

KHẢO SÁT NỒNG ĐỘ TNF- α VÀ MỐI TƯƠNG QUAN VỚI CÁC CHỈ SỐ BẠCH CẦU TRÊN CHUỘT ĐIỀU TRỊ KẾT HỢP ỨC CHẾ PD-1 VÀ TẾ BÀO CAR-T

Nguyễn Thị Hiền Hạnh, Cấn Văn Mão và Bùi Khắc Cường✉

Học viện Quân y

Mục đích của nghiên cứu nhằm khảo sát mối tương quan giữa các chỉ số bạch cầu với nồng độ TNF- α của liệu pháp điều trị kết hợp kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 với tế bào CAR-T trên thực nghiệm. Phương pháp nghiên cứu thực nghiệm, tiến cứu, can thiệp có so sánh nhóm chứng. 60 chuột nhắt trắng chia 4 nhóm, mỗi nhóm 15 con gồm: nhóm chứng, nhóm điều trị tế bào CAR-T, nhóm điều trị kháng thể đơn dòng ức chế PD-1, nhóm điều trị kết hợp kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 với tế bào CAR-T. Sau điều trị, theo dõi tình trạng toàn thân, xét nghiệm các chỉ số bạch cầu và nồng độ TNF- α . Kết quả cho thấy nồng độ TNF- α ở nhóm CAR-T không khác biệt so với nhóm chứng. Nồng độ TNF- α ở nhóm kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 kết hợp với tế bào CAR-T tăng có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng ($p < 0,001$). Có mối tương quan thuận giữa nồng độ TNF- α và số lượng tuyệt đối bạch cầu mono ở nhóm điều trị kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 kết hợp với tế bào CAR-T ($r = 0,578$; $p < 0,05$). Qua nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy kết hợp điều trị ức chế PD-1 với tế bào CAR-T làm tăng nồng độ TNF- α trên chuột và có mối tương quan thuận giữa nồng độ TNF- α và số lượng bạch cầu mono.

Từ khóa: CAR-T, PD-1, chỉ số bạch cầu, TNF- α .

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. Các tế bào bạch cầu bất thường này sẽ lấn át các tế bào máu khỏe mạnh trong tủy xương, gây suy giảm số lượng và chất lượng các tế bào bạch cầu, tế bào hồng cầu và tiểu cầu khỏe mạnh làm ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe bệnh nhân.¹ Hóa trị liệu là phương pháp điều trị lơ xê mi phổ biến nhất ở nước ta hiện nay. Tuy nhiên, hiệu quả điều trị của phương pháp này còn hạn chế, các bệnh nhân sau khi điều trị theo phương pháp này sẽ không thể 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 tốn kém. 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 là thụ thể CD19 có nhiều kết quả đáng khích lệ trong điều trị lơ xê mi cấp dòng lympho. Nguyên tắc của liệu pháp tế bào CAR-T trong điều trị ung thư là nhằm tạo ra các tế bào T mang các thụ thể khảm nhân tạo có khả năng nhận biết các kháng nguyên đặc hiệu trên bề mặt tế bào ung thư từ đó kích hoạt khả năng phân giải tế bào ung thư của tế bào T.² Đặc biệt, tế bào CAR-T có thể tự tăng sinh và tồn tại lâu dài trong cơ thể để diệt các tế bào ung thư tái phát - một trong những nguyên nhân chính khiến điều trị thất bại. Cơ quan thực phẩm và dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) đã cấp phép cho 2 dạng điều trị sử dụng tế bào CAR-T là Kymriah (Novartis) cho điều trị bệnh lơ xê mi cấp dòng

