

SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM, SZENT-GYÖRGYI ALBERT
ORVOSTUDOMÁNYI KAR
BŐRGYÓGYÁSZATI ÉS ALLERGIOLÓGIAI KLINIKA
KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

A nagy neoantigén repertoár méret hátrányosan befolyásolja a HLA-I molekulák specificitását a tumorellenes immunválaszban

Balogh Gergő Mihály
PhD értekezés tézisei

Témavezető:
Dr. Manczinger Máté



Szeged
2023

KÖZLEMÉNYEK

A tézishez kapcsolódó közlemények

Máté Manczinger, Balázs Koncz, Gergő Mihály Balogh, Benjamin Tamás Papp, Leó Asztalos, Lajos Kemény, Balázs Papp & Csaba Pál. Negative trade-off between neoantigen repertoire breadth and the specificity of HLA-I molecules shapes antitumor immunity. *Nature Cancer* (2021). DOI: 10.1038/s43018-021-00226-4. IF: 22.7, SCImago Journal Rank: Q1 / D1

Egyéb közlemények

Balázs Koncz, Gergő M. Balogh, Benjamin T. Papp, Leó Asztalos, Lajos Kemény, Máté Manczinger: Self-mediated positive selection of T cells sets an obstacle to the recognition of nonself. *Proceedings of the National Academy of Sciences* (2021). DOI: 10.1073/pnas.2100542118. IF: 11.205, SCImago Journal Rank: Q1 / D1.

Összesített impakt faktor: 33,905

BEVEZETÉS

Az adaptív sejt immunválasz főbb szereplői

A Humán Leukocita Antigén I (HLA-I) molekulák az adaptív immunrendszer kulcsszereplői. Szerepük a gazdasejtben termelődő fehérjék fragmenseinek megkötése és bemutatása.

A citotoxikus T-sejtek képesek felismerni bizonyos idegen peptideket kötő HLA-I komplexeket. Ezek a sejtek T-sejt-receptornak (TCR) nevezett egyedi fehérje-struktúrákat fejeznek ki, amelyek meghatározzák a klónok specificitását bizonyos peptid-HLA (pHLA) komplexekhez. A célsejt felszínén található pHLA komplex és a T-sejt receptor közötti kölcsönhatás képezi az immunológiai szinapszist. Ennek létrejötte aktiválja a citotoxikus T-sejtet, amely a célzott gazdasejt megsemmisüléséhez vezet. A TCR-pHLA kötődés nagymértékű specificitása csökkenti a véletlenszerű immun-aktiváció valószínűségét.

A HLA-I genotípus meghatározza, mire reagál az adaptív immunrendszer sejtcsapata

A HLA-I fehérjéket három gén (A, B és C) kódolja, amelyek a 6. kromoszóma p21-es régiójában helyezkednek el. A HLA régió genomunk legváltozatosabb része: Mindegyik HLA-I variáns jellegzetes peptid-kötési motívumokkal rendelkezik.

A HLA-I allélok sokféleségének köszönhetően a humán populáció jelentős része heterozigóta mindhárom génre nézve, így a legtöbb

ember általában 6 különböző allélt hordoz. A HLA-I heterozigócia jelentős szerepet játszik számos vírusfertőzés leküzdésében, mivel növeli a kórokozóból származó, bemutatható epitópok számát. Hasonló tendenciákról számoltak be a daganatok adaptív immunfelismerésével kapcsolatban is.

Az adaptív sejtes immunitás a tumorsejtek megváltozott saját struktúráit célozza

A rák olyan betegségek összefoglaló neve, amelyeket rendellenes sejtnövekedés jellemez. Ezek a megváltozott sejtek képesek áttéteket létrehozni. A daganatok fontos jellemzője, hogy milyen immunsejt-típusok találhatóak meg az adott tumorban. A citotoxikus T-sejtek képesek azonosítani a rosszindulatú sejtek HLA-I molekulái által prezentált peptideket, majd végezni a rendellenes sejtekkel.

A neoantigének olyan peptidekből állnak, amelyek nem léteznek a normál humán proteomban. Különböző tumortípusokban ezeket többféle genomi változás eredményezheti, például missense pontmutációk, deléciók vagy inszerciók.

