

Chương VIII

TRỊ LIỆU MIỄN DỊCH CÔNG NGHỆ GEN

MỞ ĐẦU

Ý tưởng khai thác hệ miễn dịch để điều trị ung thư – trị liệu miễn dịch (cancer Immunotherapy) đã nảy sinh cách đây ít nhất một thế kỷ. Trị liệu miễn dịch nói chung nếu phân loại theo chức năng thì gồm 2 thể loại: **Trị liệu miễn dịch thụ động** - đưa các yếu tố biểu hiện của hệ miễn dịch (các kháng thể phản ứng khối u, các cytokin kháng u hoặc các TB hiệu ứng diệt ung thư) tới bệnh nhân với mục đích là để các tác nhân này tấn công trực tiếp các TB ung thư. **Trị liệu miễn dịch chủ động** (bao hàm các vaccin kháng u và các cytokin kích thích miễn dịch) nhằm kích thích hệ miễn dịch kháng u một cách hiệu quả. Cả trị liệu miễn dịch chủ động và thụ động đều là những bộ phận không thể tách rời của thực hành y học hiện đại với các vấn đề đa dạng như điều trị rần căn và phòng ngừa các bệnh truyền nhiễm.

Nhưng đối với ung thư thì vai trò của hệ miễn dịch và trị liệu miễn dịch đã là một chủ đề tranh cãi suốt 50 năm qua, trọng điểm tranh cãi là liệu các TB khối u sinh miễn dịch trong túc chủ của chúng là gốc rễ của vấn đề hay là hệ miễn dịch có khả năng kiểm soát hoặc loại trừ các TB ác tính.

Hiện tại, lý lẽ có vẻ ngã theo hướng có lợi cho trị liệu miễn dịch ung thư, một phần là do người ta am hiểu hơn về sinh học khối u cũng như đã phát động được các cơ chế điều hòa miễn dịch kháng u hiệu quả.

Nếu các TB ung thư dễ bị kiểm soát bởi hệ miễn dịch thì sự thành công của miễn dịch trị liệu ung thư chỉ đơn giản là vấn đề về sự né tránh của khối u khỏi sự kiểm soát miễn dịch.

Người gây được uy tín trong thử nghiệm trị liệu miễn dịch chủ động đầu tiên là Coley. Ngay từ cuối thế kỷ 19 đầu thế kỷ 20 ông đã tiêm vi khuẩn chết vào các khối u. Sau đó lại thử nghiệm tiêm vào khối u các tác nhân khác gây cảm ứng đáp ứng viêm (như các chủng BCG của *Mycobacterium bovis* hoặc các virus), hoặc tiêm chủng cho bệnh nhân ung thư các chế phẩm của tế bào khối u toàn phần. Mặc dầu một số bệnh nhân biểu lộ có hiệu ứng với trị liệu miễn dịch sớm, nhưng thắng lợi tổng thể thì dường như là chưa có.

Nhờ sự phát triển của công nghệ lai tế bào B và kháng thể đơn dòng vào những năm 1970, các bệnh nhân đã được xử lý bằng trị liệu miễn dịch thụ động với các kháng thể đơn dòng của chuột đã làm tinh khiết để phản ứng với các kháng nguyên ung thư xác định. Cùng thời gian trên, lymphokin interleukin 2 (IL-2) kích thích miễn dịch cũng đã được phân dòng và dẫn đến các thử nghiệm lâm sàng trị liệu miễn dịch với cytokin tái tổ hợp. Công nghệ DNA tái tổ hợp nhanh chóng tiến tới các thử nghiệm về các cytokin khác có khả năng thúc đẩy các hoạt tính miễn dịch kháng u hoặc làm trung gian cho các hiệu ứng kháng u trực tiếp. Công nghệ này cũng dẫn đến việc sản xuất ra các protein kháng nguyên khối u tái tổ hợp cho các vaccin đặc hiệu kháng u.

Mặc dù sự nguy hiểm cho các chiến lược trị liệu miễn dịch trên cơ sở điều hành các protein tái tổ hợp ngày càng gia tăng, nhưng những thành công được đánh giá là kiểm soát được khối u thì tương đối hiếm. Quan trọng hơn là việc sử dụng một số

cytokin tái tổ hợp trong các TNLS thường đi kèm với các độc tính rất nguy hiểm thậm chí đe dọa tới sinh mạng con người.

Gen trị liệu có tiềm năng đề xuất các phương thức trị liệu miễn dịch vừa hiệu quả hơn lại ít nguy hiểm hơn. Việc điều phối các protein trị liệu mã hóa cho các gen có thể duy trì được mức protein “tự nhiên” hơn *in vivo*, giảm thiểu các vấn đề liên quan tới cytokin vừa có độc tố với nồng độ cao mà lại có đời sống bán phần ngắn. Trị liệu miễn dịch công nghệ gen cũng phải khắc phục vấn đề là cần sản xuất và làm tinh khiết một lượng lớn các protein tái tổ hợp – một quá trình có thể gây cản trở cho việc khởi đầu các thử nghiệm trên người. Đối với các vaccin kháng u thì sự chuyển giao bằng công nghệ gen cũng có thể nhận dạng được miễn dịch kháng nguyên làm lợi hơn cho sự khởi đầu đáp ứng miễn dịch kháng u.

Đây là những lý do làm cho gen trị liệu được đón chào nhiệt liệt trong việc phát triển các chiến lược trị liệu miễn dịch hiện nay. Trong chương này chúng tôi sẽ đề cập một cách tổng quan về hệ miễn dịch liên quan với ung thư và sau đó giới thiệu ngắn gọn các phương pháp trị liệu miễn dịch công nghệ gen đã được khảo sát trên các mô hình động vật cũng như các thử nghiệm trên người cho tới thời điểm này. Trên Bảng 1 trình bày các ví dụ về trị liệu miễn dịch công nghệ gen của các thử nghiệm lâm sàng trên người hiện thời.

Bảng 8.1. Các ví dụ về các thử nghiệm lâm sàng sử dụng trị liệu miễn dịch công nghệ gen trên các bệnh nhân ung thư

Kích thích miễn dịch không đặc hiệu	
Các cytokin kích thích miễn dịch	Tiêm trong khối u gen mã hóa cho IL-12
receptor/ligand đồng kích thích miễn dịch	các phân tử đồng kích thích mã hóa fowlpox tái tổ hợp trong các tổn thương
Các vaccin công nghệ gen	
Các gen kháng nguyên mã hóa bởi vec tơ	Virus vaccinia tái tổ hợp biểu hiện các gen HPV 16 và 18 và E7
Các vaccin tế bào tua biến đổi gen	Các DC tự thân được tải nạp với adenovirus biểu hiện MART-1
Các vaccin tế bào u toàn phần cải biến gen	Các TB khối u tự thân được cải biến với gen của phân tử đồng kích thích CD80 (B7.1)
Các tế bào hiệu ứng miễn dịch đã được cải biến	
Các tế bào T đã cải biến gen	Các lympho bào dị loại đã tải nạp với gen mã hóa TCR chimeric phản ứng với protein gắn folate

