

# Apport du séquençage à haut débit dans la leucémie à tricholeucocytes

Margaux Wiber  
Elsa Maitre  
Xavier Troussard, Laboratoire  
d'hématologie, Caen, France

Tirés à part : X. Troussard  
troussard-x@chu-caen.fr

Liens d'intérêt : Les auteurs déclarent n'avoir  
aucun lien d'intérêt en rapport avec cet  
article.

## Next generation sequencing in patients with hairy cell leukemia (HCL)

Leucémie à tricholeucocytes, forme variante de la leucémie à tricholeucocytes, mutations  
*Hairy cell leukemia, hairy cell leukemia variant, mutations*

### Résumé

La leucémie à tricholeucocytes (HCL) est une hémopathie lymphoïde B mature rare, à cellules chevelues, caractérisée par la présence de la mutation  $BRAF^{V600E}$ . Dans la forme variante (HCL-v), la mutation  $BRAF^{V600E}$  est absente mais des mutations du gène  $MAP2K1$  sont observées dans un tiers des cas. Ces mutations entraînent une activation constitutive de la voie des MAP-kinases. Le développement des techniques de séquençage à haut débit permet de mieux définir le paysage mutationnel de la HCL et de la HCL-v. Dans la HCL, des mutations récurrentes de  $CDKN1B$  (13 %) et de  $KLF2$  (9,5 %) sont souvent identifiées et associées à  $BRAF^{V600E}$ .  $CDKN1B$  code la protéine p27 impliquée dans la régulation du cycle cellulaire et  $KLF2$  un régulateur négatif de la voie NF- $\kappa$ B. Dans la HCL-v, les mutations les plus fréquemment identifiées sont les mutations de  $MAP2K1$  (42 %), de  $TP53$  (26,5 %), de  $U2AF1$  (16 %) et de  $KDM6A$  (16 %).  $U2AF1$  code un composant du spliceosome et  $KDM6A$ , une lysine déméthylase. Dans la HCL et la HCL-v, de nombreuses mutations impliquent les gènes impliqués dans la régulation épigénétique, notamment  $KMT2C$  ( $MLL3$ ),  $KDM6A$  ( $UTX$ ),  $ARID1A$ ,  $ARID1B$ ,  $CREBBP$  et  $EZH2$ . L'identification du profil de mutations dans les proliférations à cellules chevelues pourrait permettre d'envisager, notamment dans les formes réfractaires de HCL ou de HCL-v, un traitement personnalisé.

### Abstract

Hairy cell leukemia (HCL) is a rare mature B-cell chronic lymphoproliferative disorder, characterized by the identification of the  $BRAF^{V600E}$  mutation. In the variant form (HCL-v), the  $BRAF^{V600E}$  mutation is absent, but mutations of the  $MAP2K1$  gene are observed in a third of the cases. These mutations lead to a constitutive activation of the MAP-kinase pathway. The development of high-throughput sequencing techniques makes it possible to better define the mutational landscape of HCL and HCL-v. In HCL, recurrent mutations of  $CDKN1B$  (13%) and  $KLF2$  (9.5%) are often identified and associated with  $BRAF^{V600E}$ .  $CDKN1B$  codes for the p27 protein involved in cell cycle regulation and  $KLF2$  for a negative regulator of the NF- $\kappa$ B pathway. In HCL-v, the mutations most frequently identified are  $MAP2K1$  (42%),  $TP53$  (26.5%),  $U2AF1$  (16%) and  $KDM6A$  (16%) mutations.  $U2AF1$  encodes a spliceosome component and  $KDM6A$ , for a lysine demethylase. In HCL and HCL-v, many mutations involve genes involved in epigenetic regulation, including  $KMT2C$  ( $MLL3$ ),  $KDM6A$  ( $UTX$ ),  $ARID1A$ ,  $ARID1B$ ,  $CREBBP$ , and  $EZH2$ . The identification of the mutations profile in the hairy cells proliferative disorders makes it possible to adapt a personalized treatment, particularly in the refractory forms of HCL or HCL-v.

La leucémie à tricholeucocytes (HCL) est une hémopathie lymphoïde B mature rare à cellules chevelues ; elle représente environ 2 % de l'ensemble des leucémies et atteint préférentiellement les hommes à partir de 50 ans. Il en existe une forme variante (HCL-v), qui constitue – contrairement à la HCL – une entité provisoire dans la

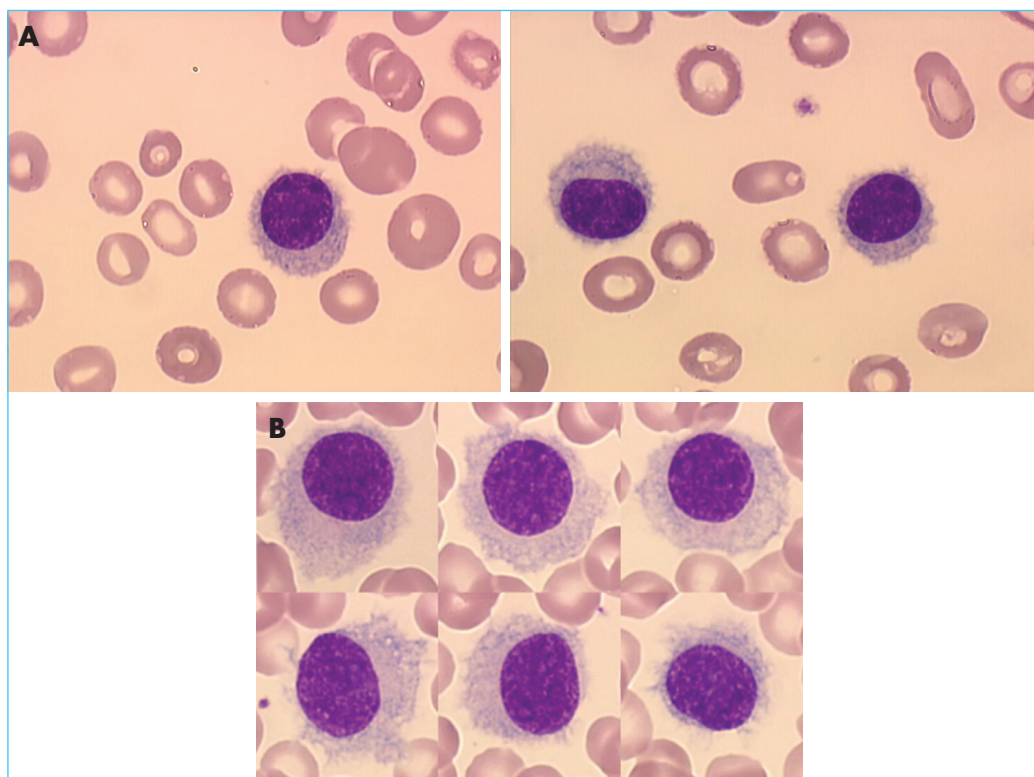
Pour citer cet article : Wiber M, Maitre E, Troussard X. Apport du séquençage à haut débit dans la leucémie à tricholeucocytes. *Hématologie* 2019 ; 25(4) : 178-190. doi : 10.1684/hma.2019.1475

classification de l'Organisation mondiale de la santé 2016 [1] et représente environ 10 % des cas de HCL. La distinction entre les deux formes de la maladie reste nécessaire, compte tenu d'un pronostic et de traitements différents. Le diagnostic de la HCL repose sur l'identification dans le sang et/ou dans la moelle de cellules lymphoïdes anormales chevelues (*figure 1A*). L'examen par cytométrie en flux (CMF) des cellules lymphoïdes du sang et/ou de la moelle montre la présence de lymphocytes B matures monotypiques exprimant au moins trois des quatre marqueurs suivants : CD103, CD123, CD25 et CD11c [2]. La recherche de la mutation  $BRAF^{V600E}$ , identifiée en 2011 dans l'exon 15 du gène  $BRAF$  [3], est nécessaire : il existe de façon indiscutable des formes rares de HCL  $BRAF^{V600E}$  négatives, de mauvais pronostic et n'autorisant pas le recours à un traitement par les inhibiteurs de BRAF. La HCL-v se distingue de la HCL par la présence d'un nucléole net (*figure 1B*), l'absence habituelle d'expression des marqueurs CD123 et CD25 et l'absence de mutation  $BRAF$ . Le traitement de première ligne de la HCL repose sur les analogues des purines (PNA), le traitement de seconde ligne sur une association de PNA et de rituximab. En cas de rechute ultérieure, les traitements sont moins bien codifiés [4] ; les inhibiteurs de BRAF, le moxétumomab pasudotox, un anticorps monoclonal anti-CD22 couplé à une toxine de *Pseudomonas* [4], ou encore les inhibiteurs de BTK peuvent être des options thérapeutiques.