Az immun ellenőrzőpont molekulák az adaptív immunválasz szabályozói és terápiás célpontjai

Az immunológiai szinapszis kialakulása előfeltétele a celluláris adaptív immunválasznak. A folyamat irányáról a végső döntés viszont további receptoroktól, pozitív és negatív jelek egyensúlyától függ. A gátló immun ellenőrzőpont (immune checkpoint) molekulák befolyásolják a tumor immun-mikrokörnyezetét, illetve hatással

lehetnek a betegség lefolyására is. Ezek egyike a CTLA-4, amelyet a T-sejtek röviddel aktivációjuk után expresszálnak. Ez a molekula kölcsönhat a TCR- és CD28-közvetített jelátviteli utakkal, és leállítja a T-sejtes válaszokat, fenntartva a perifériás tolerancia állapotát.

A PD-1, a CD28 család egy másik tagja, a PD-L1 és PD-L2 ligandokkal lép kapcsolatba. A PD-1 molekulák expressziója aktiválásfüggő, de nem specifikus a T-sejtekre, mivel számos más sejttípuson is kimutatták, pl. B limfocitákon és mieloid sejteken. Paradox módon a PD-1 molekulák stabil pHLA-TCR komplexet képezve fogják vissza az immunválaszt. Ez a stabilitás megakadályozza további TCR-pHLA interakciók létrejöttét és ennek következtében a T-sejt-válasz aktivációját. A folyamat eredménye a T-sejt kimerülése, amelynek célja, hogy megvédje a szervezetet a krónikus immunaktivációból eredő káros hatásoktól.

Az immun ellenőrzőpont molekulák nagy jelentőséggel bírnak a tumorelles terápiaiban. A megemelkedett CTLA-4 expresszió rossz túlélést eredményez több tumortípus esetén: nazofaringeális karcinómában, timomában, nyelvcső karcinómában, illetve nem-kissejtes tüdőrák és emlőrák bizonyos altípusainál. A PD-1 receptor és ligandumának, a PD-L1-nek a tumoron belüli magas kifejeződése szintén rossz túléléshez vezet több ráktípus esetén.

Az elmúlt évtizedben több, a CTLA-4 vagy PD-1/PD-L1 molekulákat célzó monoklonális antitest-alapú terápiás szert engedélyeztek. Ezen

készítményeket immun ellenőrzési pont gátlóknak (immune checkpoint inhibitor, ICI) nevezik. Az ipilimumab, a CTLA-4-et gátló humán IgG1 antitest volt az első ilyen gyógyszer, amelyet 2011-ben engedélyeztek áttétes melanóma kezelésére. Ez a készítmény jelentősen javította a magas halálozási rizikójú betegek túlélési arányát. 2014-ben engedélyezték az első PD-1-et célzó antitest, a nivolumab alkalmazását melanóma, nem-kissejtes tüdőrák, valamint egy sor további daganattípus kezelésére.

Az ICI terápiák hatékonyságát befolyásoló tényezők

Azon betegek száma továbbra is magas, akiknél az immun checkpoint gátló terápia nem eredményez jelentős javulást. A hatékonyságot meghatározó tényezők azonosítása érdekében széleskörű vizsgálatok indultak, amelyek egy része a beteg alap jellemzőit foglalja magába, (életkor, nem, klinikai kórtörténet). Egyes molekuláris markerek, például a PD-L1 tumor- vagy immunsejtek általi expressziója előre jelezhetik a terápia kimenetelét bizonyos ráktípusok esetében. A közelmúltban jelentős figyelmet kapott a bél mikrobiom hatása is az immune checkpoint inhibitor terápia hatékonyságára.

Az ICI terápiák bevezetése óta kulcsfontosságú kutatási területté vált a genomi háttér hatásainak vizsgálata. A faktorok jelentős része a celluláris adaptív immunbemutató folyamatához kapcsolódik.

A tumor-mutációs számot (tumor mutation burden; TMB) az immunogenitás és az ICI kimenetelét meghatározó egyik fő

prognosztikai tényezőnek tekintik. Logikus feltételezés, hogy minél nagyobb a megváltozott saját fehérjék száma, annál nagyobb valószínűséggel hoznak létre neopeptidek HLA-I komplexeket. A TMB egyike azon tényezőnek, amelyet az Egyesült Államok Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hivatala (FDA) elismert hivatalos, a tumor-immunterápia kimenetelét előrejelző biomarkerként.