Tác giả liên hệ: Bùi Khắc Cường

Học viện Quân y

Email: buikhaccuong@gmail.com

Ngày nhận: 15/01/2024

Ngày được chấp nhận: 30/01/2024

lympho ở trẻ em và Yescarta (Kite Pharma) cho các bệnh u lympho không Hodgkin (NHL) ở người lớn vào năm 2017. Sau đó, FDA tiếp tục cấp phép cho liệu pháp tế bào CAR-T Kymrial (Novartis) cho điều trị NHL trên người lớn vào tháng 5/2018.³ Kể từ tháng 10 năm 2021, có bốn sản phẩm CAR-T hiện đã được phê duyệt dành cho bệnh NHL, hai sản phẩm dành cho bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính tế bào B (B-ALL) và một sản phẩm dành cho bệnh đa u tủy (MM). Nhiều loại khác hiện đang trong quá trình phát triển lâm sàng cho những bệnh này và các khối u ác tính khác.⁴ Với hiệu quả kháng ung thư ấn tượng, liệu pháp CAR-T cần được nghiên cứu, phát triển tại từng cơ sở y tế để ứng dụng rộng rãi và đưa lại lợi ích cho bệnh nhân. Bên cạnh đó, phong tỏa PD-1 là một liệu pháp miễn dịch giúp tăng cường hiệu quả của liệu pháp CAR-T. Việc kết hợp liệu pháp tế bào CAR-T với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 có tiềm năng đưa lại hiệu quả điều trị ấn tượng, có thể nâng cao chức năng CAR-T và ở một mức độ nào đó, cải thiện tiên lượng và hiệu quả.⁵ Mặc dù, hiệu quả điều trị của liệu pháp CAR-T rất rõ ràng và đã được cấp phép trên thế giới, việc ứng dụng liệu pháp này ở Việt Nam chưa khả thi do giá thành cao và yêu cầu phải chuẩn bị nhiều kỹ thuật, trang thiết bị mới. Đánh giá độc tính của tế bào CAR-T sau tạo lập trong phòng thí nghiệm là cần thiết để định hướng đánh giá các tác dụng tiếp theo.⁶ Trong đó, tác dụng thúc đẩy viêm trong đáp ứng viêm hệ thống là một trong những vấn đề khi phát triển và ứng dụng liệu pháp CAR-T. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm đánh giá mối tương quan giữa các chỉ số bạch cầu với nồng độ TNF- α 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 lơ xê mi trên người.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Chuột nhắt trắng đủ tiêu chuẩn thí nghiệm, cân nặng $30g \pm 5g$, số lượng 60 con.

Nguyên vật liệu nghiên cứu

- Kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 được nhập khẩu từ Mỹ dưới tên thương mại là Keytruda (Mã ATC:L01XC18) hàm lượng 25 mg/ml.

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

- 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 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 ấm CO₂, máy ly tâm, tủ mát 4°C, tủ -20°C, tủ -80°C, bình bảo quản chứa Nitơ lỏng.

- Máy xét nghiệm huyết học Sysmex XN1000 (Nhật Bản).

- Bộ kit ELISA định lượng nồng độ TNF- α (Mã MBS2500421) của hãng MyBioSource. Giới hạn phát hiện: 31,25 - 2000 pg/mL.

2. Phương pháp

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.

Nghiên cứu tiến hành trên chuột nhắt trắng, chia làm 4 nhóm:

- Nhóm chứng (nhóm 1, n = 15): chuột được tiêm đường phúc mạc 0,1 ml PBS/con + đường tĩnh mạch đuôi 0,1 ml PBS/con.

- Nhóm CAR-T (nhóm 2, n = 15): chuột được tiêm đường phúc mạc 10^6 tế bào CAR-T/0,1 ml/con + 0,1 ml PBS/con đường tĩnh mạch đuôi.

- Nhóm PD-1 (nhóm 3, n = 15): chuột được tiêm đường phúc mạc 0,1 ml PBS/con + kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 (250 μ g)/0,1 ml/con đường tĩnh mạch đuôi.

- Nhóm CAR-T + PD-1 (nhóm 4, n = 15): chuột được tiêm đường phúc mạc 10^6 tế bào CAR-T/0,1 ml/con + kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 (250 μ g)/0,1 ml/con đường tĩnh mạch đuôi.

Các chỉ tiêu theo dõi trong nghiên cứu:

- Tình trạng chung của chuột.
- Xét nghiệm các chỉ số: số lượng bạch cầu, số lượng và tỷ lệ phần trăm các thành phần bạch cầu.
- Định lượng nồng độ cytokin TNF- α trong

