proLékaře.cz | 23.7.2025

Antivirová adoptivní imunoterapie pomocí antigen specifických lymfocytů T u příjemců alogenního transplantátu krvetvorných buněk

Němečková Š., Roubalová K.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

SOUHRN

Adoptivní imunoterapie pomocí antivirových T lymfocytů (AVT) získaných od zdravých dárců je jedním z moderních přístupů, považovaných za průlom v léčbě refrakterních a závažných virových infekcí, které často doprovázejí primární imunodeficity nebo alogenní transplantaci krvetvorných kmenových buněk. Souhrnné sdělení popisuje téměř 30letý vývoj AVT proti lidskému cytomegaloviru, viru Epsteina a Barrové, lidskému adenoviru a lidskému polyomaviru BK. V článku jsou, přiblíženy základní metodické přístupy k jejich výrobě a charakterizovány výsledky získané v klinických studiích, které ověřily bezpečnost a účinnost postupu. Současný vývoj naznačuje, že léčba virových infekcí pomocí zmrazených AVT uložených v bankách by se v budoucnu mohla stát běžně dostupnou terapeutickou modalitou.

KLÍČOVÁ SLOVA

adoptivní přenos T buněk – virově specifické T buňky – refrakterní virové infekce – transplantace krvetvorných buněk

ABSTRACT

Němečková Š., Roubalová K.: Antiviral adoptive immunotherapy using antigen-specific T cells in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients

Adoptive immunotherapy using antiviral T cells (AVT) obtained from healthy donors is one of the advanced approaches considered as a breakthrough in the treatment of refractory and severe viral infections that often accompany primary immunodeficiencies or allogeneic hematopoietic stem cell transplantations. The review describes nearly 30 years of the development of AVT to human cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, human adenovirus, and human polyomavirus BK. The review introduces the basic methodological approaches to their production and summarizes the results from clinical studies that tested the safety and efficiency of the procedures used. Recent studies indicate that the treatment of viral infections by frozen AVT stored in banks could become a commonly available therapeutic modality.

KEYWORDS

Adoptive T cell transfer – virus-specific T cells – refractory viral infections – transplantation of hematopoietic stem cells

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 68, 2019, č. 3, s. 144–148

ÚVOD

Význam lymfocytů T pro protivirovou imunitu se projeví hlavně tehdy, když tyto buňky v organismu chybějí v důsledku primárních nebo sekundárních imunodeficiencí. U takovýchto osob může nastat symptomatická reaktivace chronické nebo latentní virové infekce, která je spojená se zvýšenou morbiditou a mortalitou. Zvláště ohroženou skupinou jsou pacienti po transplantaci, zejména po alogenní transplantaci krvetvorných kmenových buněk (ATKB), jež je jediným prostředkem pro vyléčení mnoha typů hematologických poruch. Aby u příjemce ATKB došlo k přijetí štěpu kmenových buněk, musí se podrobit přípravnému režimu – intenzivní chemoterapii, jež u něj odstraní většinu složek vlastního imunitního systému. Imunitní systém se po transplantaci obnovuje po řadu měsíců i let [1] a pacient je přitom ohrožen mnoha oportunními infekcemi. Generalizované virové infekce, spojené s orgánovým poškozením, proti kterým často není k dispozici specifická léčba, bývají častou příčinou potransplantační morbidity a mortality.

ZÁVAŽNÉ OPORTUNNÍ VIROVÉ INFEKCE U TRANSPLANTOVANÝCH PACIENTŮ

Nejčastější původcem závažných virových onemocnění u transplantovaných pacientů je lidský cytomegalovirus (HCMV). Bývá reaktivován až u 37 % pacientů po alogenní transplantaci krvetvorných buněk (ATKB) u 30 % pacientů po transplantaci pevných orgánů nebo u 21 % pacientů s primárním imunodeficitem [20]. Po ATKB jsou rizikovými faktory pro cytomegalovirovou nemoc séronegativita dárce a séropozitivita příjemce transplantátu, intenzita imunosupresivního režimu a reakce štěpu proti hostiteli (GVHD) léčená vysokými dávkami kortikoidů. Přesto, že se většinu případů cytomegalovirové infekce nakonec podaří vyléčit pomocí antivirotik, léčba je spojena se závažnými vedlejšími účinky a v řadě případů je nedostatečně účinná. Virus Epsteina a Barrové (EBV) je nejčastější příčinou potransplantační lymfoproliferační nemoci (EBV-PTLD), jejíž výskyt po ATBK se pohybuje od 1,2–13 %. K hlavním rizikovým faktorům pro rozvoj PTLD patří redukovaná intenzita přípravného režimu, transplantace

