

Anomalies de l'exportine 1 dans les hémopathies malignes : des mutations au ciblage thérapeutique

Exportin 1 (or XPO1) abnormalities in hematological malignancies: from the gene to targeted therapy

Hadjer Miloudi^{1,2}
Vincent Camus^{2,3}
Antoine Taly⁴
Brigitte Sola^{1,2}
Fabrice Jardin^{2,3}

¹ Université de Normandie
Unicaen
Caen
France

² Université de Normandie
Unirouen, Inserm U1245
Rouen
France
<fabrice.jardin@chb.unicancer.fr>

³ Centre Henri-Becquerel
Département d'hématologie clinique
Centre Henri-Becquerel
Rouen
France

⁴ Université Paris Diderot
CNRS, Institut de biologie
physicochimique
Laboratoire de
biochimie théorique
Paris
France

Remerciements et autres mentions :

Financement : aucun.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt.

RÉSUMÉ

L'exportine 1 (ou XPO1) est une protéine essentielle à l'export nucléaire. Des anomalies quantitatives et/ou qualitatives du gène *XPO1* jouent un rôle majeur dans l'oncogenèse de plusieurs types de cancer et, en particulier, dans des hémopathies malignes. XPO1 pourrait être une cible clé dans des stratégies thérapeutiques. L'inhibition pharmacologique de XPO1 est possible grâce à l'utilisation d'inhibiteurs spécifiques, les inhibiteurs sélectifs de l'export nucléaire (SINE, pour *selective inhibitors of nuclear export*), qui semblent très efficaces chez des patients présentant certaines pathologies hématologiques. Nous avons décrit récemment que le gène *XPO1* est muté de façon récurrente (mutation p.E571K) dans deux types d'hémopathies malignes présentant des similitudes cliniques et phénotypiques : le lymphome B primitif du médiastin (LBPM) et la forme classique du lymphome de Hodgkin (LH). La forme mutée p.E571K de XPO1 joue très certainement un rôle dans l'oncogenèse ; il est donc essentiel de la détecter et de la quantifier. Grâce à des techniques de réaction en chaîne par polymérase digitale (dPCR) et de séquençage haut débit (NGS, pour *next generation sequencing*), nous avons pu montrer la présence de la mutation E571K dans les cellules tumorales mais aussi dans l'ADN tumoral circulant (cfDNA, pour *cell-free DNA*) des patients atteints de LH ou de LBPM. La détection de ce variant pourrait être un outil efficace d'évaluation de la maladie résiduelle. Nous présentons dans cette revue de la littérature une description de la protéine XPO1, de ses fonctions, de ses altérations moléculaires et de son intérêt en tant que biomarqueur. Enfin, nous rapportons des données précliniques et cliniques de l'utilisation des SINE dans les hémopathies malignes et les recherches actuelles sur le développement de nouvelles drogues ciblant XPO1.

● **Mots clés** : exportine 1 (XPO1) ; lymphome ; thérapie ciblée ; maladie résiduelle.

ABSTRACT

Exportin 1 (or XPO1) is a key regulatory protein essential for nuclear export. Quantitative and/or qualitative abnormalities of the XPO1 gene play a major role in the oncogenesis of several types of cancer including hematological malignancies. XPO1 could be therefore a key target for therapeutic strategies. The pharmacological inhibition of XPO1 is achieved by the use of specific inhibitors, named SINEs (selective inhibitor of nuclear export) which appear to be very effective in patients with several hematological diseases. We recently described that the XPO1 gene is targeted by a recurrent E571K mutation

*Cet article est déjà paru dans *Hématologie* : Miloudi H, Camus V, Taly A, Sola B, Jardin F. Anomalies de l'exportine 1 dans les hémopathies malignes : des mutations au ciblage thérapeutique. *Hématologie* 2017 ; 23 : 43-56. doi : 16.1684/hma.2017.1208.

Tirés à part : F. Jardin

Pour citer cet article : Miloudi H, Camus V, Taly A, Sola B, Jardin F. Anomalies de l'exportine 1 dans les hémopathies malignes : des mutations au ciblage thérapeutique. *Innov Ther Oncol* 2018 ; 4 : 85-98. doi : 10.1684/ito.2017.0105

mainly observed in two types of lymphomas with clinical and phenotypic similarities: the primary mediastinal B-cell lymphoma (PMBL) and the classical Hodgkin's lymphoma (HL). Because it is likely that the p.E571K XPO1 mutated form certainly plays a role in oncogenesis, it appears therefore essential to detect and quantify it. Using digital PCR (dPCR) and high-throughput sequencing (NGS) techniques, we also recently demonstrated the presence of the p.E571K variant in cell-free tumor DNA (cfDNA) from plasma of cHL/PMBL patients. The detection of this variant could be a useful tool for assessing the minimal residual disease (MRD). We present in this review a description of XPO1 protein, its functions, its molecular alterations, its interest as a biomarker. Finally, we report pre-clinical data on the use of SINEs in hematological lymphoid malignancies and current research on the development of new drugs targeting XPO1.

● **Key words:** XPO1; exportin; lymphoma; targeted therapy; minimal residual disease.

L'exportine 1 (XPO1), encore appelée CRM1 (*chromosome region maintenance 1*) est un membre de la superfamille des karyophérines β , récepteurs spécialisés dans l'import ou l'export nucléaires. XPO1 est une protéine essentielle de l'export nucléaire, transportant depuis le noyau vers le cytoplasme un très grand nombre de protéines parmi lesquelles des suppresseurs de tumeurs, des facteurs de transcription, des protéines de signalisation et des complexes acides ribonucléiques (ARN)/protéines. XPO1 reconnaît un signal d'adressage spécifique ou domaine NES (*nuclear export signal*) riche en leucine, présent dans les protéines dites cargo. XPO1 est surexprimée et suractivée dans de nombreux cancers [1-7], ce qui en fait une cible thérapeutique depuis des décennies, *in vitro* et, plus récemment, en clinique. Ainsi, des inhibiteurs de XPO1, les inhibiteurs sélectifs de l'export nucléaire (SINE, pour *selective inhibitors of nuclear export*) ont été utilisés avec succès dans diverses pathologies [3, 8, 9] et en particulier dans les hémopathies malignes [10-12]. Actuellement, le chef de file des SINE, le sélinexor (ou KPT-330) est évalué dans des essais cliniques de phase I et II, en monothérapie ou en combinaison.

Nous avons décrit récemment une mutation récurrente du gène XPO1 : p.E571K. Cette mutation est observée chez près de 25 % des patients présentant un lymphome B primitif du médiastin (LBPM) ou la forme classique du lymphome de Hodgkin (LH), deux types de lymphomes B ayant des similitudes phénotypiques et cliniques [13, 14]. Une translocation cryptique XPO1-MLLT10 a été décrite dans la leucémie lymphoïde T aiguë (LAL-T), entraînant une dérégulation du facteur de transcription HOXA (*homeobox protein A*) [15]. Des mutations faux-sens ont aussi été identifiées, à une faible fréquence (moins de 5 % des cas), dans la leucémie lymphoïde chronique (LLC) et le carcinome épidermoïde de l'œsophage [16, 17]. Ces mutations jouent probablement un rôle essentiel dans le processus oncogénique, mais ce rôle est pour le moment inconnu.

Cette revue a pour objectif de décrire les altérations moléculaires du gène XPO1 et leur impact sur la protéine

et ses fonctions, et de souligner l'intérêt de ces altérations comme biomarqueur potentiel. Enfin, nous ferons le point sur les essais précliniques et cliniques impliquant les SINE et le développement d'une nouvelle génération de SINE capables de cibler XPO1 dans les hémopathies malignes.

Structure de l'exportine 1

La protéine XPO1 a été découverte lors d'un screening génétique de la levure *Saccharomyces pombe* et décrite comme un composant nucléaire indispensable au maintien de la structure tertiaire des chromosomes, d'où le nom CRM1 [18]. XPO1 a ensuite été reconnue comme une protéine ubiquiste de la famille des karyophérines β , permettant l'export nucléaire de plus de 200 protéines cargo et de certains ARN [19-21].

XPO1 humaine est une protéine de 120 kDa contenant vingt et une répétitions tandem HEAT consécutives (H1-H21). Chaque répétition HEAT est formée par deux hélices alpha antiparallèles, A et B, reliées par des boucles de longueur variable. Les hélices A s'alignent pour former une surface externe convexe tandis que les hélices B forment une surface concave interne (*figure 1A*) [22, 23]. Les extrémités N- et C-terminales sont à proximité, et XPO1 adopte une forme de bague ou de toroïde.

Les hélices A de H11 et de H12 forment un sillon hydrophobe qui constitue le site de NES. Le motif NES, riche en leucine, présent dans les protéines cargo de XPO1, est une courte séquence peptidique de dix résidus d'acides aminés ordonnés comme suit : $\Phi 1X2-3\Phi 2X2-3-\Phi 3X\Phi 4$, où Φ est un résidu isoleucine, leucine, méthionine, phénylalanine ou valine, et X tout autre acide aminé [24]. Les chaînes latérales hydrophobes du NES s'insèrent dans cinq poches hydrophobes le long du sillon de liaison NES [22, 23, 25]. Le sillon de liaison NES de XPO1 non liée adopte une conformation fermée qui est stabilisée par la liaison de la boucle H9 à la surface interne de H11 et H12. Dans cette conformation inhibée, l'hélice B de H21

