

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Nádorová imunoterapie založená na buňkách vrozené imunity
Bakalářská práce

2025

Alona Stulnyk

University of Pardubice
Fakulty of Chemical Technology

Anti-Cancer Immunotherapy Based on Innate Immunity cells
Bachelor Thesis

2025

Alona Stulnyk

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Alona Stulnyk**
Osobní číslo: **C23445**
Studijní program: **B0914P360019 Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví**
Téma práce: **Nádorová imunoterapie založená na buňkách vrozené imunity**
Téma práce anglicky: **Anti-Cancer Immunotherapy Based on Innate Immunity Cells**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Seznamte se s literaturou týkající se protinádorové imunoterapie.
2. Vypracujte literární rešerši o mechanismech boje imunitního systému s nádory a imunoterapiích, které se zaměřují na ligandy stimulující dendritické buňky a makrofágy s protinádorovým účinkem.
3. Informace zpracujte přehledně, použijte také obrázky, schémata, grafy a ze získaných literárních údajů vytvořte závěry, jak budou tyto nové informace o využity k přípravě protinádorových vakcín.

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

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

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

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2024**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2025**

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

L.S.

prof. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2025

Prohlašuji:

Práci s názvem Nádorová imunoterapie založená buňkách vrozené imunity 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 30. 06. 2025

Alona Stulnyk v.r.

PODĚKOVÁNÍ

Především bych chtěla poděkovat své vedoucí práce, doc. Mgr. Marcele Slovákové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a trpělivost, kterou mi během celého procesu věnovala. Její podněty a připomínky mě výrazně nasměrovaly při zpracování tématu. Dále děkuji své rodině a svému příteli za psychickou podporu během celého studia.

ANOTACE

Práce je zaměřená na nádorovou imunoterapii, zejména o ligandech, stimulujících fagocytózu, princip jejich účinku a průběh léčby nádoru. Imunoterapie reprezentuje průlomový přístup k léčbě nádorových onemocnění s využitím schopností imunitního systému identifikovat a zničit nádorové buňky. Specifické ligandy podporující fagocytózu posilují aktivitu makrofágů a dendritických buněk, což způsobuje efektivnější eliminaci nádorových buněk. Bylo prozkoumáno několik ligandů, především takových, které cílí na receptory imunitních buněk.

KLÍČOVÁ SLOVA

Nádorová imunoterapie, fagocytóza, ligand, dendritická buňka, makrofág

TITLE

Anti-Cancer Immunotherapy Based on Innate Immunity Cells

ANNOTATION

The work focuses on cancer immunotherapy, particularly on ligands that stimulate phagocytosis, their principles, and the treatment process. Immunotherapy represents a breakthrough approach to cancer treatment, utilizing the immune system's ability to identify and eliminate tumor cells. Specific ligands supporting phagocytosis enhance the activity of macrophages and dendritic cells, leading to more efficient elimination of tumor cells. Several ligands have been studied, primarily those targeting immune cell receptors.

KEYWORDS

Cancer immunotherapy, phagocytosis, ligand, dendritic cell, macrophage

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK.....	9
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	10
ÚVOD.....	12
1.1 NESPECIFICKÁ NEBO VROZENÁ IMUNITA.....	14
1.1.1 Rozpoznání antigenu.....	14
1.1.2 Aktivace imunitních buněk a fagocytóza.....	15
1.1.3 Přenos signálu	15
1.2 SPECIFICKÁ IMUNITA	15
1.3 VROZENÁ VS. ADAPTIVNÍ IMUNITNÍ REAKCE	16
2. VYUŽITÍ BUNĚK VROZENÉ IMUNITY V IMUNOTERAPII.....	17
2.1 PŘEHLED STRATEGIÍ.....	17
2.2 POZITIVA POUŽITÍ BUNĚK NESPECIFICKÉ IMUNITY	18
2.2.1 Rychlá odpověď	18
2.2.2 Širší spektrum rozpoznání	18
2.2.3 Nižší riziko autoimunitních reakcí.....	19
2.2.4 Kombinace s dalšími léčebnými metodami	20
2.3 PŘEHLED METOD IMUNOTERAPIE, ZALOŽENÉ NA BUŇKÁCH SPECIFICKÉ IMUNITY	21
2.3.1 Adoptivní buněčná terapie	22
2.3.2 Protinádorové vakcíny	22
3. PROTINÁDOROVÁ ODPOVĚĎ POMOCÍ DENDRITICKÝCH BUNĚK.....	23
3.1 DENDRITICKÉ BUŇKY A VAKCÍNY ZALOŽENÉ NA JEJICH VYUŽITÍ	24
3.2 AKTIVACE ADAPTIVNÍ IMUNITY	25
4. IMUNOTERAPIE ZA VYUŽITÍ NK BUNĚK	27
4.1 CYTOTOXICITA NK BUNĚK	27
4.2 EXPANZE NK BUNĚK (EX VIVO).....	29
4.2.1 Využití cytokinů	29
4.3 CAR-NK TERAPIE	30
5. IMUNOTERAPIE ZA VYUŽITÍ MAKROFÁGŮ	31
5.1 M1 A M2 MAKROFÁGY	32
5.1 POLARIZAČNÍ ZMĚNY MAKROFÁGŮ, TERAPEUTICKÝ ÚČINEK	34
5.2 Γ T-LYMFOCYTY	36
5.2.1 Identifikace nádorových buněk.....	36
5.2.2 Potenciál v klinickém využití	37
6. LABORATORNÍ VÝSLEDKY A KLINICKÉ STUDIE DANÉ PROBLEMATIKY	38
6.1 JIŽ PROVÁDĚNÉ IMUNOTERAPIE	41
6.2 EXPERIMENTÁLNÍ VÝZKUM.....	41
6.3 NEVÝHODY A OMEZENÍ.....	43
6.4 MOŽNOSTI A PERSPEKTIVY V BUDOUCNOSTÍ.....	43
ZÁVĚR	45

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Ilustrace:

Obrázek 1: Povrchové aktivační molekuly NK buněk	18
Obrázek 2 Interakce mezi imunitními buňkami a nádorovými buňkami v nádorovém mikroprostředí.....	19
Obrázek 3 Interakce dendritických buněk (DC) s nádorovými buňkami	24
Obrázek 4 Dendritické buňky propojují vrozenou a adaptivní imunitu	26
Obrázek 5 KIR a KAR.....	29
Obrázek 6: Obrázek 6: Charakteristika makrofágů M1 a M2	33
Obrázek 7: Průběh polarizace makrofágů.....	34
Obrázek 8: přeměření M2-podobné TAMs do fenotypu M1.	35
Obrázek 9: Ligandy $\gamma\delta$ TCR, jako jsou fosfoantigeny, se mohou vázat na $\gamma\delta$ TCR	37
Obrázek 10: Typy makrofágů	39
Obrázek 11: CAR makrofágy	40
Obrázek 12: Molekula zoledronátu.....	40
Obrázek 13: Mechanismus DC vakcíny	41
Obrázek 14: Podání N-803/IL-15	42

Tabulky:

Tabulka 1: Rozdíly mezi vrozenou a adaptivní imunitou.....	17
--	----

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ACT – Adoptivní buněčná terapie (Adoptive Cell Therapy)

ADCC – Cytotoxicita zprostředkovaná protilátkami (Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity)

CAR– Chimérický antigenní receptor (Chimeric Antigen Receptor)

CCL20– Chemokin (C-C motiv) ligand 20

CD – Klastrové diference (Cluster of Differentiation)

CLR – C-lektinové receptory (C-type Lectin Receptors)

CR – Kompletní remise (Complete Remission)

CRS – syndrom uvolnění cytokinů (Cytokine Release Syndrome)

DAMPs – Molekuly asociované s poškozením (Damage-Associated Molecular Patterns)

EGF – Epidermální růstový faktor (Epidermal Growth Factor)

EGFR – Receptor epidermálního růstového faktoru (Epidermal Growth Factor Receptor)

FDA – Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (Food and Drug Administration, USA)

GM-CSF – Granulocytární makrofágový kolonie stimulující faktor (Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor)

GVHD – Reakce štěpu proti hostiteli (Graft-Versus-Host Disease)

INF – Interferon

iPSC – Indukované pluripotentní kmenové buňky (Induced Pluripotent Stem Cells)

IRF – Interferonem regulační faktory (Interferon Regulatory Factors)

KAR – Aktivační receptor zabíječských buněk (Killer Activating Receptor)

KIR – Inhibiční receptor zabíječských buněk (Killer Inhibitory Receptor)

MHC – Hlavní histokompatibilní komplex (Major Histocompatibility Complex)

MIC-A/B – MHC I polypeptidy A/B (MHC class I chain-related proteins A/B)

NFκB – Jaderný faktor kappa B (Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)

NKG2D – Přírozený zabíječský receptor 2 skupiny D (Natural Killer Group 2 Member D)

PD-1 – Programovaná smrt 1 (Programmed Cell Death Protein 1)

PD-L1 – Ligand programované smrti 1 (Programmed Death-Ligand 1)

STING – Stimulátor genů indukovaných interferonem (Stimulator of Interferon Genes)

TAM – Nádor-asociovaný makrofág (Tumor-Associated Macrophage)

TCR – Receptor T-lymfocytů (T Cell Receptor)

TGF – Transformující růstový faktor (Transforming Growth Factor)

TH2 – T-pomocné lymfocyty typu 2 (T-helper type 2 cells)

TIL – Nádor-infiltrující lymfocyty (Tumor-Infiltrating Lymphocytes)

TME – Nádorové mikroprostředí (Tumor Microenvironment)

TIGIT – T-cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains

ÚVOD

V průběhu posledních dekad se stala imunoterapie jedním z nejvíce progresivních přístupů v onkologické léčbě. Zatímco běžné přístupy, jako jsou například radioterapie, chemoterapie nebo chirurgická resekce nádoru, mají svoje nevýhody. Radioterapie a chemoterapie jsou toxické pro všechny typy buněk našeho organismu, což může přivést k závažnějším vedlejším účinkům. Kromě toho, výše uvedené metody mají vlastní limity, po které léčba už nebude účinná. I když chirurgické odstranění nádoru nepůsobí cytotoxicky, může dojít k recidivě, což je riziko opakovaného návratu nádoru.

Imunoterapie je pojem, což zahrnuje léčebné metody, které využívají přirozené imunitní mechanismy k aktivaci protinádorové imunity, a případně cílené doručení léčiv do místa nádoru. Imunoterapie je v současnosti v centru pozornosti výzkumu rakoviny a klinických studií. Nicméně stále existují omezení v odpovědi na léčbu u některých typů nádorů, zejména kvůli přítomnosti komplexní sítě imunomodulačních a imunosupresivních cest. Tato omezení pravděpodobně nelze překonat současnými imunoterapeutickými možnostmi, které často cílí na izolované kroky imunitních mechanismů, které se preferenčně podílejí na adaptivní imunitě. Některá z nich jsou založená na použití ligandů, stimulujících fagocytózu, jednu z prvních linií obrany vrozené imunity.

Fagocytózou nazýváme děj, při kterém fagocyty (buňky imunitního systému) pohlcují potenciální patogeny, což vede k jejich degradaci. Mezi nejdůležitější fagocyty řadíme makrofágy, neutrofilů a také dendritické buňky. Mechanismus působení fagocytů se skládá z čtyř fází: rozpoznání cíle a následná adheze, endocytóza (tvorba fagozomu), degradace a popř. prezentace antigenu na MHC molekulách. Tímto mechanismem bude aktivována adaptivní imunita.

Detekce patogenu probíhá pomocí receptorů pro nebezpečné vzory (PPR), které mohou být vázané na membránu buněk prezentujících antigen (APC) nebo mohou se vázat a označovat patogen, ten děj nazýváme opsonizace. Receptor se váže na struktury PAMPs (označení pro nebezpečné vzory). Do základních PPR receptorů patří: Toll-like-receptory 2, 4, 9 (TLR), manózoový receptor (CD206), CD11b/CD18 (adheze). Dráždění těchto receptorů vede k produkci cytokinů, jaké jsou např. interleukin 1, 6 (IL), tumor nekrosis faktor (TNF) a další IL-8 a IL-12.

Výzkum v této oblasti je velmi dynamický, a proto se neustále objevují nové cíle a molekuly, které mohou stimulovat vrozenou imunitu prostřednictvím dendritických buněk a makrofágů. Tento vývoj má velký potenciál nejen v oblasti vakcín, ale také v léčbě různých nádorových onemocnění a autoimunitních chorob.

Cílem této práce je analyzovat současné poznatky a přístupy v oblasti nádorové imunoterapie s využitím buněk vrozené imunity, zejména NK buněk, makrofágů a dendritických buněk, také zhodnotit výhody a nevýhody těchto strategií, shrnout výsledky laboratorních a klinických studií a diskutovat budoucí směry výzkumu a terapeutického využití v onkologii.

1. Reakce imunitního systému

Imunitní systém chrání tělo před nemocemi a infekcemi, které mohou způsobit bakterie, viry, houby nebo paraziti. Jedná se o soubor reakcí a odpovědí, které tělo vytváří na poškozené buňky nebo infekci. Proto se někdy označuje jako imunitní odpověď. Imunitní systém je důležitý pro lidi trpící rakovinou, protože: rakovina může oslabit imunitní systém, léčba rakoviny může imunitní systém oslabit, imunitní systém může pomoci v boji proti rakovině [1].

Složky imunitního systému je možné rozdělit na dvě skupiny, podle mechanismu působení: vrozená a získaná imunita. Nádorová imunoterapie se především zabývá stimulací buněk nespecifické (základní) imunity.

1.1 Nespecifická nebo vrozená imunita

Nespecifické mechanismy vrozené imunity se dělí do dvou skupin: buněčné a humorální. Mezi buněčné mechanismy řadíme mastocyty (nebo žírné buňky), natural killer cells (dále NK buňky) a fagocyty (makrofágy a neutrofilů). Mezi humorální mechanismy řadíme komplement a interferonový systém (skupina cytokinů) [2].

Nespecifické mechanismy vrozené imunity probíhají ve třech fázích: rozpoznání antigenu (např. mechanismus detekce u NK buněk), zahájení fagocytózy (granulocyty, makrofágy), aktivace komplementu (humorální látky, cytokiny) [1].

Ve výsledku probíhá likvidace antigenu (cizorodého materiálu, patogenu) a začne se počátek antigenně specifické imunitní reakce. Zároveň tento proces vede k prezentaci antigenních peptidů pomocí antigenů histokompatibilního komplexu (molekul HLA) na povrchu antigen prezentujících buněk. Tato prezentace umožňuje rozpoznání specifickými T lymfocyty, čímž je spuštěna adaptivní imunitní odpověď, která je cílená a paměťová.

1.1.1 Rozpoznání antigenu

Pro rozpoznání antigenu jsou na povrchu fagocytů rozmístěny různé receptory, endocytární Pattern Recognition Receptors (PRRs), které dokážou rozpoznat konkrétní molekulární vzorce spojené s patogeny, jinak PAMPs nebo s již poškozenými buňkami (DAMPs). Mechanismus detekuje antigen rychleji než adaptivní imunita, ale zatímco využívá receptory, které rozpoznávají širokou škálu patogenu. Výhodou je, že u tohoto mechanismu není potřeba předchozí expozice [1].

Hlavní typy PRRs jsou: TLR, NOD-like receptors (NLR), C-type lectin receptors (CLR) [3].

1.1.2 Aktivace imunitních buněk a fagocytóza

Jakmile dojde k rozpoznání PAMPs nebo DAMPs imunitním systémem, bude zahájena aktivace imunitních buněk prostřednictvím signálních drah, což vyvolá imunitní odpověď. Imunitní odpověď začíná uvolněním prozánětlivých cytokinů, jsou to například IL-1, IL-6, TNF- α , interferon typu I (INF), α a β , tyto slouží k aktivaci zánětlivého procesu. Právě pomocí cytokinů dojde k zahájení vedlejších buněk a zvýšení zánětlivé reakci. Jakmile bude antigen identifikován pomocí PRRs, makrofágy a neutrofilů začnou je fagocytovat a následně zabijí je ve fagosomech [4].

PRRs mohou aktivovat jinou součástí vrozené imunity, kaskádu komplementu, což znamená zničení patogenu pomocí lyze nebo usnadnění fagocytózy.

1.1.3 Přenos signálu

Signál je přenášen do jádra buňky, kde dojde k stimulaci transkripčních faktorů, např. „nuclear factor-kappa B“ (NF- κ B), faktory interferonové regulace (IRF). Následně bude zahájena transkripce genů, což vede k uvolnění cytokinů (pro zánět), chemokinů (pro rozšíření imunitní odpovědi a přitahování vedlejších imunitních buněk) a interferonů (destrukce dvoušroubovitého řetězce RNA patogenu) [4].

1.2 Specifická imunita

Specifická, adaptivní nebo získaná imunita je založená na opakované interakci s antigenem nebo toxickou látkou a také je cílená na konkrétní patogeny. Při prvním setkání se stejným patogenem pomocí kooperaci s vrozenou imunitou tvoří imunologickou paměť, která umožňuje rychlejší reakci za podmínky opakovaného setkání se stejným patogenem [2].

Tento mechanismus byl základem pro vynález vakcín, což je látka, která stimuluje imunitní systém, aby se vytvořila imunitní odpověď. Vakcíny fungují na principu oslabení a umrtvení patogenu mechanismy imunitního systému [5].

Mezi vlastností adaptivní imunity také řadíme T a B lymfocyty (B lymfocyty spolu s imunoglobuliny), specifické rozpoznávání "cizího", a také tolerance "vlastního" [1].

1.3 Vrozená vs. adaptivní imunitní reakce

První linií obrany proti cizím patogenům je vrozená neboli nespecifická imunitní odpověď (tab. 1). Vrozená imunitní odpověď se skládá z fyzikální, chemické a buněčné obrany proti patogenům. Hlavním účelem vrozené imunitní odpovědi je okamžitě zabránit šíření a pohybu cizích patogenů po těle [6].