A HLA allélok és genotípusok több tulajdonságát is összefüggésbe hozták a betegség kimenetelével. Chowell és munkatársai azt feltételezték, ha egy páciens diverz allél-készletet hordoz, az több különböző neopeptid bemutatását teszi lehetővé. Szignifikáns kapcsolatról számoltak be a HLA-homozigotizáció, bizonyos HLA-I szupertípusok és a HLA-I evolúciós divergenciája (HED), illetve az immunterápiában részesülő betegek túlélése között. A későbbi vizsgálatok azonban kimutatták, hogy ezen faktorok túlélésre gyakorolt hatása nem robosztus. Emellett kiemelendők a genomi átrendeződések, amelyek HLA-I kópiaszám-vesztéshez vezethetnek. E tényező káros hatásait tüdőrák esetén mutatták ki.

A kötési promizskuitás a HLA allélok egy inherens tulajdonsága

A kötőseb aminosav szekvenciája alapján különböző HLA-I fehérjék különböző peptid motívumokra specifikusak. Egy adott HLA-molekulához hatékonyan kötődő aminosav-szekvenciák sokfélesége alapján megkülönböztethetünk generalista és specialista HLA-I

allélokat. A HLA-variáns által bemutatott peptidok sokféleségét leíró mérőszámot kötési promiszkuitásnak nevezzük.

A generalista és a specialista HLA allélok kritikus szerepet játszhatnak abban, hogy az emberi szervezet milyen mértékben képes felvenni a harcot különböző betegségekkel szemben. Csoportunk korábban megmutatta, hogy az eltérő földrajzi régiókban gyakori HLA-II allélok promiszkuitása korrelál az adott területen elterjedt patogén mikrobiális fajok számával, jelezve ezzel a generalista HLA allélok lehetséges protektív hatását a fertőző betegségek ellen. Ezenkívül jelentős tendenciákat találtunk egy bizonyos földrajzi térség intracelluláris patogén-diverzitása és a helyi emberi populációk HLA-A promiszkuitása között. Ezzel szemben korábbi tanulmányok a generalista allélok lehetséges káros hatásait feltételezték. A hipotézis alapján nagyobb számú saját peptid bemutatása gyakrabban válthat ki autoimmun válaszokat.

CÉLKITŰZÉSEK

Munkánk során azt feltételeztük, hogy a nagy promiszkuitású HLA-I variánsok nem csak fertőzés esetén képesek az intracelluláris kórokozók változatosabb peptidjeinek bemutatására, hanem daganatokban nagyobb számú neoepitid megkötésére is alkalmasak. Először egy robosztus, allél szintű HLA-I promiszkuitást jellemző mérőszám kidolgozását tűztük ki célul, majd ezek segítségével jellemeztük a páciens HLA-I készlete által bemutatott peptidek sokféleségét. Az adaptív immunfelismerés nagyobb valószínűségét várjuk több bemutatott neoepitid esetén, mely a tumorellenes immunválasz nagyobb hatékonyságához vezethet. Hipotézisünk szerint a magasabb HLA-I genotípus promiszkuitás (genotípus Pr) lényegesen jobb túlélést eredményezhet ICI terápiában.

EREDMÉNYEK

Egy kísérletesen igazolt HLA-I promiszkuitás definíció kidolgozása

Egy korábbi tanulmányban csoportunk az alapján határozta meg a különféle HLA allélok promiszkuitását, hogy azok egy kórokozókból származó peptidkészlet mekkora hányadát képesek kötni számítógépes predikciók alapján.. A neopeptidek gyakori HLA-I variánsokhoz való kötődésének előrejelzésére a NetMHCpan 4.0 algoritmust használtuk (predikció-alapú promiszkuitás). Két neopeptid-készletet használtunk a vizsgálatok során: egyikben egy ICI-terápiával kezelt kohorsz („4650 peptid”-készlet) mutációiból készült adatokat vettük alapul, a másikban pedig a COSMIC adatbázis mutációit alkalmaztuk. Az algoritmus az IC50 kötési affinitással és a kötési ranggal jellemzi a peptidek HLA-I allélhoz való kötődését. Mindkét mérőszám esetében a szoftver fejlesztői által javasolt küszöbértékeket vettük figyelembe a gyenge és erős kötés definiálására.