proLékaře.cz | 23.7.2025

štěpu od nepříbuzného dárce s nesouhlasným HLA nebo štěpu kmenových buněk z pupečníkové krve a vysoká nálož EBV DNA v periferní krvi. Preemptivní terapie rituximabem (protilátkou proti CD20) zabrání rozvoji PTLD u 90 % případů, léčba rozvinutého onemocnění pomocí rituximabu a omezení imunosuprese je však úspěšná jen ze 70–80 % [3]. Lidský polyomavirus BK (BKV) vyvolává v prvním roce po ATKB až u 17 % pacientů hemoragickou cystitidu (HC), která u části pacientů může progredovat do nefropatie s následným selháním ledvin [4]. Rizikovými faktory HC po ATKB jsou myeloablativní přípravný režim, štěp z pupečníkové krve a reakce štěpu proti hostiteli (GVHD). Proti BKV neexistují specifická antivirotika. Závažné potransplantační infekce lidským adenovirem (ADV) nebo lidským herpetickým virem 6 (HHV6) většinou neohrožují dospělé pacienty, ale u velkého podílu transplantovaných dětí mohou vyvolat závažná onemocnění, jež bývají důsledkem primární infekce. Jedním z moderních přístupů, vyvinutých pro léčbu refrakterních a závažných virových infekcí, které často doprovázejí primární imunodeficity nebo ATKB, je antivirová adoptivní imunoterapie.

MOŽNOSTI ANTIVIROVÉ ADOPTIVNÍ IMUNOTERAPIE

Poprvé byl úspěšný adoptivní přenos antivirových T lymfocytů (AVT) proveden u pacientů po ATKB už v roce 1992 [5]. Pacienti dostali infuzi dárcovských HCMV-specifických T lymfocytů, expandovaných *in vitro* v tkáňové kultuře. Později byla využitelnost adoptivního přenosu AVT specifických pro HCMV, EBV nebo ADV pro léčbu ověřena mnoha klinickými studiemi I. a II. fáze (úplný výčet studií s podrobnostmi naleznete v práci Kaeuferle T. et al. [6]). Byly připraveny AVT proti jednomu viru i směsi AVT různých specifit proti 3 až 6 virům [7]. Pro produkci AVT jsou nyní zavedeny dva typy postupů:

1. příprava buněčných linií AVT pomocí dlouhodobé kultivace dárcovských T buněk po stimulaci antigenem in vitro,
2. přímá izolace AVT z periferní krve imunních dárců.

