



HAL
open science

Leucémies à mégacaryoblastes de l'enfant

Thomas Mercher, Cécile k. Lopez

► **To cite this version:**

Thomas Mercher, Cécile k. Lopez. Leucémies à mégacaryoblastes de l'enfant : Une affaire de complexes. *Médecine/Sciences*, 2018, 34 (11), pp.954-962. 10.1051/medsci/2018237 . hal-02970149

HAL Id: hal-02970149

<https://hal.science/hal-02970149>

Submitted on 17 Oct 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

► Les leucémies aiguës mégacaryoblastiques de l'enfant (ou LAM7¹) sont généralement associées à un mauvais pronostic et à l'expression d'oncogènes de fusion impliquant des régulateurs transcriptionnels. Des résultats récents indiquent que la fusion ET02-GLIS2 altère l'activité de régions régulatrices de l'expression génique appelées « *enhancers* » et l'expression des facteurs GATA et ETS, essentiels au développement des cellules souches hématopoïétiques. Une dérégulation de l'équilibre GATA/ETS est également retrouvée dans d'autres sous-groupes de LAM7. Cette revue porte sur les bases transcriptionnelles de la transformation survenant dans les LAM7 de l'enfant et les perspectives thérapeutiques que cela ouvre. ◀

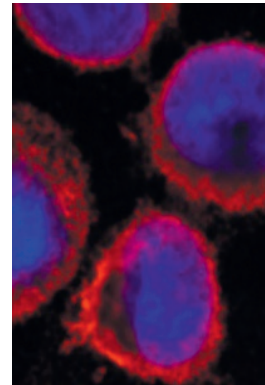
Hématopoïèse normale et leucémies

L'hématopoïèse normale est le processus qui permet le développement de toutes les cellules sanguines, notamment les lymphocytes, les globules rouges et les plaquettes. Toutes ces cellules se développent à partir de cellules dites cellules souches hématopoïétiques (HSC) localisées, chez l'adulte, dans la moelle osseuse [1]. Les HSC sont capables d'être présentes pendant très longtemps grâce leurs propriétés de quiescence et d'autorenouvellement. Elles peuvent également proliférer et prennent alors la forme de progéniteurs qui se différencient pour donner les milliards de cellules matures qui entrent dans le sang chaque jour pour remplir leur fonction. Pour maintenir un nombre constant de cellules, ce processus est régulé finement par des signaux de l'environnement cellulaire (des cellules à proximité ou des facteurs de croissance solubles) qui stimulent des voies de signalisation et par des facteurs propres aux cellules (l'organisation de l'ADN et l'expression de facteurs de

Leucémies à mégacaryoblastes de l'enfant

Une affaire de complexes

Cécile K. Lopez, Thomas Mercher



Inserm U1170, Institut Gustave Roussy, Pavillon recherche 2, 39 rue Camille Desmoulins, 94800 Villejuif, France.
thomas.mercher@inserm.fr

transcription, par exemple) qui modulent l'expression de gènes importants pour leur prolifération ou leur maturation. Certains facteurs de transcription contrôlent le développement de lignées hématopoïétiques spécifiques alors que d'autres sont requis pour tous les progéniteurs hématopoïétiques. Ces facteurs de transcription semblent fréquemment regroupés au sein de complexes contenant plusieurs régulateurs transcriptionnels, dont la composition contrôle l'identité et le niveau d'expression des gènes cibles [2]. En effet, ces facteurs peuvent être associés à des modifications de la chromatine, comme celles des histones ou de l'ADN, conduisant à une activation ou une répression de l'expression des gènes alentours. Certaines de ces modifications, telles que l'acétylation de la lysine 27 de l'histone 3 (H3K27ac), peuvent s'étendre sur de larges régions (plusieurs centaines de kilobases) appelées *enhancer* ou *super-enhancer* [3]. Ces régions sont liées par de nombreux facteurs de transcription et facteurs généraux de la machinerie transcriptionnelle (comme les facteurs BRD² ou le complexe Mediator) et sont associées à une transcription importante de gènes. La localisation de ces régions *enhancers* a été associée à l'identité cellulaire et une hypothèse actuelle est que l'activité de ces régions contrôle en partie l'équilibre entre auto-renouvellement/prolifération des cellules souches et des progéniteurs et progression vers la différenciation terminale des cellules [4].

Parmi les facteurs de transcription importants pour l'hématopoïèse, la famille de protéines à doigts de zinc GATA lie l'ADN sur un motif consensus de type 5'-(A/T)GATAA(G/A/C)-3' et sont fréquemment associées à des complexes multiprotéiques (nommé heptad) composés d'au moins 7 facteurs de transcription incluant également TAL1, LYL1, LMO2, RUNX1, ERG et FLI1. Ces complexes sont actifs dans les cellules souches et les progéniteurs hématopoïétiques adultes, mais

Vignette (Photo © Inserm - Céline Richard/Plateforme d'imagerie de l'Institut Cochin).

¹ Ou leucémies aiguës myéloblastiques à mégacaryoblastes de type 7.

² Les acronymes sont développés dans le *Glossaire*.

