

A személyre szabott terápia új lehetősége follicularis lymphomában – Az EZH2 hiszton metil-transzferáz gátlása

Bátai Bence¹, Lévai Dóra², Gaál-Weisinger Júlia³, Balogh Alexandra⁴,
Gángó Ambrus¹, Bödör Csaba¹, Nagy Noémi^{1,*}

¹Semmelweis Egyetem, I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet,
MTA-SE Lendület Molekuláris Onkohematológiai Kutatócsoport, Budapest

²Országos Onkológiai Intézet, Budapest

³Semmelweis Egyetem, I. sz. Belgyógyászati Klinika, Budapest

⁴Semmelweis Egyetem, III. sz. Belgyógyászati Klinika, Budapest

A follicularis lymphoma terápiájában a rituximab alkalmazásának köszönhetően a betegek várható élettartama számottevően megnőtt, azonban a betegség jelenlegi tudásunk szerint továbbra is gyógyíthatatlan. Az utóbbi 10 év kutatásainak eredményeként sikerült feltárni a follicularis lymphoma genetikai hátterét, ami a betegség rizikóbecslésének és terápiájának szempontjából is kiemelkedő fontossággal bír. A számos jelátviteli útvonalban azonosított visszatérő mutációk közül napjainkig a legnagyobb gyakorlati jelentőségűnek az epigenetikai szabályozást érintő mutációk bizonyultak. Az EZH2 hiszton metil-transzferáz a funkcióyeréssel járó mutációi a follicularis lymphomás betegek mintegy 20%-ában ígéretes terápiás célponttá teszik. Több gyógyszercég is szelektív EZH2-inhibitorok fejlesztésébe kezdett, amelyek közül az Epizyme tazemetostat (EPZ6438) nevű EZH2 gátlószere bizonyult a leghatékonyabbnak, melyet mára II. fázisú klinikai tanulmányokban alkalmaznak follicularis lymphoma kezelésére. *In vitro* kísérletek alapján a szelektív EZH2-inhibitorkezelés fokozott mértékben csökkentette az EZH2-mutációt hordozó sejtek proliferációját a vad típusú sejtekhez képest. A klinikai vizsgálatok megerősítették az EZH2-mutációval rendelkező betegek fokozott érzékenységét a tazemetostatra, amellyel II. fázisú klinikai tanulmányokban kezelve az EZH2-mutációt hordozó follicularis lymphomás betegeket, az esetek 71%-ánál teljes válaszadási arányt értek el. Az EZH2-gátló terápia további sikeres klinikai eredmények esetén a célzott, mutációs státuszon alapuló epigenetikai terápia prototípusa lehet follicularis lymphomában, mely reményeink szerint tovább növeli a betegek várható élettartamát, továbbá a jövőben lehetőséget nyújthat kemoterápiamentes protokollok kialakítására is.

Kulcsszavak: EZH2, célzott terápia, epigenetika, follicularis lymphoma

New perspective in the personalized medicine of follicular lymphoma – Targeting the EZH2 histon methyltransferase

Introducing rituximab to the therapy of follicular lymphoma patients resulted in prolonged survival, although the disease is still considered incurable. Advances in the field of genomic profiling of follicular lymphoma in the past 10 years led to identification of recurring mutations targeting some of the pivotal pathways responsible for lymphomagenesis. Mutations affecting the epigenetic regulation were found to have great importance in the prognosis and therapy of follicular lymphoma. Targeting the EZH2 histon methyltransferase may be an appealing therapeutic approach in 20% of follicular lymphoma patients harboring a gain-of-function EZH2 mutation. The discovery of the EZH2 mutations was rapidly followed by development of selective EZH2 inhibitors; different pharmaceutical companies developed several EZH2 inhibitors. Out of these, the selective EZH2 inhibitor tazemetostat (Epizyme, EPZ6438) emerges as the most promising candidate. Tazemetostat is already being tested in phase II clinical trials for the treatment of follicular lymphoma patients. Based on *in vitro* experiments, targeting EZH2 resulted in decreased proliferation of the EZH2 mutant cell lines. Clinical trials evaluating effectivity of tazemetostat in follicular lymphoma confirmed enhanced sensitivity of EZH2 mutant patients, leading to an objective response rate of 71% in the EZH2-mutated patient group. Indeed,

* Levelezési cím: Dr. Nagy Noémi, Semmelweis Egyetem, I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, 1085 Budapest, Üllői út 26.
Tel.: 1/215-7300/54473, E-mail: nagy.noemi@med.semmelweis-univ.hu

the EZH2 inhibitor therapy may pave the way to the personalized therapy of follicular lymphoma, representing the first example of targeted epigenetic therapy, ultimately leading to improved survival of patients and development of chemotherapy free regimens in the treatment of follicular lymphoma.

Keywords: EZH2, targeted therapy, epigenetics, follicular lymphoma

(Beérkezett: 2018. július 27.; elfogadva: 2018. augusztus 16.)

Rövidítések

ARID1A = AT-rich interaction domain 1A; BCL2 = B-cell Lymphoma 2; DLBCL = Diffuse large B-cell lymphoma (Diffúz nagy B-sejtes lymphoma); CARD11 = Caspase Recruitment Domain Family Member 11; CREBBP = CREB Binding Protein; DZNep = 3-deazaneplanocin A; ECOG = Eastern Cooperative Oncology Group; EED = Embryonic Ectoderm Development; EP300 = E1A Binding Protein P300; H3K27 = H3 hiszton 27-es aminosav pozíciójú lizin; EZH2 = Enhancer of Zeste Homologue 2; FDA = Food and Drug Administration; FL = Follicular lymphoma (Follicularis lymphoma); FLIPI = Follicular Lymphoma International Prognostic Index; FFS = Failure-free survival (Kudarmentes túlélés); GSK = GlaxoSmithKline; IGF-1R = Insulin-like Growth Factor 1 Receptor; IRF4 = Interferon Regulatory Factor 4; KMT2D = Lysine N-Methyltransferase 2D; MAPK = Mitogen Activated Protein Kinase; MEF2B = Myocyte Enhancer Factor 2B; NGS = Next Generation Sequencing (Újgenerációs szekvenálás); ORR = Objective response rate (Teljes válaszadási arány); OS = Overall survival (Teljes túlélés); PFS = Progression-free survival (Progressziómentes túlélés); PI3K = Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase; PRC2 = Polycomb repressive complex 2; PRDM1 = PR/SET Domain 1; R-CHOP = Rituximab-Cyclophosphamide-Hydroxidaunorubicin-Vincristine-Prednisone; SMARCB1 = SWI/SNF-related, matrix-associated, actin-dependent regulator of chromatin, subfamily b, member 1; SUZ12 = Suppressor of Zeste 12 Homolog

A follicularis lymphoma (FL) a leggyakoribb indolens non-Hodgkin lymphoma [1]. Napjainkban a rituximab-alapú terápia bevezetésével a betegek átlagos túlélése meghaladja a tíz évet [1, 2]. Bár indolens lefolyása miatt a kezelések egy ideig biztosítják a progressziómentes túlélést, a relapszusok kialakulása a betegség előrehaladtával elkerülhetetlen, így az FL-t mai tudásunk szerint továbbra is gyógyíthatatlan betegségnek tartjuk. A várható kimenetelét tovább rontja az agresszív, gyors lefolyású diffúz nagy B-sejtes lymphomába (DLBCL) történő transzformáció (tFL), ami rendkívül kedvezőtlen kimenetellel társul [3, 4]. A betegség patogenezisének egyik korai lépése az esetek 85%-ában megjelenő t(14;18)(q32;21) kialakulása. Az átrendeződés eredményeként a BCL2 antiapoptotikus fehérje génje a 14-es kromoszómán elhelyezkedő *IgH* gén promóterének szabályozása alá kerül, és megnő az expressziója, ami a transzlokációt hordozó sejtek fokozott túléléséhez vezet [5]. Ugyan a t(14;18) transzlokáció fontos esemény az FL patogenezisében, önma-

gában nem elegendő a betegség kialakulásához, amit az is bizonyít, hogy egészséges emberek B-sejtjeinek kis részében is megtalálható a *Bcl2/IgH* génfúzió [6].

