

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Adoptivní buněčná terapie v léčbě nádorů  
Bakalářská práce

2024

Lucie Kubelková

University of Pardubice  
Faculty of Chemical Technology

Adoptive cell therapy in the treatment of tumours  
Bachelor Thesis

2024

Lucie Kubelková

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2023/2024

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Lucie Kubelková**  
Osobní číslo: **C20232**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Téma práce: **Adoptivní buněčná terapie v léčbě nádorů**  
Téma práce anglicky: **Adoptive Cell Therapy in the Treatment of Tumours**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

## Zásady pro vypracování

Vypracujte rešerši z odborné literatury zaměřenou na adoptivní buněčnou terapii. Užší zaměření bude terapie pro nádorová onemocnění (např. leukémie). Do rešerše zahrňte popis protinádorových mechanismů imunitního systému.

Recentní literatura dostupná v databázi WoS, MEDLINE, Science direct; odborné knihy.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucí bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Mgr. Marcela Slovákova, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **22. prosince 2023**

Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

**prof. Ing. Petr Němec, Ph.D.** v.r.  
děkan

L.S.

**doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.** v.r.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 29. února 2024

Prohlašuji:

Práci s názvem Adoptivní buněčná terapie v léčbě nádorů jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 14. 04. 2024

Lucie Kubelková v.r.

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych poděkovala vedoucí bakalářské práce doc. Mgr. Marcele Slovákové, Ph.D. za poskytnuté cenné rady, odborné vedení a trpělivost během psaní této bakalářské práce. Další poděkování patří mému příteli za psychickou podporu během celého studia.

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce se zaměřuje na adoptivní buněčnou terapii, její druhy s využitím buněk imunitního systému, jako jsou především T-lymfocyty a přirození zabíječi, principy a využití v léčbě nádorových onemocnění. Věnuje se charakteristice jednotlivých typů terapie, a nádorovým onemocněním, u kterých mají dobré výsledky. Práce je doplněná o vedlejší účinky, které jednotlivé terapie mohou způsobovat.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

adoptivní buněčná terapie, nádory, imunoterapie, T-lymfocyty, protinádorové mechanismy

## **TITLE**

Adoptive cell therapy in the treatment of tumours

## **ANNOTATION**

This bachelor thesis focuses on adoptive cell therapy, its types using cells of the immune system, such as mainly T-lymphocytes and natural killer cells, principles and use in the treatment of cancer. It discusses the characteristics of each type of therapy and the cancers for which they have good results. The work is supplemented with side effects that each therapy may cause.

## **KEYWORDS**

adoptive cell therapy, tumours, immunotherapy, T-lymphocytes, antitumours mechanisms

# OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ .....	10
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK .....	11
ÚVOD .....	13
1. IMUNITNÍ SYSTÉM.....	14
1.1. Nespecifické mechanismy.....	14
1.2. Specifické mechanismy.....	14
2. PROTINÁDOROVÁ ROLE IMUNITNÍHO SYSTÉMU .....	18
2.1. Nádorové antigeny .....	20
2.2. Makrofágy a další antigen prezentující buňky .....	20
2.3. Přirození zabíječi.....	21
2.4. Protilátky .....	22
2.5. Tc lymfocyty .....	22
3. ADOPTIVNÍ BUNĚČNÁ TERAPIE.....	24
3.1. Historie a vývoj protinádorové terapie.....	24
4. VÝVOJ A MECHANISMY ADOPTIVNÍ BUNĚČNÉ TERAPIE .....	26
4.1. Buněčná terapie pomocí tumor infiltrujících lymfocytů.....	28
4.2. Buněčná terapie pomocí upravených receptorů T-lymfocytů .....	29
4.3. Buněčná terapie pomocí chimérických antigenních receptorů .....	30
4.4. Buněčná terapie pomocí buněk aktivovaných lymfokiny .....	31
4.5. Buněčná terapie pomocí zabíječů indukovaných cytokiny .....	32
5. VEDLEJŠÍ ÚČINKY A TOXICITA ADOPTIVNÍ BUNĚČNÉ TERAPIE .....	33
6. PŘÍKLADY ADOPTIVNÍ BUNĚČNÉ TERAPIE .....	34
Akutní myeloidní leukémie.....	34
T-lymfocytární akutní lymfoblastická leukémie .....	35
Non-Hodgkinův lymfom.....	36



Mnohočetný myelom .....	37
Melanom .....	38
Sarkom .....	39
Neuroblastom .....	39
Glioblastom .....	40
Epiteliální karcinom vaječníku .....	40
Virová onemocnění .....	41
Autoimunitní onemocnění.....	42
ZÁVĚR .....	44
POUŽITÉ ZDROJE.....	45

## SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1: Nádorové mikroprostředí složené z buněčných a nebuněčných složek, které podporují růst nádoru.....	19
Obrázek 2: Proces adoptivní T-buněčné imunoterapie. ....	27

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

- ACT – adoptivní buněčná terapie
- aeTSA – aberantně exprimované antigeny specifické pro nádory
- AFP – alfa-fetoprotein
- ALL – akutní lymfoblastická leukémie
- AML – akutní myeloidní leukémie
- APC – antigen prezentující buňka
- BCMA – antigen zrání B-lymfocytů
- BCR – buněčný receptor B-lymfocytů
- CAR – chimérický antigenní receptor
- CEA – karcinoembryonální antigen
- CIK – přirozený zabíječ aktivovaný cytokinem
- DAMP – molekulární vzory související s poškozením
- DC – dendritické buňky
- DLI – infuze dárcovských lymfocytů
- EGFRvIII – varianta III receptoru pro epidermální růstový faktor
- EOC – epiteliální karcinom vaječníku
- Fcγ – Fc gamma receptor
- GD2 – disialoganliosid
- gp100 – glykoprotein 100
- GvT – štěp proti nádoru
- HER2 – receptor, specializovaný protein, lidský antigen
- HLA – lidský leukocytární antigen
- HLA-B, C – produkty HLA systému I. třídy
- HSCT – transplantace krve tvorné kmenové buňky
- IFN – interferon
- IL-2 – interleukin 2
- ITAM – aktivační motiv imunoreceptorů založený na tyrosinu
- KIR – imunoglobulinový inhibiční receptor
- LAK – přirozený zabíječ aktivovaný lymfokinem
- MAGE-A3 – antigen spojený s melanomem rozpoznávaný T-lymfocyty
- MART-1 – antigen spojený s melanomem rozpoznávaný T-lymfocyty
- MHC – hlavní histokompatibilní komplex

MIC-A – stresem indukovaný ligand na AML buňkách

miHA – menší histokompatibilní antigeny

MM – mnohočetný myelom

NB – neuroblastom

NK – přirozený zabíječ

NKG2D-L – aktivační receptor NK buněk

PAMP – molekulární vzory související s patogeny

PD-1 – receptor programované buněčné smrti

PSA – prostatický specifický antigen

scFv – jednořetězcový variabilní fragment

TAA – antigeny asociované s nádory

T-ALL – T-lymfocytární akutní lymfoblastická leukémie

TAM – makrofágy asociované s nádorem

TAN – neutrofilý asociované s nádorem

Tc – cytotoxický T-lymfocyt

TCR – T-buněčný receptor

TIL – nádor infiltruující lymfocyty

TIM-3 – inhibiční molekula u CD8<sup>+</sup> T-buněk

TNF- $\alpha$  – faktor nekrotizující nádory – alfa

TSA – antigeny specifické pro nádory

## ÚVOD

Nádorová onemocnění jsou v současné době jedním z hlavních zdravotních problémů a představují výzvu pro medicínskou vědu a klinickou praxi. Nádorová onemocnění postihují miliony lidí po celém světě. Navzdory pokroku v diagnostice a léčbě rakoviny zůstává úmrtnost vysoká. Tradiční léčebné metody, kterými jsou chirurgie, chemoterapie a radioterapie, jsou spojeny s řadou nežádoucích účinků, a ne vždy vedou k úplnému vyléčení. V posledních desetiletích však byly objeveny a vyvíjeny nové strategie léčby, které se zaměřují na využití imunitního systému k boji proti nádorovým onemocněním. Imunitní systém je potenciálně schopen rozeznat a eliminovat nádorové buňky, což otevírá dveře pro nové terapeutické přístupy.

Jednou z těchto strategií, využívající imunitní systém, je adoptivní buněčná terapie, která nabízí nové možnosti v léčbě nádorů. Adoptivní buněčná terapie je moderním konceptem personalizované medicíny a je nadějí pro pacienty především s nádorovými onemocněními. Terapie využívá vlastní buňky a mechanismy imunitního systému pacienta k cílenému boji proti rakovinným buňkám. Zaměřuje se na izolaci, expanzi a případnou genetickou modifikaci specifických populací imunitních buněk pacienta, a jejich následné infuzi zpět pacientovi. Jde například o cytotoxické T-lymfocyty a přirozené zabíječe (NK, které mají schopnost rozpoznávat a likvidovat nádorové buňky). Hlavním principem adoptivní buněčné terapie je zvýšit protinádorovou imunitní odpověď a dosáhnout tak regrese nádoru. CAR T-buněčná terapie využívá pacientovy T-lymfocyty, které rozpoznávají nádorové buňky. TIL terapie využívá T-lymfocyty, které jsou izolované z nádoru pacienta, expandovány a následně aplikovány zpět pacientovi. NK terapie využívá NK buňky, které jsou schopny rozeznat a ničit nádorové buňky. TCR terapie zahrnuje genetickou úpravu T-lymfocytů k expresi specifických T-buněčných receptorů.

Tato bakalářská práce uvádí mechanismy, které využívají imunitní systém v boji proti nádorovým buňkám a shrnutí aktuálních možností adoptivní buněčné terapie. Práce se zaměřuje na principy účinků terapie, a léčbu různých typů nádorových onemocnění. Mimoto shrnuje možnosti využití a výsledky u dalších typů onemocnění. V závěru bakalářské práce jsou uvedené možné vedlejší účinky adoptivní buněčné terapie, které s sebou nese, především toxicitu. Součástí práce jsou příklady aplikace adoptivní buněčné terapie na nádorová onemocnění a další.

Cílem této bakalářské práce je poskytnout a vyhodnotit její potenciál jako nový terapeutický přístup v boji proti malignitám.

# 1. Imunitní systém

## 1.1. Nespecifické mechanismy

Nespecifická, jinak také vrozená či přirozená, imunita je vrozená schopnost našeho organismu rychle reagovat na cizorodé mikroorganismy a materiály, které se dostanou do našeho organismu [1]. Z pohledu evoluce je vrozená imunita starší a jednodušší než imunita specifická, přesto jsou spolu vzájemně propojeny a bez jedné nefunguje druhá [2]. Není závislá na předchozím setkání s antigenem, a nevytváří imunologickou paměť [1].

Základem nespecifické imunity je systém detekce patogenů, který je založen na rozpoznávání řady molekulárních vzorů asociovaných s patogeny neboli PAMP. Tento systém zahrnuje buněčné složky jako fagocytující buňky (makrofágy), antigen prezentující buňky (dendritické buňky) a přirozené zabíječe [3], a identifikuje charakteristické složky mikrobiálních buněk [2], jako jsou bakteriální exotoxiny a endotoxiny, mykotoxiny [4]. Receptory pro patogeny rozeznávající receptor (PRR), které jsou vylučované, nebo se nacházejí na povrchu buňky, nebo i intracelulárně, rozpoznávají PAMPs a podporují tak procesy jako rozpoznávání, fagocytózu a eliminaci usmrcením mnoha mikrobů i humorálními mechanismy – komplementovými interferonovými proteiny aj. [5]. Kromě PAMPs dokáže imunitní systém rozpoznat i DAMPs, což jsou normální součásti buněk uvolněné při poškození a při buněčné smrti, známé také jako molekulární vzory spojené s poškozením [6].

## 1.2. Specifické mechanismy

Specifická (získaná, adaptivní) imunita je opačnou charakteristikou imunity vrozené. Je zaměřená cíleně proti specifickému antigenu [7]. Antigenem je molekula, která má schopnost vyvolat adaptivní imunitní odpověď. Antigenní determinanta je konkrétní část nebo struktura antigenu, která je rozpoznávána receptory imunitního systému [1]. Přirozený antigen může mít více antigenních determinant. Do adaptivní imunitní reakce je zahrnuta interakce antigenu s antigen-specifickými receptory na lymfocytech T a B, nebo interakci s antigen-specifickými protilátkami (imunoglobuliny). Na rozvoji specifické imunitní reakce se podílí interakce řady buněk a molekul, a vznikají jednak specifické, proti antigenu zaměřené protilátky tzv. humorální imunita, jednak dochází ke specifické aktivaci imunitních buněk, tzv. buněčná imunita. K aktivaci této imunity je zapotřebí delší časový úsek v rozmezí dní až týdnů, který je závislý na počtu setkání s patogenem. Vzniká při ní imunologická paměť, která se v praxi užívá k aktivní imunizaci [8].

Lymfocyty, rozdělené na B-lymfocyty a T-lymfocyty, jsou skupinou bílých krvinek [8]. Ovlivňují imunitní reakce, zajišťují specifickou odpověď, a také mají hlavní roli v odmítnutí transplantované tkáně. Na povrchu T-lymfocytů se nachází T-buněčný receptor (TCR), který pomáhá k odlišování antigenů, na rozdíl od rozpoznání B-lymfocytů a NK [9]. T-lymfocyty se rozdělují dle své role v imunitní reakci. První skupinou T-lymfocytů jsou regulační T-lymfocyty, které mají za úkol tlumit průběh imunitní reakce, a zároveň se uplatňují v regulaci imunitní tolerance. Druhá skupina cytotoxických T-lymfocytů na svém povrchu exprimuje glykoprotein CD8 [10]. Její funkce je likvidace buněk starých, poškozených nebo infikovaných virem [8, 11]. Kromě těchto ničí také buňky nádorové [12]. U poškozených či cizorodých buněk vyvolávají jejich lýzu a produkují antivirové cytokiny [13]. Třetí skupina T-lymfocytů pomocných se podílí na antigen-specifické diferenciaci B-lymfocytů, a zároveň ovlivňují průběh imunitní reakce [8]. Pomocné T-lymfocyty na svém povrchu exprimují glykoprotein CD4 [10]. Poskytují signály, které pomáhají B-lymfocytům v dozrání na plazmatické buňky a na buňky paměťové [14]. Peptidové komplexy MHC-II se skládají z peptidů odvozených od patogenu, které stimulují CD4 T-lymfocyty, komplexy MHC-I CD8 T-lymfocyty [15].

Antigenně specifické receptory T-lymfocytů TCR rozpoznávají epitopy tvořené malými cizorodými peptidovými fragmenty, které jsou prezentovány glykoproteinem z hlavního histokompatibilního komplexu (MHC) [14]. Molekuly MHC-II na antigen prezentujících buňkách dodávají peptidy odvozené od vlastních i cizích antigenů k receptorům T-buněk, čímž vyvolávají antigenně specifický signál, který je nutný pro aktivaci T-lymfocytů. Imunitní kontrolní body – proteiny vázané na membránu T-buněk, pomáhají po aktivaci T-lymfocytů modulovat funkci T-lymfocytů a působí jako silné regulátory adaptivní imunity v různých kontextech. Využití imunitních kontrolních bodů pro léčbu různých forem rakoviny znamenalo změnu paradigmatu v onkologii [16]. V roce 2018 dostali Nobelovu cenu za medicínu Američan J. P. Allison a Japonec T. Honjo za pochopení, že imunitní systém lze stimulovat k útoku na rakovinné buňky [17].

Lidský hlavní histokompatibilní komplex se nachází na krátkém raménku chromozomu 6. Tato oblast obsahuje malou část všech lidských genů, přesto je intenzivně studována kvůli své klíčové roli v imunitní odpovědi a potřebě shody genů pro lidské leukocytární antigeny – HLA mezi dárce a příjemcem při alogenních transplantacích [18]. Proteiny MHC I. třídy se u lidí označují jako HLA-I a dělí se na klasické a neklasické. Klasické molekuly HLA-I HLA-A, HLA-B a HLA-C prezentují buněčné antigeny T-lymfocytům a jsou nezbytné pro imunoterapii rakoviny. Ztráta funkce HLA-I je pro nádory

důležitým únikovým mechanismem. Skládají se z vysoce polymorfního alfa-těžkého řetězce kódovaného geny HLA-A, HLA-B a HLA-C a  $\beta$ -2-mikroglobulinu. Neklasické molekuly HLA-I jsou HLA-E, HLA-F a HLA-G a mají imunopresivní funkci [19]. Proteiny lidských leukocytárních antigenů II. třídy – HLA-II jsou glykoproteiny, které jsou exprimovány na APC, kde prezentují peptidy CD4 T-lymfocytům. Geny HLA-II jsou polymorfní, představují různé peptidy [20]. Molekuly MHC-I prezentují výhradně peptidy pocházejících z intracelulárního katabolismu vlastních proteinů buňky. Některé antigen prezentující buňky, například dendritické buňky, jsou však schopny prezentovat na svých molekulách MHC-I nejen peptidy z vlastních proteinů, ale také peptidy pocházející z exogenních (extracelulárních) zdrojů, a to procesem nazývaného zkřížená prezentace. Dendritické buňky jsou schopny shromažďovat antigeny z jiných buněk, včetně těch rakovinných, a jsou schopny hlásit je CD8 T-lymfocytům. Nejvíce účinným mechanismem na dodávání antigenů je fagocytóza. Další buňky jako makrofágy, neutrofilů umí také prezentovat antigen [21].

