

Ostra białaczka limfoblastyczna (ALL) jest najczęstszym nowotworem występującym u dzieci. ALL leczona jest z zastosowaniem wielolekowej chemioterapii, która wywołuje wiele poważnych efektów ubocznych. Chemioterapia okazuje się nieskuteczna u ~20% dzieci, co wiąże się z opornością na leczenie i wznową (nawrotem choroby). Wznowa jest bardzo trudna do leczenia i często śmiertelna. Większość nawrotów występuje u pacjentów z podtypem T-ALL (ostra białaczka limfoblastyczna z komórek T), który jest bardziej agresywny i znacznie mniej poznany niż podtyp ALL wywodzący się z limfocytów B. W przeciwieństwie do ALL z komórek B, w T-ALL nadal brakuje genetycznych markerów prognostycznych do określania ryzyka wznowy.

Białaczka dziecięca jest problemem medycznym dotykającym całą rodzinę, z wszelkimi konsekwencjami psychologicznymi, społecznymi i ekonomicznymi. Wskaźniki przeżycia pacjentów ze wznową są niskie, pomimo intensywnego leczenia. Koszty terapii oraz koszty związane z rehabilitacją z powodu długotrwałych skutków ubocznych terapii, negatywnie wpływających na jakość życia, stanowią na całym świecie znaczne obciążenie ekonomiczne. Ponieważ ALL jest najczęstszym nowotworem wieku dziecięcego, niezwykle ważne jest poszerzenie wiedzy na temat mechanizmów nawrotu tej białaczki. Precyzyjna identyfikacja pacjentów z wysokim ryzykiem nawrotu, skuteczne zapobieganie i leczenie wznowy, to obecnie jedne z najważniejszych wyzwań w onkologii dziecięcej. Istnieje zatem pilna potrzeba zidentyfikowania wiarygodnych czynników prognostycznych wznowy i opracowania nowych strategii terapeutycznych, aby zapobiec nawrotowi. Wymaga to jednak dogłębnego zrozumienia mechanizmów progresji i wznowy choroby.

Opierając się na wynikach naszych wcześniejszych badań oraz danych literaturowych, dotyczących innych nowotworów, stawiamy hipotezę, że do mechanizmów przyczyniających się do wznowy T-ALL należą: lekooporność; cechy związane z macierzystym charakterem komórek (nadające komórkom biologiczną plastyczność i ułatwiające „ucieczkę” przed przeciwnowotworowym działaniem terapii); indukowany chemioterapią zestaw cech zbliżony do starzenia komórek; heterogeniczność klonalna (oznaczająca dużą różnorodność wśród komórek białaczkowych, co czyni je bardziej podatnymi na ewolucję w kierunku wznowy).

Naszym celem jest dostarczenie nowej wiedzy na temat genów i procesów biologicznych, które decydują o zwiększonym potencjale komórek T-ALL do przeżycia i ich ewolucji od diagnozy do wznowy. W celu zbadania mechanizmów nawrotu T-ALL zastosujemy dwie najnowocześniejsze metody: 1/ sekwencjonowanie transkryptomu z pojedynczych komórek (single-cell RNA sequencing, scRNA-seq) z użyciem próbek pacjentów z T-ALL, uzyskanych w momencie rozpoznania białaczki i w momencie rozpoznania nawrotu, oraz 2/ test przesiewowy typu ‘dropout’ w skali całego genomu, przy użyciu metody CRISPR/Cas9. scRNA-seq umożliwi nam zbadanie heterogeniczności i ewolucji klonów, w oparciu o analizę ekspresji genów z rozdzielczością na poziomie pojedynczych komórek. Natomiast badanie CRISPR/Cas9 ‘dropout’ umożliwi identyfikację genów, które są niezbędne dla przetrwania komórek białaczkowych. Uszkodzenie tych genów metodą CRISPR/Cas9 powoduje, że komórki te „wypadają” (dropout) z hodowli komórkowej, co pokazuje istotne znaczenie tych genów dla przetrwania komórek T-ALL. Na podstawie wyników tych badań, wybierzemy kilka genów i zweryfikujemy ich znaczenie dla komórek T-ALL. Będziemy aktywować lub blokować ekspresję tych genów w liniach komórkowych T-ALL i zbadamy, jak te zmiany wpływają na zdolność komórek białaczkowych do proliferacji i przeżycia. Na koniec, wykorzystamy metody bioinformatyczne do analizy danych dotyczących ekspresji genów i wyników leczenia, uzyskane dla dużych grup pacjentów z T-ALL, dostępne w publicznych bazach danych. Będziemy chcieli zweryfikować, czy zaobserwowane w naszym badaniu zmiany w ekspresji genów są rzeczywiście związane z występowaniem nawrotu T-ALL. Takie kompleksowe podejście do badania mechanizmów wznowy nie było dotychczas stosowane w badaniach T-ALL.

Oczekiwane wyniki projektu obejmują: 1/ charakterystykę genów i procesów niezbędnych dla przeżycia komórek T-ALL; 2/ opis genów i procesów biologicznych przyczyniających się do nawrotu T-ALL, z charakterystyką funkcjonalną kilku najbardziej interesujących genów; 3/ charakterystykę klonalnej heterogeniczności i klonalnej ewolucji w nawrocie T-ALL; 4/ opis wpływu mechanizmów związanych z cechami komórek macierzystych, lekoopornością i starzeniem komórek indukowanym chemioterapią na wystąpienie wznowy T-ALL; 5/ identyfikację genów, których nieprawidłowa ekspresja związana jest z występowaniem wznowy – genów, które mogą pomóc w przewidywaniu ryzyka nawrotu oraz opracowaniu nowych metod leczenia.

Ostatecznym celem projektu jest rozwikłanie mechanizmów wznowy T-ALL i utorowanie drogi do precyzyjnej identyfikacji pacjentów wysokiego ryzyka, co ułatwi określenie najlepszych opcji leczenia w celu zapobiegania nawrotom białaczki i poprawy przeżycia pacjentów z T-ALL.