



POSUDEK NA DIZERTAČNÍ PRÁCI Mgr. Julie Vackové

CHECKPOINT BLOCKAGE IN CANCER IMMUNOTHERAPY

Předložená dizertační práce je sepsána ve zkrácené formě na jedno z nejaktuálnějších biomedicínských témat. Použití checkpoint inhibitorů je jednou z revolucí onkologické léčby, s obrovskou perspektivou, ale i četnými úskalími. Jedná se o jednu z nejúspěšnějších aplikací poznatků imunologické teorie do medicínské praxe – v reálné situaci však narážející na individuální charakteristiky pacientů, které jsou nejen v oblasti genetiky a epigenetiky, ale i individuálního nastavení konkrétního imunitního systému – a to v kontextu konkrétního nádoru, který je ze své podstaty vždy unikátní. Pro úspěšnou a efektivní léčbu co nejširšího spektra nádorových onemocnění pomocí imunoterapeutických přístupů je tedy třeba ještě vykonat velké množství práce – jak v základní, tak aplikovaném výzkumu.

Předložená dizertační práce se věnuje etablování několika myších modelů vysoce relevantních pro charakterizaci vztahu mezi modulací/nastavením imunitního systému v kontextu s vlastnostmi imunogenicity (schopnosti imunomodulace nádoru). Pro práci si zvolila vhodný model, nádorovou linii TC-1 připravenou z plicních buněk myšího kmene C57BL/6 transformací pomocí virového onkogenu HPV16 E6/E7 a lidského *H-ras*. *Mimochodem, plicní tkáň se skládá z poměrně velkého množství různých buněčných typů – kterému z nich odpovídá fenotyp buněčné linie TC-1?* Tato buněčná linie byla v mnoha aspektech, relevantních pro účely studia vztahu mezi efektem využití checkpoint inhibitorů a vlastnostmi nádorové buněčné populace geneticky modifikována či jinak modulována (např. komponenty IFN- γ signalizační dráhy, exprese MHC I, nebo CD80). Studováno bylo pomocí celé řady relevantních metodik množství imunitních charakteristik, a to v různých terapeutických kontextech – s využitím syngenního myšího nádorového modelu.

Julie Vacková se myslím formátu práce zhostila velice dobře. Práci sepsala velice dobrou angličtinou s minimem formálních nepřesností. V literárním přehledu seznámila čtenáře se vším podstatným pro pochopení merita práce. Použité literární zdroje jsou reprezentativním přehledem relevantní literatury. *Jediné, co bych zde doplnil – i s ohledem na následující část sumarizující a diskutující jednotlivé publikace (kde se mj. využívá ovlivnění Tim3) je zmínka o možném využití dalších inhibičních receptorů (a jejich ligandů) pro možnou terapii s využitím modulace funkce checkpoint inhibitorů (Tim3 - <https://www.nature.com/articles/s41577-019-0224-6>, <https://www.nature.com/articles/ncomms10501>, VISTA - <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31930484/>...).* Dále bych si dokázal představit využití obrázků, které by mohly významně zpřehlednit složité souvislosti.

Předložená dizertační práce je založena na čtyřech publikacích v kvalitních biomedicínských žurnálech (Cancers - IF 6,639, International Journal of Molecular Sciences 2x – IF 5,923 a Oncology Reports – IF 3,417.

Julie Vacková je první autorkou na dvou z nich, spoluautorkou na dalších dvou – což jsou počty splňující nároky na kvantitu i kvalitu publikační aktivity požadované Oborovou radou imunologie pro úspěšné ukončení studia. Součástí práce je jasná formulace podílu autorky na vzniku jednotlivých publikací, která je jasným důkazem kvality i penza odvedené experimentální práce. Jednotlivé publikace jsou v dizertační práci vhodným způsobem představeny a diskutovány, je evidentní, že Julie Vacková velice dobře rozumí studované problematice a osvojila si celé spektrum metodik využívaných pro charakterizaci imuno-onkologických konceptů. Je dále zřejmé, že práce splnila kladené cíle – a že se stala zajímavým příspěvkem ve snaze optimalizovat imunologické intervence s využitím znalostí onkoimunologického výzkumu.

Na závěr bych měl několik veskrze zvědavých dotazů:

1. *V práci jste použila myší model. V čem byste hledala možná omezení extrapolace vašich výsledků (ale i obecně modulace checkpoint inhibitorů) pro využití v lidském systému?*
2. *V úvodu jste se zaměřila na přístupy využívající PD-1 a CTLA-4. Co další inhibiční receptory imunocytů (např. v práci zmíněné Lag-3, CD244, TIGIT nebo KLRG-1) – existují zde relevantní klinické studie?*
3. *V práci zmiňujete důležitou roli nádorového mikroprostředí pro terapeutický výsledek blokování imunologických checkpointů. Zajímalo by mne, zda je podstatný konkrétní tkáňový/orgánový kontext – zvláště s ohledem na imunoprivilegované orgány. A obecněji - jak modulace imunitních checkpointů souvisí s možným nebezpečím autoimunitní reakce/ popř. chronických zánětlivých reakcí... ?*
4. *Mají v checkpoint inhibičních terapeutických modelech nějakou roli $\gamma\delta$ T-lymfocyty?*
5. *K meritu práce – existuje možnost studovat selektivně nádorově specifické T-buněčné klony, na jejichž fenotyp a efektorové aktivity by bylo vhodné se logicky zaměřit? Vzhledem k tomu, jak byla připravena modelová buněčná linie – obsahující virový protein, mohlo by se jednat o relativně dostupnou a realizovatelnou možnost.*
6. *Ve třetí publikaci jste využili nesupervizovanou FlowSOM analýzu k identifikaci jednotlivých subpopulací Treg buněk. Určitou nevýhodou tohoto přístupu je individualizované a ne zcela snadno interpretovatelný vzor populací v jednotlivých experimentech. Nezkoušeli jste další nesupervizované přístupy – např. ShinySOM, který by mohl nabídnout komfortnější interpretační výstup?*
7. *Ve čtvrté publikaci byl využit buněčný model s inaktivací β 2mikroglobulinu. Pro mne překvapivě nebyla narušena exprese CD1d. Je něco známo o expresní a funkční (i s ohledem na to, že jste v práci využili α -GalCer) nezávislosti této molekuly na β 2m?*

Na závěr bych chtěl konstatovat, že předložená dizertační práce **CHECKPOINT BLOCKAGE IN CANCER IMMUNOTHERAPY** je kvalitní a splňuje požadavky kladené na kvalifikační práce Oborové rady imunologie na Univerzitě Karlově, Přírodovědecké fakultě. Doporučuji ji k obhajobě a kladnému hodnocení.

v Praze 31.8.2021

prof. RNDr. Jan Černý, Ph.D.