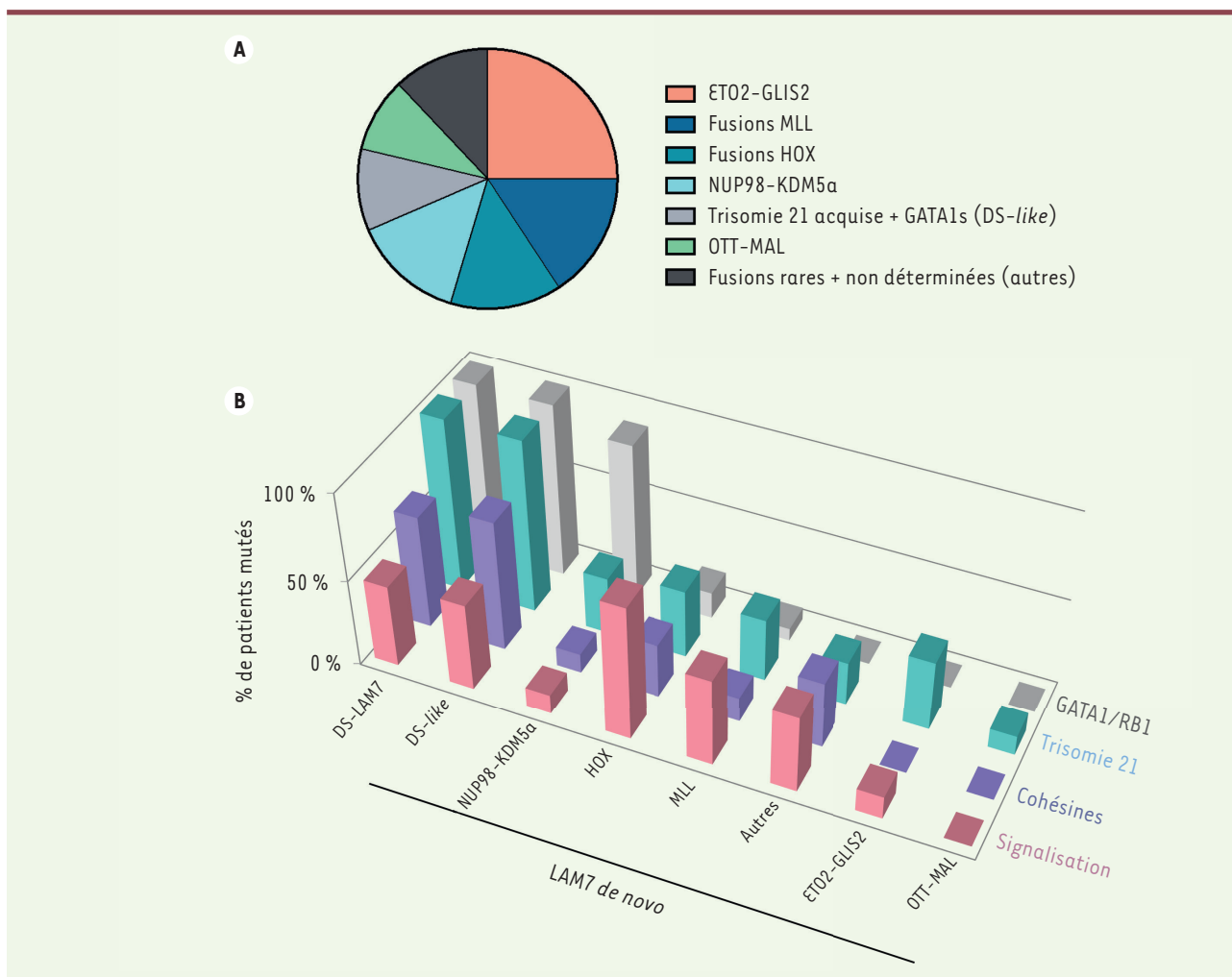


Figure 1. Anomalies génétiques les plus récurrentes des LAM7 pédiatriques de novo. **A.** Répartition des oncogènes de fusions les plus fréquents dans les LAM7 de novo. (selon [39] et [20]). **B.** Fréquences des mutations additionnelles observées dans les différents sous-groupes de LAM7 pédiatriques. GATA1/RB1 : mutations conduisant à l'expression de la protéine GATA1 tronquée (GATA1s) ou mutations inactivatrices de RB1 ; Trisomie 21 : trisomie acquise ou constitutive ; Cohésines : mutations inactivatrices de gènes codant des membres du complexe des cohésines ; Signalisation : mutations dans des gènes codant des intermédiaires de voie de signalisation.

également dès l'apparition des premières cellules souches hématopoïétiques au cours du développement [5]. Les facteurs GATA sont également essentiels pour le développement des globules rouges et des mégacaryocytes, à l'origine des plaquettes sanguines [6]. Une différence d'expression des facteurs GATA est observée au cours de la différenciation avec une expression GATA2 importante dans les cellules souches hématopoïétiques et les progéniteurs, et une expression GATA1 prédominante dans les cellules engagées dans la différenciation érythroïde ou mégacaryocytaire. Ce processus d'échange des facteurs GATA au cours de la différenciation est appelé GATA-switch [7]. Des approches de localisation de ces facteurs sur la chromatine (par ChIPseq³) confirment que GATA1 remplace GATA2 au niveau de plusieurs gènes importants pour la différenciation mégacaryocytaire [8] et que ce GATA-switch constitue une base moléculaire importante du

remodelage des *enhancers* au cours du développement érythroïde [9]. Une interaction fonctionnelle entre les facteurs GATA et d'autres membres des complexes transcriptionnels, tels que les facteurs de la famille ETS, qui lient des motifs 5'-GGA(A/T)-3' [2], est également importante pour la différenciation mégacaryocytaire. Ainsi, le facteur de la famille ETS, FLI1, dont l'expression est augmentée au cours de la maturation, régule conjointement avec GATA l'expression de gènes cibles mégacaryocytaires, tels que *ITGA2b* [10]. Il a été proposé que cette interaction fonctionnelle entre les facteurs GATA et ETS joue un rôle important dans les cellules souches hématopoïétiques et dans leur engagement vers la lignée mégacaryocytaire, alors qu'une interaction fonctionnelle entre GATA et TAL1 serait plus importante pour la différenciation érythroïde [8, 9, 11,

³ Immunoprécipitation de la chromatine, couplée au séquençage haut débit.

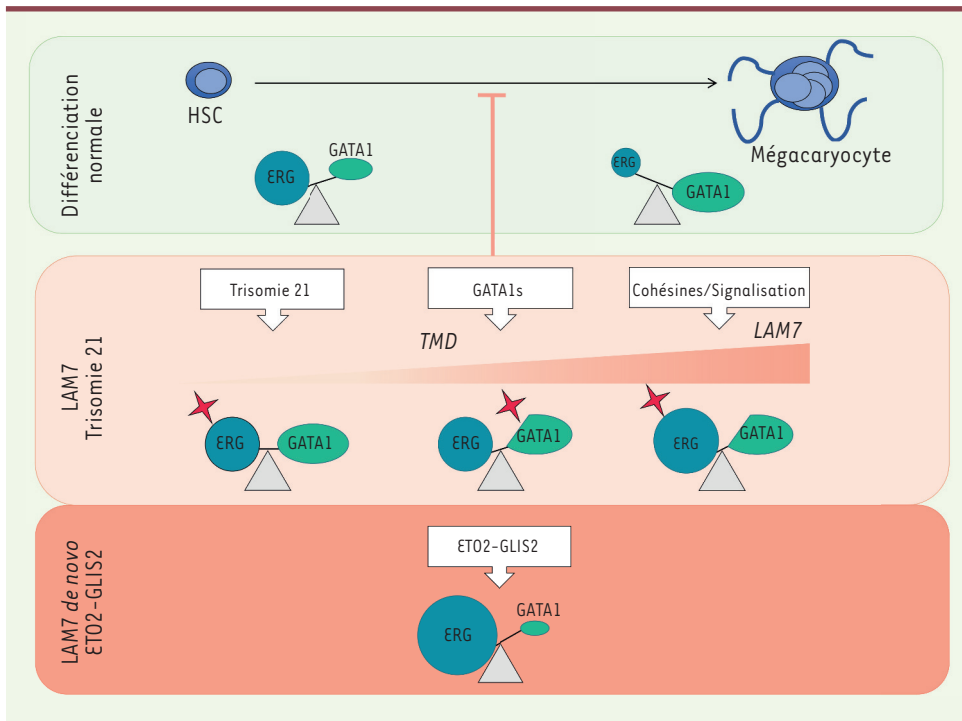


Figure 2. Mécanisme moléculaire des LAM7 pédiatriques.
Panneau supérieur : schéma de la différenciation mégacaryocytaire normale d'une cellule souche hématopoïétique (HSC) impliquant des changements d'activité de certains facteurs de transcription comme ERG et GATA1. L'activité de chaque facteur de transcription est représentée par la taille du symbole.
Panneau central : schéma de la coopération oncogénique retrouvée chez les patients DS-LAM7 et DS-like, incluant entre autres une dérégulation progressive de l'équilibre de l'activité des facteurs de transcription en faveur de ERG. L'étoile rouge indique la conséquence fonctionnelle prédite pour l'altération

tération génétique sur l'équilibre de l'activité ERG/GATA1. Par exemple, la trisomie 21 induit une augmentation du dosage génique pour ERG.
Panneau inférieur : dans les LAM7 de novo, la fusion ET02-GLIS2 semble conduire seule (seules de rares mutations additionnelles sont décrites à ce jour, Figure 1B) à une dérégulation forte de l'équilibre GATA1/ERG.