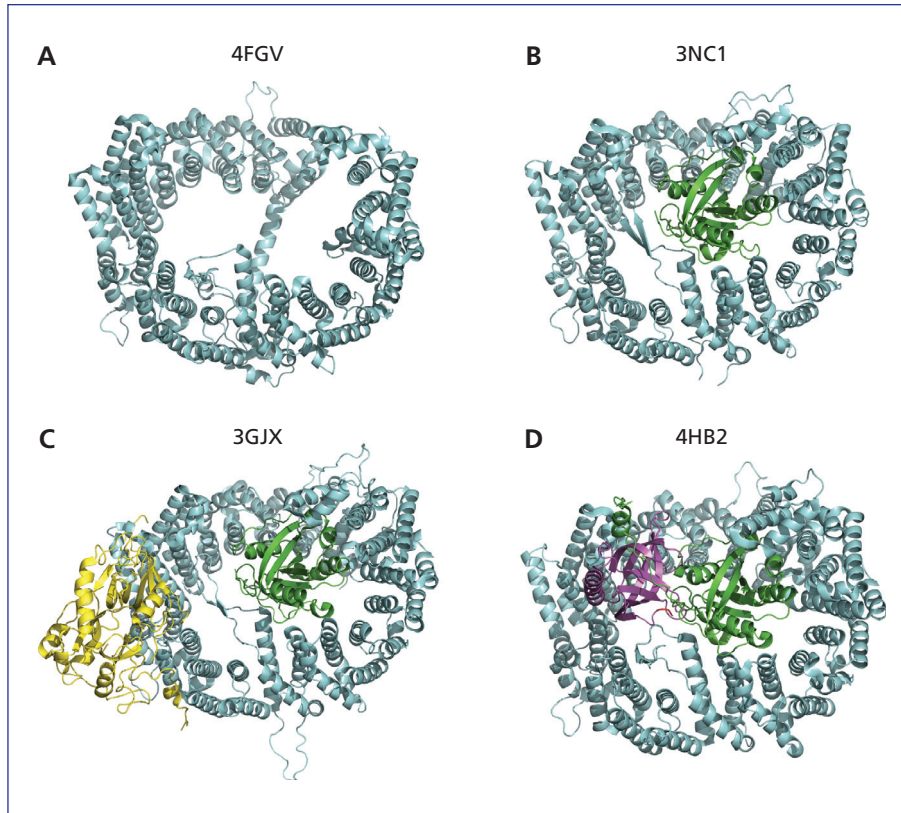


Figure 1. Structures tridimensionnelles de XPO1 et de ses complexes. (Obtenues de la banque de données *RCSB Protein Data Bank*, <http://www.rcsb.org/pdb/>). Les structures cristallographiques sont les suivantes : (A) 4FGV, XPO1 seule ; (B) 3NC1, complexe XPO1/RanGTP ; (C) 3GJX, complexe XPO1/Rev (protéine à NES du virus HIV-1)/RanGTP ; (D) 4HB2, complexe XPO1/RanGTP/RanBP1. Les codes couleurs sont les suivants : en gris, XPO1 ; en vert, RanGTP ; en jaune, protéine à NES ou cargo ; en magenta, RanBP1.

Figure 1. Three-dimensional structures of XPO1 and associated complexes (from the *RCSB Protein Data Bank*; <http://www.rcsb.org/pdb/>). The crystallographic structures are the following: (A) 4FGV, XPO1 alone; (B) 3NC1, XPO1/RanGTP complex; (C) 3GJX, XPO1/Rev complex (protein with NES of HIV-1)/RanGTP; and (D) 4HB2, XPO1/RanGTP/RanBP1 complex. The colour code is the following: grey: XPO1; green: RanGTP; yellow: NES protein or cargo; magenta: RanBP1.

(appelée hélice C) se trouve dans la cavité centrale avec son extrémité C-terminale proche du site de liaison NES [26]. La transition de cet état inactif à un état actif dépend de la liaison de RanGTP et des cargos. RanGTP s'associe à la surface interne de XPO1 grâce au déplacement de la boucle H9 et de l'hélice C loin de la surface interne (*figure 1B, C*) [24, 27].

L'assemblage des complexes XPO1/cargo est orchestré par Ran, petite protéine G (*figure 2*). Un gradient RanGTP-RanGDP est maintenu de part et d'autre de l'enveloppe nucléaire par la compartimentalisation subcellulaire des régulateurs de Ran. En effet, l'activité GTPase de Ran est stimulée par RanGAP (*Ran GTPase activating protein*) et ses cofacteurs RanBP1 et RanBP2 (*Ran binding protein 1/2*). RanGAP, RanBP1 et RanBP2 sont essentiellement cytosoliques ou liés à la face interne du pore nucléaire. Ils maintiennent Ran sous sa forme GDP dans le cytoplasme. Au contraire, l'échange RanGDP en RanGTP est stimulé par le facteur d'échange nucléotidique RCC1 (*regulator of chromosome condensation 1*), protéine liée à la chromatine. Comme

schématisé dans la *figure 2*, RanGTP et les protéines cargo possédant un domaine NES, se lient à XPO1 de façon coopérative et forment un complexe ternaire capable d'être exporté à travers du pore nucléaire. Parvenus sur la face cytoplasmique, les complexes sont alors dissociés, permettant le relargage des protéines cargo et le recyclage de XPO1. Cette étape est contrôlée par RanGAP mais aussi par RanBP1 et RanBP2, capables de favoriser la dissociation des complexes [28].

La liaison des domaines de liaison Ran (RanBDs) présents dans RanGAP et les protéines associées RanBP1/2, induisent un mouvement de la boucle H9, entraînant la rotation et la translation de H11 et de H12 et la libération du cargo (*figure 1D*) [27, 29]. Ainsi, l'affinité de XPO1 à ses cargos est considérablement réduite par la mutagenèse dirigée de résidus dans le sillon de liaison NES [24, 25]. Inversement, les mutations des résidus dans la boucle H9 ou la délétion de l'hélice C augmentent l'affinité de XPO1 à ses cargos [25, 29] et réduisent leur taux de libération [27]. De plus, García-Santisteban *et al.* ont récemment décrit un nouveau rapporteur cellulaire permettant de suivre

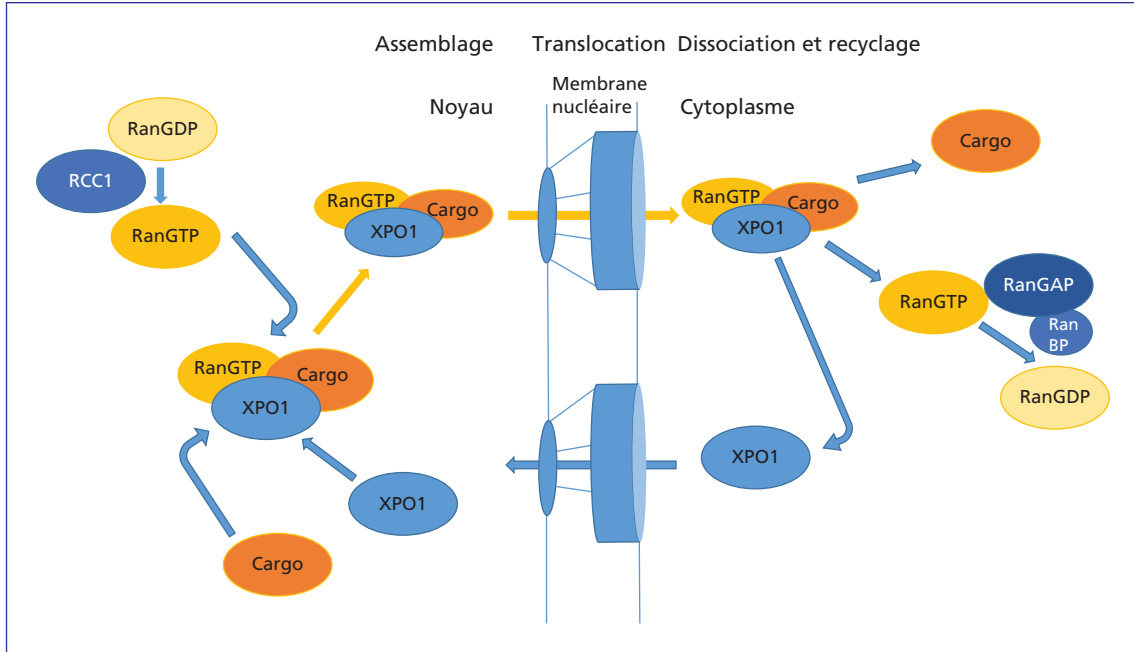


Figure 2. Schéma de l'export nucléaire des protéines cargo de XPO1. Les protéines possédant un signal NES sont reconnues par l'exportine XPO1 en présence de RanGTP. Ces complexes sont ciblés vers le pore nucléaire qui traverse la membrane nucléaire et sont transloqués vers la face externe de la membrane nucléaire. Dans le cytoplasme, les complexes sont dissociés sous l'action concertée de RanGAP et des RanBP1/2 qui hydrolysent le GTP en GDP. Les protéines cargo, libérées des complexes d'export, sont alors capables de remplir leurs fonctions. XPO1 retourne dans le noyau via le pore nucléaire où elle est capable de prendre en charge une nouvelle protéine cargo et de reprendre un nouveau cycle d'export.

Figure 2. Schematic diagram of the nuclear export of cargo and XPO1 proteins. The proteins that have an NES signal are recognised by exportin XPO1 in the presence of RanGTP. These complexes are targeted towards the nuclear pore which crosses the nuclear membrane and are translocated towards the external face of the nuclear membrane. In the cytoplasm, the complexes are dissociated under the combined action of RanGAP and RanBP1/2 which hydrolyse GTP to GDP. The cargo proteins, liberated from export complexes, are then capable of fulfilling their functions. XPO1 returns to the nucleus where it is responsible for a new cargo protein and re-initiation of a new export cycle.

l'activité d'export nucléaire de XPO1 et les conséquences fonctionnelles de la mutation E571K, hautement récurrente et liée à certains cancers [30]. Leurs résultats montrent que cette mutation augmente l'affinité de la protéine XPO1 pour les séquences NES, ce qui peut déplacer le transport nucléocytoplasmique et donc modifier l'équilibre cellulaire. Ainsi, le mutant XPO1^{E571K} pourrait jouer un rôle majeur dans la carcinogenèse.

Fonctions de l'exportine 1 : export nucléaire et contrôle de la mitose

L'export nucléaire, qui est un mécanisme essentiel à l'homéostasie cellulaire, est régulé essentiellement par la reconnaissance entre XPO1 et la séquence de transport nucléaire NES, c'est-à-dire par l'accessibilité de cette séquence. Les séquences NES reconnues par XPO1 sont observées dans des protéines ayant des fonctions diverses comme la régulation du cycle cellulaire, la transcription ou la traduction, dans des protéines appartenant à des complexes ribonucléoprotéiques et dans des protéines virales. Parmi ces protéines, on retrouve des protéines

dont les dysfonctionnements sont associés à des processus transformants comme les suppresseurs de tumeur p53, p73 et FOXO1, les régulateurs du cycle RB, p21, CDC25 et la cycline B1/D1, ou encore les molécules antiapoptotiques nucléophosmine et survivine. Les protéines reconnues par XPO1 sont compilées dans la banque de données NESdb [31, 32]. Chez les eucaryotes, les ARN ribosomiaux (sous-unités 60S et 40S), les petits ARN nucléaires (snRNA) et certains micro-ARN (miRNA) sont exportés par XPO1 au travers du pore nucléaire grâce à des protéines adaptatrices spécifiques [33].