MIỄN DỊCH HỌC KHỐI U

Các cơ chế hiệu ứng miễn dịch

Đáp ứng miễn dịch về nguyên tắc được phân thành 2 con đường cơ bản: miễn dịch bẩm sinh và miễn dịch thu được. Một cách đơn giản là, các đáp ứng miễn dịch thu được là kết quả từ sự “rèn luyện” (education) kháng nguyên của hệ thống miễn dịch, trong khi đó thì các đáp ứng bẩm sinh được hiểu là “được thừa hưởng” (inherited). Trong đáp ứng miễn dịch bẩm sinh, hoạt tính hiệu ứng được phát ra thông qua việc gắn kết của các receptor được mã hóa bởi các gen dòng mầm. Các đáp ứng miễn dịch thu được phụ thuộc vào sự đa dạng của các receptor có thể biến đổi, được

biểu hiện bởi các tế bào T hoặc B, chúng được lắp ráp bởi tái tổ hợp soma của các yếu tố gen dòng mầm. Đáp ứng miễn dịch bẩm sinh có thể được hình dung như là một cơ chế bảo vệ miễn dịch tiên tiêu được phát triển theo dẫn liệu của các kháng nguyên nghi ngờ, trong khi đó miễn dịch thu được là một đáp ứng muộn do gặp gỡ kháng nguyên đặc hiệu. Các đáp ứng miễn dịch cả trong miễn dịch bẩm sinh cũng như miễn dịch thu được đều liên quan tới kiểm soát miễn dịch ung thư. Bảng 8.2 dưới đây liệt kê các hiệu ứng có liên quan tới miễn dịch khối u.

Bảng 8.2. Các hiệu ứng của các đáp ứng miễn dịch kháng u

Miễn dịch bẩm sinh
Các tế bào NK
Các tế bào LAK
Các tế bào NKT
Các tế bào $\gamma\delta$ -T
Bạch cầu đơn nhân/ đại thực bào
Bạch cầu trung tính/bạch cầu hạt
Các cytokin
Miễn dịch thu được
Các tế bào B
Các tế bào $\alpha\beta$ -T
Các cytokin

Miễn dịch bẩm sinh

Đáp ứng miễn dịch bẩm sinh gây tranh cãi liên quan đến hiệu quả miễn dịch kháng u trong suốt thời gian dài. Các tế bào giết tự nhiên (NK) được mô tả đầu tiên là các TB giống như TB lympho làm trung gian giết một số TB khối u với phương thức không bị giới hạn bởi MHC (tức là các receptor tế bào T kinh điển không có liên quan tới độc tế bào). Các tế bào NK nuôi cấy được xử lý với cytokin kích thích miễn dịch IL-2 (các TB giết được hoạt hóa bởi lymphokin – lymphokin activated killer cell - LAK) sẽ sản sinh ra các TB hiệu ứng ly giải TB có khả năng giết nhiều TB khối u với phương thức không bị giới hạn bởi MHC.

Có ít nhất 3 loại TB lympho T đã được phân loại có khả năng giết các TB khối u không bị giới hạn bởi MHC trong các hệ thống thực nghiệm, đó là các tế bào NK không biểu hiện TCR; các tế bào NKT (natural killer T cell) biểu hiện giới hạn $\alpha\beta$ -TCR và các tế bào $\gamma\delta$ -TCR lympho tương đối hiếm. Mỗi hiệu ứng lympho đều có thể được phân biệt bởi kiểu hình trên bề mặt tế bào, các cơ chế nhận dạng và giết TB khối u và kiểu hình đích TB khối u cho dễ bị tấn công. Hơn nữa, đối với hoạt tính ly giải khối u bẩm sinh qua trung gian tương tác tế bào – tế bào thì những hiệu ứng miễn dịch bẩm sinh của lympho có thể tác động tới sự tăng trưởng của khối u bằng cách tiết ra các cytokin (chẳng hạn như interferon $-\gamma$) để ức chế trực tiếp sự tăng sinh TB ung thư hoặc điều chỉnh MHC của tế bào khối u và biểu hiện kháng nguyên để tăng cường các đáp ứng miễn dịch thu được.

Các TB miễn dịch dòng tủy, các bạch cầu đơn nhân/đại thực bào và bạch cầu trung tính/bạch cầu hạt cũng được nghiên cứu lâu dài với tư cách là các trung gian kiểm soát và giết các TB khối u. Cả 2 dạng TB hiệu ứng này đều biểu hiện các receptor của IgG và có khả năng làm trung gian cho độc tế bào phụ thuộc kháng thể

kháng lại các TB khối u opsonin hóa với các kháng thể. Tuy nhiên, một số thí nghiệm đã chỉ rõ rằng các tế bào hiệu ứng dòng tủy này cũng có thể làm trung gian cho hoạt tính kiềm chế kháng u “bẩm sinh”, hoặc các cơ chế ly giải TB phụ thuộc tiếp xúc tế bào - tế bào hoặc tiết ra các yếu tố kiềm chế khối u. Mặt khác lại có bằng chứng là các đại thực bào liên kết khối u có thể kiềm chế sự phát triển của các đáp ứng miễn dịch thu được kháng u.

Như đã đề cập ở trên, một khía cạnh của đáp ứng miễn dịch bẩm sinh đối với khối u là sự cảm ứng của các cytokin kiềm chế khối u. Chẳng hạn như các interferon (interferon (INF) typ I (IFN- α và IFN- β) và typ II (IFN- γ) có thể ức chế trực tiếp sự tăng trưởng của các TB khối u trong các mô hình thực nghiệm, và việc trị liệu bằng interferon đặc hiệu đã được FDA phê chuẩn để chữa các bệnh ác tính (Roferon, Intron). Nhưng có lẽ điều quan trọng hơn là sự cảm ứng của các cytokin và chemokine đã thúc đẩy hoạt hóa các đáp ứng miễn dịch thu được đối với khối u.

Miễn dịch thu được

Các đáp ứng miễn dịch thu được phụ thuộc vào các receptor kháng nguyên tế bào $\alpha\beta$ T và tế bào B ($\alpha\beta$ -TCR và BCR). Các TCR và BCR được sản sinh bởi sự tái tổ hợp soma của nhiều thành phần gen dòng mầm (V,D,J,C). Tính đa dạng của đặc hiệu KN được tạo nên bởi nhiều yếu tố gen tại vùng biến đổi có khả năng tái tổ hợp, bởi các đột biến soma và sự thoái hóa khu vực kết nối tạo nên các trình tự receptor độc quyền bổ sung.

Đáp ứng miễn dịch thu được thiết lập bởi sự lựa chọn dòng điều khiển bởi KN của các tế bào biểu hiện các receptor có ái lực thích ứng với KN cùng với các tín hiệu đồng kích thích thứ cấp cần thiết và thường bởi việc sản sinh ra các tế bào B hoặc T nhớ miễn dịch.

