
V Praze dne 24.8. 2021

Oponentský posudek na dizertační práci Ing. Pavly Táborské „T buněčná terapie nádorových onemocnění“

Tématem dizertační práce Ing. Pavly Táborské je problematika adoptivního T buněčného transferu v terapii nádoru prostaty. Je zaměřena spíše metodicky a zabývá se optimalizací jednotlivých vybraných kroků *ex vivo* přípravy T buněk pro imunoterapii, konkrétně jejich nabohacení, expanze a modulace. Přináší také nové poznatky v oblasti regulace fenotypu a funkce T lymfocytů a možné roli signální dráhy GSK-3 β –mTORC1,2 v těchto procesech.

Základem dizertační práce jsou tři prvoautorské publikace, dvě z nich jsou spojeny s imunoterapií nádoru prostaty, jedna, přiřazená z metodických důvodů, se zabývá problematikou expanze SARS-CoV-2 specifických T lymfocytů získaných od vakcinovaných dárců (tato práce byla zařazena jako preprint, v současné době je již přijata k publikaci). Kromě těchto tří publikací je Ing. Táborská spoluautorkou ještě několika dalších publikací s příbuznou tematikou, z nichž některé by mohly být zařazeny do dizertační práce. Nicméně zúžení výběru na zmíněné tři publikace považují za velmi vhodné, práce je tak velmi konsistentní a specificky zaměřená.

Práce se skládá z literárního úvodu, dále jsou prezentovány cíle práce a komentáře a souhrny k jednotlivým publikacím jsou spojeny do kapitoly Výsledky a diskuze před vloženými publikacemi. Práce obsahuje téměř 300 literárních citací. Citace v textu jsou uváděny jmennou formou, nikoliv čísly. V seznamu literatury jsou jednotlivé citace seřazeny podle abecedy, ale ještě navíc očíslovány.

V literárním úvodu, je v odpovídajícím rozsahu cca 30 stran uvedena relevantní literární data ke studované problematice. Kapitola Imunoterapie nádorových onemocnění se zaměřením na karcinom prostaty přináší celkový přehled o metodách pasivní a aktivní imunoterapie nádorů. Vzhledem k experimentální části práce mohla být podrobněji a hlouběji zpracována problematika T buněčné terapie na úkor dalších podkapitol, které řeší témata, která s experimentální částí nejsou spojena.

Jednotlivé hlavní cíle práce byly jasně definovány, jsou víceméně metodické, navazují na sebe a odpovídají jednotlivým publikacím. V kapitole Výsledky a diskuze jsou výsledky z příložených publikací dostatečně prezentovány, včetně grafické prezentace, a komentovány v logických souvislostech.

V první práci *Táborská et al., 2017* je dokumentována možnost nabohatit specifickou populaci T lymfocytů proti tumour asociovaným antigenům (TAA) v lymfocytárních frakcích PBMC od pacientů s nádorem prostaty pomocí peptidů odvozených z vybraných TAA. Důležitým zjištěním bylo, že k nabohacení dochází, i když v buněčné populaci byly zbaveny většiny monocytů, takže vyvstává otázka antigen prezentujících buněk. Zde je nutno mít na paměti, že se zde nejedná o priming, protože buňky pravděpodobně nebyly antigen naivní. Zajímavé by bylo analyzovat specifickou populaci i z hlediska fenotypu efektorových a paměťových efektorových buněk. Dalším problémem je i výběr vhodných TAA, od kterých budou odvozeny aktivační peptidy. Zde byly použity i peptidy odvozené od rozpustných TAA PSA a PAP, které asi pro přípravu účinných populací T buněk nejsou příliš vhodné. Zajímavou se jeví myšlenka využít k přípravě nabohacené T buněčné populace frakci PBMC získanou během leukaferézy, kdy jsou získávány monocyty na přípravu buněčných vakcín na bázi dendritických buněk. Mohla by se tak teoreticky použít kombinovaná imunoterapie dendritickými buňkami a adoptivním transferem T buněk.

Navazující práce *Táborská et al., 2021* je čistě metodická a na modelu nikoliv nádorovém, ale virovém, což však není pro optimalizaci metodiky problém. V této práci bylo prokázáno, že v nabohacené populaci je procentuálně zachována frakce specifických lymfocytů, což by ve spojení s metodikou nabohacení specifické populace mělo vést k efektivnímu protokolu přípravy T buněčné populace pro adoptivní přenos.

Tyto dvě metodické studie jsou doplněny prací *Táborská et al., 2020*, ve které jsou s využitím modelu, založeném na využití alogenních dendritických buněk a nádorové linie PC-3, studovány cytokinové a farmakologické modulace aktivace a reaktivity expandovaných specifických T buněk. Tato práce přinesla nová data o dopadech účinků deprivace IL-2 v různých fázích aktivace buněk (reversibilní aktivace povrchové exprese TIM3), a dále o možné roli signální dráhy GSK-3 β -mTORC1,2 v regulaci funkce T lymfocytů a jejím farmakologickém ovlivnění.

Závěrem lze říci, že Ing. Pavla Táborská ve své práci významně přispěla k optimalizaci metodik přípravy T buněčných populací pro adoptivní transfer s ohledem na terapii nádorů prostaty a získala nová data o roli signální dráhy GSK-3 β -mTORC1,2 v regulaci funkce T lymfocytů. Prokázala schopnost samostatné vědecké práce a získala prioritní výsledky, které publikovala jako první autor ve třech publikacích zahrnutých do dizertační práce. Doporučuji proto, aby práce byla přijata jako podklad pro udělení titulu PhD.

Dotazy k diskusi:

1. Je zvažována klinická studie kombinované terapie T lymfocyty a dendritickými buňkami, byly takové studie někdy provedeny?
2. Můžete stručně shrnout, v čem a proč byly provedeny modifikace protokolu REP (*Dudley a Rosenberg, 2003*) a jak se projevíly?
3. V publikaci *Táborská et al., 2020* jste jako kritérium aktivace buněk používali míru produkce $\text{IFN}\gamma$ a $\text{TNF}\alpha$. Ve Fig. 2 dokumentujícím, že akutní deprivace IL-2 před antigenní restimulací podporuje expanzi CD8^+ buněk, jsou prezentována pouze data s $\text{TNF}\alpha$, měřili jste i $\text{IFN}\gamma$?
4. Jaký je možný mechanismus jevu, že, aby se projevil účinek inhibice mTORC1 na funkci expandovaných specifických T buněk, musí být zachována aktivní dráha mTORC2?
5. Studovali jste dopady aplikace inhibitorů mTOR po expanzi a následné antigenní stimulaci T lymfocytů, případně můžete spekulovat, jaké by byly?

RNDr. Milan Reiniš, CSc.

Oddělení imunologických a nádorových modelů
Ústav molekulární genetiky AV ČR, v.v.i.
Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4