Příprava linií virově specifických T lymfocytů pro adoptivní přenos *in vitro*

Virové antigeny se při stimulaci T lymfocytům předkládají pomocí autologních antigen-prezentujících buněk (APC) nejrůznějšího typu. Vzhledem k tomu, že jde o stimulaci paměťových, a ne naivních T buněk, může tuto funkci plnit celá řada buněčných typů. Jako APC byly použity virem infikované fibroblasty [5], B-lymfocyty transformované EBV [8] nebo myeloidní dendritické buňky vykultivované z periferních monocytů [9]. V pozdějších pracích byly T lymfocyty stimulovány antigenem přímo v heterogenní směsi izolovaných periferních mononukleárních leukocytů (PBMC), která obsahuje i mnoho typů APC [10, 11]. Používané virové antigeny mívají nejrůznější podobu: V prvních studiích se APC infikovaly živým oslabeným kmenem EBV nebo HCMV anebo se pulsovaly lyzátem, připraveným destrukcí infikovaných buněk. Kvůli bezpečnosti, reprodukovatelnosti a odstranění rizika spojeného s živým virem byly později zvoleny lépe definované zdroje antigenů, např. antigeny, produkované rekombinantním adenovirem (pro zvýšení účinnosti mohly být modifikované) [12], rekombinantní virové proteiny produkované *in vitro*, syntetické peptidy, či směsi překrývajících se syntetických peptidů odvozené od virových antigenních proteinů, obsahující epitopy prezentované molekulami MHCI nebo MHCII [7] anebo syntetická mRNA, kódující virový antigenní protein, která se vpraví do dendritických buněk pomocí elektroporace [13]. Během kultivace *in vitro* virově specifické T lymfocyty, stimulované antigenem, proliferují a po určité době mohou linie těchto buněk představovat > 90 % všech buněk v kultuře. Doba kultivace (11 dnů až 7 týdnů) je ovlivněna podmínkami kultivace, počátečním složením a stavem T buněk, výběrem a koncentrací cytokinů a růstových faktorů. Přítomnost vhodných cytokinů v kultivačním médiu zásadně ovlivňuje vývoj, diferenciaci a homeostázu T buněk. Ukázalo se, že cytokinové složení ovlivňuje zralost výsledných expandovaných buněk, složení populací CD8, CD4 a jejich funkční aktivitu. Nejčastěji se používají cytokiny IL-2, IL-7, IL4, IL-15, a IL-21, jejichž heteromerní receptory mají společný gama řetězec (γ_c CD132) [14]. V prvních protokolech byl používán hlavně IL2, později IL7 [15], či kombinace IL7 s dalšími cytokiny, jako IL2, IL4, IL15 nebo IL21. Na rozdíl od IL2, cytokin IL7 inhibuje apoptózu T buněk indukovanou aktivací in vitro [16], a díky tomu linie AVT expandují velmi rychle do vysokého počtu specifických T lymfocytů. Tento výzkum vyústil v roce 2012 v zavedení rychlé metody přípravy expandovaných AVT proti 12 antigenům z 5 virů během deseti dnů [7, 10]. Protivirová účinnost těchto širokospektrých linií byla vyhodnocena v klinické studii jako velmi dobrá [17]. Další výhodou tohoto postupu je, že vstupní surovinou je pouze malé množství periferní krve a u dárce se nemusí provádět leukaferéza.

Přímá izolace AVT pro adoptivní přenos

Multimerová selekce: Specifické T lymfocyty lze izolovat přímo ze suspenze leukocytů pomocí tzv. multimerů (tetramery, streptamery). Multimery, obsahující komplex HLA molekuly I. třídy s virovým peptidem, se navážou na specifický antigenní receptor (TCR) v membráně T lymfocytu, a následně se využijí pro izolaci a purifikaci takto označených buněk pomocí magnetických kuliček [18, 19]. U takto izolovaných AVT, přenesených pacientům s refrakterní infekcí HCMV, se podařilo prokázat léčebný efekt [20, 21]. Nevýhodou tohoto postupu je, že virově specifické multimery jsou dostupné jen pro část alel HLA I. třídy a že nejsou k dispozici virus-specifické multimery z MHC II molekul, které by byly využitelné pro izolaci CD4+ T lymfocytů. To je závažný nedostatek, neboť CD4+ T lymfocyty mají vedle CD8+ cytotoxických T lymfocytů důležitou úlohu v protivirové imunitě. Pomocné CD4+ T lymfocyty napomáhají dlouhodobému přežívání CD8+ T buněk u příjemce a proti některým virům se uplatňují též CD4+ T lymfocyty s cytotoxickou aktivitou.

Izolace přes zachycený IFN-γ (IFN-γ-capture): Tato metoda byla vyvinuta pro detekci [22] a izolaci [23] živých lymfocytů secernujících cytokiny. V současnosti je k dispozici automatický systém, umožňující izolaci AVT za správných výrobních podmínek (GMP), který zahrnuje tyto kroky: Na povrch lymfocytů se zachytí bispecifická protilátka proti CD45 a IFNγ. Krátká stimulace peptidovým antigenem vyvolá u T lymfocytů sekreci IFNγ, který se okamžitě zachycuje přes bispecifickou protilátku na povrchu aktivovaných buněk. Takto označené T lymfocyty se následně izolují pomocí magnetických kuliček obalených další

proLékaře.cz | 23.7.2025

protilátkou proti IFNγ. Tímto postupem byly připraveny a podány pacientům T lymfocyty proti jednotlivým virům EBV, CMV, adenoviru, BKV nebo směsi T buněk různých specifit proti více virům (seznam všech 15 publikací o klinických studiích založených na této metodě najdete na internetové adrese výrobce kitu [24]. Výsledky svědčí o léčebném efektu přenesených buněk u většiny pacientů. Předností tohoto postupu je, že izolát obsahuje jak CD8+ tak i CD4+ T lymfocyty. Nevýhodou je, že přímou izolaci AVT, není možné použít proti některým virům (např. BKV) kvůli nedostatečné frekvenci BKV– specifických T lymfocytů v periferní krvi zdravých dárců [25].