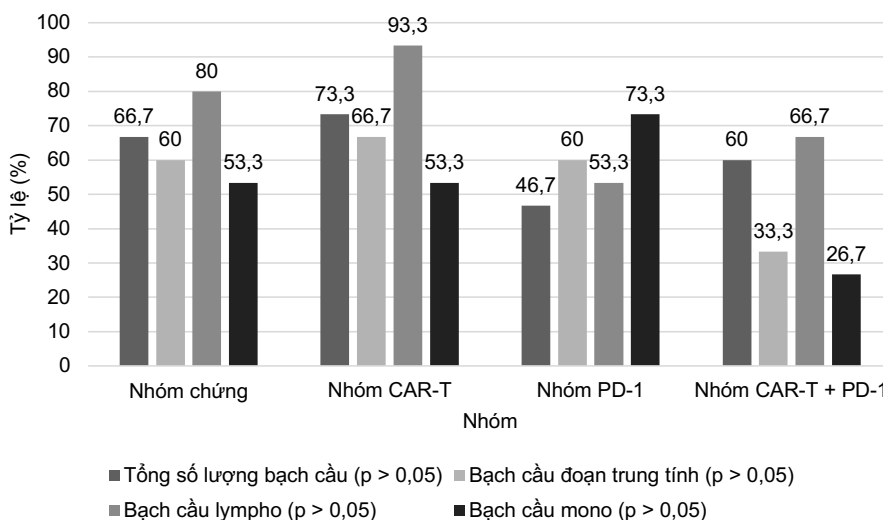
huyết thanh chuột ở các nhóm theo nguyên lý miễn dịch ELISA kẹp. Quy trình xét nghiệm bán tự động, tuân thủ các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất (MyBioSource).

Các chỉ số được kiểm tra ở các thời điểm sau 4 tuần điều trị tế bào CAR-T và kháng thể đơn dòng ức chế PD-1.

Xử lý thống kê

So sánh trung bình của các nhóm bằng phân tích phương sai ANOVA một chiều nếu số liệu phân bố chuẩn và phân tích Kruskal-Wallis nếu phân bố không chuẩn. So sánh trung bình của 2 nhóm độc lập không tuân theo phân phối chuẩn bằng phân tích Mann-Whitney U. Tương quan giữa hai biến định lượng không tuân theo phân phối chuẩn được phân tích bởi tương quan Spearman. 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



Biểu đồ 1. Tỷ lệ tăng bạch cầu của các nhóm nghiên cứu

Sau 4 tuần tiêm tế bào CAR-T và kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 các chỉ số số lượng bạch cầu, số lượng bạch cầu đoạn trung tính, số lượng bạch cầu lympho và số lượng bạch cầu mono ở các nhóm nghiên cứu được so

sánh với báo cáo về thông số huyết học trên chuột khỏe mạnh của Ed Wilson Santos và cộng sự năm 2016 không thấy có sự khác biệt về tỷ lệ chuột có số lượng bạch cầu, các thành phần bạch cầu tăng giữa các nhóm nghiên cứu

($p > 0,05$).⁷ Thử nghiệm của chúng tôi chỉ ra rằng, các liệu pháp đơn và kết hợp của CAR-T

với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 không làm biến đổi các chỉ số bạch cầu trên chuỗi.

Bảng 1. Nồng độ cytokin TNF- α của các nhóm nghiên cứu

Chỉ số	n	TNF- α (pg/mL)
		Trung vị (Tứ phân vị)
Nhóm 1 (chứng)	15	127,29 (110,26 - 185,68)
Nhóm 2 (CAR-T)	15	183,58 (117,76 - 255,48)
Nhóm 3 (PD-1)	15	83,22 (74,62 - 226,50)
Nhóm 4 (CAR-T+PD-1)	15	383,76 (278,30 - 418,89)
		$p_{1-2} > 0,05$
		$p_{1-3} > 0,05$
p^*		$p_{1-4} < 0,001$
		$p_{2-4} < 0,001$
		$p_{3-4} < 0,001$

***Mann-Whitney U test**

Sau 4 tuần điều trị cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nồng độ TNF- α giữa nhóm kết hợp với nhóm chứng, nhóm đơn liệu pháp tế bào CAR-T và nhóm kháng thể đơn dòng ức chế PD-1. Đơn liệu pháp CAR-T và kháng thể kháng PD-1 không thay đổi nồng độ cytokin TNF- α , so với nhóm chứng. Tuy nhiên,

liệu pháp kết hợp CAR-T và kháng thể kháng PD-1 làm gia tăng đáng kể nồng độ TNF- α , so với nhóm chứng và nhóm điều trị đơn liệu pháp ($p < 0,001$). Kết quả của chúng tôi chỉ ra rằng, kết hợp CAR-T và kháng thể kháng PD-1 làm tăng nồng độ TNF- α .

