

---

*V Praze dne 20. 8. 2020*

**Oponentský posudek na dizertační práci Mgr. Kateřiny Vávrové „Adoptivní transfer tumor-specifických lymfocytů v imunoterapii nádorových onemocnění“**

Dizertační práce Mgr. Vávrové se věnuje možnostem imunoterapie karcinomu prostaty s důrazem na adoptivní T buněčný transfer, optimalizaci této modality a užití v kombinované terapii. Práce je do značné míry metodická a zaměřená na preklinický výzkum. Základem dizertační práce jsou tři příložené publikace, z nichž dvě jsou věnovány optimalizaci přípravy populace tumor specifických T lymfocytů pro adoptivní transfer (u jedné z nich je Mgr. Vávrová prvním autorem). Tyto dvě publikace jsou doplněny prací, která prezentuje výsledky klinické studie, která měla za cíl ověřit bezpečnost, imunogenicitu a efektivitu buněčné vakcíny na bázi dendritických buněk (DCVAC/PCa). Řešené problematiky jsou součástí dlouhodobého výzkumného programu pracoviště kandidátky.

Součástí práce je teoretická část, ve které je podán nejprve obecný přehled o základních mechanismech a složkách protinádorové imunity. Na něj navazuje část, která představuje vlastní literární úvod k experimentální části. Největší pozornost, v souladu s experimentální částí, byla věnována problematice imunoterapie nádorů za využití adoptivního přenosu T buněk a dendritických buněk. V souladu se zaměřením práce zde byla poskytnuta informace o experimentálních přípravcích, které jsou klinicky testovány. Samostatná kapitola je věnována obecnému přehledu o nádorech prostaty a jejich terapii s důrazem na imunoterapii. Mgr. Vávrová zde prokázala přehled v oboru a orientaci v literatuře. Snad jen obecná část o protinádorové imunitě mohla být o něco méně obsáhlá a mohly být ještě stručně zmíněny možnosti kombinace imunoterapie s dalšími protinádorovými modalitami, jako jsou chemo- a radioterapie.

Cíle práce jsou jasně formulovány a odpovídají jednotlivým publikacím. V části, ve které jsou prezentována experimentální data, jsou vložené publikace uvedeny stručným souhrnem a výsledky práce jsou sumarizovány v závěrečném Souhrnu, ve kterém je také uvedeno, jak se kandidátka podílela na jednotlivých studiích.

Experimentální část práce spojuje základní a aplikovaný výzkum s vypracováním experimentálního protokolu s potenciálem pro vývoj kombinované terapie autologní buněčnou

---

vakcínou a adoptivním transferem T buněk. Hlavním přínosem první části experimentální práce je vytvoření funkčního protokolu pro přípravu autologních specifických T lymfocytů pro adoptivní transfer pacientům s karcinomem prostaty z neadherentní frakce PBMC a za využití antigen prezentujících a aktivačních schopností dendritických buněk, připravených ze stejného jedince. To do budoucna ukazuje možnost kombinované imunoterapie pomocí terapeutické buněčné vakcíny a následného adoptivního přenosu autologních T lymfocytů s tím, že dochází ke komplexnějšímu využití materiálu odebraného od pacienta (neadherentní frakce) pro terapii. Získané produkty byly pečlivě charakterizovány. Specifická aktivovaných lymfocytů byla prokázána tím, že byly schopny lyzovat buňky linie LNCaP a nikoliv kontrolních SKOV-3, linie ovariálního karcinomu. Zajímavé bylo ještě otestování dalších citlivosti dalších linií. V další části práci byly *ex vivo* obohaceny populace specifických lymfocytů proti PSA, MAGE-A1 a MAGE-A4 z neadherentních PBMC z pacientů ve stadiu biochemického relapsu nebo metastatického hormon refrakterního karcinomu prostaty pomocí směsí peptidů. Otázkou je schopnost získaných preparátů lyzovat cílové buňky. Tyto dvě práce byly doplněny výsledky klinické studie fáze I/II, kdy byla otestována a předběžně prokázána účinnost vakcíny DCVAC/PCa u pacientů s karcinomem prostaty ve fázi biochemického relapsu. Výsledky tak zatím potvrzují atraktivní hypotézu, že onemocnění ve stadiu biochemického relapsu by mělo být vhodné k uplatnění imunoterapeutických přístupů.

Z formálního hlediska je česky psaná práce dobře členěná i napsaná, bez formálních chyb a překlepů, má odpovídající úvod a přiložené publikace jsou dostatečně komentovány a prezentovány v logických souvislostech.

Závěrem lze říci, že Mgr. Kateřina Vávrová prokázala schopnost samostatné vědecké práce v rámci ambiciózního projektu, získala prioritní výsledky, které mají i praktický význam pro vývoj a optimalizaci imunoterapie adoptivním přenosem T buněk a které publikovala jako první autor v jedné kvalitní publikaci a jako spoluautor ve dvou dalších. Doporučuji proto, aby práce byla přijata jako podklad pro udělení titulu PhD.

#### **Dotazy k diskusi:**

1. Testovali jste, případně můžete na základě dalších experimentů komentovat specifický cytotoxický efekt populace T buněk primovaných vakcínou DCVAC/LNCaP na další linie, nejenom LNCaP?

2. Podobně ve druhé studii, testovali jste nebo budete testovat schopnost peptidy primované expandované T buňky lyzovat nádorové buňky?
3. Jaká je možnost, že prezentované vypracované protokoly budou klinicky testovány, a který z nich (aktivace dendritickými buňkami nebo peptidy) by byla pravděpodobněji využita?
4. V klinické studii byl prokázán terapeutický efekt DCVAC/LNCaP ve smyslu prodloužení PSADT, ale nebyl zjištěn imunologický parametr, který by koreloval s PSADT. Můžete to podrobněji komentovat, může to být případně dáno heterogenitou individuálních imunitní odpovědí a z toho vyplývající nutností větší studie pro získání statisticky signifikantních korelací?

RNDr. Milan Reiniš, CSc.

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

---