

Symposium *Genes, Genetics and Genomics* (G3) 10.4.2015 v Praze

Jako první přednášející vystoupil Prof. Frank Rosenbauer působící v Institutu pro molekulární biologii nádorů v rámci lékařské fakulty Westfälische Wilhelms-Universität Münster se svým sdělením “*Genetic control of hematopoietic stem cell differentiation*“. Rosenbauer ve své přednášce ukázal, že determinace a vyzrávání jednotlivých krevních elementů z původně nediferencované pluripotentní krvetvorné kmenové buňky představuje složitý a přísně kontrolovaný proces vyžadující součinnost řady molekulárních mechanismů. Tyto mechanismy jednak specificky řídí expresi genů zodpovědných za buněčnou diferenciaci do určité krevní řady tím, že se vážou do regulačních oblastí těchto genů na DNA – což je úloha transkripčních faktorů – a zároveň organizují prostorovou strukturu DNA vlákna tak, že dochází k interakcím jinak vzdálených regulačních oblastí s navázanými transkripčními faktory, což má za následek zesílení nebo naopak utlumení transkripční aktivity – to je role regulátorů chromatinové architektury. Poruchy zmíněných mechanismů mohou nezdědka způsobit blokádu buněčné diferenciaci a přispět k transformaci buňky do leukemického stavu.

Mezi klíčové transkripční faktory řídící diferenciaci krevních buněk patří PU.1, který v závislosti na své koncentraci indukuje tvorbu jednotlivých krevních linií, jako jsou monocyty, neutrofilové, B a T lymfocyty nebo dendritické buňky. Zatímco pro vznik dendritických buněk a monocytů buňka potřebuje vysoké hladiny PU.1, pro vznik T-lymfocytů je naopak nutné hladinu PU.1 v buňce snížit. Buňka manipuluje hladinou PU.1 tak, že pomocí regulátorů chromatinové architektury, mezi něž patří např. faktor CTCF, zprostředkovává kontakt promotoru genu *PU.1* s různými vzdálenými regulačními oblastmi s příslušným zesilujícím nebo naopak zeslabujícím dopadem na expresi genu. Při diferenciaci makrofágů se promotor *PU.1* dostane přestavbou chromatinového vlákna do kontaktu s jinými úseky DNA než při diferenciaci T-lymfocytů. Je zajímavé, upozornil ve své přednášce Rosenbauer, že v akutní myeloidní leukémii snižuje leukemická buňka hladinu PU.1 tím, že napodobuje chromatinovou strukturu typickou pro diferenciaci T-lymfocytů.

Jako druhý vystoupil se svoji přednáškou “*Markers and targets of Leukemic stem cells (LSC) in Philadelphia chromosome-positive Chronic myeloid leukemia*“ Prof. Peter Valent z Lékařské univerzity ve Vídni. Jeho sdělení se, jak již z názvu vyplývá, týkalo identifikace molekul specifických pro leukemické kmenové buňky u chronické myeloidní leukémie (CML) resp. u akutní lymfocytární leukémie (ALL) s přítomností fúzního genu *BCR-ABL1*. Současná léčba těchto onemocnění využívá cílené inhibice aberantní tyrosinkinázové aktivity BCR-ABL (inhibitory tyrozinových kináz –TKI imatinib, nilotinib, dasatinib), která u řady pacientů umožňuje dosáhnout molekulární odpovědi a dostat nemoc dlouhodobě pod kontrolu. U většiny pacientů s CML však TKI nejsou schopné nemoc vyléčit kvůli perzistenci leukemických kmenových buněk (LSC), které disponují řadou mechanismů přirozené a/nebo získané rezistence vůči této léčbě a které tak mohou propagovat leukemické buňky a způsobit relaps onemocnění. Identifikace specifických povrchových antigenů LSC jako cílů možné terapie zaměřené na zničení těchto buněk proto představuje významný směr v současné strategii léčby BCR-ABL pozitivních leukémií.