BCR là một dạng liên kết màng của kháng thể tiết, nó là binh chủng hiệu ứng đáp ứng miễn dịch thu được của tế bào B. Các kháng thể có thể làm trung gian cho ít nhất 3 dạng hoạt tính hiệu ứng kháng lại các tế bào khối u. Sự ly giải tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC) là do sự hoạt hóa thác bổ thể bởi kháng thể gắn trên bề mặt tế bào đích. Vai trò của CDC trong miễn dịch khối u vẫn còn nhiều tranh cãi. Tuy nhiên, các CDC khối u đã được chứng minh bằng thực nghiệm *in vitro*. Trên thực tế *in vivo* thì CDC ít hiệu quả và hầu hết các TB (tế bào khối u) biểu hiện các thể điều hòa màng của bổ thể lại ức chế sự ly giải bổ thể một cách hiệu quả. Sự ly giải tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể lại được trung gian bởi các tế bào hiệu ứng miễn dịch biểu hiện các receptor cho phần Fc của IgG (Fc γ R), bao gồm các tế bào NK, đại thực bào/bạch cầu đơn nhân và bạch cầu hạt. Các kháng thể của các kháng nguyên tế bào khối u xác định cũng có thể làm trung gian trực tiếp cho các hiệu ứng kháng u khi vắng mặt bổ thể hoặc các tế bào hiệu ứng Fc γ R. Điều đó đã chứng minh rằng các kháng thể đặc hiệu cho các receptor xác định có liên quan tới tăng trưởng, tăng sinh hay sự sống sót của TB, bao gồm receptor họ yếu tố tăng trưởng bì Her2/neu/erbB2 có biểu hiện ở một số u đặc và phân tử CD20 biểu hiện nhiều ở u lympho tế bào B.

$\alpha\beta$ -TCR tham dự vào nhiều con đường đáp ứng miễn dịch thu được. Các tế bào CD4⁺ T- trợ giúp nhận dạng các KN peptid hiện diện trong các phân tử MHC lớp II, rất quan trọng đối với việc khuếch đại và điều hòa các đáp ứng miễn dịch đặc hiệu KN được khởi đầu bởi các tế bào trình diện KN. Bản chất của đáp ứng tế bào T - trợ giúp là điều chỉnh một cách tương đối đáp ứng của các tế bào B (sản xuất kháng thể) và tế bào lympho T độc tế bào (CTL) đối với một kháng nguyên đã cho. Các CTL kinh điển là các tế bào T CD8⁺, CD3⁺ nhận dạng các peptid kháng nguyên trong MHC

lớp I. Các tế bào khối u thường biểu hiện MHC lớp I chứ không phải là MHC lớp II. Tuy nhiên, sự tham dự của các tế bào T – trợ giúp nhận dạng MHC lớp II thích ứng có thể là cần thiết để tạo nên một đáp ứng kháng u CTL mạnh mẽ.

Sự cân bằng giữa trình diện MHC lớp I và lớp II đối với các tế bào $\alpha\beta$ – T chỉ đạo phần nào sự cân bằng giữa đáp ứng kháng thể và đáp ứng CTL đối với một kháng nguyên đã cho. Vấn đề này bị ảnh hưởng bởi phương thức tương tác của tế bào T hoặc B với tế bào trình diện KN (APC). Với các APC mà kháng nguyên được biểu hiện nội sinh (như các tế bào khối u biểu hiện các kháng nguyên của chúng) thì ưa trình diện peptid MHC lớp I, đến lượt mình nó lại thúc đẩy sự hoạt hóa các CTL đặc hiệu kháng nguyên. Các APC mà kháng nguyên được hấp thu ngoại sinh (như sự thực bào của đại thực bào) thì ưa trình diện peptid MHC lớp II, đến lượt mình lại hoạt hóa các tế bào T $CD4^+$ đặc hiệu kháng nguyên thúc đẩy đáp ứng kháng thể tế bào B đặc hiệu kháng nguyên, các CTL hoặc thậm chí cả tế bào T kiềm chế miễn dịch.

Kết quả cuối cùng của BCR hoặc $\alpha\beta$ –TCR nhận dạng kháng nguyên phụ thuộc một phần vào các kích thích phụ trợ, bao gồm các cytokin, các phân tử đồng kích thích APC và các tế bào B hoặc T đáp ứng. Thực nghiệm cũng cần phải làm rõ các chiến lược tiêm chủng kháng nguyên khối u làm thúc đẩy các đáp ứng kháng thể tế bào B có gây tổn hại tới các đáp ứng CTL hay không và ngược lại.

Các tế bào tua (Dendritic Cell)

Năm 1973, Steinman và cộng sự lần đầu tiên công bố loại tế bào miễn dịch được phát hiện mới, với tên gọi là dendritic cell (DC), tên gọi này bắt nguồn từ hình dạng của các tế bào (dạng hình tua và sao). Việc phân loại các tế bào này thường dựa vào vị trí hiện diện của chúng trong cơ thể, vào hình thức trình diện kháng nguyên và quá trình trưởng thành của chúng. Từ lúc được khám phá đến nay, nhóm tế bào này đã thể hiện tiềm năng ứng dụng to lớn trong lĩnh vực y học. Nhiều nghiên cứu lâm sàng đã chứng minh khả năng điều trị hiệu quả bệnh ung thư, các bệnh truyền nhiễm của nhóm tế bào này.

Đây là nhóm tế bào miễn dịch, ngoài chức năng chủ yếu là trình diện kháng nguyên, chúng còn đóng vai trò quan trọng trong kiểm soát quá trình đáp ứng miễn dịch bẩm sinh và thu được. Do có khả năng xử lý và trình diện kháng nguyên cho các tế bào miễn dịch nên DC được xếp vào nhóm tế bào trình diện kháng nguyên APC (Antigen Processing Cell).

Với một lượng lớn các loại receptor dùng để nhận biết và thu nhận kháng nguyên trên bề mặt tế bào của mình như các receptor mannose (MRC 1/CD 206), DC – SIGN/CD 209, langerini/CD 207,... nên DC có khả năng tiếp nhận, trình diện nhiều loại kháng nguyên khác nhau như kháng nguyên tế bào ung thư, kháng nguyên virus, vi khuẩn tới nhiều loại tế bào khác nhau như tế bào lympho T, lympho B và tế bào NK (Natural Killer).

Ngoài chức năng trình diện kháng nguyên, DC còn đóng vai trò quan trọng trong kiểm soát và điều hoà đáp ứng miễn dịch của cơ thể. Thông qua việc tiết cytokin, các DC chưa trưởng thành và trưởng thành có thể ức chế hoặc tăng cường đáp ứng miễn dịch của cơ thể.

