

Abstrakt

Glioblastomy (GBM) jsou jedním z nejčastějších maligních nádorů v centrální nervové soustavě. Mikroprostředí GBM obsahuje maligní a nemaligní stromální buňky, jejichž vzájemné interakce přispívají k řadě charakteristik GBM, včetně aberantní angiogeneze, vysoké rychlosti proliferace a systémové a lokální imunosuprese.

Fibroblastový aktivační protein α (FAP) je membránová serinová proteáza, která je minimálně exprimována ve zdravých tkáních, ale je upregulována u solidních nádorů, včetně GBM. FAP může být v nádorovém mikroprostředí exprimován maligními i stromálními buňkami, přičemž jeho exprese ve stromálních buňkách je často spojena s narušenou protinádorovou imunitní odpovědí. Význam FAP a FAP exprimujících stromálních buněk v infiltraci imunitních subpopulací do mikroprostředí GBM není jasný. Tato diplomová práce se zaměřila na vývoj postupu využívajícího průtokovou cytometrii k identifikaci subpopulací imunitních buněk přítomných v nádorovém mikroprostředí v modelu syngenního glioblastomu u myši divokého kmene a myši s genovou inaktivací FAP.

Byly vyhodnoceny čtyři metody kombinující mechanickou a enzymatickou disociaci z hlediska jejich schopnosti zachovat životaschopnost buněk a expresi studovaných povrchových molekul s použitím nenádorové tkáně a tkáně myšího GBM. Jako nejvhodnější metodu pro disociaci tkáně myšího GBM jsme vyhodnotili metodu používající disociátor a enzymatické štěpení pomocí Tumor Tissue Dissociation kit. Tato metoda poskytla vysoký výtěžek životaschopných buněk s minimální změnou povrchových markerů imunitních buněk. Byly navrženy panely pro cytometrické stanovení imunitních subpopulací (myeloidní buňky, konvenční T buňky, regulační T buňky, přirozené zabíječské buňky). Pilotní cytometrická analýza nádorů odhalila vysokou infiltraci leukocytů, převážně myeloidních buněk, v nádorovém mikroprostředí GBM se statisticky nevýznamnými rozdíly v zastoupení intratumorálních imunitních buněk u myši divokého kmene i u myši s genovou inaktivací FAP.

Zavedená metoda bude použita pro další fenotypovou charakterizaci imunitních subpopulací přítomných v nádorovém mikroprostředí v myších modelech astrocytárních nádorů.

Klíčová slova: Glioblastom, Fibroblastový aktivační protein, imunosuprese, nádorové mikroprostředí, disociace tkáně, průtoková cytometrie, myší model