**Új terápiás lehetőségek a genetikai diagnózis birtokában, primer immunhiányos állapotokban**
Kriván Gergely*1*, Goda Vera*1*, Kardon Tamás*2*
*1Dél-pesti Centrumkórház Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet, Gyermekhematológiai és Őssejtranszplantációs, 1097 Budapest, Albert Flórián u. 5.-7.*
*2Semmelweis Egyetem, Biokémia és Molekuláris Biológiai Intézet, Molekuláris Biológiai Tanszék, , ,*

A primer immunhiányos betegségek (PID) ritka kórképek, amelyek elsősorban a fertőzésekre való fokozott fogékonyságban, másrészt az immunreguláció zavaraiban nyilvánulnak meg. A klinikai kép és az immunológiai eltérések nagyfokú átfedést mutathatnak, így ezek alapján csak a kórképek egy része diagnosztizálható. A genetikai háttér tisztázása a diagnózis korai felállításán, az öröklésmenet feltárásán és a prognózis meghatározásán túl új terápiás lehetőségeket is lehetővé tehet. Az új, innovatív, célzott kezelések a kórképek immunológiai és patobiokémiai alapját szolgáló jelátviteli vagy anyagcsere utakat befolyásolva helyreállítják a komplex klinikai eltéréseket és alapvetően változtatják meg a betegek életminőségét. Az előadásban 3 új terápiás lehetőségről számolunk be. A CTLA-4 haploinsufficiencia kimutatása lehetővé tette egy CTLA-4-IgGFc receptor fúziós protein, az abatacept alkalmazását a közönséges változó immunhiányban (CVID) szenvedő betegünk esetében. A kezelésnek köszönhetően a beteg autoimmun manifesztációi gyógyultak. A glükóz-6-foszfatáz katalitikus alegység3 (G6PC3) defektus miatt kialakult 4-es típusú súlyos congenitalis neutropeniában a beteg abszolút neutrophil száma a másodnaponta adott szubkután granulocyta-kolónia stimuláló faktor (G-CSF) injekciókkal normalizálható. A 2-es típusú diabetesben orálisan alkalmazott glükóz-csökkentő SGLT2 inhibitor, az empagliflozin sikeresnek bizonyult a neutropenia megszüntetésében és a neutrofil funkció helyreállításában, így a fájdalmas és költséges injekciós kezelés elhagyhatóvá vált. Végül, egy súlyos granuloma-képződéssel, autoimmun manifesztációkkal járó CVID-ben szenvedő betegünknél egy fontos jelátviteli molekula a spleen tyrosine kinase (SYK) funkciónyerő mutációját találtuk. Egy kis molekulájú SYK tirozin kináz inhibitor, a fostamatinib törzskönyvezett gyógyszer terápia-rezisztens immunthrombocytopeniában (ITP), ezért alkalmazható betegünkben.

**Autoreaktív B-sejtek keletkezése és sorsa RAG1/2 hypomorf mutáns betegekben**
Blazsó Péter*1*, Csomós Krisztián*2*, Újházi Boglárka*2*, Walter Jolán*2 3 4*
*1Gyermekgyógyászati Klinika, Szegedi Tudományegyetem, , 6725 Szeged, Korányi fasor 14-15.*
*2Children’s Research Institute, University of South Florida, , St. Petersburg, FL, USA,*
*3Johns Hopkins All Children’s Hospital, , St. Petersburg, FL, USA,*
*4Massachusetts General Hospital for Children, , Boston, MA, USA,*