Tế bào DC có thể được bắt gặp nhiều nơi trong cơ thể như vùng biểu mô, hạch lympho và trong máu. Các dòng tế bào DC khác nhau có chung nguồn gốc là tế bào gốc tạo máu, quá trình biệt hoá của DC từ tế bào gốc tạo máu diễn ra tại nhiều nơi trong cơ thể. Các tế bào tiền thân DC có thể gặp trong máu ngoại vi, các tế bào này

trải qua quá trình biệt hóa để thành tế bào DC chưa trưởng thành và trưởng thành dưới sự kích hoạt của GM-CSF, IL 4 và nhiều cytokin khác. Do vậy, DC trưởng thành có thể được thu nhận từ các tế bào đơn nhân trong máu, tế bào gốc tạo máu dưới sự cảm ứng của các cytokin thích ứng.

Nói tóm lại, DC là các tác nhân điều hòa tiềm năng cả cho đáp ứng miễn dịch bẩm sinh cũng như miễn dịch thu được. Cũng có các bằng chứng cho thấy, những tế bào này có thể trực tiếp tham gia vào việc cảm ứng dung nạp miễn dịch, điều đó không có lợi cho trị liệu miễn dịch ung thư nhưng lại có lợi cho việc trị liệu các hội chứng tự miễn hay dị ứng.

Các kháng nguyên khối u

Có rất nhiều bằng chứng cho thấy hầu hết các khối u đều có tính sinh miễn dịch. Trong các mô hình trên động vật, điều này được minh chứng bằng sự phát triển của miễn dịch đặc hiệu khối u đối với các khối u đồng gen thực nghiệm. Đối với cơ thể người thì các bệnh nhân ung thư thường liên tục phát triển miễn dịch với các khối u của họ. Tính sinh miễn dịch này đã tạo thuận lợi cho việc xác định các kháng nguyên ung thư phù hợp để đích cho trị liệu miễn dịch.

Các kháng nguyên ngã ngược với bất ngã (self-vs-Non –self antigens)

Mặc dầu đa số các kháng nguyên (KN) khối u đã được xác định là “tự kháng nguyên” (self- antigen), nhưng cũng có một số u ác tính lại biểu hiện các KN được túc chủ nhận dạng là “ngoại lai”. Một thể loại KN lạ được biểu hiện bởi các tế bào ung thư là các kháng nguyên virus. Đây thường là các sản phẩm khởi đầu cho sự biến nạp ác tính như virus Epstein- Barr trong một số u lympho tế bào B, virus papilloma người trong ung thư cổ tử cung và virus viêm gan C trong ung thư tế bào gan. Các KN khối u khác bắt nguồn từ virus là các sản phẩm của retrovirus nội sinh như virus gây bệnh bạch cầu của chuột (murine leukemia virus –MuLV) trên chuột và retrovirus nội sinh của người (HERV)-K10 trên người.

Thể loại thứ 2 của các KN bất ngã là các KN mới được tạo ra do các đột biến điểm thu được hoặc do chuyển vị nhiễm sắc thể trong các tế bào khối u. Ví dụ thông thường là các đột biến trong gen p53 kiềm chế khối u hoặc các proto-oncogene RAS - thường xảy ra ở nhiều dạng ung thư và protein hòa trong gen ung thư được tạo nên do chuyển vị *BCR/ABL* – đặc trưng của bệnh bạch cầu dòng tủy mạn tính.

Tuy nhiên, hầu hết các KN khối u lại là các sản phẩm gen chưa đột biến của túc chủ (tự KN) (self-antigen) và tiện lợi của chúng là các đích miễn dịch trị liệu chủ yếu, trong thực tế thì chúng được biểu hiện một cách khác thường bởi các TB khối u. Một số KN biểu hiện khác thường được hiển thị đã tạo lợi thế cho sự tăng trưởng của các TB ác tính, như biểu hiện quá mức *Her2/neu/erbB-2* trong ung thư vú, buồng trứng và các dạng ung thư khác. Đối với các KN khác thì lợi thế sinh học của sự biểu hiện vẫn chưa được rõ, nhưng dù sao thì nó cũng có khác biệt so với các mô bình thường. Các KN ung thư phôi thai là một ví dụ, nó biểu hiện một cách bình thường trong quá trình phát triển phôi và bị hạn chế bởi một quần thể TB trưởng thành bình thường, nhưng lại biểu hiện quá mức bởi nhiều adenocarcinoma. Tương tự như vậy, sự biệt hóa hay các KN giới hạn dòng (lineage –restricted antigen) được biểu hiện bởi các TB biệt hóa cuối cùng nhưng lại biểu hiện một cách khác thường bởi các TB khối u như MART-1 và các kháng nguyên gp100 biểu hiện trong các TB sắc tố bình thường cũng như trong u sắc tố ác tính. Một dạng KN khối u chưa đột biến mới được nhận biết gần đây là KN ung thư tinh hoàn, biểu hiện trong giới hạn bình thường đối với tinh hoàn

hay tinh trùng, nhưng cũng như kháng nguyên NY-ESO-1 trong u sắc tố, cũng được biểu hiện bởi các TB u ác tính mà dường như là không có liên quan gì về mặt di truyền.

Sự phân biệt giữa KN ngã và bất ngã có ý nghĩa quan trọng đối với việc thiết lập các vaccin kháng u. Trước hết là các đáp ứng miễn dịch đối với KN “ngoại lai” bất ngã như các sản phẩm virus hay các protein đột biến. Tuy nhiên, việc miêu tả KN ngã và bất ngã cũng không phải là tuyệt đối vì có bằng chứng về sự biểu hiện phổ biến các đáp ứng miễn dịch tự phát đối với các KN khối u “ngã” chưa đột biến trong các bệnh nhân ung thư. Thứ hai là, việc cảm ứng đáp ứng miễn dịch mạnh với các KN khối u biểu hiện bởi các mô bình thường có thể tiềm ẩn bệnh lý miễn dịch tự miễn. Chẳng hạn như một số thử nghiệm về vaccin u sắc tố đã có kết quả trong bệnh bạch biến, nó phá hủy tự miễn dịch của các tế bào sắc tố bình thường. Cho tới nay, các phản ứng tự miễn nghiêm trọng có quan sát thấy trong các thử nghiệm vaccin ung thư, nhưng độc tính nghiêm trọng đối với các mô bình thường không được đích thì có thấy ở các thử nghiệm trị liệu miễn dịch thụ động khi sử dụng các kháng thể đơn dòng đặc hiệu khối u có cộng hợp với các độc tố hay các hóa chất phóng xạ.

