



Biblio: Épigénétique et LALT

Dr. Thomas Steimlé

May 25, 2023

Article

Elevated enhancer-oncogene contacts and higher oncogene expression levels by recurrent *CTCF* inactivating mutations in acute T cell leukemia

Willem K. Smits,^{1,10} Carlo Vermeulen,^{2,3,4,10} Rico Hagelaar,^{1,2,10} Shunsuke Kimura,⁵ Eric M. Vroegindeweij,¹ Jessica G.C.A.M. Buijs-Gladdines,¹ Ellen van de Geer,¹ Marjon J.A.M. Verstegen,^{2,3} Erik Splinter,⁶ Simon V. van Reijmersdal,¹ Arjan Buijs,⁷ Niels Galjart,⁸ Winfried van Eyndhoven,⁹ Max van Min,⁶ Roland Kuiper,^{1,7} Patrick Kemmeren,¹ Charles G. Mullighan,⁵ Wouter de Laat,^{2,3} and Jules P.P. Meijerink^{1,11,*}

¹Princess Máxima Center for Pediatric Oncology, Utrecht, the Netherlands

²Oncode Institute, Utrecht, the Netherlands

³Hubrecht Institute-KNAW, Utrecht, the Netherlands

⁴Center for Molecular Medicine, University Medical Center Utrecht, Utrecht, the Netherlands

⁵Laboratory of Pathology, St. Jude's Children's Research Hospital, Memphis TN, USA

⁶Cergentis BV, Utrecht, the Netherlands

⁷Department of Genetics, University Medical Center Utrecht, Utrecht, the Netherlands

⁸Department of Cell Biology, Erasmus University Medical Center Rotterdam, Rotterdam, the Netherlands

⁹Diagnostics and Genomics Group, Agilent Technologies, Amstelveen, the Netherlands

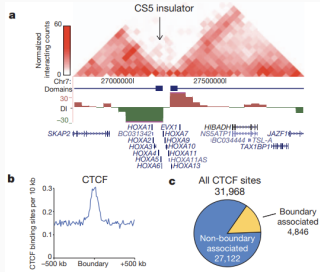
¹⁰These authors contributed equally

¹¹Lead contact

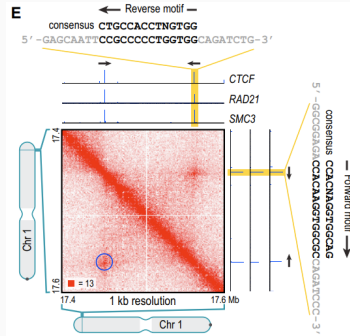
*Correspondence: jules.meijerink@acerta-pharma.com

<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112373>

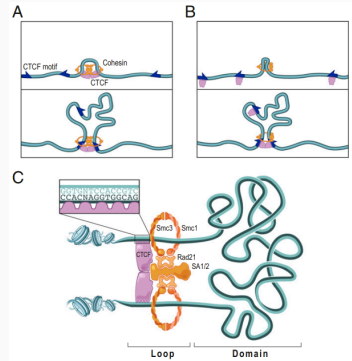
CTCF et structure chromatinienne



CTCF binding sites in HoxA locus (Dixon et al., 2012)



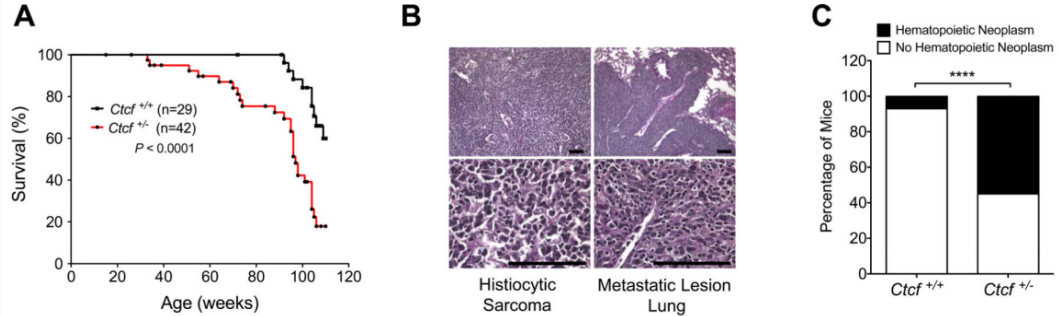
Chromatin looping in Hi-C maps (Rao et al., 2014)



CTCF-mediated chromatin loops (Sanborn et al., 2015)

CTCF et oncogénèse

L'haplo-insuffisance constitutionnelle du CTCF est impliquée dans l'oncogénèse murine (perte de fonction, suppresseur de tumeur).