Druhá linie obrany proti cizím patogenům se nazývá adaptivní imunitní odpověď. Adaptivní imunita se také označuje jako získaná imunita nebo specifická imunita a vyskytuje se pouze u obratlovců. Adaptivní imunitní odpověď je specifická pro prezentovaný patogen. Adaptivní imunitní odpověď je určena k útoku na jiné než vlastní patogeny, ale někdy může dělat chyby a napadnout sama sebe. Když k tomu dojde, mohou se vyvinout autoimunitní onemocnění (např. lupus, revmatoidní artritida) [7].

Charakteristickým znakem adaptivního imunitního systému je klonální expanze lymfocytů. Klonální expanze je rychlý nárůst T a B lymfocytů z jedné nebo několika buněk na miliony. Každý klon, který pochází z původního T nebo B lymfocytu, má stejný antigenní receptor jako originál a bojuje se stejným patogenem [8,9].

Zatímco vrozená imunitní odpověď je okamžitá, adaptivní imunitní odpověď nikoli. Účinek adaptivní imunitní odpovědi je však dlouhodobý, vysoce specifický a je dlouhodobě udržován paměťovými T lymfocyty [6].

Tabulka 1: Rozdíly mezi vrozenou a adaptivní imunitou [113].

	Obranná linie	Časová osa	Buňky	Závislost na antigenu	Příklady
Vrozená imunita	První	Okamžitá odpověď (0-96 hodin)	NK buňky, makrofágy, neutrofilny, dendritické buňky, žírné buňky, bazofily, eozinofily	Nezávislá	Kůže, vlasy, kašel, sliznice, fagocyty, granulocyty
Adaptivní imunita	Druhá	Dlouhodobě (>96 hodin)	T a B lymfocyty	Závislá	Hnis, otok, zarudnutí, reakce T a B lymfocytů

2. Využití buněk vrozené imunity v imunoterapii

Velká část dnešních imunoterapeutických strategií je zaměřená na adaptivní imunitní odpověď, a to pomocí aktivace T lymfocytů. Přestože tyto T-buněčné terapie zaznamenaly významné klinické úspěchy, prospěly zatím pouze omezenému počtu pacientů. Ačkoliv v první linii obrany proti nádorovým buňkám hrají klíčovou roli především NK buňky, makrofágy a dendritické buňky [10]. Proto by se další generace imunoterapie měla zaměřit na hledání nových terapeutických molekul prostřednictvím aktivace vrozené imunity.

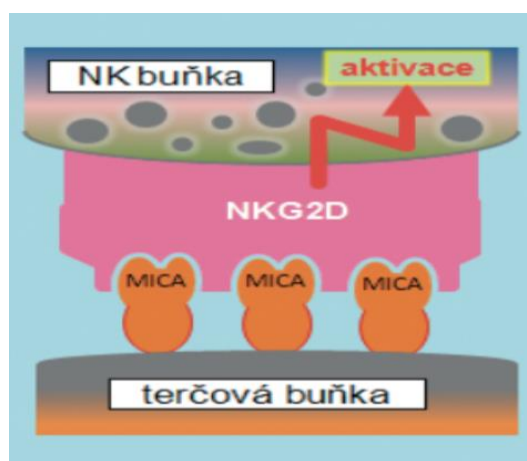
2.1 Přehled strategií

Hlavním cílem v imunoterapii je posílit nebo reaktivovat vrozenou schopnost buněk k rozpoznání a zničení nádorových buněk. Mezi hlavními principy patří: dendritické vakcíny, imunoterapie za využití NK buněk, polarizační změny makrofágů a $\gamma\delta$ T-lymfocyty pro identifikaci nádorových buněk [11-14].

2.2 Pozitiva použití buněk nespecifické imunity

2.2.1 Rychlá odpověď

Na rozdíl od specifické imunity, buňky vrozené imunity nepotřebují předchozí senzibilizaci pro reakci na nádorové buňky. Výhodou je, že terapeutický účinek nastává rychleji. NK buňky a cytotoxické monocyty nemají schopnost specificky rozlišit antigeny tak přesně jako T-lymfocyty. Přesto většinou nádorové buňky odhalí a posléze zneškodní. Jedna z představ o identifikaci nádoru NK buňkami vychází z poznatku, že řada nádoru má na svém povrchu významně více substancí některých povrchových molekul než buňky normální (obr.1). Na NK buňkách byly objeveny receptory typu lektinových bílkovin, které se pevně vážou na cukerné struktury, tedy i na povrchy nádorových buněk [15].



Obrázek 1: Povrchové aktivační molekuly NK buněk [15].

2.2.2 Širší spektrum rozpoznání

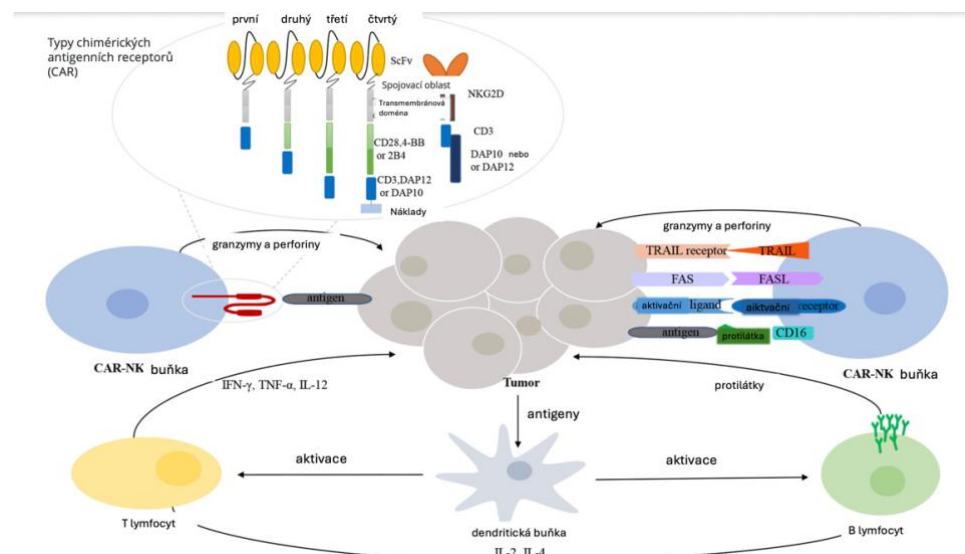
Z toho vyplývá další výhoda – širší spektrum rozpoznávání. Některé nádorové buňky se maskují před imunitním systémem tak, že sníží expresi hlavního histokompatibilního komplexu I (MHC-I) molekul na svém povrchu. NK-buňky mají na svém povrchu adhezivní molekuly, pomocí kterých rozeznávají nejrůznější molekuly na povrchu většiny buněk [16].

NK buňky jsou schopny eliminovat cílové buňky, které na svém povrchu postrádají molekuly HLA třídy I, což je běžný mechanismus úniku nádorových nebo virem infikovaných buněk z T lymfocytů. Tento proces je mimo jiné zprostředkován inhibičními receptory typu KIR (killer-cell immunoglobulin-like receptors), které rozpoznávají molekuly HLA a v jejich nepřítomnosti neposkytují inhibiční signál, čímž umožňují aktivaci cytotoxické odpovědi NK buněk. Tyto

receptory při obsazení ligandem, tj. molekulou HLA, cytotoxickou aktivitu NK buňky inhibují, takže buňka je „v klidu“ při kontaktu s normálními buňkami opatřenými molekulami HLA. Při absenci molekul HLA se však inhibiční efekt KIR neuplatní a NK buňka může působit [15].

2.2.3 Nižší riziko autoimunitních reakcí

V poslední době, s rostoucí pozorností k jedinečným vlastnostem a specializované cytotoxicitě NK buněk, se zaměření výzkumu přesunulo od T lymfocytů k NK buňkám. NK buňky, které patří do rodiny vrozených lymfoidních buněk, jsou třídou cytotoxických imunitních buněk, které byly funkčně identifikovány na základě jejich „přirozené“ schopnosti. Na rozdíl od T lymfocytů slouží NK buňky k zacílení nádorů bez předběžné senzibilizace nebo HLA-matchingu. Klinické důkazy navíc ukazují, že adoptivní přenos alogenních NK buněk jen zřídka způsobuje reakci štěpu proti hostiteli (GVHD), navíc NK buňky mohou dokonce chránit před GVHD zacílením na dendritické buňky příjemce [17].



Obrázek 2 Interakce mezi imunitními buňkami a nádorovými buňkami v nádorovém mikroprostředí [17].

Buňky CAR-NK rozpoznávají a uplatňují své usmrcovací účinky jak CAR-dependentními, tak i CAR-nezávislými způsoby. Různé generace a typy buněk CAR-NK. Struktura CAR obsahuje extracelulární vazebnou doménu (např. NKG2D), pantovou oblast, transmembránovou doménu a jednu nebo více intracelulárních signálních domén [17].

2.2.4 Kombinace s dalšími léčebnými metodami

NK buňky nespecifické imunity dokážeme kombinovat s dalšími léčebnými metodami, jako jsou chemoterapie, monoklonální protilátky a inhibitory kontrolních bodů. Tímto přístupem se může zvýšit účinnost léčby a také je šance obejít některá omezení jednotlivých terapií.

Kombinace NK buněk s monoklonálními protilátkami

Rozpoznávat a eliminovat nádorové buňky NK buňkám umožňuje jejich receptor CD16. Nádorové buňky jsou opsonizované protilátkami pomocí mechanismu antibody-dependent-cellular cytotoxicity (ADCC). Tato schopnost se využívá při kombinovaném použití NK buněk s terapeutickými monoklonálními protilátkami, jako jsou Rituximab a Cetuximab [18,19].

- Rituximab je monoklonální protilátka, která se zaměřuje na CD20, specifický povrchový antigen B-lymfocytů. Rituximab byla první monoklonální protilátka schválená pro léčbu non-Hodgkinského lymfomu. V roce 1997 schválila FDA rituximab pro léčbu refrakterního lymfomu nízkého stupně. Selektivita léku pro B-lymfocyty vedla k dalším výzkumům zahrnujícím autoimunitní onemocnění vyvolaná B-lymfocyty, včetně revmatoidní artritidy. Rituximab byl od té doby schválen pro léčbu revmatoidní artritidy FDA [18].
- Cetuximab je chimérická (myší/lidská) IgG-1 monoklonální protilátka (mAb). Jako cílený lék se cetuximab může kompetitivně vázat na receptor epidermálního růstového faktoru (EGFR) s přirozenými ligandy, jako je EGF. Jeho hlavním farmakologickým mechanismem je inhibice fosforylace EGFR tyrosinkinázy způsobené vazbou ligandů a poté blokování řady reakcí, jako je genová transkripce a buněčná proliferace vyvolaná aktivací fosfatidylinositol 3-kinázy [19-20].

Kombinace těchto protilátek s NK buňkami zvyšuje cytotoxický účinek a může vést k lepší odpovědi na léčbu.

Kombinace s inhibitory kontrolních bodů

NK buňky exprimují různé inhibiční receptory jako PD-1, NKG2A a TIGIT, které mohou potlačit jejich aktivitu v mikroprostředí nádoru. Použití inhibitorů imunitního kontrolního bodu pomáhá obnovit funkci NK buněk a zvýšit jejich protinádorovou aktivitu:

- Anti-PD-1/PD-L1 protilátky – blokují interakci mezi PD-1 na NK buňkách a PD-L1 na nádorových buňkách a obnovují cytotoxickou funkci [21].
- Anti-NKG2A protilátky (např. monalizumab) – blokují inhibiční signály přenášené prostřednictvím NKG2A, což podporuje aktivaci NK buněk [22].
- Anti-TIGIT protilátky – zvyšují aktivitu NK buněk a T lymfocytů blokováním inhibičních signálů [23].

Klinické studie ukazují, že kombinace těchto inhibitorů s NK buňkami může vést k lepší odpovědi na léčbu u různých typů nádorů.

Kombinace s chemoterapií

Chemoterapie může změnit mikroprostředí nádoru a zvýšit citlivost nádorových buněk na imunitní odpověď. Některá chemoterapeutika zesilují expresi stresových ligandů na povrchu nádorových buněk a usnadňují jejich rozpoznání NK buňkami. Kromě toho může chemoterapie snížit počet imunosupresivních buněk v mikroprostředí nádoru, což podporuje aktivitu NK buněk. Kombinace chemoterapie s NK buňkami nebo inhibitory kontrolních bodů je aktivně zkoumána v klinických studiích a ukazuje potenciál pro zlepšení účinnosti léčby, zejména u solidních nádorů [24].

Tyto kombinované přístupy využívající NK buňky ve spojení s jinými terapiemi představují slibnou strategii pro boj s různými typy rakoviny.

2.3 Přehled metod imunoterapie, založené na buňkách specifické imunity

Imunoterapie, která využívá buňky specifické (adaptivní) imunity, je zaměřena na posílení nebo modifikaci odpovědi T-lymfocytů proti nádorovým buňkám. Hlavním cílem je podpořit schopnost imunitního systému rozpoznat a zničit maligní buňky. Existuje několik základních přístupů:

2.3.1 Adoptivní buněčná terapie

Adoptivní buněčná terapie (ACT) zahrnuje izolaci imunitních buněk pacienta, jejich aktivaci a expanzi mimo tělo a jejich opětovné zavedení zpět do těla. Tento přístup má několik variant:

- Nádor infiltrující lymfocyty (TIL):

Lymfocyty izolované přímo z nádoru pacienta, které přirozeně rozpoznávají nádorové antigeny. Po jejich expanzi *ex vivo* za přítomnosti IL-2 jsou znovu infuzovány pacientovi. Úspěšně se používá zejména u melanomu [25].

- TCR-transgenní T lymfocyty:

Geneticky modifikované T lymfocyty exprimující specifický T buněčný receptor (TCR) namířený proti antigenu asociovanému s nádorem prezentovaným molekulami MHC [26].

- CAR-T lymfocyty (T lymfocyty chimérického antigenního receptoru):

T lymfocyty geneticky modifikované tak, aby exprimovaly chimérický receptor, který kombinuje doménu vázající antigen (obvykle z protilátky) a signální domény aktivace T lymfocytů. Jejich aktivace je nezávislá na prezentaci antigenu prostřednictvím MHC [27].

Schváleno pro léčbu B-lymfocytární leukémie a lymfomu (např. terapie Kymriah®, Yescarta®).

2.3.2 Protinádorové vakcíny

Vakcíny jsou zaměřeny na stimulaci adaptivní imunity k rozpoznání a zničení nádorových buněk prostřednictvím prezentace specifických tumorových antigenů:

- Peptidové vakcíny: syntetické peptidy odpovídající nádorovým antigenům.
- Vakcíny s dendritickými buňkami: dendritické buňky naprogramované *ex vivo* tak, aby prezentovaly nádorové antigeny (například vakcína Sipuleucel-T pro léčbu rakoviny prostaty) [28].
- Inhibitory kontrolních bodů (Checkpoint inhibitors). I když přímo nemodifikují buňky, inhibitory kontrolních bodů (např. protilátky proti PD-1, CTLA-4) podporují reaktivaci

adaptivní protinádorové imunitní odpovědi blokováním inhibičních signálů, které vedou k „vyčerpání“ T lymfocytů v mikroprostředí nádoru [29].

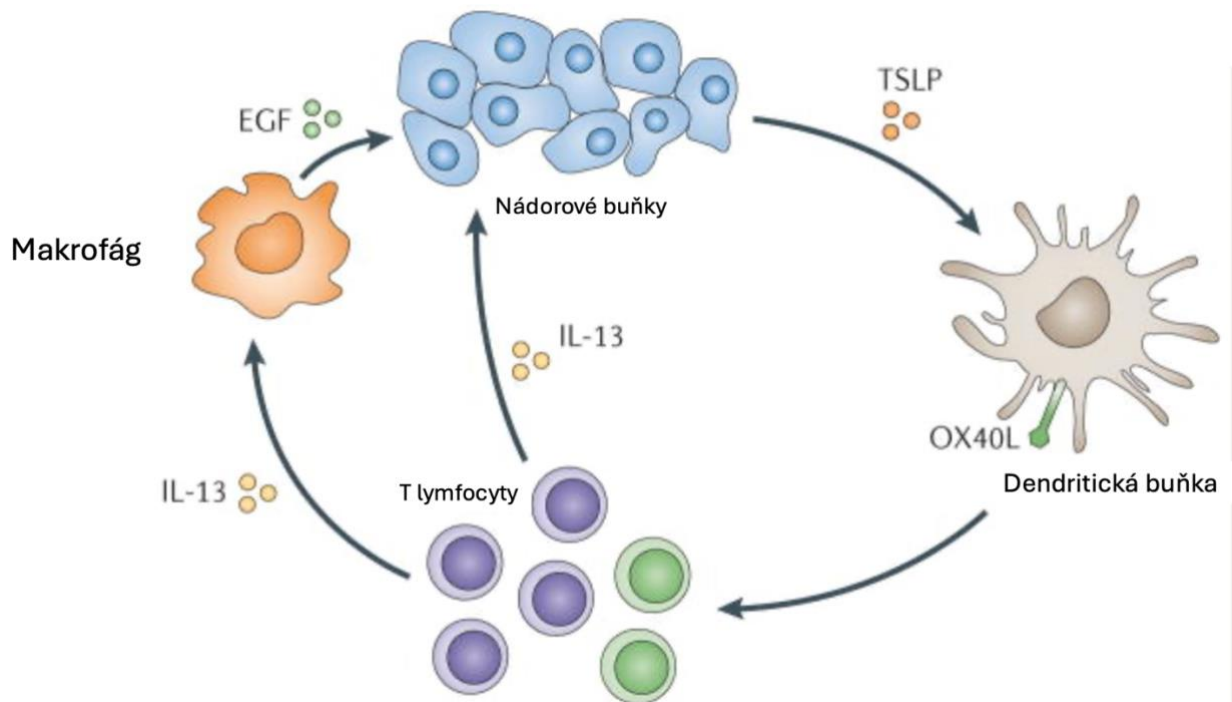
Blokáda kontrolních bodů je dnes základem léčby mnoha solidních nádorů (melanom, nemalobuněčný karcinom plic atd.) [29].