Tế bào B chống lại các kháng nguyên tế bào T

Cách khác để phân loại các KN khối u là dựa vào các dạng đáp ứng miễn dịch thu được bởi các kháng thể (tạo ra bởi tế bào B) hoặc bởi các CTL. Các kháng thể nhận diện được rất nhiều KN và epitope, bao gồm các domain peptid kè nhau hoặc không kè nhau, các carbohydrat, các gangliosid và các peptid đã được cải biến như các amino acid đã phosphoryl hóa. Ngược lại các CTL kinh điển lại nhận dạng được các peptide mạch thẳng (8-12 gốc) được tạo ra bởi quá trình phân giải protein các KN. Sự khác biệt cơ bản này được giải thích là do bản chất của các receptor KN được biểu hiện bởi các tế bào B và T. BCR là một phiên bản liên kết màng của kháng thể, nó có thể gắn và đáp ứng lại các KN chưa được xử lý của hầu hết các hợp chất hóa học. Ngược lại, $\alpha\beta$ -TCR lại nhận dạng các KN nhờ peptide đã được xử lý hiện diện cùng với các phân tử MHC lớp I và II trên bề mặt các APC và mục tiêu cuối cùng là các TB khối u. Trong khi danh mục đích KN ung thư của các kháng thể là cao hơn rất nhiều so với CTL thì hoạt tính kháng u của các đáp ứng CTL nói chung lại có tiềm năng kiểm soát ung thư cao hơn các kháng thể.

Các cơ chế tẩu thoát của khối u

Có bằng chứng cho thấy các khối u phát triển và lan rộng ngay cả khi có mặt các đáp ứng miễn dịch kháng u của túc chủ. Có nhiều cơ chế liên quan tới khả năng tẩu thoát hoặc tránh né của các khối u, làm mất hiệu quả của miễn dịch. Thứ nhất là việc mất biểu hiện kháng nguyên MHC lớp I mở đầu cho sự hoạt động của CTL kháng u. Thứ hai là mất biểu hiện kháng nguyên khối u, dẫn đến làm hư hại cả kháng thể cũng như CTL của các đáp ứng miễn dịch thu được. Nhiều khối u được chỉ rõ là có sản sinh ra các cytokin và các chất trung gian (mediator) khác kiềm chế miễn dịch (bao gồm IL-14, IL-10, yếu tố tăng trưởng biến nạp β [transforming growth factor – β], yếu tố tăng trưởng mạch nội mô, các gangliosid) và có thể ngăn chặn sự khởi đầu của các đáp ứng miễn dịch kháng u hoặc ngăn chặn một đáp ứng đã được thiết lập. Các khối u cũng được báo cáo là kháng lại apoptosis thông qua các tín hiệu thu nhận của receptor “chết” bị lỗi, cũng như cảm ứng apoptosis các tế bào T được hoạt hóa bởi KN khối u. Mẫu thiết kế cho các chiến lược miễn dịch trị liệu ung thư chắc chắn phải đề cập tới các cơ chế tẩu thoát khối u này.

MIỄN DỊCH TRỊ LIỆU CÔNG NGHỆ GEN BẰNG KÍCH THÍCH MIỄN DỊCH KHÔNG ĐẶC HIỆU

Thuật ngữ miễn dịch trị liệu (MDTL) không đặc hiệu thường được áp dụng cho các chiến lược mà kháng nguyên khối u không phải là một mục tiêu định sẵn. Mục tiêu của nó là cung cấp các yếu tố miễn dịch tác động trực tiếp tới sự sống còn của TB khối u hay thúc đẩy miễn dịch của túc chủ. Mục tiêu dưới đây đặc biệt thích hợp với khía cạnh kiểm chế miễn dịch của túc chủ hoặc sự thiếu hụt miễn dịch có liên quan tới các bệnh ác tính. Trị liệu không đặc hiệu như thế thường là thúc đẩy các đáp ứng miễn dịch thu được đặc hiệu KN đối khối u, tương tự các vaccin thật sự. Tuy nhiên, MDTL không đặc hiệu cũng có một số ưu điểm hơn các vaccin là: (1) không bị giới hạn bởi những đòi hỏi cần được ưu tiên về việc xác định và biểu thị các đặc điểm của KN khối u và (2) có thể nâng cao cả đáp ứng miễn dịch kháng u bẩm sinh và thu được.

Các cytokin và chemokin kích thích miễn dịch

Nhiều yếu tố đã được mô tả có đặc tính nâng cao đáp ứng miễn dịch nói chung và đặc hiệu hơn đối với các TB khối u, được thăm dò như các mục tiêu cho MDTL công nghệ gen. Các bệnh nhân ung thư có thể bị kiểm chế miễn dịch với một mức độ nào đây như có sự bất thường về sản phẩm cytokin miễn dịch thì sẽ được bù đắp lại các yếu tố thiếu hụt đó bằng MDTL. Đối với các yếu tố có thể tác động tới cả hệ thống bằng việc hoạt hóa các TB hiệu ứng miễn dịch như các interferon và các interleukin xác định (IL-2 và IL-12) thì việc chuyển gen tới bất kỳ mô nào cũng có thể có hiệu quả khi mà các cytokin lưu hành đạt tới nồng độ để hoạt hóa đủ số thành viên của các TB hiệu ứng miễn dịch.

Tuy nhiên, cho tới nay trong hầu hết các trường hợp cách chuyển gen chủ yếu vẫn là đưa trực tiếp vào các khối u - con đường đặc hiệu cho các chemokine và cytokin như yếu tố kích thích quần thể bạch cầu hạt – đại thực bào (GM-CSF), đó là một chất hóa ứng động (chemotactic) cho các dạng TB miễn dịch đặc biệt. Sự lựa chọn vec tơ cho các ứng dụng này cần phải lưu ý về thời gian biểu hiện của gen chuyển (dài hay ngắn, phụ thuộc vào các cytokin hay chemokin đặc hiệu) và các dạng TB túc chủ được đích cho sự tải nạp.

Giới hạn chính là việc tiêm vec tơ gen vào các khối u lại khó thực hiện đối với nhiều dạng ung thư và nhiều bệnh nhân ung thư. Tuy nhiên, gần đây người ta đã nhắm tới các vec tơ tải nạp một cách chọn lọc các dạng TB đặc biệt của túc chủ hoặc các TB ác tính hoặc sẽ cho biểu hiện một cách chọn lọc trong các dạng TB nhất định bằng việc công nghệ hóa các promoter chuyển gen giới hạn dòng, do vậy mà tháo gỡ được những đòi hỏi về việc phải tiêm các vec tơ gen vào trong khối u.

Các ligand/receptor đồng kích thích miễn dịch

Cơ chế chung để các khối u tránh né được sự kiểm soát miễn dịch là các TB khối u không biểu hiện các phân tử MHC, các phân tử đồng kích thích và các ligand đòi hỏi cho cảm ứng và duy trì các đáp ứng miễn dịch hiệu ứng. Vì thế gen trị liệu làm nhiệm vụ đưa các receptor và các ligand khiếm khuyết vào các khối u để kích thích sự nhận dạng và hoạt tính kháng u của hệ miễn dịch túc chủ. Hơn nữa đối với MHC thì có rất nhiều phân tử có liên quan tới sự nhận diện TB hiệu ứng cả bẩm sinh cũng như thu được đã được làm test về sự nhạy cảm khối u bao gồm CD54 (ICAM-1), CD58 (LFA-3), CD80(B7.1) và CD40.