12]. Au sein de ces complexes, les cofacteurs de la famille ETO/ET02 interagissent avec les facteurs de transcription et des régulateurs transcriptionnels [13], et une modification de stœchiométrie de ET02 au sein des complexes TAL1 participe à la transition entre prolifération et différenciation terminale au cours de l'érythropoïèse [14]. Les leucémies aiguës sont des altérations de l'hématopoïèse caractérisées par une accumulation de progéniteurs associée à une altération de la différenciation terminale et une insuffisance du système hématopoïétique⁴. Les leucémies sont généralement classées selon la lignée hématopoïétique préférentiellement atteinte. Elles présentent des incidences variables en fonction de l'âge. Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) sont caractérisées par la présence d'altérations génétiques dans les cellules souches et les progéniteurs hématopoïétiques [15]. Ces mutations affectent des gènes participant à différentes fonctions biologiques incluant la régulation de la transcription (facteurs de transcription), de la méthylation (*TET2*, *DNMT3A*), de la chromatine (*CTCF*), de l'épissage (*SRSF2*), de la signalisation (*JAK2*) et du cycle cellulaire (*TP53*). Les mutations affectant les facteurs du complexe heptad (comme *TAL1*, *RUNX1*) et *ETO/ET02* sont récurrentes et généralement mutuellement exclusives dans les leucémies aiguës humaines, suggérant qu'elles ciblent un mécanisme conservé de la biologie des cellules souches hématopoïétiques. L'étude des leucémies représente donc une opportunité d'identifier et de caractériser la

fonction des régulateurs transcriptionnels importants contrôlant l'hématopoïèse et la biologie des cellules souches humaines.

Génétique des leucémies mégacaryoblastiques

Les leucémies aiguës à mégacaryoblastes (LAM7) qui affectent la lignée mégacaryocytaire représentent un sous-type de leucémies rares diagnostiquées plus fréquemment chez l'enfant que chez l'adulte [16]. Elles peuvent survenir à la suite d'une prédisposition, comme les LAM7 associées à un syndrome de Down (ou trisomie 21) constitutionnel (que nous appellerons DS-LAM7) et à un pronostic favorable, ou diagnostiquées de novo (sans trisomie 21 ou prédisposition apparente) et généralement associées à un mauvais pronostic [17].

Les DS-LAM7 affectent un groupe relativement homogène de patients. Leur développement repose sur un mécanisme de progression tumorale en 3 étapes, chacune associée à l'acquisition d'altérations génétiques qui se cumulent et incluent : (1) une trisomie constitutive du chromosome 21, associée à une prédisposition aux leucémies ; (2) des mutations somatiques du gène *GATA1* entraînant une coupure de la partie N-terminale de la protéine (mutant *GATA1short*, ou *GATA1s*), associées à un syndrome myéloïde transitoire (SMT)

⁴ C'est-à-dire une diminution du nombre de cellules matures nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme.



diagnostiqué à la naissance ; et (3) des mutations additionnelles touchant (dans 47 % des cas) des gènes codant des intermédiaires de voie de signalisation (comme MPL ou JAK) et/ou des régulateurs épigénétiques (dans 65 % des cas) comme EZH2, CTCF, RAD21, qui sont associées à l'étape de leucémie aiguë diagnostiquée généralement après l'âge de 3 ans [18].

Dans le groupe de patients présentant une LAM7 *de novo*, les analyses cytogénétiques et génomiques globales ont montré, dans la majorité des cas, la présence d'altérations chromosomiques à l'origine de l'expression d'oncogènes de fusion (Figure 1A) [19,20]. La première anomalie récurrente identifiée a été une translocation entre le chromosome 1 et le chromosome 22, visible en cytogénétique classique, et codant la protéine de fusion OTT-MAL qui inclut la quasi-totalité des deux protéines OTT et MAL [21]. Des réarrangements impliquant *MLL* (également nommé *KMT2A*) sont retrouvés dans 7 à 17 % des cas. La fusion NUP98-KDM5a est observée dans 10 à 15 % des cas de LAM7 *de novo*. Ces deux sous-groupes de LAM7 sont associés à une expression aberrante des gènes homéotiques *HOX*, dont le gène *HOXA9*, qui a été impliqué dans le développement et le maintien de certaines leucémies [22]. Le rôle de ces gènes dans le développement leucémique est par ailleurs souligné par la présence de réarrangements impliquant les gènes *HOX* eux-mêmes, associés à leur surexpression dans 15 % des LAM7 *de novo* [20]. La fusion entre les gènes *ETO2* et *GLIS2*, récemment découverte, est présente dans 18 à 27 % des LAM7 *de novo*. Elle résulte d'une inversion du chromosome 16 conduisant à une protéine de fusion exprimant la quasi-totalité des protéines *ETO2* et *GLIS2* normales. Ces fusions se réalisent entre les exons 10 à 12 de *ETO2* et les exons 1 à 3 de *GLIS2* [19]. D'autres fusions, plus rares, sont également observées : TLS-ERG, MN1-FLI1, BCR-ABL1, MAP2K2-AF10. Un sous-groupe (nommé *DS-like*) présente également les mêmes types de mutations que celles observées dans les DS-LAM7, à ceci près que chez ces patients, la trisomie 21 est acquise et non constitutive. L'importance d'une coopération oncogénique pour la transformation est révélée par la présence dans plusieurs sous-groupes de mutations additionnelles incluant une trisomie 21 acquise, de mutations touchant *GATA1* et *RBI*, ou de mutations des gènes codant les cohésines et des intermédiaires de signalisation (Figure 1B). Finalement, entre 10 et 15 % des patients ne présentent pas de mutation causale identifiée à ce jour.

Mécanismes moléculaires de la fusion ETO2-GLIS2

La fusion entre les gènes *ETO2* et *GLIS2* est l'altération génétique la plus fréquemment retrouvée dans les LAM7 *de novo*. Elle est associée à un pronostic particulièrement défavorable.