### Génétique de la leucémie à tricholeucocytes

Lors de sa description initiale, la mutation  $BRAF^{V600E}$  a été identifiée chez tous les patients ayant une HCL, et pas chez ceux atteints de l'un, quelconque, des autres

FIGURE 1



Aspects morphologiques des proliférations à cellules chevelues. **A)** Leucémie à tricholeucocytes. **B)** Forme variante de leucémie à tricholeucocytes.

syndromes lymphoprolifératifs B chroniques. La mutation *BRAF*<sup>V600E</sup> n'est cependant pas spécifique de la HCL ; elle est aussi identifiée dans plus de 50 % des cas de mélanomes et de maladie de Chester-Erdheim, dans les tumeurs solides colorectales ou pulmonaires, quoique avec une moindre fréquence, ainsi que dans d'autres hémopathies malignes : leucémie lymphoïde chronique (LLC) ou myélome multiple (MM) des os. Par ailleurs, la mutation *BRAF*<sup>V600E</sup> n'est pas présente dans un sous-groupe de patients HCL de mauvais pronostic correspondant aux patients présentant le réarrangement *IGHV4-34* [5, 6]. Elle est absente dans la HCL-v, pour laquelle des mutations activatrices de *MAP2K1*, qui code la protéine MEK, sont néanmoins identifiées dans plus d'un tiers des cas [7]. Des mutations alternatives de *BRAF* ont été identifiées dans l'exon 11 [8]. Les mutations de *BRAF* et de *MAP2K1* sont mutuellement exclusives. Le développement des techniques de séquençage à haut débit a permis d'étoffer nos connaissances concernant le profil mutationnel de la HCL et de la HCL-v [3, 7, 9-12] et d'identifier des mutations additionnelles récurrentes associées à *BRAF*<sup>V600E</sup>. Ces mutations pourraient jouer un rôle dans l'initiation et/ou la progression de la maladie. L'ensemble des variants génétiques d'intérêt, ainsi que leur fréquence, rapportées dans les différentes études de séquençage à haut débit publiées, sont présentés dans le *tableau 1*.

### Voie des MAP-kinases

*BRAF* code une sérine-thréonine kinase (*B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase*) intervenant dans la voie des MAP (pour *mitogen-activated protein*) kinases (MAPK) : elle phosphoryle les protéines MEK (pour *mitogen-activated extracellular signal-regulated protein kinases*), qui à leur tour phosphorylent les protéines ERK (*extracellular signal-regulated kinases*). Ces dernières, localisées dans le noyau, activent des facteurs de transcription induisant des signaux de prolifération, de survie et d'invasion (*figure 2*). La mutation *BRAF*<sup>V600E</sup>, localisée dans le domaine kinase, active *BRAF* de façon constitutive [3]. Les mutations de *MAP2K1*, localisées dans le domaine d'autorégulation négative du gène, activent, elles aussi, *MEK1*. La localisation de la mutation peut augmenter la sensibilité aux inhibiteurs de MEK ou au contraire induire une résistance [7]. La voie des MAPK est aussi impliquée dans la régulation de l'expression de la cycline D1 et de la protéine p27, impliquées dans le contrôle du cycle cellulaire et dérégulées dans la HCL [13-16]. La voie des MAPK intervient dans la morphologie chevelue des tricholeucocytes ; l'utilisation des inhibiteurs de *BRAF*, notamment du vémurafénib, permet la réversion du phénotype villeux et une diminution de l'expression d'*ACTB* ( $\beta$ -actine) et de *LST1*, qui codent des protéines impliquées dans la formation du cytosquelette [17]. L'identification de mutations activatrices dans la voie des MAPK a logiquement permis d'introduire dans le traitement de la HCL les inhibiteurs de *BRAF* (vémurafénib et dabrafénib) associés ou non aux inhibiteurs de MEK (tramétinib et cobimétinib). Un effet antileucémique de ces traitements, *in vitro* et *in vivo*, sur les tricholeucocytes porteurs de la mutation *BRAF*<sup>V600E</sup> a été démontré [17]. Les patients peuvent développer une résistance aux inhibiteurs de *BRAF*, mais les mécanismes de la résistance restent à ce jour mal connus. Dans le mélanome, ils aboutissent à une réactivation de la voie des MAPK ou à une activation anormale de la voie de la phosphatidylinositol-kinase 3 (PI3K)/AKT. L'action des inhibiteurs de *BRAF* peut être contournée par l'émergence d'une mutation activatrice d'un autre effecteur de la voie, comme *NRAS*, *KRAS* [12] ou *MAP2K1*, par amplification du nombre de copies du gène *BRAF* muté ou par épissage alternatif de *BRAF*, générant une protéine insensible aux inhibiteurs spécifiques [18]. Chez un patient résistant *de novo* au vémurafénib, la présence simultanée d'une mutation activatrice d'*IRS1* associée à une délétion de *NF1* et de *NF2* a été identifiée [12]. *IRS1* pourrait activer les voies des MAPK et de PI3K/AKT

Tableau 1

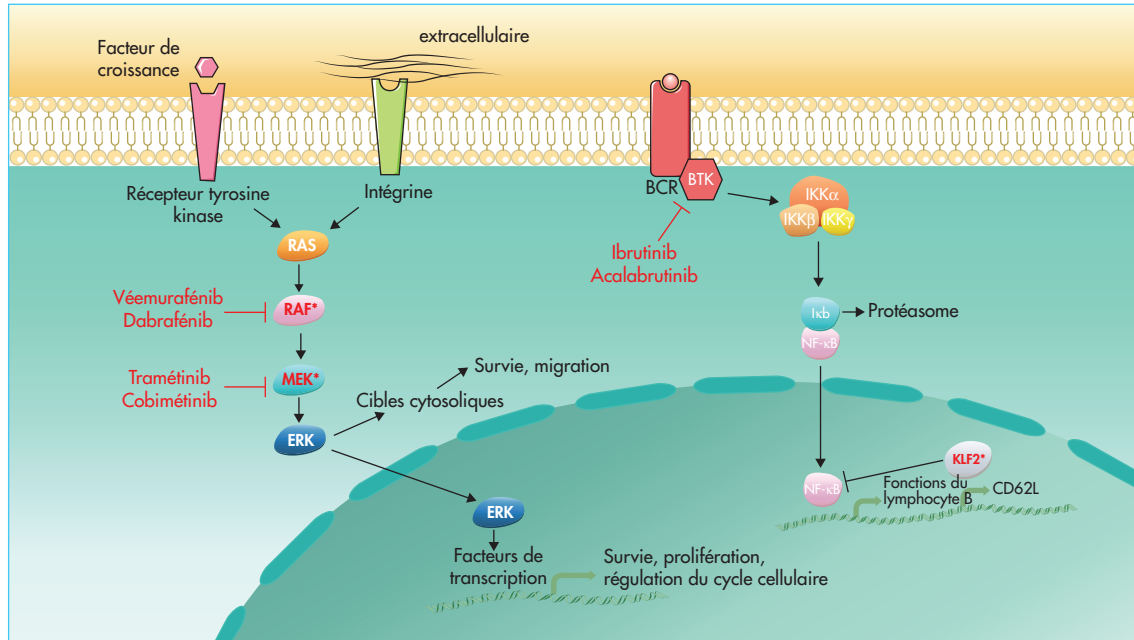
Fréquence des variants génétiques d'intérêt dans la leucémie à tricholeucocytes et sa forme variante dans les études de séquençage à haut débit.