Kostimulační nebo koinhibiční dvojice receptor/ligand, které se nacházejí na plazmatické membráně obou buněk mohou rovněž modulovat aktivaci T-lymfocytů. Z toho vyplývá, že aktivace závisí na úzké interakci mezi oběma plazmatickými membránami. Při interakci T-lymfocytů s APC bylo dokázáno, že podléhají tahovým, tlakovým a střížným silám v důsledku vzájemné buněčné motility, kontinuálního spontánního pohybu plazmatické membrány a cytoskeletální přestavby. TCR je mechanosenzor, který je schopen převést mechanické síly působící při vazbě TCR na peptid-MHC komplexy na biochemický signál. Komplexy receptorů a signálních molekul na povrchu, udržované ve stavu bazální aktivity, jsou snadno dostupné pro vyvolání signální kaskády [22]. Pro plnou aktivaci je nutná interakce kostimulačního TCR CD28 s ligandem B7, která je přísně regulována inhibičními dvojicemi kontrolních bodů receptor/ligand, aby se zabránilo vedlejším poškozením způsobeným autoimunitou [23].

B-lymfocyty produkují protilátky a cytokiny. Další jejich rolí je prezentování antigenu. Na své buněčné membráně mají B buněčné receptory (BCR), které umožňují vázat specifický antigen a iniciovat protilátkovou odpověď [24]. Z B-lymfocytů můžou diferenciací vzniknout plazmatické buňky – plazmocyty, produkující imunoglobuliny, tedy protilátky [8]. Na povrchu všech zralých B-lymfocytů je jedinečně a vysoce prezentován CD19 [25].

Protilátky jsou glykoproteiny produkované plazmatickými buňkami. V závislosti na typu mohou neutralizovat toxiny, viry, zvyšovat účinnost fagocytózy a aktivovat některé složky komplementu [8]. Protilátky se vážou na strukturní epitopy na proteinech [13]. Přítomnost antigen-specifických protilátek v krvi jedince nepřímě prokazuje proběhlou



infekci. Průkaz protilátek je podstatou sérologického vyšetření infekcí. Dělí se do pěti tříd s typickou úlohou:

- **IgM** – největší, pentamer, objevuje se během infekce
- **IgG** – dlouho přetrvávající, prochází přes placentu
- **IgA** – slizniční imunita
- **IgE** – alergie
- **IgD** – BCR (antigen-specifický receptor B-lymfocytů) [8].

## 2. Protinádorová role imunitního systému

Studie z posledních let prokázaly zásadní roli imunitního systému nemocných v boji proti nádorovým onemocněním. Složky imunitního systému, jako je perforin a lymfocyty, mohou omezit růst karcinogenem indukovaných a spontánních nádorů. Protinádorová aktivita je zprostředkována buňkami adaptivní imunity, CD8 a CD4 T-lymfocyty, a to způsobem rozpoznání nádorově specifických antigenů prezentovaných na molekulách MHC. Tyto supresorové buněčné mechanismy imunitní reakce omezují vznik určitých typů rakoviny, které nemusí být nikdy klinicky zjištěny [26]. Vzájemné interakce mezi nádorem a imunitním systémem představují důležitou roli dynamického procesu imunoeditace, který podporuje únik před nádorovou imunitou [27].

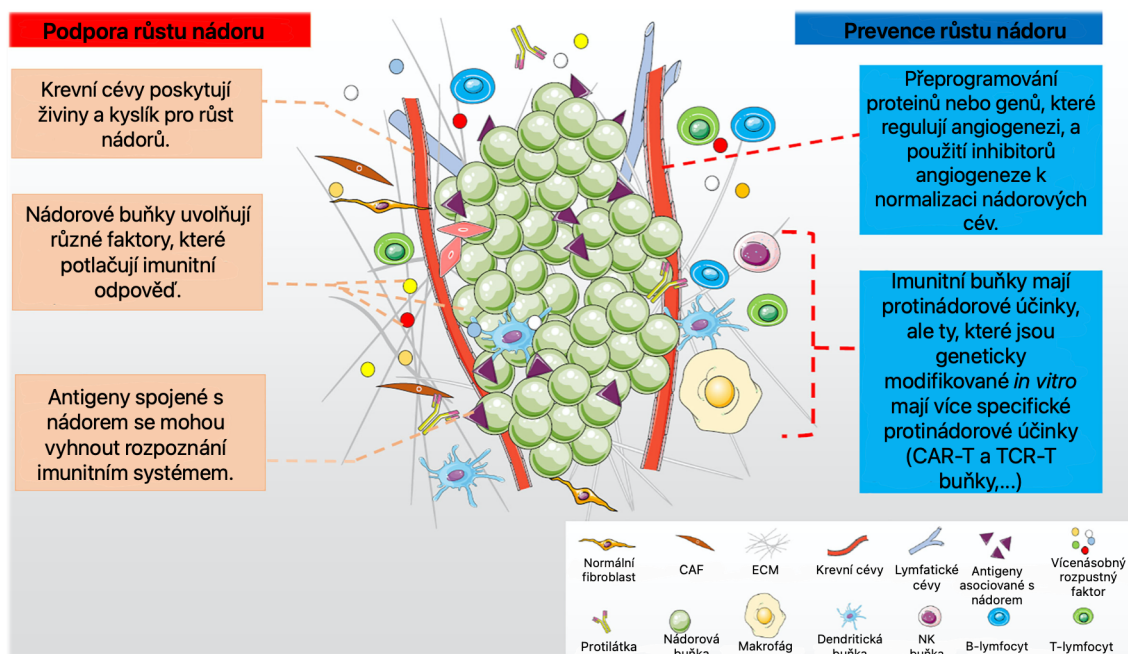
Vývoj rakoviny a její progresse souvisí také s akumulací genetických změn a ztrátou normálních regulačních procesů, které způsobí expresi nádorově specifických antigenů (neoantigenů) a s nádorem asociovaných antigenů (TAA), které aktivují protinádorové imunitní odpovědi. Tyto antigeny mohou také vyvolat eliminaci časných novotvarů. Není zcela známo, který neoantigen vyvolá lepší imunitní odpověď. Časně novotvary ale mohou mít nedostatečné množství mutací, tudíž je T-lymfocyty nedokážou rozpoznat. Nádory s vyšším počtem mutací mohou využívat různé únikové mechanismy, aby se vyhnuly imunitnímu systému a rozpoznání systémem [6]. Do únikových mechanismů nádorů před imunitní odpovědí patří vyvolání anergie (nereaktivita) u T-lymfocytů, uvolňování imunosupresivních cytokinů a lokálních mediátorů ke změně prostředí nádoru. Toto vyhýbání imunitnímu systému je hlavní strategií při cílení na modulátory kontrolních bodů imunitního systému v imunoterapii [28].

Důležitou součástí imunitního systému jsou imunitní kontrolní body, které fungují jako negativní regulátory imunitního systému. Slouží k sebeobraně imunitního systému, udržují autotoleranci, prevenci autoimunity a chrání tkáň před vedlejším imunitním poškozením. Aby nedocházelo k nepřetržité aktivaci imunitně-zánětlivé odpovědi, dochází k aktivaci několika kontrolních bodů, ihned po stimulaci odpovědi cizorodými nebo nádorovými antigeny. Kontrolní body jsou součástí imunologických synapsí. Synapse jsou tvořeny interakcemi mezi TCR a antigenním peptidem na cílové buňce v MHC, CD4 (nebo CD8), kostimulačními signály zprostředkovanými molekulami, jako je CD28 na T-lymfocytu a CD80/86 na buňce cílové, a různými adhezními molekulami. Imunologické synapse regulují funkci T-lymfocytů [28].

Časné novotvary s nedostatečným množstvím mutací, nedokáží T-lymfocyty rozpoznat. Nádory s vyšším počtem mutací mohou využívat různé únikové mechanismy, aby se vyhnuly imunitnímu systému a rozpoznání systémem [6]. Do únikových mechanismů nádorů před imunitní odpovědí patří vyvolání anergie (nereaktivita) u T-lymfocytů, uvolňování imunosupresivních cytokinů a lokálních mediátorů ke změně prostředí nádoru [28].

Nádorové mikroprostředí reprezentuje komplexní prostředí ovlivňující přežití a vývoj nádorových buněk, skládající se z buněčných a nebuněčných složek (Obr. 1). Do buněčné složky patří nádorové buňky, buňky zánětlivé, imunitní, endotelové buňky a fibroblasty spojené s nádorem [29]. Nejvíce zastoupené jsou zde buňky myeloidní řady, makrofágy a neutrofily [6]. Do složky nebuněčné patří cytokiny a chemokiny [29].

Aby mohly imunitní buňky plnit správně svou funkci, musí přijít do kontaktu s jinými buňkami. To je zprostředkováno migrací mezi orgány. Tato klíčová schopnost imunitních buněk je řízena souborem vylučovaných molekul zvaných chemokiny. Chemokiny jsou chemotaktické cytokiny. Určitá podskupina imunitních buněk má určitý odlišný vzorec exprese chemokinových receptorů, díky čemuž reagují na chemokiny odlišně a migrují dle speciálních potřeb každého prostředí [30].



**Obrázek 1:** Nádorové mikroprostředí složené z buněčných a nebuněčných složek, které podporují růst nádoru [29].

## 2.1. Nádorové antigeny

Nádorové antigeny se dělí podle své distribuce na nádorově specifické antigeny a nádorově asociované antigeny. Unikátní nádorové antigeny jsou ty, jejichž exprese je typická pro pacienta. Sdílené antigeny jsou přítomné v různých vzorcích stejného histologického podtypu malignity a na různých typech nádorů, ale ne ve fyziologických tkáních, s výjimkou varlat a placenty [31].

Antigeny asociované s nádorem – TAA jsou ve velkém množství na nádorových buňkách, ale přesto jsou přítomny i na zdravých normálních buňkách. Přítomnost i na zdravých buňkách způsobuje centrální toleranci imunitním systémem vůči buňkám nádorovým [32]. TAA nejsou specifické pro nádor [33].

Antigeny specifické pro nádory – TSA se rozdělují do dvou skupin. První skupinou jsou mutované TSA, které vznikají z mutovaných sekvencí DNA, které mohou být exonové nebo neexonové. Druhá skupina aeTSA vzniká aberantní expresí transkriptů, které nejsou exprimovány v žádné normální somatické buňce [34]. TSA jsou exprimovány pouze nádorem [35].

Další zvláštní skupinou nádorových antigenů jsou antigeny nádorové linie, které stojí na pomezí mezi TAA a aeTSA. Tyto antigeny jsou kódovány kanonickými exony, které jsou normálně exprimovány pouze zárodečnými buňkami, jejich aberantní exprese v nádorových buňkách je většinou způsobena epigenetickými změnami [36].

Nádorové antigeny jsou ze své podstaty málo imunogenní, protože obvykle vychází z normálních antigenů, a jsou mírně mutované nebo odlišně regulované [37]. První metodou k identifikaci nádorových antigenů je peptidové mapování, které slouží k detailní analýze struktury a identifikaci peptidů. Peptidové mapování je sice velmi úspěšné, ale pozitivní výsledky přineslo pouze při identifikaci menších histokompatibilních antigenů (miHA) prezentovaných na HLA I. třídy. Další dvě metody, které se používají k identifikaci nádorových antigenů, se nazývají dopředná a reverzní imunologie [38].

## 2.2. Makrofágy a další antigen prezentující buňky

Makrofágy jsou buňky vznikající z krevních monocytů [8]. Makrofágy jsou klíčovými buňkami v procesu odstraňování pozůstatků odumřelých buněk, zdravých i abnormálních. Toto odstraňování se nazývá fagocytóza [39]. Rozpoznání cizorodé částice a následná fagocytóza apoptotických buněk je umožněna obsahem molekuly CD14 a HLA molekuly 2. třídy [40]. Jejich aktivita nekončí pouze na fagocytóze, často spolupracují s opsonizujícími

protilátkami a aktivně ničí abnormální buňky. Tím nejen zajišťují očistění organismu od těchto pozůstatků, ale též hrají roli ve vzniku zánětlivých reakcí. Svou produkcí cytokinů se uplatňují při interakci imunitního systému s nádorem. Makrofágy infiltrují nádory, a iniciováním zánětlivé odpovědi informují imunitní systém, který nádorovou tkáň vnímá jako poškozenou a náchylnou k potřebě pomoci [39]. Tyto makrofágy nazýváme jako makrofágy asociované s nádorem – TAM. Získávají v primárních a metastatických lokalitách protumorigenní vlastnosti a hrají podpůrnou roli ve vývoji a progresi nádoru tím, že stimulují buněčnou proliferaci, přežívání buněk, angiogenezi, invazivní a pohyblivé chování a potlačují odpovědi cytotoxických T-lymfocytů [6]. Tím makrofágy aktivně podporují růst nádoru, zvyšují ale i schopnost nádoru metastazovat. Pacienti s nádory, kde se vyskytuje infiltrace makrofágů, často vykazují horší prognózu. Podobné protektivní účinky mohou mít také podobné buňky makrofágům, tzv. myeloidní tlumivé buňky, které mohou infiltrovat nádory a potlačovat v nich protinádorové imunitní mechanismy [39].

S nádorem mohou být asociované i neutrofilny (TAN). Ty mají protinádorovou funkci, kdy zprostředkovávají ničení nádorových buněk, ale i pronádorovou funkci [6].

Dendritické buňky jsou hlavním typem profesionálních APC, jsou důležitou součástí primingu T-lymfocytů. Vytvoření protektivní protinádorové imunity závisí na zrání dendritických buněk a prezentaci antigenu. Dendritické buňky spolu s makrofágy exprimují molekuly MHC 1. třídy, které prezentují antigeny CD8 T-lymfocytům [6]. DC zachycují a zpracovávají nádorové antigeny, exprimují kostimulační molekuly a vylučují cytokiny k aktivaci adaptivní a vrozené imunitní odpovědi [41].

B-lymfocyty se také nacházejí v mikroprostředí nádoru. V séru pacientů s nádorem bylo velké množství imunoglobulinů. Tyto imunoglobuliny jsou specifické pro více než 2000 antigenů, které jsou často exprimovány nádorovými buňkami. Protilátkami zprostředkované ničení nádorových buněk může být narušeno. Efektorové funkce protilátek, které jsou zprostředkovány pomocí Fcγ, jsou taktéž narušeny během přetrvávajících infekcích, což je účinek, který je přisuzovaný tvorbě imunitních komplexů antigen-protilátka. To naznačuje, že příliš vysoké koncentrace komplexů antigen-protilátka mohou omezit účinnost protilátkové terapie u nádorových onemocnění [6].

### **2.3. Přirození zabíječi**

NK buňky, známé též jako přirození zabíječi, mají schopnost okamžitého ničení buněk nádorových, i buněk virově infikovaných bez předchozí stimulace [39]. NK jsou velké

granulární lymfocyty, a jsou třetím druhem buněk vznikajícího ze stejného lymfoidního progenitoru jako B-lymfocyty a T-lymfocyty [24]. Jejich účinný mechanismus je analogický s tím, jaký využívají cytotoxické T-lymfocyty. Rozpoznávají nádorové buňky především díky nízkému obsahu HLA molekul 1. třídy, které se nacházejí na povrchu buněk [39]. Na svém povrchu mají charakteristické molekuly CD16 a CD56 [40]. Jednou z jejich funkcí je apoptóza buněk, která je zprostředkována cytolytickými granuly [24]. K degranulaci neboli k uvolnění cytoplazmatických cytotoxických granul na nádorovou buňku, dochází zvýšením množství aktivačních receptorů, které poskytují signál pro aktivaci NK buněk. Jejich rychlost a schopnost bezprostřední reakce hrají klíčovou roli v obraně organismu před nádory a infekcemi [39].