Chủ đích là hoàn trả một số TB khối u nhạy cảm với nhận dạng và tấn công miễn dịch vì thế mà khuếch đại tổng quát hơn một đáp ứng miễn dịch đối với các TB

khối u. Các vec tơ dùng cho chuyển gen sẽ phải chọn lọc sao cho có khả năng tải nạp được các TB khối u một cách hiệu lực và có thể biểu hiện gen chuyển cả dài hạn và ngắn hạn. Như đã đề cập ở trên, đối với một số bệnh nhân có trở ngại về việc phải tiêm các vec tơ gen vào khối u thì các vec tơ công nghệ gen được đích bởi các TB sẽ có tiềm năng giải quyết được hạn chế này cũng như những hạn chế về tính hướng TB của các vec tơ bẩm sinh.

VACCIN CÔNG NGHỆ GEN (MIỄN DỊCH TRỊ LIỆU ĐẶC HIỆU CHỦ ĐỘNG)

Nhiều dạng vaccin kháng u đã được nghiên cứu sâu rộng trong các mô hình động vật và nhiều mô hình đã được sử dụng trong các TNLS cho phòng và điều trị ung thư. Một TNLS về vaccin là các hạt giống như virus HPV typ 16 để phòng tránh HPV (một virus liên quan tới ung thư cổ tử cung), được xếp vào một trong số những thành tựu khích lệ nhất trong lĩnh vực vaccin kháng u. Thử nghiệm này cũng như nhiều thử nghiệm vaccin khác đã được hoàn tất với việc tiêm chủng chính kháng nguyên của nó và thường kết hợp các chất bổ trợ miễn dịch. Các vaccin công nghệ gen có lợi thế hơn các dạng vaccin khác là không cần phải pha chế, làm tinh khiết cùng các kỹ thuật khác nữa với cả một KN mà chỉ cần xử lý các gen. Một lợi thế khác là có thể không cần phải thêm các chất bổ trợ miễn dịch vì bản chất của vấn đề này chỉ là sự chuyển gen. Nói cách khác là các chất bổ trợ được bổ sung chỉ nhằm làm gia tăng sự kích thích miễn dịch.

Khi xem xét mẫu thiết kế các vaccin kháng u theo cách công nghệ gen hay theo cách thông thường ta thấy chúng đều có một số nét chung: (1) đích chính xác các khối u; (2) thời gian và mức độ biểu hiện của hệ thống miễn dịch đối với khối u phụ thuộc vào liều lượng và lịch trình tiêm chủng (đối với vaccin không phải công nghệ gen), nhưng được quyết định phần nào bởi sự lựa chọn vec tơ (đối với vaccin công nghệ gen); (3) các dạng TB tức chủ gặp gỡ hoặc biểu hiện KN; (4) có sự hợp nhất với các chất bổ trợ miễn dịch. Tuy nhiên cũng cần phải xem xét thêm về tính đặc hiệu của các vaccin công nghệ gen để biết rõ các vaccin đã được mã hóa sẽ tạo ra kháng thể dạng tiết hay dạng gắn với tế bào.

Mỗi sự xem xét đều phải đề cập tới bản chất chung của một đáp ứng miễn dịch, bao gồm sự cân bằng giữa đáp ứng miễn dịch bẩm sinh và miễn dịch thu được, giữa kháng thể và miễn dịch thu được của CTL. Chẳng hạn như, một vaccin tạo ra chủ yếu là các đáp ứng kháng thể thì có thể áp dụng được cho các KN khối u biểu hiện trên bề mặt TB khối u (*Her2/neu/erbB2*); trái lại, một vaccin đích vào một KN nội bào (p53 đột biến) thì cần phải chú ý tới các đáp ứng của CTL bị giới hạn nhiều bởi MHC lớp I. Việc xem xét các mẫu thiết kế cũng cần phải đề cập tới khả năng bẻ gãy dung nạp miễn dịch của vaccin phải nhỏ hơn các vaccin dùng để phòng ngừa các protein virus (HPV) khi so sánh với tự KN chưa đột biến (*Her2/neu/erbB2*) và nhiều KN khối u xác định.

Nói tóm lại, các vaccin công nghệ gen linh hoạt hơn và dễ dàng kiến lập các đặc trưng mong muốn cho sự chuyển gen cũng như tạo ra các đáp ứng miễn dịch tốt hơn các vaccin thông thường.

Các gen kháng nguyên được mã hóa bởi vec tơ

Phương pháp đơn giản nhất là tiêm truyền trực tiếp cho bệnh nhân các vaccin công nghệ gen với vec tơ tái tổ hợp mã hóa cho KN khối u. Mục đích là gây cảm ứng các TB tức chủ biểu hiện gen chuyển là KN khối u (có hoặc không có các yếu tố

đồng kích thích), theo lý thuyết thì nó sẽ thúc đẩy hiệu quả các đáp ứng miễn dịch thu được đặc hiệu KN tương tự một miễn dịch mạnh được tạo ra bởi các nhân tố gây bệnh thông thường như các virus và vi khuẩn. Lợi thế chủ yếu là các TB túc chủ sẽ biểu hiện các gen được mã hóa bởi vec tơ, vì vậy mà thúc đẩy sự trình diện receptor MHC lớp I của các sản phẩm gen chuyển, thích ứng cho việc phát triển các đáp ứng CTL rất quan trọng trong miễn dịch kháng u. Những cách tiếp cận này đã tạo thuận lợi cho việc áp dụng hiệu quả công nghệ DNA tái tổ hợp để tạo nên các gen nhân tạo mã hóa những đoạn sinh miễn dịch của các KN khối u, tạo ra các biến thể sinh miễn dịch của các KN khối u, kháng nguyên khối u hòa cùng các peptid sinh miễn dịch cao từ các protein khác hoặc KN khối u hòa cùng các ligand hướng chúng hấp thu đặc hiệu receptor bởi các TB trình diện KN của túc chủ.

Các vec tơ polynucleotid

Kể từ báo cáo đầu tiên về tiêm chủng polynucleotid tới nay đã có rất nhiều công trình nghiên cứu chứng minh hiệu lực vaccin của DNA plasmid, mRNA hoặc hệ DNA/RNA mã hóa các KN đích trên các mô hình động vật sau khi tiêm polynucleotid qua các con đường: trong cơ, trong da, dưới da cũng như phun qua bề mặt niêm mạc (mũi, ruột, âm đạo). Độ an toàn của việc tiêm chủng polynucleotid đã được một số TNLS ghi nhận. Các vec tơ polynucleotid có thể bộc lộ các hoạt tính phụ trợ miễn dịch nội tại như nhận dạng receptor của motif CpG chưa methyl hóa của plasmid vi khuẩn và các đáp ứng TB bẩm sinh đối với việc phiên mã RNA của virus. Vì thế tiềm năng miễn dịch của các vaccin polynucleotid “trần” có thể được nâng cao nếu được đóng gói hoặc cộng hợp polynucleotid với các polymer sinh học. Rõ ràng là các vaccin polynucleotid đã được sử dụng như các vec tơ trong các nghiên cứu tiền lâm sàng và lâm sàng về vaccin kháng u, đặc biệt là các KN đã được cải biến bằng các thao tác gen để nâng cao tính miễn dịch.