Indépendamment de ce rôle d'export nucléaire, XPO1 est nécessaire au maintien de l'intégrité des chromosomes et de la nucléation des microtubules par les complexes γ -TuRC (γ -tubulin ring complex) au niveau des kinétochores et des centrosomes pendant la mitose (figure 3). Comme pour l'export nucléaire, XPO1 est complexée à RanBP1/2 et à RanGAP au niveau des kinétochores. Cette liaison stabilise les microtubules et permet la ségrégation correcte des chromosomes. Au niveau des centrosomes, XPO1 est liée à RanGTP. Elle recrute la protéine majeure d'échafaudage du centrosome, la péricentrine, et associée

aux complexes γ -TuRC, elle permet aussi la nucléation des microtubules. Il est important de noter que des anomalies des deux fonctions principales de XPO1 (export nucléaire et régulation de la mitose) sont délétères pour les cellules et susceptibles d'initier et/ou de maintenir un processus de transformation.

Mutations somatiques du gène *XPO1* dans les hémopathies malignes

Dans un récent travail basé sur le séquençage de nouvelle génération (NGS), nous avons décrit pour la première fois la forte prévalence dans les LBPM et LH d'une mutation faux-sens récurrente, p.E571K, touchant un seul nucléotide (NM_003400, chr2:g.61719472C>T) (figure 4) [13, 14]. Cette mutation a été observée dans près de 25 % des cas, et elle semble spécifique, puisqu'elle n'est pas identifiée, sinon à une très faible fréquence, dans les lymphomes B diffus à grandes cellules (LBDGC) de type centre germinatif (GCB) ou activé (ABC), ou dans le lymphome médiastinal de la *grey-zone* (LMZG) [13, 34]. Dans une seconde étude menée à la fois par réaction en chaîne par polymérase digitale (dPCR) et NGS, cette même mutation a été observée au diagnostic et avant tout traitement, avec la même fréquence (24 %) dans une cohorte de quatre-vingt-quatorze patients présentant un LH [14]. Avec un suivi médian de 34,5 mois et en première ligne de traitement, la survie globale (SG) et la survie sans progression (SSP) de la maladie sont similaires entre les patients présentant ou non la mutation. À ce jour, l'impact de la présence de la mutation E571K sur la pathogénèse reste inconnu. Des données récentes ont

montré que la mutation E571K, qui se trouve dans le sillon hydrophobe (figure 4), ne modifie pas ou peu l'affinité de XPO1 pour ses protéines cargo ou peut-être seulement pour certaines d'entre elles [30]. Plusieurs protéines connues pour jouer un rôle important dans la physiopathologie du LH et du LPMB, comme STAT1 (*signal transducer and activator of transcription 1*), FOXO1 (*forkhead box O1*) ou CIITA (*class II major histocompatibility complex transactivator*) ont été identifiées comme protéines cargo de XPO1 [35-37]. La question de savoir si la mutation E571K de XPO1 a ou n'a pas un impact sur l'export nucléaire de ces protéines reste posée.

La parenté génétique entre LBPM et LH, notamment dans sa forme scléronodulaire, est bien établie. De ce fait, une origine cellulaire commune (lymphocyte B du médiastin) fait encore débat [38]. La prévalence élevée de la mutation p.E571K à la fois dans le LH et les LBPM plaide en faveur d'un rôle oncogénique important dans ces deux pathologies et pourrait être utile pour faire la distinction avec les LMZG ou les lymphomes diffus à grandes cellules avec atteinte médiastinale et dont l'histoire naturelle est bien distincte [13, 39, 40].

Des substitutions faux-sens dans le gène *XPO1* ont aussi été décrites à une faible fréquence (< 5 %) par des techniques de NGS dans la LLC [16, 41] et le cancer épidermoïde de l'œsophage [17]. Des mutations de *XPO1* ont été détectées chez 38/486 patients (7,8 %) atteint de LLC. Parmi ces mutations, 74 % d'entre elles sont des mutations E571K [2]. Un impact pronostique défavorable est associé à ces mutations ; cependant la SG des patients recevant de l'ibrutinib n'est pas modifiée. La nature récurrente de la mutation de *XPO1* suggère un rôle

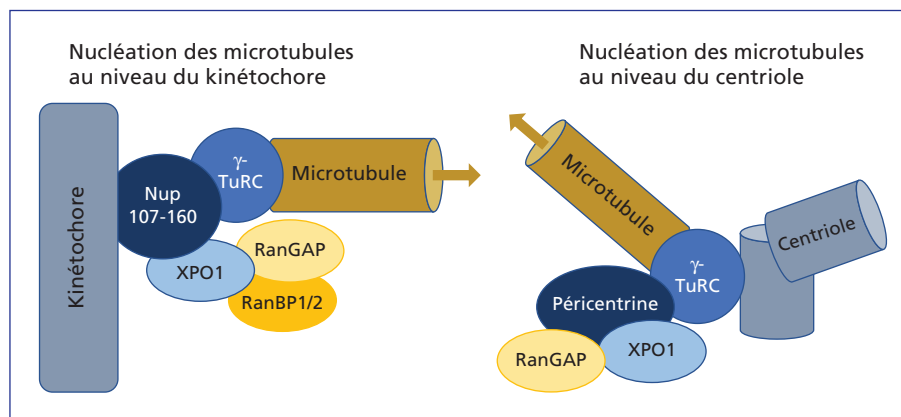


Figure 3. Schéma de la nucléation des microtubules lors de la mitose. Lors de la mitose, les microtubules croissent à partir des complexes γ TuRC qui sont recrutés au niveau du kinétochore par les complexes nucléoporine (Nup 107-160). Chez l'homme, XPO1 est aussi présente sur ces complexes où elle est associée à ses partenaires RanGAP, RanBP1, et RanBP2. Comme lors de l'export nucléaire, il existe un gradient RanGFP/RanGDP au niveau des chromosomes, RCC1 étant toujours attachée à la chromatine. Au niveau des centrioles, le complexe XPO1/RanGTP aide au recrutement de la péricentrine sur les complexes γ TuRC et ainsi à la formation des microtubules du fuseau mitotique.

Figure 3. Schematic diagram of the nucleation of microtubules at mitosis. During mitosis, microtubules cross via γ TuRC complexes which are recruited at the kinetophore level by nucleoporin complexes (Nup 107-160). In humans, XPO1 is also present on complexes where it is associated with its partners RanGAP, RanBP1, and RanBP2. As for nuclear export, there is a RanGFP/RanGDP gradient at the chromosome level, with RCC1 consistently bound to chromatin. At the centriole level, the XPO1/RanGTP complex supports the recruitment of pericentrin on γ TuRC complexes, as well as the formation of microtubules of the mitotic spindle.

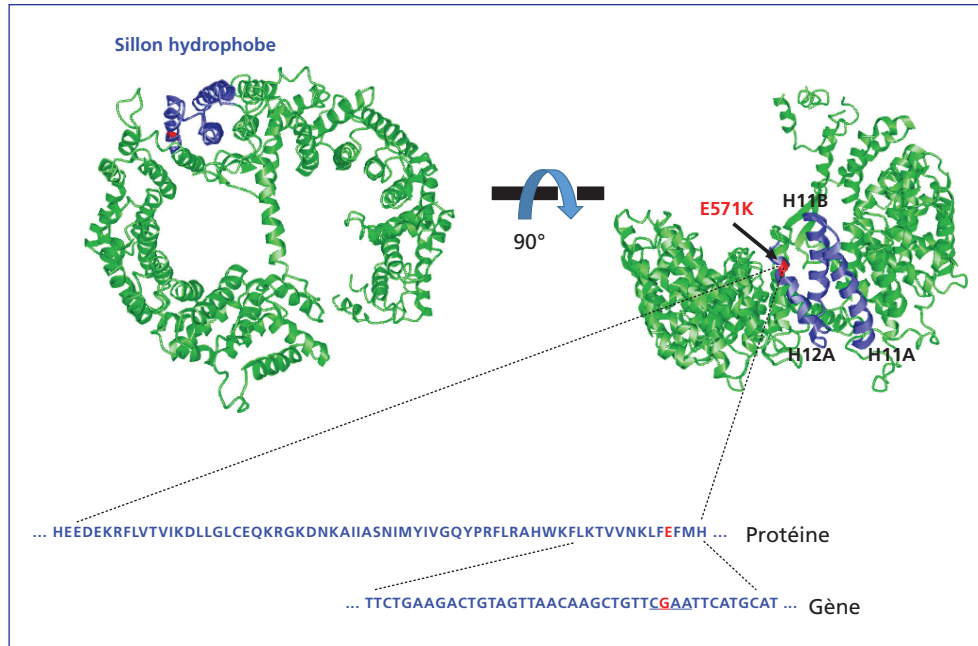


Figure 4. Mutation E571K du gène *XPO1* et modification de la protéine.

Figure 4. E571K mutation of the *XPO1* gene and protein modification.

déterminant dans le processus oncogénique des patients avec une LLC, un LBPM ou un LH. De manière intéressante, il est également rapporté dans le LH des mutations du gène *RANBP2*, suggérant que la machinerie d'export nucléaire constitue une cible plus largement touchée par des altérations génétiques [42].

Translocation, gain de copies et dérégulation de l'expression de *XPO1*

Plusieurs mécanismes moléculaires entraînent la surexpression de *XPO1* comme des translocations chromosomiques et des gains de copie du gène. Par séquençage de l'ARN (RNA-Seq), il a été décrit une translocation cryptique dans la LAL-T, et l'existence d'un transcrit de fusion *XPO1-MLLT10*. Cette translocation est associée à la dérégulation de l'expression du locus *HOXA* [15]. Il est tentant de penser que la protéine de fusion *XPO1-AF10* (codée par *MLLT10*) pourrait contribuer à la leucémogénèse T au travers du transport anormal de suppresseurs de tumeur et/ou de régulateurs de la prolifération, et/ou de l'inhibition de la fonction de la protéine sauvage par la forme mutée dominante.