NK buňky na svém povrchu exprimují aktivační a inhibiční receptory. Interakce mezi receptory KIR exprimovaných na NK s molekulami MHC I. třídy na cílových buňkách hrají klíčovou roli při modulaci imunitního dohledu NK buněk a cytotoxicity zprostředkované NK buňkami [42].

#### **2.4. Protilátky**

Protilátky mají schopnost vázat se na specifické povrchové antigeny nádorových buněk, čímž se spouští proces opsonizace. Nádorové buňky jsou takto protilátkami označeny pro fagocyty a NK buňky, které následně přispívají k efektivnímu potlačování nádorového růstu. Některé z těchto navázaných protilátek mohou aktivovat klasickou cestu komplementu, a tím posilují další nástroj imunitního systému k ničení nádorových buněk. Samotné navázání protilátek na nádorovou buňku může vyvolat apoptotickou smrt nádorové buňky [39]. Apoptóza je programovaná buněčná smrt, má důležitou roli v regulaci buněk a zajišťuje, že nádorové buňky jsou eliminovány s minimálním negativním vlivem na okolní tkáň [43].

#### **2.5. Tc lymfocyty**

Cytotoxické T-lymfocyty jsou důležitou součástí imunitního systému. Mají schopnost rozeznat abnormální buňky prostřednictvím svých TCR od buněk normálních [39]. Na svém povrchu mají koreceptor CD8 [1]. Mechanismy ničení nádorových buněk Tc lymfocyty jsou závislé na těsném kontaktu s nádorovou buňkou, nebo využitím sekretů. T-lymfocyty identifikují komplex HLA proteinů na antigen-prezentujících buňkách (APC), které předtím pohltily a rozštěpily antigen na peptidové fragmenty. Pohlčené peptidové fragmenty jsou následně vystaveny na povrchu APC v antigenním komplexu s HLA molekulami. Po kontaktu

s antigenním komplexem na povrchu APC začnou prekurzory T-lymfocytů proliferovat a diferencovat se na zralé efektorové Tc lymfocyty. Ty využívají svá cytotoxická granula obsahující perforin k vytvoření pórů v membráně napadené buňky, čímž umožňují proniknutí granulí, které způsobují apoptózu. Tc lymfocyty mohou případně využít povrchový protein Fas–ligand, který se váže na receptor pro apoptózu. Posledním způsobem ničení nádorových buněk je sekrece cytokinů [39].

### 3. Adoptivní buněčná terapie

#### 3.1. Historie a vývoj protinádorové terapie

V roce 1868 se objevil první odborný článek od německého lékaře Busche, s myšlenkou využití imunitního systému k léčbě nádorových onemocnění. Tehdy úmyslně infikoval pacienta s diagnózou sarkomu měkké tkáně (lymfosarkomem) původcem erysipelu. Došlo k rychlému zmenšení nádoru, ale nádor se vytvořil znovu. Původcem erysipelu je bakterie *Streptococcus*, to zjistil později německý lékař Friedrich Fehleisen, kterému se jako prvnímu kultivace streptokoků povedla [44]. Fehleisen popsal pět případů neresektovatelných zhoubných nádorů, které se vyléčily po vystavení erysipelu [45]. Články obou lékařů způsobily další zkoumání odborníky, včetně přírodovědce L. Pasteura a lékaře Roberta Kacha [44]. Doktor William B. Coley publikoval článek, ve kterém popisuje využití infekce erysipelu k léčbě neresektovatelných sarkomů. Injekce s původním erysipelem nevyvolaly trvalou reakci, avšak injekce živé kultury *Streptococcus erysipelatis* způsobila u pacienta pravou erysipelovou infekci. Tato infekce po 10 dnech odezněla, a nádor u pacienta téměř úplně vymizel [45]. Tuto živou kulturu opakovaně aplikoval přímo do nádoru. A jeho další výzkumy ukázaly, že aplikace tepelně ošetřené bakterie byly mnohem bezpečnější než bakterie živé. V roce 1892 bylo zjištěno, že *Serratia marcescens* a její toxiny zvyšují virulenci mikroorganismů. V roce 1907 bylo zjištěno, že toxiny *S. marcescens* mají protinádorový efekt. Coleyho toxiny, což je směs *S. marcescens*, *Staphylococcus aureus* a *Escherichia Coli*, vykazovaly schopnost vyvolat zánět a stimulovat fagocyty s antibakteriální aktivitou, což vedlo k zneškodnění a likvidaci nádorových buněk. I přes úspěchy v léčbě lymfosarkomů, osteosarkomů, melanomů a sarkomů měkkých tkání se Coleyho toxiny přestaly využívat kvůli své rizikovosti [44].

Při pokusech na zvířatech bylo prokázáno, že po odstranění nádorů, které byly vyvolány vnějšími karcinogeny, by proti nim bylo potencionálně možné vyvinout imunitu. V mnoha těchto pokusech byl odstraněn nádor a později, po intravenózní aplikaci stejných nádorových buněk, došlo k odmítnutí imunitním systémem zvířat, což vedlo k myšlence, že nádory mají TAA, které imunitní systém mohl potencionálně rozpoznat [45].

V průběhu počátku 20. století se začala více prosazovat modernější radioterapie [44]. Radioterapie, při které se využívá ionizující záření, je velmi účinnou léčebnou strategií pro lokální kontrolu a léčbu nádorů. Nová technologická vylepšení umožňují optimální dávku záření na přesné místo – do nádoru, a zároveň šetří přilehlé tkáně. Účinky záření se potvrdily



na cévách nádoru, fibroblastech i na imunitních buňkách. Studie této doby prokázaly, že záření vyvolává imunogenní buněčnou smrt, a zároveň že záření může indukovat nádorově specifické buňky. Nízké dávky radiace jsou účinné pro přeprogramování makrofágů asociovaných s nádorem a pro normalizaci cév. Nízká dávka by tedy mohla stačit v situacích, kdy je cévní bariéra hlavní překážkou infiltrace T-lymfocytů do nádoru. Radioterapie spolu s imunoterapií jsou vysoce účinnou léčebnou strategií [46].

Kolem roku 1945 byl poprvé využit jako chemoterapeutikum yperit [44]. Myšlenka využití yperitu vznikla při pozorování námořníků vystavených působení yperitu po náletu během druhé světové války. U jednoho z námořníků byla zaznamenána značná hypoplazie lymfoidních a myeloidních buněk. Následně byly vyvinuty deriváty yperitu – n-yperity pro léčbu malignit [47].

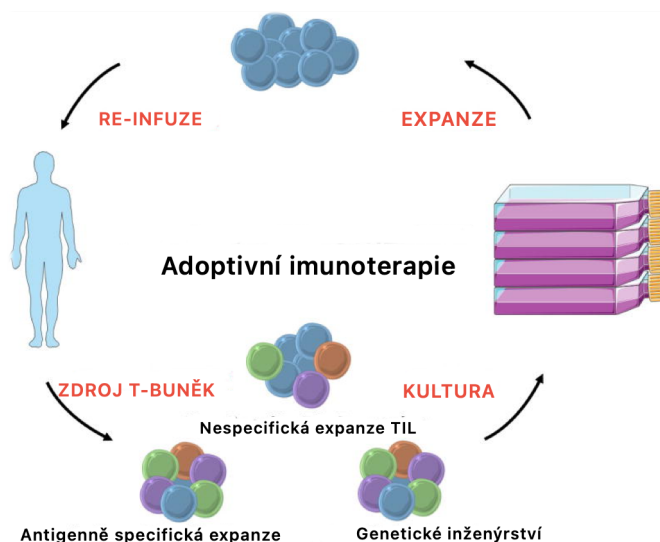
V padesátých letech minulého století bylo při experimentech prokázáno, že imunitní systém nádor rozpoznává, ale i aktivně ničí. V období mezi sedmdesátými a osmdesátými lety byla pacientům s různými druhy nádorů podávána živá vakcína *Bacillus Calmette-Guerin*, která se v dnešní době úspěšně využívá u pacientů s povrchovými lézemi karcinomu močového měchýře. V letech 1984 a 1989 profesor Rosenberg a jeho spolupracovníci uvedli nové možnosti imunoterapie, zejména pomocí interleukinu 2. Dále v roce 1985 přišla metoda přenosu tumor infiltrujících lymfocytů (TIL), známá též jako adoptivní T-buněčná terapie, což vzbudilo naději na pokroky v oblasti léčby nádorových onemocnění. Tento vývoj v léčbě nádorů směřuje k efektivnějšímu a cílenějšímu přístupu v boji proti malignitám [44].

## 4. Vývoj a mechanismy adoptivní buněčné terapie

Imunitní systém hraje důležitou roli u mnoha typů rakovinných změn, v jejich výskytu a růstu. Díky novým poznatkům o imunitních mechanismech byly vyvinuly imunoterapeutické léčby [48]. Imunoterapii je možné rozdělit na aktivní a pasivní, a na specifickou a nespecifickou. Aktivní nespecifická imunoterapie nádorů je založena na využití cytokinů, určitých bakteriálních produktů a hormonů. Aktivní specifická imunoterapie zahrnuje využití vakcín na nádorové nebo virové antigeny. Pasivní specifická imunoterapie je založena na podání monoklonálních protilátek injekčně. Do pasivní nespecifické imunoterapie patří především adoptivní T-buněčná terapie, využití proteinů tepelného šoku a lektinů [49].

Adoptivní buněčná terapie (ACT) je imunoterapie, využívající buňky imunitního systému ke zničení rakovinných buněk [48]. Adoptivní buněčná terapie má u některých pacientů trvalou klinickou odpověď [50]. Některé z metod využívají přímou izolaci vlastních imunitních buněk a následně zvýšení jejich počtu. Jiné metody využívají genetické inženýrství prostřednictvím genové terapie (například terapie CAR) [51]. Obvyklé jsou metody adoptivního T-buněčného přenosu, nejčastěji se využívají T-lymfocyty přímo od pacienta, je možné ale využít i T-lymfocyty od dárce (Obr. 2) [51, 53]. Infuze dárcovských lymfocytů (DLI), jsou první adoptivní buněčnou terapií, u které byl prokázán silný účinek štěpu proti leukémii u myeloidní leukémie. [53].

Do pokročilých genetických modifikací T-lymfocytů patří změny specifity T-buněčného receptoru (TCR), nebo zavedení rozpoznávacích domén podobných protilátkám v podobě chimérických antigenních receptorů (CAR) [28]. Odpovědi T-lymfocytů jsou zaměřené specificky proti antigenu a antigenní determinantě, proto snadno rozeznají abnormální buňku od té zdravé. Zároveň jsou tyto odpovědi velmi silné a dochází až k tisíci násobné klonální expanzi. T-lymfocyty jsou schopny, díky výskytu antigenu na nádorových buňkách, nalézt i vzdálené metastázy. Poslední obrovskou výhodou je vznik paměti T-lymfocytů na daný typ nádorových buněk [52].



**Obrázek 2:** Proces adoptivní T-buněčné imunoterapie [52].

Protinádorové vakcíny se využívají k aktivní tvorbě specifických protinádorových T-lymfocytů v těle pacienta. Takto vzniklé T-lymfocyty následně reagují s nádorovými antigeny. K tvorbě těchto buněk lze použít jednoduché peptidové vakcíny, komplexní buněčné systémy s využitím dendritických buněk pulzovaných nádorovou RNA, lyzáty autologních tumorů, nebo nádorovými liniemi.

Sipuleucel-T<sup>®</sup> je prvním schváleným preparátem protinádorové vakcíny. Cílem vakcinace je indukce T-lymfocytů, které reagují s nádorovými antigeny. Tohoto účinku lze dosáhnout několika způsoby: podáním peptidové vakcíny, nebo podáním komplexních buněčných systémů s využitím dendritických buněk, lyzáty autologních tumorů, nebo nádorovými liniemi. Cílovou skupinou během studie této vakcíny byli pacienti ve stavu rezistentního karcinomu prostaty, kterým byla aplikována tato autologní vakcína. Příprava této vakcíny spočívá v *ex vivo* kultivaci imunitních buněk s fúzním proteinem prostatické kyselá fosfatázy a faktorem stimulující růst granulocytů a makrofágů. Výsledkem studie bylo prodloužení mediánu celkového přežití o 4,1 měsíce. Vakcinace má velmi slabé nežádoucí účinky a je dobře tolerována. Další studie testovala účinky vakcíny, která je cílená na patologické B buňky folikulárního lymfomu. U pacientů došlo k lepší odpovědi na konvenční chemoterapii a signifikantně prodlužuje dobu přežívání bez relapsu. Slibný výsledek přinesla i studie, kde kombinace standardní léčby a terapeutické vakcíny (z peptidu gp100) zdvojnásobila léčebnou odpověď a prodloužila dobu bez progresu onemocnění o 2,2 měsíce u pacientů s metastatickým melanomem. Ve III. fázi klinických studií je poxvirová vakcína na prostatický specifický antigen (PSA) u pacientů s karcinomem prostaty a DCVAC/PCa testovaný u pacientů s kastrát rezistentním karcinomem prostaty [54]. V ostatních případech

má využívání vakcín spíše omezenou účinnost. Faktorem zodpovědným za toto omezení je kvalita cílových nádorových antigenů, které byly v průběhu let identifikovány a zahrnuty do vakcíny [55].

Adoptivní buněčná terapie může být využita několika způsoby a budou dále více vysvětleny [51]:

- Buněčná terapie pomocí tumor infiltruujících lymfocytů (TIL)
- Buněčná terapie pomocí upravených receptorů T-lymfocytů (TCR)
- Buněčná terapie pomocí chimérických antigenních receptorů (CAR)
- Buněčná terapie pomocí buněk aktivovaných lymfokiny (LAK) a cytokiny (CIK)
- Buněčná terapie NK buňkami

Jedná se o nové, neustále se vyvíjející metody, které poskytují pacientům nové možnosti. Buněčné terapie jsou v klinických studiích využité jak samostatně, tak v kombinaci s dalšími druhy léčby [51]. Nejúspěšnější výsledky byly zatím dosaženy u hematologických malignit s použitím terapie CAR T-lymfocytů zaměřené proti znaku CD19, a také již byly schválené k léčení. Potenciální použití dalších typů buněk – NK buněk je rovněž oblastí současného výzkumu [48].

#### **4.1. Buněčná terapie pomocí tumor infiltruujících lymfocytů**

Pacienti s rakovinou mají přirozeně v těle T-lymfocyty, které často objeví a zničí nádorové buňky v jejich tělech. Tyto T-lymfocyty jsou nejúčinnější a nejsilnější imunitní buňky v lidském těle. Pouze tyto T-lymfocyty ale nemusí být vždy dostatečné v boji proti rakovině. Možnou překážkou je, že tyto lymfocyty musí být nejprve aktivovány předtím, než efektivně zabijí abnormální buňky. Poté je důležité, aby takto aktivní buňky žily dostatečně dlouho, aby byly zničeny veškeré nádorové buňky. Posledním problémem může být jejich nedostatečný počet [51]. Aby se předešlo těmto možným překážkám a problémům, využívá se terapie pomocí lymfocytů, které infiltruji nádory pacientů. Tyto buňky se vyskytují buď v nádorové tkáni, nejčastěji z lymfatických uzlin, nebo z krve [54]. TIL jsou izolovány ze solidních nádorů chirurgickým zákrokem, a expanzí po dobu několika týdnů *ex vivo* za sterilních podmínek pomocí cytokinů, které stimulují T-lymfocyty k vytvoření dostatečného počtu T-lymfocytů reagujících na nádor [56]. Velký počet je poté znovu aplikován zpět pacientovi, u kterého ničí nádorové buňky [51].

Nevýhodou TIL terapie je doba potřebná pro vytvoření dostatečného počtu TIL pro zprostředkování léčebné odpovědi. I po splnění všech požadavků se zdá, že expandované TIL ztrácejí svou schopnost zabíjet a zřejmě vykazují opožděnou reakci. To je vysvětlením, proč u mnoha pacientů nemá léčba TIL žádný protinádorový účinek [28].

Posun v léčbě nastal po zavedení lymfodeplečních režimů před aplikací ACT, úspěchy se objevily v léčbě metastazujícího maligního melanomu. U pacientů, kteří před ACT podstoupili non-myeloablativní chemoterapii a bylo jim podáno vysoké množství IL-2, byla zaznamenána objektivní klinická odpověď u 50 % pacientů. Vysoké dávky IL-2 způsobily řadu nežádoucích účinků, kterým se dalo zamezit snížením dávky a podáním dávky subkutánně. TIL terapie přináší několik výhod: buňky během své expanze nejsou geneticky měněny a zachovávají si vysokou specifickou protinádorovou reaktivitu. Nevýhody TIL terapie zahrnují omezení, kdy nelze získat vzorek tkáně od všech typů nádorů, je zde dlouhá kultivační doba potřebná pro produkci dostatečného množství TIL, navíc pouze 30-40 % vzorků poskytuje vhodné T-lymfocyty [54]. Dodnes bylo možné vypěstovat TIL z nemelanomových typů nádorů, jako je karcinom děložního čípku, karcinom ledviny, karcinom prsu a z nemalobuněčného karcinomu plic [48]. Úspěch autologních TIL byl i u pacientů s renálním karcinomem a maligním melanomem [54].