Bảng 2. Tương quan giữa các chỉ số bạch cầu với nồng độ TNF- α ở các nhóm nghiên cứu

Chỉ số	Nhóm							
	Nhóm 1 (chứng, n = 15)		Nhóm 2 (CAR-T, n = 15)		Nhóm 3 (PD-1, n = 15)		Nhóm 4 (CAR-T+PD-1, n = 15)	
	r^*	p^*	r^*	p^*	r^*	p^*	r^*	p^*
Số lượng bạch cầu (G/l)	-0,25	> 0,05	0,295	> 0,05	0,211	> 0,05	0,005	> 0,05
Số lượng BC đoạn trung tính (G/l)	-0,064	> 0,05	0,002	> 0,05	0,432	> 0,05	0,244	> 0,05

Chỉ số	Nhóm							
	Nhóm 1 (chứng, n = 15)		Nhóm 2 (CAR-T, n = 15)		Nhóm 3 (PD-1, n = 15)		Nhóm 4 (CAR-T+PD-1, n = 15)	
	r*	p*	r*	p*	r*	p*	r*	p*
Tỷ lệ phần trăm BC đoạn trung tính (%)	0,084	> 0,05	-0,154	> 0,05	0,216	> 0,05	-0,104	> 0,05
Số lượng BC lympho (G/l)	-0,37	> 0,05	0,236	> 0,05	0,14	> 0,05	0,054	> 0,05
Tỷ lệ phần trăm BC lympho (%)	-0,088	> 0,05	0,154	> 0,05	-0,03	> 0,05	0,077	> 0,05
Số lượng BC mono (G/l)	-0,334	> 0,05	0,01	> 0,05	0,104	> 0,05	0,578	< 0,05
Tỷ lệ phần trăm BC mono (%)	-0,284	> 0,05	-0,122	> 0,05	0,169	> 0,05	0,407	> 0,05

*Tương quan Spearman

Bảng 2 cho thấy không có mối tương quan giữa các chỉ số số lượng bạch cầu, số lượng và tỷ lệ phần trăm các thành phần bạch cầu (bạch cầu đoạn trung tính, bạch cầu lympho, bạch cầu mono) với nồng độ TNF- α của nhóm chứng. Tuy nhiên, có mối tương quan thuận giữa số lượng bạch cầu mono và nồng độ TNF- α ở nhóm điều trị kết hợp CAR-T với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 ($r = 0,578$; $p < 0,05$).

IV. BÀN LUẬN

Liệu pháp tế bào CAR-T là một phương pháp điều trị ung thư mới hiện nay, có hiệu quả điều trị tốt và có khả năng ức chế nhiều loại ung thư trong hệ thống tạo máu.

Hiện nay, đã có nhiều thể hệ tế bào CAR-T được nghiên cứu và đang phát triển để ứng dụng trên lâm sàng. Tuy nhiên, bên cạnh hiệu quả điều trị của nó thì vấn đề đáng lo ngại là hội chứng giải phóng cytokine (CRS) và nhiễm độc thần kinh do tế bào CAR-T gây ra. Độc tính là vấn đề quan cần đánh giá kỹ trước khi ứng dụng liệu pháp điều trị mới, không ngoại trừ CAR-T.^{8,9} Đánh giá độc tính trên mô hình thực nghiệm là

cần nổi bắt buộc từ đánh giá in vitro sang thử nghiệm lâm sàng. Nghiên cứu của chúng tôi đánh giá tác động gây viêm của liệu pháp điều trị thông qua xét nghiệm công thức máu (chỉ số số lượng bạch cầu, các thành phần bạch cầu) và nồng độ cytokine tiền viêm TNF- α .

