doi: 10.48095/cctahd2023prolekare.cz2

Povrchové markery leukemických kmenových buněk u chronické myeloidní leukemie

Leukemic stem cell surface markers in chronic myeloid leukaemia

Smitalová D.[1], Ježíšková I.[1], Mayer J.[1,2], Žáčková D. [1], Čulen M.[1]

[1] *Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno*
[2] *Středoevropský technologický institut, MU, Brno*

SOUHRN: I přes značný pokrok v léčbě chronické myeloidní leukemie (CML) pomocí tyrozin-kinázových inhibitorů (TKI) dosáhne pouze ~ 40 % pacientů setrvalé remise po vysazení léčby. Jednou z příčin je perzistence leukemických kmenových buněk (leukemic stem cell – LSC), které jsou rezistentní vůči léčbě a přežívají v quiescentní formě v kostní dřeni. LSC tak představují rezervoár pro obnovu nemoci a zdroj mutací, které mohou vést k rezistenci na léčbu a relapsu onemocnění. Ideálním cílem terapie je proto úplná eradikace nemoci vč. LSC, což je problematické kvůli nedostatku terapeutických cílů a vůbec detekci těchto velmi raritních buněk. Proto jsou předmětem intenzivního výzkumu markery leukemických kmenových buněk, které by je umožnily snadněji odlišit od zdravé populace kmenových buněk, přinesly by nové poznatky o samotné biologii LSC, a zároveň posloužily jako potenciální terapeutické cíle. Tato práce shrnuje recentní poznatky z probíhajícího výzkumu a klinických studií týkajících se problematiky povrchových markerů LSC u CML.

KLÍČOVÁ SLOVA: chronická myeloidní leukemie – leukemické kmenové buňky – markery leukemických kmenových buněk

SUMMARY: Treatment with tyrosine kinase inhibitors has revolutionized the management of CML, but only ~ 40% of patients achieve treatment-free remission. One of the underlying causes is persistent leukemic stem cells (LSCs) which are resistant to therapy and survive in quiescent form in the bone marrow niche. This LSC pool can serve as a source of CML reoccurrence and mutation acquisition, which can lead to treatment resistance and disease relapse. Thus, the ideal therapy goal is complete disease eradication including the LSCs. However, specific therapeutic targets are lacking, and even monitoring of these rare cells is problematic. Therefore, there has been intense research to find specific LSC markers which would allow distinction of LSCs from normal stem cells, description of LSC biology, and identification of potential therapeutic targets. This article reviews recent studies and clinical trials involving the problems of surface LSC markers in CML.

KEY WORDS: chronic myeloid leukaemia – leukemic stem cells – leukemic stem cell markers

ÚVOD

Chronická myeloidní leukemie (CML) je klonální myeloproliferativní onemocnění, které je charakteristické kumulací granulocytů a jejich prekurzorů v kostní dřeni a periferní krvi. Roční incidence onemocnění se pohybuje okolo 0,7 případů na 100 000 obyvatel, věkový medián při diagnóze je kolem 57 let [1–3]. Onemocnění se vyznačuje přítomností tzv. chromozomu Philadelphia [4], který je výsledkem translokace t(9;22)(q34;q11) a nese fúzní onkogen *BCR::ABL1 (Breakpoint Cluster Region::Abelson 1)* [5–7]. Jeho produktem je konstitutivně aktivovaná tyrozinkináza. Ta interaguje s řadou intracelulárních signálních drah, které hrají významnou roli v onkogenní transformaci a proliferaci leukemických buněk u CML [8]. K samotné onkogenní transformaci dochází ve stádiu hematopoetické kmenové buňky (*haematopoietic stem cell* – HSC), která svou proliferační aktivitou zajišťuje nejen vznik leukemické populace, ale díky mechanizmům sebeobnovy udržuje populaci zásobních LSC. První přímý důkaz přítomnosti této populace u CML pacientů přinesla studie z roku 1999, kdy se podařilo izolovat a identifikovat vysoce (reverzibilně) quiescentní subpopulaci leukemických buněk, která nesla znaky kmenovosti jak v *in vitro*, tak *in vivo* podmínkách [9].

V současnosti je díky dostupnému spektru inhibitorů tyrozinové kinázy (TKI) možné nasadit a změnit léčbu podle individuální potřeby pacientů, což u většiny z nich vede k téměř úplné eradikaci leukemických buněk [10]. Ke vzniku rezistence na TKI terapii dochází jen u přibližně 10–15 % pacientů, přičemž jednou z nejčastějších příčin je zisk mutací v BCR::ABL1 kinázové doméně [11]. Díky genetické nestabilitě a akvizici nových chromozomálních abnormalit může nastat i progrese do akcelerované a blastické fáze CML, k čemuž v současnosti dochází pouze u cca 4 % pacientů [3,12]. Při dosažení dlouhodobé optimální léčebné odpovědi se nyní přistupuje k vy-

Tab. 1. Přehled markerů exprimovaných na leukemických kmenových buňkách u pacientů s CML.