3. Protinádorová odpověď pomocí dendritických buněk

Po čtyřech desetiletích výzkumu je nyní jasné, že dendritické buňky (DC) jsou v centru imunitního systému díky své schopnosti kontrolovat jak imunitní toleranci, tak imunitu. DC jsou tedy základním cílem ve snaze vytvořit terapeutickou imunitu proti rakovině. Díky svým vlastnostem se DC často nazývají „přírodní adjuvans“, a proto se staly přirozenými cíli pro dodávání antigenu a vakcinaci, včetně terapeutické vakcinace proti rakovině. DC poskytují zásadní spojení mezi vrozenou a adaptivní imunitní reakcí [30].

Za podmínek ustáleného stavu jsou DC v periferních tkáních „nezralé“. Tyto nezralé DC indukují toleranci buď prostřednictvím delecce T lymfocytů nebo prostřednictvím indukce expanze regulačních a/nebo supresorových T lymfocytů. DC rychle reagují na signály prostředí a diferencují se na zralé DC, které mohou účinně spustit imunitní reakce. Nyní se uznává, že adjuvantní složka vakcín primárně působí tak, že spouští zrání DC [30].

Imunitní systém má potenciál eliminovat neoplastické buňky. Samotné nádorové buňky jsou však slabé APC. Studie s myšími modely ukazují, že vytváření ochranných protinádorových imunitních odpovědí závisí na prezentaci nádorových antigenů DC. Ve srovnání s jinými APC, jako jsou makrofágy, jsou DC extrémně účinné při prezentaci antigenu a indukci imunity T lymfocytů, což vysvětluje jejich přezdívku (nickname) „profesionální APC“ [30].



Obrázek 3 Interakce dendritických buněk (DC) s nádorovými buňkami [30].

Interakce dendritických buněk (DC) s nádorovými buňkami: modulace zrání DC Rakovinné buňky přitahují nezralé dendritické buňky (DC), pravděpodobně prostřednictvím chemokinů, jako jsou CCL20 nebo CXCL12. DC pak mohou být vystaveny faktorům odvozeným od rakoviny – například thymickému stromálnímu lymfopoetinu (TSLP) – což zkresluje jejich zrání směrem k zánětu typu T helperů 2 (TH2). V tomto prostředí buňky TH2 podporují vývoj nádoru buď přímo, nebo prostřednictvím makrofágů. EGF, epidermální růstový faktor; IL-13, interleukin-13; OX40L, ligand OX40.

3.1 Dendritické buňky a vakcíny založené na jejich využití

DC jsou specializované imunitní buňky, které hrají klíčovou roli při podpoře imunitní odpovědi proti Ag, která může zahrnovat cizí patogenní Ag a samonádorové (self-tumor) Ag. DC jsou schopny zesílit odpověď paměťových T lymfocytů, ale co je nejdůležitější, jsou účinnými iniciátory naivních T lymfocytárních reakcí. Mnoho let studií se zaměřilo na použití DC vakcín proti rakovině k zahájení a formování protinádorové specifické imunitní odpovědi a/nebo posílení existujících spontánních protinádorových odpovědí T lymfocytů [30-32].

Mechanismus účinku dendritických buněk je založen na schopnosti zachytit nádorové antigeny, zpracovat je a prezentovat prostřednictvím molekul MHC I a II. Při kostimulaci a přítomnosti zánětlivých signálů se aktivují specifické vhodné CD8+ cytotoxické T-lymfocyty (Tc) a CD4+ pomocné T-lymfocyty (Th). V nádorovém mikroprostředí však často dochází k imunosupresi,

která funkci DC tlumí – proto se vyvíjejí strategie, jak DC *in vivo* buď aktivovat, nebo je připravit *ex vivo* a použít jako nosiče nádorových antigenů [30,33].

Dendritické vakcíny lze rozdělit podle způsobu přípravy:

Ex vivo DC vakcíny: autologní monocyty nebo hematopoetické progenitory jsou izolovány z pacienta a diferencovány na DC *in vitro*. Tyto DC jsou pak naplněny nádorovými antigeny ve formě peptidů, proteinů, nádorové RNA nebo lyzátů. Po dozrání jsou znovu zavedeny do pacienta, aby stimulovaly imunitní odpověď. Nejznámějším příkladem je sipuleucel-T (Provenge), vakcína proti metastatické rakovině prostaty schválená FDA [34].

In vivo cílení DC: tento způsob se vyhýbá pracně náročné *ex vivo* buněčné manipulaci. Místo toho se používají systémy dodávání antigenu (např. nanočástice nebo receptor-specifické ligandy) k cílení endogenních DC přímo v těle pacienta. Ten postup nabízí větší škálovatelnost a nižší náklady, díky čemuž je atraktivní pro širokou klinickou aplikaci [30,35-37].

Ačkoli jsou DC vakcíny obecně bezpečné a dobře tolerované, jejich klinická účinnost byla zatím skromná. Mezi hlavní výzvy patří nízká imunogenicita některých nádorových antigenů, imunosupresivní mechanismy v nádorovém mikroprostředí (např. regulační T lymfocyty, supresorové buňky odvozené od myeloidu) a omezená migrační kapacita injikovaných DC do lymfoidních tkání [38]. Kombinace DC vakcín s jinými imunoterapeutickými strategiemi, jako jsou inhibitory imunitního kontrolního bodu, je příslibem pro zvýšení jejich účinnosti [30].

Vakcíny na bázi DC jsou hodnoceny v klinických studiích pro řadu malignit, včetně melanomu, glioblastomu, renálního karcinomu a rakoviny slinivky. V posledních letech se výzkum posunul směrem k použití neoantigenů – jedinečných nádorových mutací specifických pro pacienta – jako cílů, což otevírá dveře vysoce personalizované imunoterapii rakoviny [30].

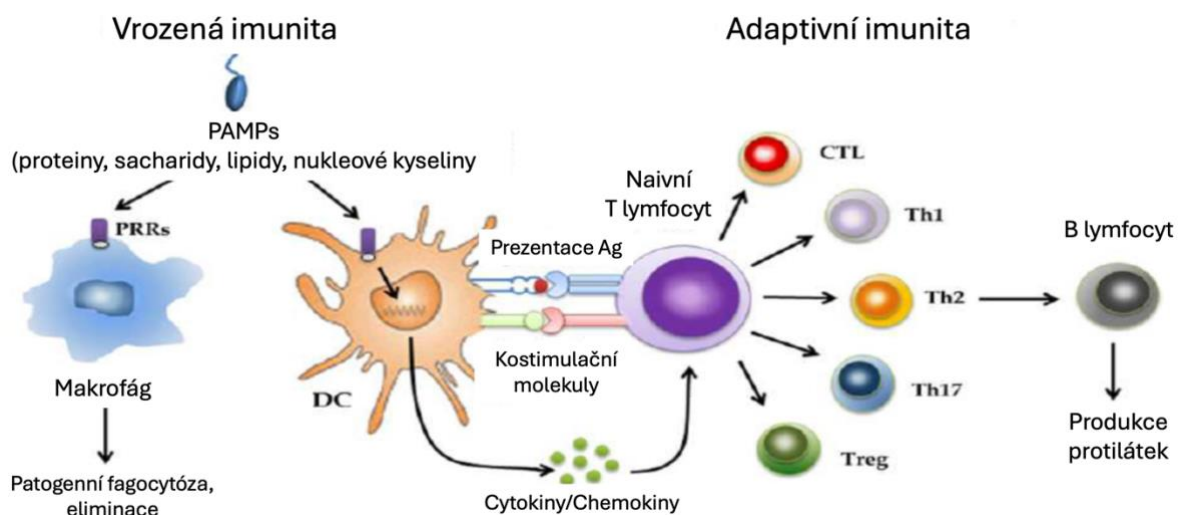
3.2 Aktivace adaptivní imunity

Účinná protinádorová imunita vyžaduje aktivaci adaptivního imunitního systému. Dendritické buňky jsou v tomto procesu nezbytné, protože jsou jedinými APC schopnými aktivovat naivní T lymfocyty. Po vychytávání antigenu DC podléhají maturaci, charakterizované upregulací molekul MHC I/II a kostimulačními signály (např. CD80, CD86), následovanou migrací do sekundárních lymfoidních orgánů [39]. K aktivaci produktivní odpovědi T-lymfocytů jsou nezbytné tři signály: prezentace antigenu prostřednictvím molekul MHC a rozpoznání receptorem T-lymfocytů (TCR); kostimulační signalizace prostřednictvím CD80/86 na DC

zabírajících CD28 na T lymfocytech; a cytokinová signalizace, zejména IL-12, který řídí polarizaci Th1 a aktivuje cytotoxické CD8⁺ T lymfocyty [40].

Současně jsou aktivovány CD4⁺ pomocné T lymfocyty, které podporují jak odpovědi B lymfocytů, tak cytotoxicitu CD8⁺ T lymfocytů. Vytvoření imunologické paměti je dalším kritickým výsledkem, který zajišťuje dlouhodobý dohled a prevenci relapsu nádoru. Funkčnost DC však může být negativně ovlivněna imunosupresivním nádorovým mikroprostředím, včetně přítomnosti regulačních T lymfocytů a imunosupresivních cytokinů, jako je IL-10 a TGF-β [41].

K překonání těchto bariér se současné strategie imunoterapie zaměřují na modulaci funkce DC, posílení kostimulační signalizace, selektivní cílení na imunogenní podskupiny DC (např. cDC1) a kombinaci vakcín proti DC s adjuvans, agonisty TLR nebo inhibitory kontrolních bodů [42].



Obrázek 4 Dendritické buňky propojují vrozenou a adaptivní imunitu [42].

Dendritické buňky propojují vrozenou a adaptivní imunitu. Jakmile přijdou do kontaktu s mikrobiálními antigeny, dendritické buňky (DC) dozrávají a migrují do odvodňujících lymfatických uzlin, kde prezentují antigeny naivním T lymfocytům. Různé patogeny spouštějí odlišné profily maturace DC, což vede k polarizaci různých subtypů lymfocytů. Adaptivní imunitní odpověď je tedy do určité míry modulována tak, aby odpovídala povaze patogenu. **Ag**: antigen; **CTL**: cytotoxický T lymfocyt; **DC**: dendritická buňka;

4. Imunoterapie za využití NK buněk

NK buňky, které jsou vlastní vrozenému imunitnímu systému, jsou klíčové v boji proti rakovině díky jejich nezávislým cytotoxickým schopnostem v protinádorové imunitní odpovědi. Na rozdíl od převládající léčby, která se zaměřuje na imunitu T lymfocytů, omezený úspěch imunoterapie T lymfocytů zdůrazňuje naléhavost inovativních přístupů s důrazem na využití potenciálu NK buněk. Navzdory tomu, že se nádory přizpůsobují mechanismům, aby se vyhnuly cytotoxicitě vyvolané NK buňkami, panuje kolem NK buněk chimérického antigenního receptoru (CAR) optimismus [43].

4.1 Cytotoxicita NK buněk

Cytotoxicita NK buněk je proces, kterým tyto buňky imunitního systému specificky ničí jiné buňky, které pro ně představují hrozbu. Mezi tyto hrozby patří především nádorové buňky a buňky infikované virem. Tato schopnost je klíčová pro vrozenou imunitní odpověď a hraje důležitou roli při včasné kontrole infekcí a prevenci rozvoje nádorů. NK buňky mají na svém povrchu komplexní soubor aktivačních a inhibičních receptorů (KAR a KIR). Tyto receptory interagují s ligandy (molekulami) na povrchu jiných buněk [44].

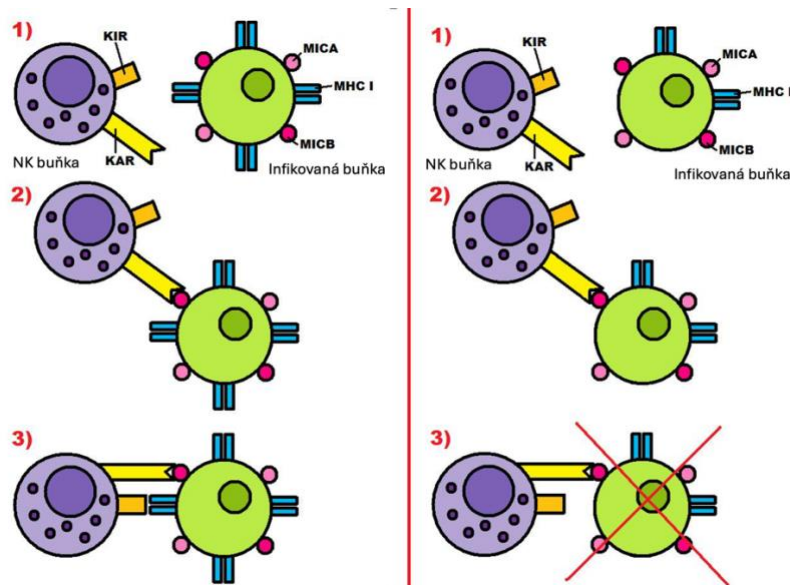
Inhibiční receptory NK buněk (KIR) a aktivační receptory NK buněk (KAR) jsou oba klíčové pro regulaci funkce přirozených zabíječských (NK) buněk. KIR jsou hlavně inhibiční, hrají klíčovou roli v ochraně zdravých hostitelských buněk před NK-zprostředkovanou lýzou rozpoznáváním molekul MHC I. třídy. Na druhé straně jsou KAR aktivační receptory, které spouštějí lýzu NK buněk cílových buněk, jako jsou nádorové buňky nebo virově infikované buňky [44].

Killer Activation Receptors (KAR) jsou receptory exprimované na plazmatické membráně (buněčné membráně NK buněk. KAR spolupracují s KIR, které inaktivují KAR za účelem regulace funkcí NK buněk na hostitelských nebo transformovaných buňkách [44]. Tyto receptory mají širokou vazebnou specificitu a jsou schopny vysílat opačné signály. Je to rovnováha mezi těmito konkurenčními signály, která určuje, zda dojde k cytotoxické aktivitě NK buňky a apoptóze postižené buňky [45].

KIR jsou exprimovány NK buňkách a podskupinách T lymfocytů. Geny KIR jsou polymorfní a komplex genů KIR je polygenní s různým počtem inhibičních a aktivačních receptorů. Molekuly HLA třídy I slouží jako ligandy pro KIR. Interakce nezávisle segregujících KIR a

HLA lokusů jsou důležité pro rozpoznávání cílů NK buňkami, stejně jako pro 'licencování' NK buněk. Několik studií asociace onemocnění naznačuje roli interakcí mezi těmito lokusy při infekčních onemocněních, autoimunitních/zánětlivých poruchách, rakovině a reprodukci. Vznikající funkční data podporují mechanismus založený na kontinuu inhibice aktivace prostřednictvím různých sloučenin KIR-HIA genotypů u nemocí. 2008 Elsevier Ltd. Všechna práva vyhrazena [46].

Ztráta molekul MHC I. třídy na nádorech evokuje roli NK buněk při eliminaci transformované buňky. Vyšší úroveň inhibice zprostředkované KIR mohou také usnadnit únik nádoru, jak bylo prokázáno u melanomu, kde byl genotyp sloučeniny KIR2DL2/2DL3/HLA-C1 častější u pacientů ve srovnání s kontrolami [47] a KIR3DL1/Bw4 80I byl nepatrně vyšší u pacientů s metastatickým melanomem [48]. Role KIR2DS4 byla navržena v melanomu prostřednictvím jeho vazby na non-HLA ligandy exprimované na melanomových buněčných liniích a primárním melanomu [49], ale tato data kontrastují se studií, která neprokazuje žádný rozdíl ve frekvenci KIR2DS4 u pacientů oproti kontrolám [47]. Inhibiční KIR (KIR2DL1, 2DL2 a 2DL3) byly také přítomny ve významně vyšších frekvencích u pacientů s leukémií [50] a bylo navrženo, že mohou přispívat k nedostatku NK nebo CTL protinádorových odpovědí u karcinomu ledviny [51]. Geny KIR2DL5A a 2DL5B byly častější u pacientů s lymfoproliferativním onemocněním granulárních lymfocytů typu NK [52]. Ve stejné linii se aktivační receptory KIR3DS1 a KIR2DS1 spojují s ochranou ve familiární studii Hodgkinova lymfomu [53].



Obrázek 5 KIR a KAR [114].

Když se KAR váže na molekuly MICA a MICB na povrchu infikované buňky (nebo nádorové buňky), KIR zkoumá hladiny MHC I. třídy této cílové buňky. Pokud jsou hladiny MHC I. třídy dostatečné, zabíjení buňky nepokračuje (vlevo), ale pokud ne, zabíjející signál pokračuje a buňka je eliminována (vpravo).

4.2 Expanze NK buněk (*ex vivo*)

Přirozený počet NK buněk je někdy nedostatečný pro účinnou imunoterapii. Často je nezbytné získat dostatečný počet funkčních NK buněk. Právě k tomuto je určena expanze *ex vivo*. *Ex vivo* expanzní metody umožňují namnožit počet a umožnit lepší funkce NK buněk pomocí různých zdrojů (např. periferní krev, pupečnicková krev, indukované pluripotentní kmenové buňky (iPSCs)) [54].

Různé *ex vivo* expanzní protokoly se zaměřují na optimalizaci růstových faktorů, cytokinů a podpůrných buněk pro dosažení vysokého výtěžku a udržení cytotoxické aktivity expandovaných NK buněk [54].

Existují klíčové metody, určené k podpoře expanzi NK buněk *ex vivo*, mezi nimi řadíme využití cytokinů, podpůrných buněk a umělých antigen prezentujících buněk (aAPCs) [54].

4.2.1 Využití cytokinů

NK buňky použité pro infuzi lze získat buď od samotných pacientů, nebo od dárců. Při autologní transplantaci jsou NK buňky od pacientů aktivovány a expandovány *in vitro* v přítomnosti cytokinů. Výsledky výzkumu naznačují, že kombinace IL-12, IL-15 a IL-18 může

produkovat NK buňky se silnějšími funkcemi a paměťovými vlastnostmi. Ozářené lidské lymfoblastocyty K562 se často používají jako podpůrné buňky v médiu a mohou být modifikovány tak, aby exprimovaly cytokiny (jako je IL-15 a IL-21) a/nebo kostimulační molekuly. Poté jsou aktivované a amplifikované NK buňky přeneseny zpět pacientům, kterým jsou typicky podávány cytokiny (IL-2), aby se zachovala expanze a funkce injikovaných NK buněk. Při alogenním přenosu mohou být NK buňky získány od HLA-shodných nebo haploidentických dárců [55].