Leucémie à tricholeucocytes		Forme variante de la leucémie à tricholeucocytes					Total	Forme variante de la leucémie à tricholeucocytes		Total
		Dietrich et al. [9] Waterfall et al. [7] Tiacci et al. [3] Weston-Bell et al. [11]	Durham et al. [12]	Maitre et al. [10]	Durham et al. [12]	Maitre et al. [10]		Dietrich et al. [9] Waterfall et al. [7] Tiacci et al. [3] Weston-Bell et al. [11]	Durham et al. [12]	
Étude	Design	Exome complet	Panel de 585 gènes	Panel de 21 gènes	Panel de 21 gènes	Exome complet	Panel de 585 gènes	Panel de 21 gènes	Panel de 21 gènes	
<i>Voie des MAP-kinases</i>										
BRAF		10/12 (83,3 %)	53/53 (100 %)	18/20 (90 %)	81/85 (95,3 %)	0/7 (0 %)	0/8 (0 %)	0/4 (0 %)	0/19 (0 %)	
MAP2K1		2/12 (16,7 %)	0/53 (0 %)	1/20 (5 %)	3/85 (3,5 %)	3/7 (42,9 %)	3/8 (37,5 %)	2/4 (50 %)	8/19 (42,1 %)	
<i>Cycle cellulaire</i>										
CDKN1B		3/12 (25 %)	6/53 (11,3 %)	2/20 (10 %)	11/85 (12,9 %)	0/7 (0 %)	0/8 (0 %)	0/4 (0 %)	0/8 (0 %)	
CCND3		0/12 (0 %)	0/53 (0 %)	NA	0/65 (0 %)	1/7 (14,3 %)	1/8 (12,5 %)	NA	2/15 (13,3 %)	
TP53		0/12 (0 %)	1/53 (1,9 %)	0/20 (0 %)	1/85 (1,2 %)	2/7 (28,6 %)	3/8 (37,5 %)	0/4 (0 %)	5/19 (26,3 %)	
<i>Voie NF-κB</i>										
KLF2		0/12 (0 %)	NA	3/20 (15 %)	3/32 (9,4 %)	0/7 (0 %)	NA	0/4 (0 %)	0/11 (0 %)	
<i>Spliceosome</i>										
U2AF1		0/12 (0 %)	0/53 (0 %)	0/20 (0 %)	0/85 (0 %)	2/7 (28,6 %)	1/8 (12,5 %)	0/4 (0 %)	3/19 (15,8 %)	
<i>Régulateurs épigénétiques</i>										
KMT2C		0/12 (0 %)	8/53 (15,1 %)	NA	8/65 (12,3 %)	0/7 (0 %)	2/8 (25 %)	NA	2/15 (13,3 %)	
EZH2		1/12 (8,3 %)	1/53 (1,9 %)	0/20 (0 %)	2/85 (2,4 %)	0/7 (0 %)	0/8 (0 %)	0/4 (0 %)	0/19 (0 %)	
ARID1A		2/12 (16,7 %)	1/53 (1,9 %)	1/20 (5 %)	4/85 (4,7 %)	1/7 (14,3 %)	0/8 (0 %)	1/4 (25 %)	2/19 (10,5 %)	
ARID1B		2/12 (16,7 %)	1/53 (1,9 %)	1/20 (5 %)	4/85 (4,7 %)	0/7 (0 %)	1/8 (12,5 %)	0/4 (0 %)	1/19 (5,3 %)	
CREBBP		2/12 (16,7 %)	3/53 (5,7 %)	1/20 (5 %)	6/85 (7,1 %)	0/7 (0 %)	1/8 (12,5 %)	1/4 (25 %)	2/19 (10,5 %)	
KDM6A		2/12 (16,7 %)	0/53 (0 %)	0/20 (0 %)	2/85 (2,4 %)	0/7 (0 %)	1/8 (12,5 %)	2/4 (50 %)	3/19 (15,8 %)	





FIGURE 2



Voies de signalisation cellulaire impliquées dans la physiopathologie de la leucémie à tricholeucocytes et/ou sa forme variante : voies des MAP-kinases et du NF- $\kappa$ B. Les protéines indiquées en rouge et suivies d'un astérisque sont fréquemment dérégulées dans la HCL et/ou la HCL-v.

par transmission d'un signal à travers le récepteur du facteur de croissance à l'insuline (IGFR1). *NF1* est un régulateur négatif des protéines RAS. Afin d'améliorer la réponse aux inhibiteurs de BRAF et de contourner les mécanismes de résistance, des stratégies basées sur l'utilisation simultanée d'inhibiteurs de BRAF et de MEK1 (NCT02034110) ou sur l'association du vémurafénib à un anticorps monoclonal recombinant humain anti-CD20 de type II, l'obinutuzumab (NCT03410875), sont actuellement en cours d'étude.

### Cycle cellulaire

Plusieurs gènes (*CDKN1B*, *CCND1*, *CCND3* et *TP53*), codant des protéines impliquées dans la régulation du cycle cellulaire, sont dérégulés dans la HCL. Les mutations inactivatrices de *CDKN1B*, toujours associées à la mutation *BRAF*<sup>V600E</sup>, sont identifiées dans 10 à 15 % des cas de HCL [9, 10, 12]. *CDKN1B* code p27, qui contrôle la progression des cellules dans le cycle en se liant et en inactivant les complexes cycline-CDK (pour *cyclin dependent kinase*). P27 est connu pour être dérégulé dans de nombreux cancers, soit par une réduction de son taux, soit par modification de sa localisation : cette dérégulation est associée à un mauvais pronostic. Les mutations de *CDKN1B* sont identifiées, dans la plupart des cancers, avec une fréquence inférieure à 5 % ; elles le sont dans 15 % des cas de HCL et de tumeurs neuroendocrines de l'intestin [9]. La perte d'expression de *CDKN1B* pourrait être nécessaire au développement tumoral, en permettant aux tricholeucocytes d'échapper à la sénescence pouvant être induite par les mutations de *BRAF* [19]. P27 a, en outre, une activité antagoniste vis-à-vis de la cycline D1 ; elle inhibe l'activité du complexe cycline D1-Cdk4 [20]. La cycline D1 est surexprimée dans la HCL [21, 22] et permet la phosphorylation des protéines du rétinoblastome autorisant ainsi la libération du facteur de transcription E2F et la progression des cellules dans le cycle. La surexpression de D1, par translocation t

(11;14), est connue pour être un événement oncogénique initial dans les lymphomes à cellules du manteau. L'activation anormale des cyclines est responsable d'une dérégulation de l'entrée des cellules tumorales en phase S et, ainsi, d'une instabilité génomique et chromosomique à même de provoquer l'apparition d'événements oncogéniques secondaires favorisant la progression tumorale ou l'échappement thérapeutique. La surexpression de la cycline D1 identifiée dans la HCL ne l'est pas dans la HCL-v, mais une autre mutation activatrice a été identifiée dans cette dernière : celle de *CCND3* [12]. Elle entraînerait une perte du domaine PEST, contrôlant la dégradation protéique, et augmenterait ainsi l'expression de la cycline D3 [23]. Des mutations de *CCND3* ont été identifiées dans le lymphome B diffus de la pulpe rouge de la rate (SDRPL) et le lymphome de Burkitt [23, 24]. Chez ces patients, les inhibiteurs de CDK4/CDK6 pourraient être utilisés [24]. Les mutations de *TP53*, très fréquentes dans les tumeurs solides, ont été initialement rapportées dans 28 % des cas de HCL et une délétion del(17p13) dans 75 % [25, 26]. Cependant, ces données ne sont pas confirmées dans les séries plus récentes [7, 9-12]. Des études plus larges doivent être initiées pour connaître la fréquence exacte de ces anomalies. Les mutations *TP53* sont plus fréquentes dans la HCL-v (*tableau 1*) et observées dans plus de 25 % des cas. La protéine p53 est activée en réponse à diverses agressions, tels que les dommages de l'ADN, le stress oxydatif ou des signaux oncogéniques. Elle induit l'expression de gènes impliqués dans de nombreuses voies cellulaires incluant l'arrêt du cycle, la sénescence, certaines voies du métabolisme et l'apoptose. Comme pour les cyclines, l'inactivation de p53 crée donc un contexte favorable à l'accumulation d'événements oncogéniques additionnels. La recherche de délétion/mutations de *TP53* garde tout son intérêt en cas de maladie réfractaire aux premières lignes de traitement, l'altération de la fonction de p53 étant connue pour conférer une résistance aux traitements par chimiothérapie [27].