Marker	Alias	Popis	Popsané/známé inhibitory	Další asociované malignity
CD25	IL2RA	alfa podjednotka receptoru pro IL2	L2-TRAIL peptide immunotoxin [49] daclizumab [50]	AML
CD26	DPP4	transmembránová proteáza	vildagliptin [51] sitagliptin [52]	AML, CLL, rakovina štítné žlázy, kolorektální karcinom
CD33	Siglec-3	receptor pro sialovou kyselinu	lintuzumab gemtuzumab/ozogamicin [53]	AML
CD36	FAT	transmembránový glykoprotein	salvianolic acid B [54] AP 5055 AP 5258 [55]	AML, metastazující rakoviny
CD90	Thy-1	povrchový glykoprotein	NA	AML, hepatocelulární karcinom, karcinom jícnu
CD93	NA	povrchový glykoprotein	rottlerin [56] metoclopramide [57]	AML
CD123	IL3RA	alfa podjednotka receptoru pro IL3	CSL362 [43] SL401, SL501 [58]	AML. B-ALL, Hodgkinův lymfom
IL-1RAP	IL1R3	koreceptor IL1 a IL33	CAR-T lymfocyty [59]	AML

AML – akutní myeloidní leukemie; B-ALL – akutní B-lymfoblastická leukemie; CAR – chimérický antigenní receptor; CLL – chronická lymfocytární leukemie

sazení TKI, které bývá úspěšné u 40 % pacientů a kterému bylo věnováno přehledové sdělení na stránkách předkládaného časopisu [13]. U zbylých pacientů dochází k návratu nemoci a je potřeba u nich léčbu obnovit [14–17]. Hlavní příčinou těchto relapsů je přítomnost populace přežívajících LSC, které jsou rezistentní k apoptóze indukované TKI [18]. LSC se nacházejí převážně v kostní dřeni, ale jsou detekovatelné i v periferní krvi zároveň se zdravými hematopoetickými kmenovými buňkami, se kterými sdílejí své hlavní fenotypové vlastnosti a povrchové markery [19]. Stejně tak s nimi sdílejí řadu biologických vlastností, jako je schopnost sebeobnovy a diferenciace do převážně myeloidní, ale i lymfoidní řady. Odlišení LSC od HSC a pochopení jejich biologie se tak staly kritickými faktory pro umožnění cílené terapie, která by vedla k úplné eradikaci nemoci [20].

Vzhledem k tomu, že LSC jsou schopné dlouhodobě přetrvávat u pacientů na TKI terapii, je patrné, že jejich přežívání není zcela závislé na aktivitě BCR::ABL1, jako je tomu u vývojově nižších stádií leukemické krvetvorby [21,22]. Díky pokrokům v molekulární biologii a novým metodám, jako je sekvenování na úrovni jednotlivých buněk, byly identifikovány BCR::ABL1 nezávislé dráhy, které u LSC vedou k rezistenci na léčbu TKI. Souhrnným výsledkem působení těchto drah u LSC je potlačení signálů pro apoptózu, podpora proliferace a zvýšení sebeobnovovací schopnosti [23]. LSC jsou podporovány i samotným mikroprostředím kostní dřeně, které vytváří příznivé prostředí pro přežívání a růst leukemické populace.

Tato přehledová práce je zaměřena na nejnovější poznatky na poli problematiky fenotypu LSC a jejich povrchových markerů u CML.

POVRCHOVÉ MARKERY LEUKEMICKÝCH KMENOVÝCH BUNĚK U CML

Jako povrchové markery jsou označovány molekuly proteinů a sacharidů nacházející se na vnější straně plazmatické membrány buněk. Tyto molekuly obecně slouží pro přenos buněčné signalizace a mezibuněčnou komunikaci.

HSC i LSC jsou fenotypově řazeny do populace primitivních buněk charakteristických expresí povrchového markeru CD34 [19]. U pacientů v chronické fázi CML tato populace tvoří cca 10 % z celkových mononukleárních/jaderných buněk v kostní dřeni a 5 % v periferní krvi. Převážná část této frakce je tvořena BCR::ABL1 pozitivními blasty CD34+CD38+, zatímco CD34+CD38- LSC a HSC jsou zastoupeny pouze minoritně (cca 0,01 % z CD34+ frakce) [24]. V blastické fázi CML byly buňky s LSC vlastnostmi navíc detekovány i v hierarchicky nižších populacích společných myeloidních progenitorů CD34+CD38+CD45RA-CD123+ (*common myeloid progenitors* – CMP), dále progenitorů pro granulocyty a makrofágy CD34+CD38+CD45RA+CD123+ (*granulocyte-macrophage progenitors* – GMP), a progenitorů pro megakaryocyty a erytrocyty CD34+CD38+CD45RA--CD123- (*megakaryocyte-erythroid progenitors* – MEP). I přestože se tyto buňky získáním schopností sebeobnovy a iniciace leukemie funkčně stanou LSC, stále si zachovávají svůj původní imunofenotypový profil, čímž se liší od kmenových buněk. Prozatím nebyly nalezeny povrchové markery, které by je odlišily od zdravých progenitorů, což je příčinou obtížnější cílené eradikace [25,26].