Zdroj T lymfocytů pro produkci AVT

Jediným dostupným zdrojem lidských virově specifických T lymfocytů jsou mononukleární leukocyty (PBMC) izolované z periferní krve dárce. Optimální dárce je séropozitivní pro daný virus a má shodný genotyp alel HLA systému s příjemcem. Dostupnost takového dárce je pro jednotlivé viry různá: Většina dospělých osob je séropozitivní pro EBV, ADV, či BKV. Tito jedinci mají i protivirové paměťové T lymfocyty, i když jejich koncentrace v periferní krvi se může individuálně výrazně lišit. To však neplatí pro HCMV. Séropozitivita na HCMV u dárců štěpu pro ATKB má průběžně klesající tendenci. V roce 2014 byla méně než polovina dárců kmenových buněk pro pacienty léčené v Ústavu hematologie a krevní transfuze séropozitivní na HCMV [26]. V důsledku toho prodělává mnoho HCMV-séropozitivních příjemců ATKB opakovanou reaktivaci HCMV infekce s vyšší morbiditou, neboť dárcovský štěp neobsahuje HCMV-specifické T lymfocyty s protektivními vlastnostmi. Nedostupnost imunních dárců, shodných v HLA, byla podnětem k použití odlišné strategie pro imunoterapii pomocí AVT: V roce 2002 přišla Crawfordova skupina z Edinburku [27] s originálním nápadem získat AVT od nepříbuzných dárců krve s částečnou shodou v HLA s příjemcem. Vznikla tak banka zmrazených EBV-specifických linií AVT, připravených z leukocytů od 70 nepříbuzných dárců krve. V této bance bylo možné najít nejběžnější kombinace HLA-haplotypů vyskytující se v britské populaci. Linie EBV-specifických AVT z této banky se osvědčily při léčbě PTLD u celkem 36 pacientů po transplantaci orgánů i kmenových buněk [8, 27]. Terapeutickou účinnost AVT s částečnou neshodou HLA ověřila i další světová pracoviště (podrobný přehled klinických studií je v článku [28]).

Účinnost léčby pomocí AVT

Na proběhlých klinických studiích bylo prokázáno, že pro účinnost imunoterapie pomocí AVT je klíčová jejich expanze *in vivo* po nitrožilním podání pacientovi [28–31]. Tento krok závisí na přítomnosti virových antigenů, které restimulují AVT *in vivo*, a na míře shody HLA AVT s imunitním systémem pacienta. Pokud přenos AVT, odvozených z HLA-shodného dárce, vedl u pacienta ke klinické virologické odpovědi, bylo současně pozorováno přihojení a množení specifických T lymfocytů u příjemce po delší dobu – např. několik měsíců. V jednom případě při použití geneticky modifikovaných AVT byly tyto buňky detekovány i za 10 let od infuze [32]. Naproti tomu, po přenosu AVT s pouze částečnou shodou HLA je jejich proliferace *in vivo* spíše krátkodobá – několik dnů či týdnů. Takové AVT se proto většinou podávají v opakovaných infuzích. Jsou však dokumentovány případy, kdy přenesené HLA-neshodné T lymfocyty lze nalézt v příjemci až za 6 měsíců po infuzi [8]. Protivirová účinnost přenesených antivirových linií je ovlivněna mírou shody v HLA A, B a DR lokusech: čím vyšší počet shod, tím lepší byla odpověď hodnocená v 6 měsících [8]. Účinnost protivirových linií také příznivě ovlivňuje vyšší zastoupení CD4+ T buněk [33]. K selhání účinnosti protivirové imunoterapie může dojít i tehdy, když buňky pacienta infikované virem, vzhledem k částečné neshodě HLA, preferenčně prezentují jiné imunodominantní virové epitopy, než jsou ty, které rozpoznávají dárcovy AVT [34]. S vývojem imunoterapie a rekonstitucí protivirové imunity pomocí transferu linií AVT od HLA-neshodných dárců je spojeno ještě velké množství otázek, které je nutno řešit: týkají se hlavně účinnosti, bezpečnosti a dostupnosti léčby.

