

POSUDEK NA DISERTAČNÍ PRÁCI MGR. KATEŘINY VÁVROVÉ

Oponent: RNDr. Šárka Němečková, DrSc.

Název práce: Adoptivní transfer tumor specifických lymfocytů v imunoterapii nádorových onemocnění.

Téma práce vychází z nejnovějších výsledků současné imuno-onkologie, jež umožnily celosvětový nárůst úspěšných aplikací buněčné, protilátkové imunoterapie a protinádorových vakcín onkologickým pacientům. Autorka pracovala ve skupině věnující se dlouhodobě imunoterapii nádoru prostaty -PCa i dalších nádorů na ústavu imunologie 2.LF UK pod vedením prof. J. Bartůňkové.

Konkrétní cíle autorky zahrnují:

- vývoj postupu výroby autologních T buněk pro terapii PCa z periferní krve zdravých dárců
- optimalizaci výroby nádorově specifických T buněk z pacientů s PCa
- analýzu průběhu léčby pacientů s PCa pomocí preparátu DCVAC/PCa

Předložená práce je v kumulativním formátu a splňuje všechny formální požadavky včetně jazykové úrovně. Rozsah práce je 69 stran. Obsah kapitol literárního úvodu je vzhledem k tématu dobře zvolen. Zpracování kapitol však nemá stejnou úroveň. První část - kapitoly 1.1., 1.2. obsahuje stručný popis všech složek imunity s protinádorovou aktivitou, včetně specifických konceptů imunoeditace a je kvalitně zpracována. Dobře napsány jsou i kapitoly 3. o dendritických buňkách a 4. o imunoterapii pomocí adoptivního transferu T lymfocytů. Naopak některé části např. kapitola 1.3. o úniku nádorů imunitě a poslední část věnovaná imunoterapii karcinomu prostaty jsou stručné natolik, že zde chybí základní citace a důležité informace. V kapitole 5 nejsou probrány imunologické parametry PCa, jeho únikové mechanismy a chybí ucelený aktuální přehled imunoterapeutických přístupů. Kapitola 5.2. obsahuje pouze 4 citace. Např. důležitá vakcína Sipuleucel-T je dokumentována jedinou citací z roku 2010, přestože o ní od té doby bylo publikováno podle Pubmedu více než 600 článků. Mezi jinými také další výsledek klinické studie 3. fáze.

Po úvodu následuje kapitola výsledků, které jsou obsaženy ve třech odborných pracích publikovaných v časopisech s IF. Ke každé publikaci je přiložen souhrn obsahující výstižnou definici výzkumných otázek, stručný popis řešení a hlavní výsledky. Podle názvu by v souhrnu měla být i diskuze k jednotlivým tématům. Ve skutečnosti nejde o odbornou diskusi v pravém slova smyslu, neboť data nejsou uváděna do souvislosti s výsledky jiných autorů - není obsažena ani jedna citace. Diskuze je pochopitelně součástí přiložených publikací. První dvě publikace disertace zcela souvisejí s deklarovaným tématem - tedy adoptivním transferem T buněk pro imunoterapii. V případě třetí publikace, kde nešlo o adoptivní přenos T buněk, ale dendritických buněk je souvislost vzdálenější. Metodicky se však témata prolínají, neboť ve všech publikacích jde o navození nádorově specifické T buněčné odpovědi a studium jejích parametrů obdobnými metodami. Výsledky k prvnímu tématu jsou detailně popsány a vysvětleny. Tato část představuje ucelený proces vývoje nové metody přípravy velkého množství protinádorových T buněk, využitelných pro adoptivní transfer. Vlastnosti T buněk v průběhu postupu jsou detailně monitorovány pomocí funkčních testů i fenotypizace. Postup je originální a výsledky svědčí o tom, že je použitelný jako podklad pro výrobu terapeutických antigen specifických T buněk. Z popisu i z vysvětlení vyplývá, že disertantka měla v tomto projektu zásadní podíl. Ke druhému tématu je popis výsledku mnohem stručnější a svým rozsahem odpovídá abstraktu publikace. Není z něj zřejmý příspěvek disertantky. Velmi stručný je i souhrn ke třetímu tématu. Jsou zde popsány terapeutické charakteristiky vakcíny a klinické odpovědi pacientů, které nebyly cílem práce disertantky. V projektu testovala patientská séra a specifickou buněčnou imunitu pacientů, což popsala a zhodnotila pouze na sedmi řádcích. Disertační práci uzavírá souhrn, který obsahuje řadu autorčinných úvah. Autorka se zde zamýšlí nad dalšími možnostmi využití imunoterapie v kombinaci s jinými terapeutickými modalitami.

Připomínky oponenta:

V literárním úvodu je řada nepřesností, např.:

Str. 28 - prime boost strategie u PROSTVAC-jde o kombinaci dvou poxvirových vektorů a nikoliv DNA.

Str. 34 - citace 105 a 106 nešlo o expandované specifické T buňky, ale o DLI (donor lymphocyte infusion).

St r. 35 - makrofágy a B lymfocyty nejsou profesionální APC a neumějí primovat naivní T buňky
Str. 46 - citace 160 je review, která cituje starší práce. V současnosti byly popsány PDL1 pozitivní formy u PCa rezistentních na enzalutamid (Graff), které odpovídají na antiPD1 léčbu.
Str. 47 - K výsledku studie s vakcínou Sipuleucel-T: Pravděpodobné přežití se zvýšilo na 25.8 měsíců, tzn. o 4,1 měsíce oproti placebu a nikoliv o 36 měsíců.
Str. 55 - Ve třetí publikaci stanovení odpovědi proti antigenu NY-ESO1 vůbec není uvedeno.

Otázky oponenta:

- 1) V první publikaci jste našli specifickou odpověď IFN γ proti PSA již u čerstvých CD8+T buněk. Prováděli jste předvýběr dárců? Jaké bylo pohlaví dárců?
- 2) V první publikaci jste našli cytotoxickou aktivitu expandovaných buněk proti linii SKOV-3 i přes neshodu v HLA. Čím by se to dalo vysvětlit?
- 3) V druhé publikaci jste zvolili pro detekci odpovědi T buněk stanovení degranulačního markeru CD107a, přičemž jste testovali odpověď CD4 i CD8 buněk. Mohly by cytotoxické CD4+ T buňky, které jste zachytili mít efekt proti PCa?
- 4) Ve třetí publikaci jste u části pacientů před vakcinací našli IFN γ odpověď T buněk na nádorové antigeny. Máte informace, jestli tito pacienti jsou pozitivní také na odpověď stanovenou pomocí CD107a? Stanovali jste u některých těchto pacientů současně více funkcí (IFN+IL2+107a)?
- 5) Jaká byla Vaše role při sepisování jednotlivých publikací?

Návrh hodnocení oponenta:

Předložená práce splňuje požadavky kladené na disertační práci. Zvolené téma je náročné a přístupy k jeho řešení jsou originální. Zadané cíle byly splněny. Práce má menší nedostatky v literárním úvodu a v komentáři k druhé a třetí publikaci. Přesto, zejména díky třem kvalitním publikacím ji doporučuji přijmout jako podklad pro udělení titulu PhD.

V Praze 5.8.2020

Šárka Němečková