Pro odlišení LSC od HSC u CML pacientů bylo teprve v průběhu posled-

Tab. 2. Přehled klinických studií využívajících markery exprimované na leukemických kmenových buňkách pro cílenou terapii a sledování průběhu léčby u CML pacientů.

Oficiální název studie	Marker	Start	Plán ukončení	Cíl studie	Studovaná populace pacientů	Status
Chronická fáze CML						
Leukemic Stem Cell Detection for Chronic Myeloid Leukemia Patients With Major Molecular Response	CD26	13. srpna 2019	leden 2021	sledování populace leukemických kmenových buněk (CD45+/CD34+/CD38−/CD26+) v periferní krvi a kostní dřeni u pacientů s BCR::ABL1-pozitivní hematopoézou a pacientů zaléčených pomocí TKI	CML pacienti s BCR::ABL1--pozitivní hematopoézou; CML pacienti na TKI terapii (MMR nebo hlubší molekulární odpověď)	neznámý
Dipeptidylpeptidase IV (CD26) on Philadelphia--positive leukemic stem cells (LSC) as marker and novel therapeutic target in chronic myeloid leukemia (CML)	CD26	4. září 2019	NA	dosažení a udržení remise po vysazení TKI léčby využitím kombinované léčby pomocí nilotinibu a vildagliptinu (inhibitor CD26)	nově diagnostikovaní pacienti v chronické fázi CML; pacienti s relapsem po neúspěšném vysazení TKI	probíhající
Targeting Leukemic Stem Cell Expressing the IL-1RAP Protein in Chronic Myelogenous Leukemia (CML) (CAR--LMC)	IL-1RAP	říjen 2015	duben 2020	imunoterapie cílená na LSC u pacientů s chronickou myeloidní leukemií pomocí modifikovaných T-lymfocytů s chimérickým antigenním receptorem (CAR) specifickým pro IL-1RAP	pacienti s diagnostikovanou CML, bez předchozí léčby interferonem	neznámý
Akcelerovaná fáze a blastická krize CML						
CLL1-CD33 cCAR in Patients With Relapsed and/or Refractory, High Risk Hematologic Malignancies	CD33	1. březen 2018	30. září 2022	imunoterapie cílená na LSC pacientů s progredující či vysoce rizikovou myeloidní leukémií pomocí modifikovaných T-lymfocytů s CAR specifickým pro CD33 a CLL1	pacienti s nově diagnostikovanou AML; relaps; transformovaná AML; MDS s přebytkem blastů; myeloproliferativní neoplasie s blastickou transformací; pacienti s vyčerpanými standardními možnostmi	probíhající
Chemotherapy and Monoclonal Antibody Therapy in Treating Patients With Advanced Myeloid Cancer	CD33	listopad 2009	prosinec 2009	sledování účinnosti léčby kombinací chemoterapie a terapie pomocí monoklonální protilátky M195 (anti-CD33)	pacienti s nově diagnostikovanou AML bez možnosti jiné léčby; relaps AML; refrakterní AML; CML v akcelerační nebo blastické fázi	dokončený
PH 1 Study to Evaluate Safety and Tolerability of XmAb14045 in Patients With CD123-expressing Hematologic Malignancies	CD123	srpen 2016	únor 2023	imunoterapie sledující bezpečnost a účinnost XmAb14045 bi-specifické protilátky vážící se na CD123 a CD3 (marker cytotoxických T-lymfocytů)	pacienti s rekurentní a refrakterní leukémií	probíhající
Flotetuzumab for the Treatment of Relapsed or Refractory Advanced CD123-Positive Hematological Malignancies	CD123	18. listopad 2020	15. listopad 2023	imunoterapie sledující bezpečnost a účinnost bi-specifické protilátky flotetuzumabu vážící se na CD123 a CD3 (marker cytotoxických T-lymfocytů)	pacienti s rekurentní a refrakterní leukémií	probíhající

AML – akutní myeloidní leukemie; CAR – chimérický antigenní receptor; CML – chronická myeloidní leukemie; LSC – leukemické kmenové buňky; MDS – myelodysplastický syndrom; MMR – velká molekulární odpověď; TKI – tyrozin-kinázové inhibitory

ních 10 let testováno několik markerů (tab. 1), z nichž některé byly použity i v klinických studiích (tab. 2).

Jedním z nejlépe popsaných specifických LSC markerů je CD26 [24,27,28]. Jedná se o proteázu nacházející se na povrchu buněk ve formě transmembránového proteinu II. typu. V aktivní homodimerové formě katalyticky štěpí proteiny a peptidy s prolinem, alaninem nebo serinem na předposlední aminokyselinové pozici od N-konce [29].

Hlavní popsanou funkcí CD26 u LSC je přerušení signální dráhy SDF-1-CXCR4, která normálně rekrutuje hematopoetické buňky do kostní dřeně. CD26 štěpí chemotaxin SDF-1, a zvyšuje tak mobilitu a vyplavování leukemických buněk do periferní krve. Jeho povrchová exprese u LSC je specifická pro CML, zatímco u dalších leukemických malignit, např. u akutní myeloidní leukemie (AML), je minimální. Kromě LSC je u CML minoritně detekovatelný u bazofilů a lymfocytů [27].