Le gène *ETO2* code une protéine de la famille ETO qui est exprimée dans toutes les cellules hématopoïétiques. *ETO2* est un cofacteur transcriptionnel qui interagit avec les facteurs de transcription du complexe heptad. Chez la souris, l'inactivation d'*Eto2* est associée à une absence de maintien des HSC [23]. *ETO2* joue également un rôle d'inhibition de la mégacaryopoïèse [8] en réprimant certains gènes impliqués dans la différenciation terminale, comme *GATA1* et *PF4* [24]. *GLIS2* est un facteur de transcription de la famille GLI impliqué dans la voie de

signalisation Hedgehog⁵. Les patients qui présentent une fusion *ETO2-GLIS2* montrent une signature transcriptionnelle de surexpression des gènes cibles de cette voie, par rapport aux autres patients [19]. De récentes études suggèrent un rôle positif de *GLIS2* dans la capacité de reconstitution des HSC [25]. La fusion implique donc deux régulateurs transcriptionnels.

L'analyse des contributions relatives de *ETO2* et *GLIS2* à la transformation induite par la protéine de fusion *ETO2-GLIS2* a permis de montrer que la fusion augmentait l'autorenouvellement des progéniteurs hématopoïétiques, à la fois par le domaine *ETO2* de la protéine de fusion et par sa partie *GLIS2* [26]. Le fragment *GLIS2* de la protéine est responsable du phénotype mégacaryocytaire de la leucémie. Ces résultats indiquent que la fusion *ETO2-GLIS2* est capable à elle seule d'augmenter l'autorenouvellement des progéniteurs présentant un phénotype mégacaryocytaire.

Au niveau moléculaire, la fusion *ETO2-GLIS2* dérégule l'expression de nombreux gènes, dont ceux codant les protéines du complexe heptad. L'expression de *GATA1* est ainsi fortement diminuée alors que celle de *ERG* est fortement augmentée. Cette dérégulation est également observée dans les signatures transcriptionnelles des blastes isolés de patients présentant une fusion *ETO2-GLIS2*. Les régions de l'ADN sur lesquelles se fixe la protéine de fusion ont été localisées sur des régions *enhancers* de plusieurs gènes dont l'expression est régulée par la fusion. L'analyse des motifs associés à ces régions suggère que cette liaison se réalise soit par l'intermédiaire des facteurs de transcription ERG, RUNX et GATA, qui interagissent avec *ETO2*, soit directement *via* le domaine *GLIS2* de la protéine de fusion.

L'activité des régions *enhancers* des gènes est généralement importante dans le contexte de la transformation tumorale et la prolifération cellulaire [27]. Dans la LAM7, le facteur ERG est fréquemment co-localisé avec la fusion *ETO2-GLIS2*. Sa présence est également associée à une forte expression des gènes proches des *enhancers*. Son inactivation fonctionnelle, par ciblage du génome de type CRISPR/cas9 dans des cellules exprimant la fusion, montre que ERG joue un rôle essentiel dans la régulation transcriptionnelle de certains gènes cibles de la protéine de fusion *ETO2-GLIS2*, comme *KIT*, et dans la survie des blastes leucémiques humains qui présentent cette fusion.

⁵ Hedgehog est une protéine de polarité segmentaire mise en évidence chez les invertébrés et impliquée dans le contrôle du développement embryonnaire. Chez les vertébrés, plusieurs homologues du gène *Hedgehog*, comme *Sonic Hedgehog*, *Indian Hedgehog* et *Desert Hedgehog*, sont également impliqués dans la mise en place de différents tissus au cours de l'embryogenèse et la régulation des cellules hématopoïétiques primitives. La voie de signalisation Hedgehog participe à la prolifération et à la différenciation cellulaire.

Altérations	Cellules humaines			Cellules murines
	Lignées [40]	PDX	iPS / ES / CD34*	Type de modèle : Phénotype
DS-AMKL	CMK [41] CMY	[42]	iPS: Trisomie 21 [43] iPS: GATA1s [45]	Transgénique trisomie 21 : absence de leucémie [44] Rétrovirus ERG : LAL, LA érythro-mégacaryoblastique [28] Transgénique Tri21 + rétrovirus GATA1s : pas de leucémie [44] Transgénique (Tri21 & GATA1s) + rétrovirus MPL* : LAM7 [46]
OTT-MAL		[19]	iPS/ES: Lentivirus [47]	Knock-In : LAM7 avec faible pénétrance [21]
ET02-GLIS2	M07e [48]	[19]	iPS: Knock-In AAVS1 [51]	Rétrovirus : absence de maladie [34]
GATA2-HOXA9				Rétrovirus : LAM [34]
NIPBL-HOXB9				Rétrovirus : LAM [34]
NUP98-KDM5A		[19]	CD34+ CB: Lentivirus [49]	Rétrovirus : LAM [34]
MLL-AF4				Transgénique conditionnel : lymphome B
MLL-AF9		[19]		Rétrovirus & transgénique : LAM
MLL-AF10				Rétrovirus : LAM
TLS-ERG				Rétrovirus : LAM
MN1-FLI1				Rétrovirus : LAM7 [30]
BCR-ABL1	MEG-01, K562			Rétrovirus & transgénique : LAL-B, LMC
JAK2 T875N	CHRF-288-11 [50]			Rétrovirus : SMP [50]
JAK3 A572V	CMK			Rétrovirus : lymphome T [41]
n.d.	CMS, M-MOK			

Tableau 1. Modèles de LAM7 pédiatriques. Les approches expérimentales de modélisation de la pathologie LAM7 utilisant les oncogènes retrouvés dans les LAM7 pédiatriques humaines ainsi que les références associées sont indiquées. Pour les modèles à partir de cellules humaines, seuls ceux présentant un phénotype mégacaryoblastique clair sont indiqués. Lignées : lignées cellulaires permanentes établies à partir d'échantillons de patient leucémique ; PDX : modèles de xélogreffes de leucémies de patients ; iPS : cellules souches pluripotentes induites ; ES : cellules souches embryonnaires CD34* : cellules souches hématopoïétiques ; CB : sang de cordon. Pour les modèles murins, noter que le phénotype des leucémies associé à chaque oncogène est fréquemment myéloïde (LAM) autre que mégacaryoblastique (LAM7) ; DS : syndrome de Down ; LA : leucémie aiguë ; LAL : leucémie aiguë lymphoïde ; LMC : leucémie myéloïde chronique ; SMP : syndrome myéloprolifératif ; Tri21 : trisomie 21 ; GATA1s : mutant GATA1 ; MPL* : mutant MPLW515L ; *Knock-In* : insertion au locus endogène murin ; n.d. : non déterminé.

Mécanismes communs aux leucémies à mégacaryoblastes

La différenciation mégacaryocytaire terminale implique un changement dynamique de la composition et de l'activité des complexes de facteurs de transcription, avec l'acquisition d'une forte activité GATA1 et d'une faible activité ERG dans les mégacaryocytes matures (Figure 2). La protéine de fusion ET02-GLIS2 peut à elle seule imposer une forte activité de ERG et une faible activité de GATA1, ce qui participe au blocage de la différenciation des cellules. Certains modèles de LAM7 obtenus (Tableau 1) ont permis de montrer qu'une modification de l'activité du facteur ERG et de GATA1 était

un mécanisme commun au développement des LAM7 pédiatriques.