Dans le lymphome à cellules du manteau (LCM) caractérisé par la présence de la translocation chromosomique t(11;14)(q13;q32) et l'expression de cycline D1, il a été décrit une surexpression de *XPO1* sans anomalie génétique observée [43, 44]. Le mécanisme d'export nucléaire est insuffisamment caractérisé dans cette pathologie mais il a été établi que la protéine cycline D1 est un cargo de *XPO1* [45]. Une diminution du niveau d'expression de cycline D1 et de sa cible, la protéine RB phosphorylée

(p-RB), est observée après un traitement des cellules de LCM par le SINE KPT-185, mais aussi d'autres protéines oncogéniques comme MYC ou les membres de la famille BCL2 [44, 46]. D'une manière plus globale, le KPT-185 est un inhibiteur puissant de la biogenèse des ribosomes, dont on sait le rôle central dans les cellules cancéreuses.

Dans une série de 20 cas de LBPM analysés par hybridation génomique comparative (CGH), un gain du nombre de copies du locus *XPO1* a été observé dans huit cas [13]. Ce pourcentage est supérieur à celui observé dans le LBDGC de type ABC (8/70, 11 %) mais similaire à celui observé dans le LBDGC de type GCB (21/74, 28 %). Une corrélation significative a été observée entre le nombre de copies de *XPO1* et le niveau d'expression de l'ARNm, suggérant un mécanisme de dosage génique. Une amplification du locus 2p16.1-2p15, qui porte les gènes *REL* et *XPO1*, est couramment observée dans des cas de LBDGC de type GCB, LH et LBPM [42, 47, 48]. Elle pourrait être un mécanisme de surexpression de *XPO1* dans ces hémopathies malignes.

Mutation de *XPO1* et maladie résiduelle dans le lymphome de Hodgkin classique et le lymphome B primitif du médiastin

Les avantages de l'analyse de l'ADN tumoral circulant (ctDNA) afin de détecter des mutations sont nombreux :

- le recueil de l'échantillon est non invasif ;
- il est possible à tout moment lors de l'évolution de la maladie ;

- il permet une analyse dynamique « en temps réel » et le suivi de biomarqueurs ;
- l'ADN circulant est probablement moins hétérogène que l'ADN des cellules tumorales [49].

Ce concept de « biopsie liquide » a été testé récemment, pour la première fois, dans une série de patients avec un LBDGC, pour lesquels un panel de gènes d'intérêt avait été défini [50]. La recherche de mutations du cfDNA plasmatique représente indéniablement un outil performant pour la caractérisation de la maladie résiduelle. Dans un certain nombre de cancers, cette technique a permis de vérifier le succès des traitements ou de détecter une rechute avant l'apparition de symptômes clinico-biologiques [51-54].

La technologie Lymphosight, basée sur la détection du réarrangement clonotypique des chaînes d'immunoglobulines [55], peut être utilisée pour prédire la rechute chez les patients LBDGC [56]. Cependant, le réarrangement VDJ n'est pas mesurable chez tous les patients [57]. De plus, cette technologie ne peut être utilisée pour le choix des thérapies ciblées. Une étude récente de notre groupe a confirmé la détection de mutations somatiques récurrentes au niveau du cfDNA plasmatique de patients LBDGC par dPCR [58]. L'analyse du cfDNA par dPCR semble une méthode appropriée, facile et reproductible, associée au séquençage NGS pour la prise en charge des LBDGC.

Nous avons analysé par dPCR les plasmas de cinquante patients atteints de LH obtenus au moment du diagnostic, pendant le traitement par radiothérapie/chimiothérapie et au terme de ce traitement [14]. Les patients pour lesquels la mutation p.E571K avait été détectée à la fin du traitement montraient une tendance à une SSP plus courte que les patients pour lesquels la mutation devenait indétectable. Ces résultats semblent indiquer que la disparition de la mutation lors du traitement pourrait être un marqueur pronostique ou de maladie résiduelle pour les patients porteurs de mutations du gène *XPO1*. Une étude sur une plus grande cohorte est nécessaire pour conclure de façon définitive sur ce point, déterminer si la détection de la mutation est complémentaire de la tomographie à émission de positrons (TEP) et enfin si le variant E571K peut être ciblé de façon efficace par les SINE dans le LH.

Anomalies de *XPO1* comme marqueur diagnostique ou pronostique

La surexpression de *XPO1* est corrélée positivement à des tumeurs de plus grande taille dans le carcinome épidermoïde de l'œsophage [17]. Le niveau d'expression de *XPO1* est plus élevé dans les cellules tumorales par rapport aux cellules épithéliales adjacentes, ce qui est en faveur d'un phénotype « gain-de-fonction ». Un niveau élevé de *XPO1* est associé à une survie plus courte et à un mauvais pronostic dans la leucémie aiguë myéloïde (LAM) [59]. Dans cette pathologie, la surexpression de *XPO1* est

associée à une diminution de l'expression de MDM2 (*mouse double minute homolog 2*) et à une augmentation de celle de p53.

Dans les lignées cellulaires de LCM et les cellules primaires de patients, la diminution de l'expression de *XPO1* entraîne un ralentissement de la prolifération cellulaire [43]. Dans les cellules de LCM, *XPO1* régule la prolifération, le cycle cellulaire, la réponse aux dommages à l'ADN et la stabilité chromosomique [43], ce qui en fait une cible thérapeutique prometteuse dans cette pathologie. Une autre étude a confirmé ces observations et a rapporté que la surexpression de *XPO1* a un impact négatif sur la survie des patients [44].

XPO1 est plus fortement exprimée dans les cellules de myélome multiple (MM) que dans les plasmocytes normaux de la moelle osseuse et dans les cellules de patients avec une gammopathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS, pour *monoclonal gammopathy of unknown significance*) [60]. Une forte expression de *XPO1* est associée, chez les patients avec un MM, à une forte destruction osseuse, à une survie plus courte et à la résistance au bortézomib [61]. Les auteurs de cette étude montrent que le traitement des cellules tumorales par le KPT-185 ou le sélinexor entraîne une apoptose rapide et massive des cellules tumorales, *in vitro* et dans des modèles *in vivo*, et réduit la perte osseuse. Cette étude confirme le rôle essentiel de *XPO1* dans les hémopathies malignes touchant plusieurs types cellulaires et le rôle essentiel des SINE dans ces pathologies, encourageant le développement de nouvelles molécules ciblant *XPO1*.

Chez les patients avec un LH ou une LLC, la mutation E571K de *XPO1* n'est pas associée à un raccourcissement de la survie (SG et SSP) par rapport aux patients avec un gène *XPO1* sauvage [14, 16]. En revanche, la mutation E571K pourrait s'associer à un pronostic plus péjoratif dans le LBPM [13].

Ciblage de l'exportine 1 par les inhibiteurs sélectifs de l'export nucléaire

La leptomycine B (LMB), une molécule à activité antifongique produite par *Streptomyces*, est le premier SINE à avoir été décrit (figure 5). Dans leur article *princeps*, Kudo et al. montrent que la LMB se lie à *XPO1* sur un résidu cystéine conservé, en position 528 dans la protéine humaine (C528) [62]. L'alkylation de ce résidu C528, situé à l'intérieur de la poche hydrophobe de *XPO1*, détruit les interactions entre *XPO1* et ses protéines cargo et empêche la liaison de RanGTP. Il en résulte que la LMB bloque l'export nucléaire. Il est intéressant de noter que la substitution de la cystéine 528 en sérine (C528S) n'a pas d'impact sur la fonction d'export de la protéine, mais que les cellules portant cette mutation C528S sont complètement résistantes à la LMB. Bien que ce composé soit actif à des concentrations nanomolaires, il ne peut être utilisé en clinique à cause de sa forte toxicité [63].

Récemment, grâce à des méthodes de modélisation informatique, la société *Karyopharm Therapeutics* a développé plusieurs SINE (e.g. KPT-185, KPT-330 ou sélinexor). Les SINE inhibent la formation des complexes XPO1/cargo et se fixent de façon covalente au résidu

C528, comme cela a été montré par les structures cristallographiques [10, 64] (figure 6). Par la technique de CRISPR/Cas9, il a été possible d'introduire la mutation C528S dans la lignée de LAL-T Jurkat et de démontrer qu'elle entraîne une résistance au sélinexor [65].

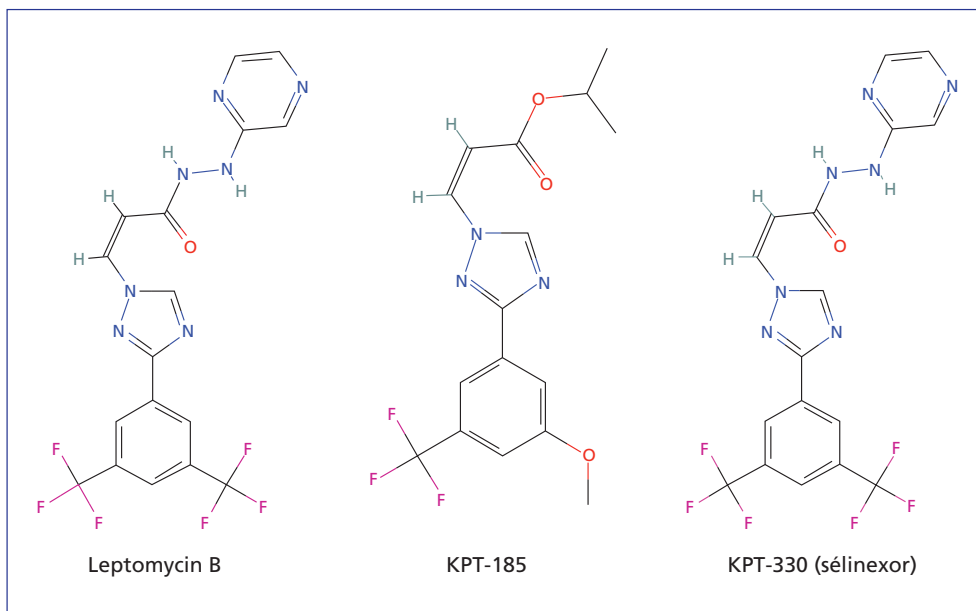


Figure 5. Structures chimiques de la leptomycine B et de différents SINE. Les structures chimiques des composés ont été obtenues dans la banque de données PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Figure 5. Chemical structures of leptomycin B and different SINE. The chemical structures were obtained from the PubChem database (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