Při sledování povrchové exprese CD26 při diagnóze a v průběhu TKI léčby u CML pacientů bylo ukázáno, že při diagnóze jsou CD26+ LSC detekovatelné téměř u 100 % pacientů jak v kostní dřeni, tak periferní krvi. V průběhu léčby dochází k výrazné redukci CD26+ LSC až na hranici detekce, nicméně tyto buňky mohou být stále identifikovatelné i u některých pacientů v hluboké molekulární odpovědi (*deep molecular response* – DMR) [28]. Také se ukázalo, že CD26+ LSC nesou BCR::ABL1, zatímco CD26- LSC jsou BCR::ABL1 negativní a že vyšší procento detekovaných CD26+ LSC v době diagnózy koreluje s pozdějším dosažením velké molekulární odpovědi (*major molecular response* – MMR) [24]. Díky těmto pozorováním se CD26 stal předmětem probíhajících klinických studií, které jsou zaměřeny na a) sledování poklesu či nárůstu CD26+ LSC v průběhu léčby a b) cílenou léčbu CML pacientů, např. pomocí kombinace léčby TKI s vildagliptinem, který by měl eradikovat přetrvávající LSC populaci (tab. 1).

Dalším významným specifickým markerem CML LSC je IL-1RAP, který je koreceptorem pro IL1 a IL33. Je součástí signálních drah zapojujících se do procesů zánětu a buněčné proliferace [30]. U CML pacientů bylo objeveno vysoké procento IL-1RAP pozitivních CD34+CD38- kmenových buněk, zatímco stejná populace u zdravých jedinců byla IL-1RAP negativní. U IL-1RAP, stejně jako u CD26, byla potvrzena schopnost rozdělovat populaci kmenových buněk na BCR::ABL1 pozitivní a negativní [31]. Landberg et al. ukázali, že procento IL-1RAP+ buněk koreluje s nádorovou zátěží, a tak by mohlo u pacientů sloužit k predikci dosažení molekulární a cytogenetické odpovědi [32]. V publikaci Zhao et al. pak popsali, že s progresí CML se u LSC zvyšuje zastoupení IL-1RAP+ buněk [33]. Tento marker se také nachází na leukemických buňkách u pacientů s AML, a to vč. LSC. Díky svým vlastnostem, podporujícím růst leukemických buněk, je studován jako potenciální terapeutický cíl [34].

CD25 je třetím významným markerem CML LSC. Pro identifikaci LSC je často používán v kombinaci s CD26 a IL-1RAP. CD25 je alfa podjednotkou heterotrimerového receptorového komplexu pro IL2. Je členem imunoglobulinové rodiny a slouží jako adhezní protein pro mezibuněčnou interakci a také pro interakci mezi buňkami a extracelulární matrix. U CML LSC bylo popsáno, že CD25 působí jako negativní regulátor růstu a při léčbě TKI dochází k snížení jeho exprese na úrovni mRNA [35]. CD25 je selektivně exprimován pouze u LSC, v porovnání s HSC, a lze ho při diagnóze detekovat až u 90 % pacientů. CML LSC zvýšeně exprimují pouze alfa podjednotku CD25, beta a gama podjednotka nejsou dostatečně exprimovány, což v důsledku vede k tomu, že nedochází ani k aberantní aktivaci IL-2 dráhy. Exprese CD25 je podle Sadovnika et al. spouštěna přes STAT5, který je pozitivně regulován BCR::ABL1 kinázou. V průběhu TKI léčby tak blokací BCR::ABL1 signalizace dochází ke snížení CD25 exprese a ztrátě CD25+ LSC [36].

Dalšími markery, které jsou zmiňované v souvislosti s LSC u CML, jsou CD33, CD36, CD93 a CD123. Tyto markery jsou většinou využívány v kombinaci s některým z předcházejících tří markerů.

Marker CD33, transmembránový receptor vážící sialovou kyselinu, byl u CML LSC popsán ve studii Herrmanna et al., kde ukázali, že v čase diagnózy je CD33 exprimována na povrchu LSC a leukemických progenitorů, zatímco v průběhu léčby procento CD33+ buněk klesá. CD33 marker je však méně specifický, jelikož je možné nalézt CD33+ buňky i v HSC populaci [27].