Azonos beállítások mellett a két peptid-készleten alapuló promiszkuitás-értékek erősen korrelálnak egymással. Meglepő módon azonban az affinitás és a kötési rang alapján számolt promiszkuitás értékek között csak gyenge korreláció volt megfigyelhető. Ezek az eredmények arra engednek következtetni, hogy a kötési affinitás és a kötési rang nem felcserélhető mérőszámok a HLA-I allélok peptidkötő

képességének jellemzéséhez. A kötési rang definíciójából adódóan egységesíti a kötött peptid-repertoár méretét, így nem képes megbízhatóan jellemezni a bemutatható peptidek mennyiségének különbségeit. Ez azt jelenti, hogy a kötési affinitáson alapuló mérőszám pontosabb és megbízhatóbb mértéke a promiszkuitásnak a kötési ranghoz képest. Ez még akkor is kijelenthető, ha Paul és munkatársai tanulmánya alapján az affinitás-határértékek különböző allélok esetén eltérőek.

A probléma megoldása érdekében egy olyan mérőszám létrehozását tűztük ki célul, amely tisztán kísérleti adatokon alapul (Kullback-Leibler divergencia-alapú promiszkuitás). Ezen promiszkuitás definíció kialakítása érdekében 250 000 *in vitro* peptid-HLA kötési esszé eredményeit összegeztük az IEDB adatbázisból, amelyek 67 HLA-I allél peptid specificitásáról adtak információt. Kullback-Leibler divergencia alkalmazásával meghatároztuk a különféle HLA allélok által megkötött peptidek sokféleségét, ezáltal kiszámolva a HLA variánsok promiszkuitását. A magas promiszkuitású allélok esetén a megkötött fehérje fragmensek diverzitása nagyobb, amelyből arra következtethetünk, hogy ezen HLA-I molekulák potenciálisan nagyobb számú különböző peptid megkötésére alkalmasak. Eredményeinket HLA-I monoallélikus (csak egyféle HLA-I molekulát kifejező) sejtvonalak segítségével validáltuk. Erős pozitív kapcsolatot

találtunk a HLA-I promiszkuitás és a sejtfelszínen azonosított peptid-diverzitás között.

Annak érdekében, hogy kiválasszuk a legpontosabb HLA-I promiszkuitás definíciót, *in vitro* megmértük 29, tumorokból származó neopeptid kötési erősségét 11 HLA-I allélhoz ProImmune REVEAL HLA-peptid kötési esszék segítségével. A legerősebb pozitív korrelációt ezen kísérletes eredmények közül a Kullback-Leibler divergencia-alapú promiszkuitás definíció adta. Ennek megfelelően a következő analízisekben is ezen mérőszámmal jellemeztük a HLA-I allélok promiszkuitását.

A magas HLA-I promiszkuitás rossz túléléshez vezet immunterápiás betegcsoportokban

Az átlagos genotípus-szintű HLA-I promiszkuitás (genotípus Pr) tumor immunterápiára gyakorolt hatásainak vizsgálatához nyilvánosan elérhető adatokat gyűjtöttünk össze ICI-kezelt betegekről (n = 316).

Várakozásainkkal ellentétben a magas genotípus Pr (amit egy egységes határérték alapján határoztuk meg) rosszabb túléléshez vezetett. A RECIST kritériumok alapján azon betegek, akiknél megfigyelhető pozitív terápiás hatás, szignifikánsan magasabb genotípus-szintű HLA-I promiszkuitással rendelkeztek. Egyváltozós Cox modellek segítségével megmutattuk, hogy a HLA-B genotípus alapján számolt promiszkuitás a túlélés egy szignifikáns prediktív

faktora; viszont ez a negatív kapcsolat még jelentősebbé vált a HLA-A és -C promiszkuitás figyelembevételével.

Mivel a genotípus Pr a páciens hat HLA-I allél promiszkuitásának számtani átlaga, így fontos volt megvizsgálnunk, vajon a megfigyelt tendenciákat nem csak bizonyos extrém értékekkel rendelkező allélok okozzák-e. A fő immunterápiás kohorszunk adatain túlélési analízisek sorozatait végeztük, minden iterációban kizárva egy-egy meghatározott allélt hordozó egyéneket. Eredményeink alapján a HLA-I promiszkuitás és a betegek túlélése közötti kapcsolat szignifikáns maradt, amely azt jelzi, hogy a tendenciákat nem egy-egy allél okozza. Fontos megemlíteni, hogy azon egyének, akik több nagy promiszkuitású allélt hordoztak, rövidebb teljes túlélési időt mutattak, mint a 0 vagy 1 promiszkuis HLA-I variánst hordozó betegek.