Egészségesekben a polireaktív B-sejt klónok egyrészt anerg állapotba kerülnek, elvesztik az autoreaktivitásukat vagy elpusztulnak a tolerancia ellenőrző pontoknál. Hibás tolerancia mechanizmusok esetén az autoreaktív klónok fennmaradhatnak és hozzájárulhatnak az autoantitest képző memória-/plazmasejt állomány keletkezéséhez. A hypomorf RAG1/2 (recombination activating gene) mutáns (pRD) betegekben korábban megfigyelték a humorális autoimmunitás kialakulását, amely változatos autoantitest képződéssel és autoimmun megjelenéssel jár. Ezen autoreaktív plazmasejtek keletkezésének ideje és mechanizmusa nem teljesen tisztázott. Feltételezésünk szerint részleges RAG1/2 deficienciában már a korai naïve kompartmentben polireaktív B-sejt klónok élnek túl és növekednek elsősorban a centrális tolerancia zavara miatt. Célul tűztük ki, hogy a betegekből származó polireaktív jelleget mutató egyedi B-sejteket és leszármazottaikat nyomonkövetjük az egyes B-sejt kompartmentekben, illetve B-sejt receptor repertoár szinten feltárjuk azokat a változásokat, amelyekkel magyarázni is lehet a pRD betegek progrediáló humorális autoimmunitását. pRD betegek és egészséges kontroll személyek perifériás vérmintáján végeztük a vizsgálatokat. In vitro monoklónális antitesteket termeltettünk egyedi naïve B-sejtek átrendeződött B-sejt receptor (BCR) nehéz (IgH) és könnyű (IgL) láncának mRNS klónozása után. Ezeket az antitesteket polireaktív tulajdonságra teszteltük. Ezek mellett érett naïve, aktivált naïve és memória B-sejtekből származó mRNS-eken BCR repertoár szekvenálást is végeztünk. Saját fejlesztésű algoritmusokat alkalmazva egyrészt nyomon követtük a polireaktivitást mutató antitestek IgH szekvenciáit és ezek leszármazottait az egyes kompartmentek BCR repertoárjában (ImmChainTracker), másrészt repertoár szinten megjelenítettük a kompartmenten belüli klónok méretbeli és leszármazási viszonyait (AIRRNAT). Az 5 pRD betegből és 7 egészséges kontrollból álló vizsgálatsorozatban a betegeknél nagyobb gyakorisággal találtunk polireaktív klónokat, mint az egészségesekben. Az egészségesek érett naïve sejtjeiből klónozott polireaktív antitestek IgH szekvenciái és ezek leszármazottai nem voltak jelen, ezzel szemben a pRD betegeknél a klónozott IgH szekvenciák 28,8%-át vagy leszármazottaikat megtaláltuk a B-sejt érés későbbi fázisainak megfelelő effektor kompartmentekben is. A teljes BCR repertoár elemzés tovább erősítette a felvetésünket, miszerint jelentős klónális növekedés és antigén szelekciós nyomásnak változóan kitett diverzifikáció zajlik a pRD betegek érett naïve B-sejtjeiben. Eredményeinkből kiolvasható, hogy a pRD betegekben a poli- és autoreaktív B-sejt klónok fennmaradnak, elterjednek és diverzifikálódnak. Az effektor (memória- és plazmasejt) kompartmentekben is megjelenő polireaktív klónok végül fenntarthatják a pRD betegekben megfigyelhető humorális autoimmun választ.

**Az aktivált PI3 kináz delta szindróma diagnosztikája és terápia esetbemutatásokkal**
Goda Vera*1*, Kriván Gergely*1*, Dobner Sára*2*
*1DPC Kórház Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet, Gyermekhematológiai és őssejt transzplantációs osztály, 1036 Budapest III., Lajos utca 105*
*2SE II.sz. Gyermekklinika, GYermekneurológiai osztály, 1094 Budapest, Tűzoltó 7.*

Az aktivált PI3 kináz delta szindróma (APDS) primer immunhiány, amelyet olyan funkciónyerő mutációk okoznak, amelyek fokozzák a foszfoinozidid-3-kináz δ (PI3Kδ) aktivitását. A mutációk a PI3Kδ p110δ katalitikus alegységet kódolják, vagy a PIK3R1 gén mutációin át a p85α szabályozó alegységet (APDS2) érintik. Jelenleg világszerte több mint 200 APDS-beteget azonosítottak már, és tisztázott a PI3Kδ aktiválásához vezető molekuláris mechanizmus, így ismét egy primer immunhiány segített a PI3Kδ emberi immunrendszerben betöltött szerepének megértésében. A betegeknél jelentős előny, hogy célirányos kezelésként lehetővé vált a szelektív PI3Kδ inhibitorok alkalmazása, míg korában csak nem specifikus terápiában részesültek. Két gyermekkori eset kapcsán szeretnénk bemutatni az APDS klinikai jellegzetességeit és terápiás megközelítését.

