

Abstrakt

Pro naše studie jsme využili dobře charakterizovaný transgenní myší model akutní promyelocytární leukémie (APL), který odráží lidskou APL ve svých biologických vlastnostech stejně jako v odpovědi na léčbu pomocí konvenční terapie. Hlavním úkolem této studie bylo charakterizovat anti-leukemický účinek kombinované terapie a najít molekulární znaky, které by umožnily předpovědět klinického výsledku.

Zavedli jsme metodu monitorování minimální residuální choroby založenou na vysoké citlivosti detekce PML-RAR α transkriptů pomocí polymerázové řetězové reakce. Ukázali jsme, že tato metoda umožňuje u myší stejně jako u pacientů diagnózu, sledování vývoje a prognózy nemoci. Tuto metodu jsme též využili při hledání PML-RAR α pozitivních buněk v různých tkáních a orgánech pocházejících z dlouhodobě přežívajících myší získaných imunoterapií. U většiny vzorků byl podle očekávání signál negativní, což potvrdilo úspěšnost kombinované terapie. U pěti z patnácti myší jsme však pozorovali pozitivní signál na onkogen, což prokázalo, že extramedulární ložiska PML-RAR α pozitivních buněk, jako je například mozek/CNS, mohou v organismu přetrvávat a být příčinou relapsů.

Dále jsme se zaměřili na charakterizaci imunitní odpovědi vyvolané imunoterapií. Při studiu humorální odpovědi jsme sledovali metodou ELISA přítomnost protilátek reagujících s PML-RAR α a RAR α v sérech myší a pacientů s APL. Ukázali jsme, že léčbou pomocí ATRA dochází u myší ke zvýšené tvorbě anti-RAR α protilátek, která koreluje s delším přežíváním myší. Protilátky byly též prokázány u pacientů s APL při diagnóze i po léčbě zahrnující ATRA. Studie buněčné imunity ukázala, že během léčby dochází k aktivaci APL-specifických cytotoxických T lymfocytů, která je závislá na MHC prezentaci antigenu. T buňky specificky rozpoznávající APL zůstávají aktivní u vakcinovaných jedinců ještě velmi dlouho po aplikaci poslední dávky. Kombinace ATRA s DNA vakcinací vede ke zvýšení imunitní odpovědi namířené proti APL, společně s aktivací CD8⁺ T buněk a zvýšené produkci IFN- γ . Výsledky *in vivo* deplečních pokusů poukazují na nepostradatelnou roli obou podtypů CD4⁺ a CD8⁺ lymfocytů pro navození imunitní odpovědi namířené proti leukemii, vyvolané DNA vakcinací a zdůrazňují klíčovou roli CD4⁺ T buněk při udržování dlouhodobé remise. Dá se tedy předpokládat, že kombinovaná terapie ATRA a DNA vakcinace se může v klinických studiích podílet na kontrole minimální residuální choroby.