### Voie NF- $\kappa$ B

La voie du *nuclear factor- $\kappa$ B* (NF- $\kappa$ B) est indispensable à la maturation et à l'homéostasie des lymphocytes B mais aussi à la mise en place d'une réponse immunitaire efficace. Dans les cellules B matures, cette voie est principalement activée par le récepteur des cellules B, divers membres de la famille du facteur de nécrose tumorale (TNF) et les récepteurs de type Toll. La voie NF- $\kappa$ B joue un rôle central dans l'activation du tricholeucocyte (*figure 2*). En effet, l'étude *in silico* de l'expression génique dans la HCL montre une surexpression des gènes régulés par cette voie [28]. Des mutations de *KLF2*, toujours associées à la mutation *BRAF<sup>V600E</sup>*, sont rapportées dans 10 à 16 % des cas de HCL [10, 29, 30]. *KLF2* est un facteur de transcription impliqué dans la domiciliation et la différenciation ; il permet l'expression du CD62L, une sélectine impliquée dans la localisation ganglionnaire des lymphocytes [31]. *KLF2* est aussi un facteur de régulation négative de la voie NF- $\kappa$ B (*figure 2*) [32]. Les mutations localisées près du domaine en doigt de zinc ou du signal d'export nucléaire ont été aussi décrites aussi dans le lymphome de la zone marginale (MZL) ; elles pourraient affecter l'activité de facteur de transcription de *KLF2*, *via* une relocalisation cytoplasmique de la protéine [30]. Les mutations de *KLF2* dans la HCL pourraient ainsi expliquer la localisation extraganglionnaire préférentielle de la maladie et la dérégulation de la voie NF- $\kappa$ B.

### Spliceosome

Des mutations du gène *U2AF1* ont été identifiées dans 16 % des patients atteints de HCL-v [7, 12]. Absentes dans la HCL, ces mutations sont fréquentes dans les syndromes myélodysplasiques (SMD) et les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) [33]. *U2AF1* est un des composants du spliceosome qui reconnaît le site d'épissage en 3' et s'y lie. Les mutations d'*U2AF1* sont principalement localisées au niveau de



deux acides aminés hotspot (Ser34 et Gln157) dans les domaines en doigt de zinc de la protéine. L'épissage de l'ARN s'en trouve altéré, entraînant la rétention d'introns ou la délétion de tout ou partie d'exons [34]. L'identification de ces mutations dans la HCL-v pourrait avoir un intérêt en sensibilisant les tricholeucocytes aux drogues modulant l'épissage [35].

## Épigénétique

L'épigénétique modifie la fonction des gènes sans altérer la séquence d'ADN. Il existe deux types de modifications épigénétiques : la méthylation des îlots CpG de l'ADN et les modifications post-traductionnelles des histones.

### Méthylation de l'ADN

Le méthylome de 11 patients ayant une HCL a été comparé à celui de cellules B normales et à celui de patients atteints de LLC ou de MZL [36]. Cette analyse a confirmé l'origine post-centre germinatif du tricholeucocyte. La comparaison du profil de méthylation avec le profil transcriptomique réalisé en 2004 [21] a montré, pour la moitié des gènes, une corrélation inverse entre le statut de méthylation et le taux d'expression génique. Ces données suggèrent que la méthylation tient un rôle important. Les modifications épigénétiques favorisent l'activation constitutive de la voie des MAP-kinases ; il a ainsi été mis en évidence une hypométhylation des gènes :

- *IGFR1*, qui active des voies de signalisation en amont de la voie ;
- *CMKLR1*, qui code une protéine induisant la phosphorylation de ERK [37] ;
- *MAP2K1*, qui code la protéine MEK1, un des effecteurs de la voie.

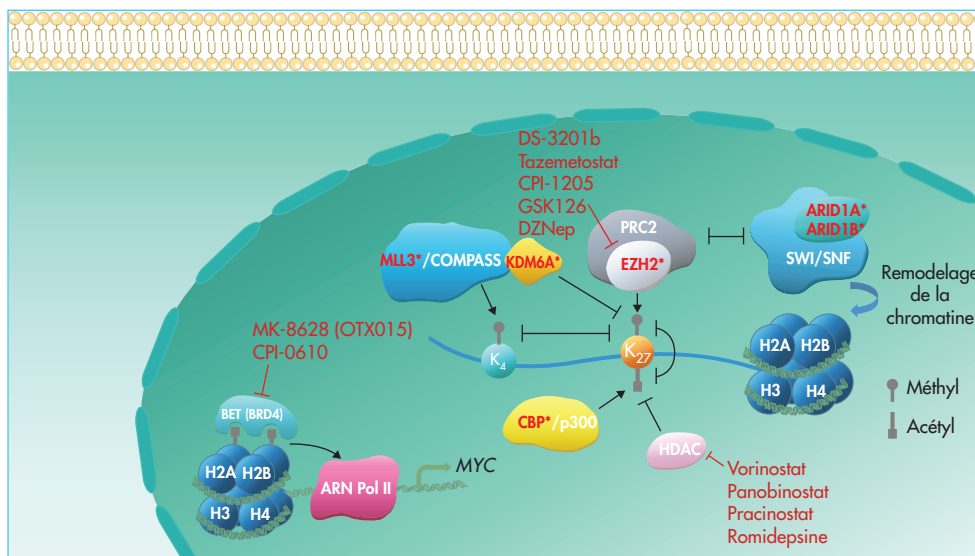
Ces modifications modulent aussi les interactions du tricholeucocyte avec son microenvironnement. Le promoteur du gène *CXCR5*, qui code le récepteur de la chimiokine CXCL13, impliquée dans la localisation ganglionnaire des lymphocytes B, est hyperméthylé, expliquant ainsi l'absence habituelle d'infiltrations ganglionnaires dans la HCL [38]. Une hypométhylation des promoteurs des gènes *FGF2* et *FLT3* est aussi observée. La surexpression de ces gènes pourrait contribuer à la fibrose médullaire présente dans la HCL [39]. *FGF2* est responsable de la production de fibronectine [40] par le tricholeucocyte. Le ligand de *FLT3* intervient dans l'adhésion des cellules B à la fibronectine par l'activation des intégrines VLA-4 et VLA-5 exprimées par les tricholeucocytes [41]. Le méthylome interagit avec le complexe PRC2 (*polycomb repressive complex 2*) afin de maintenir la répression des gènes. Les promoteurs de deux composants de PRC2, *RBBP4* et *SUZ12*, sont hypométhylés et on observe une colocalisation des marques triméthyles des histones et de la méthylation des îlots CpG [42]. Au total, les auteurs ont mis en évidence une signature unique du méthylome, caractérisée par l'hypométhylation des voies BCR-TLR-NF- $\kappa$ B, BRAF-MAPK et de l'adhésion cellulaire et une hyperméthylation des marqueurs de différenciation cellulaire. Ce profil et la signature diffèrent notamment de celui observé dans le MZL.

### Modifications des histones

Les modifications post-traductionnelles des histones régulent le niveau de compaction de la chromatine et l'accessibilité des gènes à la machinerie transcriptionnelle. Ces modifications sont des méthylations, des acétylations, des phosphorylations ou des ubiquitylations. Les études [3, 7, 9-12] ont mis en évidence la récurrence des mutations des gènes *KMT2C* (*MLL3*), *ARID1A*, *ARID1B*, *CREBBP*, *KDM6A* (*UTX*) ou *EZH2* (figure 3).