#### **4.2. Buněčná terapie pomocí upravených receptorů T-lymfocytů**

Někteří pacienti mají T-lymfocyty, které nejsou schopny rozpoznat abnormální buňku od zdravé. U jiných pacientů může být problém v neschopnosti aktivace a následného namnožení T-lymfocytů. Lékaři proto vyvinuli terapii založenou na upravených receptorech T-lymfocytů. Principem je u pacienta odběr T-lymfocytů, ale místo prosté aktivace a expanze protinádorových buněk, je T-lymfocyt obohacen o receptor, který umožňuje zaměřit imunitní reakci na specifické nádorové antigeny [51]. Odebrané T-lymfocyty procházejí genetickou modifikací *in vitro* pomocí imunostimulujících cytokinů, zejména interleukinem 2, což vede k expresi TCR, a zároveň je posílena jejich tumoricidní vlastnost. Pro správné rozpoznání buňkou je nutné prezentovat antigen pomocí hlavního histokompatibilního komplexu (MHC) [48]. Lékaři mohou vybrat optimální cíl, na který se buňky zaměří, tím přizpůsobují léčbu ideálně pro každého pacienta [51]. T-lymfocytární receptor je povrchová molekula T-lymfocytů, která má schopnost rozpoznávat antigeny, které jsou prezentované hlavním histokompatibilním komplexem – MHC, a zprostředkovává imunitní odpověď. TCR je heterodimer [57]. Skládá z řetězce  $\alpha$  a  $\beta$  (TRA a TRB), každý řetězec se skládá z několika

genových segmentů – TRA variabilní, spojovací, konstantní pro řetězec  $\alpha$ . Pro řetězec  $\beta$  - TRB rozdílný, spojovací, konstantní, variabilní [20]. Komplementární determinační oblast 3 (CDR3) řetězce TRB je vysoce variabilní složkou TCR a je rozhodující pro specifitu každého klonu T-lymfocytů pro rozpoznávání antigenu. Polymorfismy CDR3, které vznikají náhodným přeskupením genových segmentů, určují diverzitu TCR. Teoreticky závisí schopnost imunitní odpovědi na různé antigeny na velkém repertoáru jedinečných TCR. Několik studií prokázalo, že diverzita repertoáru TCR hraje důležitou roli v nádorové imunitě [57].

#### **4.3. Buněčná terapie pomocí chimérických antigenních receptorů**

Buněčné terapie TIL a TCR cílí na buňky, které prezentují jejich antigen. Bohužel mnoho typů nádorových onemocnění může uniknout imunitní reakci T-lymfocytů tím, že sníží, nebo úplně ztratí svou expresi MHC. Aby nebyla nutná přítomnost MHC na nádorových buňkách pro tumorspecifické T-lymfocyty, byly vyvinuty syntetické receptory, tzv. chimérický antigenní receptor (CAR) [51]. Při terapii CAR-T jsou T-lymfocyty pacienta odebrány pomocí leukoferézy z krve, a v laboratoři jsou upraveny tak, [28] aby rozpoznaly a likvidovaly cílové nádorové buňky způsobem nezávislým na MHC [25]. T-lymfocyty jsou uměle geneticky upraveny technologií rekombinantní DNA tak, aby na jejich povrchu vznikly CAR [28]. Exprimující konstrukt CAR zahrnuje antigen-vázací doménu, spacer, transmembránovou oblast, kostimulační oblast a aktivační doménu [25]. T-lymfocyty CAR jsou následně expandovány a znovu aplikovány pacientovi. CAR-T buňky se pacientovi aplikují pouze jednou, aby došlo k jejich plnému využití [28]. CAR, díky svému specifickému chimérickému antigennímu receptoru, rozpozná specifický antigen na membránách nádorových buněk, působí tumoricidně [25]. U hematologických malignit bylo dosaženo úspěchů terapie CD19 CAR-T [48]. Tato terapie je založena na expresi chimérického antigenního receptoru anti-CD19 pro léčbu pacientů s malignitami B-lymfocytů, které na svém povrchu exprimují CD19 [58]. Překážkou této terapie je určení nepřítomnosti zvoleného antigenu v normálních tkáních. V terapii CD19 CAR-T není CD19 nádorově specifickým antigenem [25]. Kromě CAR-T buněk se v terapii CAR využívají i NK buňky, které mohou být upraveny tak, aby exprimovaly CAR na svém povrchu. Tyto CAR-NK mohou být podávány pacientům, aniž by se s příjemcem shodovaly v HLA, čímž odpadá nutnost vyrábět produkt CAR pro každého pacienta zvlášť [58].

Dalších úspěchů bylo dosaženo především u rakovin jako jsou lymfomy a akutní lymfoblastická leukemie [28]. T-lymfocyty s CAR umí rozpoznat pouze antigeny, které jsou samy přirozeně exprimovány na povrchu buněk, takže rozsah potenciálních antigenních cílů je menší než u TCR [51]. Buňky CAR-T specificky eliminují nádorové buňky dvojitým způsobem: perforinem a granzymem, nebo sekrecí cytokinů [25].

Cílem nových klinických zkoušek je nyní využití kmenových buněk pro vytvoření neomezeného zdroje volně dostupných CAR T-lymfocytů, aby pacienti mohli dostat svou léčbu rychleji než doposud [51]. Tato terapie se v závislosti na povaze CAR do několika generací. V první generaci je CAR receptor složen z jednořetězcového variabilního fragmentu (scFv) a z molekul aktivačního motivu imunoreceptorů založeného na tyrosinu (ITAM). ScFv je namířen proti nádorově specifickému antigenu. U druhé a třetí generace se přidává jedna nebo dvě kostimulační molekuly. U čtvrté a páté generace se doplňuje kostimulační molekula induktorem interleukinu-12 [28].

Se snahou zapojit do buněčné terapie i další buňky imunitního systému byly již v roce 2022 aktivně zkoumané i NK buňky [51]. NK buňky způsobují apoptózu abnormálních buněk cytotoxicitou, která je zprostředkována perforinem a granzymem B, dále i protizánětlivými cytokiny jako jsou tumor nekrotizující faktor (TNF- $\alpha$ ) a interferon (IFN- $\gamma$ ) [59]. NK buňky se zaměřují na nádorové buňky, které snižují expresi lidského leukocytárního antigenu (HLA) I. třídy nebo exprimují stresové markery [58].

#### **4.4. Buněčná terapie pomocí buněk aktivovaných lymfokiny**

Variantou je adoptivní buněčná terapie založená na využití buněk pacienta aktivovaných lymfokiny [60]. LAK buňky jsou složeny převážně z přirozených zabíječských buněk jako jsou NK a CD3<sup>-</sup>, a přirozených zabíječských T-lymfocytů (CD3<sup>+</sup>). LAK buňky vykazují neomezenou protinádorovou aktivitu [61]. U T-lymfocytů, které jsou aktivované lymfokinem, je terapeutická účinnost zprostředkována pomocí cytotoxické aktivity T-LAK proti nádorovým buňkám, a aktivace protinádorové imunitní odpovědi různými cytokiny, které T-LAK vylučují [60]. V preklinických studiích byla prokázána účinnost ACT hned na několika typech nádorových buněk, jako je rakovina tlustého střeva, rakovina slinivky břišní, nadledvin, ledvin a jícnu, pomocí LAK. Navzdory úspěšným studiím *in vitro* a *in vivo* bylo prokázáno, že účinnost LAK při léčbě různých typů rakoviny (kolorektální karcinom, karcinom prsu, plic, vaječnicků, slinivky břišní a ledvin) je nízká. Následující preklinické studie prokázaly účinnost LAK proti lidskému karcinomu plic [49].

#### **4.5. Buněčná terapie pomocí zabíječů indukovaných cytokiny**

Buňky CIK jsou známé jako T-lymfocyty, které jsou podobné přirozeným zabíječům. Exprimují marker T-lymfocytů CD3, i marker NK buněk CD56 [62]. CIK jsou expandovány *in vitro* z mononukleárních buněk periferní krve a vykazují cytolytickou aktivitu proti širokému spektru nádorových cílů způsobem neomezeným na MHC. Lýza nádorových buněk CIK buňkami je zprostředkována pomocí ligandů, jejichž exprese je často zvýšená u hematologických nebo solidních nádorů [41]. Využití CIK u pacientů s metastazujícím karcinomem ledvin a adenokarcinomem slinivky břišní má vyšší účinnost ve srovnání s LAK [49]. Buňky CIK vykazují celkově silnější cytolytickou aktivitu ve srovnání s LAK [41]. Důvodem je především jejich vyšší míra proliferace, která vede ke zvýšení celkového počtu lytických jednotek [62]. To ale při léčbě nádorů nestačí. Využití CD-CIK v léčbě karcinomu plic, metastazujícího karcinomu prsu a leukémie prokázalo zvýšenou míru přežití a významnou účinnost v kombinaci s chemoterapií. To dokazuje, že DC-CIK je slibnou metodou v léčbě nádorových onemocnění [49]. Vedle zvýšení míry přežití se často vyskytovaly nežádoucí účinky jako neutropenie a anémie [41]. Dnes jsou prováděny úspěšné testy TIL, včetně TIL v kombinaci s IL-2, u pacientů s metastazujícím melanomem a karcinomem plic [49].



## 5. Vedlejší účinky a toxicita adoptivní buněčné terapie

Vedlejší účinky se velmi liší v závislosti na typu zvolené adoptivní buněčné terapie a v tom, na co je terapie přesně zaměřena. Vedlejší účinky mohou být ovlivněny místem a typem nádorového onemocnění, a v neposlední řadě i celkovým stavem pacienta [51]. Adoptivní buněčná terapie nemá obecně příliš výrazné vedlejší účinky, protože se využívají autologní buňky, jako jsou CIK, aktivované NK, nebo TIL [63]. Mívají různou povahu, například v podobě nadměrné imunitní reakce, či v podobě zánětu prostřednictvím syndromu uvolňování cytokinů – cytokinová bouře, či jako neurotoxicita vznikající kvůli zánětu mozku [51]. Různé typy imunitní terapie pro léčbu nádorových onemocnění jsou doprovázeny zvláštní toxicitou léků a spektrem vedlejších účinků. Tyto toxické reakce zasahují všechny orgánové systémy. Off-target toxicita je nepředvídatelná, protože jsou inhibovány i další neočekávané cíle, které sdílejí struktury nebo epitopy s cíli očekávanými. Častými toxicitami jsou například zvýšená kapilární permeabilita, mírná autoimunitní reakce na zdravé normální tkáně a autoinflamatorní reakce, která je vyvolána cytokiny, vakcínami neboli proteinovými inhibitory [63].

U CAR terapie se vyskytují podobné nežádoucí účinky TCR terapie. Objevuje se zde syndrom encefalopatie související s CAR T-buňkami, nenádorové účinky a syndrom akutní respirační tísně. Všechny tyto nežádoucí účinky jsou způsobeny rozpoznáním a usmrcením buněk normálních, tedy těch, které nejsou nádorové. Nejčastějším vedlejším účinkem u CAR terapie je však syndrom uvolnění cytokinů [64].

Toxicita ACT se obecně zvýšila s tím, jak se terapie stala účinnější. TIL patří mezi bezpečnější terapie, u upravených T-lymfocytů může dojít k rozpoznání normální tkáně jak na cíli, tak mimo něj. U pacientů léčených TCR, které jsou specifické pro nádorový antigen, byla hlášena toxicita on-target, která vede k těžké zánětlivé kolitidě vzniklé z exprese cílového antigenu ve zdravém tlustém střevě [65]. CAR-T buňky mají svá omezení, včetně nákladů na léčbu, délky výroby a toxicity, jako je syndrom uvolňování cytokinů a neurotoxicita, což vyžaduje podávání CAR-T buněk ve specializovaných centrech, což dále omezuje přístup k těmto potenciálně život zachraňujícím terapiím. To je důvodem k vývoji buněčných terapií, které jsou nákladově efektivní, bezpečné a především účinné [58]. U ACT zaměřených na B-lymfocyty s CAR byla běžně pozorována on-target toxicita v podobě aplazie B-lymfocytů. Závažná srdeční toxicita byla hlášena po ACT s T-lymfocyty exprimujícími afinitně upravený TCR, který byl původně specifický pro melanomem asociovaný antigen 3 (MAGE A3) [65].

## 6. Příklady adoptivní buněčné terapie

V následujících podkapitolách jsou uvedené příklady použití adoptivní buněčné terapie pro různé nádorové diagnózy. V posledních dvou příkladech jde o léčbu virových a autoimunitních onemocnění.

### Akutní myeloidní leukémie

Akutní myeloidní leukémie (AML) je hematologická malignita, která má míru přežití pouze 26 % [66]. Je charakterizována infiltrací kostní dřeně, krve a dalších tkání špatně diferencovanými blasty [67]. Akutní myeloidní leukémii lze léčit pomocí infuze dárcovských lymfocytů (DLI). DLI jsou první adoptivní buněčnou terapií, u které byl prokázán silný účinek štěpu proti leukémii u myeloidní leukémie. U pacientů, u kterých došlo k relapsu po transplantaci krvetvorné kmenové buňky (HSCT), s chronickou myeloidní leukémií dosahovaly infuze DLI trvalé odpovědi u 60-80 % pacientů. Akutní myeloidní leukémie je v současnosti nejčastější indikací k HSCT a u pacientů, u kterých dojde k relapsu, je kombinace DLI s chemoterapií trvale lepší než samotná chemoterapie. Antileukemické účinky nemodifikovaných DLI jsou nepředvídatelné a z důvodu jejich široké aloreaktivitě existuje riziko vyvolání závažné nebo až fatální reakce štěpu proti hostiteli. V posledních letech je zkoumáno u akutní myeloidní leukémie řešení variabilní účinnosti DLI manipulací s jednotlivými populacemi efektorových buněk s cílem vytvořit buněčné produkty se zvýšenou a konzistentní protileukemickou aktivitou [53].

Při klinických studiích byly adoptivně přeneseny konvenční T-lymfocyty. Přeneseny byly pro akutní myeloidní leukémii buď pomocí selektivní expanze T-lymfocytů, které byly specifické pro leukemický antigen, nebo pomocí transdukce polyklonální populace T-lymfocytů, které na svém povrchu měly receptory specifické pro leukemický antigen [53]. Účinnost terapie CAR T-lymfocyty u AML nebyla ještě úplně prokázána. Předpokládáme, že se TIL mohou nacházet v kostní dřeni pacientů s AML, a tyto TIL spolu s bloádou imunitních kontrolních bodů představují novou terapeutickou strategii pro AML [67].

Alogenní imunoterapie, kdy musí být alespoň částečná shoda v MHC dárce a příjemce, je založená na NK je slibným, netoxickým adjuvantním terapeutickým přístupem k AML. Studie prokázaly, že alogenní infuze NK buněk po úpravě je dobře snášena, přičemž kompletní remise je dosaženo u 47 % [68]. Mnoho buněk AML zvyšuje regulaci aktivačních ligandů NK, jako je MIC-A na buňkách AML, ty mohou zůstat odolné vůči autolognímu zabíjení NK, pokud zůstanou neporušené jejich inhibiční ligandy, jako jsou HLA-B a C

(ligandy KIR). Buňky AML, které regulují aktivační receptor NK buněk (NKG2D-L) a zároveň mají neshody u specifických HLA-B a C s buňkami NK, by byly náchylné k lýze zprostředkované NK. Tento jev je využíván po HSCT, kdy pacienti s akutní myeloidní leukémií, dostávající štěpy od dárců, kteří jsou neshodní na KIR-ligandech, mají lepší šanci na přežití bez relapsu oproti těm pacientům, kteří dostali produkty shodné s KIR [53]. Alogenní buňky jsou v těle příjemce tolerovány [66]. Buňky NK lze generovat *ex vivo* z hematopoetických kmenových a progenitorových buněk – HSPC nebo indukovaných pluripotentních kmenových buněk – iPSC [68].