4.3 CAR-NK terapie

Technologie chimérického antigenního receptoru (CAR) je relativně nová strategie pro zvýšení účinnosti imunitního systému proti rakovinným buňkám. Tato technologie byla původně použita k výrobě CAR-T lymfocytů. CAR-T lymfocyty jsou generovány z izolovaných T lymfocytů od pacientů s rakovinou, které jsou pak upraveny tak, aby exprimovaly CAR. Tyto modifikované T lymfocyty jsou poté expandovány a reinfundovány pacientovi, aby se dosáhlo silnější protinádorové odpovědi [56].

CAR-T lymfocyty dosáhly slibných odpovědí proti hematologickým malignitám, ale terapie CAR-T lymfocyty nedokázala dosáhnout dobrých objektivních odpovědí u pacientů se solidními nádory. Tento jev je způsoben jejich obtížností infiltrovat solidní nádory a schopností TME solidních nádorů narušit aktivitu CAR-T lymfocytů [56,57].

Kromě toho existují další omezení použití CAR-T článků, jako je jejich omezená expanze a krátká perzistence, vysoké náklady a intenzivní výrobní proces. Je také důležité uvést toxicitu spojenou s terapií CAR-T, včetně syndromu uvolnění cytokinů (CRS), neurotoxicity a GVHD [57].

K překonání těchto omezení byly vyvinuty chimérické antigenní receptory NK (CAR-NK) buňky. CAR-NK buňky překonávají několik omezení CAR-T lymfocytů. CAR-T lymfocyty jsou vyrobeny z autologních T lymfocytů, aby se zabránilo aloreaktivitě a GVHD kvůli neshodě molekul MHC mezi dárcem a příjemcem. Naopak NK buňky nevyžadují k aktivaci MHC dráhu. Tato vlastnost snižuje riziko závažných aloreaktivních reakcí a umožňuje využívat různé zdroje NK buněk, včetně NK buněk periferní a pupečnickové krve, indukovaných pluripotentních kmenových buněk (iPSC) a NK buněčných linií pro generování CAR-NK buněk [58,59]. Kromě toho lze buňky CAR-NK vyrábět méně intenzivním procesem ve srovnání s buňkami CAR-T a podávat pacientům infuzi kdykoli [58]. Navíc buňky CAR-NK po aktivaci uvolňují

odlišné profily cytokinů ve srovnání s buňkami CAR-T, čímž se snižuje riziko rozvoje CRS a neurotoxicity [60].

Další výhodou použití CAR-NK buněk oproti CAR-T lymfocytům je to, že NK buňky mohou cílit a eliminovat rakovinné buňky pomocí dalších mechanismů mimo dráhu CAR, jako je ADCC a zapojení KIR [59].

Nedávno byla bezpečnost a účinnost CAR-NK buněk proti hematologickým malignitám zkoumána v několika klinických studiích. Výsledky těchto studií naznačují, že CAR-NK buňky by mohly být použity jako imunoterapie u pacientů s mnohočetným myelomem, lymfomem a leukémií [60,61]

Bohužel účinnost CAR-NK buněk při léčbě solidních nádorů je stále nízká. To by mohlo být způsobeno několika faktory, včetně omezené nádorové infiltrace, omezeného přežití a perzistence v TME, inaktivace NK buněk imunosupresivním TME a nízké účinnosti transdukce CAR [58].

K vyřešení těchto omezení byla vyvinuta nová generace CAR-NK buněk. Nejslibnější přístup zahrnuje a) modifikované CAR-NK buňky exprimující chemokinové receptory pro zlepšení migrace a perzistence CAR-NK buněk v TME [62,63]; b) modifikované CAR-NK buňky zacílené na Tregs a CAF v TME za účelem snížení uvolňování imunosupresivních cytokinů a rozpustných faktorů [63]; c) upravené CAR-NK buňky exprimující IL-12, IL-15 a IL-18 pro posílení protinádorové aktivity NK buněk a prodloužení jejich přežití v TME [63,64], d) kombinace CAR-NK buněk s inhibitory imunitního kontrolního bodu (ICI), aby se zabránilo vyčerpání NK buněk a inhibici rakovinnými buňkami [62,63]. Probíhající klinické studie hodnotí účinnost a bezpečnost CAR-NK buněk pro léčbu různých lokálně nebo pokročilých refrakterních/recidivujících solidních nádorů, jako je ovariální, endometriální, testikulární, pankreatický, trojitě negativní karcinom prsu, kolorektální a žaludeční karcinom, ale výsledky o účinnosti dosud nebyly zveřejněny [59].

5. Imunoterapie za využití makrofágů

Makrofágy, odvozené od monocytů, jsou extrémně heterogenní populací buněk schopných adaptace a reakce na širokou škálu signálů z jejich prostředí. Tato plasticita jim umožňuje předpokládat různé funkční fenotypy, které mohou buď podporovat protinádorovou imunitu,

nebo naopak přispívat k růstu, invazi a metastázování nádoru. V nádorovém mikroprostředí jsou makrofágy často „přeprogramovány“ nádorovými buňkami a dalšími složkami mikroprostředí do fenotypu podporujícího vznik nádoru, známého jako makrofágy asociované s nádorem (TAM). Tyto TAM jsou jedním z hlavních aktérů imunosuprese v nádorech a významně přispívají k selhání konvenčních terapií a některých imunoterapií [65,66].

Pochopení mechanismů polarizace makrofágů a identifikace způsobů repolarizace těchto buněk z protumorózního fenotypu M2 na protinádorový fenotyp M1, nebo jak zabránit jejich náboru a přežití v nádorech, se stalo základním pilířem výzkumu imunoterapie rakoviny. Cílená modulace makrofágů nabízí slibné terapeutické strategie, které by mohly zvýšit účinnost stávajících léčebných postupů a otevřít nové cesty v boji proti rakovině. Tato kapitola se proto zaměří na podrobnou charakterizaci podtypů makrofágů, jejich dynamické změny polarizace a jejich potenciální terapeutické využití v imunoterapii rakoviny [67].

5.1 M1 a M2 makrofágy

Stejně jako u většiny buněk imunitního systému, vývoj a funkce makrofágů závisí na cytokinovém prostředí, ve kterém se nachází. Již od devadesátých let dvacátého století je známo, že působení jednotlivých cytokinů na genovou expresi v těchto buňkách je odlišné (porovnával se např. vliv IL-4 a $IFN\gamma$). Později přichází nová klasifikace makrofágů a rozdělení na M1 a M2 obdobně, jak tomu je u T lymfocytů. Tato klasifikace byla odvozena na základě lišícího se metabolismu argininu v buňkách. V makrofázích ovlivněných cytokinovým prostředím, které vzniklo působením Th1 T lymfocytů ($IFN\gamma$), docházelo ke tvorbě oxidu dusnatého (NO), kdyžto v populaci makrofágů z prostředí Th2 (IL-4, $TGF-\beta$) docházelo ke konverzi argininu na ornitin (prostřednictvím enzymu argináza) [68].

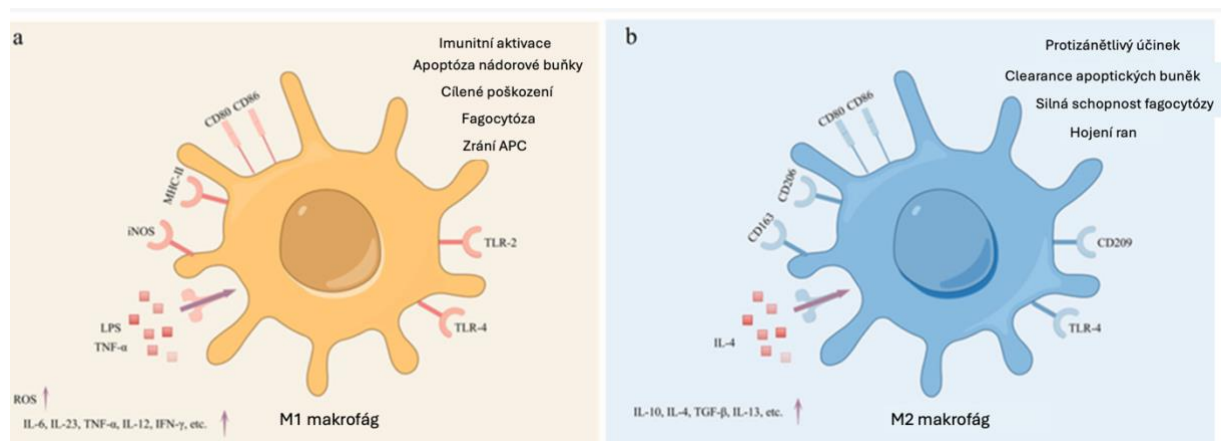
M1 tudíž můžeme považovat za klasicky aktivované makrofágy s prozánětlivou funkcí, kdyžto M2 za alternativně aktivované s funkcí protizánětlivou. M2 skupinu makrofágů můžeme dále dělit na M2a, M2b, M2c a M2d v závislosti na konkrétním stimulu. Takto hrubé dělení je nutno brát s nadhledem a jako hodně zjednodušené. Existuje celé spektrum populací makrofágů, např. makrofágy asociované s nádorem (tumor associated macrophages, TAMs), makrofágy exprimující TCR receptor a CD169, aj [68].

Makrofágy M1 a M2 představují dva extrémy funkčního spektra makrofágů. Makrofágy M1 jsou obvykle indukovány stimuly, jako je faktor nekrózy nádorů (TNF)- α a lipopolysacharid

(LPS). Makrofágy M1 produkují ve svém aktivovaném stavu vysoké hladiny reaktivních forem kyslíku (ROS), o kterých se předpokládá, že zabíjejí nádorové buňky a hrají důležitou roli v protinádorové aktivitě a posilování imunity. Tyto buňky vylučují různé prozánětlivé cytokiny, jako je IL-12, TNF- α , IL-6, IL-23 a IFN- γ , a vykazují vysoké hladiny produkce indukovatelné syntázy oxidu dusnatého (iNOS) (obrázek 1a) [69].

Makrofágy M1 mají silné fagocytární a baktericidní schopnosti a podílejí se na stimulaci adaptivních imunitních odpovědí, zejména aktivace Th1 [70]. Naproti tomu makrofágy M2 jsou obvykle indukovány stimuly, jako je IL-4. Makrofágy M2 vykazují imunosupresi a podporují opravu tkání a vývoj nádoru. Tyto buňky vylučují protizánětlivé cytokiny, jako jsou IL-10, IL-13, TGF- β a IL-4, a exprimují specifické markery, jako je CD206 (obrázek 1b). M2 také inhibuje aktivaci Th1 buněk a podporuje odpověď Th2 buněk. Makrofágy M1 i M2 jsou přítomny ve všech stádiích nádoru [71].

Makrofágy M1 jsou však častěji zastoupeny v raných stádiích, zatímco makrofágy M2 jsou častěji zastoupeny ve středních a pozdních stádiích. S postupem nádoru jsou makrofágy M1 stále více polarizovány vůči makrofágům M2. Zvýšení počtu makrofágů M2 je spojeno se špatnou prognózou [72].



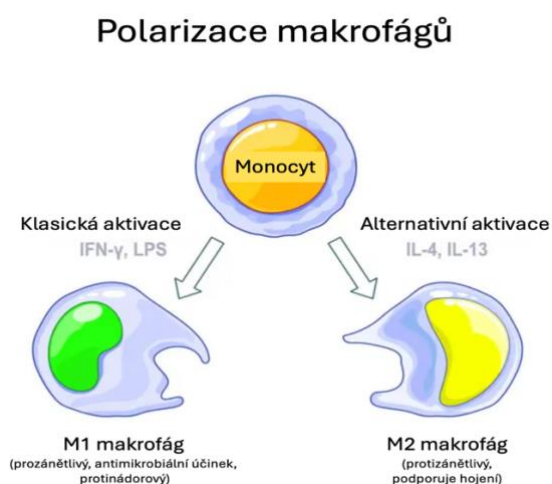
Obrázek 6: Charakteristika makrofágů M1 a M2 [72].

Charakteristika makrofágů M1 a M2. (a) Makrofág M1; (b) Makrofág M2. Makrofágy M1 byly aktivovány hlavně LPS a TNF- α a vylučovaly prozánětlivé faktory. Makrofágy M1 se podílejí na imunitní aktivaci, podporují apoptózu a fagocytózu rakovinných buněk. Makrofágy M2 byly aktivovány hlavně IL-4 a vylučovaly hlavně protizánětlivé faktory s vysokou expresí CD206 a zvýšenou endocytózou. Makrofágy M2 mají protizánětlivou aktivitu a podílejí se na hojení poškození ran, fagocytóze a eliminaci apoptických buněk [72].

5.1 Polarizační změny makrofágů, terapeutický účinek

Pokud se makrofágy nacházejí v klidovém, nepolarizovaném stavu, hovoříme o tzv. typu M0, který se vyznačuje přítomností pouze markerů společných pro všechny typy makrofágů (včetně monocytů) – CD11, CD68 a také HLA-DR. Jejich specifickým rysem je však schopnost fenotypové změny. Jsou schopny přejít na makrofágy typu M1 („klasicky aktivované“, „prozánětlivé“) nebo M2 („alternativně aktivované“, „protizánětlivé“, „hojící rány“) [73].

Tuto klasifikaci zavedl Mills 2000 na základě rozdílů v metabolismu argininu. Tato klasifikace byla založena na skutečnosti, že makrofágy typu M1 exprimují enzym syntázu oxidu dusnatého, která metabolizuje arginin na oxid dusnatý a citrulin. Podle této klasifikace se makrofágy typu M2 vyznačují expresí enzymu arginázy, která hydrolyzuje arginin na ornithin a močovinu. Změny polarizace mohou být indukovány *in vivo* i *in vitro* vystavením různým podnětům, často uvolňovaným z T-lymfocytů. Polarizaci M1 podporují hlavně pomocné T-lymfocyty (konkrétně Th1), polarizaci M2 podporují pomocné T-lymfocyty (Th2 pro M2 a makrofágy) a regulační T – lymfocyty. Polarizace je na rozdíl od jiných terminálně diferencovaných tělesných buněk také reverzibilní. Typ M2b je schopen přeměnit se zpět na jiné podtypy makrofágů M2 a zároveň inhibovat polarizaci ostatních buněk z M0 na M. Zda jsou nově získané buňky také předmětem této změny, zůstává však nejasné [74].



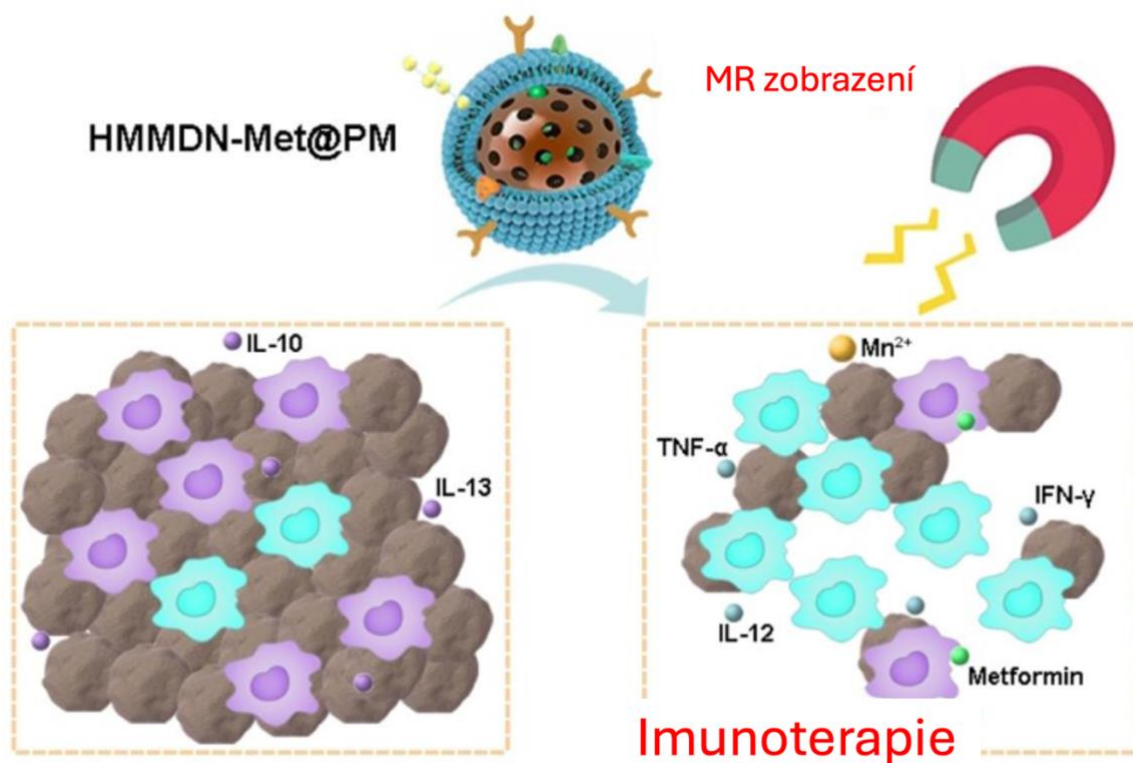
Obrázek 7: Průběh polarizace makrofágů [74].

Jedním z hlavních cílů nádorové imunoterapie je přeměrovat protinádorově neaktivní makrofágy M2 zpět na prozánětlivý fenotyp M1, a tím obnovit jejich schopnost ničit nádorové buňky. Toho lze dosáhnout pomocí nanočástic [75].

V nádorovém mikroprostředí (TME) koexistují protinádorové M1 a pronádorové M2 makrofágy asociované s nádorem (TAM), které ovlivňují imunitní odpovědi a progresi nádoru [75]. Cílem je přeměrovat M2-podobné TAMs do fenotypu M1 pomocí biomimetické nanočástice (HMMDN-Met@PM). M1-makrofágy podporují zánětlivou a cytotoxickou imunitní odpověď, čímž napomáhají potlačení růstu nádoru [76].