Les mutations inactivatrices de *KMT2C* (*MLL3*), localisé en 7q36, sont identifiées chez 15 % des patients avec une HCL. Elles ont été aussi observées, à la même fréquence, chez les patients une HCL-v [12]. *KMT2C* intervient au sein du complexe

FIGURE 3



Dérégulation du contrôle épigénétique de l'expression des gènes dans la leucémie à tricholeucocytes et mise en évidence de nouvelles cibles thérapeutiques. Les modifications, méthylations et acétylations, intervenant au niveau des queues des histones, contrôlent la compaction de l'ADN et donc l'activité transcriptionnelle. Les protéines responsables de ces modifications peuvent être ciblées par diverses drogues présentées en rouge sur ce schéma et ciblant soit la protéine EZH2, soit les protéines BET, soit les histones désacétylases (HDAC). Les protéines indiquées en rouge et suivies d'un astérisque sont fréquemment dérégulées dans la HCL et/ou la HCL-v.

macromoléculaire COMPASS (pour COMplexe de Protéines ASSociées à Set1), qui est capable d'ajouter des marques mono-, di- ou triméthyle sur la lysine 4 de l'histone 3 (H3K4) (figure 3). KMT2C est responsable de la monométhylation d'H3K4 au niveau des séquences activatrices de la transcription. La méthylation d'H3K4 colocalise avec l'acétylation d'H3K27, créant un environnement épigénétique favorable à la transcription. Elle s'oppose à la méthylation d'H3K27 par le complexe PRC2 [43]. Des mutations inactivatrices de *KMT2C* sont observées dans de nombreux cancers incluant les lymphomes malins non hodgkiniens (LMNH) B, les lymphomes T cutanés et les LAM. *KMT2C* a été identifié comme un gène suppresseur de tumeur dans les LAM associées à une *del(7q)*. Cette délétion est souvent accompagnée de la suppression de *NF1* et de l'inactivation de *p53*. La présence concomitante de ces trois anomalies dans des cellules souches hématopoïétiques transplantées chez la souris entraîne le développement d'une LAM. Ces LAM sont de mauvais pronostic et résistantes aux chimiothérapies ; elles pourraient être sensibles aux inhibiteurs de BET, qui bloquent la transcription de l'oncogène *MYC*, surexprimé dans ce contexte [44]. En 2009, le rôle coactivateur de *KMT2C* vis-à-vis de *p53* a été mis en évidence. Ainsi, *KMT2C* permet l'expression des cibles de *p53* impliquées dans la réponse aux dommages à l'ADN [45]. La perte d'expression de *KMT2C* entraîne, dans le cancer urothélial, une répression des gènes impliqués dans la réparation de l'ADN par recombinaison homologue (*BRCA1*, *BRAC2*, *RAD50*, *RAD51*, etc.). Les cellules tumorales seraient alors dépendantes du système alternatif de jonctions d'extrémités non homologues pour la réparation des dommages à l'ADN et sensibilisées aux inhibiteurs de PARP [46].

Les mutations inactivatrices d'*EZH2* (7q36) sont plus rares ; elles ont été observées chez deux patients présentant une HCL. *EZH2* (pour *enhancer of zest homolog 2*) est une des deux enzymes du complexe PRC2, qui ajoute trois groupes





méthyle à la lysine 27 de l'histone H3 (H3K27) (*figure 3*). Cela permet le recrutement du complexe PRC1, qui maintient la répression des gènes cibles, soit par compaction de la chromatine, soit par interaction directe avec la machinerie transcriptionnelle au niveau du promoteur du gène cible [47]. Dans les lymphomes B diffus à grandes cellules (DLBCL) et les lymphomes folliculaires (LF), des mutations dans le domaine SET d'EZH2, entraînant une augmentation des taux de triméthylation d'H3K27, sont fréquemment observées [48, 49]. EZH2 favoriserait la prolifération et l'autorenouvellement des lymphocytes B tumoraux. Des mutations inactivatrices d'EZH2 sont également décrites dans les syndromes myélodysplasiques [50] et les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) T. Dans ces dernières, l'inactivation d'EZH2 favoriserait l'activation oncogénique de la voie NOTCH1, caractéristique de la pathologie [51]. Dans le cas des mutations « gain de fonction » d'EZH2, les inhibiteurs d'EZH2 peuvent être utilisés. Le premier à avoir été synthétisé est le DZNep (3-déazanéplanocine), un inhibiteur de l'hydrolase de la S-adénylhomocystéine, le cofacteur donneur de méthyle des méthyltransférases, conduisant à une inhibition peu spécifique de la méthylation des histones. Par la suite, des médicaments plus spécifiques, fonctionnant par compétition avec le cofacteur d'EZH2, la S-adényl-méthionine, sont apparus tels que le GSK126 ou l'EPZ6438 (tazémétostat). L'efficacité et l'innocuité du tazémétostat sont actuellement évaluées dans plusieurs essais cliniques de phase I ou II portant sur des patients avec un lymphome B non hodgkinien [52].

Les mutations de *CREBBP* sont présentes chez 6 % des patients atteints de HCL [12] et environ 11 % de ceux ayant une HCL-v. Dans notre cohorte [10], deux patients présentent une mutation de type « perte de fonction » : l'un atteint de HCL et l'autre de HCL-v. Le gène *CREBBP* code une nucléophosphoprotéine, CBP, exprimée de manière ubiquitaire et appartenant à la famille des histones/protéines lysines acétyltransférases KAT3. CBP, associée à p300, intervient dans la régulation de nombreuses voies cellulaires. Elle module la transcription des gènes par acétylation des lysines 18 et 27 de l'histone 3 (*figure 3*) et par stabilisation des interactions entre des complexes de transcription intégrant l'ARN polymérase et des protéines additionnelles. CBP intervient également dans la régulation du cycle cellulaire [53, 54]. Des mutations inactivatrices de *CREBBP* sont fréquemment retrouvées dans les tumeurs solides [54]. *CREBBP* favorisant l'activation de gènes suppresseurs de tumeur, dont *TP53*, il est classiquement considéré lui-même comme un gène de cette sorte. Dans les DLBCL et les LF, les mutations inactivatrices de *CREBBP* pourraient être responsables d'un défaut d'acétylation au niveau du promoteur de *BCL6* conduisant à une activation constitutive de ce facteur de transcription. Un défaut d'acétylation du promoteur de *TP53* est aussi observé, qui diminue son expression [53]. Dans les DLBCL, la perte d'expression de *CREBBP* sensibilise les cellules aux inhibiteurs d'histones désacétylases tels que le vorinostat, autorisé dans les lymphomes cutanés à cellules T [55]. Dans les LAL présentant des mutations activatrices du gène *KRAS*, la perte d'expression de *CREBBP* favoriserait l'activation de la voie RAS/RAF/MEK/ERK sans avoir d'effet, cependant, sur la sensibilité aux inhibiteurs de MEK [56].

Des mutations, probablement inactivatrices, d'*ARID1B* et d'*ARID1A* ont été observées, chacune chez quatre patients avec une HCL et chez trois avec une HCL-v. *ARID1A* et *ARID1B* sont des protéines qui font partie du complexe de remodelage de la chromatine ATP-dépendant SWI/SNF (pour *switch/sucrose non fermentable*). Les mutations sont mutuellement exclusives. Les sous-familles d'enzymes de remodelage de la chromatine catalysent un large éventail de transformations de la chromatine, incluant le glissement des octamères d'histone le long de l'ADN et la modification de la composition de ces octamères et de la conformation de l'ADN nucléosomal (*figure 3*) [57]. Des mutations affectant les