A B44 HLA-szupercsalád pozitív prognosztikus hatását korábbi közlemények már bemutatták. Vizsgálatunk alapján a B44 allélok promiszkuitása szignifikánsan alacsonyabb a többi alléléhoz képest.

A tumor-mutációs számot (TMB), a HLA-I heterozigotizációt és a HLA-I evolúciós divergenciát (HED) már korábban összefüggésbe hozták a tumor immunterápia hatékonyságával. Megvizsgáltuk, vajon a HLA-I genotípus promiszkuitás egy ezen tényezőktől független prediktív faktor-e. Nem találtunk szignifikáns különbséget a homozigóta és heterozigóta egyének genotípus Pr értékei között; hasonlóképp nem korrelált a genotípus szintű promiszkuitás a tumorminták átlagos HED

értékeivel és mutációs számával. Ezután létrehoztunk egy többváltozós Cox regressziós modellt is, amely három ismert változót és a genotípus Pr-t is tartalmazta. A túlélést legerősebben befolyásoló tényező a TMB és a genotípus Pr volt. A modell alapján a HED, a HLA-I heterozigotitás, a B44 és B62 allélok jelenléte nem volt szignifikáns hatással a terápia kimenetelére.

A magas HLA-I promiszkuitás rossz túléléshez vezet immunterápiával nem kezelt betegcsoportokban is

A HLA-I-mediált immunbemutató általánosságban véve is fontos szerepet játszik a tumorelles immunválaszban. Megvizsgáltuk, vajon hasonló tendenciákat figyelhetünk-e meg azon betegek esetén, akik nem kapnak immun checkpoint gátló terápiát. A *The Cancer Genome Atlas* (TCGA) adatbázis egy olyan átfogó adatsor, amely húszezer tumormintáról (33 tumortípusból) és hozzá kapcsolódó normál szövetmintákról tárol információt. Jelen analízisben ezek közül a melanómával és a nem-kissejtes tüdőrákból (NSCLC) származó adatokkal dolgoztunk.

A melanóma mintákat tartalmazó adatsort alacsony és magas mutációs számú csoportokra bontottuk. Ezen tumortípus esetén a progressziómentes túlélés 38%-os csökkenést figyeltük meg a nagy mutációs számú és promiszkuitású csoportban a kis promiszkuitású csoporthoz képest. Kis mutációs számú melanóma minták, illetve NSCLC esetén nem találtunk szignifikáns összefüggést a genotípus Pr és a túlélés között.

A kötési multispecificitás nem csökkenti a HLA-peptid komplexek stabilitását

A továbbiakban a magas HLA-I promiszkuitással járó rossz túlélés okait kerestük. A peptid-HLA komplexek stabilitása alapvető fontosságú a hatékony antigén bemutatásban. Az enzimológiában általánosan elfogadott elv szerint minél nagyobb egy enzim szubsztrátkötő helyének promiszkuitása, annál gyengébb a komplex stabilitása. Megvizsgáltuk, vajon ez-e a jellemző tendencia a HLA-I molekulák és a neopeptidek komplexeinek kialakulásakor is.

In vitro ProImmune Complete Rate esszék segítségével megmértük 66 neopeptid-HLA-I molekula komplex összeszerelődési és disszociációs rátáját. Érdekes módon a magas promiszkuitású HLA allélok esetében szignifikánsan rövidebb időre volt szükség a komplex létrejöttéhez és azok élettartama szignifikánsan hosszabb volt. A NetMHCstabpan algoritmust alkalmazva 1929 neopeptid 67 HLA-I allállal való feltételezett komplexének stabilitását jósoltuk meg. Az *in silico* predikciók az *in vitro* eredményeinkhez hasonló módon a magas promiszkuitású allélok komplexeinek nagyobb stabilitását mutatták. Összességében más fehérjékhez képest a HLA-I multispecificitása és a komplex stabilitása között pozitív korreláció áll fenn.