Jádro nanočástic se skládá z dutého mezoporézního oxidu manganičitého (HMMDN) s obsahem metforminu, známého modulátoru polarizace makrofágů. Pro zlepšení cílení a stability jsou částice potaženy makrofágovými membránami a funkcionalizovány M2-specifickým peptidem (M2pep), což umožňuje selektivní doručení k M2 makrofágům [76].

Výsledky *in vitro* a *in vivo* ukázaly sníženou expresi M2 markerů (CD206, Arg-1, IL-10) a zvýšenou expresi M1 markerů (CD80, TNF- α , iNOS), což potvrzuje úspěšnou repolarizaci. Navíc za kyselých a redukčních podmínek typických pro nádory se HMMDN degraduje na Mn^{2+} , což umožňuje zobrazování nádorů pomocí magnetické rezonance (MRI) (obr. 8). Tento systém s dvojitou funkcí demonstruje slibnou strategii pro cílenou imunoterapii rakoviny v kombinaci s diagnostickým zobrazováním [76].



Obrázek 8: přeměrování M2-podobné TAMs do fenotypu M1 [76].

5.2 $\gamma\delta$ T-lymfocyty

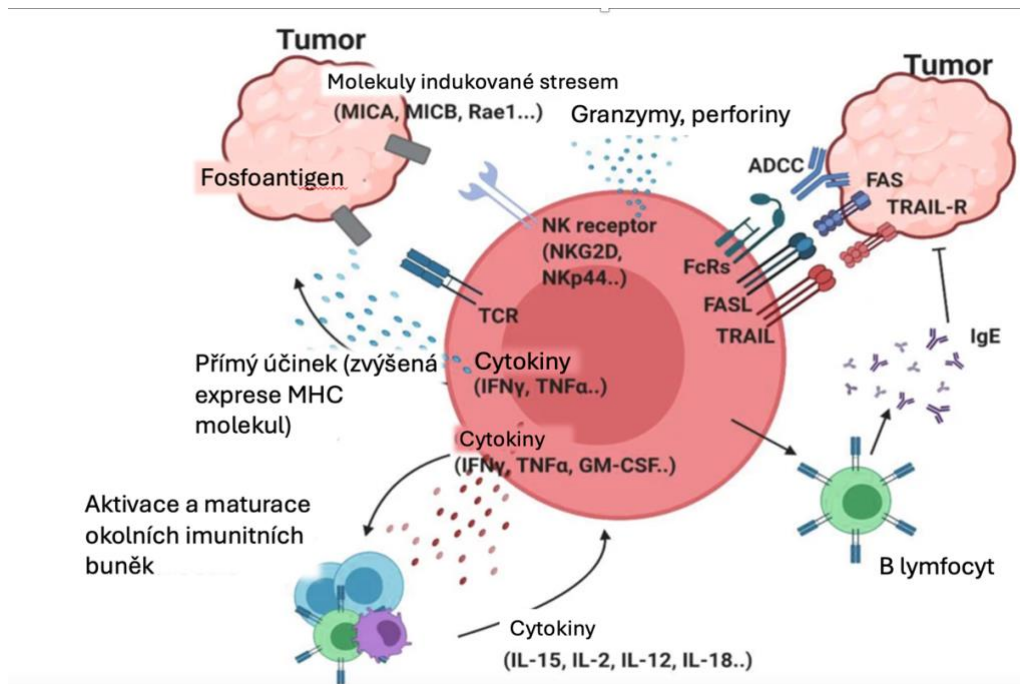
$\gamma\delta$ T lymfocyty (gama delta T lymfocyty) představují malou populaci T lymfocytů s odlišným typem T-buněčného antigenně specifického receptoru (TCR). Většina T lymfocytů má TCR skládající se ze dvou glykoproteinů řetězců, tzv. α - a β -TCR řetězců. Naproti tomu TCR na povrchu $\gamma\delta$ T lymfocytů se skládá z jednoho γ - a jednoho δ -řetězce. $\gamma\delta$ T lymfocyty tvoří na rozdíl od $\alpha\beta$ T lymfocytů v periferní krvi menšinu (2-6 % CD3+ T lymfocytů), hojně se ale nacházejí ve střevní sliznici, kde u lidí tvoří populaci tzv. intraepiteliálních lymfocytů (IEL). Důležitou populací lidských $\gamma\delta$ T lymfocytů v periferní krvi jsou V γ 9V δ 2 buňky, tvořící zde 50-95 % $\gamma\delta$ T lymfocytů [77,78].

5.2.1 Identifikace nádorových buněk

$\gamma\delta$ T-lymfocyty představují slibnou buněčnou populaci v imunoterapii rakoviny díky svým jedinečným vlastnostem, které je odlišují od konvenčních $\alpha\beta$ T lymfocytů. Na rozdíl od $\alpha\beta$ T lymfocytů, které vyžadují prezentaci antigenu prostřednictvím molekul hlavního histokompatibilního komplexu (MHC), jsou $\gamma\delta$ T lymfocyty schopny rozpoznávat a eliminovat nádorové buňky nezávisle na antigenním displeji zprostředkované MHC. To jim umožňuje cílit na širokou škálu typů nádorů, včetně těch, které si vyvinuly mechanismy, jak se vyhnout tradičnímu imunitnímu dohledu snížením exprese MHC [79].

Tyto buňky vykazují přímé cytotoxické účinky na nádorové buňky uvolňováním perforinu a granzymů, stejně jako zapojením se do drah receptorů smrti, jako je Fas/FasL. Kromě své cytotoxicity přispívají $\gamma\delta$ T lymfocyty k utváření imunitního prostředí produkcí prozánětlivých cytokinů, zejména interferonu- γ (IFN- γ) a tumor nekrotizujícího faktoru- α (TNF- α), které podporují nábor a aktivaci dalších imunitních buněk v nádorovém mikroprostředí [79,80].

Kombinace terapií založených na $\gamma\delta$ T lymfocytech s inhibitory imunitních kontrolních bodů je další oblastí aktivního výzkumu, jejímž cílem je překonat imunosupresivní účinky nádorového mikroprostředí a obnovit plný funkční potenciál těchto buněk [79].



Obrázek 9: Ligandy $\gamma\delta$ TCR, jako jsou fosfoantigeny, se mohou vázat na $\gamma\delta$ TCR [115].

Ligandy $\gamma\delta$ TCR, jako jsou fosfoantigeny, se mohou vázat na $\gamma\delta$ TCR. Stresem indukované molekuly, včetně MICA/B a Rae-1, se mohou vázat na NK receptory, jako je NKG2D. Tato ligace indukuje aktivaci protinádorových $\gamma\delta$ T lymfocytů. Prozápětivé cytokiny, jako je IFN γ a TNF, mohou dále aktivovat protinádorovou imunitu indukcí molekul MHC na povrchu nádorových buněk nebo ovlivněním jiných imunitních buněk. Zvýšená regulace cytotoxických molekul, jako jsou granzymy a perforin, může přímo zabít nádorové buňky. Kromě těchto receptorů může přímou cytotoxicitu proti nádorovým buňkám indukovat i ligace ADCC, FAS-FASL a TRAIL zprostředkovaná FcR. $\gamma\delta$ T lymfocyty mohou podporovat produkci IgE B lymfocyty, což má protinádorový účinek [115].

5.2.2 Potenciál v klinickém využití

V současné době se v klinickém výzkumu využívají dva hlavní přístupy k imunoterapii založené na $\gamma\delta$ T-lymfocytech: aktivace těchto buněk přímo v organismu pomocí agonistů nebo adoptivní transfer buněk aktivovaných *ex vivo*. První metoda, která využívá například aminobisfosfonáty (n-BPs) jako zoledronát (ZOL) nebo alendronát (ALD), má však zatím omezenou účinnost. Důvodem je nedostatečné pronikání $\gamma\delta$ T-lymfocytů do nádoru, jejich útlum v imunosupresivním mikroprostředí nádoru (TME) a systémová toxicita agonistů. Navíc dlouhodobé podávání n-BPs může vést k vyčerpání V γ 9V δ 2 T-lymfocytů, což snižuje účinnost

léčby. Proto vědci nyní hledají způsoby, jak léky lépe dopravit k nádoru a jak $\gamma\delta$ T-lymfocytům pomoci překonat obranu nádoru, například kombinací s jinými imunoterapiemi [79].

6. Laboratorní výsledky a klinické studie dané problematiky

Navzdory bezprecedentnímu klinickému úspěchu léčebných postupů založených na T-lymfocytech prospěly pouze malé části pacientů. Potřeba nové generace imunoterapie rakoviny je proto dána identifikací nových terapeutických molekul nebo nových imunoinženýrských buněk. Pro maximalizaci terapeutické účinnosti prostřednictvím vrozené imunogenicity je nutná konvergence terapie založené na vrozené imunitě a biomateriálů, aby se dosáhlo účinného indexu v klinických studiích. Biomateriály mohou efektivně reprogramovat a rekrutovat vrozené imunitní buňky v nádorech a v konečném důsledku iniciovat aktivaci imunity T-lymfocytů proti pokročilým rakovinám. Specifické biomateriály zlepšují schopnost vrozených imunitních buněk cílit selektivně a aktivovat imunogenicitu s minimálními nežádoucími účinky [81].

Makrofágy

Makrofágy jsou vysoce plastické a mohou být aktivovány do různých formátů v kontextu specifického tkáňového prostředí. Aktivované makrofágy se v TME konvenčně dělí na dva odlišné polarizační stavy: klasické aktivované makrofágy M1 a alternativně aktivované makrofágy M2 [82,86]. TAM vykazují vysoký stupeň heterogenity kvůli různému původu a značnému množství signálů, se kterými se setkávají. Fenotypy M1 a M2 se často používají k popisu dvou extrémů polarizovaných buněk *in vitro*, ale TAM zřídka vykazuje skutečný fenotyp M1 nebo M2 [83-86].

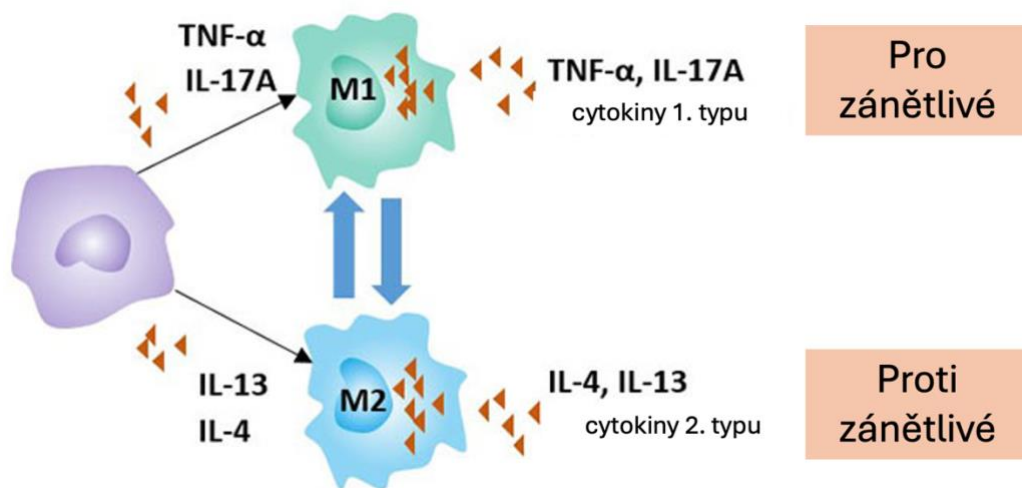
M1-like makrofágy

Makrofágy podobné M1 inhibují růst nádoru tím, že do TME přitahují CD8⁺ T a NK buňky. Makrofágy M1 přitahují NK buňky a aktivují CD8⁺ T lymfocyty sekrecí chemokinů stimulovaných rakovinou, jako je CXCL9/10/11 [87]. Tyto cytotoxické efektorové buňky produkují cytokiny, jako je IFN- γ , TNF- α , GM-CSF a chemokiny včetně CCL4/5/10, které působí jako pozitivní zpětná vazba pro další imunizaci a napomáhají protinádorovým signálním drahám [88,89] Aktivované NK buňky pomocí α -GalCer by mohly stimulovat expresi iNOS v makrofágech M1 a kontrolovat růst solidních nádorů u většiny myší. Aktivace transkripčních faktorů (např. STAT1, NF- κ B, JAK3, JNK) v makrofágech M1 může navíc podporovat expresi prozánětlivých cytokinů, včetně IL-1, IL-6, IL-12, IL-23 a TNF- α , které stimulují

protinádorové imunitní reakce (obr.9) [90,91]. Klinické studie ukázaly, že zvýšená infiltrace makrofágů M1 příznivě koreluje s delším přežitím a lepšími klinickými výsledky u různých druhů rakoviny, jako je rakovina plic [92], kolorektální karcinom [93], rakovina vaječníků [94] a trojitě negativní rakovina prsu [95,96].

M2-like makrofágy v TME

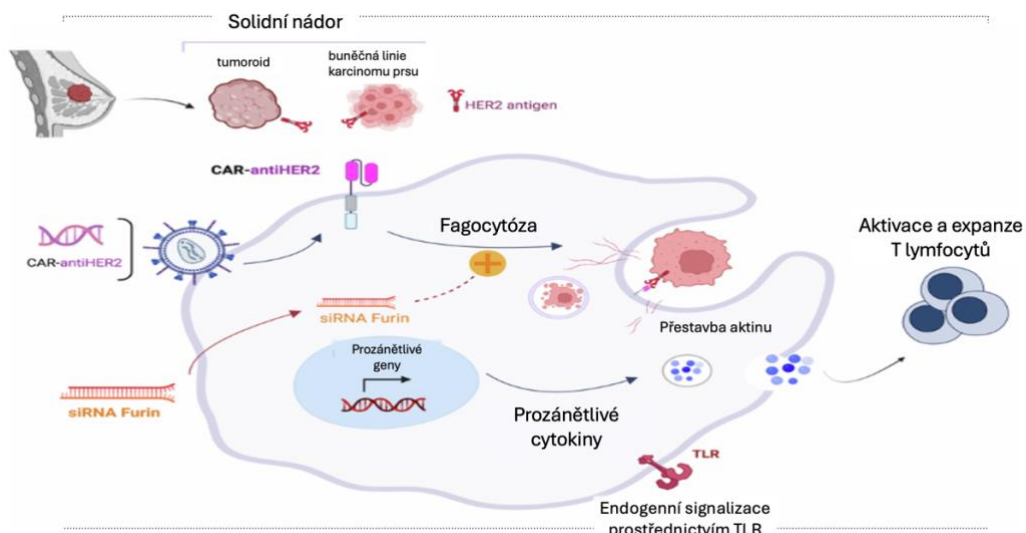
Makrofágy podobné M2 poskytují nezbytnou podporu pro progresi nádoru a tvorbu TME. Více než 80 % klinických studií prokázalo korelaci mezi hustotou makrofágů podobných M2 a špatnou prognózou u pacientů s rakovinou tlustého střeva, nemalobuněčným karcinomem plic a hepatocelulárním karcinomem (HCC) [96].



Obrázek 10: Typy makrofágů [116].

CAR makrofágy

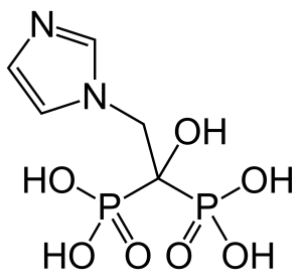
CAR makrofágy (CAR-M) prokázaly in vitro antigeně specifickou fagocytózu a eliminaci nádoru. Ve dvou myších modelech s xenografem solidních nádorů jednorázová infuze lidských CAR-M snížila nádorovou zátěž a prodloužila celkové přežití. Charakterizace aktivity CAR-M ukázala, že CAR-M exprimují prozánětlivé cytokiny a chemokiny, přeměňují makrofágy M2 na M1, regulují mechanismus prezentace antigenu, rekrutují a prezentují antigen T lymfocytům a odolávají účinkům imunosupresivních cytokinů (obr.11). V humanizovaných myších modelech bylo dále prokázáno, že CAR-M indukují prozánětlivé nádorové mikroprostředí a zvyšují protinádorovou aktivitu T lymfocytů [97].



Obrázek 11: CAR makrofágy [117].

$\gamma\delta$ T lymfocyty

Terapeutické využití $\gamma\delta$ T lymfocytů si získalo značnou pozornost díky jejich relativně snadné expanzi *ex vivo* za použití aminobisfosfonátů, jako je zoledronát (obr. 10), v kombinaci s IL-2 [98,99]. Tento přístup vede k velkému množství nádorově reagujících buněk vhodných pro adoptivní imunoterapii. Klinická translace však čelí výzvám, včetně omezené perzistence transferovaných buněk a imunosupresivního tlaku v nádorovém mikroprostředí. Současný výzkum se zaměřuje na překonání těchto omezení pomocí přístupů genetického inženýrství a kombinovaných terapií s inhibitory imunitních kontrolních bodů, což staví $\gamma\delta$ T lymfocyty mezi slibné kandidáty pro imunoterapii rakoviny nové generace, zejména proti malignitám s deficitem MHC, které odolávají konvenční [99].



Obrázek 12: Molekula zoledronátu [12].

6.1 Již prováděné imunoterapie

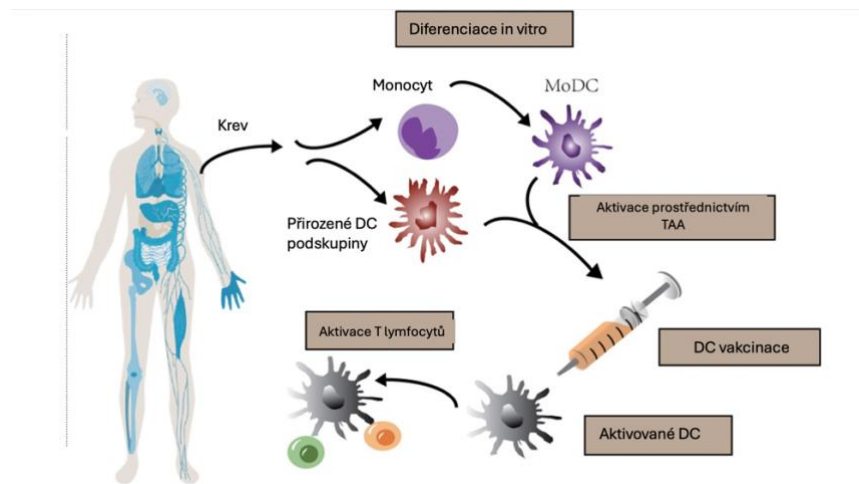
Na základě slibných výsledků preklinických výzkumů již probíhá několik klinických studií zaměřených na imunoterapie využívající buňky vrozené imunity.