Bezpečnost léčby pomocí AVT

Možné nežádoucí efekty léčby pomocí AVT zahrnují GVHD a systémovou zánětovou odpověď organismu (SIRS). Předpokládalo se, že GVHD by mohla být vyvolána přenesenými aloreaktivními T lymfocyty. Bylo známo, že expandované protivirové lymfocyty mohou *in vitro* křížově reagovat s alogenními HLA I i II třídy [35], zjišťovalo se proto, zda tento typ reaktivity představuje potenciální riziko pro příjemce. Stanovení aloreaktivity se provádělo cytotoxickým testem *in vitro*, kdy se měřila schopnost AVT specificky lyzovat příjemcovy neinfikované blasty [17], anebo se testovala schopnost AVT odpovědět na setkání s alogenní buňkou tvorbou IFNγ. Studie provedená na velkém počtu příjemců AVT, kteří byli v téměř 50 % jen částečně shodní s příjemci v HLA, ukázala, že infuze AVT nevedla ani v jednom případě ke vzniku akutní GVHD *de novo*, a to přesto, že část linií AVT byla cytotoxická pro blasty příjemce in vitro [36]. Zdá se tedy, že stanovení aloreaktivity *in vitro* není funkčním korelátem pro vznik akutní GVHD. Je možné to vysvětlit tím, že AVT linie jsou směsí populací paměťových buněk T a téměř neobsahují hlavní induktory GVHD –naivní T a B lymfocyty. Z vlastních pokusů víme, že během expanze při kultivaci buněk se podíl obou těchto populací významně snižuje a při izolaci přes zachycený IFNγ nejsou v izolátu přítomny vůbec. I další studie [6, 10] potvrdily, že podání AVT linií pacientům riziko GVHD nezvyšuje.

SIRS je život ohrožující komplikace, která může nastat při masivní buněčné imunitní reakci. Na rozdíl od jiných druhů imunoterapie, byl SIRS po infuzích AVT buněk pozorován pouze výjimečně (ve 2 ze 175 případů) [37]. Souvisí to pravděpodobně s postupnou rekonstitucí antivirové imunity a přítomností nativních, geneticky nemodifikovaných receptorů na podaných AVT.

Bezpečnost imunoterapie pomocí AVT byla potvrzena v klinických studiích, ve kterých byly použity i poměrně vysoké opakované dávky buněk v infuzi (až 4×10^7 v jedné dávce [10, 17].

Dostupnost léčby pomocí AVT

Antivirová adoptivní imunoterapie pomocí AVT se za téměř 30 let testování osvědčila při léčbě refrakterních virových infekcí, avšak nestala se běžně užívaným prostředkem pro pacienty, kteří by ji potřebovali. Hlavním důvod je ten, že doba, která uplyne od nalezení vhodného dárce do vyrobení expandované AVT linie v režimu GMP (13–60 dnů), včetně výstupní kontroly kvality, je nesrovnatelná s rychlostí, jakou často progreduje pacientovo

proLékaře.cz | 23.7.2025

onemocnění. Mnohem rychlejší jsou přímé izolační metody, pokud je k dispozici vhodný imunní dárce.
Aby se antivirová adoptivní imunoterapie mohla více uplatňovat v klinické praxi, začala transplantační centra na Univerzitě v Edinburku, Baylor College v Houstonu, ve švédském Institut Karolinska, na univerzitě v Tübingen a v Memorial Sloan Kettering Cancer Center budovat rozsáhlejší banky „off the shelf" linií AVT, pocházejících od běžných dárců (third-party donor) [28]. Na Univerzitě v Hannoveru [38] a Univerzitě v Leidenu zvolili jiný přístup: založili registr otestovaných dárců připravených k darování krve pro přímou izolaci AVT, která se provede v okamžiku potřeby. Dosavadní zkušenosti s tvorbou bank AVT od dárců s částečnou shodou HLA naznačily, že banky obsahující cca 100 linií jsou při minimální shodě dvou alel s HLA příjemce schopny pokrýt potřebu 90–98 % dané populace [28]. Je známo, že všechny alely HLA nemají v určité populaci stejnou četnost: U většiny osob lze najít nejméně jednu prevalentní alelu, jež velmi často prezentuje imunodominantní epitopy virových antigenů [39]. Heterogenita prezentovaných epitopů pro jednotlivé antigeny je proto ve výsledku mnohem nižší, než by odpovídalo celkovému počtu alel ve všech HLA lokusech. Kromě toho mají imunodominantní alely vzájemnou hierarchii: například u HCMV nejvíce imunodominantní alela (HLA-B07) potlačuje prezentaci antigenů pomocí méně dominantních alel (např. HLA-A02). Avšak v nepřítomnosti HLA-B07 alela HLA-A02 vykazuje imunodominanci vůči dalším alelám [34].