Bár intenzív kutatások tárgyát képezte, sokáig nem sikerült azonosítani a betegség patogenezisében szerepet játszó további jelátviteli útvonalakat és molekulákat. Az FL genetikai hátterének részletes feltérképezésében az újgenerációs szekvenálás (NGS) megjelenése hozott áttörést a 2000-es évek végén. A teljes genomsekválás és teljes exomsekválás alapú tanulmányok segítségével lehetőség nyílt az FL sejtek genomjának megismerésére, ami az addig rejtve maradt genetikai aberrációk feltáráshoz vezetett. Az eredmények megdöbbentőek voltak: egy epigenetikai diszfunkción alapuló malignitás képe rajzolódott ki a kutatások eredményei alapján [7, 8]. Kiderült, hogy valamennyi FL-lel diagnosztizált beteg legalább egy epigenetikai szabályozó molekula mutációját, úgynevezett epimutációt hordoz [7, 9]. Az epigenetikai gépezet komponensein túl, számos egyéb jelátviteli útról is megállapították (JAK/STAT, NFκB vagy mTOR jelátviteli útvonalak), hogy mutációik fontos szerepet játszanak az FL patogenezisében, amelyek közül több molekula is ígéretes terápiás célpontként jelenik meg. Jelen összefoglalóban az EZH2 hiszton metil-transzferáz mutációinak szerepét vesszük górcső alá az FL patogenezisének és célzott terápiájának vonatkozásában.

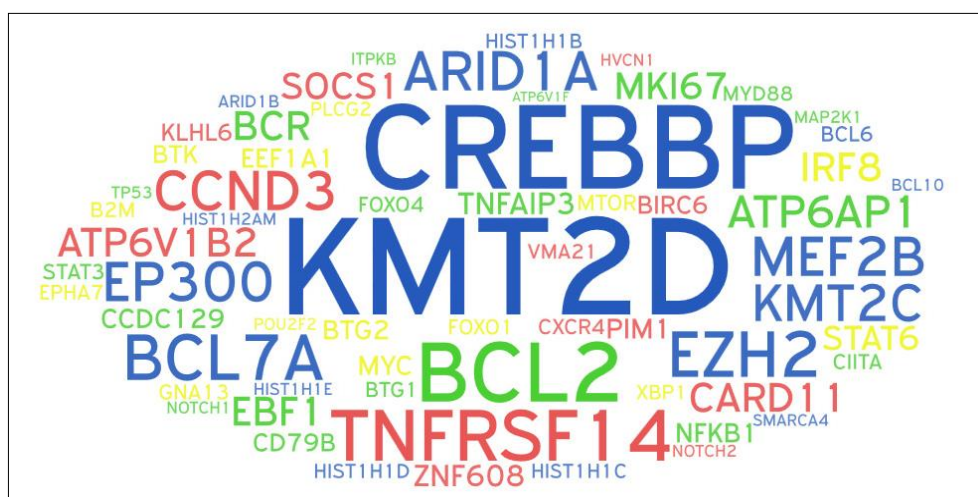
Epigenetikai szabályozók follicularis lymphomában

Az FL genom feltérképezésének legfőbb eredménye az epigenetikai szabályozásban részt vevő molekulák mutációinak és ezek hatásának megismerése volt. Az epigenetikai szabályozás egyes gének transzkripciójának fokozásával vagy csökkentésével, ezen keresztül a transzkriptom és a proteom megváltoztatásával befolyásolja a celluláris folyamatokat [10, 11]. Sejtélettani jelentősége mellett ma már tudjuk, hogy az epigenetikai szabályozás egyensúlyának felborulása számos betegség patogenezisében is szerepet játszik. Ez daganatok esetében elsősorban a tumorsuppresszorok csökkent és az onkogének fokozott expresszióját foglalja magában [12].

Az epigenetikai szabályozás több szinten is megnyilvánulhat: egyrészt módosulhat a DNS szerkezete a CpG szigetek metilációján keresztül, másrészt módosulhat a

1. táblázat | Epigenetikai szabályozó molekulák mutációinak szerepe és előfordulása follicularis lymphomában

Gén	Funkció	Előfordulási gyakoriság (%)	Funkcióvesztés/-nyerés	Referencia
KMT2D	Hiszton H3K4 metil-transzferáz	70–90	Vesztés	Morin és mtsai, Nature 2011
CREBBP	Hiszton H3K27 és H3K18 acetil-transzferáz	50–70	Vesztés	Morin és mtsai, Nature 2011
Hisztonkódoló gének	Hiszton fehérjék	20–30	Ismeretlen	Li és mtsai, Blood 2014
EZH2	Hiszton H3K27 metil-transzferáz	10–30	Nyerés	Bödör és mtsai, Blood 2013
EP300	Hiszton H3K27 és H3K18 acetil-transzferáz	10–20	Vesztés	Morin és mtsai, Nature 2011
MEF2B	Transzkripció faktor	10–20	Nyerés	Morin és mtsai, Nature 2011
KMT2C	Hiszton metil-transzferáz	13	Vesztés	Green és mtsai, PNAS 2015
BCL7A	SWI/SNF komplex, nukleoszómaátrendezés	~10	Ismeretlen	Krysiak és mtsai, Blood 2017
ARID1A	SWI/SNF komplex, nukleoszómaátrendezés	~10	Ismeretlen	Li és mtsai, Blood 2014
ARID1B	SWI/SNF komplex, nukleoszómaátrendezés	~5	Ismeretlen	Krysiak és mtsai, Blood 2017
SMARCA4	SWI/SNF komplex, nukleoszómaátrendezés	~5	Ismeretlen	Green és mtsai, PNAS 2015
BCL6	Transzkripciót gátló faktor	mutációk: ~5; transzlokációk: ~10	Nyerés	Green és mtsai, PNAS 2015

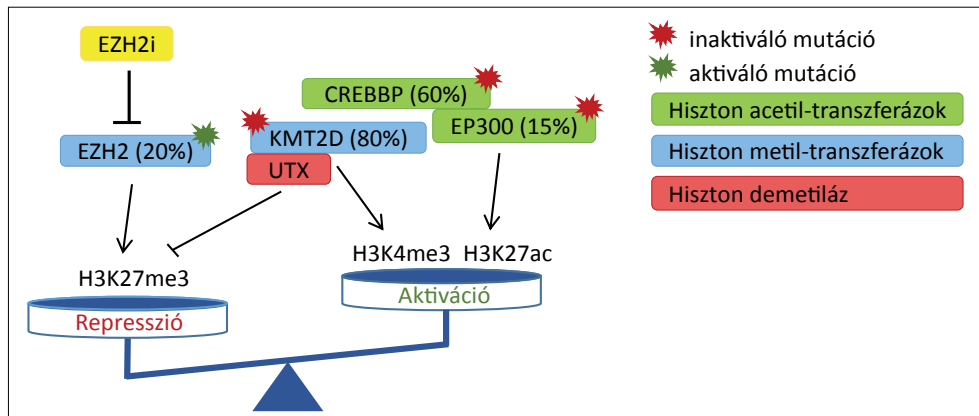


1. ábra | Génmutációk follicularis lymphomában. A szöveghő a follicularis lymphomában előforduló mutációk által érintett molekulákat mutatja. Az epigenetikai gépezetet érintő mutációkat kék színnel jelöltük. Follicularis lymphomában az epigenetikai szabályozókat érintő mutációk mellett, a mutációk érintik a B-sejt receptor-jelátvitelben, a túlélési és migrációs jelek közvetítésében, az mTOR szignalizációban, és immunválasz-elkerülésben szerepet játszó molekulákat. A szavak mérete arányos a mutációk előfordulási gyakoriságával a betegségben

hisztonfehérjék szerkezete, valamint azok poszttranszlációs módosítások által is megváltozhatnak. Ezen reverzibilis kémiai módosításokat kromatinjeleknek nevezzük, és a kromatinjelek összessége alkotja az epigenetikai kódot. FL-ben főképp a hisztonfehérjék poszttranszlációs módosítása szenved zavart, ami az epigenetikai egyensúly megbomlásához vezet, de jellemzőek a hisztonfehérjéket kódoló génekben megjelenő mutációk is [13]. A következőkben az FL-ben feltárt leggyakoribb epimutációkat és azok hatását ismertetjük (*1. táblázat, 1. ábra*).