### **T-lymfocytární akutní lymfoblastická leukémie**

T-lymfocytární malignity jsou hematologické nádory T-buněčné linie. Mezi nejvíce agresivní patří T-lymfocytární akutní lymfoblastická leukemie [69]. Nynější léčebné postupy vedou k celkovému přežití 70 % pacientů s ALL, nicméně u více než poloviny dospělých pacientů dochází k relapsu, u dětí až u 25 %. I přes chemoterapie, radioterapie a transplantaci podlehne onemocnění 50-70 % pacientů po relapsu s T-ALL [70]. Pokrok vývoje adoptivní buněčné terapie v léčbě T-lymfocytární akutní lymfoblastické leukémie je skromný. Na rozdíl od AML, u které může necílená adoptivní buněčná terapie pomocí DLI nebo NK buněk přinést prospěch, u T-lymfocytární akutní lymfoblastické leukémie došlo pouze ke skromným účinkům [67]. Terapie CAR u T-buněčných malignit má několik problémů. U autologní T-lymfocytární terapie existuje riziko kontaminace lymfoblasty, což může způsobit vážné toxicity. Infundované dárcovské buňky podléhají hostitelské rejekci imunitními buňkami příjemce. Posledním problémem je sdílená exprese antigenů linie T na maligních a efektorových T-lymfocytech, která způsobuje autodestrukci nebo „bratrovraždu“ během výroby [69].

První CAR s vysokou protinádorovou funkcí byl zaměřen proti CD5. Exprese CAR na normálních T-lymfocytech vedlo k rapidní ztrátě CD5 na jejich povrchu, což vedlo k rezistenci vůči destrukci normálních T-lymfocytů, a k normální expanzi CD5 CAR T-lymfocytů. Tyto CD5 CAR T-lymfocyty jsou současně hodnoceny ve studiích u pacientů s T-ALL [67]. K zamezení vedlejších účinků slouží vyřazení endogenních TCR, molekul HLA třídy 1, nebo využití přirozených imunitních buněk dárce NK, jako nosiče CAR. Oba přístupy mají rizika účinků mimo cílové buňky, nižší výtěžnost CAR-T a vyšší výrobní náklady [69].

## Non-Hodgkinův lymfom

Non-Hodgkinské lymfomy (NHL) tvoří heterogenní skupinu malignit lymfatických tkání. S ohledem na heterogenitu onemocnění zahrnutých do kategorie NHL se klinický obraz značně liší dle podtypu a oblasti postižení, od indolentních po vysoce agresivní formy. NHL se může vyvinout u zdravých jedinců, i u jedinců s jiným onemocněním. Lidé s virem HIV, dědičnými syndromy imunodeficience nebo autoimunitními chorobami, dále lidé s chemoterapií, příjemci transplantátů, jsou ohroženi vznikem NHL. Konkrétně virus Epstein-Barr je spojen s výskytem Burkittova lymfomu, nosních NK-T lymfomů. *Helicobacter pylori* je rizikovým faktorem pro vznik lymfomů žaludeční sliznice, *Borrelia burgdorferi* je spojována s lymfomy slizničního imunitního systému a *Chlamydomphila psittaci* s lymfomy oční sliznice. Všechna tyto onemocnění jsou spojena s defektem v oblastech B-lymfocytů, T-lymfocytů nebo NK buněk [71]. Naprostá většina lymfomů vzniká z B-lymfocytů. Ačkoli B-lymfocytární lymfomy dobře reagují na chemoterapii více látkami, u agresivních T-lymfocytárních lymfomů, u nichž jsou častější relapsy, je míra kompletní odpovědi nižší [72].

Spolu s léčebnými postupy zahrnující monoklonální protilátky, konjugáty s Ab léky, radioimunoterapii a nízkomolekulární inhibitory zaměřené na dráhy přežití a růstu buněk, byly vyvinuty strategie založené na obnovení aktivity imunitních buněk. Adoptivní imunoterapie nabízí minimální toxicitu a potenciál pro kontrolu onemocnění NHL. Přístupy, které jsou v současné době k dispozici pro léčbu NHL jsou:

- EBV specifické T-lymfocyty
- T-lymfocyty specifické pro nádorový antigen – TAA
- Transgenní TCR vytvořené T-lymfocyty
- T-lymfocyty s CAR [71].

Non-Hodgkinský lymfom z B-lymfocytů je skupina heterogenních onemocnění, která zahrnuje vysoce agresivní (lymfom z B-lymfocytů vysokého stupně), agresivní (difuzní velkobuněčný lymfom z B-lymfocytů) a indolentní onemocnění (folikulární lymfom z B-lymfocytů). Největší revoluci v léčbě B-lymfocytárních malignit způsobila terapie anti-CD19 chimérických antigenních receptorů CAR-T-lymfocytů, která cílí na B-buněčný lymfom exprimující CD19 [73]. Nejpoužívanější a neúčinnější TAA je CD19, který je široce exprimován u pacientů s Non-Hodgkinským lymfomem [72]. U pacientů, kteří dostali CD19 CAR-T, měli celkovou odpověď 83 % a 52 % ve dvou studiích, 58 % a 40 % byla kompletní odpověď. Dvě terapie CAR-T jsou v současné době schváleny v několika zemích pro použití

u relapse/refrakterních agresivních B-buněčných non-Hodgkinových lymfomů. Konkrétně se jedná o léčbu difuzního velkobuněčného B-lymfomu, lymfomu z B-buněk vysokého stupně, primárního mediastinálního lymfomu z B-buněk a transformovaného folikulárního lymfomu [74].

### **Mnohočetný myelom**

Mnohočetný myelom (MM) je plazmocytární neoplazie představující 1 % všech nádorových onemocnění, a 10 % všech hematologických malignit. Mnohočetný myelom zůstává nevyлéčitelným onemocněním charakterizovaným obdobími remise, po nichž následují relapsy s nádorovými buňkami vykazujícími rostoucí míru rezistence vůči lékům [75].

Působivé výsledky v léčbě mnohočetného myelomu přináší terapie CAR T-lymfocyty [76]. Zde je tato terapie nejčastěji zaměřená na antigen zrání B-lymfocytů – BCMA. Poskytuje časté a trvalé odpovědi u mnohočetného myelomu [77]. Exprese BCMA je omezena na normální, maligní plazmatické buňky a některé B-buňky, proto je považována za ideální cíl u mnohočetného myelomu. CAR-T zaměřené na BCMA dosáhly pozoruhodné míry klinické odpovědi -97 %, ale u 45 % dochází k relapsu [78]. Mnohočetný myelom je obecně považován za CD19 negativní. Existují však důvody pro testování terapie CAR T-lymfocyty cílenými na CD19 u mnohočetného myelomu. Důvodů je hned několik: je možné, že je CD19 exprimován na buňkách MM, ale pouze v nízkých hladinách, které nelze detekovat průtokovými nebo imunohistochemickými testy. CAR T-lymfocyty svou účinností mohou eradikovat buňky MM i s pouhými stovkami molekul CD19 na povrchu nádorových buněk. Dále je možné, že pro další proliferaci MM je nezbytná méně diferencovaná CD19 prekurzorová buňka MM [75]. Problémem CAR-T proti CD19 je trvanlivost terapeutické aktivity, dalším velkým problémem je vyvolání potenciálně život ohrožující toxicity, jako je syndrom uvolňování cytokinů a neurotoxicita [79].

Terapie pomocí TCR u MM se stále vyvíjí i po několika neúspěšných pokusech. Hodnotí se například kombinovaná léčba s blokádou kontrolních bodů pomocí peptidů cílených na TCR modifikované T-lymfocyty v kombinaci s pembrolizumabem, což je monoklonální protilátka proti receptoru programované buněčné smrti (PD-1). Vyvíjejí se nové cílové intracelulární antigeny, aby se zabránilo úniku antigenu [75]. Technologie na úpravy genů TCR, založená na vyřazení endogenních genů TCR alfa a beta a následném zavedení exogenních genů TCR specifických pro nádor, se ukázala jako bezpečnější a účinnější než konvenční přenos genů TCR *in vitro* [80].

Důkazy z úspěšné blokády kontrolních bodů naznačují, že existují endogenní myelom infiltrující lymfocyty – MIL, které mohou rozpoznávat neoantigeny na MM buňkách. Tyto MIL jsou však udržovány ve vyčerpaném nebo anergickém stavu imunosupresivním mikroprostředím MM. Ke vzniku imunity by tedy mohlo stačit tyto MIL odebrat, stimulovat *ex vivo* a znovu podat infuzí. Adoptivní buněčná terapie již ukázala případy, kdy došlo k rychlé eliminaci myelomové zátěže hlavně u pacientů, kteří byli předléčeni. Existují výzvy, včetně řešení relapsu v důsledku úniku antigenu nebo nedostatečné perzistence. Řešením pro únik antigenu může být vývoj vektory CAR T-lymfocytů zaměřené na další antigeny. Řešení pro nedostatečné perzistence zahrnuje vylepšení vyvíjené terapie CAR T-lymfocyty změny ve výrobním procesu a optimalizaci vektorů [75].

## Melanom

Imunoterapeutická strategie u melanomu se skládá buď ze schválených postupů, jako jsou inhibitory kontrolních bodů, podávání cytokinů (IL-2 nebo interferon), nebo z experimentální léčby včetně adoptivní T-buněčné terapie s nádorově infiltrujícími lymfocyty [81]. Regrese melanomu lze nyní dosáhnout přenosem *in vitro* expandovaných lymfocytů infiltrujících nádor nebo pomocí terapie kontrolních bodů imunity, která se zaměřuje na regulační dráhy v T-lymfocytech. Těchto úspěchů bylo dosaženo vlastnostmi melanomů. Ty často tvoří objemné a snadno dostupné nádory, z nichž lze získat velké množství TIL, a jsou imunogenní, protože obsahují hodně mutací [82]. Současné protokoly adoptivní buněčné terapie zahrnují, před samotnou infuzí *ex vivo* expandovaných autologních TIL, použití přípravných nemyeloablativních lymfodeparativních chemoterapeutických režimů [83]. ACT s využitím TIL je účinnou léčebnou metodou pacientů s metastazujícím melanomem. Míra objektivní odpovědi u pacientů je více než 50 %, a u mnoha z nich dochází k trvalé remisi delší než pět let. Identifikace TIL schopných rozpoznávat mutované antigeny specifické pro pacienta u melanomu naznačuje, že primárním cílem TIL jsou spíše mutované antigeny, než antigeny sdílené nádorově [84].

Léčebné protokoly terapie TIL vedou k vysoké míře toxicity. Preparativní chemoterapie vede běžně k anémii a trombocytopenii, což vyžaduje podávání transfuze. Interleukin-2 podávaný po infuzi TIL, a jeho vysoké dávky, jsou také spojované s významnou toxicitou, včetně neurologických příznaků a systémového syndromu kapilárního úniku, který může vést k hypotenzi, selhání ledvin a plicnímu edému [83]. Pacienti léčení lymfocyty s TCR, které cílí na MART-1 nebo gp100, měli často vážnou destrukci tkání, kde se

melanocytární buňky nacházely. Mezi poškozené tkáně patřila kůže, oči, vnitřní ucho. Poškození zapříčinila exprese MART-1 v normálních zdravých buňkách [64]. Proteiny rodiny melanomových antigenů – MAGE. Intracelulární proteiny MAGE patří do podtřídy nádorových antigenů, které jsou exprimovány v zárodečných buňkách a v široké škále nádorů. Jejich exprese je spojena s protinádorovými aktivitami. MAGE se dělí do několika skupin a jsou exprimovány, kromě normálních buněk, také na mnoha typech nádorů jako je melanom, ale i nádory mozku, plic, prostaty a prsu [85].

## **Sarkom**

Sarkomy jsou rozmanitou skupinou nádorů, které vycházejí z kostí a měkkých tkání. Mezi nejčastější dětské sarkomy patří osteosarkom a Ewingův sarkom [86]. U sarkomů se osvědčily terapie pomocí T-lymfocytů, nejvíce využívané a zkoumané jsou T-lymfocyty s chimérickým antigenním receptorem (CAR), které kombinují modalitu protilátek s T-buněčnou terapií. Nádorové buňky osteosarkomu exprimují HER2, kdy cílení geneticky modifikovaných buněk proti HER2 eliminovalo buňky iniciující nádor v preklinických studiích *in vitro* u osteosarkomu. V současné době probíhá studie s využitím T-buněk exprimující HER2-CD28 CAR u pacientů s pokročilým sarkomem [87].

Sarkomy měkkých tkání jsou heterogenní skupinou vzácných malignit, které vycházejí z pojivové tkáně. Prognóza pacientů s pokročilým onemocněním je špatná. Pacientů, kterým pomohla imunoterapie, je málo, důvodem může být vysoká heterogenita a imunitní suprese v mikroprostředí nádoru. pozitivní výsledky u pacientů se sarkomy má ACT využívající lymfocyty infiltrující nádor [88, 89].

## **Neuroblastom**

Neuroblastom (NB) je nejčastějším extrakraniálním solidním nádorem v dětském věku. Vzniká z progenitorových buněk nervového hřebene v sympatickém nervovém systému [90]. *Ex vivo* stimulované alogenní buňky NK mohou zvýšit účinek štěpu proti nádoru – GVT, bez zhoršení nemoci štěpu proti hostiteli. TIM-3 je exprimován jak na vyčerpaných NK, tak na T-buňkách, může blokáda imunitních kontrolních bodů zvýšit GVT efekt po alogenní transplantaci. Alogenní transplantace s deplecí T-buněk může být spolu s adoptivním přenosem NK buněk a blokádou kontrolního bodu TIM-3 léčbou neuroblastomu po relapsu. K léčbě jsou zapotřebí léčebné postupy, které zahrnují kombinovanou imunoterapii pro posílení funkce NK buněk [91]. Disialoganliosid 2 (GD2) je povrchový antigen na většině

buněk odvozených od neuroektodermu, včetně neuroblastomu a melanomu, méně jsou exprimované na lidských buňkách jako jsou neurony, kožní melanocyty a periferní senzorká nervová vlákna. Léčba pomocí GD2 může být účinná, ale je obtížně dostupná. Léčba pomocí GD2 je založena na monoklonálních protilátkách, které rozpoznávají a ničí buňky obsahující GD2. GD2 je účinným cílem pro imunoterapii neuroblastomu. Terapie pomocí GD2 CAR T-lymfocytů první generace, které byly složené z EBV-cytotoxických T-lymfocytů a konvenčně aktivovaných T-buněk žádnou neurologickou toxicitu a někteří pacienti s aktivním neuroblastomem dosáhli kompletní odpovědi. T-lymfocyty GD2 CAR třetí generace měly podobné nádorové účinky s výraznou expanzí, ale účinek byl přechodný. Účinky nebyly větší než u první generace. GD2 CAR druhé generace se signální doménou CD28/CD3 obsahující anti-GD2 odhalil vynikající bezpečnost a toxicitu, což dokládá přechodné protinádorové účinky [92].

## **Glioblastom**

Glioblastom je agresivním mozkovým nádorem, a řadí se mezi nejsmrtelnější lidské nádory [93]. Nejčastější mutací exprimovanou u glioblastomu je varianta III receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFRvIII), která úzce souvisí s maligním fenotypem. Jako nádorově specifický antigen a ideální molekulární cíl je v současné době zkoumána řada imunoterapií týkajících se EGFRvIII, včetně T-buněk modifikovaných CAR. Terapie je založená na anti-EGFRvIII CAR-T, a je účinná při dosahování dlouhodobé suprese nádoru a snižování úmrtnosti spojené s glioblastem [94]. Novější studie se zaměřují na podávání adoptivních imunitních buněk včetně přirozených zabíječů a T-lymfocytů expanzí z lidských mononukleárních buněk periferní krve za podmínek *ex vivo* pacientům s recidivujícím glioblastem. V těchto studiích nebyly zaznamenány žádné závažné nežádoucí účinky. Nejzávažnějšími vedlejšími účinky byly v tomto případě horečka, anorexie, návaly horka, zimnice, reakce v místě vpichu. Závěrem byla autologní adoptivní buněčná terapie v léčbě glioblastomu bezpečná a vykazovala dobré klinické výsledky. Tato adoptivní imunobuněčná terapie proto může být účinná i u skupiny pacientů s recidivujícím glioblastomem, například u pacientů s mezenchymálním podtypem [95].