CAR-NK terapie

Počáteční výsledky studie fáze I hodnotící buňky CD33 CAR-NK odvozené z pupeční šňůry u relabující/refrakterní AML ukázaly slibnou bezpečnost a účinnost. U 10 léčených pacientů byl pozorován pouze jeden případ „cytokine release syndrome“ CRS 2. stupně bez hlášené neurotoxicity. Terapie dosáhla 60% kompletní míry odpovědi 28. den po infuzi, přičemž všechny případy cytopenií souvisejících s léčbou odezněly do jednoho měsíce [100].

DC vakcíny

Dále jsou zkoumány vakcíny na bázi dendritických buněk, především u glioblastomu a prostatického karcinomu. Terapie jako sipuleucel-T (registrovaná FDA pro léčbu metastazujícího karcinomu prostaty) prokazují, že DC terapie může zlepšit přežití pacientů, byť její účinek bývá mírný a vyžaduje další optimalizaci [101,102]



Obrázek 13: Mechanismus DC vakcíny [118].

6.2 Experimentální výzkum

CAR-transdukované NK buňky u CD19-positivních lymfoidních nádorů

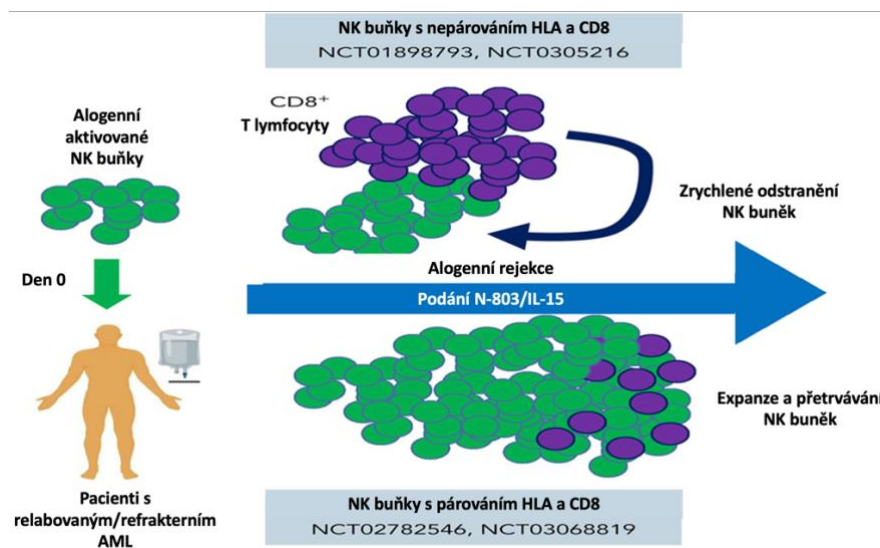
V této klinické studii fáze I/II dostalo 11 pacientů s non-Hodgkinovým lymfomem nebo chronickou lymfocytární leukémií jednorázovou infuzi HLA-neshodných CAR-NK buněk odvozených z pupečnickové krve. Tyto buňky byly geneticky modifikovány tak, aby exprimovaly anti-CD19, interleukin-15 a bezpečnostní spínač (inducibilní kaspázu 9) [103].

Výsledky: během testování bezpečnosti a účinnosti nebyly pozorovány žádné případy syndromu uvolnění cytokinů (CRS), neurotoxicity ani reakce štěpu proti hostiteli (GvHD). 8 z 11 pacientů (73 %) reagovalo na terapii, včetně 7 s kompletní remisí (4 lymfomy, 3 CLL). Klinické odpovědi byly pozorovány do 30 dnů od infuze. Z hlediska rezistence infuzované CAR-NK buňky zůstaly detekovatelné po dobu nejméně 12 měsíců [103].

V závěru terapie CAR-NK buňkami prokázala slibnou účinnost a vynikající bezpečnostní profil bez závažných nežádoucích účinků, které jsou typicky spojeny s terapií CAR-T lymfocyty [103].

Allogenní buněčná terapie

V klinických studiích relabující nebo refrakterní akutní myeloidní leukémie (AML) byli pacienti léčeni infuzemi haploidentických NK buněk podporovanými buď IL-2, nebo superagonistou IL-15 N-803. Na Washingtonské univerzitě v St. Louis dosáhli pacienti léčeni podporou IL-2 47% míry kompletní remise nebo remise s neúplnou obnovou počtu buněk (CR/CRi), zatímco ve skupině léčené N-803 nebyla pozorována žádná odpověď. Podobný trend byl pozorován v paralelních studiích na University of Minnesota, kde podpora IL-2 vedla k míře CR/CRi 28 %, ve srovnání s pouhými 14 % u pacientů léčených N-803. Ačkoli se tyto studie liší designem a charakteristikami pacientů, zjištění naznačují, že N-803 může být méně účinný než IL-2 při podpoře terapie NK buněk u AML a vyžaduje další zkoumání [104].



Obrázek 14: Podání N-803/IL-15 [104].

6.3 Nevýhody a omezení

Tumor-asociované makrofágy (TAM) v progresi rakoviny

TAM hrají dvojí roli ve vývoji nádoru, zpočátku vykazují protinádorovou aktivitu, než jsou přeprogramovány na protumorální efekty prostřednictvím cytokinů, jako je IL-4, a růstových faktorů včetně CSF1 a GM-CSF. Ačkoli se tradičně předpokládá, že pocházejí z monocytů odvozených z kostní dřeně, nedávné důkazy naznačují vícenásobný původ, včetně progenitorových buněk ze žloutkového váčku, přičemž rekrutované monocyty se diferencují na TAM pod vlivem nádorového mikroprostředí. Tyto vzdělané makrofágy podporují progresi nádoru prostřednictvím několika mechanismů: usnadněním angiogeneze prostřednictvím produkce vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (regulace angiogeneze) (VEGF), zvýšením invaze prostřednictvím remodelace matrixu a potlačení protinádorové imunity prostřednictvím sekrece TGF- β a arginázy-1. Jejich nábor je zprostředkován „colony Stimulating Factor 1“ (CSF1) a chemokiny, čímž vzniká sebeposilující protumorální niche. Plasticita a rozmanitý původ TAM představují jak výzvy, tak i příležitosti pro cílené terapie rakoviny [105].

Omezení nádorové imunoterapie

Vrozené imunitní buňky obecně rozpoznávají spíše stresové nebo nebezpečné signály než vysoce specifické nádorové antigeny, což může omezit přesnost cílení a snížit terapeutickou účinnost [106].

Mezi následujícími komplikacemi lze uvést výrobní procesy buněčných terapií zahrnující genetickou modifikaci a *ex vivo* expanzi. Ty jsou navíc složité, nákladné a vyžadují přísnou standardizaci, což omezuje velkovýrobu a dostupnost [107].

Nakonec, heterogenita nádoru a vyvíjející se antigenní krajina zpochybňují schopnost vrozených imunitních buněk udržovat efektivní rozpoznávání a eliminaci maligních buněk, což může vést k úniku z imunitního systému a relapsu onemocnění [108].

6.4 Možnosti a perspektivy v budoucnosti

Kombinována imunoterapie

Oblast imunoterapie rakoviny založené na vrozených imunitních buňkách se rychle vyvíjí a objevuje se několik slibných směrů, které by mohly překonat současná omezení. Kombinované strategie se zdají být obzvláště cenné, protože využívají synergické mechanismy mezi různými

léčebnými modalitami. Probíhající studie fáze II NCT04895969, která zkoumá inhibitory PD-1/PD-L1 s expandovanými V γ 9V δ 2 T-lymfocyty, představuje racionální přístup k potlačení imunosuprese v nádorovém mikroprostředí a zároveň ke zvýšení cytotoxicity $\gamma\delta$ T-lymfocytů [109].

Podobně preklinické údaje naznačují, že radioterapie může v kombinaci s inhibitory CSF1R vytvářet prozánětlivé prostředí, které zvyšuje nábor makrofágů a infiltraci nádoru. Tyto kombinace si kladou za cíl řešit základní problém imunitního úniku a zároveň zachovat příznivé bezpečnostní profily charakteristické pro terapie vrozené imunity [110].

Výroba a dostupnost

Výrobní inovace jsou zásadní pro zlepšení klinické škálovatelnosti. Nedávný pokrok v automatizovaných bioreaktorech s uzavřeným systémem (např. systémy G-Rex) prokázal potenciál snížit výrobní náklady přibližně o 70 % při zachování životaschopnosti a funkčnosti buněk [111]. Vývoj běžně dostupných alogenních $\gamma\delta$ T-lymfocytárních produktů z geneticky modifikovaných linií iPSC nebo zdrojů pupečnickové krve by mohl překonat problémy s variabilitou dárců, přičemž tři takové produkty jsou v současné době ve studiích umožňujících „Investigational New Drug“ (IND) [112].

ZÁVĚR

Nádorová imunoterapie je rychle se rozvíjející oblast moderní onkologie, která nabízí nové možnosti v léčbě maligních nádorů. Zatímco většina současných imunoterapeutických přístupů se zaměřuje na adaptivní imunitní systém, zejména T lymfocyty, v posledních letech se stále větší pozornost zaměřuje na buňky vrozené imunity. Tyto buňky – zejména přirozené zabíječské buňky (NK), dendritické buňky, makrofágy a neutrofilů – hrají klíčovou roli nejen v počáteční protinádorové odpovědi, ale také v regulaci adaptivní imunity a modulaci mikroprostředí nádoru.

Imunoterapie založená na buňkách vrozené imunity nabízí oproti získané imunitě několik potenciálních výhod, jako je rychlá odpověď a schopnost rozpoznávat stresované nebo transformované buňky bez nutnosti prezentace antigenu nebo HLA restrikce. Tato strategie však čelí řadě výzev, včetně imunosupresivní povahy nádorového mikroprostředí, heterogenity nádorových buněk a omezené délky života nebo migrační kapacity podávaných buněk.

Nové výzkumy v této oblasti nicméně přinesly slibné výsledky – například klinické studie s NK buňkami, vývoj geneticky modifikovaných nebo CAR-NK buněk a kombinace vrozených a adaptivních imunoterapeutických strategií. Další studie zkoumají také cílenou modulaci makrofágů a dendritických buněk pomocí nanonosičů, cytokinů nebo inhibitorů kontrolních bodů.

V závěru lze říct, že vrozené imunitní buňky představují slibný nástroj v boji proti nádorovým onemocněním. Jejich plný terapeutický potenciál však dosud nebyl plně využit a vyžaduje další výzkum zaměřený na zlepšení jejich účinnosti, bezpečnosti a cílení. Integrací znalostí z imunologie, genetického inženýrství a biotechnologie se imunoterapie založená na vrozených imunitních buňkách může stát důležitým krokem k personalizované a účinné léčbě rakoviny v budoucnu.

POUŽITÁ LITERATURA

1. HOŘEJŠÍ, Václav a BARTŮŇKOVÁ, Jiřina. *Základy imunologie*. 3. vyd. Praha: Triton, 2005. ISBN 80-7254-686-4.
2. MURPHY, Kenneth; WEAVER, Casey; BERG, Leslie a BARTON, Greg. *Janeway's immunobiology*. 10th edition. International student edition. New York, NY: W. W. Norton & Company, [2022]. ISBN 978-0-393-68093-5.
3. WICHERSKA-PAWŁOWSKA, Katarzyna; WRÓBEL, Tomasz a RYBKA, Justyna. Toll-Like Receptors (TLRs), NOD-Like Receptors (NLRs), and RIG-I-Like Receptors (RLRs) in Innate Immunity. TLRs, NLRs, and RLRs Ligands as Immunotherapeutic Agents for Hematopoietic Diseases. Online. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, roč. 22, č. 24. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms222413397>. [cit. 2025-06-07].
4. CHAPLIN, David D. Overview of the immune response. Online. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2010, roč. 125, č. 2, s. S3-S23. ISSN 00916749. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.12.980>. [cit. 2025-06-07].
5. PLATT, Andrew a WETZLER, Lee. Innate Immunity and Vaccines. Online. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2013, roč. 13, č. 20, s. 2597-2608. ISSN 15680266. Dostupné z: <https://doi.org/10.2174/15680266113136660185>. [cit. 2025-06-07].
6. SUN, Lizhe; WANG, Xianwei; SAREDY, Jason; YUAN, Zuyi; YANG, Xiaofeng et al. Innate-adaptive immunity interplay and redox regulation in immune response. Online. *Redox Biology*. 2020, roč. 37. ISSN 22132317. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101759>. [cit. 2025-06-07].
7. ABBAS, Abul K. a LICHTMAN, Andrew H. *Basic immunology: functions and disorders of the immune system*. 3rd edition. Ilustroval David L. BAKER, ilustroval Alexandra BAKER. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier, [2009]. ISBN 978-1-4160-4688-2.
8. JACQUEMIN, Marc G.; VANZIELEGHEM, Bietrijs a SAINT-REMY, Jean-Marie R. Mechanisms of B-cell Tolerance. Online. In: MONROE, Dougald M.; HEDNER, Ulla; HOFFMAN, Maureane R.; NEGRIER, Claude; SAVIDGE, Geoffrey F. et al. (ed.). *Hemophilia Care in the New Millennium*. Advances in Experimental Medicine and Biology. Boston, MA: Springer US, 2001, s. 99-108. ISBN 978-1-4613-5474-1. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1277-6_9. [cit. 2025-06-07].
9. MACKAY, Ian R.; ROSEN, Fred S.; KAMRADT, Thomas a MITCHISON, N. Avrión. Tolerance and Autoimmunity. Online. *New England Journal of Medicine*. 2001, roč. 344, č. 9, s. 655-664. ISSN 0028-4793. Dostupné z: <https://doi.org/10.1056/NEJM200103013440907>. [cit. 2025-06-07].
10. ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H. a PILLAI, Shiv. *Cellular and molecular immunology*. 7th ed. Philadelphia: Elsevier/Saunders, c2012. ISBN 978-1-4377-1528-6.
11. QIN, Simin; NA, Jintong; YANG, Qun; TANG, Jing; DENG, Yamin et al. Advances in dendritic cell-based therapeutic tumor vaccines. Online. *Molecular Immunology*. 2025, roč. 181, s. 113-128. ISSN 01615890. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2025.03.005>. [cit. 2025-06-19].
12. SHIN, Min Hwa; KIM, Junghee; LIM, Siyoung A.; KIM, Jungwon; KIM, Seong-Jin et al. NK Cell-Based Immunotherapies in Cancer. Online. *Immune Network*. 2020, roč. 20, č. 2. ISSN 1598-2629. Dostupné z: <https://doi.org/10.4110/in.2020.20.e14>. [cit. 2025-06-19].
13. ZOU, Zijuan; LIN, Hongfen; LI, Mengsen a LIN, Bo. Tumor-associated macrophage polarization in the inflammatory tumor microenvironment. Online. *Frontiers in Oncology*.