différentes sous-unités du complexe SWI/SNF sont fréquemment retrouvées dans les cancers. Les dysfonctions engendrées toucheraient à la fois des rôles transcriptionnels, comme la modification de sites de fixation de facteurs de transcription, et non transcriptionnels, comme la dérégulation des systèmes de réparation de l'ADN et de remodelage de la chromatine [58]. Il a été montré, dans des lignées cellulaires de cancer ovarien, que la perte de fonction d'*ARID1A* entraînait une sensibilité accrue aux inhibiteurs d'EZH2 passant par une inhibition de la voie PI3K/AKT [59]. Une autre étude s'est intéressée à la sensibilité des lignées présentant une déficience du complexe SWI/SNF à l'inhibition d'EZH2. Les auteurs ont démontré que la majorité des lignées étaient sensibles à une inhibition d'EZH2 par des ARN interférents mais qu'elles n'étaient pas toutes sensibles aux inhibiteurs d'EZH2. La dépendance observée ne serait donc pas uniquement liée à l'activité catalytique d'EZH2, mais mettrait en jeu la capacité de la protéine à stabiliser le complexe PRC2 *via* ses interactions avec d'autres protéines du complexe, telles que SUZ12. Le développement d'autres types d'inhibiteurs d'EZH2 capables d'agir sur les interactions d'EZH2 avec les protéines adjacentes [60] est nécessaire. Les lignées présentant une activation de l'oncogène *RAS* sont naturellement résistantes à l'inhibition d'EZH2. Une des autres pistes thérapeutiques envisageables est de s'appuyer sur l'existence de sous-unités mutuellement exclusives au sein du complexe SWI/SNF et de cibler l'activité résiduelle portée par la sous-unité non mutée. Un effet antiprolifératif de l'inhibition d'*ARID1B* a été mis en évidence dans des lignées présentant un défaut de fonction d'*ARID1A* [61]. Les mutations d'*ARID1B* sont moins fréquentes que celles d'*ARID1A*. Ce sont, pour la plupart, des mutations inactivatrices ; leurs conséquences fonctionnelles sont encore peu étudiées. Les mutations d'*ARID1B* sont plus connues pour leur rôle dans les anomalies du développement neurologique comme le syndrome Coffin-Siris. Des mutations inactivatrices de *KDM6A* ont été identifiées chez deux des quatre patients atteints de HCL-v dans notre cohorte [10, 62]. Dans l'étude de Dietrich *et al.* [9] et de Weston-Bell *et al.* [11], un patient sur trois atteint de HCL en est porteur. Une de ces mutations est apparue après mise en place d'un traitement par inhibiteur de BRAF. Dans l'étude de Durham *et al.* [12], la mutation est détectée chez un patient sur 53 avec HCL et un patient sur huit avec HCL-v. *KDM6A* (pour *lysine demethylase 6A*), aussi connue sous le nom d'UTX (pour *ubiquitously tetratricopeptide repeat on chromosome X*), est une histone déméthylase qui cible les marques di- et triméthyle de la lysine 27 de l'histone 3 (H3K27) [63]. Elle serait également un régulateur positif du complexe de remodelage de la chromatine SWI/SNF [64] et interagirait avec la protéine CBP [65] et le complexe MLL (pour *mixed lineage leukemia*) (figure 3) [66]. Des mutations somatiques de *KDM6A* sont fréquemment rapportées dans les cancers [67]. Une étude récente sur le myélome multiple [68] a montré que la perte de fonction de *KDM6A* favorisait la prolifération, la clonogénicité, l'adhérence et la tumorigénicité des plasmocytes tumoraux. Cette perte de fonction s'accompagnait d'une dépendance des cellules vis-à-vis du complexe PRC2, les sensibilisant aux inhibiteurs d'EZH2. Cette dépendance a également été mise en évidence dans une étude dans le cancer de la vessie [69]. Elle peut s'expliquer par le fait que le complexe PRC2 a une activité antagoniste à *KDM6A* et l'inhibition d'EZH2 pourrait ainsi permettre la restauration de l'équilibre entre méthylation et déméthylation. Des approches utilisant les inhibiteurs de protéines à bromodomaine BET [70] ou d'histones désacétylases [71] ont également été testées sur des lignées cellulaires de cancer du pancréas présentant une mutation de *KDM6A* avec une efficacité variable en fonction des lignées étudiées. Dans ce type de cancer, le rôle suppresseur de tumeur de *KDM6A* serait majoritairement indépendant de son activité déméthylase et serait dû, notamment, à une augmentation de la transcription de *MYC*. L'effet des inhibiteurs de BET s'explique par leur capacité à cibler *MYC* [72]. L'utilisation d'inhibiteurs d'histone désacétylases, quant à elle, pourrait permettre de favoriser



l'acétylation d'H3K27 qui a un effet antagoniste à sa méthylation par le complexe PRC2.

### Épigénétique et perspectives thérapeutiques

La mise en évidence de modifications épigénétiques permet d'envisager le développement de traitements ciblés et personnalisés. Le vorinostat, un inhibiteur d'histones désacétylases, a été le premier utilisé. Ces médicaments évoluent aujourd'hui avec leur utilisation en combinaison entre elles ou en association avec des immunothérapies ou des chimiothérapies afin de contourner les résistances et de diminuer les doses de chimiothérapies. Dans la HCL, ces altérations épigénétiques sont relativement fréquentes et de nouvelles stratégies thérapeutiques peuvent se développer en se fondant sur le concept de létalité synthétique. Ce concept est à la base de l'utilisation des inhibiteurs d'EZH2 dans des environnements mutationnels divers. Ainsi, la présence dans les tricholeucocytes d'une mutation inactivatrice de *KDM6A*, d'un composant du complexe SWI/SNF, de *MLL3* ou encore de *CREBBP* pourrait les rendre sensibles à ces traitements. Le rationnel réside initialement dans l'action antagoniste de ces protéines vis-à-vis du complexe PRC2. Les inhibiteurs d'histones désacétylases pourraient être utilisés en cas de mutation de *CREBBP* ou de *KDM6A* afin de rétablir l'équilibre entre acétylation et méthylation d'H3K27. Enfin, les inhibiteurs de BET pourraient être utilisés en cas de mutation de *MLL3* ou de *KDM6A*. Plusieurs de ces traitements ont pu montrer leur efficacité *in vitro* ou *in vivo* dans d'autres pathologies que la HCL. Des études *in vitro* restent à être réalisées dans la HCL et la HCL-v avant d'envisager leur utilisation en clinique.

### Conclusion

La HCL et la HCL-v sont caractérisées par une activation constitutive de la voie des MAP-kinases. Cette activation constitutive est à la fois médiée par des mutations génétiques activatrices (*BRAF<sup>V600E</sup>*) et des mutations du gène *MAP2K1*, et par un profil particulier de méthylation de l'ADN. Les mutations identifiées sont hétérogènes, mais certaines attirent l'attention par leur fréquence et/ou par leur implication dans la physiopathologie de la maladie. Parmi les mutations récurrentes associées à *BRAF<sup>V600E</sup>*, figurent les mutations inactivatrices de *CDKN1B* et de *KLF2*. *CDKN1B* code la protéine p27, qui régule négativement le cycle cellulaire et est un antagoniste de la cycline D1, surexprimée dans la HCL. La régulation du cycle cellulaire et de la sénescence semble ainsi jouer un rôle important dans la pathogenèse de la maladie. *KLF2* code un régulateur négatif de la voie NF-κB, voie importante dans le développement et la maintenance des fonctions des lymphocytes B. Les mutations affectant la régulation épigénétique sont récurrentes, tant dans la HCL que dans la HCL-v. Elles impactent diverses enzymes et semblent favoriser l'activité du complexe PRC2 par inactivation de ses antagonistes. Le profil de méthylation de l'ADN agit également en synergie avec le complexe PRC2 afin de maintenir la répression des gènes cibles. L'identification de ces anomalies permet d'envisager des traitements personnalisés et ciblés. Un tiers des patients atteints de HCL rechutent et ceux atteints de HCL-v répondent souvent mal aux différents traitements utilisables actuellement. L'utilisation de drogues ciblant les régulateurs épigénétiques pourrait être prometteuse. Le profil mutationnel des tricholeucocytes est un outil précieux pour aider à distinguer les différentes proliférations à cellules chevelues que sont la HCL, la HCL-v, le lymphome à cellules de la zone marginale splénique (SMZL) et le SDRPL. La HCL est caractérisée par la mutation *BRAF<sup>V600E</sup>* et les mutations de *CDKN1B*, la HCL-v par celles de *MAP2K1*, le SDRPL par celles de *BCOR* et le SMZL par celles de *NOTCH1/NOTCH2*. Les mutations de *Klf2* sont à la fois présentes dans la HCL et le SMZL, et les mutations de *CCND3* dans la HCL-v et dans le SDRPL.