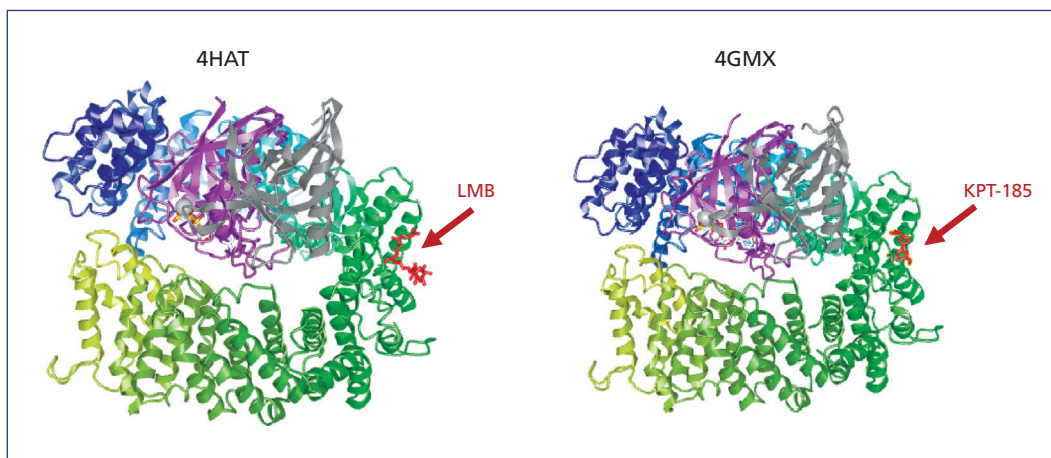


Figure 6. Conformations tridimensionnelle de XPO1 et de ses interactions avec LMB et KPT-185. La structure tridimensionnelle de XPO1 est colorée par les couleurs de l'arc-en-ciel depuis l'extrémité N-terminale vers l'extrémité C-terminale (du bleu vers le jaune). XPO1 est complexée à Ran-GTP (en magenta) et à RanBP1 (en gris). Les inhibiteurs de XPO1, LMB (à gauche) et KPT-185 (à droite) sont en rouge et montrés par la flèche. Les structures 4HAT [79] et 4GMX [64] ont été obtenues de la banque de données RCSB Protein Data Bank (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Figure 6. Three-dimensional conformations of XPO1 and its interactions with LMB and KPT-185. The three-dimensional structure of XPO1 is coloured from the N to C terminal extremities in blue to yellow. XPO1 forms a complex with Ran-GTP (magenta) and RanBP1 (grey). The inhibitors XPO1, LMB (left), and KPT-185 (right) are highlighted in red and indicated by the arrow. The structures 4HAT [79] and 4GMX [64] were obtained from the RCSB Protein Data Bank (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Tableau 1. Études *in vitro* et *in vivo* précliniques des SINE dans les hémopathies malignes.
Table 1. *In vitro and in vivo preclinical studies of SINE in haemopathic malignancies.*

Pathologie	Gène XPO1 et protéine	SINE	Effets	Référence
LAM		KPT-185	Induit l'apoptose Entraîne l'arrêt du cycle et inhibe la prolifération Diminue le niveau de XPO1 Régule négativement l'expression des oncogènes FLT3 et KIT	[66]
		KPT-276	Augmente la survie des souris FLT3 ⁻ ITD ⁺ -MV4.11	
LLC	Forte expression de XPO1	KPT-185	Inhibe l'export nucléaire Induit l'apoptose des cellules tumorales pas des cellules B normales Cible la voie IκB Antagonise les signaux du micro-environnement (TNF, IL6, IL4) Inhibe la croissance tumorale <i>in vivo</i> (modèle de souris Eμ-TCL1-SCID)	[64]
		KPT-330	Supprime les effecteurs de la voie de signalisation du BCR <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> via la déplétion de BTK Empêche la migration des cellules de LLC	[83]
LAL-T		KPT-185 KPT-330	Induit l'apoptose <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> Entraîne l'arrêt du cycle en G1 Inhibe la croissance tumorale <i>in vivo</i>	[10]
LAM	Forte expression de XPO1	KPT-185	Inhibe l'export nucléaire Induit une apoptose dépendante de p53 Inhibe la prolifération cellulaire de façon p53-indépendante	[59]
		KPT-330	Inhibe les interactions XPO1/cargo et l'export nucléaire Induit l'apoptose Entraîne l'arrêt du cycle cellulaire en G1 Inhibe la croissance tumorale <i>in vivo</i>	[10, 80]
		KPT-251	Inhibe la croissance tumorale <i>in vivo</i>	
LCM	Forte expression de XPO1	KPT-185	Bloque l'export nucléaire Induit l'apoptose de façon p53-indépendante N'a pas d'effet sur le cycle cellulaire Inactive la voie NF-κB	[43]
		KPT-276	Inhibe la croissance tumorale <i>in vivo</i>	
MM	Forte expression de XPO1	KPT-276	Induit l'apoptose <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> Cible c-Myc, CDC25A and BRD4 Induit l'arrêt du cycle cellulaire en G1	[60]
	Forte expression de XPO1	KPT-185 KPT-330	Inhibe l'export nucléaire Induit l'apoptose et réduit la résistance de type CAM-DR Entraîne l'arrêt du cycle cellulaire en G1 Cible c-Myc, MCL1, la voie NF-κB Montre une forte activité antimyélome <i>in vivo</i> , empêche l'ostéoclastogenèse et la résorption osseuse	[61]
LNH		KPT-185	Inhibe la croissance tumorale Induit l'apoptose Restaure la localisation nucléaire des protéines TSP et leurs fonctions Montre une activité antitumorale <i>in vivo</i>	[81]

Tableau 1. (Suite).

Pathologie	Gène <i>XPO1</i> et protéine	SINE	Effets	Référence
LAL Ph+	Forte expression de <i>XPO1</i>	KPT-330	Induite une apoptose à la fois p53-dépendante et p53-indépendante Diminue le potentiel clonogénique Augmente la survie de souris BCR-ABL1 Altère la localisation des complexes ribonucléoprotéiques et des protéines à domaine SET Réactive la protéine TSP, PP2A	[82]
LH	Mutation E571K Amplification <i>XPO1</i>	KPT-185	Inhibe la prolifération des cellules et induit l'apoptose quel que soit le statut de <i>XPO1</i>	[14]
LBDGC	Mutation E571K Amplification <i>XPO1</i>	KPT-185	Inhibe la prolifération des cellules et induit l'apoptose quel que soit le statut de <i>XPO1</i>	[13]
LAM/LLC /LBDCGC		KPT-8602	Inhibe les interactions <i>XPO1</i> /cargo et l'export nucléaire Induit l'apoptose des cellules primaires de LLC Inhibe la prolifération de lignées cellulaires de DLBCL (sous-types ABC et GC) Prolonge la survie de souris E μ -TCL1 Agit en synergie avec l'ibrutinib <i>in vivo</i> Inhibe la prolifération et induit l'apoptose de lignées cellulaires d'AML et de blastes Est efficace dans un modèle murin d'AML	[74]

ABC : *activated B-cell* ; BCR : *B-cell receptor* ; BRD4 : *bromodomain-containing protein 4* ; BTK : *Bruton tyrosine kinase* ; CAM-DR : *cell adhesion-mediated drug resistance* ; CDC25A : *cell division cycle 25 homolog A* ; FLT3 : *FMS-like tyrosine kinase* ; GC : *germinal center* ; IL : *interleukine* ; ITD : *internal tandem duplication* ; hnRNP : *heterogeneous nuclear ribonucleoprotein* ; LAL : leucémie aiguë lymphoïde ; LAM : leucémie aiguë myéloïde ; LBDGC : lymphome B diffus à grande cellule ; LBPM : lymphome primitif du médiastin ; LCM : lymphome à cellules du manteau ; LH : lymphome de Hodgkin ; LLC : leucémie lymphoïde chronique ; LNH : lymphome non hodgkinien ; MDM2 : *human homolog of mouse double minute 2* ; MM : myélome multiple ; PP2A : *protein phosphatase 2A* ; TNF : *tumor necrosis factor* ; TSP : *tumor suppressor protein*.

Ce résultat confirme la spécificité du SINE pour sa cible *XPO1*. Les SINE montrent des activités antiprolifératives et proapoptotiques dans des modèles *in vitro* et *in vivo* d'hémopathies malignes, sur des lignées cellulaires et des cellules primaires de patients. Les résultats majeurs obtenus dans les essais précliniques sont rassemblés dans le [tableau 1](#). Les SINE inhibent la fonction d'export nucléaire et restaurent la localisation nucléaire de protéines suppresseurs de tumeur (TSP) et de certaines protéines du cycle cellulaire, rétablissant de ce fait leurs fonctions.

Les études précliniques sur les cellules de LLC avec un gène *XPO1* muté n'ont pas été rapportées à notre connaissance. Cependant, *in vitro*, dans le LBPM et le LH, le KPT-185 inhibe la prolifération et induit l'apoptose des cellules, quel que soit le statut, muté ou amplifié, du gène [13, 14].

L'inhibition de l'export des ARN et de la synthèse des ribosomes a aussi un effet délétère sur les cellules de LCM. Dans ces cellules, le KPT-185 inhibe l'expression de gènes impliqués dans la prolifération et dans le cycle cellulaire. Il inhibe également l'expression des protéines ribosomales (à la fois au niveau des sous-unités 60S et 40S). Cette inhibition affecte les facteurs de choc thermique (HSP, pour *heat shock proteins*), la synthèse globale des

protéines et le métabolisme énergétique qui sont nécessaires à la prolifération et à la survie des cellules [46].