A *KMT2D* (korábbi nevén *MLL2*) hiszton metil-transzferáz vad típus esetén a H3 hiszton 4-es lizin (H3K4) oldal-láncának metilációjával aktiválja a transzkripciót. FL-ben tumorsuppresszor génként viselkedik és az esetek 80%-ában megjelenő, funkcióvesztéssel járó mutációi következtében csökken a transzkripciót aktiváló kromatinjelek mennyisége [14, 15]. A *CREBBP* és *EP300* hiszton acetil-

transzferázokat kódoló gének, amelyek a H3 hiszton 27-es lizinjét (H3K27) acetilálják normál esetben, ami fokozza a régióba eső gének transzkripcióját. Az FL-ben szenvedő betegek 60%-ában a *CREBBP*, míg 15%-ában az *EP300* inaktíváló mutációi detektálhatók [9]. A mutált fehérjék csökkent működése által a régióba eső tumorszuppresszor gének, valamint a centrum germinativum reakcióból való kilépésért felelős gének expressziója csökken, elősegítve ezzel az onkogenezist [16]. A *MEF2B* gén által kódolt transzkripciós faktor a sejt Ca^{2+} tartalmától függően a H3K27 pozíció módosítását a hiszton acetil-transzferázok vagy a hiszton deacetilázok működésén keresztül szabályozza. Mutációi az FL esetek 15%-ában fordulnak elő [9, 17]. Kiemelt szerepet játszik az epigenetikai egyensúly fenntartásában az *EZH2* gén, mely terméke hiszton metil-transzferázként a H3K27 pozíció metilálásával gátolja a transzkripciót. Az FL-es betegek mintegy 20%-á-



2. ábra

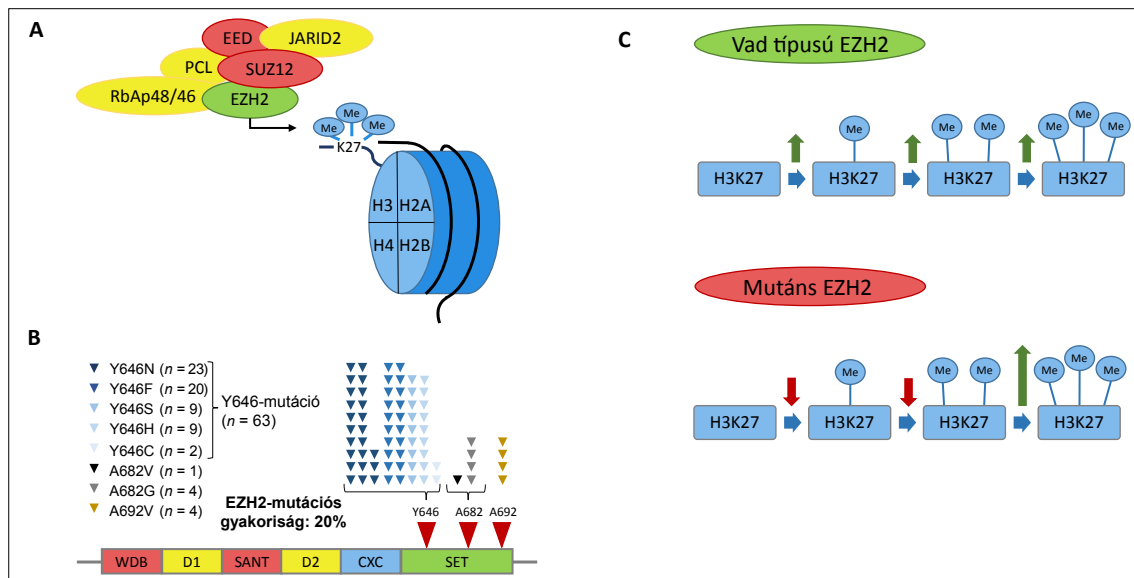
Az epigenetikai egyensúly felborulása follicularis lymphomában. FL-ben az EZH2 funkciónyerő mutációi, valamint további hiszton metil-transzferázok és hiszton acetil-transzferázok funkcióvesztő mutációi a gátló H3K27me3 kromatinjel-növekedését, valamint az aktiváló H3K4me3 és H3K27ac jelek csökkenését vonják maguk után, aminek eredményeképpen az epigenetikai egyensúly a transzkripció gátlásának irányába tolódik el. *Rövidítések:* EZH2 = Enhancer of Zeste Homologue 2; UTX = Lysine Demethylase 6A; KMT2D = Lysine N-Methyltransferase 2D; CREBBP = CREB Binding Protein; EP300 = E1A Binding Protein P300; H3K27me3 = Hiszton 3 27-es lizin oldallánc trimetiláció; H3K4me3 = Hiszton 3 4-es lizin oldallánc trimetiláció; H3K27ac = Hiszton 3 27-es lizin oldallánc acetiláció; EZH2i = EZH2-inhibitor

ban előforduló funkciónyerő mutációi következtében a fokozott hisztonmetiláció állapot gátolja a tumorszuppresszor gének transzkripcióját [18–20]. Az említett epigenetikai szabályozókban létrejövő mutációk által az egyensúly a transzkripció globális repressziójának irányába billen el (2. ábra).

Az EZH2 hiszton metil-transzferáz funkciója és mutációi

Az EZH2 hiszton metil-transzferáz a Polycomb repressive complex 2 (PRC2) tagjaként az epigenetikai szabá-

lyozásban kiemelkedő jelentőségű H3K27 oldallánc metilációjában vesz részt. Az EZH2, a SUZ12 és az EED fehérjék alkotják a PRC2 komplex állandó, működéshez nélkülözhetetlen magját, míg egyéb járulékos fehérjealkotók módosíthatják a komplex funkcióját (3A ábra) [21–24]. A PRC2 komplex egyaránt felelős a H3K27 mono- (H3K27me), di- (H3K27me2) és trimetilációjáért (H3K27me3) [24, 25]. A PRC2 komplex fiziológias működésének fontos szerepe van a centrum germinativum reakció létrejöttében. A centrum germinativum B-sejtekben fiziológias körülmények között megemelkedik az EZH2 expressziója, amely szükséges a szomatikus hiper-



3. ábra

Az EZH2 funkciója és mutációi follicularis lymphomában. A) A H3K27 metilációját a PRC2 komplex végzi, melynek enzimatikusan aktív tagja az EZH2 hiszton metil-transzferáz. B) Az EZH2 gén mutációi follicularis lymphomában a SET domént érintik. Leggyakrabban az Y646, majd az A682 és A692 pozíciók mutációja fordul elő. Az ábra saját megfigyeléseink alapján, 340 magyar beteg mutációanalízisének eredményeit foglalja össze (nem publikált eredmények). C) Vad típusú EZH2 a H3K27 mono-, di-, és trimetilációt is képes katalizálni. A mutáns EZH2 csökkent H3K27 mono-, és dimetiláló aktivitást, azonban fokozott H3K27 trimetiláló aktivitást mutat. Ez a koordinált működés vezet összességében a H3K27 trimetiláció fokozódásához. *Rövidítések:* SUZ12 = Suppressor of Zeste 12 Homolog; EED = Embryonic Ectoderm Development; EZH2 = Enhancer of Zeste Homologue 2; RbAp48/46 = Retinoblastoma-Binding Protein 4/7; PCL = Polycomb-like Protein; JARID2 = Jumoni And AT-Rich Interaction Domain Containing 2; H3 = H3 histon; H2A = H2A histon; H4 = H4 histon; H2B = H2B histon; Me = Metil-csoport; H3K27 = H3 hiszton 27-es lizin oldallánc

mutáció, immunglobulin osztályváltás és klonális expanszió folyamatához [26]. A megnövekedett EZH2-aktivitás átmenetileg gátolja a sejtciklus ellenőrzésben részt vevő fehérjék és a centrum germinativumból való kilépést elősegítő fehérjék expresszióját [26].