LSC se v kostní dřeni pacientů s CML vyskytují v rámci CD34+ CD38- populace kmenových a progenitorových buněk, tvoří ale jen jejich malou frakci. Valent ve své přednášce postupně představil několik zatím známých povrchových molekul, podle kterých se dá tato „jehla v kupce sena“ nalézt. Patří k nim např. markery CD33 (SIGLEC-3), IL-1 receptor-accessory protein (IL-1RAP), CD25 (IL-2 receptor alfa) a CD26 (dipeptidylpeptidáza IV). Ne všechny tyto antigeny jsou ale specifické výlučně pro LSC u CML a nezdědka se nejsou přítomny na všech LSC ani ve všech fázích onemocnění. Pokusy cílit některé z těchto antigenů protinádorovými protilátkami zatím nepřinesly očekávané výsledky – kvůli vysoké toxicitě byl v roce 2010 stažen z trhu lék gentuzumab (mylotarg, monoklonální protilátka anti-CD33 konjugovaná s cytostatikem). Asi nejzajímavěji z hlediska vysoké specifické výskytu na povrchu LSC u CML se dnes jeví využití protilátek proti CD26. CD26 je ostatně již cílen glyptiny při léčbě diabetes mellitus, přičemž se ukazuje, že glyptiny potlačují aktivitu CD26 také v primárních LSC izolovaných *ex vivo* z pacientů s CML. Valent poukázal na zásadní význam interakce LSC se svým mikroprostředím (nikou) v kostní dřeni, které jim umožňuje skrývat se před zásahy imunitního systému i léků. Pro nalezení vhodné kurativní terapie CML zaměřené na LSC se tak vedle identifikace

vlastních povrchových antigenů LSC musí brát do úvahy i překonání obrany, kterou leukemické kmenové niky v kostní dřeni jako vhodné úkryty těmto buňkám poskytují.

Závěrečný příspěvek sympozia přednesl Prof. Jaroslav Prchal z Huntsman Cancer Institute University of Utah (Salt Lake City, Spojené státy). Přednáška *Pathophysiology of clonal and nonclonal myeloproliferative disorders* se zaměřila na objasnění molekulárních mechanismů myeloproliferativní nemoci známé jako čuvašská polycytemie. Tato vzácná genetická nemoc s autozomálně recesivním přenosem vzniká v důsledku mutace genu *VHL*, který se podílí na funkci systému zajišťujícím reakci buňky na nedostatek kyslíku (hypoxii). Klíčovou funkci v tomto systému má transkripční faktor HIF-1 (Hypoxia inducible factor 1) složený z podjednotek alfa a beta. Při hypoxii tento transkripční faktor aktivuje expresi genů, které zvyšují tvorbu červených krvinek, stimulují angiogenezi a vaskularizaci a navozují metabolický přechod k anaerobní glykolýze. Pokud je v buňce kyslíku dostatek, dochází k hydroxylaci prolinu u podjednotky HIF-1alfa (enzymatickou reakcí za spotřeby kyslíku) a takto modifikovaná jednotka je následně rozpoznána proteinem VHL (E3 ubikvitin ligázou) a označena k degradaci v buněčné organele známé jako proteazóm.

Čuvašská polycytemie je zapříčiněna mutací C598T (R200W) v genu *VHL*, která způsobuje, že nedochází k označení a degradaci podjednotky HIF-1alfa a tato spolu s podjednotkou beta neustále iniciuje vznik červených krvinek, které jsou silně zmnožené. Pacienti trpí vysokou viskositou krve, trombotickými stavy, cévními mozkovými příhodami a celkově mají kratší délku dožití. Je zajímavé, že jiné mutace genu *VHL* jsou asociovány se vznikem predispozice k nádorům (karcinom ledvin, hemangioblastom, feochromocytom a další), což u čuvašské polycytemie nebylo pozorováno. Nemoc se často vyskytuje mezi nepříbuznými lidmi zejména v Čuvašsku (autonomní republika v rámci Ruské federace), ale také v indickém Pandžábu, na ostrově Ischia (Itálie), ve Švýcarsku v okolí Luzernu a jinde. Bylo zjištěno, že k původní mutaci C598T došlo u jediného předka před cca 50 tisíc lety a je otázkou, proč se vzhledem ke svému zápornému efektu na zdatnost stále v populaci udržuje. Právě výzkum prof. Prchala přinesl na tuto otázku zajímavou odpověď: ukazuje se, že v heterozygotním stavu může tato mutace chránit svého nositele před vznikem anemie.

Sympozium G3 2015 vzbudilo podobně jako v minulých letech nemalý zájem domácích vědeckých pracovníků. O kvalitě sympozia svědčila i bohatá diskuze k jednotlivým sdělením. Zájemci o podrobnější informace o *Genes, Genetics & Genomics*, mohou kontaktovat organizátory symposia Doc. MUDr. Tomáše Stopku, PhD nebo Mgr. Kateřinu Machovou Polákovou, Ph.D. na e-mailových adresách: tstopka@lf1.cuni.cz; katerina.machova@uhkt.cz.

Organizátoři by tímto také rádi poděkovali sponzorům letošního sympozia, firmám Novartis, Bristol-Myers Squibb, Thermo Fisher Scientific, Roche, KRD, Sigma-Aldrich a Genetica za poskytnutou finanční podporu, bez které by nebylo možné symposium uspořádat a pozvat takto významné hosty