A magas HLA promiszkuitás megátolja a saját és módosult saját peptidek megkülönböztetését

Az olyan saját peptidekkel szemben, amelyek bemutatásra kerülnek a HLA-I molekulákon, immun-tolerancia alakulhat ki. A neopeptidek

immunogenitását gyakran az okozza, hogy az eredeti változatukat nem kötik a beteg HLA-I molekulái, míg a mutáns változat bemutatásra. Korábbi munkák megmutatták, hogy azon betegek esetén jobb az ICI terápia hatékonysága, akikben több olyan neopeptid azonosítható, amelyek létrejötte a HLA-I molekulákhoz való kötés erősödésével jár. A kötési különbözőségi index (Differential Agretopicity Index; DAI) egy olyan mérőszám, amely egy peptid prediktált kötésváltozását mutatja meg egy aminosav-változásnak köszönhetően (magasabb DAI értékek megnövekedett HLA-kötést jeleznek). 589 kísérletesen igazolt neopeptid (illetve az eredeti peptid párjaik) alapján medián DAI értékeket számoltunk 67 HLA-I allélra. Erős negatív korrelációt találtunk a HLA-A és -B allélok medián DAI értékei és az allél promiszkuitások között. A jelenség nem volt megfigyelhető HLA-C allélok esetében. Hasonló tendenciákat találtunk 139 CTLA-4-gátlóval kezelt melanóma minta neopeptidjei és a HLA-I genotípusaik között. Amagassabb medián DAI értékekkel rendelkező betegek hosszabb teljes túlélési időt mutattak a kohorszban.

Mindezek alapján a magas promiszkuitású HLA-I allélokkal rendelkező egyének adaptív immunrendszere számára nehézséget okozhat az eredeti saját és mutált saját peptidek megkülönböztetése.

A magas genotípus Pr immun-tolerancia kialakulásához vezethet

Több különböző útvonal eredményezheti a CD8+ T-sejtek perifériás gátlásához. Mivel a nagy promiszkuitású HLA-I allélok kevésbé

képesek az eredeti és mutált saját peptidek megkülönböztetésére, a T-sejtek szabályozása az immun-tolerancia irányába mozdulhat el a desktruktív immunválasz helyett. A tumorokban előforduló perifériás T-sejt tolerancia molekuláris és sejtes jellemzőinek azonosítása érdekében egy CTLA-4 gátlóval (ipilimumab) kezelt melanómás betegek adataiból álló adatsort használtunk (n = 30).

A génhalmaz feldúsulási elemzés eredményei alapján az alábbi csoportokhoz tartozó gének kifejeződése jelentősen magasabb volt a nagy HLA-I promiszkuitású csoportban: T-sejt indukció pozitív regulációja, 2-es típusú immunválasz, extracelluláris mátrix szekréció, makrofág indukció, a T helper-1 sejt-mediált immunválasz negatív regulációja, CD4+ alfa-béta T-sejt differenciáció. Ezen géncsoportokat korábban az immunszuppresszív tumor-mikrokörnyezettel hozták összefüggésbe.

Az immun dekonvolúció során egy tumor biopszia transzkriptom adataiból következtetünk a benne megtalálható különféle immunsejtek mennyiségére. A magas genotípus Pr mintákban a regulátoros T-sejtek (T_{reg}), makrofágok, monociták, tumor-asszociált fibroblasztok és endotélsejtek felhalmozódását figyeltük meg, melyek mind az immunszuppresszív környezetre jellemzőek.

Az immun toleranciában szerepet játszó két fő gén, a TGFB1 és a FOXP3 is magasabb kifejeződést mutatott a nagy HLA-I promiszkuitású betegek tumorjai esetében. Hasonló tendenciák voltak

megfigyelhetőek a PDCD-1 (PD-1), HAVCR2 (TIM3), TIGIT és CTLA-4 immun ellenőrzőpont molekulák expressziójában is.

A tumorok mikrokoznyezetében a T-sejtek gyakran válnak diszfunkcionálissá; ezen állapotban a sejtek csökkent osztódási képességgel és gyengébb effektor funkciókkal rendelkeznek. Megvizsgáltuk az irreverzibilis T-sejt-diszfunkció legfontosabb jeleit a tumormintákban. Magas genotípus Pr értékekkel rendelkező tumorok esetén a TOX, TOX2, T-bet és BLIMP1 gének expressziója szignifikánsan magasabb volt. A TIDE (Tumor Immune Dysfunction and Exclusion) módszer rendszerszintű elemzése alapján is nagyobb mértékű T sejt diszfunkciót tapasztaltunk nagy genotípus Pr tumorok esetén. A T sejt kizárasi pontszámok esetén hasonló tendencia nem volt megfigyelhető. Ezen eredmények azt mutatják, hogy a magas HLA-I promiszkuitás nem akadályozza meg a T-sejtek beszűródését a daganatba, viszont meghatározza azok aktivitását és funkcionalitását a tumor-mikrokoznyezetben.

