào PBMC được đánh giá khi sử dụng hạt từ phủ kháng thể CD3/CD28 theo tỉ lệ hạt: tế bào là 1:3, kết hợp với bổ sung IL-2 nồng độ 30U/ml theo khuyến cáo của bộ kit kích hoạt và theo dõi sự tăng tế bào trong 04 ngày nuôi tăng sinh.



Hình 2. Sự tăng sinh tế bào PBMC sau khi kích hoạt với hạt từ phủ CD3/CD28. (A) Hình chụp tế bào PBMC dưới kính hiển vi (10X) sau khi bổ sung hạt từ phủ CD3/CD28; (B, C) Sơ đồ thể hiện số lần tăng và số tế bào PBMC trong 04 ngày nuôi cấy

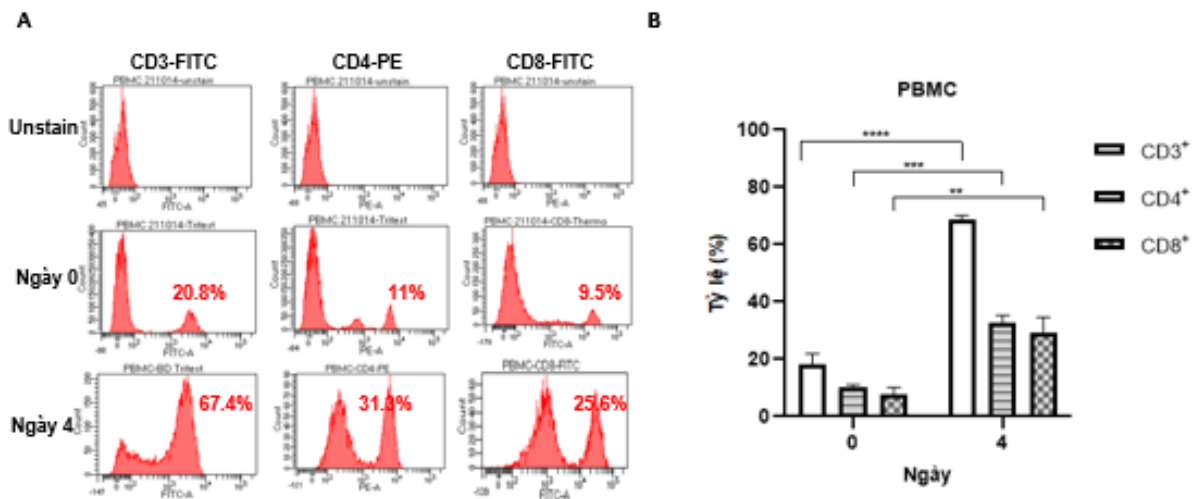
Quan sát hình thái tế bào sau 04 ngày nuôi cấy nhận thấy các tế bào bắt đầu hình thành cụm tế bào vào ngày thứ 02 và số lượng cụm tế bào tiếp tục tăng ở các ngày tiếp theo (Hình 2A). Sau 04 ngày nuôi các tế bào PBMC tăng số lượng khoảng 02 lần từ 3.8×10^7 tế bào khi bắt đầu nuôi và đạt 8.4×10^7 tế bào vào ngày thứ 04 (Hình 2B, 2C). Chúng tôi cũng thấy được sự tăng kích thước các tế bào PBMC sau 03 - 04 ngày bổ sung hạt từ vào môi trường nuôi cấy khi quan sát dưới kính hiển vi (Hình 3).



Hình 3. Hình chụp dưới kính hiển vi (20X) tế bào PBMC trước và sau khi bổ sung hạt từ phủ CD3/CD28

3.1.3. Phân tích đặc điểm quần thể tế bào PBMC sau kích hoạt và tăng sinh

Đặc điểm quần thể tế bào PBMC sau kích hoạt và tăng sinh được đánh giá dựa trên tỉ lệ thành phần của quần thể T $CD4^+$, $CD8^+$, và $CD3^+$. Tại thời điểm bắt đầu nuôi cấy, tỉ lệ quần thể $CD3^+$, $CD4^+$ và $CD8^+$ trong PBMC lần lượt là 20.8%, 11% và 9.5%. Số lượng tế bào $CD4^+$ và $CD8^+$ có vẻ tương đồng nhau. Sau khi được kích hoạt với hạt từ phủ CD3/CD28, cả ba quần thể tế bào này đều có sự tăng số lượng. Vào ngày nuôi thứ 04, số lượng tế bào $CD3^+$ tăng rõ rệt từ 20.8% lên 67.4% trong quần thể tế bào PBMC. Bên cạnh đó, quần thể $CD4^+$ cũng số tế bào khoảng 03 lần, đạt 31.4% và quần thể $CD8^+$ đạt 25.6% (Hình 4).