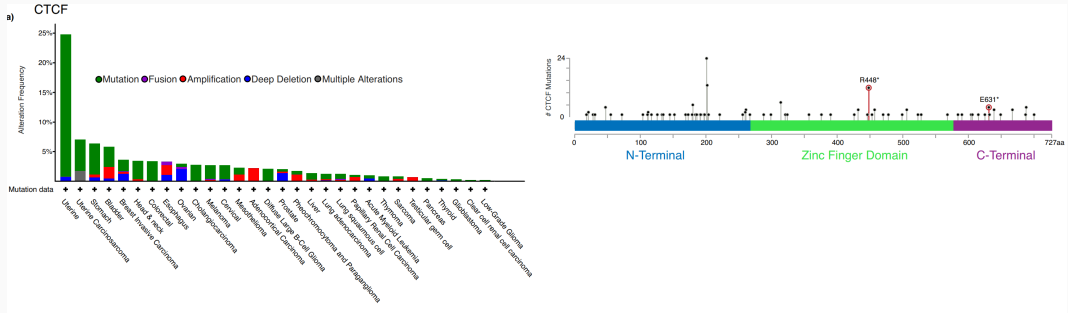


Kemp, Christopher J et al. "CTCF haploinsufficiency destabilizes DNA methylation and predisposes to cancer." Cell reports vol. 7,4 (2014): 1020-9.

doi:10.1016/j.celrep.2014.04.004

CTCF et oncogénèse

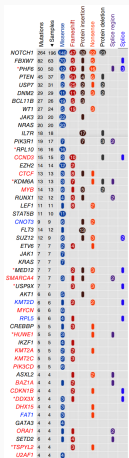
👉 Dans TCGA des mutations de tous types (SNV, SNP, SV, indels etc...). Notamment dans 57% des cancers du sein.



Debaugny, Roxanne E, and Jane A Skok. "CTCF and CTCFL in cancer." Current opinion in genetics & development vol. 61 (2020): 44-52. doi:10.1016/j.gde.2020.02.021



Dans les LALT

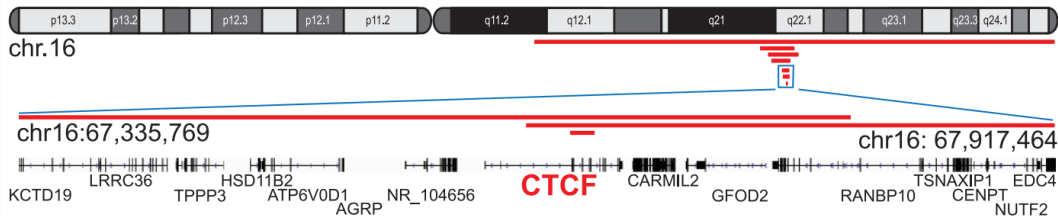


☞ Mutations tronquantes somatiques récurrentes dans les LALT ($\approx 5\%$).



Résultats — Observations

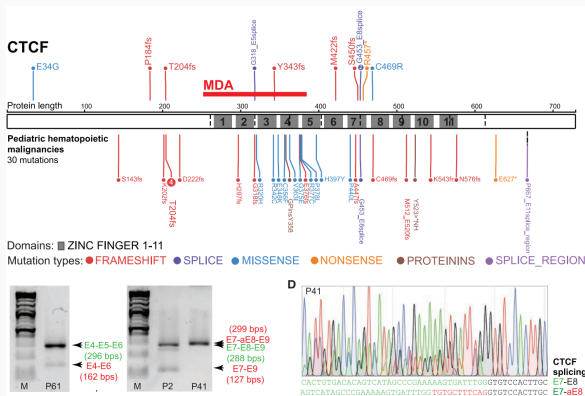
- 👉 **CGH** 8% ($n = 7/92$) la zone minimale observées des délétions 16q inclus les exons 1 à 4 de *CTCF*.
- 👉 **MLPA** 9% ($n = 18/181$) des cas présentent une délétion hétérozygote de *CTCF*.