2010-ben Morin és mtsai az FL-es betegek 7,2%-ában mutatták ki az *EZH2* mutációit, az epigenetikai dereguláció első példáját szolgáltatva B-sejtes lymphomákban [27].

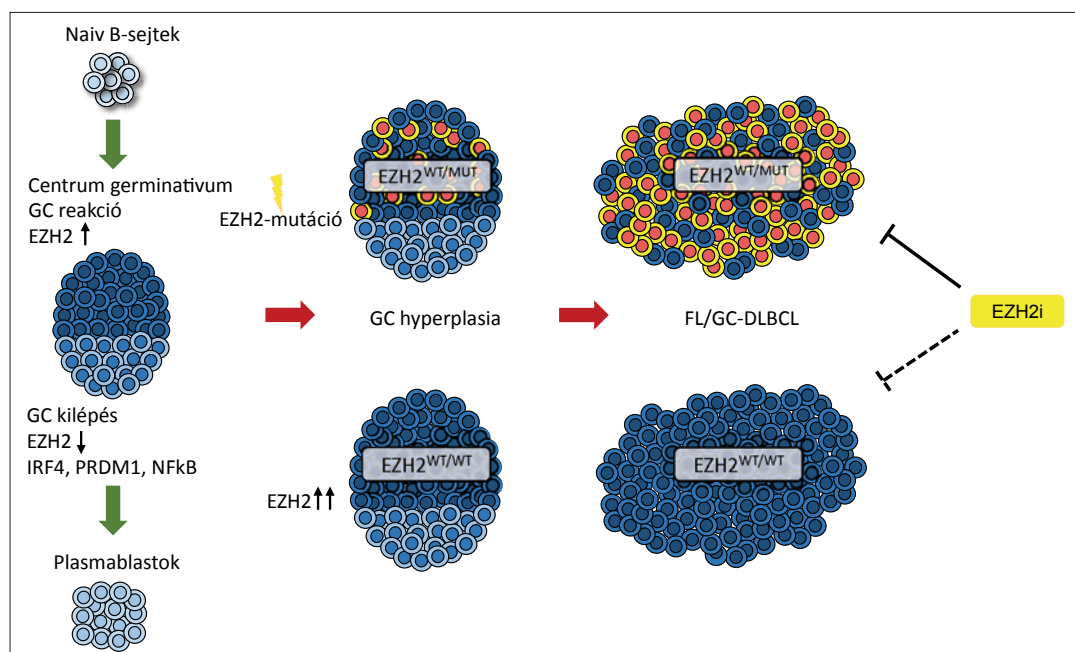
Később nagyobb érzékenységgű NGS módszerrel vizsgálva az *EZH2*-mutációk gyakoribb előfordulására derült fény [28]. 366 betegből álló csoportot vizsgálva munkacsoportunk gyakorisági sorrendben az Y646, A682 és A692 aminosavak visszatérő mutációjára hívta fel a figyelmet az FL-es betegek 27%-ában. A mutációs forrópontok mindegyike az *EZH2* 16-os és 18-as exonjaiban helyezkedik el, és a fehérje metil-transzferáz aktivitásáért felelős SET domén működését befolyásolja (3B ábra) [28]. Az FL-ben azonosított *EZH2*-mutációk esetében a H3K27 mono-, és dimetiláció mértéke csökken, míg a H3K27 trimetiláció mértéke emelkedik (3C ábra). A mutáns EZH2 a vad típusú EZH2-vel kooperálva fokozza a H3K27 trimetiláció szintjét és ezáltal a transzkripció represszióját: egy érdekes kooperációs mechanizmus során a vad típusú fehérje a mono-, és dimetilációt, míg a mutáns fehérje a trimetilációt végzi el nagyobb hatékonysággal [18, 19].

Az *EZH2*-mutációval rendelkező esetekben a H3K27 metilációs mintázat generalizált megváltozásán keresztül számos célgén expressziója módosul. Nagymértékben változik például a sejtciklus ellenőrzési pontokban részt vevő, továbbá a MYC jelátviteli útvonalban szerepet játszó

fehérjék expressziós mintázata [28–30]. Mutált *EZH2* esetén a centrum germinativumból való kilépést akadályozó blokk állandósul, az *EZH2* célgénnek, a centrum germinativumból való kilépésben és további B-sejt érésben fontos *IRF4* és *PRDM1* epigenetikai csendesítése permanenssé válik (4. ábra) [20].

Újabb kutatások az *EZH2* gént érintő pontmutációk mellett az *EZH2* kópiaszám-eltérések jelenlétére is felhívták a figyelmet. Huet és mtsai *EZH2* kópiaszám-eltérést azonosítottak az FL-es betegek 14%-ában, míg a betegek 6%-ában a kópiaszám-eltérés és mutáció együtt fordult elő. Akárcsak az *EZH2*-mutáció, az *EZH2* kópiaszám-növekedés is a H3K27me3 fokozódását eredményezi, ezért valószínűsíthető, hogy az *EZH2* kópiaszám-növekedése az *EZH2*-mutáns esetekhez hasonló expressziós mintázatot eredményez [30].

Az epigenetikai szabályozókban létrejövő mutációk az epigenetikai kód reverzibilis megváltozásához vezetnek, hatásuk gátlásával a sejtekben újra létrejöhet az epigenetikai egyensúly. Az ebbe való terápiás beavatkozás régóta vonzó lehetőséget jelentett, azonban szelektív hatóanyagok még nem álltak rendelkezésünkre. Kezdetben a 3-de-azaneplanocin A alkalmazásával (DZNep) érték el az *EZH2* gátlását, amely az S-adenozil-L-homocisztein-hidroláz aktivitását gátolja, ami az S-adenozil-L-homocisztein szintjének növekedéséhez vezet, elősegítve a PRC2 komplex lebomlását [31, 32]. Ez azonban nem szelektív támadáspont, a H3K27 metiláción túl a teljes hiszton-metilációs mintázatot nagymértékben megváltoztatta a DZNep alkalmazása, ami magas toxicitást eredményezett, ezért a klinikai alkalmazása nem került előtérbe [31].



4. ábra

Az *EZH2*-t érintő aberrációk szerepe a centrum germinativum eredetű lymphomák kialakulásában. Fiziológiás esetben az *EZH2*-expresszió növekedése elősegíti a GC reakció kialakulását, és szabályozza a GC reakcióhoz szükséges fehérjeexpresszió-változást. Mutáns *EZH2*, vagy fokozott *EZH2*-expresszió esetén a sejtek nem tudnak kilépni a GC reakcióból, ami további társuló kóroki mutációk esetén GC eredetű lymphomák kialakulásához vezet. Rövidítések: GC = centrum germinativum; *EZH2* = Enhancer of Zeste Homologue 2; *IRF4* = Interferon Regulatory Factor 4; *PRDM1* = PR Domain Zinc Finger Protein 1; *NFKB* = Nuclear Factor of Kappa Light Polypeptide Gene Enhancer In B-Cells 1; *EZH2*^{WT/MUT} = mutáns *EZH2*; *EZH2*^{WT/WT} = vad típusú *EZH2*; FL = follicularis lymphoma; GC-DLBCL = centrum germinativum típusú diffúz nagy B-sejtes lymphoma; *EZH2i* = *EZH2*-inhibitor

FL-ben a funkciónyeréssel járó *EZH2*-mutációk megismerése hozta el a lehetőséget az epigenetikai szabályozókat érintő mutációk célzott gátlására; amit az első szelektív *EZH2*-inhibitoroknak a mutációk felfedezését követő gyors kifejlesztése is alátámasztott.