Các vec tơ virus

Các vaccin virus sống đã làm giảm hiệu lực tỏ ra thành công đối với các bệnh truyền nhiễm như đậu mùa, bại liệt và cúm. Yếu tố chính trong hiệu lực vaccin virus sống đã làm giảm hiệu lực là bắt trước các thâm nhiễm virus. Sự hấp thu và biểu hiện gen virus bởi các TB túc chủ đã làm nảy sinh các đáp ứng miễn dịch thu được và bẩm sinh, bao gồm các kháng thể đặc hiệu và các CTL giới hạn bởi MHC lớp I. Những đặc tính này làm cho các virus tái tổ hợp rất hấp dẫn với tư cách là các vec tơ công nghệ gen cho vaccin kháng u và nhiều virus biểu hiện các KN khối u đã được làm test trong các mô hình tiền lâm sàng và lâm sàng cũng như một số ít các TNLS.

Việc quan tâm chính đối với các vec tơ virus được sử dụng như các vaccin công nghệ gen là khả năng sinh bệnh của chúng phải là cực tiểu, tức là các vec tơ virus này không có khả năng gây bệnh một cách đáng kể cho túc chủ được tiêm chủng và không có khả năng phát tán bệnh sang các cá thể khác. Những điều kiện này đã đảm bảo chắc chắn rằng những chủng virus được sử dụng để thiết lập vaccin khiếm khuyết nghiêm trọng khả năng tạo ra các virus hậu duệ trong các TB người bình thường. Độ an toàn cũng được đảm bảo bởi các đáp ứng miễn dịch trung hòa virus ở người “khỏe mạnh”. Nhưng cũng cần phải báo trước rằng các bệnh nhân ung thư ở giai đoạn muộn thì thường là có tổn thương về mặt miễn dịch. Các virus đã được theo đuổi với tư cách là các vec tơ công nghệ gen cho các vaccin bao gồm các poxvirus (các chủng virus đậu bò, đậu chim), các adenovirus, virus adeno liên hợp và virus cúm.

Vaccinia (virus đậu bò đã được sử dụng trong vaccin đậu mùa) có độ an toàn kỹ lưỡng và là một vec tơ đầu tiên được sử dụng trong các TNLS về vaccin kháng u. Tuy

nhiên, việc tiêm chủng đậu mùa một cách thường quy đã không còn tiếp tục nữa ở hầu hết các quốc gia phát triển từ những năm 1970 và 1980, nguyên do chính là đã thu tiêu được virus đậu mùa với tư cách là mầm bệnh tự nhiên ở phần lớn các nước trên thế giới và lý do thứ hai là cũng có các rủi ro khi tiêm chủng đậu mùa. Đầu năm 2003, nhiều thành viên quân sự trước kia chưa được tiêm chủng cũng như những người khỏe mạnh ở Hoa Kỳ khi được tiêm vaccin đậu mùa đã ghi nhận có hiện tượng sinh bệnh do vaccin như hội chứng thâm nhiễm vaccinia từ người này sang người khác. Ví dụ này là một nhắc nhở quan trọng khi lập kế hoạch khai thác các virus không có khả năng gây bệnh làm các vec tơ công nghệ gen cho vaccin kháng u.

Ngoài vấn đề an toàn, các vec tơ virus được xem xét để dùng như các vaccin công nghệ gen cũng cần phải đánh giá thêm một vài tiêu chuẩn bổ sung. Thứ nhất là virus phải thâm nhiễm hiệu quả các TB túc chủ thúc đẩy một cách tiềm năng các đáp ứng miễn dịch mong muốn (các APC nhà nghề). Nếu virus không thể hiện tính hướng tự nhiên đối với các APC thì đôi khi lại phải thực hiện việc chọn lọc về đường tiêm, liều lượng và lịch trình phân phối vaccin virus một cách thích hợp. Trong một số trường hợp khác lại cần phải cải biến các hạt virus tái tổ hợp để có thể “đích lại” vec tơ công nghệ gen tới các APC mong muốn.

Thứ hai là, các kháng thể trung hòa virus đã có từ trước và các đáp ứng tế bào T, bao gồm tái hoạt hóa các đáp ứng miễn dịch nhớ kháng lại virus cũng cần được xem xét. Đây là vấn đề quan trọng nhất đối với các vec tơ dựa trên cơ sở các virus thâm nhiễm trên người thông thường (serotype 5 của adenovirus dạng hoang dã), nhưng cũng còn vấn đề khác nữa đối với bất kỳ vec tơ virus nào là các túc chủ phải nảy sinh đáp ứng miễn dịch mạnh vì thế các vaccin kháng u hiệu quả hiện nay đều cần một lịch trình phân phối lặp đi lặp lại nhiều lần. Nếu các đáp ứng miễn dịch của túc chủ đủ để ngăn chặn sự xâm nhiễm sơ cấp các vec tơ virus hoặc loại trừ nhanh chóng sự biểu hiện của các TB túc chủ đối với các sản phẩm gen virus sớm thì hiệu lực vaccin sẽ bị tổn hại nghiêm trọng. Vì thế trong một số trường hợp cần phải lựa chọn cẩn thận liều lượng cũng như lịch trình tiêm chủng vaccin.

Thứ ba là, thời gian và thời lượng của biểu hiện gen chuyển được mã hóa bởi các TB túc chủ đã tải nạp có thể gây ảnh hưởng tới cường độ và bản chất của một đáp ứng miễn dịch đối với các KN khối u được mã hóa bởi virus. Mặc dù các bằng chứng hiện nay cho thấy duy trì sự biểu hiện của gen chuyển là lợi nhất để tạo nên miễn dịch kháng u hiệu quả, nhưng vẫn phải chờ các kết quả thực nghiệm bổ sung cuối cùng.

Các vaccin DC cải biến gen

Một cách tiếp cận khác đối với các vaccin công nghệ gen là cải biến trực tiếp các TB trình diện KN tiềm năng (đặc biệt là các DC) bằng cách cải biến gen *in vitro* rồi điều hành các APC hay DC đã cải biến như một vaccin. Khả năng tạo được cả DC chín và chưa chín của nhiều kiểu hình khác nhau từ tổ tiên có thể tiếp cận dễ dàng trong các đối tượng là người hay các động vật thí nghiệm đã thúc đẩy nhiều công trình nghiên cứu về các DC biến đổi gen với tư cách là các vaccin kháng u. Các DC nuôi cấy có thể được cải biến để trình diện các KN khối u bằng các phương pháp phi công nghệ gen, bao gồm “điện sung” *in vitro* hỗn hợp các protein hay tế bào khối u giữa các tế bào DC và TB khối u, nhưng thường là cải biến di truyền các APC hay DC *in vitro* nhờ việc thâm chuyển polynucleotid hay tải nạp virus. Lợi thế của phương pháp này là khả năng chuyển giao các KN khối u hiệu quả *in vitro* và tiềm năng cải biến xa hơn trạng thái hoạt hóa của các DC nuôi cấy trước khi tiêm chủng. Bất lợi là cần phải gặt hái, nuôi cấy, và cải biến các TB từ bệnh nhân trước khi chuyển thành một vaccin kháng u, điều đó làm hạn chế rất nhiều các ứng dụng lâm

sàng ở các trung tâm điều trị bệnh nhân hoặc phải chấp nhận các phương thức nuôi cấy *ex vivo*.