Résultats — Observations

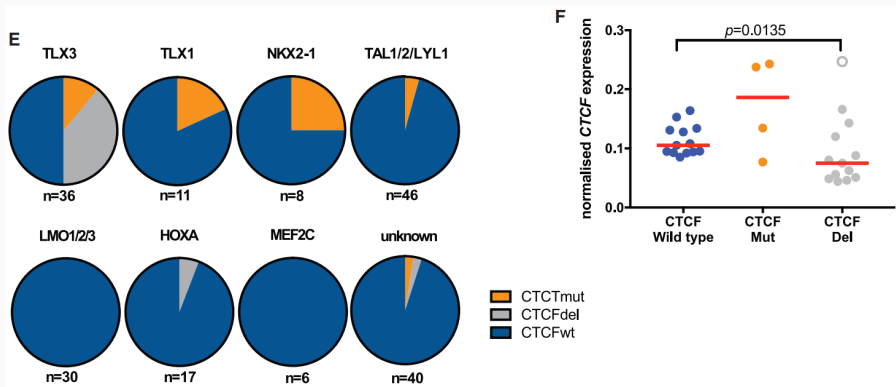
- En *single molecule molecular inversion probe* smMIP: 6 % de mutations supplémentaires (n = 11, hétérozygotes = VAF [34-50] %).
- Absence de mutation homozygote (pas de cas DEL + mutations).





Résultats — Observations

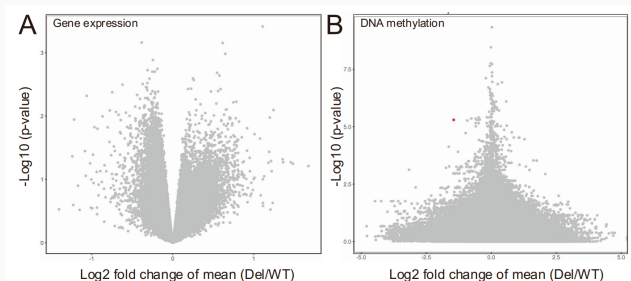
- Les délétions du *CTCF* sont associées à sa plus faible expression (exclusion des délétions minimales).
- Les mutations sont associées dans cette cohorte rétrospective aux réarrangements de *TLX3* (53 %).





Résultats — Observations

- 👉 Affymetrix **expression array** (cluster TLX selon Homminga 2011 n = 25, içi 9 alt vs 11 wt): pas de gène DE.
- 👉 Affymetrix **methylation array** (853,307 sondes, 4 vs 3): différentiel sur un unique site.



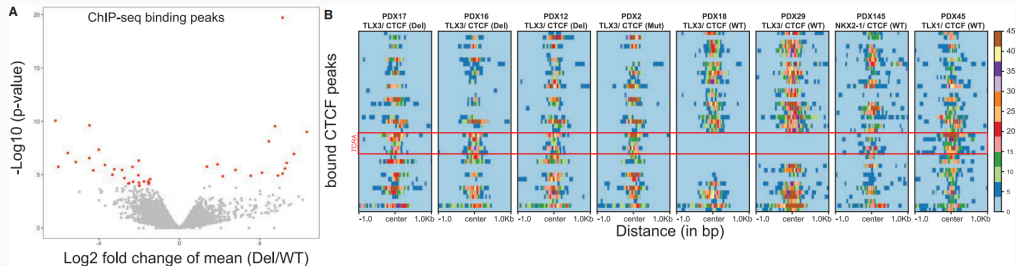
Homminga, Irene et al. "Integrated transcript and genome analyses reveal NKX2-1 and MEF2C as potential oncogenes in T cell acute lymphoblastic leukemia." Cancer cell vol.