EZH2 célzott terápia follicularis lymphomában

2012-ben négy gyógyszergyártó (a GlaxoSmithKline (GSK), az Epizyme, a Novartis és a Constellation Pharmaceuticals) *in vitro* kísérleteken alapuló közleményekben mutatta be saját, szelektív *EZH2*-inhibitorát [33–36]. A szelektív *EZH2*-inhibitorok kompetitív gátlószerek, melyek az *EZH2* S-adenozil-metionin kötősebéhez kötődnek, ezáltal gátolva a hiszton metilációhoz szükséges szubsztrát kötését. A GSK által fejlesztett GSK126 nevű inhibitor *in vitro* kísérletekben rendkívül hatékonyan

2. táblázat | Az *EZH2* gátlószerekkel indított eddigi klinikai vizsgálatok

EZH2 gátlószert	Klinikai tanulmány kezdete	Klinikai tanulmány száma	Státusz	Fázis	Szponzor	Betegség
CPI-1205	2015	NCT02395601	aktív, teljes esetszám	I.	Constellation Pharmaceuticals	B-sejtes lymphoma
CPI-1205 + Enzalutamide és CPI-1205 + Prednisone	2018	NCT03480646	aktív, esetszám bővítés alatt	I./II.	Constellation Pharmaceuticals	Kasztrációrezisztens prosztatarák (CRPC)
GSK2816126	2014	NCT02082977	lezárt, klinikailag hatástalan	I.	GlaxoSmithKline	GCB-DLBCL vagy relabált/refrakter DLBCL, transzformált FL, más NHL, CRPC; <i>EZH2</i> -, <i>SWI</i> / <i>SNF</i> -, <i>ARID1A</i> -, <i>SMARCB1</i> -, <i>PBRM1</i> - vagy <i>BAP1</i> -mutációval rendelkező szolid daganatok
EPZ-6438 és EPZ-6438 + Prednisone	2013	NCT01897571	aktív, esetszám bővítés alatt	I./II.	Epizyme, Inc.	Relabált/refrakter B-sejtes lymphoma (fázis II-ben: DLBCL és FL) és előrehaladott vagy metasztatizált szolid daganatok
EPZ-6438 + Atezolizumab	2014	NCT02220842	aktív, teljes esetszám	I.	Hoffmann–La Roche	Relabált/refrakter DLBCL
EPZ-6438	2015	NCT02601937	aktív, teljes esetszám	I.	Epizyme, Inc.	Rhabdoid tumorok, INI1-negatív malignus daganatok, synovialis sarcoma
EPZ-6438	2015	NCT02601950	aktív, esetszám bővítés alatt	II.	Epizyme, Inc.	Rhabdoid tumorok, INI1-negatív malignus daganatok, vese medullaris carcinoma, epithelioid sarcoma, rosszul differenciált chondroma, <i>EZH2</i> -aktiváló mutációval rendelkező szolid daganatok
EPZ-6438	2016	NCT02860286	aktív, teljes esetszám	II.	Epizyme, Inc.	Mesothelioma, <i>BAP1</i> funkció veszteséges mutáns mesothelioma
EPZ-6438	2016	NCT02875548	aktív, esetszám bővítés alatt	II.	Epizyme, Inc.	DLBCL, FL, malignus rhabdoid tumorok, vese rhabdoid tumor, atipikus teratoid rhabdoid tumorok, synovialis sarcoma, epithelioid sarcoma, mesothelioma, előrehaladott szolid daganatok
EPZ-6438	2016	NCT02889523	ideiglenesen felfüggesztve	I./II.	The Lymphoma Academic Research Organisation Epizyme, Inc.	DLBCL
EPZ-6438	2017	NCT03213665	ideiglenesen felfüggesztve	II.	National Cancer Institute (NCI)	Előrehaladott malignus szolid neopláziák, gyermekkori NHL, HL, Ewing-sarcoma, glioma, gyermekkori központi idegrendszeri neopláziák, gyermekkori ependymoma, gyermekkori lágyrésztumorok, csírasejtes daganat, hepatoblastoma, különböző lymphomák, langerhans sejtes histiocytosis, medulloblastoma, neuroblastoma, osteosarcoma, perifériális primitív neuroectodermális tumor, <i>SMARCA4</i> és <i>B1</i> gének inaktiválta betegségek, rhabdomyosarcoma, Wilms-tumor
EPZ-6438	2017	NCT03348631	aktív, esetek bevonása még nem kezdődött el	II.	National Cancer Institute (NCI)	Endometrialis endometrioid adenocarcinoma, kiújuló ovariumcarcinoma kiújuló primer peritonealis carcinoma, kiújuló méhtestrák

Rövidítések: *ARID1A* = AT-Rich Interaction Domain 1A; *BAP1* = BRCA1 Associated Protein 1; CRPC = kasztrációrezisztens prosztatarák; DLBCL = diffúz nagy B-sejtes lymphoma; FL = follicularis lymphoma; NCI = National Cancer Institute; NHL = non-Hodgkin-lymphoma; *PBRM1* = Polybromo 1

bizonyult. A gátlószerezrel kezelve *EZH2*-mutációt hordozó DLBCL sejtvonalakat az IC₅₀ érték 0.03–0.8 μ M közöttinek adódott. Az *EZH2* célgénének expressziója már kis inhibitor-koncentrációnál emelkedett, azaz az inhibitor képes visszafordítani a mutáns *EZH2* hatására létrejövő transzkripció repressziót, azonban vad típusú *EZH2* esetén nagyságrendekkel nagyobb gátlószerez koncentráció mellett is csekélynek bizonyult az expressziós mintázat változása [33]. Az epigenetikai terápiákra specializálódott gyógyszer-cég, az Epizyme által kifejlesztett EPZ005687 a többi metil-transzferáz fehérjéhez képest 500-szoros, míg az *EZH1*-hez képest 50-szeres szelektivitást mutat az *EZH2* irányába. Szemben az *EZH2*-mutációt hordozó sejtvonalakkal, a vad típusú *EZH2*-vel rendelkező sejtek proliferációja csak kis mértékben csökkent a szer hatására [34]. A Constellation Pharmaceuticals által kifejlesztett *EZH2*-gátlók közül a leghatékonyabb szer a fent említett inhibitorokhoz hasonló IC₅₀ értékkel rendelkezik, azonban kevésbé szelektív *EZH2*-re az *EZH1*-hez képest a többi inhibitorhoz viszonyítva [35]. A Novartis által fejlesztett *EZH2* gátlószerezrel, az EI1-el végzett kutatások az ismertetett gátlószerezekével megegyező eredményekre vezettek [36].

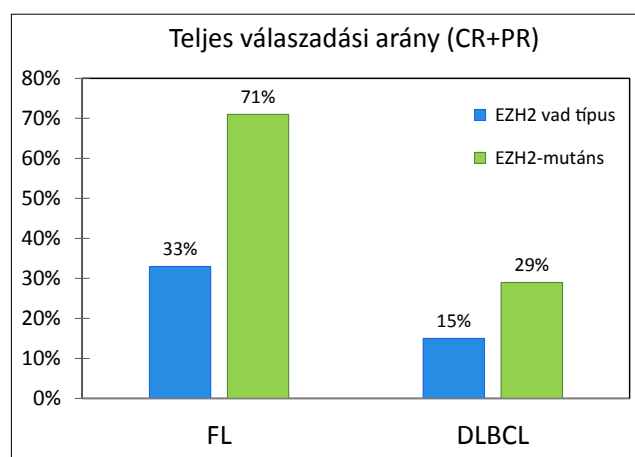
A gyógyszerfejlesztés következő lépéseként az Epizyme az EPZ005687-inhibitor optimalizálásával létrehozta a tazemetostatot (EPZ6438), amely orálisan adagolható és kiváló farmakokinetikai tulajdonságokkal rendelkezik, így jó alapot képzett az *EZH2*-gátlók klinikai tanulmányokban való kipróbálásához.