## Références

- [1] Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, *et al.* The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 2016 ; 127 : 2375-90.
- [2] Matutes E. Immunophenotyping and differential diagnosis of hairy cell leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2006 ; 20 : 1051-63.
- [3] Tiacci E, Trifonov V, Schiavoni G, *et al.* BRAF mutations in hairy-cell leukemia. *N Engl J Med* 2011 ; 364 : 2305-15.
- [4] Troussard X, Cornet E. Hairy cell leukemia 2018: update on diagnosis, risk-stratification, and treatment. *Am J Hematol* 2017 ; 92 : 1382-90.
- [5] Xi L, Arons E, Navarro W, *et al.* Both variant and IGHV4-34-expressing hairy cell leukemia lack the BRAF V600E mutation. *Blood* 2012 ; 119 : 3330-2.
- [6] Arons E, Suntum T, Stetler-Stevenson M, Kreitman RJ. VH4-34+ hairy cell leukemia, a new variant with poor prognosis despite standard therapy. *Blood* 2009 ; 114 : 4687-95.
- [7] Waterfall JJ, Arons E, Walker RL, *et al.* High prevalence of MAP2K1 mutations in variant and IGHV4-34-expressing hairy-cell leukemias. *Nat Genet* 2013 ; 46 : 8-10.
- [8] Tschernitz S, Flossbach L, Bonengel M, Roth S, Rosenwald A, Geissinger E. Alternative BRAF mutations in BRAF V600E-negative hairy cell leukaemias. *Br J Haematol* 2014 ; 165 : 529-33.
- [9] Dietrich S, Hüllelin J, Lee SC-W, *et al.* Recurrent CDKN1B (p27) mutations in hairy cell leukemia. *Blood* 2015 ; 126 : 1005-8.
- [10] Maitre E, Bertrand P, Maingonnat C, *et al.* New generation sequencing of targeted genes in the classical and the variant form of hairy cell leukemia highlights mutations in epigenetic regulation genes. *Oncotarget* 2018 ; 9 : 28866-7.
- [11] Weston-Bell NJ, Tapper W, Gibson J, *et al.* Exome sequencing in classic hairy cell leukaemia reveals widespread variation in acquired somatic mutations between individual tumours apart from the signature BRAF V(600)E lesion. *PLoS One* 2016 ; 11 : e0149162.
- [12] Durham BH, Getta B, Dietrich S, *et al.* Genomic analysis of hairy cell leukemia identifies novel recurrent genetic alterations. *Blood* 2017 ; 130 (14) : 1644-8.
- [13] Roovers K, Davey G, Zhu X, Bottazzi ME, Assouan RK. Alpha5beta1 integrin controls cyclin D1 expression by sustaining mitogen-activated protein kinase activity in growth factor-treated cells. *Mol Biol Cell* 1999 ; 10 : 3197-204.
- [14] Bhatt KV, Spofford LS, Aram G, McMullen M, Pumiglia K, Aplin AE. Adhesion control of cyclin D1 and p27 Kip1 levels is deregulated in melanoma cells through BRAF-MEK-ERK signaling. *Oncogene* 2005 ; 24 : 3459.
- [15] Bhatt KV, Hu R, Spofford LS, Aplin AE. Mutant B-RAF signaling and cyclin D1 regulate Cks1/S-phase kinase-associated protein 2-mediated degradation of p27Kip1 in human melanoma cells. *Oncogene* 2007 ; 26 : 1056-66.
- [16] Chilosi M, Chiarle R, Lestani M, *et al.* Low expression of p27 and low proliferation index do not correlate in hairy cell leukaemia. *Br J Haematol* 2000 ; 111 : 263-71.
- [17] Pettirossi V, Santi A, Imperi E, *et al.* BRAF inhibitors reverse the unique molecular signature and phenotype of hairy cell leukemia and exert potent antileukemic activity. *Blood* 2015 ; 125 : 1207-16.
- [18] Luebker SA, Koepsell SA. Diverse mechanisms of BRAF inhibitor resistance in melanoma identified in clinical and preclinical studies. *Front Oncol* 2019 ; 9(MAR), [268].
- [19] Michaloglou C, Vredeveld LCW, Soengas MS, *et al.* BRAF E600-associated senescence-like cell cycle arrest of human naevi. *Nature* 2005 ; 436 : 720.
- [20] Chu IM, Hengst L, Slingerland JM. The Cdk inhibitor p27 in human cancer: prognostic potential and relevance to anti-cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2008 ; 8 : 253-67.
- [21] Basso K, Liso A, Tiacci E, *et al.* Gene expression profiling of hairy cell leukemia reveals a phenotype related to memory B cells with altered expression of chemokine and adhesion receptors. *J Exp Med* 2004 ; 199 : 59-68.
- [22] Miranda RN, Briggs RC, Kinney MC, Veno PA, Hammer RD, Cousar JB. Immunohistochemical detection of cyclin D1 using optimized conditions is highly specific for mantle cell lymphoma and hairy cell leukemia. *Mod Pathol* 2000 ; 13 : 1308.
- [23] Curiel-Olmo S, Mondéjar R, Almaraz C, *et al.* Splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma displays increased expression of cyclin D3 and recurrent CCND3 mutations. *Blood* 2017 ; 129 : 1042-5.
- [24] Schmitz R, Young RM, Ceribelli M, *et al.* Burkitt lymphoma pathogenesis and therapeutic targets from structural and functional genomics. *Nature* 2012 ; 490 : 116-20.
- [25] König EA, Kusser WC, Day C, *et al.* p53 mutations in hairy cell leukemia. *Leukemia* 2000 ; 14 : 706-11.
- [26] Vallianatou K, Brito-Babapulle V, Matutes E, Atkinson S, Catovsky D. p53 gene deletion and trisomy 12 in hairy cell leukemia and its variant. *Leuk Res* 1999 ; 23 : 1041-5.
- [27] Grever MR, Abdel-Wahab O, Andritsos LA, *et al.* Consensus guidelines for the diagnosis and management of patients with classic hairy cell leukemia. *Blood* 2017 ; 129 : 553-60.
- [28] Nagel S, Ehrentraut S, Meyer C, Kaufmann M, Drexler HG, MacLeod RAF. NFkB is activated by multiple mechanisms in hairy cell leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 2015 ; 54 : 418-32.
- [29] Clipson A, Wang M, de Leval L, *et al.* KLF2 mutation is the most frequent somatic change in splenic marginal zone lymphoma and identifies a subset with distinct genotype. *Leukemia* 2015 ; 29 : 1177-85.
- [30] Piva R, Deaglio S, Famà R, *et al.* The Krüppel-like factor 2 transcription factor gene is recurrently mutated in splenic marginal zone lymphoma. *Leukemia* 2015 ; 29 : 503-7.
- [31] Hart GT, Wang X, Hogquist KA, Jameson SC. Kruppel-like factor 2 (KLF2) regulates B-cell reactivity, subset differentiation, and trafficking molecule expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011 ; 108 : 716-21.
- [32] Nayak L, Goduni L, Takami Y, *et al.* Kruppel-like factor 2 is a transcriptional regulator of chronic and acute inflammation. *Am J Pathol* 2013 ; 182 : 1669-704.
- [33] Je EM, Yoo NJ, Kim YJ, Kim MS, Lee SH. Mutational analysis of splicing machinery genes SF3B1, U2AF1 and SRSF2 in myelodysplasia and other common tumors. *Int J Cancer* 2013 ; 133 : 260-5.
- [34] Ilagan JO, Ramakrishnan A, Hayes B, *et al.* U2AF1 mutations alter splice site recognition in hematological malignancies. *Genome Res* 2015 ; 25 : 14-26.
- [35] Shirai CL, White BS, Tripathi M, *et al.* Mutant U2AF1-expressing cells are sensitive to pharmacological modulation of the spliceosome. *Nat Commun* 2017 ; 8 : 14060.
- [36] Arribas AJ, Rinaldi A, Chiodin G, *et al.* Genome-wide promoter methylation of hairy cell leukemia. *Blood Adv* 2019 ; 3 : 384-96.
- [37] Yoshimura T, Oppenheim JJ. Chemokine-like receptor 1 (CMKLR1) and chemokine (C-C motif) receptor-like 2 (CCRL2); two multifunctional receptors with unusual properties. *Exp Cell Res* 2011 ; 317 : 674-84.



