

## Abstract (CZ)

Adoptivní buněčná imunoterapie (ACI; z angl. Adoptive Cellular Immunotherapy), která je založená na *ex vivo* přípravě T buněk, je moderní léčebnou metodou nádorových onemocnění. *Ex vivo* příprava T buněk s vysokým terapeutickým potenciálem není však doposud úspěšně zvládnuta. Wnt/ $\beta$ -cateninová a mTOR signalizace ovlivňují jak nádorové, tak i imunitní buňky. Modulace těchto signalizačních drah může být tudíž slibnou cestou k přípravě T buněk s vyšší terapeutickou účinností. Cílem projektu bylo zjistit, jak zásah do Wnt/ $\beta$ -cateninové a mTOR signalizace může zlepšit *ex vivo* přípravu T buněk s požadovaným a ustáleným fenotypem, který by byl vhodný pro protinádorovou ACI.

V první části studie jsme se zaměřili na inhibici Wnt/ $\beta$ -cateninové signální dráhy pomocí molekuly XAV939 a vliv této inhibice na eliminaci nádorových buněk pomocí lymfocytů pacientů s lokalizovaným biochemickým rekurentním nádorem prostaty (BRPCa; z angl. localized biochemically recurrent prostate cancer). Zjistili jsme, že ošetření lymfocytů BRPCa pacientů 5 $\mu$ M XAV939 urychlilo eliminaci LNCaP a PC3 nádorových buněk během následné kokultivace. Nicméně během opakované kokultivace s čerstvými LNCaP a PC3 nádorovými buňkami ošetřené lymfocyty již nebyly nádorové buňky schopny dále eliminovat. K eliminaci však došlo, pokud byly lymfocyty od začátku a během celé doby kokultivovány v přítomnosti 5 $\mu$ M XAV939. Tyto výsledky naznačily, že modulace Wnt/ $\beta$ -cateninové signální dráhy zvyšuje citlivost nádorových buněk k buňkám imunitním a propůjčuje lymfocytům BRPCa pacientů schopnost eliminovat nádorové buňky.

Ve druhé části studie jsme se pokoušeli zjistit, jestli modulace Wnt/ $\beta$ -cateninové a mTOR signalizace může ovlivnit funkci CD8<sup>+</sup> T buněk, které byly již dříve stimulovány antigenem. V této studii jsme použili 3 inhibitory: TWS119, inhibitor GSK-3 $\beta$ , která je regulátorem mTORC1 and Wnt/ $\beta$ -cateninové signalizační dráhy; rapamycin, který je inhibitorem mTORC1 signalizační dráhy; Torin 1, který je inhibitorem obou ramen mTOR signalizační dráhy, mTORC1 and mTORC2. Zjistili jsme, že krátkodobé ošetření daných CD8<sup>+</sup> T buněk inhibitorem TWS119 nebo rapamycin vedlo k opětovné expanzi CD8<sup>+</sup> T buněk, které později vykazovaly zvýšenou zánětlivou odpověď. Na druhou stranu tento efekt nebyl pozorován pro inhibitor Torin 1.

Tato data naznačují, že GSK-3 $\beta$ -mTORC1 signální dráha je důležitým regulátorem efektorových funkcí CD8<sup>+</sup> T buněk, které byly již dříve stimulovány antigenem.

Závěry naší studie ukázaly, že přestože Wnt/ $\beta$ -cateninová a mTOR signalizace se staly atraktivními terapeutickými cíly v léčbě mnoha nádorových onemocnění, jejich současný význam u imunitních či jiných buněk ukazuje jejich terapeutické cílení *in vivo* jako kontroverzní.

Nicméně, jejich *ex vivo* modulace u vybraných imunitních buněk za řízených podmínek však může přinášet technologickou výhodu v přípravě buněk pro protinádorovou ACI.