Ez idáig három *EZH2*-inhibitor jutott el I. fázisú klinikai vizsgálatig, a GSK2816126 (NCT02082977) a CPI-1205 (NCT02395601) és az EPZ-6438 (NCT01897571, NCT02601937, NCT02875548, NCT02889523), melyeket főként DLBCL és FL betegcsoportokon indítottak el (2. táblázat). A GSK2816126-inhibitorral végzett tanulmány során az inhibitor tumorgátló hatása elmaradt, a gátlószerez nem mutatott klinikai aktivitást, így a tanulmány nem folytatódott további fázis vizsgálatokkal. A farmakokinetikai paraméterek, mellékhatások és a kezelésre adott válaszok alapján, a CPI-1205 hatékony tumornövekedés-gátlónak bizonyult, maximális kezelési dózisának heti kétszeri 3000 mg-os adagolását állapították meg, mely alkalmasnak bizonyult a további II. fázisú vizsgálatokhoz, amihez a betegek bevonása jelenleg is folyamatban van.

Az eddigi *EZH2* gátlószerezek közül a megfigyelések alapján az Epizyme által fejlesztett tazemetostat (EPZ-6438) bizonyult a leghatékonyabbnak. Az első humán, I. fázisú klinikai vizsgálat (NCT01897571) 2013 júniusában indult, melybe relabált vagy refrakter B-sejtes non-Hodgkin-lymphomás betegeket ($n = 21$), valamint előrehaladott stádiumban lévő vagy már metasztatizált szolid daganatos (főképp rhabdoid tumorok és synovialis sarcoma) betegeket választottak ($n = 43$), akiknél a standard terápiák már nem bizonyultak hatékonyak. Ez egy nem randomizált, multicentrikus, dózismeghatározó klinikai vizsgálat volt, mely során eltérő dózisokban (100 mg – 1600 mg)

részesültek a betegek tazemetostatkezelésben [37] (2. táblázat).

A tanulmány ígéretes klinikai és farmakokinetikai eredményekről számolt be és egyben nagyon kedvező mellékhatásprofilal is bírt, amely alapján a tazemetostat napi kétszeri orális adagolását 800 mg-os dózisban határozták meg, és engedélyezték a soron következő II. fázisú vizsgálathoz. Az I. fázisú vizsgálat során elsőként igazolták a tazemetostat dózisfüggő trimetilációt gátló hatását *in vivo* az *EZH2* enzimaktivitás-csökkenésén keresztül, mely az esetek 38%-ában teljes vagy részleges objektív tumorválasszal társult [37]. A preklinikai vizsgálatokkal összhangban, miszerint az *EZH2*-mutációval rendelkező lymphomák érzékenyebbek az *EZH2*-inhibitorkezelésre, az *EZH2*-mutációval rendelkező betegek tartós részleges választ mutattak a kezelés 16. hónapját követően is [34]. Az eredmények alapján, ezen klinikai vizsgálat folytatásaként, már II. fázisú klinikai vizsgálatban is elkezdődhetett a tazemetostat monoterápiás alkalmazása DLBCL és FL esetekben, ahol a betegek az *EZH2*-mutációs státusz alapján kerültek csoportosításra. A klinikai tanulmányba ez idáig közel 146 DLBCL esetet és 82 FL beteget vontak be, de az *EZH2*-mutáns esetszám bővítése jelenleg is tart. Ugyan a teljes válaszadási arányban (ORR) nem figyeltek meg szignifikáns változást DLBCL eseteknél (*EZH2*^{MT} 29%, *EZH2*^{WT} 15%), az FL-ben szenvedő betegekben határozott különbséget írtak le mutáns és vad típusú esetek között a válaszarány tekintetében (*EZH2*^{MT} 71%, *EZH2*^{WT} 33%) (5. ábra) [38, 39]. Továbbá, tumor-méret-csökkenést regisztráltak mindegyik *EZH2*-mutáns FL esetben, és ezzel párhuzamosan ez idáig egyetlen mutáns betegnél sem tapasztaltak progressziót. Az eddigi eredmények alapján a medián progressziómentes túlélés (PFS) 49 hét, a terápiás válasz medián időtartama 32 hét volt, mely az esetszám tovább bővítésével még további PFS-emelkedést vetít előre (3. táblázat) [39].



5. ábra

EZH2-mutáns és vad típusú esetek teljes válaszadási aránya (teljes válasz (CR) + részleges válasz (PR)) tazemetostatkezelés hatására DLBCL és FL esetekben. Az *EZH2*-mutáns FL betegek közel 40%-kal jobb objektív válaszarányal bírtak, mint a vad típusúak, ugyanakkor a DLBCL-ben szenvedő betegeknek a mutációs státusz nem befolyásolja jelentősen a tazemetostat hatékonyságát. (Az adatok az NCT01897571 klinikai fázis II. tanulmány eredményeiből származnak [39])

3. táblázat | Az NCT01897571 klinikai vizsgálat eddigi részeredményei [39]

Paraméter	Follicularis lymphoma	
	Mutáns EZH2	Vad típusú EZH2
Értékelhető esetek száma	<i>n</i> = 28	<i>n</i> = 54
Teljes válaszadási arány (CR + PR)	20 (71%)	18 (33%)
Teljes válasz (CR)	3 (11%)	3 (6%)
Részleges válasz (PR)	17 (61%)	15 (28%)
Stabil betegség (SD)	8 (29%)	17 (31%)
SD esetek, onkoterápia folyamatban	6 (21%)	1 (2%)
Progresszív betegség (PD)	0	17 (31%)
Ismeretlen adatok	0	2 (4%)
Terápiás válasz medián időtartama (DOR)	32,3+ hét	76,0+ hét
Kezelésre jelenleg is válaszoló esetek	11 (55%)	10 (56%)
Medián progressziómentes túlélés (PFS)	48,6+ hét	29,9 hét
A kezelésre reagáló betegek progressziómentes túlélésének mediánja	48,6+ hét	84,3+ hét

+: a csoport még nem érte el a medián értéket

A II. fázisú tanulmány eddigi eredményei a tazemetostat jó tolerálhatóságát is alátámasztják. A betegek csupán 6%-ánál kellett felfüggeszteni a kezelést a gátlószer mellékhatásaiból adódóan; 17%-ánál tapasztaltak grade 3 vagy annál magasabb fokú mellékhatásokat, melyek közül a leggyakoribbak a thrombocytopenia (6%), anaemia (6%), asthenia (4%), és a fáradtság (2%) voltak. Ugyanakkor az esetek több mint 70%-át grade 3-nál alacsonyabb mellékhatások jellemezték (4. táblázat) [39].

Az EZH2-inhibitor további, kombinált terápiás alkalmazása is folyamatban van. Ezen alapul a DLBCL esetében folyamatban lévő egyik II. fázisú klinikai vizsgálat (NCT02889523) is, mely során a tazemetostatot R-CHOP immuno-kemoterápiával kombinálják, továbbá folyamatban van egy olyan vizsgálat is, melyben a betegeket az immunellenőrzőpont-gátlószer atezolizumabbal kombi-

nálva kezelik (NCT02220842). Ez lehetőséget nyújthat azon betegcsoportoknak a kezelésére, ahol az EZH2-inhibitor monoterápiában nem járt klinikailag bizonyított hatással. Mindemellett fontos megjegyezni, hogy a kombinált kezeléseken túl az EZH2 gátlószeresek továbbfejlesztése is sürgetővé vált a rezisztencia kialakulásával fenyegető esetekben. Preklinikai kutatásokban az EZH2-inhibitorterápiával szembeni rezisztencia kialakulására több mechanizmust is azonosítottak: létrejöhhetnek másodlagos, rezisztenciamutációk mind a vad típusú, mind a mutáns EZH2 allélban, valamint az inhibitorral szembeni érzékenység hiányát a túlélésért felelős jelátviteli útvonalakban (IGF-1R, PI3K, MAPK) létrejövő másodlagos, fokozott aktiváció is okozhatja [40, 41].

Rendkívül érdekes módon a tazemetostat nemcsak lymphomákban, hanem szolid daganatokban is hatékony tumornövekedés-gátlónak bizonyult, függetlenül az EZH2-mutációk jelenlététől. A rhabdoid tumorokat ugyanis az INI1/SMARCB1 ATP-függő kromatinátrendező komplex központi elemének mutációja jellemzi, mégis hatékony gátlószernek bizonyul a tazemetostat, mivel az INI1/SMARCB1-deficiencia, az EZH2-mutációkhoz hasonlóan, emelkedett EZH2-expresszióhoz és fokozott H3K27 trimetilációhoz vezet [41]. Mára már relabált/refrakter INI1 negatív rhabdoid tumorokban, synovialis sarcomákban (NCT02875548, NCT03155620) és mesotheliomában (NCT02860286) a tazemetostatkezelés eljutott a II. fázisú vizsgálatokig, melyek közül többnél jelenleg is tart a betegek bevonása (2. táblázat) [42, 43].

