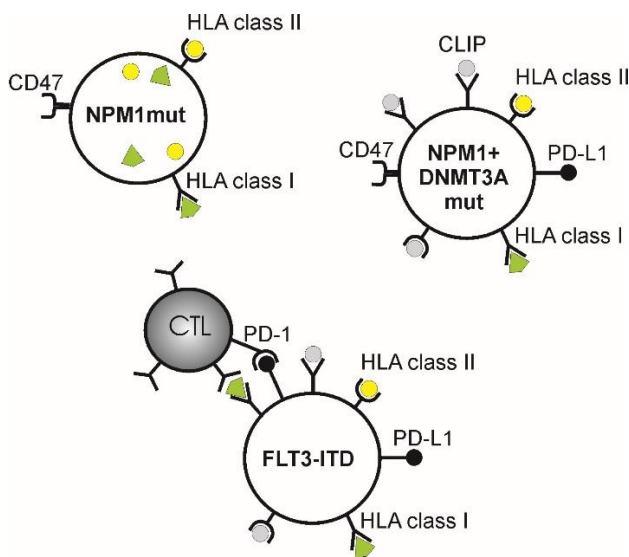


Mechanismy úniku před imunitním dozorem u akutní myeloidní leukémie (AML)

Akutní myeloidní leukémie je heterogenní onemocnění s poměrně nepříznivou prognózou, která je dána zejména častými relapsy. Předpokládá se, že důležitou roli v odstranění zbytkové nemoci hraje imunitní systém. Lidský organismus je často schopen spontánně vyvinout protinádorovou imunitní reakci, ta ale může být řadou různých mechanismů následně utlumena. Únik leukemických buněk před imunitním dozorem také snižuje účinnost imunoterapeutických postupů založených na přenosu funkčních imunitních buněk od zdravých dárců nebo modifikovaných autologních lymfocytů.

Schopnost buněk unikat imunitnímu systému může být nedílnou součástí leukemogenní transformace. Aktivace signálních drah zajišťujících neregulovanou buněčnou proliferaci nebo odolnost vůči indukci apoptózy může zároveň vést například ke snížení exprese HLA molekul, na kterých jsou T-buňkám prezentovány antigeny, k expresi inhibičních receptorů (např. PD-L1) nebo k sekreci látek tlumících funkci imunitních buněk (např. Gal-9, IDO, argináza). Naše výsledky [1] skutečně ukazují, že některé rekurentní mutace jsou spojeny se specifickým imunofenotypem leukemických blastů (Obr. 1).



Obr. 1: Charakteristický imunofenotyp AML blastů s vybranými rekurentními mutacemi. Buňky s izolovanou mutací nukleofosminu (NPM1) mají sníženou expresi HLA a naopak zvýšené množství CD47, které slouží jako inhibiční signál pro makrofágy. Pokud je současně mutována DNA methyltransferáza 3A (DNMT3A), je exprese HLA normální, ale na povrchu buněk je přítomen invariantní peptid CLIP, který svědčí o snížené prezentaci antigenů. Interní tandemová duplikace v genu pro FLT3 (FLT3-ITD) je rovněž spojena s vyšším množstvím CLIP. U pacientů s FLT3-ITD je vysoká míra exprese inhibičního receptoru PD-L1 spojena s horší prognózou.

Mutace v genu pro nukleofosmin 1 (NPM1) vede k tvorbě neoantigenů, proti kterému může vznikat imunitní odpověď, a zároveň k přesunu původně jadérkového proteinu do cytoplazmy, což může být spojeno s účinnějším štěpením a prezentací peptidů odvozených z NPM1. Tato hypotéza je podpořena mimo jiné našimi analýzami frekvence výskytu jednotlivých alel HLA 1. třídy, které antigeny prezentují cytotoxickým T-lymfocytům. U pacientů s mutací NPM1 se některé HLA alely vyskytují méně často než u pacientů bez mutace nebo u zdravých lidí [2,3]. Jedinci s vhodným HLA typem tedy mohou být před rozvojem AML chráněni spontánně vznikající imunitní odpovědí proti mutovanému NPM1. V souladu s tím také u pacientů s touto mutací pozorujeme zejména známky imunosuprese spojené s reakcí proti specifickým antigenům, tj. zejména sníženou expresi HLA 1. a 2. třídy nebo sníženou schopnost prezentovat antigeny [1].