Hội chứng giải phóng cytokin gồm có những biểu hiện như: sốt, hạ huyết áp, thiếu oxy, rối loạn chức năng cơ quan, giảm bạch cầu, rối loạn đông máu và tăng bạch cầu lympho.⁹ Qua nghiên cứu và đánh giá, chúng tôi thấy có sự tương đương giữa các chỉ số bạch cầu trên chuột giữa các nhóm chứng, điều trị bằng tế bào CAR-T, điều trị kháng thể đơn dòng ức chế PD-1, nhóm điều trị phối hợp CAR-T và kháng thể đơn dòng ức chế PD-1. Các chỉ số số lượng bạch cầu, số lượng bạch cầu đoạn trung tính, số lượng bạch cầu lympho và số lượng bạch cầu mono ở các nhóm nghiên cứu được so sánh với báo cáo về thông số huyết học trên chuột khỏe mạnh của Ed Wilson Santos và cộng sự năm 2016 không thấy có sự khác biệt về tỷ lệ chuột có số lượng bạch cầu, các thành phần bạch cầu tăng giữa các nhóm nghiên cứu

($p > 0,05$).⁷ Kết quả ủng hộ sự an toàn của liệu pháp CAR-T tự phát triển của chúng tôi trên hệ thống bạch cầu.

TNF- α là một trong những cytokin chỉ điểm viêm trong cơ thể. Phản ứng viêm được khởi phát và điều hòa bởi cytokine viêm trong đó có TNF- α .¹⁰ Để chống lại các tế bào ung thư bằng điều trị liệu pháp miễn dịch kết hợp với kích hoạt các tế bào T có thể xảy ra hội chứng giải phóng cytokine. Các liệu pháp này sẽ kích hoạt một phản ứng viêm miễn dịch quá mức do giải phóng các cytokine. Đánh giá của chúng tôi không ghi nhận sự khác biệt nồng độ TNF- α huyết tương ở nhóm chuột điều trị đơn liệu pháp bằng CAR-T hoặc kháng thể kháng PD-1, gợi ý sự an toàn của tế bào CAR-T được phát triển trong labo nghiên cứu của chúng tôi. Tuy nhiên, điều trị phối hợp CAR-T và kháng thể kháng PD-1 gây tăng nồng độ TNF- α so với các nhóm chứng và điều trị đơn liệu pháp. Kết quả gợi ý về nguy cơ xảy ra hội chứng giải phóng cytokine quá mức khi ứng dụng liệu pháp miễn dịch kết hợp kích hoạt các tế bào T và kháng thể kháng PD-1.

Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy có mối tương quan thuận giữa nồng độ TNF- α và số lượng bạch cầu mono ở nhóm chuột tiêm kết hợp CAR-T kết hợp với PD-1 ($r = 0,578$; $p < 0,05$). TNF- α được sản xuất bởi nhiều loại tế bào khác nhau bao gồm đại thực bào, bạch cầu đơn nhân, bạch cầu trung tính, tế bào T và tế bào NK.¹¹ Bên cạnh đó, sự hoạt hóa tế bào T dẫn đến việc giải phóng TNF- α gây kích hoạt hệ thống bạch cầu đơn nhân/đại thực bào và liên quan đến sự trầm trọng của hội chứng giải phóng cytokine cấp. Từ ngày thứ 1 đến 14 ngày sau khi truyền tế bào CAR-T có thể xuất hiện hội chứng này và nó có thể kéo dài từ 1 đến 10 ngày.¹² Tuy nhiên, theo dõi sau quá trình điều trị 4 tuần thì toàn bộ chuột trong các nhóm nghiên cứu của chúng tôi vẫn ăn uống, vận động nhanh nhẹn bình thường, lông mượt,

mắt trong, hậu môn khô. Điều này chứng tỏ sự dung kết hợp CAR-T và kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 với liều lượng trong thí nghiệm này chưa gây nên những phản ứng trầm trọng với đối tượng nghiên cứu.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy kết hợp điều trị kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 với tế bào CAR-T làm tăng nồng độ TNF- α trên chuột và có mối tương quan thuận giữa số lượng bạch cầu mono với nồng độ TNF- α ở nhóm điều trị kết hợp CAR-T với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Davis AS, Viera AJ, Mead MD. Leukemia: an overview for primary care. *American family physician*. May 1 2014; 89(9): 731-8.
2. Srivastava S, Riddell SR. Engineering CAR-T cells: Design concepts. *Trends in immunology*. Aug 2015; 36(8): 494-502. doi:10.1016/j.it.2015.06.004.
3. Yip A, Webster RM. The market for chimeric antigen receptor T cell therapies. *Nature reviews Drug discovery*. Mar 2018; 17(3): 161-162. doi:10.1038/nrd.2017.266.
4. Sengsayadeth S, Savani BN, Oluwole O, Dholaria B. Overview of approved CAR-T therapies, ongoing clinical trials, and its impact on clinical practice. *EJHaem*. Jan 2022; 3(Suppl 1): 6-10. doi:10.1002/jha2.338.
5. Song W, Zhang M. Use of CAR-T cell therapy, PD-1 blockade, and their combination for the treatment of hematological malignancies. *Clinical immunology (Orlando, Fla)*. May 2020; 214: 108382. doi:10.1016/j.clim.2020.108382.
6. Nguyen HH, Bui KC, Nguyen TML, et al. The safety of CAR-T cells and PD-1 antibody combination on an experimental model. *Biochemical and biophysical research*

