

UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE - LILLE 2
FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG

ANNEE 2013

**THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE**

**CARCINOME RENAL A TRANSLOCATION, UNE ENTITE RARE
Etude des critères diagnostiques et pronostiques d'une série de 26 cas**

**Présentée et soutenue publiquement le 20 juin 2013
au Pôle Formation de la Faculté
Par Marion CLASSE**

Jury

Président : Madame le Professeur Marie-Christine COPIN

**Assesseurs : Monsieur le Professeur Arnauld VILLERS
Madame le Docteur Fabienne ESCANDE**

Directeur de Thèse : Monsieur le Professeur Xavier LEROY

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS	1
I) <u>INTRODUCTION</u>	2
II) <u>GENERALITES</u>	4
1) Les cancers du rein, épidémiologie	4
2) Historique de la classification des tumeurs du rein	5
3) De l'identification des 1ers cas de carcinomes rénaux porteurs d'une translocation Xp11.2 à la reconnaissance officielle d'une nouvelle entité par l'OMS	8
4) Données actuelles sur les carcinomes rénaux à translocation Xp11.2	10
a) <i>Aspect microscopique</i>	10
b) <i>Profil immunohistochimique</i>	11
5) Gène TFE3, TFEB et famille MITF	14
a) <i>Présentation de la famille MITF</i>	14
b) <i>Fonction des différents partenaires</i>	15
6) Physiopathologie MITF	16
7) Pronostic et traitement	19
III) <u>MATERIEL ET METHODES</u>	20
1) Sélection des cas	20
2) Etude histopathologique	22
3) Etude immunohistochimique	23
a) <i>Technique</i>	23
b) <i>Interprétation</i>	24
4) Etude par technique FISH	25
a) <i>Technique</i>	25
b) <i>Interprétation</i>	27
5) Recherche de mutation KRAS et BRAF	29
a) <i>Technique</i>	29
b) <i>Interprétation</i>	32

IV) <u>RESULTATS</u>	33
1) Données cliniques	33
a) <i>Age</i>	33
b) <i>Sexe</i>	33
c) <i>Antécédents</i>	34
d) <i>Présentation clinique</i>	36
e) <i>Evolution clinique</i>	38
2) Etude morphologique	42
a) <i>Macroscopie</i>	42
b) <i>Microscopie</i>	42
3) Etude immunohistochimique	51
4) Etude par technique FISH	54
5) Recherche de mutation KRAS et BRAF	57
V) <u>DISCUSSION</u>	59
1) Morphologie	59
2) Immunohistochimie et étude moléculaire	62
a) <i>Immunohistochimie et FISH</i>	62
b) <i>FISH/RT-PCR ou cytogénétique ?</i>	65
3) Physiopathogenèse	67
a) <i>Conséquences fonctionnelles du transcrit de fusion</i>	67
b) <i>Carcinome rénal à translocation et PECOme : des voies de carcinogenèse communes au sein d'une même famille ?</i>	68
4) Clinique	70
5) Perspectives thérapeutiques	74
VI) <u>CONCLUSION</u>	77
VII) <u>REFERENCES</u>	78

LISTE DES ABREVIATIONS

RCC	Renal Cell Carcinoma
ccRCC	Clear cell Renal Cell Carcinoma
pRCC	Papillary Renal Cell Carcinoma
tRCC	Translocation Renal Cell Carcinoma
FISH	Fluorescent In Situ Hybridation
RT-PCR	Retro Transcriptase Polymerase Chain Reaction
HES	Hématoxyline Eosine Safran
Ø	Aucun
ND	Non Disponible
AEG	Altération de l'Etat Général
TFE3	Transcription Factor E3
TFEB	Transcription Factor EB
MITF	Microphthalmia Transcription Factor
PECome	Perivascular Epithelioid Cell tumour
<i>PRCC</i>	Papillary Renal Cell Carcinoma associated gene
<i>ASPSCR1 (ASPL)</i>	Alveolar Soft Part Sarcoma Chromosome Region candidate 1
<i>SFPQ (PSF)</i>	Splicing Factor Proline / glutamine-rich
<i>NonO</i>	Non-POU domain containing, Octamer binding
<i>CLTC</i>	Clathrin Heavy Chain
HIF-1 α	Hypoxia Inducible Factor 1 α
CFG	Champs à Fort Grossissement

I) INTRODUCTION

Le carcinome rénal à translocation Xp11.2 est une entité rare, de description récente dans la dernière classification OMS des tumeurs rénales (2004). Initialement décrite chez l'enfant, cette tumeur est également connue sous le nom de carcinome à cellules rénales de type juvénile. Elle touche préférentiellement les sujets jeunes, classiquement avant 40 ans, mais peut survenir chez l'adulte plus âgé. Elle est plus fréquente chez la femme. La fréquence est estimée à 40% des carcinomes rénaux chez l'enfant et moins de 2% des carcinomes rénaux chez l'adulte (1) (2) (3).