Les SINE sont capables d'entrer en synergie avec les drogues utilisées en clinique pour contrecarrer les phénomènes de résistance qui surviennent fréquemment après les traitements. Dans la LAM, la topo-isomérase (Topo) 2 (qui est une protéine cargo de *XPO1*) est localisée de façon anormale dans le cytoplasme, ce qui entraîne la résistance des cellules aux inhibiteurs de la Topo 2. Ranganathan *et al.* ont rapporté une action synergique entre le sélénexor et les inhibiteurs de Topo 2, idarubicine et daunorubicine, dans des lignées cellulaires, dans des blastes primaires et dans un modèle de xénogreffe chez la souris [66]. Au niveau mécanistique, le sélénexor restaure la localisation nucléaire de Topo 2, régule négativement les gènes impliqués dans la réponse aux dommages à l'ADN et empêche la recombinaison homologue au niveau de la réparation de l'ADN. Dans la LAM, une forte expression de *XPO1* est corrélée avec une forte expression de p53 et une faible expression de MDM2, le régulateur négatif de p53. Le KPT-185 et la nutline-3a, un inhibiteur de MDM2, sont capables de synergie dans l'induction de l'apoptose de lignées cellulaires et de cellules primaires de LAM [59]. En effet, l'accumulation nucléaire qui suit l'inhibition de *XPO1* est renforcée par

Tableau 2. Essais cliniques testant le sélinexor seul ou en combinaison dans les hémopathies malignes.
Table 2. Clinical trials of selinexor for haemopathic malignancies, alone or in combination.

NCT	Phase	Pathologie	Stratégie thérapeutique/ combinaison	Enrôlement estimé	État
NCT01607892	I	Cancers hématologiques	Sélinexor	285	Pas de recrutement
NCT02138786	II	Syndrome de Richter	Sélinexor	26	Terminé
NCT02186834	I/II	Myélome multiple	Sélinexor/doxorubicine (lipo- some)/dexaméthasone	47	Recrutement en cours
NCT02199665	I	Myélome multiple	Sélinexor/carfilzomib/dexa- méthasone	48	Recrutement en cours
NCT02227251	II	LBDGC (R/R)	Sélinexor	200	Recrutement en cours
NCT02303392	I	LLC Lymphome	Sélinexor/ibrutinib	92	Recrutement en cours
NCT02314247	II	Lymphome T	Sélinexor	16	Terminé
NCT02336815	II	Myélome multiple	Sélinexor/dexaméthasone	210	Recrutement en cours
NCT02343042	I/II	Myélome multiple	Sélinexor/dexaméthasone/ bortézomib/pomalidomide	201	Recrutement en cours
NCT02389543	I/II	Myélome multiple	Sélinexor/lénalidomide/dexa- méthasone	34	Retiré
NCT02471911	I	Lymphome B agressif (R/R)	Sélinexor/rituximab/étopo- side/carboplatine/ifosfa- mide/dexaméthasone	18	Recrutement en cours
NCT02741388	I	Lymphome B (R/R)	Sélinexor/rituximab/dexamé- thasone/oxaliplatine/cispla- tine/cytarabine/gemcitabine	60	Recrutement en cours

Les données ont été compilées à partir de la banque de données <https://clinicaltrials.gov>
LBDGR : lymphomes B diffus à grandes cellules ; LLC : leucémies lymphoïdes chroniques.

l'absence de dégradation de p53 qui résulte de l'inhibition de MDM2. La décitabine, un inhibiteur des méthyltransférases, qui permet la réexpression de gènes éteints pendant la différenciation myéloïde, semble efficace chez certains patients avec une LAM [67]. Le prétraitement (ou *priming*) des cellules tumorales de LAM avec la décitabine, suivi par un traitement au sélinexor, augmente l'apoptose des lignées cellulaires et des cellules primaires [68]. Ces effets sont contrôlés par la réexpression de p21 et de FOXA3, protéines cargo de XPO1. *In vivo*, dans un modèle murin de LAM, la combinaison décitabine/sélinexor montre une activité antitumorale augmentée [68].

Les cellules de LLC présentent une activité constitutive de la voie du BCR (*B-cell receptor*). L'ibrutinib, qui inhibe l'activité de la protéine kinase de Bruton (BTK), présente dans les cellules tumorales, est efficace dans la LLC. Cependant, des phénomènes de résistance surviennent fréquemment ; ils sont notamment dus à une mutation qui touche le gène *BTK* (mutation C481S). Le double ciblage de XPO1, par le sélinexor, et de BTK, par l'ibrutinib, est efficace à la fois *in vitro*, dans des lignées cellulaires et des cellules primaires, et *in vivo*, dans le modèle Eμ-TCL1 de LLC [69]. De plus, et c'est essentiel, la combinaison sélinexor/ibrutinib lève les mécanismes de résistance dus à la mutation C481S de *BTK*.

La combinaison inhibiteur de XPO1/doxorubicine est efficace dans des modèles *in vitro* et *in vivo* de cellules de MM résistantes, et dans des cellules primaires de patients réfractaires ou en rechute. L'activité antitumorale du sélinexor est largement augmentée en combinaison avec la dexaméthasone et l'évérolimus, qui ciblent respectivement les voies du facteur nucléaire κB (NF-κB) et mTOR (*mammalian target of rapamycin*). Les inhibiteurs du protéasome (IP) comme le carfilzomib et le bortézomib, sont aussi capables de synergie avec le sélinexor dans le MM et en particulier dans le cas de résistance aux inhibiteurs du protéasome (IP). Ces effets sont contrôlés par le blocage de la phosphorylation des protéines κB et p65 (sous-unité de NF-κB) qui les protège de la dégradation par le protéasome [11].

Dans le cancer ovarien, la combinaison sélinexor/platine (ou dérivés) entraîne une apoptose des cellules tumorales p53-dépendante et p53-indépendante [70]. Dans le cancer du pancréas, la combinaison sélinexor/gemcitabine entraîne l'apoptose et réduit la survie des cellules tumorales [71]. Cette même combinaison potentialise l'effet de la radiothérapie, ce qui en fait un argument important pour l'évaluation clinique d'une telle combinaison dans les hémopathies malignes, et en particulier le lymphome non hodgkinien et le LH [72]. Enfin, dans le cancer du côlon et le mélanome, le sélinexor combiné au

blocage de PD-1/PD-L1 (*programmed cell death 1/PD ligand 1*), montre un effet antitumoral très net. Cette combinaison modifie la réponse immune et, en particulier, le nombre et le phénotype des cellules NK et T activées. Cette stratégie semble très prometteuse, en particulier pour le LH [73].

Bien que le sélénexor ait montré son efficacité dans des essais cliniques de phase I et II (*cf. infra*), sa toxicité limite son utilisation. Une nouvelle génération de SINE a été développée par la société *Karyopharm Therapeutics*, et testée dans la LLC et la LAM. Le KPT-8602 agit comme le sélénexor : il inhibe les interactions XPO1/cargo, induit l'apoptose et inhibe la prolifération des cellules primaires de LLC et de lignées cellulaires et de blastes de LAM. *In vivo*, dans des modèles murins de LAM et de LLC, le KPT-8602 prolonge la survie des animaux. Comparé au sélénexor, il semble moins toxique, en particulier parce qu'il possède une capacité réduite à traverser la barrière hémato-encéphalique et qu'il ne s'accumule pas dans le sang même après des injections répétées [74].

La résistance aux thérapies et les rechutes surviennent généralement en raison de l'incapacité des drogues à cibler la cellule initiatrice de cancer (CIC, pour *cancer-initiating cell*) ou la cellule initiatrice de leucémie (LIC, pour *leukemia-initiating cell*), encore appelée cellule souche cancéreuse (CSC). Cette CSC est définie comme la cellule, dans la population tumorale, capable d'auto-renouvellement et de différenciation, et apte à reproduire une tumeur. Une telle cellule a été décrite dans la LAM et dans de nombreuses hémopathies malignes. De manière intéressante, le sélénexor est efficace sur les CSC, y compris quand elles sont greffées dans des souris immunodéprimées. À l'inverse, le sélénexor montre une toxicité limitée sur les cellules souches hématopoïétiques et les progéniteurs [75].

Ces expériences *in vitro* et *in vivo* confortent les essais en cours, et des études visant à combiner des inhibiteurs de XPO1 et des drogues validées sont programmées (*tableau 2*).

Essais cliniques dans les hémopathies B

Étant donné l'importance de XPO1 dans l'homéostasie cellulaire, et considérant que la surexpression du gène est associée à la résistance et à l'agressivité de plusieurs types de tumeurs, de nombreux essais cliniques avec des drogues ciblant XPO1 sont en cours ou terminés. Ils sont présentés dans le *tableau 2*. Cependant, les résultats consolidés concernant la LLC, le MM et le LNH sont limités.

Dans une phase I avec escalade de dose du sélénexor en monothérapie, parmi les 43 patients évaluables atteints d'un LNH en rechute, il a été observé un taux de réponse globale de 28 % et un taux de réponse complète de 5 %. Dans la cohorte des LBDGC, le taux de réponse globale était de 31 %. Il est à noter que trois des quatre patients

présentant une double translocation MYC BCL2 ont présenté une réponse objective [76].

Le profil de toxicité du sélénexor est maintenant bien établi. Dans une phase I incluant 189 patients atteints de tumeurs solides, les effets secondaires les plus fréquemment rapportés sont l'asthénie (70 %), les nausées (70 %), l'anorexie (66 %) et les vomissements (49 %), habituellement de grade 1-2. Les toxicités de grade 3-4 les plus fréquemment rapportées sont les thrombopénies (16 %), l'asthénie (15 %) et les hyponatrémies. Les toxicités d'organe cumulatives et cliniquement significatives semblent rares. Lors d'une phase I évaluant la combinaison sélénexor/fludarabine/cytarabine chez des enfants atteints de leucémies aiguës, deux patients traités à la dose de 70 mg/m² ont développé une toxicité cérébelleuse réversible [77]. La dose maximale tolérée a été établie à 65 mg/m² deux fois par semaine (J1 et J3) [8]. La molécule est mieux tolérée en cas d'administration intermittente et sa pharmacodynamique est améliorée (absorption augmentée de 15-20 %) en cas d'ingestion alimentaire concomitante [78].