Dalším markerem je CD36, vysoce glykosylovaný transmembránový protein, exprimovaný u celé řady buněk, především u trombocytů a adipocytů, kde slouží jako receptor pro trombospondin. Je zapojen do řady buněčných procesů, jako jsou buněčná adheze, fagocytóza a reakce na zánět. U nádorových buněk obecně podporuje metastazování a rezistenci na terapii pomocí zvýšeného lipidového příjmu a oxidace mastných kyselin a je zapojen také do angiogeneze. V publikaci Landberga et al. našli v rámci CD34+CD38low CML populace zvýšený výskyt CD36+ buněk, v porovnání se stejnou populací ze zdravé kostní dřeně. Populace CD34+CD38lowIL1RAP+CD36+ vykazovala v buněčné kultuře stejný růst jako CD36- populace, ale byla signifikantně méně senzitivní vůči imatinibu. Tuto sníženou senzitivitu bylo možné překonat použitím nilotinibu a také využitím polyklonálních protilátek proti CD36, které indukovaly selektivní umírání pouze u leukemických buněk. V této studii také sledovali, že v průběhu TKI terapie dochází v CD34+CD38low populaci k výraznému snížení procenta CD36+ buněk [37]. Jeho role v patogenezi CML LSC dosud nebyla popsána, ovšem předpokládá se, že jeho účast v procesech udržování homeostázy adipózní tkáně by mohla mít vliv na mikroprostředí kostní dřeně, a podporovat tak růst a přežívání LSC. Tuto teorii podporují i výsledky studie Ye et al., která na myším modelu CML blastické fáze po-

psala specifickou CD36+ LSC subpopulaci v adipózní tkáni. Tato subpopulace byla chráněna okolním mikroprostředím vůči působení chemoterapeutik a zároveň využívala energetické zásoby této tkáně pro své přežití [38].

Zajímavým povrchovým markerem je CD90, vysoce N-glykosylovaný glykofosfatidylinositolový protein, který se účastní procesů, jako jsou buněčná adheze, migrace, apoptóza a mezibuněčná komunikace [39]. Původně byl zvažován jako samostatný specifický marker LSC, ale novější poznatky ukazují, že se spíše jedná o obecný marker odlišující více primitivní populace s vysokou schopností sebeobnovy u CML i AML [40,41].

Dalším povrchovým markerem je CD93, povrchový glykoprotein, který se účastní procesů, jako jsou mezibuněčná adheze a migrace leukocytů. Zatím pro něj ovšem nebyla navržena žádná specifická funkce u CML LSC. Kinstrie et al. ukázali, že CD93 se selektivně nachází u CD34+CD38-CD90+ populace, která má vlastnosti kmenových buněk. V průběhu léčby se sice procento CD93+ LSC snižovalo, ale tyto buňky byly stále detekovatelné a korelovaly s výskytem molekulárního relapsu u pacientů, kterým byla vysazena TKI léčba. Může tak být nástrojem pro rozpoznání pacientů hůře reagujících na vysazování TKI léčby, a stejně tak možným selektivním faktorem pro výběr kandidátů pro samotné vysazení [40].

Povrchový marker CD123 je alfa podjednotkou heterodimerového IL3 receptoru. Je zapojen do procesů buněčného zrání, dělení, přežívání a migrace buněk. Byla popsána jeho zvýšená exprese na povrchu LSC u hematologických malignit v porovnání s HSC [42]. Je jedním z důležitých markerů pro identifikaci LSC u AML [43]. Nievergall et al. navíc ukázali, že se procento CD123+ LSC zvyšuje s progresí CML. Dále v této studii pro inhibici CD123 použili CSL362, což vedlo k eradikaci CD123+ CML LSC a výrazně sníženému přihojování CML buněk v myších. Inhibice CD123 vedla k blokaci antiapoptické signální kaskády a eradikaci leukemických CML progenitorů pomocí TKI [44]. CD123 se tak jeví jako slibný marker pro LSC a pro cílenou terapii u CML v akcelerované fázi a blastické fázi.

Velkou porovnávací studií celé řady markerů u pacientů v chronické fázi je publikace Herrmann et al., která ukázala, že CML LSC mají téměř neměnný aberantní profil definovaný jako CD25+/CD26+/CD56+/CD93+/IL-1RAP+. Exprese ostatních LSC markerů popsaných v této rešeršní práci nebyla signifikantně odlišná od progenitorové populace a/nebo od HSC a progenitorů [45].

V našem souboru 35 CML pacientů jsme na populaci kmenových buněk (CD34+38-) z kostní dřeně testovali 7 vybraných markerů – CD25, CD26, CD56, CD69, CD90, CD93 a IL-1RAP. Výsledky průtokové cytometrie ukázaly, že CD25, CD26 a IL-1RAP mají vysokou, ale ne úplnou koexpresi, z čehož vyplývá, že lze dosáhnout záchytu největšího množství LSC hodnocením buněk exprimujících alespoň jeden z těchto tří markerů. [46]. Dále z našich výsledků vyplynulo, že v průběhu léčby dochází ke snížení exprese jednotlivých markerů [47].

Zajímavé poznatky ohledně povrchových markerů u CML LSC přinesly i studie na úrovni jednotlivých buněk. Ukázaly, že LSC populace v čase diagnózy je heterogenní a lze ji dle RNA exprese rozdělit na subpopulace, které korelují s odpovědí na léčbu TKI. Ve všech subpopulacích bylo nalezeno vysoké procento CD26+, IL-1RAP+ a CD25+ LSC. V průběhu léčby ale docházelo k jejich výraznému snížení a ztrátě překrývající se exprese mezi subpopulacemi. Jako populace nejméně senzitivní na imatinib byla ve studii Warfvinge et al. definována Lin-CD34+CD38-/lowCD45RA--cKIT-CD26+. Tato byla navržena jako možný cíl pro terapii [48]. Giustacchini et al. pak popsali, že v blastické fázi jsou kmenové buňky charakterizovány jako Lin-CD34+CD38-CD90-CD45RA+ s diferenciací do lymfoidní progenitorové řady, přičemž tato populace byla již dříve spojená s rozvojem akutní leukemie [49].