## **Epiteliální karcinom vaječníku**

Epiteliální karcinom vaječníků je nejsmrtelnější formou gynekologické malignity. Hromadění T-lymfocytů u epitheliálního karcinomu vaječníků je prognostickým faktorem



přežití a nedávné pokroky v adoptivní T-buněčné terapii poskytují nové příležitosti specificky modulovat počet a aktivitu T-buněk, a zároveň zprostředkovat regresi nádoru. Klinické údaje ukazují na přítomnost CD3<sup>+</sup> T-lymfocytů infiltrujících nádor a na spojitost s příznivou prognózou a delším přežitím. Pacienti s TIL v nádorech měli pětileté celkové přežití 38 %. Další studie odhalily, že prognostický význam mají nejsilnější CD8<sup>+</sup> cytotoxické T-lymfocyty, které jsou lokalizovány v epiteliální složce nádoru. Autologní T-buňky s přesměrovanou specifitou mohou u epiteliálního karcinomu vaječníků vyvolat regresi nádoru. Někteří pacienti nejsou způsobilí k podání TIL ACT z důvodu neresektabilního onemocnění nebo neschopnosti produkovat nádorově reaktivní TIL. K překonání tohoto problému je indukce, nebo úprava T-lymfocytů tak, aby byly přesměrovány proti nádoru [96]. Pro vytvoření účinné CAR-T buněk pro léčbu karcinomu vaječníků je třeba určit vhodný cíl. U karcinomů vaječníků je nadměrně exprimován antigen MUC16. CAR upravené se schopností vylučovat interleukin-12, který moduluje negativní účinky nádorového mikroprostředí. Interleukin-12 dále indukuje proliferaci a cytotoxickou aktivitu NK a vytváří protinádorovou aktivitu produkcí cytokinů efektorovými buňkami. Interleukin-12 moduluje nádorové mikroprostředí mnoha mechanismy, včetně reaktivece anergických TIL [97].

## **Virová onemocnění**

Chronické virové infekce představují podobné výzvy jako nádorová onemocnění, může jít o vyhnutí se imunitnímu dohledu nebo podvrátit imunitní reakce hostitele. V případě HIV navíc replikačně kompetentní proviry přetrvávají ve vzácných, dlouho žijících klonech CD4<sup>+</sup> T-buněk s fenotypem centrální paměti, které mohou být selektovány pro přežití prostřednictvím imunitně-editačních opatření. Podobnosti s nádorovými onemocněními podporují zkoumání možností využití adoptivní buněčné terapie [98].

Cytotoxické T-lymfocyty jsou silnými likvidátory maligních, ale i virem infikovaných buněk [99]. Specifické cytotoxické T-lymfocyty u pacientů infikovaných HIV se mohou časem vyčerpat a ztratit svou efektorovou funkci a proliferační kapacitu [100]. Od samého počátku epidemie HIV se zkoumá využití T-lymfocytů s chimérickým antigenním receptorem (CAR-T). Tyto CAR obsahovaly receptor pro obalový protein HIV. Tím došlo ke spojení extracelulární a transmembránové části proteinu CD4 se signální molekulou TCR, známé jako CD4 z CAR [101]. V průběhu let 1998 až 2005 proběhly klinické studie účinnosti CD4 z CAR, který byl exprimován v autologních CD4 a CD8 v T-lymfocytech, u pacientů s aktivní virémií nebo chronickou infekcí HIV-1 [102]. Několik let po těchto studiích byla potvrzena

bezpečnost retrovirové modifikace lidských T-lymfocytů, a také jejich dlouhodobá perzistence s odhadovaným poločasem rozpadu delším než 16 let [103]. Účinnost anti-HIV buněk CAR-T by mohla být zvýšena na základě CAR druhé a třetí generace, které obsahují další intracelulární kostimulační domény, konkrétně CD28 a 4-1BB [100].

Chronická hepatitida B postihuje více než 250 milionů lidí na světě, a způsobuje morbiditu a mortalitu, především v důsledku komplikací v podobě konečného stádia jaterního onemocnění a hepatocelulárního karcinomu [98]. Virus hepatitidy je necytopatický z větší části, přičemž roli při poškození jater a kontrole viru hraje imunitní odpověď hostitele. Klinická stádia chronické hepatitidy B jsou imunitně aktivní, imunitně tolerantní a klinicky neaktivní, dle aktivity alaninaminotransferázy v séru pacienta. Pacienti s imunitně aktivní formou vykazují zvýšenou aktivitu alaninaminotransferázy a aktivní jaterní nekroinflammaci. Pacienti s imunitní tolerancí „tolerují“ vysokou úroveň virémie virem hepatitidy B bez zvýšení alaninaminotransferázy [104]. U pacientů s chronickou hepatitidou B je odpověď T-buněk proti viru neúčinná, protože je slabá. Proto adoptivní T-buněčná terapie pomocí virus hepatitidy B specifických T-buněk je slibnou léčebnou strategií s cílem eliminovat virus a navodit funkční vyléčení. T-lymfocyty jsou upraveny tak, aby exprimovaly chimérický antigenní receptor specifický pro virus hepatitidy B (CAR), nebo přirozený T-buněčný receptor (TCR). CAR obsahuje fragment protilátky, který míří proti povrchovým proteinům viru hepatitidy B přítomným na buňkách, v nichž se virus replikuje. Přirozené TCR rozpoznávají peptidy prezentované na HLA-A2 a jejich zapojení vede k fyziologické aktivaci T-buňky. Adoptivní přenos funkčně aktivních specifických T-lymfocytů má za cíl eliminovat infikované hepatocyty, může zde být riziko vyvolání vzplanutí hepatitidy, a riziko aktivace buněk mimo místo a nežádoucí uvolnění cytokinů vedoucí k syndromu uvolňování cytokinů. To je důvodem neustálého zvyšování bezpečnosti adoptivní terapie [105].

### **Autoimunitní onemocnění**

Systémový lupus erythematosus je komplexní a heterogenní autoimunitní onemocnění, které je charakterizované recidivujícím průběhem vzplanutí, střídajícími se obdobími remise a velmi rozmanitými klinickými projevy patrnými na mnoha orgánech. Klíčovým procesem v patogenezi tohoto onemocnění je hyperaktivace autoreaktivních B-buněk, která indukuje plazmatické buňky k produkci velkého množství autoprotilátek, které následně cirkulují a vytváří imunitní komplexy s autoantigeny a komplementem. Tyto imunitní komplexy se mohou následně ukládat v malých cévách nebo distálních místech, kde

mohou nakonec způsobit destrukci nebo dysfunkci orgánů. V systémovém lupusu hrají ústřední roli B-buňky, exprese CD19 se udržuje na vysoké úrovni ve všech fázích diferenciaci B-buněk. Přenos autologních T-lymfocytů exprimujících anti-CD19 chimérických antigenních receptorů by mohl sloužit k depleci patogenních B-buněk po progresi onemocnění systémový lupus erythematodes [106]. Vazba CAR-T buněk na CD19 na B-buňkách vyvolá jejich aktivaci, což vede k lýze a eliminaci buněk, které znak CD19 exprimují. Buňky CAR-T cílené na CD19 zároveň vedou k depleci naivních B-buněk a plazmablastů, a tím mohou zastavit tvorbu autoprotilátek, tvorbu imunitních komplexů a poškozování orgánů. Poprvé byla tato terapie použita pro léčbu onemocnění systémového lupusu v roce 2021, výsledkem byla kompletní klinická i sérologická remise s ustáním vedlejších příznaků systémového lupusu [107].

Pemphigus zahrnuje tři formy: vulgaris, foliaceus a paraneoplastický pemphigus [28]. Pemphigus vulgaris je autoimunitní onemocnění, pro které jsou charakteristické puchýře a eroze, které postihují kůži i sliznice [108]. Je iniciováno autoprotilátkami s akumulací především IgG v kůži. Rozpoznávání autoprotilátek autoantigenů vede k tvorbě imunitních komplexů, které narušují integritu kůže, způsobují tvorbu puchýřů a vedou k další infiltraci imunitních buněk. Depozity imunitních komplexů jsou složeny z protilátek navázaných na desmosomální transmembránové proteiny keratinocytů [109]. Pemphigus vulgaris je způsobené tvorbou autoprotilátek proti desmogleinu 3 (Dsg3), desmosomu a kritické součásti buněčných spojů. T-buňky exprimující chimérický receptor pro autoprotilátky (CAAR) selektivní pro B-buňky produkující protilátky. CAAR Dsg3 T-buňky *in vivo* selektivně eliminovaly B-buňky exprimující anti-Dsg3 BCR [110]. CAAR-T buňky jsou vysoce cílené na populaci B-buněk způsobujících pemphigus vulgaris, což je přístup, který by eliminoval pouze autoantigen specifické B-buňky a zároveň šetřil zbytek B-buněčného repertoáru, čímž se vyhýbá riziku generalizované imunitní suprese spojené se současnou léčbou autoimunitních onemocnění [111].

## ZÁVĚR

Adoptivní buněčná terapie přinesla velký potenciál do léčby pokročilých nádorů, zejména u pacientů s recidivujícími a metastazujícími formami. Adoptivní buněčná terapie reprezentuje dynamickou oblast výzkumu a rozvoje v léčbě nádorových onemocnění. Současný výzkum proto hledá zlepšení účinnosti a zdokonalení ACT. Do současné doby byly objeveny následující terapie pomocí: tumor infiltrujících lymfocytů, upravených receptorů T-lymfocytů, chimérických antigenních receptorů, buněk aktivovaných lymfokiny a pomocí zabíječů indukovaných cytokiny. Další terapie, které se využívají a jsou ve stádiu dalších zkoušek jsou: infuze dárcovských lymfocytů, EBC specifické T-lymfocyty, T-lymfocyty specifické pro nádorové antigeny TAA a transgenní TCR vytvořené T-lymfocyty.

TIL terapie se zdá bezpečnější, než terapie s využitím geneticky modifikovaných T-lymfocytů. Přesto s sebou nese řadu nežádoucích účinků. Úspěchy této terapie jsou nejlepší u diagnózy maligní melanom. Potenciál TIL terapie je vysoký, budoucí studie však musí vyřešit problémy, jako například dlouhou kultivační dobu, či nemožnost získat vzorek od všech typů nádorů. Terapie pomocí CAR T-lymfocytů čítá řadu problémů, přesto se využívá v terapii lymfomů, resp. nádorových buněk s expresí CD19. Potenciál nově mají i duální CAR T-buňky, které působí na cílový antigen, ale i na další cílovou strukturu, ty teprve procházejí výzkumem. TCR terapie má méně nežádoucích účinků, zároveň není namířena proti zdravým buňkám pacienta.

Přestože adoptivní buněčná terapie nabízí naději na účinnou léčbu nádorových onemocnění, setkává se s řadou výzev. Mezi tyto výzvy patří obtížnost získání a expanze adekvátních terapeutických buněk, potenciální toxicita a řada nežádoucích účinků terapie. Další výzvou jsou náklady spojené s výzkumem a vývojem.

Budoucí výzkumy ACT se budou zaměřovat na zdokonalení technik získávání a úpravy buněk, optimalizaci protokolů léčby a snižování nákladů, aby se adoptivní buněčná terapie mohla stát široce dostupnou a efektivní léčebnou možností pro co největší počet pacientů.

## Použité zdroje

1. TROJAN, Stanislav. *Lékařská fyziologie*. Vyd. 4., přeprac. a dopl. Praha: Grada, 2003, s. 163-176. ISBN 80-247-0512-5.
2. REDENTE, Elizabeth F.; JAKUBZICK, Claudia V.; MARTIN, Thomas R. a RICHES, David W.H. 12 - Innate Immunity. In: *Murray & Nadel's Textbook of Respiratory Medicine*. Sixth Edition. Elsevier, 2016, s. 184. ISBN 9780323398534. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-3383-5.00012-9>.
3. HATO, Takashi a DAGHER, Pierre C. How the Innate Immune System Senses Trouble and Causes Trouble. Online. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2015, (10), č. 8, s. 1459-1469. [cit. 2024-03-18]. <https://doi.org/10.2215/CJN.04680514>.
4. GRUDA, Maryann C.; RUGGEBERG, Karl-Gustav; O'SULLIVAN, Pamela; GULIASHVILI, Tamaz; SCHEIRER, Andrew R. et al. Broad adsorption of sepsis-related PAMP and DAMP molecules, mycotoxins, and cytokines from whole blood using CytoSorb® sorbent porous polymer beads. Online. *PLOS ONE*. 2018 (13), č. 1, s. 1-12. [cit. 2024-03-18]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191676>.
5. JÍLEK, Petr. *Imunologie: stručně, jasně, přehledně*. 2., doplněné vydání. Praha: Grada Publishing, 2019, s. 17-31. ISBN 978-80-271-0595-3.
6. SHALAPOUR, Shabnam a KARIN, Michael. Immunity, inflammation, and cancer: an eternal fight between good and evil. Online. *The Journal of Clinical Investigation*. 2015 (125), č. 9, s. 3347-3351. [cit. 2024-01-16]. <https://doi.org/10.1172/JCI80007>.
7. CHOTTOVÁ-DVOŘÁKOVÁ, Magdalena a MISTROVÁ, Eliška. *Fyziologie krve a základy imunity*. Praha: Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum, 2018, s. 93-98. ISBN 978-80-246-3833-1.
8. VOKURKA, Martin a UNIVERZITA KARLOVA. LÉKAŘSKÁ FAKULTA, 1. *Patofyziologie pro nelékařské směry*. Praha: Karolinum, 2018, s. 65-71. ISBN 978-80-246-3563-7.
9. CROTTY, Shane. A brief history of T cell help to B cells. Online. *Nature Reviews Immunology volume*. 2015 (15), s. 185-189. [cit. 2024-03-18]. <https://doi.org/10.1038/nri3803>.
10. MURPHY, Kenneth; TRAVERS, Paul; WALPORT, Mark a JANEWAY, Charles. *Janeway's Immunobiology*. 8th ed. Garland Science, 2012, s. 23-75. ISBN 9780815345305.

11. OKEKE, Chukwubike U.; UKIBE, Solomon N.; HOLY, Brown a EZEIRUAKU, Ferdinand. The Preterm Effect of Antiretroviral Drugs on Total Lymphocyte Cells and CD4 Cells in HIV-Infected Pregnant Women. Online. *Journal of Blood Disorders & Transfusion*. 2016 (7), č. 3, s. 1-4. [cit. 2024-03-18]. <https://doi.org/10.4172/2155-9864.1000353>.
12. BARIK, Satadal. Anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells for Multiple Myeloma. Online. *Journal of Blood Disorders & Transfusion*. 2016 (7), č. 2, s. 2-3. [cit. 2024-03-18].
13. BONILLA, Francisco A. a OETTGEN, Hans C. Adaptive immunity. Online. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2010 (125), č. 2, s. S33-S40. [cit. 2024-03-18]. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.09.017>.
14. CROTTY, Shane. A brief history of T cell help to B cells. Online. *Nature Reviews Immunology*. 2015 (15), č. 3, s. 185–189. [cit. 2024-03-18]. <https://doi.org/10.1038/nri3803>.
15. ISHIKAWA, Rikiya; KAJIKAWA, Mizuho a ISHIDO, Satoshi. Loss of MHC II ubiquitination inhibits the activation and differentiation of CD4 T cells. Online. *International Immunology*. 2014 (26), č. 5, s. 283–289. [cit. 2024-03-18]. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxt066>.
16. SHRAGER, Scott H. a KIEL, Christina. SnapShot: APC/T-Cell Immune Checkpoints. Online. *Cell*. 2020 (183), č. 4, s. 1142-1142. [cit. 2024-03-18]. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.10.007>.
17. NOVELLI, Giuseppe a NOVELLI, Lucia. Anti-cancer therapy: the future is in “personalized” therapies. Online. *Ital J. of Sex- and Gender-Specific Medicine*. 2018 (4), č. 3, s. 89-90. [cit. 2024-03-18]. <https://doi.org/10.1723/3035.30351>.
18. GOURRAUD, Pierre-Antoine; KHANKHANIAN, Pouya; CEREB, Nezh; YANG, Soo Young; FEOLO, Michael et al. HLA Diversity in the 1000 Genomes Dataset. Online. *PLOS ONE*. 2014, s. 1-8. [cit. 2024-03-19]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097282>.
19. HAZINI, Ahmet; FISHER, Kerry a SEYMOUR, Len. Deregulation of HLA-I in cancer and its central importance for immunotherapy. Online. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*. 2021 (9), s. 1-17. [cit. 2024-03-19]. <https://doi.org/10.1136/jitc-2021-002899>.
20. ELABD, Hesham; BACHER, Petra; THOLEY, Andreas; LENZ, Tobias L. a FRANKE, Andre. Challenges and opportunities in analyzing and modeling peptide presentation by HLA-II proteins. Online. *Frontiers in Immunology*. 2023 (14), s. 01-07. [cit. 2024-03-19]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1107266>.

