

Oponentský posudek na disertační práci

předložené na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy v Praze

Autor: Mgr. Jan Musil

Název: Modulace nádorového mikroprostředí a její vliv na imunoterapii nádorů

Školitel: RNDr. Šárka Němečková

Předložená disertační práce obsahuje 191 stran textu, je vhodně strukturovaná a logicky členěná na 9 kapitol, jsou k ní přiloženy 2 publikace 1) Antitumor activity and immunogenicity of recombinant vaccinia virus expressing HPV 16 E7 protein SigE7LAMP is enhanced by high-level coexpression of IGFBP-3 Musil J et al., Cancer Gene Ther. 2014, 2) Enhancement of DNA vaccine potency against legumain. Smahel M, Duskova M, Polakova I, Musil J. J Immunother. 2014.

Po formální stránce je práce kvalitní, po jazykové a stylistické stránce je také velmi pěkně napsaná a bez jazykových chyb. Téma práce je vhodně zvolené, aktuální a relevantní pro zpracování disertační práce. Literatura je řádně citovaná a dostatečná.

V úvodu jsou velmi detailně shrnuty základní fakta nádorové imunologie se zaměřením na vztah nádorového mikroprostředí a jeho vztah na protinádorovou imunitu. Cíle práce jsou jasné formulované. V části materiály a metody jsou přehledně shrnuty všechny experimentální postupy použité při řešení práce. V části výsledky následuje prezentace získaných dat. Tato část práce je nejdůležitější a je členěna do dvou oddílů které odpovídají dvou přiloženým publikacím. Na obou publikacích je Mgr. Musil uveden jako jeden z hlavních autorů.

V části týkající se první publikace byl studován vliv IGFB-3 na vyvolání protinádorové a protivirové imunity. Autor vytvořil rekombinantní virus vakcínie současně exprimující IGFB-3 a modifikovaný nádorový antigen SigE7Lamp, následně se studoval efekt imunizace tímto virem na vznik protinádorové imunity proti E7+ buňkám na myším modelu. Dále autor studoval vliv IGFB-3 na biologické chování viru vakcínie in vitro a in vivo. Ukázalo se, že IGFB-3 zvýšil imunogenost rekombinantního viru a posílil protinádorovou imunitu, dále se ukázalo, že IGFB-3 vedl ke zvýšení virulence viru a způsobil větší in vivo replikaci.

V další části odpovídající druhé publikaci autor studoval makrofágy obsažené v myších nádorech MK16/ABC a možnost ovlivnění progresu nádorů pomocí imunizace proti legumainu. Předpoklad byl, že imunizací proti legumainu se pomocí cytotoxických T lymfocytů ovlivní nádorové makrofágy, protože legumain je exprimovaný makrofágy, které infiltrují nádory. Efekt imunizace byl dále posílen současným podáním adjuvans jako je CpG či deplecí T-regulačních lymfocytů pomocí monoklonální protilátky. Myši byly imunizovány DNA vakcínou kódující modifikovaný legumain, který obsahoval motiv RGG nebo

epitop p30 z tetanového toxoidu. Bylo zjištěno, že tato vakcinace zpomaluje růst MK16 nádorů in vivo, avšak počet makrofágů v nádorech nebyl významně ovlivněn. Následující část Diskuze logicky a přehledně shrnuje výsledky experimentů a dává je do souvislosti s již publikovanými daty.

Navržená disertační práce je velmi kvalitně zpracovaná splňuje požadovaná kritéria. Obě přiložené publikace jsou v dobrých časopisech s dostatečným impakt faktorem. Autor dokumentuje zvládnutí mnoha složitých experimentálních metod a má rozsáhlý literární přehled ve studované oblasti. Doporučuji práci přijmout k obhajobě a udělit titul PhD.

Dílčí připomínky a otázky:

-práce je místy až zbytečně rozsáhlá a řada údajů se zbytečně opakuje, pro lepší srozumitelnost a přehlednost by bylo vhodnější některé pasáže pojmout stručněji.

- bylo by vhodné lépe zdůraznit proč byly vybrány proteiny IGFB-3 a legumain a lépe bych popsal jejich fyziologickou funkci

-jak lze vysvětlit imunomodulační účinky IGFB-3, proč zvyšuje replikaci VV v organismu a in vitro?

-proč zvýší imunogenitu legumainu jeho modifikace vložním motivů RGG a TT11?

- jak vypadá protilátková odpověď proti legumaninu a jak koreluje s buněčnou odpovědí?

-kolik procent buněk z MK16 nádorů tvoří makrofágy?

MUDr. Pavel Otáhal, PhD

I. interní klinika

1.lékařská fakulta a Všeobecná fakultní nemocnice

Praha