ÖSSZEFOGLALÁS

Egy olyan mérőszámot dolgoztunk ki, amely egy HLA-I molekula által megkötött peptidek sokféleségét írja le. Egy korábbi HLA promiszkuitás definíciónkhoz képest e mérőszám kizárólag *in vitro* adatokon alapul, nem támaszkodva kötési predikciók eredményeire. Kísérletes módon megmutattuk, hogy a promiszkuitás ezen új meghatározása pontosabb a korábbi mérőszámoknál.

Hipotézisünkkel ellentétben azon tumoros betegek esetén figyeltünk meg rosszabb túlélést, akik átlagos HLA promiszkuitása magasabb volt. A hatás más, korábban leírt genomi jellemzők figyelembevételével együtt is szignifikáns maradt.

A következőkben azt vizsgáltuk meg, vajon a magas HLA-I allél promiszkuitás alacsonyabb komplex stabilitással jár-e (korábbi enzimológiai eredmények alapján). Várakozásunkkal ellentétben magas promiszkuitású HLA allélok stabilabb komplexeket képeznek. Az aminosavcserével járó pontmutációk HLA-kötésre gyakorolt hatásai alacsonyabbak magas promiszkuitású allélok esetén. Tumor mintákból származó transzkriptom adatok elemzésével megmutattuk, hogy az eredeti és mutált peptidek közötti alacsony különbségtételi képesség potenciálisan tolerogén immunválaszhoz vezet. Ezen eredményeinket génhalmaz feldúsulási elemzés, immun dekonvolúciós módszerek és T-sejt-diszfunkciós markerek vizsgálatával erősítettük meg.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Manczinger Máténak, akinek folyamatos támogatása segített elsajátítani a számítógépes biológia legfontosabb módszereit, az R programozás és adatelemzés alapjait. Hálás vagyok, hogy vezetése alatt lehetőségem nyílt a több izgalmas projektekben részt venni, a daganatok molekuláris mimikrijétől kezdve a SARS-CoV-2 mutációk váratlan szerepéig.

Nagyon hálás vagyok Kemény Lajos Professzor Úrnak, hogy lehetőséget adott arra, hogy a Bőrgyógyászati- és Allergológiai Klinikáján megkezdjem akadémiai pályafutásomat. Intézete a kezdeti években munkacsoportunk otthonául szolgált, helyet és számítási infrastruktúrát biztosított a kutatásunkhoz.

Köszönetemet fejezem ki munkatársaimnak is, név szerint Dr. Koncz Baláznak, dr. Papp Benjamin Tamásnak és dr. Asztalos Leónak közreműködésükért és segítségükért. Hálás vagyok a kreatív megbeszéléseinkért; számos olyan új ötlet született, melyek további alapanyagot szolgálhatnak a következő évek munkájához.

Ezúton is szeretném megköszönni Dr. Pál Csabának és Dr. Papp Baláznak a kutatási folyamat során nyújtott javaslataikat és útmutatásaikat. Szakértelmük nagyban gazdagította munkánkat és segített elkerülni számos buktatót a kutatásaink tervezése, illetve a közlemények elkészítése során.

Hálás vagyok szüleimnek és nagymamámnak, hogy támogatták gyermekkori vágyam a felfedezésre, valamint motiváltak a tökéletességre való törekvésben. Végezetül őszinte köszönetemet fejezem ki szeretett feleségemnek, Szilvinek, hogy segített nekem ezekben az években, és akiben olyan társra találtam, akivel közösen olyan ötletekben hihetünk, amelyek mások számára értelmetlenek tűnhetnek. Hálás vagyok az adaptív immunfelismerésről szóló tudományos eszmecsereinkért is, legyenek azok akár a málnabokrok mélyén, bogyószedés közben vagy erdei kirándulások alatt. Továbbá hálás vagyok azért a határtalan örömért és erőért, amit lányunk, Luca hoz az életünkbe.

SDG