Conclusion

Le champ d'investigation concernant XPO1, à l'intersection entre la pathophysiologie, le diagnostic et le traitement des hémopathies B malignes, est particulièrement vaste et prometteur. De nombreuses questions cruciales restent encore en suspens. Au niveau biologique, les rôles de XPO1 dans les pathologies T et B sont largement inconnus. La caractérisation exhaustive des protéines et des ARN cargo de XPO1 est en cours. Au niveau génétique, si la mutation récurrente p.E571K de XPO1 n'a pas d'effet sur la liaison de la protéine avec les SINE, sa récurrence suggère un impact physiopathologique important dans les LH et les LPMB. Il est à noter que cette mutation *hot-spot* peut être utilisée comme marqueur de la maladie résiduelle, possiblement en complément de l'imagerie par PET-scan. Finalement, d'un point de vue clinique, bloquer l'activité de XPO1 semble une stratégie prometteuse dans les pathologies lymphoïdes, d'autant que les inhibiteurs de XPO1 agissent en synergie avec de nombreuses drogues comme les anthracyclines, la gemcitabine, les inhibiteurs de mTOR, l'ibrutinib, les inhibiteurs de checkpoints immunitaires ou encore la radiothérapie.

RÉFÉRENCES

1. Huang W, Yue L, Qiu W, Wang LW, Zhou X, Sun Y. Prognostic value of CRM1 in pancreas cancer. *Clin Invest Med* 2009 ; 32 : E315.
2. Jain P, Kanagal-Shamanna R, Wierda W, et al. Clinical and molecular characteristics of XPO1 mutations in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Am J Hematol* 2016 ; 91 : E478-9.
3. Kim J, McMillan E, Kim HS, et al. XPO1-dependent nuclear export is a druggable vulnerability in KRAS-mutant lung cancer. *Nature* 2016 ; 538 : 114-7.
4. Liu X, Chong Y, Tu Y, et al. CRM1/XPO1 is associated with clinical outcome in glioma and represents a therapeutic target by perturbing multiple core pathways. *J Hematol Oncol* 2016 ; 9 : 108.

5. Noske A, Weichert W, Niesporek S, et al. Expression of the nuclear export protein chromosomal region maintenance/exportin 1/Xpo1 is a prognostic factor in human ovarian cancer. *Cancer* 2008 ; 112 : 1733-43.
6. van der Watt PJ, Zemanay WV, Govender D, Hendricks DT, Parker MI, Leaner VD. Elevated expression of the nuclear export protein, Crm1 (exportin 1), associates with human oesophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2014 ; 32 : 730-8.
7. Yao Y, Dong Y, Lin F, et al. The expression of CRM1 is associated with prognosis in human osteosarcoma. *Oncol Rep* 2009 ; 21 : 229-35.
8. Abdul Razak AR, Mau-Soerensen M, Gabrail NY, et al. First-in-class, first-in-human phase I study of selinexor, a selective inhibitor of nuclear export, in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol* 2016 ; 34 : 4142-50.
9. Van Neck T, Pannecouque C, Vanstreels E, Stevens M, Dehaen W, Daelemans D. Inhibition of the CRM1-mediated nucleocytoplasmic transport by N-azolylacrylates: structure-activity relationship and mechanism of action. *Bioorg Med Chem* 2008 ; 16 : 9487-97.
10. Etchin J, Sun Q, Kentsis A, et al. Antileukemic activity of nuclear export inhibitors that spare normal hematopoietic cells. *Leukemia* 2013 ; 27 : 66-74.
11. Kashyap T, Argueta C, Aboukameel A, et al. Selinexor, a selective inhibitor of nuclear export (SINE) compound, acts through NF- κ B deactivation and combines with proteasome inhibitors to synergistically induce tumor cell death. *Oncotarget* 2016 ; 7 : 78883-95.
12. Muqbil I, Aboukameel A, Elloul S, et al. Anti-tumor activity of selective inhibitor of nuclear export (SINE) compounds, is enhanced in non-Hodgkin's lymphoma through combination with mTOR inhibitor and dexamethasone. *Cancer Lett* 2016 ; 383 : 309-17.
13. Jardin F, Pujals A, Pelletier L, et al. Recurrent mutations of the exportin 1 gene (XPO1) and their impact on selective inhibitor of nuclear export compounds sensitivity in primary mediastinal B-cell lymphoma. *Am J Hematol* 2016 ; 91 : 923-30.
14. Camus V, Stamatoullas A, Mareschal S, et al. Detection and prognostic value of recurrent exportin 1 mutations in tumor and cell-free circulating DNA of patients with classical Hodgkin's lymphoma. *Haematologica* 2016 ; 101 : 1094-101.
15. Bond J, Bergon A, Durand A, et al. Cryptic XPO1-MLL10 translocation is associated with HOXA locus deregulation in T-ALL. *Blood* 2014 ; 124 : 3023-5.
16. Jeromin S, Weissmann S, Haferlach C, et al. SF3B1 mutations correlated to cytogenetics and mutations in NOTCH1, FBXW7, MYD88, XPO1 and TP53 in 1160 untreated CLL patients. *Leukemia* 2014 ; 28 : 108-17.
17. Lin DC, Hao JJ, Nagata Y, et al. Genomic and molecular characterization of oesophageal squamous cell carcinoma. *Nat Genet* 2014 ; 46 : 467-73.
18. Adachi Y, Yanajida M. Higher order chromosome structure is affected by cold-sensitive mutations in a Schizosaccharomyces pombe gene crm1+ which encodes a 115-kD protein preferentially localized in the nucleus and its periphery. *J Cell Biol* 1989 ; 108 : 1195-207.
19. Fornerod M, Ohno M, Yoshida M, Mattaj JW. CRM1 is an export receptor for leucine-rich nuclear export signals. *Cell* 1997 ; 90 : 1051-60.
20. Fukuda M, Asano S, Nakamura T, Adachi M, Yoshida M, Nishida E. CRM1 is responsible for intracellular transport mediated by the nuclear export signal. *Nature* 1997 ; 390 : 308-11.
21. Ossareh-Nazari B, Bachelerie F, Dargemont C. Evidence for a role of CRM1 in signal-mediated nuclear protein export. *Science* 1997 ; 278 : 141-4.
22. Dong X, Biswas A, Süel KE, et al. Structural basis for leucine-rich nuclear export signal recognition by CRM1. *Nature* 2009 ; 458 : 1136-41.
23. Monecke T, Güttler T, Neumann P, Dickmanns A, Gorlich D, Ficner R. Crystal structure of the nuclear export receptor CRM1 in complex with snurportin1 and RanGTP. *Science* 2009 ; 324 : 1087-91.
24. Güttler T, Madl T, Neumann P, et al. NES consensus redefined by structures of PKI-type and Rev-type nuclear export signals bound to CRM1. *Nat Struct Mol Biol* 2010 ; 17 : 1367-76.
25. Dong X, Biswas A, Chook YM. Structural basis for assembly and disassembly of the CRM1 nuclear export complex. *Nat Struct Mol Biol* 2009 ; 16 : 558-60.
26. Saito N, Matsuura Y. A 2.1-Å-resolution crystal structure of unliganded CRM1 reveals the mechanism of autoinhibition. *J Mol Biol* 2013 ; 425 : 350-64.
27. Koyama M, Matsuura Y. An allosteric mechanism to displace nuclear export cargo from CRM1 and RanGTP by RanBP1. *EMBO J* 2010 ; 29 : 2002-13.
28. Ishizawa J, Kojima K, Hail Jr N, Tabé Y, Andreeff M. Expression, function and targeting of the nuclear exporter chromosome region maintenance 1 (CRM1) protein. *Pharmacol Ther* 2015 ; 153 : 25-35.
29. Fox AM, Ciziene D, McLaughlin SH, Stewart M. Electrostatic interactions involving the extreme C terminus of nuclear export factor CRM1 modulate its affinity for cargo. *J Biol Chem* 2011 ; 286 : 29325-3.
30. Garcia-Santesteban I, Arregi I, Alonso-Mariño M, et al. A cellular reporter to evaluate CRM1 nuclear export activity: functional analysis of the cancer-related mutant E571K. *Cell Mol Life Sci* 2016 ; 73 : 4685-99.
31. Xu D, Grishin NV, Chook YM. NESdb: a database of NES-containing CRM1 cargoes. *Mol Biol Cell* 2012 ; 23 : 3673-6.
32. Xu D, Farmer A, Collett G, Grishin NV, Chook YM. Sequence and structural analyses of nuclear export signals in the NESdb database. *Mol Biol Cell* 2012 ; 23 : 3677-93.
33. Okamura M, Inose H, Masuda S. RNA export through the NPC in eukaryotes. *Genes* 2015 ; 6 : 124-49.
34. Dubois S, Vially PJ, Mareschal S, et al. Next-generation sequencing in diffuse large B-cell lymphoma highlights molecular divergence and therapeutic opportunities: a LYSA study. *Clin Cancer Res* 2016 ; 22 : 2919-28.
35. Chiu E, Gold T, Fettig V, LeVasseur MT, Cressman DE. Identification of a nuclear export sequence in the MHC CIITA. *J Immunol* 2015 ; 194 : 6102-11.
36. Hao Y, Chapuy B, Monti S, Sun HH, Rodig SJ, Shipp MA. Selective JAK2 inhibition specifically decreases Hodgkin's lymphoma and mediastinal large B-cell lymphoma growth *in vitro* and *in vivo*. *Clin Cancer Res* 2014 ; 20 : 2674-83.
37. Xie L, Ushmorov A, Leithauer F, et al. FOXO1 is a tumor suppressor in classical Hodgkin's lymphoma. *Blood* 2012 ; 119 : 3503-11.
38. Traverse-Glehen A, Pittaluga S, Gaulard P, et al. Mediastinal gray zone lymphoma: the missing link between classic Hodgkin's lymphoma and mediastinal large B-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol* 2005 ; 29 : 1411-21.
39. Dunleavy K, Wilson WH. Primary mediastinal B-cell lymphoma and mediastinal gray zone lymphoma: do they require a unique therapeutic approach? *Blood* 2015 ; 125 : 33-9.
40. Dunleavy K, Grant C, Eberle FC, Pittaluga S, Jaffe ES, Wilson WH. Gray zone lymphoma: better treated like Hodgkin's lymphoma or mediastinal large B-cell lymphoma? *Curr Hematol Malign Rep* 2012 ; 7 : 241-7.
41. Puente XS, Pinyol M, Quesada V, et al. Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature* 2011 ; 475 : 101-5.
42. Reichel J, Chadburn A, Rubinstein PG, et al. Flow sorting and exome sequencing reveal the oncogenome of primary Hodgkin and Reed-Sternberg cells. *Blood* 2015 ; 125 : 1061-72.
43. Zhang K, Wang M, Tamayo AT, et al. Novel selective inhibitors of nuclear export CRM1 antagonists for therapy in mantle cell lymphoma. *Exp Hematol* 2013 ; 41 : e4.
44. Yoshimura M, Ishizawa J, Ruvolo V, et al. Induction of p53-mediated transcription and apoptosis by exportin-1 (XPO1) inhibition in mantle cell lymphoma. *Cancer Sci* 2014 ; 105 : 795-801.
45. Benzeno S, Diehl JA. C-terminal sequences direct cyclin D1-CRM1 binding. *J Biol Chem* 2004 ; 279 : 56061-6.
46. Tabé Y, Kojima K, Yamamoto S, et al. Ribosomal biogenesis and translational flux inhibition by the selective inhibitor of nuclear export (SINE) XPO1 antagonist KPT-185. *PLoS One* 2015 ; 10 : e0137210.
47. Lenz G, Wright GW, Emre NCT, et al. Molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma arise by distinct genetic pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008 ; 105 : 13520-5.
48. Weniger MA, Gesk S, Ehrlich S, et al. Gains of REL in primary mediastinal B-cell lymphoma coincide with nuclear accumulation of REL protein. *Genes Chromosomes Cancer* 2007 ; 46 : 406-15.
49. Diaz LA, Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA. *J Clin Oncol* 2014 ; 32 : 579-86.
50. Bohers E, Vially PJ, Dubois S, et al. Somatic mutations of cell-free circulating DNA detected by next-generation sequencing reflect the genetic changes in both germinal center B-cell-like and activated B-cell-like diffuse large B-cell lymphomas at the time of diagnosis. *Haematologica* 2015 ; 100 : e280-4.
51. Frattini M, Gallino G, Signoroni S, et al. Quantitative analysis of plasma DNA in colorectal cancer patients: a novel prognostic tool. *Ann N Y Acad Sci* 2006 ; 1075 : 185-90.
52. Jung K, Stephan C, Lewandowski M, et al. Increased cell-free DNA in plasma of patients with metastatic spread in prostate cancer. *Cancer Lett* 2004 ; 205 : 173-80.