Các vaccin tổng thể tế bào cải biến gen

Các chế phẩm TB khối u tự thân hay dị loại bao gồm một số vaccin kháng u sớm nhất đã được test trong các TNLS. Tương tự như vậy, các TB khối u nuôi cấy đã biến đổi gen *in vitro* biểu hiện các cytokin hoạt hóa là một trong những vaccin công nghệ gen đã được test trong thực nghiệm. Gần đây hơn, các TB khối u nuôi cấy đã biến đổi gen biểu hiện GM-CSF (với tư cách là một chất bổ trợ miễn dịch) đã bộc lộ hoạt tính vaccin kháng u một cách kích lệ trong các TNLS. Một lợi thế của phương pháp này là vaccin tổng thể TB khối u đích đáp ứng miễn dịch tới một tế bào cũng giống như là khối u của bệnh nhân nhờ việc thao tác gen để nâng cao hoạt hóa miễn dịch và kháng lại một cách tiềm năng các cơ chế “tẩu thoát” miễn dịch của TB khối u được bộc lộ bởi khối u nội sinh. Bất lợi của phương pháp này là phải nuôi cấy *in vitro* và cải biến gen các TB khối u để làm vaccin – một giới hạn tương tự như đã đề cập đối với các TNLS.

Các chiến lược vaccin tổ hợp

Ngày càng gia tăng số lượng các TNLS chủ động thực nghiệm áp dụng chiến lược tổ hợp. Trong một số trường hợp, những cách tiếp cận “gen học” này lại kết hợp cùng với cách tiếp cận phổ thông như các vec tơ virus mã hóa KN khối u đã được phân phối cùng với protein GM-CSF tái tổ hợp như một chất bổ trợ miễn dịch. Trong những trường hợp như thế này thì những cách tiếp cận “gen học” khác có thể được tổ hợp với nhau như trong chiến lược vaccin đa dạng hóa đầu tiên, bằng cách sử dụng plasmid DNA với tư cách là là tiêm chủng sơ cấp và adenovirus tái tổ hợp để nâng cao hiệu lực tiêm chủng. Ý định trong các protocol tổ hợp là tận dụng đầy đủ các lợi thế của từng thành phần và đưa ra một lịch trình điều phối tổ hợp thúc đẩy hiệu quả các đáp ứng miễn dịch mong muốn. Những cách tiếp cận tổ hợp có lẽ là đòi hỏi thời gian dài hơn để phát triển và làm test vì có sự gia tăng số lượng các biến cố.

CÁC TẾ BÀO HIỆU ỨNG CẢI BIẾN GEN (TRỊ LIỆU MIỄN DỊCH VAY MƯỢN [ADOPTIVE] ĐẶC HIỆU)

Các tế bào T cải biến gen

Các tế bào CTL (tế bào $\alpha\beta$ - T giới hạn bởi MHC lớp I) từ lâu đã được coi là những phân tử hữu hiệu nhất đối với việc kiểm soát khối u. Gen trị liệu tạo cơ hội để chuyên hướng hoạt động của CTL bằng cách cung cấp các TCR “nhân tạo” đích trực tiếp các TB khối u. Các TCR nhân tạo có thể là các TCR thông thường đặc hiệu cho các peptid KN khối u hiện diện một cách kinh điển trong các phân tử MHC lớp I. Nhưng mạnh hơn nữa có thể là các receptor “chimeric” có thể nhận dạng được các TB khối u trong phương thức không bị giới hạn bởi MHC. Chính vì thế mà các cấu trúc gen mã hóa cho các receptor chimeric có các domain gắn kháng thể như phần gắn KN của TCR đã được tạo ra để chuyên hướng độc tố TB của các tế bào T thâm nhiễm biểu hiện KN cùng nguồn trên bề mặt TB của chúng. Tiềm năng của cách tiếp cận này đối với trị liệu miễn dịch vay mượn chỉ bị giới hạn bởi những hiểu biết đương thời về các cơ chế chính xác của sự nhận dạng CTL và giết các TB khối u.

Các tế bào NK/NKT cải biến gen

Tương tự như các CTL, những hiểu biết về sự nhận dạng phân tử và truyền tín hiệu dẫn đến tiêu diệt các TB khối u của các tế bào NK và NKT đã tạo cơ hội cho sự

cải biến gen *ex vivo* các phân tử hữu hiệu này, làm cho độc tố TB đối với khối u hiệu lực hơn. Tiềm năng về tuổi thọ và khả năng tăng sinh *in vivo* của các tế bào NK được chuyển giao đã ủng hộ cho các áp dụng tương lai các tế bào NK hoặc NKT trong trị liệu miễn dịch ung thư. Các dạng TB này có khả năng dùng để thiết kế các vec to công nghệ gen nhằm điều chỉnh hoạt tính kháng u của các tế bào NK *in vivo*.

NHỮNG ĐỊNH HƯỚNG TƯƠNG LAI

Phạm vi và tính chất của các phương pháp trị liệu miễn dịch công nghệ gen mở rộng không ngừng những kiến thức mới về các cơ chế hiệu ứng và sự điều hòa các yếu tố trong miễn dịch khối u cũng như những tiến bộ trong việc phát triển các vec to gen trị liệu mới. Do đó trong tương lai cần phải hợp nhất các cytokin, chemokin, các receptor đồng kích thích và ngay cả các phân tử tín hiệu nội bào vào trong trị liệu miễn dịch công nghệ gen. Việc xác định các KN ung thư mới cũng như mô tả kỹ hơn bản chất của KN và các quyết định KN tạo đáp ứng miễn dịch kháng u hiệu quả nhất sẽ tác động đặc biệt tới sự phát triển vaccin công nghệ gen. Hơn nữa, các vec to tái tổ hợp mới có tính thâm nhiễm TB vật chủ được đích hoặc biểu hiện chọn lọc gen chuyển có thể được khai thác nhằm nâng cao hiệu lực của miễn dịch trị liệu công nghệ gen.

Những vấn đề khảo sát cần được đẩy mạnh trong những năm tới là tổ hợp trị liệu miễn dịch công nghệ gen với các phương pháp trị liệu khối u thông thường như hóa trị hay xạ trị.

Những thí nghiệm trên động vật cũng như các TNLS đã cho thấy những thành quả của việc kết hợp hóa trị với miễn dịch trị liệu và những lợi thế nội tại của miễn dịch trị liệu công nghệ gen chắc chắn sẽ được sử dụng để gia tăng về số lượng cũng như các dạng “bình chủng” tổ hợp.