Mutace vedoucí k omezení funkce DNA methyltransferázy 3A (DNMT3A) jsou u pacientů s AML nepříznivým prognostickým faktorem. V těchto případech nacházíme jak známky snížené schopnosti prezentovat antigeny, tak vyšší expresi molekuly PD-L1, ligandu pro inhibiční receptor T-buněk [1].

Leukemické blasty s nízkou expresí HLA, typické pro pacienty s izolovanou mutací NPM1, obvykle nevykazují jiné znaky imunosuprese a tento fenotyp je spojen s příznivějším průběhem nemoci. Naopak vysoká exprese PD-L1 je často spojena s výskytem markerů pro další mechanismy úniku před imunitním zásahem, tj. s přítomností invariantního peptidu CLIP a proteinu TIM-3 na povrchu buněk. Ukázali jsme, že množství transkriptu TIM-3 silně koreluje nejen s povrchovým množstvím TIM-3 proteinu, ale také s vysokými hladinami CLIP a PD-L1. Transkript TIM-3 by tedy mohl být využit jako marker aktivace imunosupresivních mechanismů u pacientů s AML. Podle našich výsledků má vysoká exprese TIM-3/CLIP/PD-L1 v době diagnózy negativní prognostický vliv na celkové přežití a přežití bez relapsu [1,4].

Naší aktuální pracovní hypotézou je, že různé imunosupresivní procesy mohou do určité míry sdílet regulační mechanismy, takže mohou být aktivovány současně. Domníváme se, že některé rekurentní mutace, mezi něž patří například interní tandemová duplikace v genu pro receptorovou kinázu FLT3 (FLT3-ITD), vedou mimo jiné ke změně imunofenotypu a tím ke zvýšené odolnosti leukemických blastů vůči imunitnímu systému. Taková inherentní aktivace imunosupresivních mechanismů by přetrvávala i v podmínkách zbytkové choroby, kdy množství nádorových buněk v organismu není vysoké a sekrece imunosupresivních látek do okolního prostředí je omezená. Je známo, že FLT3-ITD aktivuje mimo jiné kinázu mTOR, která by mohla být za imunosupresi alespoň částečně zodpovědná. Signalizace mTOR se dále větví podle toho, jaké molekulární komplexy mTOR vytváří. Účinek FLT3-ITD tak závisí na buněčném kontextu, který rozhoduje o vazbě mTOR do komplexu 1 nebo 2. Markery aktivace mTOR komplexů by tak mohly sloužit jako přídatné ukazatele vzniku imunorezistentního fenotypu u pacientů s FLT3-ITD.

[1] Kuželová, K.; Brodská, B.; Marková, J.; Petráčková, M.; Schetelig, J.; Ransdorfová, Š.; Gašová, Z.; Šálek, C. NPM1 and DNMT3A Mutations are Associated with Distinct Blast Immunophenotype in Acute Myeloid Leukemia. *Oncoimmunology* **2022**, *11*, 2073050.

[2] Kuzelova, K.; Brodska, B.; Fuchs, O.; Dobrovolna, M.; Soukup, P.; Cetkovsky, P. Altered HLA Class I Profile Associated with Type A/D Nucleophosmin Mutation Points to Possible Anti-Nucleophosmin Immune Response in Acute Myeloid Leukemia. *PLoS One* **2015**, *10*, e0127637.

[3] Kuzelova, K.; Brodska, B.; Schetelig, J.; Rollig, C.; Racil, Z.; Walz, J.S.; Helbig, G.; Fuchs, O.; Vrana, M.; Pecherkova, P. *et al.* Association of HLA Class I Type with Prevalence and Outcome of Patients with Acute Myeloid Leukemia and Mutated Nucleophosmin. *PLoS One* **2018**, *13*, e0204290.

[4] Brodska, B.; Otevrelva, P.; Salek, C.; Fuchs, O.; Gasova, Z.; Kuzelova, K. High PD-L1 Expression Predicts for Worse Outcome of Leukemia Patients with Concomitant NPM1 and FLT3 Mutations. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 10.3390/ijms20112823.