Hình 4. Đặc điểm quần thể tế bào PBMC sau kích hoạt và tăng sinh. (A) Kết quả phân tích tế bào theo dòng chảy (flow cytometry) quần thể PBMC khi nhuộm với CD3-FITC, CD4-PE, CD8-FITC; (B) Đồ thị so sánh tỉ lệ tăng sinh của quần thể CD3⁺, CD4⁺, và CD8⁺ sau 04 ngày nuôi cấy

3.2. Thảo luận

Liệu pháp miễn dịch tế bào hiện đang là phương pháp được sử dụng điều trị nhiều bệnh, bao gồm nhiễm HIV và ung thư, nhờ khả năng kích hoạt chức năng miễn dịch của bệnh nhân (Hartmann & ctg., 2017). Ở liệu pháp này, để có được số lượng tế bào đủ lớn và chức năng mong muốn, các tế bào miễn dịch của người bệnh sẽ được phân lập, can thiệp bằng kỹ thuật và tăng sinh *ex vivo*, sau đó đưa trở lại người bệnh để điều trị. Việc nuôi tăng sinh tế bào bạch cầu *ex vivo* thường đòi hỏi một quy trình tối ưu, cùng với sự kết hợp của nhiều yếu tố khác nhau trong đó có 03 yếu tố quan trọng nhất phải kể đến đó là cường độ kích thích, mật độ tế bào khi bắt đầu nuôi và nồng độ Interleukin-2 được bổ sung vào môi trường nuôi cấy.

Mặc dù nhiều cytokine ảnh hưởng lên sự biệt hóa và tăng sinh tế bào T *in vitro*, IL-2 được xem là cytokine quan trọng trong quá trình này thông qua thụ thể chuyên biệt trên bề mặt tế bào. Nghiên cứu của Trickett và cộng sự (2002) cho thấy khi bổ sung từ 0.2 - 20U/mL IL-2 vào môi trường nuôi cấy tương quan tuyến tính với sự tăng sinh tế bào (Trickett & ctg., 2002). Trong nghiên cứu tăng sinh tế bào T tại các nồng độ IL-2 khác nhau 20, 100 và 1,000U/mL trong 03 tuần cho thấy không có sự khác biệt nào được ghi nhận trong giai đoạn đầu tăng sinh, vào ngày thứ 21 nhóm được nuôi với 100U/mL cho tỉ lệ tăng sinh cao, trong khi nhóm 20U/mL cho tỉ lệ tăng sinh thấp nhất. Thử ví là cả 02 nhóm 20 và 100U/mL đều đạt 98% CD3⁺ trong khi ở nồng độ 1,000U/mL chỉ tạo ra 66% CD3⁺, điều này cho thấy cường độ tín hiệu khác nhau sẽ dẫn đến các hiệu ứng khác nhau trong việc tăng sinh tế bào (Martkamchan & ctg., 2016). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi khi khảo sát ảnh hưởng của các nồng độ IL-2 khác nhau 20, 50, 100, 300U/mL cũng cho thấy tương quan với các kết quả nghiên cứu trên. Trong 08 ngày đầu nghiên cứu chúng tôi cũng không nhận thấy sự khác biệt về tỉ lệ tăng sinh tế bào, từ ngày nuôi thứ 11, bổ sung 100 và 300U/mL cho thấy có sự tăng số lượng đáng kể so với bổ sung 20U/mL, và nồng độ 20U/mL cho tỉ lệ tăng sinh thấp nhất so với các nồng độ còn lại.

Các hạt từ phủ CD3/CD28 có thể hoạt động như tế bào APCs nhân tạo, và do đó không thể thiếu cho quá trình kích hoạt và tăng sinh tế bào (Martkamchan & ctg., 2016). Nhiều nghiên cứu đã báo cáo tỉ lệ tăng sinh tương quan giữa số lượng hạt từ trên số tế bào bạch cầu (bead-to-cell, B:C) trong khoảng từ 0.5 - 1 hạt từ: 1 tế bào (B:C), nhưng tỉ lệ hạt-tế bào B:C này nếu cao hơn 5:1 không thúc đẩy sự tăng tỉ lệ tăng sinh tế bào (Trickett & ctg., 2002). Shi và cộng sự

(2013) so sánh khả năng tăng sinh ở các tỉ lệ hạt từ: tế bào 1:5, 1:1, và 3:1 trong 01 tuần nuôi cấy và cho thấy tỉ lệ tăng sinh tốt nhất là 3:1, và tỉ lệ tăng sinh thấp nhất là 1:5 (Shi và cộng sự, 2013). Martkamchan và cộng sự (2016) báo cáo rằng khi kích thích PBMC với hạt từ phủ CD3/CD28 ở tỉ lệ 0.5:1 B:C trong môi trường nuôi bổ sung 100U/mL IL-2 là điều kiện tối ưu để tăng sinh tế bào T *ex vivo*, tỉ lệ tăng sinh đạt hơn 1,000 lần trong vòng 03 tuần với tỉ lệ tế bào sống cao, trong đó sự tăng sinh của tế bào CD8⁺ cao hơn sự tăng sinh của tế bào CD4⁺ (Martkamchan & ctg., 2016). Kết quả này đề nghị rằng tế bào được kích thích với tỉ lệ hạt từ: tế bào thấp cũng có thể kích hoạt tế bào tăng sinh, giảm thiểu rủi ro thiếu hạt từ trong quá trình nuôi cấy và giảm chi phí. Ở nghiên cứu này, nhằm tăng sinh tế bào PBMC để chuyển nạp thụ thể dạng khảm bằng phương pháp điện biến nạp, chúng tôi sử dụng tỉ lệ hạt từ: tế bào là 1:3 để kích hoạt PBMC đồng thời bổ sung IL-2 ở nồng độ 30U/mL và nhận thấy tỉ lệ này có thể kích hoạt tế bào PBMC tăng sinh gấp đôi sau 04 ngày nuôi cấy là khoảng thời gian tối ưu để sốc điện, và quần thể CD3⁺ gấp 03 sau 04 ngày nuôi cấy, trong đó quần thể CD4⁺ và CD8⁺ đều tăng và có số lượng tương tự nhau, đạt khoảng 30% quần thể tế bào. Kết quả sơ bộ khi chúng tôi thử kéo dài thời gian kích hoạt và nuôi PBMC sau 14 ngày nhận thấy tỉ lệ quần thể CD3⁺ tăng cao đạt gần 90% trong đó tỉ lệ quần thể CD8⁺ chiếm ưu thế hơn quần thể CD4⁺ tương đồng với kết quả báo cáo của Martkamchan và cộng sự (2016).