ZÁVĚR

Budoucnost léčby CML ideálně spočívá v kompletní eradikaci nemoci na úrovni LSC. Neméně důležité je i jejich sledování, a to pro stanovení minimální zbytkové choroby a možné určování prognózy. Povrchové markery specifické pro LSC tak mohou plnit jak funkci diagnostických markerů, tak funkci případných terapeutických cílů. Využití povrchových markerů je výhodné v tom, že jsou díky své pozici na povrchu buňky snadno dostupné pro léčiva a protilátky, a pokud se nachází specificky pouze na LSC, významně snižují poškození ostatních buněčných populací a okolních tkání. V blastické fázi navíc dochází k získání LSC vlastností i u hierarchicky nižších buněk s odlišným imunofenotypovým profilem, což společně s vysokou heterogenitou populací, ve kterých se nacházejí, dále komplikuje možnosti eradikace LSC. Jako nejefektivnější léčebný přístup se tak jeví využití kombinace podávání TKI společně s terapií cílenou na povrchové markery, což je i předmětem několika probíhajících klinických studií. Ty by zároveň měly odpovědět i na otázku, do jaké míry je tato kombinovaná léčba a samotná cílená eradikace leukemických kmenových buněk klinicky dosažitelná, a zda bude mít požadovaný léčebný efekt pro zlepšení přežívání a kvality života pacientů.

Literatura

1. Hochhaus A, Baccarani M, Silver RT, et al. European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia. Leukemia. 2020;34(4):966–984.
2. Höglund M, Sandin F, Simonsson B. Epidemiology of chronic myeloid leukaemia: an update. Ann Hematol. 2015;94(2):241–247.
3. Hoffmann VS, Baccarani M, Hasford J, et al. Treatment and outcome of 2904 CML patients from the EUTOS population-based registry. Leukemia. 2017;31(3):593–601.
4. Nowell P, Hungerford D. A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. Science. 1960;142:1497–1499.
5. Elefanty AG, Hariharan IK, Cory S. bcr-abl, the hallmark of chronic myeloid leukaemia in man,