- 2023, roč. 13. ISSN 2234-943X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1103149>. [cit. 2025-06-19].
14. OBERG, Hans-Heinrich; KELLNER, Christian; GONNERMANN, Daniel; PEIPP, Matthias; PETERS, Christian et al. $\Gamma\delta$ T cell activation by bispecific antibodies. Online. *Cellular Immunology*. 2015, roč. 296, č. 1, s. 41-49. ISSN 00088749. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2015.04.009>. [cit. 2025-06-19].
15. JÍLEK, Petr. *Imunologie: stručně, jasně, přehledně*. 2., doplněné vydání. Praha: Grada Publishing, 2019. ISBN 978-80-271-0595-3.
16. REINIŠ, Milan. Immunotherapy of MHC Class I-Deficient Tumors. Online. *Future Oncology*. 2010, roč. 6, č. 10, s. 1577-1589. ISSN 1479-6694. Dostupné z: <https://doi.org/10.2217/fon.10.128>. [cit. 2025-06-19].
17. LU, Hui; ZHAO, Xiaoyan; LI, Ziyang; HU, Yu a WANG, Huafang. From CAR-T Cells to CAR-NK Cells: A Developing Immunotherapy Method for Hematological Malignancies. Online. *Frontiers in Oncology*. 2021, roč. 11. ISSN 2234-943X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.720501>. [cit. 2025-06-19].
18. TUNCER, Samuray; TANYILDIZ, Burak; BASARAN, Mert; BUYUKBABANI, Nesimi a DOGAN, Oner. Systemic Rituximab Immunotherapy in the Management of Primary Ocular Adnexal Lymphoma: Single Institution Experience. Online. *Current Eye Research*. 2015, roč. 40, č. 8, s. 780-785. ISSN 0271-3683. Dostupné z: <https://doi.org/10.3109/02713683.2014.959605>. [cit. 2025-06-19].
19. MARIN-ACEVEDO, Julian A.; WITHYCOMBE, Bethany M.; KIM, Youngchul; BROHL, Andrew S.; EROGLU, Zeynep et al. Cetuximab for Immunotherapy-Refractory/Ineligible Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. Online. *Cancers*. 2023, roč. 15, č. 12. ISSN 2072-6694. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/cancers15123180>. [cit. 2025-06-19].
20. GOLDBERG, Richard a KIRKPATRICK, Peter. Cetuximab. Online. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2005, roč. 4, č. 5, s. S10-S11. ISSN 1474-1776. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nrd1728>. [cit. 2025-05-22].
21. BELDI-FERCHIOU, Asma; LAMBERT, Marion; DOGNIAUX, Stéphanie; VÉLY, Frédéric; VIVIER, Eric et al. PD-1 mediates functional exhaustion of activated NK cells in patients with Kaposi sarcoma. Online. *Oncotarget*. 2016, roč. 7, č. 45, s. 72961-72977. ISSN 1949-2553. Dostupné z: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12150>. [cit. 2025-06-19].
22. ANDRÉ, Pascale; DENIS, Caroline; SOULAS, Caroline; BOURBON-CAILLET, Clarisse; LOPEZ, Julie et al. Anti-NKG2A mAb Is a Checkpoint Inhibitor that Promotes

- Anti-tumor Immunity by Unleashing Both T and NK Cells. Online. *Cell*. 2018, roč. 175, č. 7, s. 1731-1743.e13. ISSN 00928674. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.10.014>. [cit. 2025-06-19].
23. ZHANG, Qing; BI, Jiacheng; ZHENG, Xiaodong; CHEN, Yongyan; WANG, Hua et al. Blockade of the checkpoint receptor TIGIT prevents NK cell exhaustion and elicits potent anti-tumor immunity. Online. *Nature Immunology*. 2018, roč. 19, č. 7, s. 723-732. ISSN 1529-2908. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0132-0>. [cit. 2025-06-19].
24. VULPIS, Elisabetta; SORIANI, Alessandra; CERBONI, Cristina; SANTONI, Angela a ZINGONI, Alessandra. Cancer Exosomes as Conveyors of Stress-Induced Molecules: New Players in the Modulation of NK Cell Response. Online. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019, roč. 20, č. 3. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms20030611>. [cit. 2025-06-19].
25. DRÉNO, Brigitte; NGUYEN, Jean-Michel; KHAMMARI, Amir; PANDOLFINO, Marie; TESSIER, Marie et al. Randomized trial of adoptive transfer of melanoma tumor-infiltrating lymphocytes as adjuvant therapy for stage III melanoma. Online. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2002, roč. 51, č. 10, s. 539-546. ISSN 0340-7004. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00262-002-0315-1>. [cit. 2025-06-19].
26. FOY, Susan P.; JACOBY, Kyle; BOTA, Daniela A.; HUNTER, Theresa; PAN, Zheng et al. Non-viral precision T cell receptor replacement for personalized cell therapy. Online. *Nature*. 2023, roč. 615, č. 7953, s. 687-696. ISSN 0028-0836. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05531-1>. [cit. 2025-06-19].
27. ALNEFAIE, Alaa; ALBOGAMI, Sarah; ASIRI, Yousif; AHMAD, Tanveer; ALOTAIBI, Saqer S. et al. Chimeric Antigen Receptor T-Cells: An Overview of Concepts, Applications, Limitations, and Proposed Solutions. Online. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022, roč. 10. ISSN 2296-4185. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.797440>. [cit. 2025-06-19].
28. Vávrová, K., Bartůňková, J., Horváth, R. Adoptivní buněčná terapie pomocí lymfocytů T v léčbě nádorů [online]. *Onkologie*, 2015, roč. 9, č. 1, s. 7–12 [cit. 2025-06-20]. Dostupné z: <https://www.onkologiecs.cz/pdfs/xon/2015/01/03.pdf>. Datum stažení 15.05.2025
29. NATIONAL CANCER INSTITUTE. *Immune checkpoint inhibitor* [online]. [n.d.] [cit. 2025-06-19]. Dostupné z: <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/immune-checkpoint-inhibitor>

30. PALUCKA, Karolina a BANCHEREAU, Jacques. Cancer immunotherapy via dendritic cells. Online. *Nature Reviews Cancer*. 2012, roč. 12, č. 4, s. 265-277. ISSN 1474-175X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nrc3258>. [cit. 2025-06-22].
31. Donor T Cells to Treat EBV-Associated Lymphoma. Online. *New England Journal of Medicine*. 1994, roč. 331, č. 10, s. 679-680. ISSN 0028-4793. Dostupné z: <https://doi.org/10.1056/NEJM199409083311017>. [cit. 2025-06-22].
32. DUDLEY, Mark E.; WUNDERLICH, John R.; ROBBINS, Paul F.; YANG, James C.; HWU, Patrick et al. Cancer Regression and Autoimmunity in Patients After Clonal Repopulation with Antitumor Lymphocytes. Online. *Science*. 2002, roč. 298, č. 5594, s. 850-854. ISSN 0036-8075. Dostupné z: <https://doi.org/10.1126/science.1076514>. [cit. 2025-06-22].
33. YEE, C.; THOMPSON, J. A.; BYRD, D.; RIDDELL, S. R.; ROCHE, P. et al. Adoptive T cell therapy using antigen-specific CD8 + T cell clones for the treatment of patients with metastatic melanoma: *In vivo* persistence, migration, and antitumor effect of transferred T cells. Online. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002, roč. 99, č. 25, s. 16168-16173. ISSN 0027-8424. Dostupné z: <https://doi.org/10.1073/pnas.242600099>. [cit. 2025-06-22].
34. KANTOFF, Philip W.; HIGANO, Celestia S.; SHORE, Neal D.; BERGER, E. Roy; SMALL, Eric J. et al. Sipuleucel-T Immunotherapy for Castration-Resistant Prostate Cancer. Online. *New England Journal of Medicine*. 2010, roč. 363, č. 5, s. 411-422. ISSN 0028-4793. Dostupné z: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1001294>. [cit. 2025-06-22].
35. BONIFAZ, Laura; BONNYAY, David; MAHNKE, Karsten; RIVERA, Miguel; NUSSENZWEIG, Michel C. et al. Efficient Targeting of Protein Antigen to the Dendritic Cell Receptor DEC-205 in the Steady State Leads to Antigen Presentation on Major Histocompatibility Complex Class I Products and Peripheral CD8+ T Cell Tolerance. Online. *The Journal of Experimental Medicine*. 2002, roč. 196, č. 12, s. 1627-1638. ISSN 1540-9538. Dostupné z: <https://doi.org/10.1084/jem.20021598>. [cit. 2025-06-22].
36. HAWIGER, Daniel; INABA, Kayo; DORSETT, Yair; GUO, Ming; MAHNKE, Karsten et al. Dendritic Cells Induce Peripheral T Cell Unresponsiveness under Steady State Conditions *in Vivo*. Online. *The Journal of Experimental Medicine*. 2001, roč. 194, č. 6, s. 769-780. ISSN 0022-1007. Dostupné z: <https://doi.org/10.1084/jem.194.6.769>. [cit. 2025-06-22].
37. BONIFAZ, Laura C.; BONNYAY, David P.; CHARALAMBOUS, Anna; DARGUSTE, Dara I.; FUJII, Shin-Ichiro et al. *In Vivo* Targeting of Antigens to Maturing Dendritic

- Cells via the DEC-205 Receptor Improves T Cell Vaccination. Online. *The Journal of Experimental Medicine*. 2004, roč. 199, č. 6, s. 815-824. ISSN 1540-9538. Dostupné z: <https://doi.org/10.1084/jem.20032220>. [cit. 2025-06-22].
38. SOARES, Helena; WAECHTER, HaeNa; GLAICHENHAUS, Nicholas; MOUGNEAU, Evelyne; YAGITA, Hideo et al. A subset of dendritic cells induces CD4⁺ T cells to produce IFN- γ by an IL-12-independent but CD70-dependent mechanism *in vivo*. Online. *The Journal of Experimental Medicine*. 2007, roč. 204, č. 5, s. 1095-1106. ISSN 1540-9538. Dostupné z: <https://doi.org/10.1084/jem.20070176>. [cit. 2025-06-22].
39. GUERMONPREZ, Pierre; VALLADEAU, Jenny; ZITVOGEL, Laurence; THÉRY, Clotilde a AMIGORENA, Sebastian. Antigen Presentation and T Cell Stimulation by Dendritic Cells. Online. *Annual Review of Immunology*. 2002, roč. 20, č. 1, s. 621-667. ISSN 0732-0582. Dostupné z: <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.20.100301.064828>. [cit. 2025-06-22].
40. BANCHEREAU, Jacques a STEINMAN, Ralph M. Dendritic cells and the control of immunity. Online. *Nature*. 1998, roč. 392, č. 6673, s. 245-252. ISSN 0028-0836. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/32588>. [cit. 2025-06-22].
41. WCULEK, Stefanie K.; CUETO, Francisco J.; MUJAL, Adriana M.; MELERO, Ignacio; KRUMMEL, Matthew F. et al. Dendritic cells in cancer immunology and immunotherapy. Online. *Nature Reviews Immunology*. 2020, roč. 20, č. 1, s. 7-24. ISSN 1474-1733. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0210-z>. [cit. 2025-06-22].
42. STEINMAN, Ralph M. a BANCHEREAU, Jacques. Taking dendritic cells into medicine. Online. *Nature*. 2007, roč. 449, č. 7161, s. 419-426. ISSN 0028-0836. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nature06175>. [cit. 2025-06-22].
43. LI, Tianye; NIU, Mengke; ZHANG, Weijiang; QIN, Shuang; ZHOU, Jianwei et al. CAR-NK cells for cancer immunotherapy: recent advances and future directions. Online. *Frontiers in Immunology*. 2024, roč. 15. ISSN 1664-3224. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1361194>. [cit. 2025-06-22].
44. *Immunology for Pharmacy*. Online. Elsevier, 2012. ISBN 9780323069472. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/C2009-0-40304-0>. [cit. 2025-06-22].
45. COICO, Richard a SUNSHINE, Geoffrey. *Immunology: a short course*. Seventh edition. West Sussex, England: Wiley Blackwell, 2015. ISBN 978-1-118-39689-6. Dostupné také z: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/natl-ebooks/detail.action?docID=7103605>.
46. KULKARNI, Smita; MARTIN, Maureen P. a CARRINGTON, Mary. The Yin and Yang of HLA and KIR in human disease. Online. *Seminars in Immunology*. 2008, roč. 20, č. 6,

- s. 343-352. ISSN 10445323. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.smim.2008.06.003>. [cit. 2025-06-22].
47. NAUMOVA, Elissaveta; MIHAYLOVA, Anastassia; STOITCHKOV, Konstantin; IVANOVA, Milena; QUIN, Ludmila et al. Genetic polymorphism of NK receptors and their ligands in melanoma patients: prevalence of inhibitory over activating signals. Online. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2005, roč. 54, č. 2, s. 172-178. ISSN 0340-7004. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00262-004-0575-z>. [cit. 2025-06-22].
48. NAUMOVA, Elissaveta; MIHAYLOVA, Anastassia; IVANOVA, Milena a MIHAILOVA, Snežina. Impact of KIR/HLA ligand combinations on immune responses in malignant melanoma. Online. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2006, roč. 56, č. 1, s. 95-100. ISSN 0340-7004. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00262-006-0151-9>. [cit. 2025-06-22].
49. KATZ, Gil; GAZIT, Roi; ARNON, Tal I.; GONEN-GROSS, Tsufit; TARCIC, Gabi et al. MHC Class I-Independent Recognition of NK-Activating Receptor KIR2DS4. Online. *The Journal of Immunology*. 2004, roč. 173, č. 3, s. 1819-1825. ISSN 0022-1767. Dostupné z: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.3.1819>. [cit. 2025-06-22].
50. VERHEYDEN, S; BERNIER, M a DEMANET, C. Identification of natural killer cell receptor phenotypes associated with leukemia. Online. *Leukemia*. 2004, roč. 18, č. 12, s. 2002-2007. ISSN 0887-6924. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2403525>. [cit. 2025-06-22].
51. GATI, Asma; DA ROCHA, Sylvie; GUERRA, Nadia; ESCUDIER, Bernard; MORETTA, Alessandro et al. Analysis of the natural killer mediated immune response in metastatic renal cell carcinoma patients. Online. *International Journal of Cancer*. 2004, roč. 109, č. 3, s. 393-401. ISSN 0020-7136. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/ijc.11730>. [cit. 2025-06-22].
52. SCQUIZZATO, E; TERAMO, A; MIORIN, M; FACCO, M; PIAZZA, F et al. Genotypic evaluation of killer immunoglobulin-like receptors in NK-type lymphoproliferative disease of granular lymphocytes. Online. *Leukemia*. 2007, roč. 21, č. 5, s. 1060-1069. ISSN 0887-6924. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404634>. [cit. 2025-06-22].
53. BESSON, Caroline; ROETYNCK, Sophie; WILLIAMS, Fionnuala; ORSI, Laurent; AMIEL, Corinne et al. Association of Killer Cell Immunoglobulin-Like Receptor Genes with Hodgkin's Lymphoma in a Familial Study. Online. *PLoS ONE*. 2007, roč. 2, č. 5. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000406>. [cit. 2025-06-22].

54. BOCK, Allison M.; KNORR, David a KAUFMAN, Dan S. Development, Expansion, and *emIn vivo/em* Monitoring of Human NK Cells from Human Embryonic Stem Cells (hESCs) and Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs). Online. *Journal of Visualized Experiments*. 2013, č. 74. ISSN 1940-087X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3791/50337>. [cit. 2025-06-22].
55. ZHANG, Hao; YANG, Li; WANG, Tingting a LI, Zhen. NK cell-based tumor immunotherapy. Online. *Bioactive Materials*. 2024, roč. 31, s. 63-86. ISSN 2452199X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2023.08.001>. [cit. 2025-06-22].
56. FANTINI, Massimo a BEI, Roberto. Editorial: Engineered Targeted Cancer Immunotherapies. Online. *Frontiers in Oncology*. 2022, roč. 12. ISSN 2234-943X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.953175>. [cit. 2025-06-22].
57. LIN, Haolong; CHENG, Jiali; MU, Wei; ZHOU, Jianfeng a ZHU, Li. Advances in Universal CAR-T Cell Therapy. Online. *Frontiers in Immunology*. 2021, roč. 12. ISSN 1664-3224. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.744823>. [cit. 2025-06-22].
58. SHIN, Min Hwa; OH, Eunha; KIM, Yunjeong; NAM, Dae-Hwan; JEON, So Young et al. Recent Advances in CAR-Based Solid Tumor Immunotherapy. Online. *Cells*. 2023, roč. 12, č. 12. ISSN 2073-4409. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/cells12121606>. [cit. 2025-06-22].
59. PAN, Kevin; FARRUKH, Hizra; CHITTEPU, Veera Chandra Sekhar Reddy; XU, Huihong; PAN, Chong-xian et al. CAR race to cancer immunotherapy: from CAR T, CAR NK to CAR macrophage therapy. Online. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2022, roč. 41, č. 1. ISSN 1756-9966. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s13046-022-02327-z>. [cit. 2025-06-22].
60. LIU, Enli; MARIN, David; BANERJEE, Pinaki; MACAPINLAC, Homer A.; THOMPSON, Philip et al. Use of CAR-Transduced Natural Killer Cells in CD19-Positive Lymphoid Tumors. Online. *New England Journal of Medicine*. 2020, roč. 382, č. 6, s. 545-553. ISSN 0028-4793. Dostupné z: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1910607>. [cit. 2025-06-22].
61. HUANG, Ruihao; WEN, Qin a ZHANG, Xi. CAR-NK cell therapy for hematological malignancies: recent updates from ASH 2022. Online. *Journal of Hematology & Oncology*. 2023, roč. 16, č. 1. ISSN 1756-8722. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s13045-023-01435-3>. [cit. 2025-06-22].
62. WŁODARCZYK, Marta a PYRZYNSKA, Beata. CAR-NK as a Rapidly Developed and Efficient Immunotherapeutic Strategy against Cancer. Online. *Cancers*. 2023, roč. 15, č.

1. ISSN 2072-6694. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/cancers15010117>. [cit. 2025-06-22].
63. VALERI, Antonio; GARCÍA-ORTIZ, Almudena; CASTELLANO, Eva; CÓRDOBA, Laura; MAROTO-MARTÍN, Elena et al. Overcoming tumor resistance mechanisms in CAR-NK cell therapy. Online. *Frontiers in Immunology*. 2022, roč. 13. ISSN 1664-3224. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.953849>. [cit. 2025-06-22].
64. WANG, Xiao; YANG, Xuejiao; YUAN, Xiang; WANG, Wenbo a WANG, Yueying. Chimeric antigen receptor-engineered NK cells: new weapons of cancer immunotherapy with great potential. Online. *Experimental Hematology & Oncology*. 2022, roč. 11, č. 1. ISSN 2162-3619. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s40164-022-00341-7>. [cit. 2025-06-22].
65. LOYHER, Pierre-Louis; HAMON, Pauline; LAVIRON, Marie; MEGHRAOUI-KHEDDAR, Aïda; GONCALVES, Elena et al. Macrophages of distinct origins contribute to tumor development in the lung. Online. *Journal of Experimental Medicine*. 2018, roč. 215, č. 10, s. 2536-2553. ISSN 0022-1007. Dostupné z: <https://doi.org/10.1084/jem.20180534>. [cit. 2025-06-22].
66. MOVAHEDI, Kiavash; LAOUI, Damya; GYSEMANS, Conny; BAETEN, Martijn; STANGÉ, Geert et al. Different Tumor Microenvironments Contain Functionally Distinct Subsets of Macrophages Derived from Ly6C(high) Monocytes. Online. *Cancer Research*. 2010, roč. 70, č. 14, s. 5728-5739. ISSN 0008-5472. Dostupné z: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-4672>. [cit. 2025-06-22].
67. SADRI, Maryam; HEIDARI, Sahel; FARIDZADEH, Arezoo; ROOZBEHANI, Mona; TOOSI, Shirin et al. Potential applications of macrophages in cancer immunotherapy. Online. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2024, roč. 178. ISSN 07533322. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.117161>. [cit. 2025-06-22].
68. KHAN, Fatima; PANG, Lizhi; DUNTERMAN, Madeline; LESNIAK, Maciej S.; HEIMBERGER, Amy B. et al. Macrophages and microglia in glioblastoma: heterogeneity, plasticity, and therapy. Online. *Journal of Clinical Investigation*. 2023, roč. 133, č. 1. ISSN 1558-8238. Dostupné z: <https://doi.org/10.1172/JCI163446>. [cit. 2025-06-22].
69. LI, Lei; LV, Guohua; WANG, Bing a KUANG, Lei. XIST/miR-376c-5p/OPN axis modulates the influence of proinflammatory M1 macrophages on osteoarthritis chondrocyte apoptosis. Online. *Journal of Cellular Physiology*. 2020, roč. 235, č. 1, s.