19,4 (2011): 484-97. doi:10.1016/j.ccr.2011.02.008



Résultats — Observations

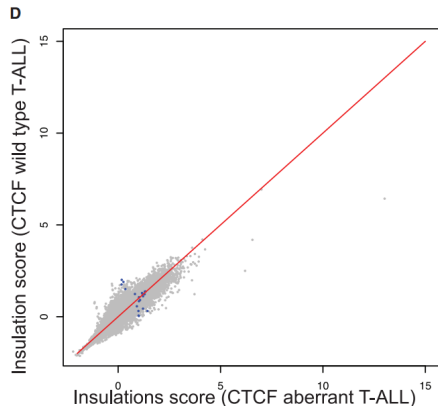
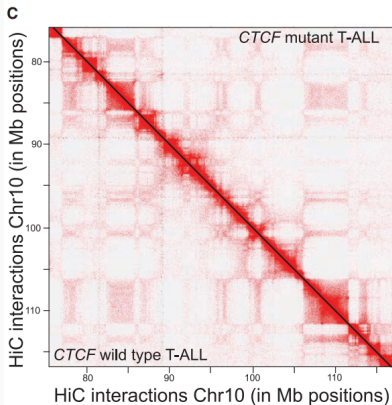
- 👉 **ChIP *CTCF*** (4 alt TLX3_r vs 4 wt, 2 TLX3_r + TLX1_r + NKX2-1_r): différentiel de seulement 41 pics.
- 👉 L'article nous fait remarquer que 12% de ces pics appartiennent au **locus *TRAD***, TRA_r dans deux contrôles. Résultat que l'auteur trouve cohérent avec la littérature ayant établi un rôle du *CTCF* dans le rearrangement du *TRAD*.





Résultats — Observations

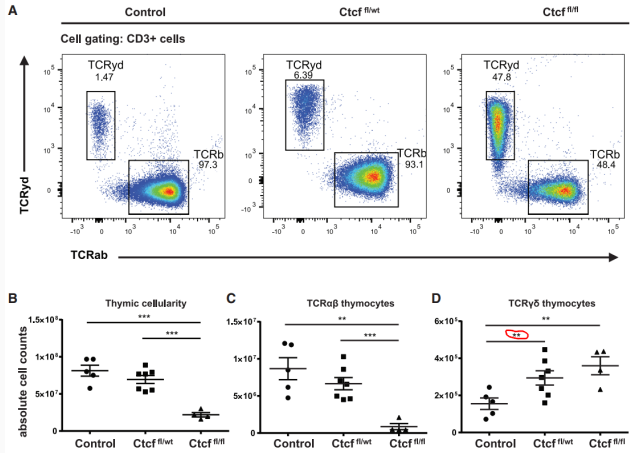
- 👉 **HiC** (4 alt TLX3_r vs 2 wt TLX3_r): pas de différences de domaines d'association.
- 👉 **Pas de différence d'expression, de méthylation, de liaison du CTCF à la chromatine ou la formation de TAD en cas d'haplo-insuffisance CTCF.**





- Souris Lck-Cre *CTCF*

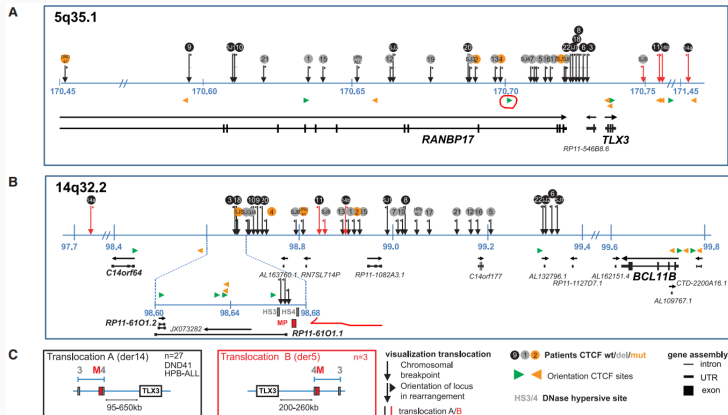
👉 L'haplo-insuffisance
augmente le nombre
absolu de LT $\gamma\delta$.





Résultats — Observations

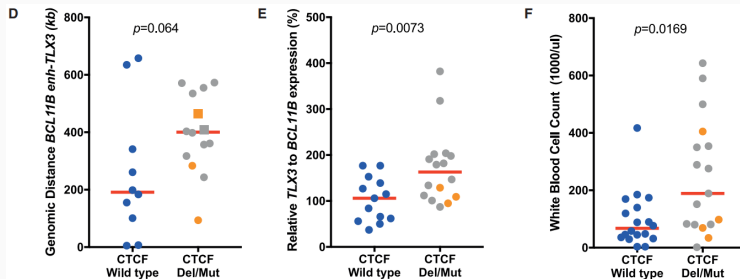
- ➡ Séquençage des TLX3_r: pour 31 patients le partenaire est *BCL11B*.
- ➡ La majorité des BP positionnent l'enhanceur de *BCL11B* en amont de *TLX3*.
- ➡ en 171.70 préservation d'un locus CTCF pouvant jouer un rôle d'isolant à l'enhanceur.