induces multiple haemopoietic neoplasms in mice. EMBO J. 1990;9(4):1069–1078.
6. Kelliher MA, McLaughlin J, Witte ON, Rosenberg N. Induction of a chronic myelogenous leukemia-like syndrome in mice with v-abl and BCR/ABL. Proc Natl Acad Sci. 1990;87(17).
7. Heisterkamp N, Jenster G, ten Hoeve J, Zovich D, Pattengale PK, Groffen J. Acute leukaemia in bcr/abl transgenic mice. Nature. 1990;344(6263):251–253.
8. Deininger MWN, Goldman JM, Melo J V, et al. The molecular biology of chronic myeloid leukemia. Blood. 2000;96(10):3343–3356.
9. Holyoake T, Jiang X, Eaves C, Eaves A. Isolation of a Highly quiescent subpopulation of primitive leukemic cells in chronic myeloid leukemia. Blood. 1999;94(6):2056–2064.
10. Quintás-Cardama A, Kantarjian HM, Cortes JE. Mechanisms of primary and secondary resistance to imatinib in chronic myeloid leukemia. Cancer Control. 2009;16(2):122–131.
11. Čičátková P, Žáčková D. Vysazování inhibitorů tyrozinkináz u pacientů s chronickou myeloidní leukemií ve studiích a klinické praxi. Transfuze Hematol Dnes. 2020;26(4): 279–291.
12. Etienne G, Guilhot J, Rea D, et al. Long-term follow-up of the French Stop Imatinib (STIM1) study in patients with chronic myeloid leukemia. J Clin Oncol. 2017;35(3):298–305.
13. Saussele S, Richter J, Guilhot J, et al. Discontinuation of tyrosine kinase inhibitor therapy in chronic myeloid leukaemia (EURO-SKI): a prespecified interim analysis of a prospective, multicentre, non-randomised, trial. Lancet Oncol. 2018;19(6):747–757.
14. Ross DM, Branford S, Seymour JF, et al. Safety and efficacy of imatinib cessation for CML patients with stable undetectable minimal residual disease: results from the TWISTER study. Blood. 2013;122(4):515–522.
15. Clark RE, Polydoros F, Apperley JF, et al. De-escalation of tyrosine kinase inhibitor therapy before complete treatment discontinuation in patients with chronic myeloid leukaemia (DESTINY): a non-randomised, phase 2 trial. Lancet Haematol. 2019;6(7):e375–e383.
16. Graham SM, Jørgensen HG, Allan E, et al. Primitive, quiescent, Philadelphia-positive stem cells from patients with chronic myeloid leukemia are insensitive to STI571 in vitro. Blood. 2002;99(1):319–325.
17. Lemoli RM, Salvestrini V, Bianchi E, et al. Molecular and functional analysis of the stem cell compartment of chronic myelogenous leukemia reveals the presence of a CD34- cell population with intrinsic resistance to imatinib. Blood. 2009;114(25):5191–5200.
18. Valent P, Sadovnik I, Eisenwort G, et al. Immunotherapy-based targeting and elimination of leukemic stem cells in AML and CML. Int J Mol Sci. 2019;20(17).
19. Chomel J-C, Bonnet M-L, Sorel N, et al. Leukemic stem cell persistence in chronic myeloid leukemia patients with sustained undetectable molecular residual disease. Blood. 2011;118(13):3657–3660.
20. Hamilton A, Helgason GV, Schemionek M, et al. Chronic myeloid leukemia stem cells are not dependent on Bcr-Abl kinase activity for their survival. Blood. 2012;119(6):1501–1510.
21. Holyoake TL, Vetrie D. The chronic myeloid leukemia stem cell: stemming the tide of persistence. Blood. 2017;129(12):1595–1607.
22. Culen M, Borsky M, Nemethova V, et al. Quantitative assessment of the CD26+ leukemic stem cell compartment in chronic myeloid leukemia: Patient-subgroups, prognostic impact, and technical aspects. Oncotarget. 2016;7(22):33016–33024.
23. Herrmann H, Sadovnik I, Cerny-reiterer S, et al. Dipeptidylpeptidase IV (CD26) defines leukemic stem cells (LSC) in chronic myeloid leukemia. Blood. 2014;123(25):3951–3962.
24. Bocchia M, Sicuranza A, Abruzzese E, et al. Residual peripheral blood CD26+ leukemic stem cells in chronic myeloid leukemia patients during TKI therapy and during treatment-free remission. Front Oncol. 2018;8:194.
25. Gorrell MD, Gysbers V, McCaughan GW. CD26: A multifunctional integral membrane and secreted protein of activated lymphocytes. Scand J Immunol. 2001;54(3):249–264.
26. Ali S, Huber M, Kollewe C, Bischoff SC, Falk W, Martin MU. IL-1 receptor accessory protein is essential for IL-33-induced activation of T lymphocytes and mast cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007;104(47):18660–18665.
27. Jaras M, Johnels P, Hansen N, et al. Isolation and killing of candidate chronic myeloid leukemia stem cells by antibody targeting of IL-1 receptor accessory protein. Proc Natl Acad Sci. 2010;107(37):16280–16285.
28. Landberg N, Hansen N, Askmyr M, et al. IL1RAP expression as a measure of leukemic stem cell burden at diagnosis of chronic myeloid leukemia predicts therapy outcome. Leukemia. 2016;30(1):253–257.
29. Zhao K, Yin LL, Zhao DM, et al. IL1RAP as a surface marker for leukemia stem cells is related to clinical phase of chronic myeloid leukemia patients. Int J Clin Exp Med. 2014;7(12):4787–4798.
30. Mitchell K, Barreyro L, Todorova TI, et al. IL1RAP potentiates multiple oncogenic signaling pathways in AML. J Exp Med. 2018;215(6): 1709–1727.
31. Sadovnik I, Herrmann H, Eisenwort G, Blatt K. Expression of CD25 on leukemic stem cells in BCR-ABL1+ CML: Potential diagnostic value and functional implications. Exp Hematol. 2017;51:17–24.
32. Sadovnik I, Hoelbl-Kovacic A, Herrmann H, et al. Identification of CD25 as STAT5-dependent growth regulator of leukemic stem cells in Ph + CML. Clin Cancer Res. 2016;22(8):2051–2061.
33. Landberg N, von Palffy S, Askmyr M, et al. CD36 defines primitive chronic myeloid leukemia cells less responsive to imatinib but vulnerable to antibody-based therapeutic targeting. Haematologica. 2018;103(3):447–455.
34. Ye H, Adane B, Khan N, et al. Leukemic stem cells evade chemotherapy by metabolic adaptation to an adipose tissue niche. Cell Stem Cell. 2016;19(1):23–37.
35. Kumar A, Bhanja A, Bhattacharyya J, Jaganathan BG. Multiple roles of CD90 in cancer. Tumour Biol. 2016;37(9):11611–11622.
36. Kinstrie R, Horne GA, Morrison H, et al. CD93 is expressed on chronic myeloid leukemia stem cells and identifies a quiescent population which persists after tyrosine kinase inhibitor therapy. Leukemia. 2020;34(6):1613–1625.
37. Shlush LI, Zandi S, Mitchell A, et al. Identification of pre-leukaemic haematopoietic stem cells in acute leukaemia. Nature. 2014;506(7488):328–333.
38. Florian S, Sonneck K, Hauswirth AW, et al. Detection of molecular targets on the surface of CD34+/CD38- stem cells in various myeloid malignancies. Leuk Lymphoma. 2006;47(2):207–222.
39. Zeijlemaker W, Kelder A, Oussoren-Brockhoff YJM, et al. A simple one-tube assay for immunophenotypical quantification of leukemic stem cells in acute myeloid leukemia. Leukemia [Internet]. 2016;30(2):439–446. Available from: http://dx.doi.org/10.1038/leu.2015.252
40. Nievergall E, Ramshaw HS, Yong ASM, et al. Monoclonal antibody targeting of IL-3 receptor α with CSL362 effectively depletes CML progenitor and stem cells. Blood. 2014; 123(8): 1218–1228.
41. Herrmann H, Sadovnik I, Eisenwort G, et al. Delineation of target expression profiles in CD34+/CD38- and CD34+/CD38+ stem and progenitor cells in AML and CML. Blood Adv. 2020;4(20):5118–5132.
42. Culen M, Romzova M, Smitalova D, Loja T, Mayer J. Multicolor immunophenotyping of candidate leukemic stem cell markers in CD34+CD38- chronic myeloid leukemia stem cells. Blood. 2019;134(Supplement_1):2922–2922.
43. Romzova M, Smitalova D, Taus P, Mayer J, Culen M. High throughput immunophenotyping and expression profiling at single cell level reveal BCR-ABL1 dependent surface markers of chronic myeloid leukemia stem cells. Blood. 2019;134(Supplement_1):2920–2920.
44. Warfvinge R, Geironson L, Sommarin MNE, et al. Single-cell molecular analysis defines therapy response and immunophenotype of stem cell subpopulations in CML. Blood. 2017;129(17):2384–2395.
45. Giustacchini A, Thongjuea S, Barkas N, et al. Single-cell transcriptomics uncovers distinct molecular signatures of stem cells in chronic myeloid leukemia. Nat Med. 2017;23(6): 692–702.
46. Madhumathi J, Sridevi S, Verma RS. CD25 targeted therapy of chemotherapy resistant leukemic stem cells using DR5 specific TRAIL peptide. Stem Cell Res. 2017;19:65–75.
47. Bielekova B, Howard T, Packer AN, et al. Effect of anti-CD25 antibody daclizumab in the inhibition of inflammation and stabilization of disease