Le gène ERG, dont la surexpression peut transformer la lignée érythroïde ou mégacaryocytaire [28], est localisé sur le chromosome 21, et est donc sujet à une augmentation du dosage génique dans les cellules des patients présentant un syndrome de Down. La trisomie 21 est aussi retrouvée dans les sous-groupes de LAM7 avec une fréquence de 11 à 100 % (Figure 1B). Parallèlement, la présence dans les cellules de ces patients de fusions TLS-ERG et MN1-FLI1

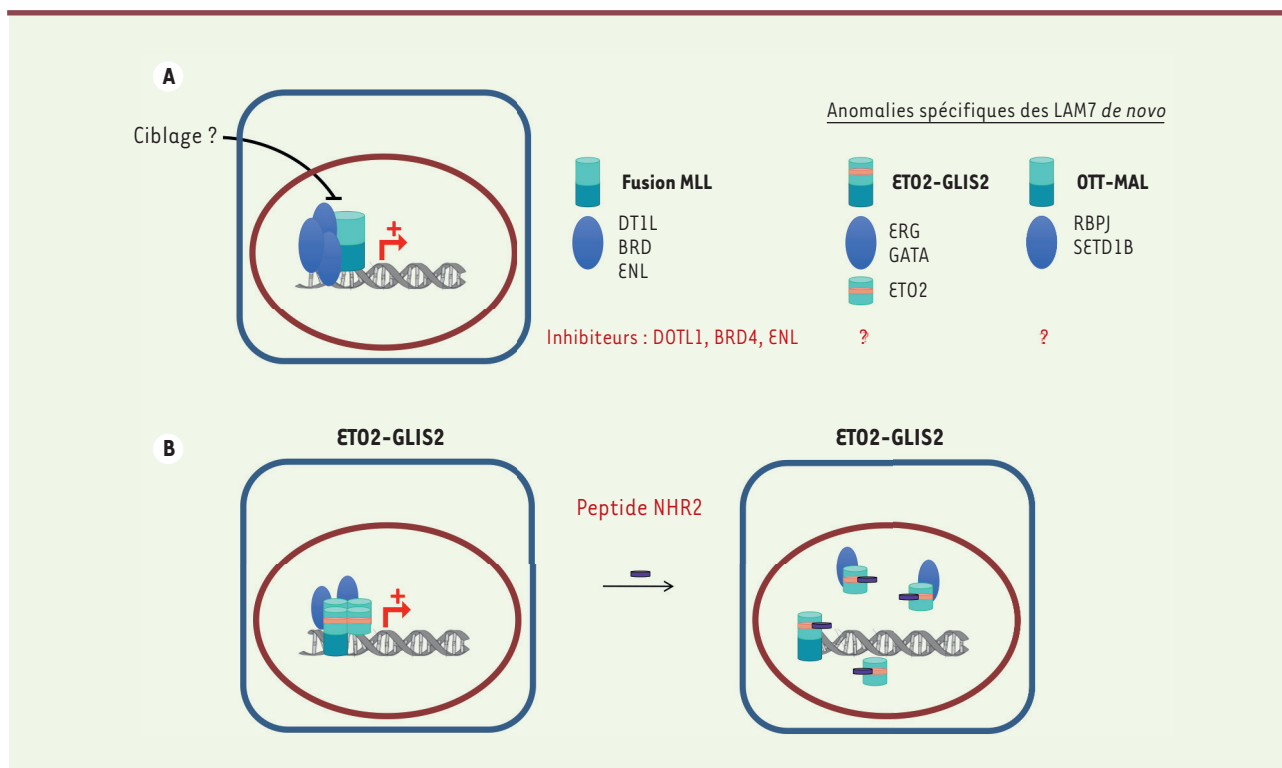


Figure 3. Stratégie thérapeutique pour le ciblage des complexes transcriptionnels anormaux. **A.** Pour les fusions MLL, des dépendances vis-à-vis de régulateurs chromatinien, incluant DOT1L, BRD et ENL ont été mises en évidence. Les LAM7 pédiatriques *de novo* présentent des oncogènes de fusion impliquant des complexes transcriptionnels et de régulation chromatinienne. Le ciblage direct de ces complexes transcriptionnels anormaux nécessitera l'identification de nouvelles molécules. **B.** Pour la fusion ET02-GLIS2, l'utilisation d'un peptide NHR2 homologue au domaine NHR2 présent sur les protéines ET02 et ET02-GLIS2 réduit les interactions entre ET02-GLIS2 et la protéine ET02 endogène.

(Figure 1, groupe Autres) montre l'implication directe des facteurs de la famille ETS, ERG et FLI1, qui présentent une forte homologie de séquence et de fonction [29]. Dans le cas de MN1-FLI1, les capacités d'autorenouvellement des progéniteurs murins *in vitro* et le phénotype mégacaryocytaire sont contrôlés par le domaine FLI1 de la molécule de fusion [30]. D'autres mutations fréquemment retrouvées dans les différents sous-groupes de LAM7 participent aux modifications d'activités d'ERG. Par exemple, les cohésines contrôlent l'organisation chromatinienne et leur inactivation fonctionnelle favorise l'accessibilité de ERG à certaines régions de l'ADN [31]. Certaines mutations d'intermédiaires de voie de signalisation comme MPL et JAK2 activent la voie des MAP kinases (MAPK) qui régule également l'activité de ERG [32]. Finalement, dans les leucémie de types DS-LAM7 et DS-like LAM7, l'activité GATA1 est altérée par les mutations menant à la production de la forme tronquée de GATA1, GATA1s, qui contribue à la transformation mégacaryoblastique et accompagne la surexpression de ERG [33].