21. COLBERT, Jeff D.; CRUZ, Freidrich M. a ROCK, Kenneth L. Cross-presentation of exogenous antigens on MHC I molecules. Online. *Current Opinion in Immunology*. 2020 (64), s. 1-8. [cit. 2024-03-19]. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2019.12.005>.
22. HIVROZ, Claire a SAITAKIS, Michael. Biophysical Aspects of T Lymphocyte Activation at the Immune Synapse. Online. *Frontiers in Immunology*. 2016 (7), s 1-3. [cit. 2024-01-17]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00046>.
23. KAMATA, Toshiko; SUZUKI, Akane; MISE, Naoko; IHARA, Fumie; TAKAMI, Mariko et al. Blockade of programmed death-1/programmed death ligand pathway enhances the antitumor immunity of human invariant natural killer T cells. Online. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2016 (65), s. 1477–1489. [cit. 2024-03-19]. <https://doi.org/10.1007/s00262-016-1901-y>.
24. ORAKPOGHENOR, Ochuko; AVAZI, Daniel O.; MARKUS, Talatu a OLAOLU, Olushola. Lymphocytes: A Brief Review. Online. *Scientific Journal of Immunology & Immunotherapy*. 2019 (3), č. 1, s. 004-008. [cit. 2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25677493/>
25. ZHU, Chaojie; WU, Qing; SHENG, Tao; SHI, Jiaqi; SHEN, Xinyuan et al. Rationally designed approaches to augment CAR-T therapy for solid tumor treatment. Online. *Bioactive Materials*. 2024 (33), s. 377-395. [cit. 2024-02-02]. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2023.11.002>.
26. MARCUS, Assaf, Benjamin G. GOWEN, Thornton W. THOMPSON, Alexandre IANNELLO, Michele ARDOLINO, Weiwen DENG, Lin WANG a Nataliya SHIFRIN. Recognition of tumors by the innate immune system and natural killer cells. *Advances in Immunology*. Online. 2014 (122), s. 91–128. [cit. 2024-03-01]. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800267-4.00003-1>
27. RU, Beibei; WONG, Ching Ngar; TONG, Yin; ZHONG, Jia Yi; ZHONG, Sophia S. W. et al. TISIDB: an integrated repository portal for tumor–immune system interactions. Online. *Bioinformatics*. 2019, (35), č. 20, s. 4200-4202. [cit. 2024-03-01]. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz210>.
28. DHAR, Ruby; SEETHY, Ashikh; SINGH, Sunil; PETHUSAMY, Karthikeyan; SRIVASTAVA, Tryambak et al. Cancer immunotherapy: Recent advances and challenges. Online. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. 2021 (17), č. 4, s. 834-844. [cit. 2024-01-16]. [https://doi.org/10.4103/jcrt.JCRT\\_1241\\_20](https://doi.org/10.4103/jcrt.JCRT_1241_20).

29. WU, Zhengguo; LI, Shang a ZHU, Xiao. The Mechanism of Stimulating and Mobilizing the Immune System Enhancing the Anti-Tumor Immunity. Online. *Frontiers in Immunology*. 2021 (12), s. 1-2. [cit. 2024-01-10]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.682435>.
30. BULE, Pedro; AGUIAR, Sandra I.; AIRES-DA-SILVA, Frederico a DIAS, Joana N. R. Chemokine-Directed Tumor Microenvironment Modulation in Cancer Immunotherapy. Online. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, s. 1-2. [cit. 2024-01-10]. <https://doi.org/10.3390/ijms22189804>.
31. ZILBERBERG, Jenny; FEINMAN, Rena a KORNGOLD, Robert. Strategies for the Identification of T Cell-Recognized Tumor Antigens in Hematological Malignancies for Improved Graft-versus-Tumor Responses after Allogeneic Blood and Marrow Transplantation. Online. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2015 (21), č. 6, s. 1000-1007. [cit. 2024-03-02]. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2014.11.001>.
32. SCHUSTER, Heiko; PEPPER, Janet K.; BÖSMÜLLER, Hans-Christian; RÖHLE, Kevin; BACKERT, Linus et al. The immunopeptidomic landscape of ovarian carcinomas. Online. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017 (114), č. 46, s. E9942–E9951. [cit. 2024-03-19]. <https://doi.org/10.1073/pnas.1707658114>.
33. HERNÁNDEZ, Javier; GARCÍA-PONS, Francisco; LONE, Yu Chun; FIRAT, Huseyin; SCHMIDT, Joseph D. et al. Identification of a human telomerase reverse transcriptase peptide of low affinity for HLA A2.1 that induces cytotoxic T lymphocytes and mediates lysis of tumor cells. Online. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002 (99), č. 19, s. 12275–12280. [cit. 2024-03-19]. <https://doi.org/10.1073/pnas.182418399>.
34. GOTTER, Jörn; BRORS, Benedikt; HERGENHAHN, Manfred a KYEWSKI, Bruno. Medullary epithelial cells of the human thymus express a highly diverse selection of tissue-specific genes colocalized in chromosomal clusters. Online. *Journal of Experimental Medicine*. 2004 (199), č. 2, s. 155-166. [cit. 2024-03-19]. <https://doi.org/10.1084/jem.20031677>.
35. COULIE, PIERRE G.; LEHMANN, FREDEIRIC; LETHE, BERNARD; HERMAN, JEAN; LURQUIN, CHRISTOPHE et al. A mutated intron sequence codes for an antigenic peptide recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. Online. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1995 (92), s. 7976-7980. [cit. 2024-03-19]. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.17.7976>.
36. LAUMONT, Céline M.; VINCENT, Krystel; HESNARD, Leslie; AUDEMARD, Éric; BONNEIL, Éric et al. Noncoding regions are the main source of targetable tumor-specific



- antigens. Online. *Journal of Translational Medicine*. 2018 (10), č. 470, s. 1-11. [cit. 2024-03-19]. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aau5516>.
37. JIANG, Yao; KRISHNAN, Nishta; ZHOU, Jiarong; CHEKURI, Sanam; WEI, Xiaoli et al. Engineered Cell Membrane-Coated Nanoparticles Directly Present Tumor Antigens to Promote Anticancer Immunity. Online. *Advanced Materials*. 2020 (32), č. 30, s. 1-3. [cit. 2024-02-05]. <https://doi.org/10.1002/adma.202001808>.
38. WOLPERT, Elisabeth Z.; GRUFMAN, Per; SANDBERG, Johan K.; TEGNESJÖ, Anna a KÄRRE, Klas. Immunodominance in the CTL Response Against Minor Histocompatibility Antigens: Interference Between Responding T Cells, Rather than with Presentation of Epitopes. Online. *The Journal of Immunology*. 1998 (161), č. 9, s. 4499–4505. [cit. 2024-03-19]. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.161.9.4499>.
39. HOŘEJŠÍ, Václav. Protinádorové zbraně imunitního systému. Online. *Klinická onkologie*. 2015, č. 28, s. 15-22. [cit. 2024-01-08]. <http://dx.doi.org/10.14735/amko20154S15>.
40. VESELSKÝ, Zbyněk; MACEK, Petr; MORÁVEK, Petr; PROŠVIC, Petr; HOLUB, Lukáš et al. Základy imunologie nádorových onemocnění. Online. *Urologie pro praxi*. 2004, č. 1, s. 17-19. [cit. 2023-12-11]. <https://www.urologiepropraxi.cz/pdfs/uro/2004/01/05.pdf>.
41. SABRY, May a LOWDELL, Mark W. Killers at the crossroads: The use of innate immune cells in adoptive cellular therapy of cancer. Online. *Stem Cells Translational Medicine*. 2020 (9), č. 9, s. 974-984. [cit. 2024-03-02]. <https://doi.org/10.1002/sctm.19-0423>.
42. BENSON, Don M. a CALIGIURI, Michael A. Killer Immunoglobulin-like Receptors and Tumor Immunity. Online. *Cancer Immunology Research*. 2014 (2), č. 2, s. 99–104. [cit. 2024-04-10]. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-13-0219>.
43. GOLDAR, Samira; KHANIANI, Mahmoud S.; DERAKHSHAN, Sima M. a BARADARAN, Behzad. Molecular Mechanisms of Apoptosis and Roles in Cancer Development and Treatment. Online. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2015 (16), article 6, s. 2129. [cit. 2024-01-05]. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2015.16.6.2129>.
44. ŘÍHOVÁ, Blanka a ŠŤASTNÝ, Marek. Historie imunoterapie – od Coley toxinů ke kontrolním bodům imunitní reakce. Online. *Klinická onkologie*. 2015 (28), č. Supplementum 4, s. 4S8-4S10. ISSN 1802-5307. [cit. 2023-12-11]. <https://www.linkos.cz/files/klinicka-onkologie/408/4830.pdf>.
45. ENO, Jessica. Immunotherapy Through the Years. *Journal of the Advanced Practitioner in Oncology* online. 2017, 8(7), s. 747-749. [cit. 2024-01-29]. <https://doi.org/10.6004/jadpro.2017.8.7.8>.

46. DEMARIA, Sandra; COLEMAN, C. Norman a FORMENTI, Silvia C. Radiotherapy: Changing the Game in Immunotherapy. Online. *Trends Cancer*. 2016 (2), č. 6, s. 286-294. [cit. 2024-01-29]. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2016.05.002>.
47. JAMPILEK, Josef a Katarina KRALOVA. Insights into Lipid-Based Delivery Nanosystems of Protein-Tyrosine Kinase Inhibitors for Cancer Therapy. *Pharmaceutics* online. 2022, 14(12), s. 2-3. [cit. 2024-01-29]. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14122706>.
48. ROHAAN, Maartje W.; WILGENHOF, Soufie a HAANEN, John B. A. G. Adoptive cellular therapies: the current landscape. Online. *Virchows Archiv*. 2018, s. 450-456. [cit. 2023-12-11]. <https://doi.org/10.1007/s00428-018-2484-0>.
49. YUZHAKOVA, D. V.; SHIRMANOVA, Marina V.; SERGEEVA, T. F.; ZAGAYNOVA, E. V. a LUKYANOV, Konstantin. Immunotherapy of Cancer (Review). Online. *Sovremennye tehnologii v medicine*. 2016 (8), č. 1, s. 173-176. [cit. 2024-01-12]. <https://doi.org/10.17691/stm2016.8.1.23>.
50. VIANZON, Vianca V.; HANSON, Rylee M.; GARG, Ishita; JOSEPH, Gwennyth J. a ROGERS, Laura M. Rank aggregation of independent genetic screen results highlights new strategies for adoptive cellular transfer therapy of cancer. Online. *Frontiers in Immunology*. 2023 (14), s. 01. [cit. 2024-01-29]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1235131>.
51. GREENBERG, Philip D. How Cellular Immunotherapies Are Changing the Outlook for Cancer Patients. Online. 2022. [cit. 2023-12-12]. <https://www.cancerresearch.org/treatment-types/adoptive-cell-therapy>.
52. PERICA, Karlo; VARELA, Juan Carlos; OELKE, Mathias a SCHNECK, Jonathan. Adoptive T Cell Immunotherapy for Cancer. Online. 2015 (6), č. 1, s. 2. *Rambam Maimonides Medical Journal*. [cit. 2023-12-12]. <https://doi.org/10.5041/RMMJ.10179>.
53. LULLA, Premal D., Maksim MAMONKIN, Malcolm BRENNER a. Adoptive Cell Therapy for Acute Myeloid Leukemia and T-cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *The Cancer Journal* online. 2019, 25(3), s. 199-207. [cit. 2024-01-29]. <https://doi.org/10.1097/PPO.0000000000000376>.
54. VÁVROVÁ, Kateřina; BARTUŇKOVÁ, Jiřina a HORVÁTH, Rudolf. Adoptivní buněčná terapie pomocí lymfocytů T v léčbě nádorů. Online. *Onkologie*. 2015 (9), č. 1, s. 7-9. ISSN 1802-4475. [cit. 2024-01-18]. <https://www.onkologiecs.cz/pdfs/xon/2015/01/03.pdf>.
55. RAGONE, Concetta; MANOLIO, Carmen; CAVALLUZZO, Beatrice; MAURIELLO, Angela; TORNESELLO, Maria L. et al. Identification and validation of viral antigens sharing sequence and structural homology with tumor – associated antigens (TAAs). Online. *Journal*

- for *ImmunoTherapy of Cancer*. 2021 (9), č. 5, s. 1-2. [cit. 2024-03-02]. <https://doi.org/10.1136/jitc-2021-002694>.
56. SMITH, Aaron J.; OERTLE, John; WARREN, Dan a PRATO, Dino. Chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy for malignant cancers: Summary and perspective. Chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy for malignant cancers: Summary and perspective. Online. *Journal of Cellular Immunotherapy*. 2016 (2), s. 59-68. [cit. 2024-03-19]. <https://doi.org/10.1016/j.jocit.2016.08.001>.
57. WU, Jing; YU, Yiyi; ZHANG, Shilong; ZHANG, Pengfei; YU, Shan et al. Clinical significance of peripheral T-cell receptor repertoire profiling and individualized nomograms in patients with gastrointestinal cancer treated with anti-programmed death 1 antibody. Online. *Translational Gastroenterology and Hepatology*. 2024 (9), s. 3-8. [cit. 2024-02-02]. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2551844/v1>.
58. MARIN, David; LI, Ye; BASAR, Rafet; RAFEI, Hind; DAHER, May et al. Safety, efficacy and determinants of response of allogeneic CD19-specific CAR-NK cells in CD19+ B cell tumors: a phase 1/2 trial. Online. *Nature Medicine*. 2024, s. 1-2. [cit. 2024-03-03]. <https://doi.org/10.1038/s41591-023-02785-8>.
59. BAGGIO, Letícia; LAUREANO, Álvaro M.; ROCHA SILLA, Lucia M. da a LEE, Dean A. Natural killer cell adoptive immunotherapy: Coming of age. Online. *Clinical Immunology*. 2017 (177), s. 3-11. [cit. 2023-12-13]. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2016.02.003>.
60. MIE, Keiichiro; SHIMADA, Terumasa; AKIYOSHI, Hideo a HAYASHI, Akiyoshi. Change in peripheral blood lymphocyte count in dogs following adoptive immunotherapy using lymphokine-activated T killer cells combined with palliative tumor resection. Online. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2016 (177), s. 58-63. [cit. 2024-03-03]. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2016.06.007>.
61. SAITO, Hiroki; ANDO, Satoshi; MORISHITA, Naoya; LEE, Kyung-Mi; DATOR, Dante et al. A Combined Lymphokine-activated Killer (LAK) Cell Immunotherapy and Adenovirus-p53 Gene Therapy for Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. Online. *Anticancer research*. 2014 (34), č. 7, s. 3365-3370. [cit. 2024-03-03]. <https://ar.iiarjournals.org/content/anticancer/34/7/3365.full.pdf>.
62. SCHMEEL, Leonard Ch.; SCHMEEL, Frederic C.; COCH, Christoph a SCHMIDT-WOLF, Ingo G. H. Cytokine-induced killer (CIK) cells in cancer immunotherapy: report of the international registry on CIK cells (IRCC). Online. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2015 (141), s. 839–849. [cit. 2024-03-03]. <https://doi.org/10.1007/s00432-014-1864-3>.

63. YANG, Liu; YU, Huifang; Shuang; ZHONG, Yi a HU, Sheng. Recognizing and managing on toxicities in cancer immunotherapy. Online. *Tumor Biology*. 2017 (39), č. 3. [cit. 2024-03-09]. <https://doi.org/10.1177/1010428317694542>.
64. WANG, Zhidong a CAO, Yu J. Adoptive Cell Therapy Targeting Neoantigens: A Frontier for Cancer Research. Online. *Front. Immunol.* 2020 (11), s. 1-3. [cit. 2023-12-12]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00176>.
65. JUNE, Carl; RIDDELL, Stanley R. a SCHUMACHER, Ton N. Adoptive cellular therapy: A race to the finish line. Online. *Science Translational Medicine*. 2015 (7), s. 1-2. [cit. 2024-03-09]. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa3643>.
66. AHMADVAND, Mohammad; BAROUGH, Mahdieh S.; BARKHORDAR, Maryam; FARIDFAR, Ali a GHADERI, Afshin. Phase I non-randomized clinical trial of allogeneic natural killer cells infusion in acute myeloid leukemia patients. Online. *BMC Cancer*. 2023 (23), č. 1090, s. 1-5. [cit. 2024-03-03]. <https://doi.org/10.1186/s12885-023-11610-x>.
67. CAO, Huynh; KIM, Do Hyun; HOWARD, Ashley; MOZ, Hector a WASNIK, Samiksha. Ex vivo isolation, expansion and bioengineering of CCR7+CD95-/or CD62L+CD45RA+ tumor infiltrating lymphocytes from acute myeloid leukemia patients' bone marrow. Online. *Neoplasia*. 2021 (23), č. 12, s. 1252-1260. [cit. 2024-03-03]. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2021.11.003>.
68. DE JONGE, P. K. J. D.; VAN HAUTEN, P. M. M.; JANSSEN, L. D.; DE GOEDE, A. L. a BERRIEN-ELLIOTT, M. M. Good manufacturing practice production of CD34+ progenitor-derived NK cells for adoptive immunotherapy in acute myeloid leukemia. Online. *Cancer Immunology Immunotherapy*. 2023 (72), č. 10, s. 3323–3335. [cit. 2024-03-03]. <https://doi.org/10.1007/s00262-023-03492-6>.
69. FANG, Karen Kai-Lin; LEE, Jongbok; KHATRI, Ismat; NA, Yoosu a ZHANG, Li. Targeting T-cell malignancies using allogeneic double-negative CD4 – CAR-T cells. Online. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*. 2023 (11), č. 9, s. 1-4. [cit. 2024-03-03]. <https://doi.org/10.1136/jitc-2023-007277>.
70. HIXON, Julie A.; ANDREWS, Caroline; KASHI, Lila; KOHNHORST, Casey L.; SENKEVITCH, Emilee et al. New anti-IL-7R $\alpha$  monoclonal antibodies show efficacy against T cell acute lymphoblastic leukemia in pre-clinical models. Online. *Leukemia*. 2020 (34), č. 1, s. 35-49. [cit. 2024-03-04]. <https://doi.org/10.1038/s41375-019-0531-8>.
71. PERNA, Serena K.; HUYE, Leslie E. a SAVOLDO, Barbara. Management of patients with non-Hodgkin's lymphoma: focus on adoptive T-cell therapy. Online. *Immuno Targets and Therapy*. 2015 (4), s. 55-63. [cit. 2024-03-04]. <https://doi.org/10.2147/ITT.S31389>.

