

ABSTRAKT

O úspěchu nádorové vakcíny rozhodují jak faktory související s vakcínou, které určují hlavní parametry účinné imunitní odpovědi, tak faktory související s hostitelem představované imunosupresivními mechanismy, které umožňují nádoru uniknout imunitnímu systému.

V případě VACV může v současnosti, kdy je z důvodů bezpečnosti dávána přednost oslabeným nereplikujícím se virům, nastat problém s jejich nedostatečnou imunogeností. Proto jsou vyvíjeny pomocí delecí neesenciálních genů vakcinační vektory na bázi oslabených rVACV schopných replikace, které navozují silnou imunitní odpověď. Za účelem eliminace vlivu imunosupresivních mechanismů nádorů jsou do vektorů vnášeny geny pro různá imunologická adjuvans (např. geny pro cytokiny).

První část práce popisuje naše studium vlivu vCCI na biologické vlastnosti rVACV odvozených z kmene Praha. Při testování delečních a inzerčních mutant vCCI exprimujících s nádorem asociovaný protein HPV16 E7 jsme zjistili, že secernovaný vCCI attenuuje virus *in vivo*, což korelovalo se sníženou hladinou odpovídajících CC chemokinů v krvi při porovnání s rodičovským virem. Hodnocení specifické CTL odpovědi metodou ELISPOT IFN- γ ukázalo, že imunogenost rVACV produkujícího sekreční vCCI je podobná jako rodičovského viru nebo delečních mutant. Imunizace rekombinantním virem produkujícím sekreční vCCI měla nižší léčebný účinek proti nádorům TC-1. Virový CCI snížil E7 specifickou odpověď navozenou imunizací biobalistickou metodou „gene gun“ DNA vakcínami pBSC-SigE7 LAMP a pBSC-vCCI.

Druhá část práce popisuje naše studium vlivu GM-CSF na imunizaci myši vysoce imunogenními DNA vakcínami při jeho lokální produkci virem MVA injikovaným do nádorů se sníženou expresí molekul MHC I. Dvě dávky DNA vakcíny v kombinaci s nejméně dvěma po sobě jdoucími IT dávkami MVA-GM-CSF byly schopné signifikantně inhibovat růst nádorů. Při analýze buněčné imunitní odpovědi vůči proteinu HPV16 E7 metodou ELISPOT IFN- γ jsme zjistili, že *in situ* exprese genu GM-CSF nezvýšila systémovou E7 specifickou T buněčnou odpověď. Dále jsme zjistili, že lokální injekce MVA-GM-CSF způsobily zvýšení počtu intratumorálních CD3+ T buněk a že DNA vakcinace vedla ke zvýšení exprese molekul MHC typu I na nádorových buňkách *in vivo*.

Závěrečná část práce obsahuje popis přípravy linie modelových nádorových buněk vhodných pro testování různých metod imunoterapie nádorů exprimujících WT1.