4. Kết luận

Việc kích hoạt và tăng sinh thành công các tế bào miễn dịch *in vitro* là bước quan trọng đầu tiên cho các phương pháp điều trị bằng liệu pháp miễn dịch tế bào. Trong nghiên cứu này, chúng tôi có thể kích hoạt và tăng sinh tế bào PBMC khi sử dụng hạt từ phủ kháng thể CD3/CD28 ở tỉ lệ 1 hạt từ: 3 tế bào, bổ sung 30U/mL IL-2, số lượng tế bào PBMC tăng gấp đôi sau 04 ngày kích hoạt trong đó quần thể CD3⁺ tăng gấp 03 lần đạt gần 70% trong quần thể tế bào PBMC, quần thể tế bào CD4⁺ và CD8⁺ cũng có sự tăng số lượng và đạt tỉ lệ tương đương nhau khoảng 30%.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi nguồn kinh phí sự nghiệp khoa học và công nghệ được Sở Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn cấp thông qua đề tài mã số YD01/18-20. Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn.

Tài liệu tham khảo

- Fesnak, A. D., June, C. H., & Levine, B. L. (2016). Engineered T cells: The promise and challenges of cancer immunotherapy. *Nature Reviews Cancer*, 16(9), 566-581. doi:10.1038/nrc.2016.97
- Ghaffari, S., Torabi-Rahvar, M., Aghayan, S., Jabbarpour, Z., Moradzadeh, K., Omidkhoda, A., & Ahmadbeigi, N. (2021). Optimizing interleukin-2 concentration, seeding density and bead-to-cell ratio of T-cell expansion for adoptive immunotherapy. *BMC Immunology*, 22(1), 22-43. doi:10.1186/S12865-021-00435-7
- Hartmann, J., Schüssler-Lenz, M., Bondanza, A., & Buchholz, C. J. (2017). Clinical development of CAR T cells-challenges and opportunities in translating innovative treatment concepts. *EMBO Molecular Medicine*, 9(9), 1183-1197. doi:10.15252/EMMM.201607485
- Martkamchan, S., Onlamoon, N., Wang, S., Pattanapanyasat, K., & Ammaranond, P. (2016). The Effects of Anti-CD3/CD28 Coated Beads and IL-2 on Expanded T Cell for

Immunotherapy. *Advances in Clinical and Experimental Medicine: Official Organ Wroclaw Medical University*, 25(5), 821-828. doi:10.17219/ACEM/35771

Rohaam, M. W., Wilgenhof, S., & Haanen, J. B. A. G. (2019). Adoptive cellular therapies: The current landscape. *Virchows Archiv: An International Journal of Pathology*, 474(4), 449-461. doi:10.1007/S00428-018-2484-0

Ross, S. H., & Cantrell, D. A. (2018). Signaling and Function of Interleukin-2 in T Lymphocytes. *Annual Review of Immunology*, 36, 411-433. doi:10.1146/ANNUREV-IMMUNOL-042617-053352

Shi, Y., Wu, W., Wan, T., Liu, Y., Peng, G., Chen, Z., & Zhu, H. (2013). Impact of polyclonal anti-CD3/CD28-coated magnetic bead expansion methods on T cell proliferation, differentiation and function. *International Immunopharmacology*, 15(1), 129-137. doi:10.1016/J.INTIMP.2012.10.023

Trickett, A. E., Kwan, Y. L., Cameron, B., & Dwyer, J. M. (2002). Ex vivo expansion of functional T lymphocytes from HIV-infected individuals. *Journal of Immunological Methods*, 262(1/2), 71-83. doi:10.1016/S0022-1759(02)00018-2

Yu, H., Chen, W., Li, C., Lin, D., Liu, J., Yang, Z., & Ma, D. (2017). Large scale ex vivo expansion of clinical-grade effector cells for adoptive immunotherapy. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 14(6), 5678-5686. doi:10.3892/ETM.2017.5228