Dans le cas des fusions impliquant les gènes *MLL*, *NUP98* et *HOX*, les bases de leur association fréquente avec les LAM7 de l'enfant restent à définir. Ces fusions ont été initialement décrites dans d'autres sous-types de leucémies, et leur expression ectopique

dans des modèles murins induit soit une leucémie myéloïde aiguë, soit une leucémie lymphoïde dépourvue de caractéristiques mégacaryocytaires typiques [34]. Leur association avec les LAM7 pourrait néanmoins résulter d'un rôle spécifique de partenaires de ces fusions au cours du développement des mégacaryocytes, comme pour *HOXA10* [35]. Cependant, l'importance d'une dérégulation de l'activité *GATA1* et *ERG* par les mutations additionnelles retrouvées chez les patients pourrait également expliquer l'association avec un phénotype mégacaryocytaire. Chez les patients atteints de LAM7 et présentant une fusion *NUP98-KDM5A* ou des fusions *HOX*, une association avec des mutations inactivatrices de *RBI* et des mutations activatrices de *MPL* sont respectivement retrouvées (Figure 1B). Sachant que *GATA1* interagit avec *RBI* et *E2F2* afin de réguler la prolifération des progéniteurs érythro-mégacaryocytaires [36], il apparaît important de définir si le rôle des mutations inactivatrices de *RBI* dans la leucémogénèse des LAM7 a un lien avec l'activité

GLOSSAIRE

ABL1 :	<i>ABL proto-oncogene 1, non-receptor tyrosine kinase</i>
AF10 :	<i>Histone lysine methyltransferase DOT1L cofactor (nomenclature officielle : MLLT10)</i>
BCR :	<i>BCR RhoGEF and GTPase activating protein</i>
BRD4 :	<i>Bromodomain containing 4</i>
CTCF :	<i>CCCTC-binding factor</i>
DNMT3A :	<i>DNA methyltransferase 3 alpha</i>
DOT1L :	<i>DOT1-like histone lysine methyltransferase</i>
MLLT1 :	<i>MLLT1, super elongation complex subunit</i>
ERG :	<i>ETS transcription factor</i>
ETO :	<i>Eight-twenty-one ou myeloid translocated gene 8</i>
ETO2 :	<i>RUNX1 translocation partner 3 (nomenclature officielle : CBFA2T3)</i>
EZH2 :	<i>Enhancer of zeste 2 polycomb repressive complex 2 subunit</i>
E2F2 :	<i>E2F transcription factor 2</i>
FLI1 :	<i>Friend leukemia virus integration 1</i>
GATA :	<i>GATA binding protein</i>
GLI :	<i>GLI family zinc finger</i>
GLIS2 :	<i>GLIS family zinc finger 2</i>
Heptad :	<i>Complexe protéique composé de 7 facteurs de transcription incluant TAL1, LYL1, LMO2, RUNX1, ERG, FLI1 et les facteurs GATA</i>
HOX :	<i>Homeobox gene</i>
ITGA2b :	<i>Integrin subunit alpha 2b</i>
JAK2 :	<i>Janus kinase 2</i>
KDM5A :	<i>Lysine demethylase 5A</i>
KIT :	<i>KIT proto-oncogene receptor tyrosine kinase</i>
MAL :	<i>Myocardin related transcription factor A (nomenclature officielle : MRTFA)</i>
MAP2K2 :	<i>Mitogen-activated protein kinase 2</i>
MLL :	<i>Lysine methyltransferase 2A (nomenclature officielle : KMT2A)</i>
MN1 :	<i>MN1 proto-oncogene, transcriptional regulator</i>
MPL :	<i>MPL proto-oncogene, thrombopoietin receptor</i>
NHR2 :	<i>Domaine « nery homology region 2 »</i>
NUP98 :	<i>Nucleoporin 98</i>
OTT :	<i>One two two (nomenclature officielle : RBM15)</i>
PF4 :	<i>Platelet factor 4</i>
RAD21 :	<i>RAD21 cohesin complex component</i>
RBI :	<i>RBI transcriptional corepressor 1</i>
RUNX1 :	<i>Runt-related transcription factor 1</i>
SRSF2 :	<i>Serine and arginine-rich splicing factor 2</i>
TAL1 :	<i>T-cell acute leukemia 1</i>
TET2 :	<i>Tet methylcytosine dioxygenase 2</i>
TLS :	<i>FUS RNA binding protein (nomenclature officielle : FUS1)</i>
TP53 :	<i>Tumor protein P53</i>

GATA1. L'activité accrue des facteurs mégacaryocytaires comme GATA ou ETS par une activation de la signalisation impliquant MPL pourrait également être à la base de l'association entre les fusions HOX et les mutations MPL dans les LAM7. Alternativement, le phénotype mégacaryoblastique dans les sous-groupes de patients présentant des fusion MLL / NUP98 / HOX, pourrait également résulter de la survenue de ces fusions dans des progéniteurs mégacaryocytaires restreints.

Ciblage thérapeutique des complexes transcriptionnels : perspectives et difficultés

Les LAM7 *de novo* sont essentiellement caractérisées par la présence d'oncogènes de fusion impliquant des partenaires de complexes transcriptionnels (Figure 3A). Ces fusions constituent des marqueurs moléculaires désormais utilisés afin d'établir précisément le diagnostic et de suivre l'évolution de la maladie résiduelle au cours du traitement. Dans le cas de la fusion ETO2-GLIS2, qui est associée à une mauvaise réponse aux chimiothérapies, cette démarche permet d'orienter la stratégie thérapeutique éventuellement vers une greffe de moelle.

L'existence de fusions spécifiques affectant des complexes transcriptionnels anormaux permet d'envisager par ailleurs de nouvelles stratégies thérapeutiques. Dans le cas des fusions MLL, des inhibiteurs des partenaires du complexe comme DOT1L, BRD4 ou MLLT1 sont ainsi en cours de tests pré-cliniques pour évaluer leur efficacité et leur spécificité.

Les membres de la famille ETO présentent la capacité de former des tétramères grâce à la présence dans leur séquence d'un domaine NHR2. Dans des cellules leucémiques présentant la fusion AML1-ETO, un sous-type cytogénétique qui est plus fréquent dans les LAM, l'expression d'un peptide identique à ce domaine interfère dans la formation des tétramères d'ETO et induit une inhibition de la prolifération cellulaire [37]. Le domaine NHR2 est fortement conservé dans les protéines de la famille ETO, et la fusion ETO2-GLIS2 est capable de former des dimères et d'interagir avec la protéine ETO2 sauvage. L'expression du peptide correspondant au domaine NHR2 dans les cellules de patients leucémiques ETO2-GLIS2 réduit l'interaction entre la fusion et ETO2 sauvage (Figure 3B), inhibe la prolifération et augmente la différenciation des blastes leucémiques *in vitro* et *in vivo* [26]. Ces résultats suggèrent que l'expression d'un peptide NHR2 et l'interférence avec les complexes transcriptionnels anormaux impliquant une protéine de fusion pourraient représenter une stratégie d'inhibition dans les LAM7. Cependant, il sera nécessaire de définir si la stabilité des peptides ainsi que leur ciblage des complexes ETO endogènes, comme on peut l'attendre, représentent une stratégie thérapeutique acceptable chez les patients ou si le développement d'autres méthodes d'interférence transcriptionnelle avec ces complexes sera nécessaire. L'étude de la fusion ETO2-GLIS2 met en évidence le rôle d'une dérégulation de complexes transcriptionnels multi-protéiques et d'une activité GLIS2 aber-

rante dans la transformation des LAM7 de l'enfant. L'implication de GLIS2 dans le phénotype d'autres leucémies (par exemple les leucémies associées à la fusion MOZ-TIF2) [38] suggère un rôle plus large des facteurs GLIS dans l'hématopoïèse normale et pathologique. Il reste également à définir les bases cellulaires et moléculaires de l'association spécifique de certaines fusions avec les leucémies de l'enfant.