53. Leon SA, Shapiro B, Sklaroff DM, Yaros MJ. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy. *Cancer Res* 1977 ; 37 : 646-50.
54. Sozzi G, Conte D, Leon M, *et al.* Quantification of free circulating DNA as a diagnostic marker in lung cancer. *J Clin Oncol* 2003 ; 21 : 3902-8.
55. Kurtz DM, Green MR, Bratman SV, *et al.* Noninvasive monitoring of diffuse large B-cell lymphoma by immunoglobulin high-throughput sequencing. *Blood* 2015 ; 125 : 3679-87.
56. Roschewski M, Dunleavy K, Pittaluga S, *et al.* Circulating tumour DNA and CT monitoring in patients with untreated diffuse large B-cell lymphoma: a correlative biomarker study. *Lancet Oncol* 2015 ; 16 : 541-9.
57. Leithäuser F, Bäuerle M, Huynh MQ, Möller P. Isotype-switched immunoglobulin genes with a high load of somatic hypermutation and lack of ongoing mutational activity are prevalent in mediastinal B-cell lymphoma. *Blood* 2001 ; 98 : 2762-70.
58. Camus V, Sarafan-Vasseur N, Bohers E, *et al.* Digital PCR for quantification of recurrent and potentially actionable somatic mutations in circulating free DNA from patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2016 ; 57 : 2171-9.
59. Kojima K, Kornblau SM, Ruvolo V, *et al.* Prognostic impact and targeting of CRM1 in acute myeloid leukemia. *Blood* 2013 ; 121 : 4166-74.
60. Schmidt J, Braggio E, Kortuem KM, *et al.* Genome-wide studies in multiple myeloma identify XPO1/CRM1 as a critical target validated using the selective nuclear export inhibitor KPT-276. *Leukemia* 2013 ; 27 : 2357-65.
61. Tai YT, Landesman Y, Acharya C, *et al.* CRM1 inhibition induces tumor cell cytotoxicity and impairs osteoclastogenesis in multiple myeloma: molecular mechanisms and therapeutic implications. *Leukemia* 2014 ; 28 : 155-65.
62. Kudo N, Matsumori N, Taoka H, *et al.* Leptomycin B inactivates CRM1/exportin 1 by covalent modification at a cysteine residue in the central conserved region. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999 ; 96 : 9112-7.
63. Parikh K, Cang S, Sekhri A, Liu D. Selective inhibitors of nuclear export (SINE) – a novel class of anti-cancer agents. *J Hematol Oncol* 2014 ; 7 : 78.
64. Lapalombella R, Sun Q, Williams K, *et al.* Selective inhibitors of nuclear export show that CRM1/XPO1 is a target in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2012 ; 120 : 4621-34.
65. Neggers JE, Vercruyse T, Jacquemyn M, *et al.* Identifying drug-target selectivity of small-molecule CRM1/XPO1 inhibitors by CRISPR/Cas9 genome editing. *Chem Biol* 2015 ; 22 : 101-16.
66. Ranganathan P, Kashyap T, Yu X, *et al.* XPO1 inhibition using Selinexor synergizes with chemotherapy in acute myeloid leukemia (AML) by targeting DNA repair and restoring topoisomerase II α in the nucleus. *Clin Cancer Res* 2016 ; 22 : 6142-52.
67. Blum W, Garzon R, Klisovic RB, *et al.* Clinical response and *miR-29b* predictive significance in older AML patients treated with a 10-day schedule of decitabine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010 ; 107 : 7473-8.
68. Ranganathan P, Yu X, Santhanam R, *et al.* Decitabine priming enhances the antileukemic effects of exportin 1 (XPO1) selective inhibitor selinexor in acute myeloid leukemia. *Blood* 2015 ; 125 : 2689-92.
69. Hing ZA, Mantel R, Beckwith KA, *et al.* Selinexor is effective in acquired resistance to ibrutinib and synergizes with ibrutinib in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2015 ; 125 : 3128-32.
70. Chen Y, Camacho C, Silvers TR, *et al.* Inhibition of the nuclear export receptor XPO1 as a therapeutic target for platinum resistant ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2017 ; 23 : 1552-63.
71. Kazim S, Malafa MP, Coppola D, *et al.* Selective nuclear export inhibitor KPT-330 enhances the antitumor activity of gemcitabine in human pancreatic cancer. *Mol Cancer Ther* 2015 ; 14 : 1570-81.
72. Ferreiro-Neira I, Torres NE, Liesenfeld LF, *et al.* XPO1 inhibition enhances radiation response in preclinical models of rectal cancer. *Clin Cancer Res* 2016 ; 22 : 1663-73.
73. Farren MR, Shakya R, Hennessey R, *et al.* Selinexor, a selective inhibitor of nuclear export (SINE), shows enhanced activity in combination with PD-1/PD-L1 blockade in syngeneic murine models of colon cancer and melanoma. *J Immunother Cancer* 2015 ; 3 : P355.
74. Hing ZA, Fung HYJ, Ranganathan P, *et al.* Next-generation XPO1 inhibitor shows improved efficacy and *in vivo* tolerability in hematological malignancies. *Leukemia* 2016 ; 30 : 2364-72.
75. Etchin J, Berezoskaya A, Conway AS, *et al.* KPT-8602, a second-generation inhibitor of XPO1-mediated nuclear export, is well tolerated and highly active against AML blasts and leukemia-initiating cells. *Leukemia* 2017 ; 31 : 143-50.
76. Gutierrez M, Goy A, Byrd JC, *et al.* A phase 1 dose-escalation study of the oral selective inhibitor of nuclear export (SINE) KPT-330 (selinexor) in patients (pts) with heavily pretreated non-Hodgkin's lymphoma (NHL). *J Clin Oncol* 2014 ; 32 : 5s (abstr 8518).
77. Alexander TB, Lacayo NJ, Choi JK, Ribeiro RC, Pui CH, Rubnitz JE. Phase I study of selinexor, a selective inhibitor of nuclear export, in combination with fludarabine and cytarabine, in pediatric relapsed of refractory acute leukemia. *J Clin Oncol* 2016 ; 34 : 4094-101.
78. Gounder MM, Zer A, Tap WD, *et al.* Phase IB study of selinexor, a first-in-class inhibitor of nuclear export, in patients with advanced refractory bone or soft tissue sarcoma. *J Clin Oncol* 2016 ; 34 : 3166-74.
79. Sun Q, Carrasco YP, Hu Y, *et al.* Nuclear export inhibition through covalent conjugation and hydrolysis of Leptomycin B by CRM1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013 ; 110 : 1303-8.
80. Etchin J, Sanda T, Mansour MR, *et al.* KPT-330 inhibitor of CRM1 (XPO1)-mediated nuclear export has selective anti-leukaemic activity in preclinical models of T-cell acute lymphoblastic leukaemia and acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 2013 ; 161 : 117-27.
81. Azmi AS, Al-Katib A, Aboukameel A, *et al.* Selective inhibitors of nuclear export for the treatment of non-Hodgkin's lymphomas. *Haematologica* 2013 ; 98 : 1098-106.
82. Walker BA, Wardell CP, Melchor L, *et al.* Intraclonal heterogeneity is a critical early event in the development of myeloma and precedes the development of clinical symptoms. *Leukemia* 2014 ; 28 : 384-90.
83. Zhong Y, El-Gamal D, Dubovsky JA, *et al.* Selinexor suppresses downstream effectors of B-cell activation, proliferation and migration in chronic lymphocytic leukemia cells. *Leukemia* 2014 ; 28 : 1158-63.