- [38] Dürig J, Schmücker U, Dührsen U. Differential expression of chemokine receptors in B cell malignancies. *Leukemia* 2001 ; 15 : 752-6.
- [39] Sivina M, Burger JA. The importance of the tissue microenvironment in hairy cell leukemia. *Best Pract Res Clin Haematol* 2015 ; 28 : 208-16.
- [40] Aziz KA. The role of autocrine FGF-2 in the distinctive bone marrow fibrosis of hairy-cell leukemia (HCL). *Blood* 2003 ; 102 : 1051-6.
- [41] Shibayama H, Anzai N, Ritchie A, Zhang S, Mantel C, Broxmeyer HE. Interleukin-3 and Flt3-ligand induce adhesion of Baf3/Flt3 precursor B-lymphoid cells to fibronectin via activation of VLA-4 and VLA-5. *Cell Immunol* 1998 ; 187 : 27-33.
- [42] Schlesinger Y, Straussman R, Keshet I, et al. Polycomb-mediated methylation on Lys27 of histone H3 pre-marks genes for *de novo* methylation in cancer. *Nat Genet* 2007 ; 39 : 232-6.
- [43] Sze CC, Shilatfard A. MLL3/MLL4/COMPASS family on epigenetic regulation of enhancer function and cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2016 ; 6 : a026427.
- [44] Chen C, Liu Y, Rappaport AR, et al. MLL3 is a haploinsufficient 7q tumor suppressor in acute myeloid leukemia. *Cancer Cell* 2014 ; 25 : 652-65.
- [45] Lee J, Kim D-H, Lee S, et al. A tumor suppressive coactivator complex of p53 containing ASC-2 and histone H3-lysine-4 methyltransferase MLL3 or its paralogue MLL4. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009 ; 106 : 8513-8.
- [46] Rampias T, Karagiannis D, Avgeris M, et al. The lysine-specific methyltransferase KMT2C/MLL3 regulates DNA repair components in cancer. *EMBO Rep* 2019 ; 20 : e46821.
- [47] Bantignies F, Cavalli G. Cellular memory and dynamic regulation of polycomb group proteins. *Curr Opin Cell Biol* 2006 ; 18 : 275-83.
- [48] Morin RD, Johnson NA, Severson TM, et al. Somatic mutation of EZH2 (Y641) in follicular and diffuse large B-cell lymphomas of germinal center origin. *Nat Genet* 2010 ; 42 : 181-5.
- [49] Yap DB, Chu J, Berg T, et al. Somatic mutations at EZH2 Y641 act dominantly through a mechanism of selectively altered PRC2 catalytic activity, to increase H3K27 trimethylation. *Blood* 2011 ; 117 : 2451-9.
- [50] Nikoloski G, Langemeijer SMC, Kuiper RP, et al. Somatic mutations of the histone methyltransferase gene EZH2 in myelodysplastic syndromes. *Nat Genet* 2010 ; 42 : 665-7.
- [51] Ntziachristos P, Tsirigos A, Van Vlierbergh P, et al. Genetic inactivation of the PRC2 complex in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Nat Med* 2012 ; 18 : 298-301.
- [52] Genta S, Piroso MC, Stathis A. BET and EZH2 inhibitors: novel approaches for targeting cancer. *Curr Oncol Rep* 2019 ; 21 : 13.
- [53] Pasqualucci L, Dominguez-Sola D, Chiarenza A, et al. Inactivating mutations of acetyltransferase genes in B-cell lymphoma. *Nature* 2011 ; 471 : 189-95.
- [54] Attar N, Kurdistani SK. Exploitation of EP300 and CREBBP lysine acetyltransferases by cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2017 ; 7 : a026534.
- [55] Andersen CL, Asmar F, Klausen T, Hasselbalch H, Grønbaek K. Somatic mutations of the CREBBP and EP300 genes affect response to histone deacetylase inhibition in malignant DLBCL clones. *Leuk Res Rep* 2013 ; 2 : 1-3.
- [56] Dixon ZA, Nicholson L, Zeppetzauer M, et al. CREBBP knockdown enhances RAS/RAF/MEK/ERK signaling in Ras pathway mutated acute lymphoblastic leukemia but does not modulate chemotherapeutic response. *Haematologica* 2017 ; 102 : 736-45.
- [57] Narlikar GJ, Sundaramoorthy R, Owen-Hughes T. Mechanisms and functions of ATP-dependent chromatin-remodeling enzymes. *Cell* 2013 ; 154 : 490-503.
- [58] Hodges C, Kirkland JG, Crabtree GR. The many roles of BAF (mSWI/SNF) and PBAF complexes in cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med* August 2016; 6: a026930doi:10.1101/cshperspect.a026930
- [59] Bitler BG, Aird KM, Garipov A, et al. Synthetic lethality by targeting EZH2 methyltransferase activity in ARID1A-mutated cancers. *Nat Med* 2015 ; 21 : 231-38.
- [60] Kim KH, Kim W, Howard TP, et al. SWI/SNF-mutant cancers depend on catalytic and non-catalytic activity of EZH2. *Nat Med* 2015 ; 21 : 1491-6.
- [61] Helming KC, Wang X, Wilson BG, et al. ARID1B is a specific vulnerability in ARID1A-mutant cancers. *Nat Med* 2014 ; 20 : 251-4.
- [62] Wiber M, Maitre E, Cornet E, Salaün V, Naguib D, Troussard X. Variant form of hairy cell leukemia. *Clin Case Rep* 2019 ; 7 : 1161-6.
- [63] Hong S, Cho Y-W, Yu L-R, Yu H, Veenstra TD, Ge K. Identification of JmJc domain-containing UTX and JMJD3 as histone H3 lysine 27 demethylases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007 ; 104 : 18439-44.
- [64] Miller SA, Mohn SE, Weinmann AS. Jmjd3 and UTX play a demethylase-independent role in chromatin remodeling to regulate T-box family member-dependent gene expression. *Mol Cell* 2010 ; 40 : 594-605.
- [65] Tie F, Banerjee R, Conrad PA, Scacheri PC, Harte PJ. Histone demethylase UTX and chromatin remodeler BRM bind directly to CBP and modulate acetylation of histone H3 lysine 27. *Mol Biol Cell* 2012 ; 32 : 2323-34.
- [66] Cho Y-W, Hong T, Hong S, et al. PTIP associates with MLL3- and MLL4-containing histone H3 lysine 4 methyltransferase complex. *J Biol Chem* 2007 ; 282 : 20395-406.
- [67] Wang L, Shilatfard A. UTX mutations in human cancer. *Cancer Cell* 2019 ; 35 : 168-76.
- [68] Ezponda T, Dupéré-Richer D, Will CM, et al. UTX/KDM6A loss enhances the malignant phenotype of multiple myeloma and sensitizes cells to EZH2 inhibition. *Cell Rep* 2017 ; 21 : 628-40.
- [69] Ler LD, Ghosh S, Chai X, et al. Loss of tumor suppressor KDM6A amplifies PRC2-regulated transcriptional repression in bladder cancer and can be targeted through inhibition of EZH2. *Sci Transl Med* 2017 ; 9 : eaai8312.
- [70] Andricovich J, Perkail S, Kai Y, Casasanta N, Peng W, Tzatsos A. Loss of KDM6A activates super-enhancers to induce gender-specific squamous-like pancreatic cancer and confers sensitivity to BET inhibitors. *Cancer Cell* 2018 ; 33 : 512-526.e8.
- [71] Watanabe S, Shimada S, Akiyama Y, et al. Loss of KDM6A characterizes a poor prognostic subtype of human pancreatic cancer and potentiates HDAC inhibitor lethality. *Int J Cancer* 2019 ; 145 : 192-205.
- [72] Delmore JE, Issa GC, Lemieux ME, et al. BET bromodomain inhibition as a therapeutic strategy to target c-Myc. *Cell* 2011 ; 146 : 904-17.