ZÁVĚRY A VÝHLEDY DO BUDOUCNOSTI

Podle dostupných publikací byly dosud podány infuze AVT 246 pacientům [6] a u 74 % z nich byla zaznamenána virologická odpověď, přičemž toxicita AVT byla velmi nízká. Následujícím dalším krokem je zpřístupnit tuto perspektivní léčbu širokému okruhu pacientů, ohrožených probíhající refrakterní virovou infekci nejen HCMV, EBV, ADV ale i dalšími infekcemi vyvolanými BKV, polyomavirem JC, HHV6 nebo vláknitými houbami [40] pomocí bank zmrazených expandovaných T buněk. Dosud nedořešeno zůstává použití AVT pro léčbu oportunních virových infekcí u příjemců transplantátů solidních orgánů [41, 42]. Nabízí se i možnost využití AVT pro terapii některých nádorů, nesoucích virové antigeny (např. u EBV – pozitivních lymfomů, karcinomů obsahujících antigeny papilomavirů nebo lidského herpesviru 8 [43]. Zde dosud tento způsob imunoterapie nedosahuje potřebné účinnosti a jeho aplikace bude muset být zřejmě spojena s modifikací imunitního systému příjemce. Lze očekávat, že budou přibývat další pracoviště, jejichž cílem bude vývoj různých AVT a jejich ověřování v klinické praxi. To nepochybně povede přes klinické studie 3. fáze, k zařazení adoptivního přenosu AVT do standartních léčebných postupů.

Seznam zkratek

ADV – lidský adenovirus
APC – buňky prezentující antigen
ATKB – alogenní transplantace krvetvorných kmenových buněk
AVT – antivirové T-lymfocyty
BKV – lidský polyomavirus BK
EBV-PTLD – potransplantační lymfoproliferační nemoc vyvolaná virem Epsteina a Barrové
GMP – správná výrobní praxe
GVHD – reakce štěpu proti hostiteli
HC – hemoragická cystitida
HCMV – lidský cytomegalovirus
PBMC – mononukleární leukocyty izolované z periferní krve
TCR – antigenní receptor T buněk