Résultats — Observations

Hypothèse: Le locus CTCF compris entre l'enhanceur de *BCL11B* et *TLX3* en cas d'haplo-insuffisance du CTCF $\Rightarrow$ levée de cette inhibition.

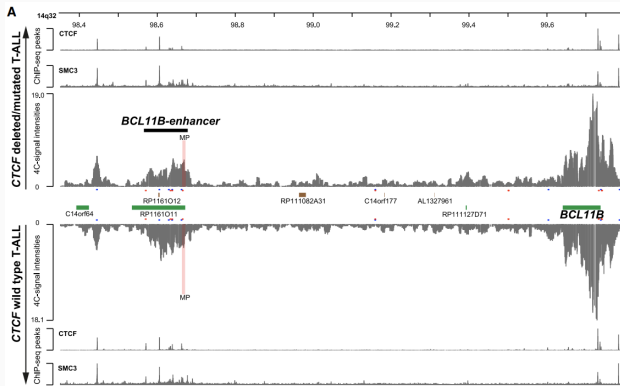


- ☞ Dans les cas mutés *CTCF* la distance entre l'enhanceur de *BCL11B* et *TLX3* est plus grande (inclus le locus *CTCF*).
- ☞ Augmentation de l'expression de *TLX3* relativement à *BCL11B*.
- ☞ Augmentation de la quantité de lymphocytes au diagnostic.



Résultats — Observations

- 4C-seq (n = 9, TLX3_r, 7 *CTCF* alt, 2 WT).
 - Allèle non réarrangé.
Intensité du signal proportionnelle aux interactions avec le promoteur de *BCL11B*.
- 👉 Pas de différence *CTCF* WT vs Alt.





Résultats — Observations

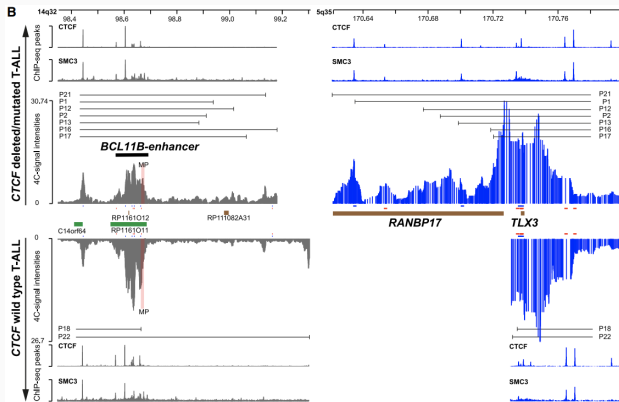
- Intensité du signal proportionnelle aux interactions avec le promoteur de *TLX3*. Allèle réarrangé.



Persistance des interactions entre le promoteur de *TLX3* et le locus CTCF.

Hypothèse précédente infirmée.

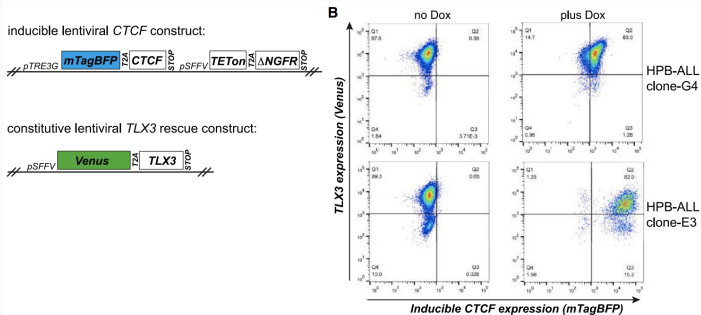
- Complément d'hypothèse: **compétition d'interactions** entre promoteur de *TLX3* ↔ enhanceur de *BCL11B* et promoteur de *TLX3* ↔ site CTCF.