- 281-293. ISSN 0021-9541. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jcp.28968>. [cit. 2025-06-22].
70. ORŠOLIĆ, Nada; KUNŠTIĆ, Martina; KUKOLJ, Marina; GRAČAN, Romana a NEMRAVA, Johann. Oxidative stress, polarization of macrophages and tumour angiogenesis: Efficacy of caffeic acid. Online. *Chemico-Biological Interactions*. 2016, roč. 256, s. 111-124. ISSN 00092797. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.06.027>. [cit. 2025-06-22].
71. ZHAO, Wenjing; MA, Lulin; DENG, Daling; ZHANG, Tianhao; HAN, Linlin et al. M2 macrophage polarization: a potential target in pain relief. Online. *Frontiers in Immunology*. 2023, roč. 14. ISSN 1664-3224. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1243149>. [cit. 2025-06-22].
72. ZHOU, Wenli; YANG, Fengtang a ZHANG, Xiuzhen. Roles of M1 Macrophages and Their Extracellular Vesicles in Cancer Therapy. Online. *Cells*. 2024, roč. 13, č. 17. ISSN 2073-4409. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/cells13171428>. [cit. 2025-06-22].
73. MILLS, Charles D.; KINCAID, Kristi; ALT, Jennifer M.; HEILMAN, Michelle J. a HILL, Annette M. M-1/M-2 Macrophages and the Th1/Th2 Paradigm. Online. *The Journal of Immunology*. 2000, roč. 164, č. 12, s. 6166-6173. ISSN 0022-1767. Dostupné z: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.12.6166>. [cit. 2025-06-22].
74. MURRAY, Peter J.; ALLEN, Judith E.; BISWAS, Subhra K.; FISHER, Edward A.; GILROY, Derek W. et al. Macrophage Activation and Polarization: Nomenclature and Experimental Guidelines. Online. *Immunity*. 2014, roč. 41, č. 1, s. 14-20. ISSN 10747613. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.06.008>. [cit. 2025-06-22].
75. SHEN, Yue; CHEN, Jia-Xi; LI, Ming; XIANG, Ze; WU, Jian et al. Role of tumor-associated macrophages in common digestive system malignant tumors. Online. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2023, roč. 15, č. 4, s. 596-616. ISSN 1948-5204. Dostupné z: <https://doi.org/10.4251/wjgo.v15.i4.596>. [cit. 2025-06-22].
76. CHONG, Lijuan; JIANG, Yao-Wen; WANG, Dongxu; CHANG, Pengzhao; XU, Kai et al. Targeting and repolarizing M2-like tumor-associated macrophage-mediated MR imaging and tumor immunotherapy by biomimetic nanoparticles. Online. *Journal of Nanobiotechnology*. 2023, roč. 21, č. 1. ISSN 1477-3155. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s12951-023-02122-8>. [cit. 2025-06-22].
77. HOLTMEIER, Wolfgang a KABELITZ, Dieter. $\gamma\delta$ T Cells Link Innate and Adaptive Immune Responses. Online. In: KABELITZ, D. a SCHRÖDER, J.-M. (ed.). *Mechanisms of Epithelial Defense*. Chemical Immunology and Allergy. Basel: KARGER, 2005, s. 151-

183. ISBN 3-8055-7862-8. Dostupné z: <https://doi.org/10.1159/000086659>. [cit. 2025-06-22].
78. KABELITZ, Dieter. $\gamma\delta$ T-cells: cross-talk between innate and adaptive immunity. Online. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2011, roč. 68, č. 14, s. 2331-2333. ISSN 1420-682X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00018-011-0696-4>. [cit. 2025-06-22].
79. REVESZ, Isabella A; JOYCE, Paul; EBERT, Lisa M a PRESTIDGE, Clive A. Effective $\gamma\delta$ T-cell clinical therapies: current limitations and future perspectives for cancer immunotherapy. Online. *Clinical & Translational Immunology*. 2024, roč. 13, č. 2. ISSN 2050-0068. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/cti2.1492>. [cit. 2025-06-22].
80. ROSSO, David A.; ROSATO, Micaela; ITURRIZAGA, Juan; GONZÁLEZ, Nazareno; SHIROMIZU, Carolina M. et al. Glioblastoma cells potentiate the induction of the Th1-like profile in phosphoantigen-stimulated $\gamma\delta$ T lymphocytes. Online. *Journal of Neuro-Oncology*. 2021, roč. 153, č. 3, s. 403-415. ISSN 0167-594X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11060-021-03787-7>. [cit. 2025-06-22].
81. LEE, DaeYong; HUNTOON, Kristin; WANG, Yifan; JIANG, Wen a KIM, Betty Y. S. Harnessing Innate Immunity Using Biomaterials for Cancer Immunotherapy. Online. *Advanced Materials*. 2021, roč. 33, č. 27. ISSN 0935-9648. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/adma.202007576>. [cit. 2025-06-22].
82. PAN, Yueyun; YU, Yinda; WANG, Xiaojian a ZHANG, Ting. Tumor-Associated Macrophages in Tumor Immunity. Online. *Frontiers in Immunology*. 2020, roč. 11. ISSN 1664-3224. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.583084>. [cit. 2025-06-22].
83. MARTINEZ, Fernando Oneissi. Macrophage activation and polarization. Online. *Frontiers in Bioscience*. 2008, roč. 13, č. 13. ISSN 10939946. Dostupné z: <https://doi.org/10.2741/2692>. [cit. 2025-06-22].
84. PITTET, Mikael J.; MICHIELIN, Olivier a MIGLIORINI, Denis. Clinical relevance of tumour-associated macrophages. Online. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2022, roč. 19, č. 6, s. 402-421. ISSN 1759-4774. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41571-022-00620-6>. [cit. 2025-06-22].
85. MANTOVANI, Alberto; ALLAVENA, Paola; MARCHESI, Federica a GARLANDA, Cecilia. Macrophages as tools and targets in cancer therapy. Online. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2022, roč. 21, č. 11, s. 799-820. ISSN 1474-1776. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41573-022-00520-5>. [cit. 2025-06-22].
86. ZHANG, Wenru; WANG, Mengmeng; JI, Chonghao; LIU, Xiaohui; GU, Bowen et al. Macrophage polarization in the tumor microenvironment: Emerging roles and therapeutic

- potentials. Online. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2024, roč. 177. ISSN 07533322. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116930>. [cit. 2025-06-22].
87. SUSEK, Katharina Helene; KARVOUNI, Maria; ALICI, Evren a LUNDQVIST, Andreas. The Role of CXC Chemokine Receptors 1–4 on Immune Cells in the Tumor Microenvironment. Online. *Frontiers in Immunology*. 2018, roč. 9. ISSN 1664-3224. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02159>. [cit. 2025-06-22].
88. COLAK, Selcuk a TEN DIJKE, Peter. Targeting TGF- β Signaling in Cancer. Online. *Trends in Cancer*. 2017, roč. 3, č. 1, s. 56-71. ISSN 24058033. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2016.11.008>. [cit. 2025-06-22].
89. LIU, Zhengzheng; KUANG, Weilu; ZHOU, Qin a ZHANG, Yingying. TGF- β 1 secreted by M2 phenotype macrophages enhances the stemness and migration of glioma cells via the SMAD2/3 signalling pathway. Online. *International Journal of Molecular Medicine*. 2018. ISSN 1107-3756. Dostupné z: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3923>. [cit. 2025-06-22].
90. CHANMEE, Theerawut; ONTONG, Pawared; KONNO, Kenjiro a ITANO, Naoki. Tumor-Associated Macrophages as Major Players in the Tumor Microenvironment. Online. *Cancers*. 2014, roč. 6, č. 3, s. 1670-1690. ISSN 2072-6694. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/cancers6031670>. [cit. 2025-06-22].
91. GANSTER, Raymond W.; TAYLOR, Bradley S.; SHAO, Lifang a GELLER, David A. Complex regulation of human inducible nitric oxide synthase gene transcription by Stat 1 and NF- κ B. Online. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001, roč. 98, č. 15, s. 8638-8643. ISSN 0027-8424. Dostupné z: <https://doi.org/10.1073/pnas.151239498>. [cit. 2025-06-22].
92. SEDIGHZADEH, Sahar Sadat; KHOSHBIN, Amin Pastaki; RAZI, Sepideh; KESHAVARZ-FATHI, Mahsa a REZAEI, Nima. A narrative review of tumor-associated macrophages in lung cancer: regulation of macrophage polarization and therapeutic implications. Online. *Translational Lung Cancer Research*. 2021, roč. 10, č. 4, s. 1889-1916. ISSN 22186751. Dostupné z: <https://doi.org/10.21037/tlcr-20-1241>. [cit. 2025-06-22].
93. WANG, Hui; TIAN, Tian a ZHANG, Jinhua. Tumor-Associated Macrophages (TAMs) in Colorectal Cancer (CRC): From Mechanism to Therapy and Prognosis. Online. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, roč. 22, č. 16. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms22168470>. [cit. 2025-06-22].

94. ZHANG, Minhua; LUO, Guangrui; ZHOU, Yanjiao; WANG, Shaohui a ZHONG, Zhong. Phenotypic Screens Targeting Neurodegenerative Diseases. Online. *SLAS Discovery*. 2014, roč. 19, č. 1, s. 1-16. ISSN 24725552. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/1087057113499777>. [cit. 2025-06-22].
95. CAO, Xu; LI, Bolei; CHEN, Jing; DANG, Jessica; CHEN, Siqi et al. Effect of cabazitaxel on macrophages improves CD47-targeted immunotherapy for triple-negative breast cancer. Online. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*. 2021, roč. 9, č. 3. ISSN 2051-1426. Dostupné z: <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-002022>. [cit. 2025-06-22].
96. ZHANG, Wenru; WANG, Mengmeng; JI, Chonghao; LIU, Xiaohui; GU, Bowen et al. Macrophage polarization in the tumor microenvironment: Emerging roles and therapeutic potentials. Online. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2024, roč. 177. ISSN 07533322. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116930>. [cit. 2025-06-22].
97. KLICHINSKY, Michael; RUELLA, Marco; SHESTOVA, Olga; LU, Xueqing Maggie; BEST, Andrew et al. Human chimeric antigen receptor macrophages for cancer immunotherapy. Online. *Nature Biotechnology*. 2020, roč. 38, č. 8, s. 947-953. ISSN 1087-0156. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0462-y>. [cit. 2025-06-22].
98. NAOE, Michio; OGAWA, Yoshio; TAKESHITA, Kumiko; MORITA, Jun; SHICHIJO, Takeshi et al. Zoledronate Stimulates $\gamma\delta$ T Cells in Prostate Cancer Patients. Online. *Oncology Research Featuring Preclinical and Clinical Cancer Therapeutics*. 2009, roč. 18, č. 10, s. 493-501. ISSN 09650407. Dostupné z: <https://doi.org/10.3727/096504010X12671222663638>. [cit. 2025-06-22].
99. PARK, Jang Hyun a LEE, Heung Kyu. Function of $\gamma\delta$ T cells in tumor immunology and their application to cancer therapy. Online. *Experimental & Molecular Medicine*. 2021, roč. 53, č. 3, s. 318-327. ISSN 1226-3613. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s12276-021-00576-0>. [cit. 2025-06-19].
100. HUANG, Ruihao; WEN, Qin a ZHANG, Xi. CAR-NK cell therapy for hematological malignancies: recent updates from ASH 2022. Online. *Journal of Hematology & Oncology*. 2023, roč. 16, č. 1. ISSN 1756-8722. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s13045-023-01435-3>. [cit. 2025-06-22].
101. KANTOFF, Philip W.; HIGANO, Celestia S.; SHORE, Neal D.; BERGER, E. Roy; SMALL, Eric J. et al. Sipuleucel-T Immunotherapy for Castration-Resistant Prostate Cancer. Online. *New England Journal of Medicine*. 2010, roč. 363, č. 5, s. 411-422. ISSN 0028-4793. Dostupné z: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1001294>. [cit. 2025-06-22].
102. LIAU, Linda M.; ASHKAN, Keyoumars; TRAN, David D.; CAMPIAN, Jian L.; TRUSHEIM, John E. et al. First results on survival from a large Phase 3 clinical trial of an autologous dendritic cell vaccine in newly diagnosed glioblastoma. Online. *Journal of*

- Translational Medicine*. 2018, roč. 16, č. 1. ISSN 1479-5876. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s12967-018-1507-6>. [cit. 2025-06-22].
103. LIU, Enli; MARIN, David; BANERJEE, Pinaki; MACAPINLAC, Homer A.; THOMPSON, Philip et al. Use of CAR-Transduced Natural Killer Cells in CD19-Positive Lymphoid Tumors. Online. *New England Journal of Medicine*. 2020, roč. 382, č. 6, s. 545-553. ISSN 0028-4793. Dostupné z: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1910607>. [cit. 2025-06-22].
104. BERRIEN-ELLIOTT, Melissa M.; BECKER-HAPAK, Michelle; CASHEN, Amanda F.; JACOBS, Miriam; WONG, Pamela et al. Systemic IL-15 promotes allogeneic cell rejection in patients treated with natural killer cell adoptive therapy. Online. *Blood*. 2022, roč. 139, č. 8, s. 1177-1183. ISSN 0006-4971. Dostupné z: <https://doi.org/10.1182/blood.2021011532>. [cit. 2025-06-22].
105. NOY, Roy a POLLARD, Jeffrey W. Tumor-Associated Macrophages: From Mechanisms to Therapy. Online. *Immunity*. 2014, roč. 41, č. 1, s. 49-61. ISSN 10747613. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.06.010>. [cit. 2025-06-22].
106. VIVIER, Eric; TOMASELLO, Elena; BARATIN, Myriam; WALZER, Thierry a UGOLINI, Sophie. Functions of natural killer cells. Online. *Nature Immunology*. 2008, roč. 9, č. 5, s. 503-510. ISSN 1529-2908. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/ni1582>. [cit. 2025-06-22].
107. SHIMASAKI, Noriko; JAIN, Amit a CAMPANA, Dario. NK cells for cancer immunotherapy. Online. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2020, roč. 19, č. 3, s. 200-218. ISSN 1474-1776. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0052-1>. [cit. 2025-06-22].
108. VINAY, Dass S.; RYAN, Elizabeth P.; PAWELEC, Graham; TALIB, Wamidh H.; STAGG, John et al. Immune evasion in cancer: Mechanistic basis and therapeutic strategies. Online. *Seminars in Cancer Biology*. 2015, roč. 35, s. S185-S198. ISSN 1044579X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2015.03.004>. [cit. 2025-06-22].
109. LI, Yutao; SHARMA, Amit a SCHMIDT-WOLF, Ingo G.H. Evolving insights into the improvement of adoptive T-cell immunotherapy through PD-1/PD-L1 blockade in the clinical spectrum of lung cancer. Online. *Molecular Cancer*. 2024, roč. 23, č. 1. ISSN 1476-4598. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s12943-023-01926-4>. [cit. 2025-06-22].
110. BECHERINI, Carlotta; LANCIA, Andrea; DETTI, Beatrice; LUCIDI, Sara; SCARTONI, Daniele et al. Modulation of tumor-associated macrophage activity with radiation therapy: a systematic review. Online. *Strahlentherapie und Onkologie*. 2023, roč. 199, č. 12, s. 1173-1190. ISSN 0179-7158. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00066-023-02097-3>. [cit. 2025-06-22].
111. WANG, Xuening; BYRNE, Maeve Elizabeth; LIU, Chang; MA, Minh Tuyet a LIU, Dongfang. Scalable process development of NK and CAR-NK expansion in a closed bioreactor. Online. *Frontiers in Immunology*. 2024, roč. 15. ISSN 1664-3224. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1412378>. [cit. 2025-06-22].
112. WANG, Jiasheng a METHENY, Leland. Umbilical cord blood derived cellular therapy: advances in clinical development. Online. *Frontiers in Oncology*. 2023, roč. 13. ISSN 2234-943X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1167266>. [cit. 2025-06-22].

113. The Innate vs. Adaptive Immune Response [online]. Healio, 2024 [cit. 2025-06-23]. Dostupné z: <https://www.healio.com/hematology-oncology/learn-immuno-oncology/the-immune-system/the-innate-vs-adaptive-immune-response>
114. Killer activation receptor [online]. Wikipedia, The Free Encyclopedia, poslední aktualizace 2024-12-20 [cit. 2025-06-23]. Dostupné z: https://en.wikipedia.org/wiki/Killer_activation_receptor
115. *Experimental and molecular medicine*. Seoul: Korean Society of Medical Biochemistry and Molecular Biology, 1996-. ISSN 2092-6413. Dostupné také z: http://sfx.knihovny.cz/sfxlcl3??url_ver=Z39.88-2004&ctx_ver=Z39.88-2004&ctx_enc=info:ofi/enc:UTF-8&rft_id=info:sid/sfxit.com:opac_856&url_ctx_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:ctx&sfx.ignore_date_threshold=1&rft.object_id=954927738794&svc_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:sch_svc&sfx.institute=MSVK.
116. Two Types of Macrophages: M1 and M2 Macrophages [online]. Cusabio, [2025?] [cit. 2025-06-23]. Dostupné z: <https://www.cusabio.com/c-20938.html>
117. ZIANE-CHAOUCHE, Lydia; RAFFO-ROMERO, Antonella; HAJJAJI, Nawale; KOBEISSY, Firas; PINHEIRO, Donna et al. Inhibition of furin in CAR macrophages directs them toward a proinflammatory phenotype and enhances their antitumor activities. Online. *Cell Death & Disease*. 2024, roč. 15, č. 12. ISSN 2041-4889. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41419-024-07267-4>. [cit. 2025-06-23].
118. ZHENG, Ye; MA, Xiaoyu; FENG, Shouchang; ZHU, Hongtao; CHEN, Xin et al. Dendritic cell vaccine of gliomas: challenges from bench to bed. Online. *Frontiers in Immunology*. 2023, roč. 14. ISSN 1664-3224. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1259562>. [cit. 2025-06-23].