LITERATURA

1. Bosch M, Khan FM, Storek J. Immune reconstitution after hematopoietic cell transplantation. Curr Opin Hematol, 2012;19:324–335.
2. Styczynski J. Who Is the Patient at Risk of CMV Recurrence: A Review of the Current Scientific Evidence with a Focus on Hematopoietic Cell Transplantation. Infect Dis Ther, 2018;7:1–16.
3. Styczynski J, van d, V, Fox CP, et al. Management of Epstein-Barr Virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) guidelines. Haematologica, 2016;101:803–811.
4. Lunde LE, Dasaraju S, Cao Q, et al. Hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic cell transplantation: risk factors, graft source and survival. Bone Marrow Transplant, 2015;50:1432–1437.
5. Riddell SR, Greenberg PD, Overell RW, et al. Phase I study of cellular adoptive immunotherapy using genetically modified CD8+ HIV-specific T cells for HIV seropositive patients undergoing allogeneic bone marrow transplant. The Fred Hutchinson Cancer Research Center and the University of Washington School of Medicine, Department of Medicine, Division of Oncology. Hum Gene Ther, 1992;3:319–338.
6. Kaeuferle T, Krauss R, Blaeschke F, et al. Strategies of adoptive T-cell transfer to treat refractory viral infections post allogeneic stem cell transplantation. J Hematol Oncol, 2019;12:13.
7. Gerdemann U, Keirnan JM, Katari UL, et al. Rapidly generated multivirus-specific cytotoxic T lymphocytes for the prophylaxis and treatment of viral infections. Mol Ther, 2012;20:1622–1632.
8. Haque T, Wilkie GM, Jones MM, et al. Allogeneic cytotoxic T-cell therapy for EBV-positive posttransplantation lymphoproliferative disease: results of a phase 2 multicenter clinical trial. Blood, 2007;110:1123–1131.
9. Peggs K, Verfuerth S, Pizzey A, et al. Characterization of human cytomegalovirus peptide-specific CD8(+) T-cell repertoire diversity following in vitro restimulation by antigen-pulsed dendritic cells. Blood, 2002;99:213–223.
10. Tzannou I, Papadopoulou A, Naik S, et al. Off-the-Shelf Virus-Specific T Cells to Treat BK Virus, Human Herpesvirus 6, Cytomegalovirus, Epstein-Barr Virus, and Adenovirus Infections After Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. J Clin Oncol, 2017;35:3547–3557.
11. Nishiyama-Fujita Y, Kawana-Tachikawa AI, Ono T, et al. Generation of multivirus-specific T cells by a single stimulation of peripheral blood mononuclear cells with a peptide mixture using serum-free medium. Cytotherapy, 2018;20:1182–1190.
12. Leen AM, Sili U, Savoldo B, et al. Fiber-modified adenoviruses generate subgroup cross-reactive, adenovirus-specific cytotoxic T lymphocytes for therapeutic applications. Blood, 2004;103:1011–1019.
13. Osman Y, Narita M, Ayres F, et al. Generation of Ag-specific cytotoxic T lymphocytes by DC transfected with in vitro transcribed influenza virus matrix protein (M1) mRNA. Cytotherapy, 2003;5:161–168.
14. Rochman Y, Spolski R, Leonard WJ. New insights into the regulation of T cells by gamma(c) family cytokines. Nat Rev Immunol, 2009;9:480–490.
15. Leen AM, Heslop HE. Cytotoxic T lymphocytes as immune-therapy in haematological practice. Br J Haematol, 2008;143:169–179.
16. Vella A, Teague TK, Ihle J, et al. Interleukin 4 (IL-4) or IL-7 pre-