progression in multiple sclerosis. Arch Neurol. 2009;66(4):483–489.
48. Willmann M, Sadovnik I, Eisenwort G, et al. Evaluation of cooperative antileukemic effects of nilotinib and vildagliptin in Ph+ chronic myeloid leukemia. Exp Hematol. 2018;57:50-59.e6.
49. Hollande C, Boussier J, Ziai J, et al. Inhibition of the dipeptidyl peptidase DPP4 (CD26) reveals IL-33-dependent eosinophil-mediated control of tumor growth. Nat Immunol. 2019;20(3):257–264.
50. Herrmann H, Cerny-Reiterer S, Gleixner KV, et al. CD34+/CD38- stem cells in chronic myeloid leukemia express Siglec-3 (CD33) and are responsive to the CD33-targeting drug gemtuzumab/ozogamicin. Haematologica [Internet]. 2012 Feb [cited 2022 Apr 20];97(2):219–226. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21993666
51. Bao Y, Wang L, Xu Y, et al. Salvianolic acid B inhibits macrophage uptake of modified low density lipoprotein (mLDL) in a scavenger receptor CD36-dependent manner. Atherosclerosis. 2012;223(1):152–159.
52. Geloen A, Helin L, Geeraert B, Malaud E, Holvoet P, Marguerie G. CD36 inhibitors reduce postprandial hypertriglyceridemia and protect against diabetic dyslipidemia and atherosclerosis. PLoS One. 2012;7(5):e37633.
53. Ikewaki N, Kulski JK, Inoko H. Regulation of CD93 cell surface expression by protein kinase C isoenzymes. Microbiol Immunol. 2006;50(2):93–103.
54. Riether C, Radpour R, Kallen NM, et al. Metoclopramide treatment blocks CD93-signaling-mediated self-renewal of chronic myeloid leukemia stem cells. Cell Rep. 2021;34(4):108663.
55. Frolova O, Benito J, Brooks C, et al. SL-401 and SL-501, targeted therapeutics directed at the interleukin-3 receptor, inhibit the growth of leukaemic cells and stem cells in advanced phase chronic myeloid leukaemia. Br J Haematol. 2014;166(6):862–874.

PODÍL AUTORŮ NA PŘÍPRAVĚ RUKOPISU

DS – příprava rukopisu
IJ, JM, DŽ, MČ – kritické revidování rukopisu.

ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Autoři práce prohlašují, že v souvislosti s tématem, vznikem a publikací tohoto článku nejsou ve střetu zájmů a vznik ani publikace článku nebyly podpořeny žádnou farmaceutickou firmou.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla s podporou grantu MUNI/A/1330/2021, podporou z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NU22-03-00136 a projektu Národního ústavu pro výzkum rakoviny (Program EXCELES, ID: LX22NPO5102) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.

Do redakce doručeno dne: 13. 5. 2022.
Přijato po recenzi dne: 15. 9. 2022.

Mgr. Dagmar Smitalová
IHOK FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
e-mail:
dagmar.smitalova112@gmail.com