Az EZH2-inhibitorok bevezetésével új terápiás lehetőség nyílt azoknak az EZH2-mutációval rendelkező betegeknek, akiknél a korábbi terápiás protokollok nyújtotta lehetőségek kimerültek. A jövőben, a korábbi kezelési vonalak felé mozdulva, az EZH2-ellenes terápia az FL betegek akár negyedében is racionális lehetőséget jelenthet az EZH2-mutációs státusz alapján. Munkacsoportunk

4. táblázat | A tazemetostatkezelés alatt előforduló leggyakoribb mellékhatások az NCT01897571-vizsgálat eddigi eredményei alapján

Hányinger	22%
Fáradtság	18%
Anaemia	17%
Asthenia	15%
Köhögés	
Hasmenés	
Felső légúti fertőzés	
Alopecia	13%
Hátfájás	12%
Bronchitis	
Fejfájás	
Thrombocytopenia	
Hasi fájdalom	11%
Izomgörcsök	
Pyrexia	
Hányás	

a legkorszerűbb szekvenálási technológiával képes az EZH2-mutációs státusz meghatározására, így ez a genetikai vizsgálat már hazánkban is rendelkezésre áll. A kezdeti sikeres klinikai eredmények következtében talán nem meglepő, hogy az amerikai „Food and Drug Administration” (FDA) 2016-tól gyorsított eljárással segíti a gyógyszer tesztelési és engedélyeztetési folyamatát FL és DLBCL esetében egyaránt, valamint a malignus rhabdoid tumorok kezeléséhez is támogatást nyújt.

Az FL-en kívül az EZH2 funkciójának megváltozása számos egyéb malignitás patogenetikai hátterét biztosítja. Az EZH2 működésének megváltozását leírták számos szolid tumorban és hematológiai malignitásban is, többek között emlő-, prosztatá-, colorectalis tumorok és akut leukémia, valamint myelodysplasiaszindróma esetében is. Az EZH2 daganattípustól függően más és más módon járulhat hozzá az adott entitás kialakulásához. Szolid tumorokban és lymphomákban onkogénként viselkedik, és jellemző rá a funkciónyeréssel járó mutációk illetve az expresszió megnövekedése. Ezzel ellentétben, a myeloid malignitások esetén az EZH2 tumorszuppresszor gén szerepét tölti be, és funkcióvesztő mutációi állnak a betegség kialakulásának hátterében, amiből kifolyólag nem is alkalmazható a funkciónyeréses mutációkkal jellemzett lymphomák esetében bemutatott EZH2-gátláson alapuló terápiás stratégia.

A mutációk prognosztikai értéke, az m7-FLIPI Prognosztikai Modell

Az FL mutációs profiljának feltérképezésével a célzott terápia mellett megnyílt a lehetőség a mutációs státusz prognosztikai alkalmazására is, mely új prognosztikai modellek megalkotásához vezetett. Önálló prognosztikai tényezőként értékelve az EZH2 szerepét az eddigi vizsgálatok eredményei azt támasztják alá, hogy az EZH2-mutációk jó prognózis irányába hatnak FL-ben. Pastore és mtsai kimutatták, hogy az EZH2-mutációval rendelkező betegek hosszabb kudarcmentes túlélésre (FFS, kudarc: nem sikerül elérni részleges remissziót az indukció végére) számíthatnak, mint a vad típusú EZH2-vel rendelkező betegek [29]. Huet és mtsai pedig az EZH2-eltéréssel (EZH2-mutáció vagy kópiaszám-növekedés) rendelkezők körében hosszabb progressziómentes túlélést figyeltek meg, és körükben a rossz prognózissal társuló 2 éven belüli relapszusarány is szignifikánsan alacsonyabb volt [30]. Az említett vizsgálatokon túl azonban kevés további adat áll rendelkezésünkre FL-ben az egyes mutációk prognosztikai szerepének megítélésére, ezért Pastore és mtsai megalkottak egy klinikogenetikai modellt, amelyben hét gén mutációs státuszát (EZH2, ARID1A, EP300, FOXO1, MEF2B, CREBBP, CARD11) vették figyelembe a prognózis megállapításához a Follicular Lymphoma International Prognostic Index (FLIPI), valamint az Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) pontszámok mellett, ami pontosabb rizikóbecsléshez és egy integratív modell kidolgozásához vezetett. Számos, a

FLIPI által a magas rizikójú csoportba tartozó betegről kiderült, hogy a mutációs profilja alapján az alacsony rizikójú csoportba tartozik az FFS tekintetében. Fontos kiemelni, hogy az m7-FLIPI pontosabb előrejelzést nyújtott az időközben megalkotott FLIPI2 modellnél is. A szerzők vizsgálták az m7-FLIPI prognosztikai értékét a teljes túlélés (OS) tekintetében is, és itt is jobbnak bizonyult az hagyományos FLIPI-alapú rizikóbecslésnél [29].

Az elmúlt 10 év kutatásai feltárták az FL patogenezisének hátterében álló genetikai eltéréseket, aminek során különböző jelátviteli utakat érintő mutációkat azonosítottak. Ezek közül a legnagyobb gyakorlati jelentőséggel ez idáig az epigenetikai szabályozást befolyásoló mutációk kimutatása járt. A funkcionális vizsgálatoknak köszönhetően, ma már számos mutációról tudjuk, hogy miként járul hozzá az FL kialakulásához. Ezek az eredmények nem csak a tudásunkat bővítették, hatásukra megnyílt a lehetőség a célzott terápiák alkalmazására FL-ben is. Először az EZH2 gátlószerek jelentek meg valódi, mutációs státuszhoz kötött célzott terápiás alternatívaként, és mára már II. fázisú klinikai tanulmányokban alkalmazzák ezeket. Az EZH2-inhibitorok további sikeressége esetén, az EZH2-gátló kezelés a célzott epigenetikai terápia prototípusa lehet FL-ben, amelyet reményeink szerint az epigenetikai gépezet kölcsönhatásainak beható megismerését követően további célzott terápiás gyógyszerek követhetnek, tovább növelve a betegek életkilátásait és egy napon talán elhozva az FL-es betegek meggyógyításának lehetőségét is.

Nyilatkozatok: A cikk nem jelent meg más folyóiratban és nem áll publikáció alatt. A szerzők a szerzői útmutatót elolvasták.

Anyagi támogatás: A közlemény az MTA Lendület programjának (LP95021), a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal NVKP_16-1-2016-0004 és KH17-126718 pályázatainak támogatásával készült.

Érdekeltségek: A szerzőknek nincsenek érdekeltségeik.

Szerzői munkamegosztás: Valamennyi szerző (BB, NN, GA, LD, GWJ, BA, BCs) részt vett a közlemény megírásában, valamint az előzetes irodalmi adatok feldolgozásában.

Irodalom

- [1] Anderson JR, Armitage JO, Weisenburger DD. Epidemiology of the non-Hodgkin's lymphomas: distributions of the major subtypes differ by geographic locations. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. Ann Oncol. 1998; 9: 717–720.
- [2] Tan D, Horning SJ, Hoppe RT, et al. Improvements in observed and relative survival in follicular grade 1-2 lymphoma during 4 decades: the Stanford University experience. Blood 2013; 122: 981–987.
- [3] Casulo C, Burack WR, Friedberg JW. Transformed follicular non-Hodgkin lymphoma. Blood 2015; 125: 40–47.
- [4] Cullen MH, Lister TA, Brearley RI, et al. Histological transformation of non-Hodgkin's lymphoma: a prospective study. Cancer 1979; 44: 645–651.