REMERCIEMENTS

Ce travail est soutenu par l'Institut National du Cancer (PLBIO-2014-176), l'Association Laurette Fugain (ALF-2015/13), la Fédération Enfants et Santé et la Société Française de Lutte Contre les Cancers et les Leucémies de l'Enfant et l'Adolescent (SFCE: Projet CAMELIAT), le SIRIC-SOCRATE (INCa-DGOS-INSEERM 6043), la Fondation pour la Recherche Médicale (FRM-ING20150532273), Cancéropôle Ile de France (à CL et Emergence 2015) et le PAIR-Pédiatrie 2017 (Cancéropôle-INCA: projet CONNECT-AML). L'équipe de TM est labellisée Ligue contre le cancer.

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

SUMMARY

Pediatric *de novo* acute megakaryoblastic leukemia: an affair of complexes

Pediatric acute megakaryoblastic leukemia (AMKL) are generally associated with poor prognosis and the expression of fusion oncogenes involving transcriptional regulators. Recent results indicate that the ET02-GLIS2 fusion, associated with 25-30 % of pediatric AMKL, binds and alters the activity of regulatory regions of gene expression, called "enhancers", resulting in the deregulation of GATA and ETS factors essential for the development of hematopoietic stem cells. An imbalance in GATA/ETS factor activity is also found in other AMKL subgroups. This review addresses the transcriptional bases of transformation in pediatric AMKL and therapeutic perspectives.

RÉFÉRENCES

- Stik G, Petit L, Charbord P, et al. Vésicules extracellulaires stromales et régulation des cellules souches et progéniteurs hématopoïétiques. *Med Sci (Paris)* 2018 ; 34 : 114-6.
- Pimkin M, Kossenkov AV, Mishra T, et al. Divergent functions of hematopoietic transcription factors in lineage priming and differentiation during erythro-megakaryopoiesis. *Genome Res* 2014 ; 24 : 1932-44.
- Pott S, Lieb JD. What are super-enhancers? *Nat Genet* 2015 ; 47 : 8-12.
- Whyte WA, Orlando DA, Hnisz D, et al. Master transcription factors and mediator establish super-enhancers at key cell identity genes. *Cell* 2013 ; 153 : 307-19.
- Wilson NK, Foster SD, Wang X, et al. Combinatorial transcriptional control in blood stem/progenitor cells: genome-wide analysis of ten major transcriptional regulators. *Cell Stem Cell* 2010 ; 7 : 532-44.
- Debili N, Vainchenker W. De macro à micro : l'histoire de la plaquette. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 467-9.
- Elagib KE, Racke FK, Mogass M, et al. RUNX1 and GATA-1 coexpression and cooperation in megakaryocytic differentiation. *Blood* 2003 ; 101 : 4333-41.
- Doré LC, Chlon TM, Brown CD, et al. Chromatin occupancy analysis reveals genome-wide GATA factor switching during hematopoiesis. *Blood* 2012 ; 119 : 3724-33.
- Huang J, Liu X, Li D, et al. Dynamic control of enhancer repertoires drives lineage and stage-specific transcription during hematopoiesis. *Dev Cell* 2016 ; 36 : 9-23.
- Lemarchandel V, Ghysdael J, Mignotte V, et al. GATA and Ets cis-acting sequences mediate megakaryocyte-specific expression. *Mol Cell Biol* 1993 ; 13 : 668-76.
- Fujiwara T, O'Geen H, Keles S, et al. Discovering hematopoietic mechanisms through genome-wide analysis of GATA factor chromatin occupancy. *Mol Cell* 2009 ; 36 : 667-81.
- Tripic T, Deng W, Cheng Y, et al. SCL and associated proteins distinguish active from repressive GATA transcription factor complexes. *Blood* 2009 ; 113 : 2191-201.
- Wei Y, Liu S, Lausen J, et al. A TAF4-homology domain from the corepressor ETO is a docking platform for positive and negative regulators of transcription. *Nat Struct Mol Biol* 2007 ; 14 : 653-61.
- Goardon N, Lambert JA, Rodriguez P, et al. ETO2 coordinates cellular proliferation and differentiation during erythropoiesis. *EMBO J* 2006 ; 25 : 357-66.
- Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, et al. Genomic classification and prognosis in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2016 ; 374 : 2209-21.
- Creutzig U, Büchner T, Sauerland MC, et al. Significance of age in acute myeloid leukemia patients younger than 30 years: a common analysis of the pediatric trials AML-BFM 93/98 and the adult trials AMLCG 92/99 and AMLSG HD93/98A. *Cancer* 2008 ; 112 : 562-71.
- Teyssier A-C, Lapillonne H, Pasquet M, et al. Acute megakaryoblastic leukemia (excluding Down syndrome) remains an acute myeloid subgroup with inferior outcome in the French ELAM02 trial. *Pediatr Hematol Oncol* 2017 ; 34 : 425-7.
- Roberts I, Izraeli S. Haematopoietic development and leukaemia in Down syndrome. *Br J Haematol* 2014 ; 167 : 587-99.
- Thiollier C, Lopez CK, Gerby B, et al. Characterization of novel genomic alterations and therapeutic approaches using acute megakaryoblastic leukemia xenograft models. *J Exp Med* 2012 ; 209 : 2017-31.
- Rooij JDE de, Branstetter C, Ma J, et al. Pediatric non-Down syndrome acute megakaryoblastic leukemia is characterized by distinct genomic subsets with varying outcomes. *Nat Genet* 2017 ; 49 : 451-6.
- Bernard OA, Mercher T. Activation de la voie Notch par OTT-MAL dans les leucémies aiguës mégacaryoblastiques. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 676-8.
- Faber J, Kvitsov AV, Stubbs MC, et al. HOXA9 is required for survival in human MLL-rearranged acute leukemias. *Blood* 2009 ; 113 : 2375-85.
- Fischer MA, Moreno-Miralles I, Hunt A, et al. Myeloid translocation gene 16 is required for maintenance of haematopoietic stem cell quiescence. *EMBO J* 2012 ; 31 : 1494-505.
- Hamlett I, Draper J, Strouboulis J, et al. Characterization of megakaryocyte GATA1-interacting proteins: the corepressor ETO2 and GATA1 interact to regulate terminal megakaryocyte maturation. *Blood* 2008 ; 112 : 2738-49.
- Holmfeldt P, Ganuza M, Marathe H, et al. Functional screen identifies regulators of murine hematopoietic stem cell repopulation. *J Exp Med* 2016 ; 213 : 433-49.
- Thirant C, Ignacimoutou C, Lopez CK, et al. ETO2-GLIS2 hijacks transcriptional complexes to drive cellular identity and self-renewal in pediatric acute megakaryoblastic leukemia. *Cancer Cell* 2017 ; 31 : 452-65.
- Gröschel S, Sanders MA, Hoogenboezem R, et al. A single oncogenic enhancer rearrangement causes concomitant EVI1 and GATA2 deregulation in leukemia. *Cell* 2014 ; 157 : 369-81.
- Carmichael CL, Metcalf D, Henley KJ, et al. Hematopoietic overexpression of the transcription factor Erg induces lymphoid and erythro-megakaryocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012 ; 109 : 15437-42.
- Kruse EA, Loughran SJ, Baldwin TM, et al. Dual requirement for the ETS transcription factors Fli-1 and Erg in hematopoietic stem cells and the megakaryocyte lineage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009 ; 106 : 13814-9.
- Wenge DV, Felipe-Fumero E, Angenendt L, et al. MN1-Fli1 oncofusion transforms murine hematopoietic progenitor cells into acute megakaryoblastic leukemia cells. *Oncogenesis* 2015 ; 4 : e179.
- Mazumdar C, Shen Y, Xavy S, et al. Leukemia-associated cohesin mutants dominantly enforce stem cell programs and impair human hematopoietic progenitor differentiation. *Cell Stem Cell* 2015 ; 17 : 675-88.
- Huang Y, Thoms J a. I, Tursky ML, et al. MAPK/ERK2 phosphorylates ERG at serine 283 in leukemic cells and promotes stem cell signatures and cell proliferation. *Leukemia* 2016 ; 30 : 1552-61.
- Stankiewicz MJ, Crispino JD. ETS2 and ERG promote megakaryopoiesis and synergize with alterations in GATA-1 to immortalize hematopoietic progenitor cells. *Blood* 2009 ; 113 : 3337-47.
- Dang J, Nance S, Ma J, et al. AMKL chimeric transcription factors are potent inducers of leukemia. *Leukemia* 2017 ; 31 : 2228-34.
- Magnusson M, Brun ACM, Miyake N, et al. HOXA10 is a critical regulator for hematopoietic stem cells and erythroid/megakaryocyte development. *Blood* 2007 ; 109 : 3687-96.
- Kadri Z, Shimizu R, Ohneda O, et al. Direct binding of pRb/E2F-2 to GATA-1 regulates maturation and terminal cell division during erythropoiesis. *PLoS Biol* 2009 ; 7 : e1000123.