72. SHINGLETON, Jennifer, Jie WANG, Carolyn BALOH, et al. Non-Hodgkin Lymphomas: Malignancies Arising from Mature B Cells. Online. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2022 (11), č. 3, s. 1-12. [cit. 2024-03-04]. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a034843>.
73. DENLINGER, Nathan; BOND, David a JAGLOWSKI, Samantha. CAR T-cell therapy for B-cell lymphoma. Online. *Current Problems in Cancer*. 2022 (46), č. 1, s. 1-5. [cit. 2024-03-04]. <https://doi.org/10.1016/j.currproblcancer.2021.100826>.
74. JAIN, Tania; BAR, Merav; KANSAGRA, Ankit J.; CHONG, Elise A.; HASHMI, Shahrukh K. et al. Use of Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy in Clinical Practice for Relapsed/Refractory Aggressive B Cell Non-Hodgkin Lymphoma: An Expert Panel Opinion from the American Society for Transplantation and Cellular Therapy. Online. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2019 (25), č. 12, s. 2305-2321. [cit. 2024-03-04]. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2019.08.015>.
75. D'AGOSTINO, Mattia; BOCCADORO, Mario a SMITH, Eric L. Novel Immunotherapies for Multiple Myeloma. Online. *Current Hematologic Malignancy Reports*. 2017 (12), č. 4, s. 344-357. [cit. 2024-03-05]. <https://doi.org/10.1007/s11899-017-0397-7>.
76. GARFALL, Alfred L.; DANCY, Ehren K.; COHEN, Adam D.; HWANG, Wei-Ting; FRAIETTA, Joseph A. et al. T-cell phenotypes associated with effective CAR T-cell therapy in postinduction vs relapsed multiple myeloma. Online. *Stimulus Report*. 2019 (3), č. 19, s. 2812–2815. [cit. 2024-03-05]. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2019000600>.
77. SAMUR, Mehmet K.; FULCINITI, Mariateresa; SAMUR, Anil A.; BAZARBACHI, Abdul H.; TAI, Yu-Tzu et al. Biallelic loss of BCMA as a resistance mechanism to CAR T cell therapy in a patient with multiple myeloma. Online. *Nature Communications*. 2021 (12), č. 868, s. 1-7. [cit. 2024-03-05]. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21177-5>.
78. MEI, Heng; LI, Chenggong; JIANG, Huiwen; ZHAO, Xinying; HUANG, Zhiping et al. A bispecific CAR-T cell therapy targeting BCMA and CD38 in relapsed or refractory multiple myeloma. Online. *Journal of Hematology & Oncology*. 2021 (14), č. 161, s. 1-17. [cit. 2024-03-05]. <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01170-7>.
79. ROEX, Gils; TIMMERS, Marijke; WOUTERS, Kristien; CAMPILLO-DAVO, Diana; FLUMENS, Donovan et al. Safety and clinical efficacy of BCMA CAR-T-cell therapy in multiple myeloma. Online. *Journal of Hematology & Oncology*. 2020 (13), č. 164, s. 1-14. [cit. 2024-03-05]. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-01001-1>.
80. MASTAGLIO, Sara; GENOVESE, Pietro; MAGNANI, Zulma; LANDONI, Elisa; CAMISA, Barbara et al. 752. Single Chain TCR Gene Editing in Adoptive Cell Therapy for

- Multiple Myeloma. Online. *Molecular therapy*. 2016 (24), s. S297-S297. ISSN 1525-0016. [cit. 2024-03-05]. [https://doi.org/10.1016/S1525-0016\(16\)33560-2](https://doi.org/10.1016/S1525-0016(16)33560-2).
81. SAINT-JEAN, Mélanie; KNOL, Anne-Chantal; VOLTEAU, Christelle; QUÉREUX, Gaele; PEUVREL, Lucie et al. Adoptive Cell Therapy with Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Advanced Melanoma Patients. Online. *Journal of Immunology Research*. 2018, s. 1-10. [cit. 2024-03-05]. <https://doi.org/10.1155/2018/3530148>.
82. LAUMONT, Céline M.; DAOUDA, Tariq; LAVERDURE, Jean-Philippe; BONNEIL, Éric; CARON-LIZOTTE, Olivier et al. Global proteogenomic analysis of human MHC class I-associated peptides derived from non-canonical reading frames. Online. *Nature Communications*. 2016 (7), s. 1-11. [cit. 2024-03-22]. <https://doi.org/10.1038/ncomms10238>.
83. NGUYEN, Linh T.; SAIBIL, Samuel D.; SOTOV, Valentin; LE, Micheal X.; KHOJA, Leila et al. Phase II clinical trial of adoptive cell therapy for patients with metastatic melanoma with autologous tumor-infiltrating lymphocytes and low-dose interleukin-2. Online. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2019 (68), s. 773-785. [cit. 2024-03-05]. <https://doi.org/10.1007/s00262-019-02307-x>.
84. FELDMAN, Steven A.; ASSADIPOUR, Yasmine; KRILEY, Isaac a GOFF, Stephanie L. Adoptive Cell Therapy—Tumor-Infiltrating Lymphocytes, T-Cell Receptors, and Chimeric Antigen Receptors. Online. *Semin Oncol*. 2015 (42), č. 4, s. 626–639. [cit. 2024-03-05]. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2015.05.005>.
85. SCHOOTEN, Erik; MAGIIO, Alessia Di; EN HENEGOUWEN, Paul M. P. van Bergen a KIJANKA, Marta M. MAGE-A antigens as targets for cancer immunotherapy. Online. *Cancer Treatment Reviews*. 2018 (67), s. 54-62. [cit. 2024-03-05]. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2018.04.009>.
86. TESFAYE, Mekdem a SAVOLDO, Barbara. Adoptive Cell Therapy in Treating Pediatric Solid Tumors. Online. *Current Oncology Reports*. 2018, s. 1-6. [cit. 2024-03-05]. <https://doi.org/10.1007/s11912-018-0715-9>.
87. BURGESS, Melissa a TAWBI, Hussein. Immunotherapeutic Approaches to Sarcoma. Online. *Current Treatment Options in Oncology*. 2015 (16), č. 26, s. 1-10. [cit. 2024-03-06]. <https://doi.org/10.1007/s11864-015-0345-5>.
88. NIELSEN, Morten; MONBERG, Tine; SUNDVOLD, Vibeke; ALBIERI, Benedetta; HOVGAARD, Dorrit et al. LTX-315 and adoptive cell therapy using tumor-infiltrating lymphocytes generate tumor specific T cells in patients with metastatic soft tissue sarcoma. Online. *OncImmunity*. 2024 (13), č. 1, s. 1-10. [cit. 2024-03-

- 06]. <https://www.tandfonline.com/doi/epdf/10.1080/2162402X.2023.2290900?needAccess=true>.
89. FOLKERT, Ian W.; DEVALARAJA, Samir; LINETTE, Gerald P.; WEBER, Kristy a HALDAR, Malay. Primary Bone Tumors: Challenges and Opportunities for CAR-T Therapies. Online. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2019 (34), č. 10, s. 1773-1978. [cit. 2024-03-06]. <https://doi.org/10.1002/jbmr.3852> open\_in\_new.
90. SONG, Mengjia; HUANG, Yue; HONG, Ye; LIU, Juan; ZHU, Jia et al. PD-L1-expressing natural killer cells predict favorable prognosis and response to PD-1/PD-L1 blockade in neuroblastoma. Online. *OncoImmunology*. 2024 (13), č. 1, s. 1-3. [cit. 2024-03-06]. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2023.2289738>.
91. QUAMINE, Aicha; MOHRDIECK, Nicholas R.; KING, Chloe A.; GRIGGS, Anastasia A.; TIPPINS, Katharine E. et al. TIM-3 blockade combined with adoptive therapy of ex vivo activated NK cells after allogeneic hematopoietic stem cell transplant reduces progression of relapsed murine neuroblastoma. Online. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*. 2023 (11), s. A431. [cit. 2024-03-06]. <https://doi.org/10.1136/jitc-2023-SITC2023.0382>.
92. YU, Lihua; HUANG, Lulu; LIN, Danna; LAI, Xiaorong; WU, Li et al. GD2-specific chimeric antigen receptor-modified T cells for the treatment of refractory and/or recurrent neuroblastoma in pediatric patients. Online. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2022 (148), s. 2643-2652. [cit. 2024-03-06]. <https://doi.org/10.1007/s00432-021-03839-5>.
93. BROWN, Christine E.; ALIZADEH, Darya; STARR, Renate; WENG, Lihong; WAGNER, Jamie R. et al. Regression of Glioblastoma after Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy. Online. *The New England Journal of Medicine*. 2016 (375), s. 2561-2569. [cit. 2024-03-06]. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1610497>.
94. ZHENG, Yan; GAO, Ning; FU, Yu-Long; ZHANG, Bing-Yong; LI, Xiu-Ling et al. Generation of regulable EGFRvIII targeted chimeric antigen receptor T cells for adoptive cell therapy of glioblastoma. Online. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2018 (507), č. 1-4, s. 59-66. [cit. 2024-03-06]. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.10.151>.
95. LIM, Jaejoon; PARK, YoungJoon; AHN, Ju Won; SIM, JeongMin; KANG, Su Jung et al. Autologous adoptive immune-cell therapy elicited a durable response with enhanced immune reaction signatures in patients with recurrent glioblastoma: An open label, phase I/IIa trial. Online. *PLOS ONE*. 2021, s. 1-18. [cit. 2024-03-06]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247293>.

96. URBANSKA, Katarzyna a POWELL JR., Daniel J. Advances and prospects in adoptive cell transfer therapy for ovarian cancer. Online. *Immunotherapy*. 2015 (7), č. 5, s. 473-476. [cit. 2024-03-06]. <https://doi.org/10.2217/imt.15.21>.
97. KONERU, Mythili; O'CEARBHAILL, Roisin; PENDHARKAR, Swati; SPRIGGS, David R. a BRENTJENS, Renier J. A phase I clinical trial of adoptive T cell therapy using IL-12 secreting MUC-16ecto directed chimeric antigen receptors for recurrent ovarian cancer. Online. *Journal of Translational Medicine*. 2015 (13), č. 102, s. 1-8. [cit. 2024-03-09]. <https://doi.org/10.1186/s12967-015-0460-x>.
98. WALLACE, Zoe; SINGH, Praveen K. a DORRELL, Lucy. Combination strategies to durably suppress HIV-1: Soluble T cell receptors. Online. *Journal of Virus Eradication*. 2022 (8), č. 3, s. 1-5. [cit. 2024-03-09]. <https://doi.org/10.1016/j.jve.2022.100082>.
99. KONRAD, Christina V.; IVERSEN, Emma F.; GUNST, Jesper D.; MONRAD, Ida; HOLLEUFER, Andreas et al. Redirector of Vaccine-induced Effector Responses (RoVER) for specific killing of cellular targets. Online. *EBioMedicine*. 2023 (96), s. 1-4. [cit. 2024-03-09]. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104785>.
100. JIANG, Zhengtao; LIANG, Huitong; PAN, Hanyu; LIANG, Yue; WANG, Hua et al. HIV-1-Specific CAR-T Cells With Cell-Intrinsic PD-1 Checkpoint Blockade Enhance Anti-HIV Efficacy in vivo. Online. *Frontiers in Microbiology*. 2021 (12), č. 684016, s. 1-4. [cit. 2024-03-09]. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.684016>.
101. MITSUYASU, R T; ANTON, P A; DEEKS, S G; SCADDEN, D T; CONNICK, E et al. Prolonged survival and tissue trafficking following adoptive transfer of CD4zeta gene-modified autologous CD4(+) and CD8(+) T cells in human immunodeficiency virus-infected subjects. Online. *Blood*. 2000 (96), č. 3, s. 785-793. [cit. 2024-03-22]. <https://doi.org/10.1182/blood.V96.3.785>.
102. DEEKS, S.G.; WAGNER, B.; ANTON, PA; MITSUYASU, RT; SCADDEN, DT et al. A phase II randomized study of HIV-specific T-cell gene therapy in subjects with undetectable plasma viremia on combination antiretroviral therapy. Online. *Molecular Therapy: the Journal of the American Society of Gene Therapy*. 2002 (5), č. 6, s. 788-797. [cit. 2024-03-22]. <https://doi.org/10.1006/mthe.2002.0611>.
103. SCHOLLER, John; BRADY, Troy L; BINDER-SCHOLL, Gwendolyn; HWANG, Wei-Ting; PLESA, Gabriela et al. Decade-long safety and function of retroviral-modified chimeric antigen receptor T cells. Online. *Science Translational Medicine*. 2012 (4), č. 132, s. 1-16. [cit. 2024-03-22]. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003761>.



104. PARK, Jang-June; WONG, David K.; WAHED, Abdus S.; LEE, William M.; FELD, Jordan J. et al. HBV-specific and global T-cell dysfunction in chronic hepatitis B. Online. *Gastroenterology*. 2016 (150), č. 3, s. 684-695. [cit. 2024-03-09]. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.11.050>.
105. KLOPP, Alexandre; SCHREIBER, Sophia; KOSINSKA, Anna D.; PULÉ, Martin; PROTZER, Ulrike et al. Depletion of T cells via Inducible Caspase 9 Increases Safety of Adoptive T-Cell Therapy Against Chronic Hepatitis B. Online. *Frontiers in Immunology*. 2021 (12), s. 1-4. [cit. 2024-03-09]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.734246>.
106. JIN, Xuexiao; XU, Qin; PU, Chengfei; ZHU, Kaixiang; LU, Cheng et al. Therapeutic efficacy of anti-CD19 CAR-T cells in a mouse model of systemic lupus erythematosus. Online. *Cellular & Molecular Immunology*. 2021 (18), č. 8, s. 1896-1903. [cit. 2024-03-09]. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0472-1>.
107. LEUVEN, Sander I van a DUIVENVOORDEN, Raphaël. CAR-T cell therapy in systemic lupus erythematosus and beyond: a brave new world? Online. *Rheumatology*. 2024, s. 1-3. [cit. 2024-03-09]. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keae108>.
108. DIDONA, Dario; PAOLINO, Giovanni; DI ZENZO, Giovanni; DIDONA, Biagio; PAMPENA, Riccardo et al. Pemphigus Vulgaris: Present and Future Therapeutic Strategies. Online. *Dermatology Practical & Conceptual*. 2022 (12), č. 1, s. 1-5. [cit. 2024-03-09]. <https://doi.org/10.5826/dpc.1201a37>.
109. FANG, Hui; LI, Qingyang a WANG, Gang. The role of T cells in pemphigus vulgaris and bullous pemphigoid. Online. *Autoimmunity Reviews*. 2020 (19), č. 11, s. 1-3. [cit. 2024-03-09]. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102661>.
110. SIDDIQI, Haziq F.; STASER, Karl W. a NAMBUDIRI, Vinod E. Research Techniques Made Simple: CAR T-Cell Therapy. Online. *Journal of Investigative Dermatology*. 2018 (138), č. 12, s. 2501-2504. [cit. 2024-03-09]. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2018.09.002>.
111. LEE, Jinmin a PAYNE, Aimee S. Advances in targeting CAR-T therapy for immune-mediated diseases. Online. *Cell Gene Therapy Insights*. 2018 (4), č. 4, s. 255-265. [cit. 2024-03-09]. <https://doi.org/10.18609/cgti.2018.026>.