**Emberi IL2RG stabil termelése differenciálódó egér sejtekben nem-integrálódó vektorról**
Blazsó Péter*1*, Fajka-Boja Roberta*2*, Praznovszky Tünde, Csonka Erika*3*, Fodor Katalin, Udvardy Andor*4*, Katona Róbert*5*
*1Gyermekgyógyászati Klinika, Szegedi Tudományegyetem, , 6725 Szeged, Korányi fasor 14-15.*
*2Genetikai Intézet, Szegedi Biológiai Kutatóközpont, , Szeged,*
*3SOLVO Biotechnológiai Zrt., , Szeged,*
*4Biokémiai Intézet, Szegedi Biológiai Kutatóközpont, , Szeged,*
*5INPAMAC Zrt., , Szeged,*

X-hez kötött súlyos, kombinált immundefektus (X-SCID) egy ritka, veleszületett betegség, melynek a hátterében az interleukin 2 gamma alegységének (IL2RG) hibája áll. Mivel ez a fehérje központi komponense a -2, -4, -7, -9, -15, -21 interleukin receptoroknak, így az ezeken keresztüli jelátviteli elégtelenség súlyos funkciózavart okoz a T-, B- és NK-sejtek működésében. Ennélfogva, az adaptív immunvédelem szinte teljes kiesése miatt súlyos fertőző betegségek uralják a klinikai képet, melyek - még a kombinált fertőzésellenes kezelés mellett is - általában a beteg csecsemő-kisdedkori halálához vezetnek. Oki kezelésére, HLA kompatibilis vagy egyező donor hiányában allogén csontvelői őssejt transzplantációra az esetek egy részében nincs (időben) lehetőség. Mintegy 20 éve ennek áthidalására saját csontvelői őssejtek genetikai menekítését (génterápiáját) majd autológ transzplantációját kísérelték meg és végezték el sikerrel. Az esetek mintegy 25 százalékában azonban a génterápiára alkalmazott vírusvektor akut leukémiát idézett elő a betegeknél. Jóllehet, további fejlesztésekkel csökkentették ezen vektorok onkogén potenciálját, de a humán genom módosítását célzó jelenlegi módszereknél (integráns vírusvektorok, génszerkesztő eljárások) továbbra is fennáll a DNS rekombinációs mechanizmusokból eredő genotoxicitás kockázata. A korábbiakban már kimutattuk, hogy az emlős mesterséges kromoszóma (MAC) és ennek utódja a mesterséges kromoszóma expressziós rendszer (ACE) nem integrálódó, biztonságos, stabil és megbízható alternatívát jelent, mint génbeviteli eszköz. Jelen munkánkban a humán IL2RG alegységet stabilan termelő mesterséges kromoszómát hoztunk létre (IL2RG-ACE) egy kínai hörcsög ovárium (CHO) sejtvonalban már rendelkezésre álló feltölthető kromoszómára (ACE) alapozva. Az így elkészült IL2RG-ACE kromoszóma vektort R1 egér embrionális őssejtekbe (mouse embryonic stem cell, mESC) ültettük át. A hordozó mESC sejtvonalakban az IL2RG-ACE számfeletti kromoszómát stabilnak és önállóan replikálódónak találtuk. Továbbá a hordozó mESC telepek sem morfológiai, sem funkcionális különbséget nem mutattak a natív R1 mESC telepekhez képest. A hordozó mESC sejtcsoportok embriótestekké történő sikeres differenciáltatása során az IL2RG termelés is mindvégig változatlan maradt. Összességében kijelenthető, hogy létrehoztunk egy megbízható, számfeletti kromoszómaként autonóm módon replikálódó, konstitutív humán IL2RG expressziót biztosító alternatív vektort, amellyel remélhetően jelentősen csökkenthetők, akár kiküszöbölhetők az eddig használt vektoroknál vagy genom módosító eljárásoknál fennálló genotoxikus kockázatok.