proLékaře.cz | 23.7.2025

vents the death of resting T cells: stat6 is probably not required for the effect of IL-4. J Exp Med, 1997;186:325–330.
17. Papadopoulou A, Gerdemann U, Katari UL, et al. Activity of broad-spectrum T cells as treatment for AdV, EBV, CMV, BKV, and HHV6 infections after HSCT. Sci Transl Med, 2014;6:242ra83.
18. Keenan RD, Ainsworth J, Khan N, et al. Purification of cytomegalovirus-specific CD8 T cells from peripheral blood using HLA-peptide tetramers. Br J Haematol, 2001;115:428–434.
19. Knabel M, Franz TJ, Schiemann M, et al. Reversible MHC multimer staining for functional isolation of T-cell populations and effective adoptive transfer. Nat Med, 2002;8:631–637.
20. Cobbold M, Khan N, Pourgheysari B, et al. Adoptive transfer of cytomegalovirus-specific CTL to stem cell transplant patients after selection by HLA-peptide tetramers. J Exp Med, 2005;202:379–386.
21. Uhlin M, Gertow J, Uzunel M, et al. Rapid salvage treatment with virus-specific T cells for therapy-resistant disease. Clin Infect Dis, 2012;55:1064–1073.
22. Manz R, Assenmacher M, Pfluger E, et al. Analysis and sorting of live cells according to secreted molecules, relocated to a cell-surface affinity matrix. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995;92:1921–1925.
23. Oelke M, Kurokawa T, Hentrich I, et al. Functional characterization of CD8(+) antigen-specific cytotoxic T lymphocytes after enrichment based on cytokine secretion: comparison with the MHC-tetramer technology. Scand J Immunol, 2000;52:544–549.
24. https://www.miltenyibiotec.com/UN-en/applications/t-cells/virus-specific-t-cells-for-immunotherapy.html). In.
25. van Aalderen MC, Remmerswaal EB, Heutinck KM, et al. Phenotypic and functional characterization of circulating polyomavirus BK VP1-specific CD8+ T cells in healthy adults. J Virol, 2013;87:10263–10272.
26. Nemeckova S, Sroller V, Stastna-Markova M. Evolution of human cytomegalovirus-seronegative donor/-seropositive recipient high-risk combination frequency in allogeneic hematopoietic stem cell transplantations at Institute of Hematology and Blood Transfusion during 1995-2014. Transpl Infect Dis, 2016;18:297–301.
27. Haque T, Wilkie GM, Taylor C, et al. Treatment of Epstein-Barr-virus-positive post-transplantation lymphoproliferative disease with partly HLA-matched allogeneic cytotoxic T cells. Lancet, 2002;360:436–442.
28. O'Reilly RJ, Prockop S, Hasan AN, et al. Virus-specific T-cell banks for ‚off the shelf' adoptive therapy of refractory infections. Bone Marrow Transplant, 2016;51:1163–1172.
29. Leen AM, Myers GD, Sili U, et al. Monoculture-derived T lymphocytes specific for multiple viruses expand and produce clinically relevant effects in immunocompromised individuals. Nat Med, 2006;12:1160–1166.
30. Leen AM, Christin A, Myers GD, et al. Cytotoxic T lymphocyte therapy with donor T cells prevents and treats adenovirus and Epstein-Barr virus infections after haploidentical and matched unrelated stem cell transplantation. Blood, 2009;114:4283–4292.
31. Leen AM, Bollard CM, Mendizabal AM, et al. Multicenter study of banked third-party virus-specific T cells to treat severe viral infections after hematopoietic stem cell transplantation. Blood, 2013;121:5113–5123.
32. Heslop HE, Slobod KS, Pule MA, et al. Long-term outcome of EBV-specific T-cell infusions to prevent or treat EBV-related lymphoproliferative disease in transplant recipients. Blood, 2010;115:925–935.
33. Hammoud B, Schmueck M, Fischer AM, et al. HCMV-specific T-cell therapy: do not forget supply of help. J Immunother, 2013;36:93–101.
34. Doubrovina E, Oflaz-Sozmen B, Prockop SE, et al. Adoptive immunotherapy with unselected or EBV-specific T cells for biopsy-proven EBV+ lymphomas after allogeneic hematopoietic cell transplantation. Blood, 2012;119:2644–2656.
35. Amir AL, D'Orsogna LJ, Roelen DL, et al. Allo-HLA reactivity of virus-specific memory T cells is common. Blood, 2010;115:3146–3157.
36. Melenhorst JJ, Leen AM, Bollard CM, et al. Allogeneic virus-specific T cells with HLA alloreactivity do not produce GVHD in human subjects. Blood, 2010;116:4700–4702.
37. Papadopoulou A, Krance RA, Allen CE, et al. Systemic inflammatory response syndrome after administration of unmodified T lymphocytes. Mol Ther, 2014;22:1134–1138.
38. Tischer S, Priesner C, Heuft HG, et al. Rapid generation of clinical-grade antiviral T cells: selection of suitable T-cell donors and GMP-compliant manufacturing of antiviral T cells. J Transl Med, 2014;12:336.
39. Lacey SF, Villacres MC, La RC, et al. Relative dominance of HLA-B*07 restricted CD8+ T-lymphocyte immune responses to human cytomegalovirus pp65 in persons sharing HLA-A*02 and HLA-B*07 alleles. Hum Immunol, 2003;64:440–452.
40. Castillo P, Wright KE, Kontoyiannis DP, et al. A New Method for Reactivating and Expanding T Cells Specific for Rhizopus oryzae. Mol Ther Methods Clin Dev, 2018;9:305–312.
41. Chiou FK, Beath SV, Wilkie GM, et al. Cytotoxic T-lymphocyte therapy for post-transplant lymphoproliferative disorder after solid organ transplantation in children. Pediatr Transplant, 2018;22.
42. Holmes-Liew CL, Holmes M, Beagley L, et al. Adoptive T-cell immunotherapy for ganciclovir-resistant CMV disease after lung transplantation. Clin Transl Immunology, 2015;4:e35.
43. Rooney CM, Leen AM, Vera JF, et al. T lymphocytes targeting native receptors. Immunol Rev, 2014;257:39–55.

Poděkování
Tato práce byla vytvořena za finanční podpory Evropského fondu pro regionální rozvoj (ERDF) a státního rozpočtu České republiky (projekt AIIHHP: CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_025/0007428, OP RDE, Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy) a grantů 15 34498A-19 a 17-31593A-20 AZV MZ.

Do redakce došlo dne 15. 5. 2019.

Adresa pro korespondenci:
RNDr. Šárka Němečková, DrSc.
Oddělení imunologie
Ústav hematologie a krevní transfuze
U Nemocnice 1
128 20 Praha 2
e-mail: sarka.nemeckova@uhkt.cz

Inzerce ▶ A191000080