- [5] Hua C, Zorn S, Jensen JP, et al. Consequences of the t(14;18) chromosomal translocation in follicular lymphoma: deregulated expression of a chimeric and mutated BCL-2 gene. *Oncogene Res.* 1988; 2: 263–275.
- [6] Roulland S, Lebailly P, Lecluse Y, et al. Long-term clonal persistence and evolution of t(14;18)-bearing B cells in healthy individuals. *Leukemia* 2006; 20: 158–162.
- [7] Okosun J, Bodor C, Wang J, et al. Integrated genomic analysis identifies recurrent mutations and evolution patterns driving the initiation and progression of follicular lymphoma. *Nat Genet.* 2014; 46: 176–181.
- [8] Pasqualucci L, Khiabanian H, Fangazio M, et al. Genetics of follicular lymphoma transformation. *Cell Rep.* 2014; 6: 130–140.
- [9] Morin RD, Mendez-Lago M, Mungall AJ, et al. Frequent mutation of histone-modifying genes in non-Hodgkin lymphoma. *Nature* 2011; 476: 298–303.
- [10] Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet.* 2003; 33 Suppl: 245–254.
- [11] Jenuwein T, Allis CD. Translating the histone code. *Science* 2001; 293: 1074–1080.
- [12] Jones PA, Baylin SB. The epigenomics of cancer. *Cell* 2007; 128: 683–692.
- [13] Araf S, Okosun J, Koniali L, et al. Epigenetic dysregulation in follicular lymphoma. *Epigenomics* 2016; 8: 77–84.
- [14] Ortega-Molina A, Boss IW, Canela A, et al. The histone lysine methyltransferase KMT2D sustains a gene expression program that represses B cell lymphoma development. *Nat Med.* 2015; 21: 1199–1208.
- [15] Zhang J, Dominguez-Sola D, Hussein S, et al. Disruption of KMT2D perturbs germinal center B cell development and promotes lymphomagenesis. *Nat Med.* 2015; 21: 1190–1198.
- [16] Jiang Y, Ortega-Molina A, Geng H, et al. CREBBP inactivation promotes the development of HDAC3-dependent lymphomas. *Cancer Discov.* 2017; 7: 38–53.
- [17] Pon JR, Wong J, Saberi S, et al. MEF2B mutations in non-Hodgkin lymphoma dysregulate cell migration by decreasing MEF2B target gene activation. *Nat Commun.* 2015; 6: 7953.
- [18] Sneeringer CJ, Scott MP, Kuntz KW, et al. Coordinated activities of wild-type plus mutant EZH2 drive tumor-associated hypertrimethylation of lysine 27 on histone H3 (H3K27) in human B-cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 20980–20985.
- [19] 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: 2451–2459.
- [20] Beguelin W, Popovic R, Teater M, et al. EZH2 is required for germinal center formation and somatic EZH2 mutations promote lymphoid transformation. *Cancer Cell* 2013; 23: 677–692.
- [21] Cao R, Zhang Y. SUZ12 is required for both the histone methyltransferase activity and the silencing function of the EED-EZH2 complex. *Mol Cell* 2004; 15: 57–67.
- [22] Ketel CS, Andersen EF, Vargas ML, et al. Subunit contributions to histone methyltransferase activities of fly and worm polycomb group complexes. *Mol Cell Biol.* 2005; 25: 6857–6868.
- [23] Pasini D, Bracken AP, Jensen MR, et al. Suz12 is essential for mouse development and for EZH2 histone methyltransferase activity. *EMBO J.* 2004; 23: 4061–4071.
- [24] Cao R, Wang L, Wang H, et al. Role of histone H3 lysine 27 methylation in Polycomb-group silencing. *Science* 2002; 298: 1039–1043.
- [25] Vire E, Brenner C, Deplus R, et al. The Polycomb group protein EZH2 directly controls DNA methylation. *Nature* 2006; 439: 871–874.
- [26] Velichutina I, Shakhovich R, Geng H, et al. EZH2-mediated epigenetic silencing in germinal center B cells contributes to proliferation and lymphomagenesis. *Blood* 2010; 116: 5247–5255.
- [27] Morin RD, Johnson NA, Severson TM, et al. Somatic mutations altering EZH2 (Tyr641) in follicular and diffuse large B-cell lymphomas of germinal-center origin. *Nat Genet.* 2010; 42: 181–185.
- [28] Bödör C, Grossmann V, Popov N, et al. EZH2 mutations are frequent and represent an early event in follicular lymphoma. *Blood* 2013; 122: 3165–3168.
- [29] Pastore A, Jurinovic V, Kridel R, et al. Integration of gene mutations in risk prognostication for patients receiving first-line immunochemotherapy for follicular lymphoma: a retrospective analysis of a prospective clinical trial and validation in a population-based registry. *Lancet Oncol.* 2015; 16: 1111–1122.
- [30] Huet S, Xerri L, Tesson B, et al. EZH2 alterations in follicular lymphoma: biological and clinical correlations. *Blood Cancer J.* 2017; 7: e555.
- [31] Miranda TB, Cortez CC, Yoo CB, et al. DZNep is a global histone methylation inhibitor that reactivates developmental genes not silenced by DNA methylation. *Mol Cancer Ther.* 2009; 8: 1579–1588.
- [32] Tan J, Yang X, Zhuang L, et al. Pharmacologic disruption of Polycomb-repressive complex 2-mediated gene repression selectively induces apoptosis in cancer cells. *Genes Dev.* 2007; 21: 1050–1063.
- [33] McCabe MT, Ott HM, Ganji G, et al. EZH2 inhibition as a therapeutic strategy for lymphoma with EZH2-activating mutations. *Nature* 2012; 492: 108–112.
- [34] Knutson SK, Wigle TJ, Warholik NM, et al. A selective inhibitor of EZH2 blocks H3K27 methylation and kills mutant lymphoma cells. *Nat Chem Biol.* 2012; 8: 890–896.
- [35] Garapaty-Rao S, Nasveschuk C, Gagnon A, et al. Identification of EZH2 and EZH1 small molecule inhibitors with selective impact on diffuse large B cell lymphoma cell growth. *Chem Biol.* 2013; 20: 1329–1339.
- [36] Qi W, Chan H, Teng L, et al. Selective inhibition of Ezh2 by a small molecule inhibitor blocks tumor cells proliferation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 21360–21365.
- [37] Italiano A, Soria JC, Toulmonde M, et al. Tazemetostat, an EZH2 inhibitor, in relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma and advanced solid tumours: a first-in-human, open-label, phase 1 study. *Lancet Oncol.* 2018; 19: 649–659.
- [38] Morschhauser F, Salles G, McKay P, et al. Interim report from a phase 2 multicenter study of tazemetostat, an EZH2 inhibitor, in patients with relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin lymphomas. *Hematological Oncology* 2017; 35: 24–25.
- [39] Franck Morschhauser HT, Aristeidis Chaidos, Tycel Phillips, et al. Interim update from a phase 2 multicenter study of tazemetostat, an ezh2 inhibitor, in patients with relapsed or refractory follicular lymphoma. 23rd Congress of the European Hematology Association, 14–17 June 2018, Stockholm, Sweden.
- [40] Gibaja V, Shen F, Harari J, et al. Development of secondary mutations in wild-type and mutant EZH2 alleles cooperates to confer resistance to EZH2 inhibitors. *Oncogene* 2016; 35: 558–566.
- [41] Bisserier M, Wajapeyee N. Mechanisms of resistance to EZH2 inhibitors in diffuse large B-cell lymphomas. *Blood* 2018; 131: 2125–2137.
- [42] Mrinal M, Gounder SS, Patrick Schöffski, Steven Attia, et al. Phase 2 multicenter study of the EZH2 inhibitor tazemetostat in adults with IN11 negative epithelioid sarcoma (NCT02601950). *J Clin Oncol.* 2017; 35: 11058–11058.
- [43] Glass M, Zauderer PS, Le Moulec S, Popat S, et al. Phase 2, multicenter study of the EZH2 inhibitor tazemetostat as monotherapy in adults with relapsed or refractory (R/R) malignant mesothelioma (MM) with BAP1 inactivation. *J Clin Oncol.* 2018; 36: 8515–8515.