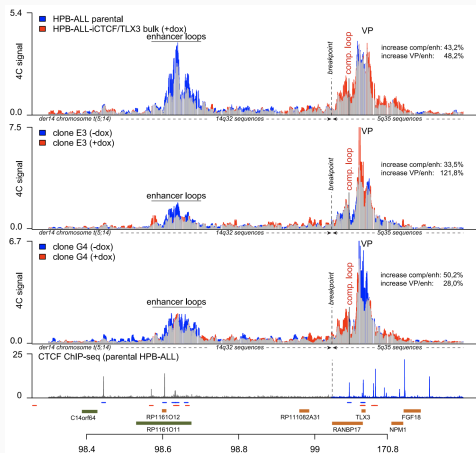
Résultats — Expérimentations

- Lignée HBP-ALL qui présente une translocation *BCL11B-TLX3* préservant le locus CTCF et ayant une haplo-insuffisance CTCF.
- Transduction d'un *CTCF* tagué d'expression inducible par doxycycline ainsi que d'un *TLX3* d'expression constitutionnelle également tagué (éviter la perte de viabilité).
- Dérive les clones G4 et E3 ayant des expressions inducibles de *CTCF* de niveau modéré et élevé.





Résultats — Expérimentations

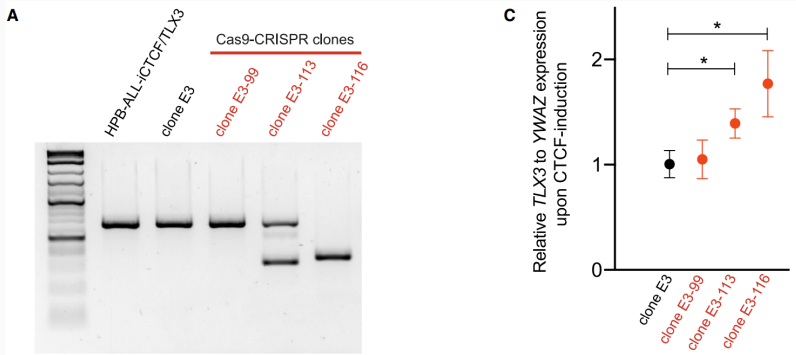


- Intensité des interactions entre promoteur de *TLX3* et autres positions.

2^{ème} ligne: En présence de CTCF augmentation des interactions promoteur de *TLX3* ↔ locus CTCF et diminution des interactions promoteur *TLX3* ↔ enhanceur de *BCL11B*.



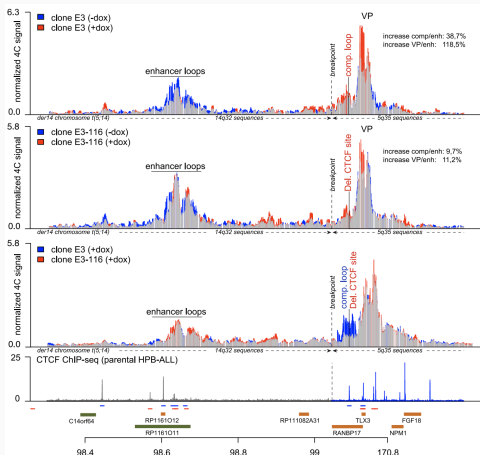
- Délétion par CRISPR-Cas9 du locus CTCF faisant compétition du génome de la lignée HBP-ALL E3.



- ➡ Expression relativement plus forte de *TLX3* en cas de délétion du locus CTCF malgré la présence de CTCF.



Résultats — Expérimentations



- Intensité des interactions entre promoteur de *TLX3* et autres positions.

➡ 3^{ème} ligne: En comparant E3 + dox (+ CTCF) et E3-116 (- locus CTCF) + dox (+ CTCF), on remarque une nette diminution des interactions au niveau du locus CTCF (délété).

Conclusions

- Corrélation entre altération du *CTCF* et translocation *BCL11B-TLX3* notamment celles épargnant un locus *CTCF*.
- Au niveau du néo-chromosome formations d'interactions promoteur de *TLX3* ↔ locus *CTCF* & promoteur de *TLX3* ↔ enhanceur de *BCL11B*.
- La présence de la protéine *CTCF* WT augmentent les interactions *TLX3* ↔ locus *CTCF* de façon compétitive aux interactions promoteur de *TLX3* ↔ enhanceur de *BCL11B*.
- 👉 La perte du locus *CTCF* ou de l'expression de la protéine permet une plus forte expression de *TLX3* par levée de l'inhibition compétitive exercée par le locus *CTCF* au dépend de l'enhanceur de *BCL11B*.

Questions ?

Télécharger le pdf de la présentation ➡ 