RÉFÉRENCES

37. Wichmann C, Becker Y, Chen-Wichmann L, et al. Dimer-tetramer transition controls RUNX1/ETO leukemogenic activity. *Blood* 2010 ; 116 : 603-13.
38. Shima H, Takamatsu-Ichihara E, Shino M, et al. Ring1A and Ring1B inhibit expression of Glis2 to maintain murine MOZ-TIF2 AML stem cells. *Blood* 2018 ; 131 : 1833-45.
39. Hara Y, Shiba N, Ohki K, et al. Prognostic impact of specific molecular profiles in pediatric acute megakaryoblastic leukemia in non-Down syndrome. *Genes Chromosomes Cancer* 2017 ; 56 : 394-404.
40. Drexler HG. *Guide to Leukemia-Lymphoma Cell Lines*. Braunschweig, Germany : German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, 2005
41. Walters DK, Mercher T, Gu T-L, et al. Activating alleles of JAK3 in acute megakaryoblastic leukemia. *Cancer Cell* 2006 ; 10 : 65-75.
42. Saida S, Watanabe K, Sato-Otsubo A, et al. Clonal selection in xenografted TAM recapitulates the evolutionary process of myeloid leukemia in Down syndrome. *Blood* 2013 ; 121 : 4377-87.
43. Chou ST, Byrka-Bishop M, Tober JM, et al. Trisomy 21-associated defects in human primitive hematopoiesis revealed through induced pluripotent stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012 ; 109 : 17573-8.
44. Alford KA, Slender A, Vanes L, et al. Perturbed hematopoiesis in the Tc1 mouse model of Down syndrome. *Blood* 2010 ; 115 : 2928-37.
45. Byrka-Bishop M, VanDorn D, Campbell AE, et al. Pluripotent stem cells reveal erythroid-specific activities of the GATA1 N-terminus. *J Clin Invest* 2015 ; 125 : 993-1005.
46. Malinge S, Bliss-Moreau M, Kirsammer G, et al. Increased dosage of the chromosome 21 ortholog Dyrk1a promotes megakaryoblastic leukemia in a murine model of Down syndrome. *J Clin Invest* 2012 ; 122 : 948-62.
47. Ayllón V, Vogel-González M, González-Pozas F, et al. New hPSC-based human models to study pediatric Acute Megakaryoblastic Leukemia harboring the fusion oncogene RBM15-MKL1. *Stem Cell Res* 2017 ; 19 : 1-5.
48. Gruber TA, Larson Gedman A, Zhang J, et al. An Inv(16)(p13.3q24.3)-encoded CBFA2T3-GLIS2 fusion protein defines an aggressive subtype of pediatric acute megakaryoblastic leukemia. *Cancer Cell* 2012 ; 22 : 683-97.
49. Cardin S, Laramee L, MacRae T, et al. Modeling of pediatric acute megakaryoblastic leukemia using cord blood stem/progenitor cells. *Blood* 2016 ; 128 : 1535.
50. Mercher T, Wernig G, Moore SA, et al. JAK2T875N is a novel activating mutation that results in myeloproliferative disease with features of megakaryoblastic leukemia in a murine bone marrow transplantation model. *Blood* 2006 ; 108 : 2770-9.
51. Salvatore NB, Cambot M, Lopez CK, et al. The ET02-GLIS2 fusion oncogene alters early human hematopoiesis in an induced pluripotent stem cells-derived model of pediatric acute megakaryoblastic leukemia. *Blood* 2017 ; 130 (suppl 1) : 2512.

TIRÉS À PART

T. Mercher



Créée en 2009,
l'Association Médecine/Pharmacie Sciences
(AMPS) a pour objectif principal de
rassembler les étudiant(e)s
des double cursus
médecine-sciences
et pharmacie-sciences de France

L'AMPS encourage les approches multidisciplinaires et permet aux étudiants des différentes facultés, ayant des compétences différentes, d'échanger leurs idées et d'interagir entre eux, via un groupe virtuel (sur les réseaux sociaux) performant, des dîners doubles cursus mensuels et un congrès annuel.

Nous comptons parmi nos membres des étudiants en master, des doctorants, des internes et des cliniciens. Cette formidable diversité permet de mettre en commun les différentes expertises scientifiques et cliniques.

Elle permet également aux plus jeunes de bénéficier des conseils précieux de leurs aînés.

La *newsletter*, envoyée à tous les membres chaque mois, est un outil que chacun utilise au mieux.

<http://www.amps-asso.fr>

Groupe facebook : AMPS (Association Médecine Pharmacie Sciences)

Sur Twitter : @AssoAMPS



Tarifs d'abonnement *m/s* - 2018

Abonnez-vous
à médecine/sciences

> Grâce à *m/s*, vivez en direct les progrès
des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement
page 1010 dans ce numéro de *m/s*