communications. Mar 15 2023; 649: 25-31. doi:10.1016/j.bbrc.2023.01.096.

7. Santos EW, Oliveira DCd, Hastreiter A, et al. Hematological and biochemical reference values for C57BL/6, Swiss Webster and BALB/c mice. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 06/17 2016; 53(2): 138-145. doi:10.11606/issn.1678-4456.v53i2p138-145.

8. Brudno JN, Kochenderfer JN. Recent advances in CAR T-cell toxicity: Mechanisms, manifestations and management. *Blood reviews*. Mar 2019; 34: 45-55. doi:10.1016/j.blre.2018.11.002.

9. Chou CK, Turtle CJ. Assessment and management of cytokine release syndrome and neurotoxicity following CD19 CAR-T cell therapy. *Expert opinion on biological therapy*. Jun 2020; 20(6): 653-664. doi:10.1080/14712598.2020.1729735.

10. Kaur S, Bansal Y, Kumar R, Bansal

G. A panoramic review of IL-6: Structure, pathophysiological roles and inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry*. Mar 1 2020; 28(5): 115327. doi:10.1016/j.bmc.2020.115327.

11. El-Tahan RR, Ghoneim AM, El-Mashad N. TNF- α gene polymorphisms and expression. *SpringerPlus*. 2016/09/07 2016; 5(1): 1508. doi:10.1186/s40064-016-3197-y.

12. Yakoub-Agha I, Moreau AS, Ahmad I, et al. Management of cytokine release syndrome in adult and pediatric patients undergoing CAR-T cell therapy for hematological malignancies: Recommendation of the French Society of Bone Marrow and cellular Therapy (SFGM-TC). *Bulletin du cancer*. Jan 2019; 106(1s): S102-s109. Prise en charge pratique du syndrome de relargage des cytokines (CRS) post-CAR-T cells chez l'adulte et l'enfant: recommandation de la Société francophone de greffe de moelle et de thérapie cellulaire (SFGM-TC). doi:10.1016/j.bulcan.2018.12.001.

Summary

SURVEY OF TNF- α CONCENTRATION AND ITS CORRELATION WITH LEUKOCYTE INDICATORS IN MICE TREATED WITH ANTI-PD-1 MONOCLONAL ANTIBODY AND CAR-T CELLS COMBINATION

The purpose of the study is to evaluate the correlation between leukocyte indices and TNF- α levels of combination therapy of monoclonal antibody that inhibits PD-1 with CAR-T cells in the experimental animal models. We conducted an experimental, prospective, interventional study with a control group. 60 white mice were divided into 4 groups, each group of 15 animals including a control group, CAR-T cell treatment group, PD-1 inhibitor monoclonal antibody treatment group, and PD-1 combined with CAR-T cells group. After treatment, all mice were monitored for whole body condition. Their white blood cell indices and TNF- α levels were measured. TNF- α concentration in the CAR-T group was not different from the control group. TNF- α levels in the PD-1 inhibitor monoclonal antibody combined with CAR-T cells increased statistically significantly compared to the control group ($p < 0.001$). There is a positive correlation between TNF- α concentration and the absolute number of monocytes in the treatment group of monoclonal antibody that inhibits PD-1 combined with CAR-T cells ($r = 0.578$; $p < 0.05$). Through this research, we found that combining anti-PD-1 monoclonal antibodies with CAR-T cells increased TNF- α levels in mice and there was a positive correlation between TNF- α concentration and monocyte count.

Keywords: CAR-T, PD-1, white blood cell indices, TNF- α .