Cette tumeur ayant des caractéristiques morphologiques communes à la fois au carcinome à cellules claires conventionnel et au carcinome papillaire, elle était auparavant classée le plus souvent parmi l'une ou l'autre de ces catégories. Le développement récent des études moléculaires a permis de mettre en évidence un réarrangement génique spécifique commun, définissant une seule et même entité. Il s'agit d'un réarrangement impliquant le gène *TFE3*, plus rarement le gène *TFEB*, avec 5 partenaires possibles, donnant naissance à un transcrite de fusion spécifique.

Il est actuellement recommandé de porter le diagnostic à l'aide de l'immunohistochimie avec l'anticorps anti-TFE3, complétée par une confirmation moléculaire du réarrangement par PCR, hybridation in situ ou cytogénétique.

La pathogénie de cette tumeur est encore mal connue et le traitement peu codifié car les séries publiées sont peu nombreuses et le recul sur cette pathologie est limité. Les altérations génétiques observées dans cette tumeur étant différentes de celles connues dans le carcinome rénal à cellules claires conventionnel, ou le carcinome papillaire, l'évolution et la réponse au traitement peuvent être différentes.

Les objectifs de cette étude étaient :

- Faire une étude morphologique approfondie sur les caractéristiques spécifiques de cette entité.
- Comparer l'expression immunohistochimique de la protéine TFE3 et la présence du réarrangement spécifique en hybridation in situ.
- Rechercher d'éventuelles mutations des oncogènes *KRAS* et *BRAF*.

II) GENERALITES

1) Les cancers du rein, épidémiologie

Les cancers du rein représentent en 2011, selon les données actuelles de l'institut national du cancer, 3% des cancers de l'adulte sans distinction de sexe, correspondant au sixième rang par ordre de fréquence. Ils sont plus fréquents chez l'homme, représentant, tous types confondus, 3.6% des cancers (sixième rang) et 2.3 % chez la femme (dixième rang). Parmi ces cancers, les carcinomes à cellules rénales représentent 90% des types histologiques chez l'adulte. Les facteurs de risques suspectés à ce jour pour les carcinomes rénaux en général sont le tabac (4), l'obésité (5), et l'exposition à des produits chimiques toxiques comme les solvants organiques et pesticides.

Chez l'enfant, les tumeurs du rein sont très rares et leur histologie est différente, avec une très large prédominance des néphroblastomes, les carcinomes ne représentant qu'environ 4 %.

Les carcinomes rénaux pédiatriques se voient plus fréquemment dans des contextes de syndromes génétiques prédisposants, entre autres, aux carcinomes rénaux et notamment la sclérose tubéreuse de Bourneville, ou en cas d'antécédents de traitement par chimiothérapie pour une autre cancer, notamment les leucémies ou les néphroblastomes (6).

2) Historique de la classification des tumeurs du rein

Des classifications des tumeurs rénales regroupant différents types tumoraux selon la cellule d'origine, l'architecture tumorale et le mode de croissance ont été définies afin d'améliorer le diagnostic de routine et la prise en charge des patients. Dès 1986 on trouve un regroupement des tumeurs dérivants de l'épithélium des tubules rénaux, formant la catégorie des tumeurs à cellules rénales (7). Les avancées technologiques ayant permis une meilleure compréhension de la pathogenèse de ces tumeurs, grâce notamment à la cytogénétique, une nouvelle classification est publiée en 1997. Cette dernière est née de la réunion de spécialistes de l'uropathologie en octobre 1996 à Heidelberg, ville qui a laissé son nom à la dite classification. Il était à l'époque décidé de subdiviser les tumeurs à cellules rénales bénignes et malignes en fonction de leurs caractéristiques morphologiques et génétiques pour une application pratique en routine (8). Cette classification retenait parmi les tumeurs bénignes à cellules rénales, deux sous types, les adénomes métanéphriques et les adénomes papillaires, et parmi les tumeurs malignes à cellules rénales, quatre sous types représentés par : les carcinomes à cellules claires conventionnels, les carcinomes papillaires, les carcinomes à cellules chromophobes et les carcinomes des tubes collecteurs.

Une nouvelle classification est publiée en 2004 par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et fait actuellement toujours référence. Cette dernière classification retient parmi les carcinomes à cellules rénales: les carcinomes à cellules claires (conventionnels), les carcinomes papillaires, les carcinomes à cellules chromophobes, les carcinomes tubuleux et mucineux à cellules fusiformes, les carcinomes des tubes collecteurs de Bellini et les carcinomes médullaires qui

semblent être une seule et même entité (9), les carcinomes multiloculaires kystiques à cellules rénales, les carcinomes à translocations Xp11.2 qui nous intéressent dans ce travail et enfin les carcinomes inclassables.

CLASSIFICATION OMS 2004 DES TUMEURS DU REIN

Renal cell tumours		Haemangiopericytoma	9150/1
Clear cell renal cell carcinoma	8310/3 ¹	Osteosarcoma	9180/3
Multilocular clear cell renal cell carcinoma	8310/3	Angiomyolipoma	8860/0
Papillary renal cell carcinoma	8260/3	Epithelioid angiomyolipoma	
Chromophobe renal cell carcinoma	8317/3	Leiomyoma	8890/0
Carcinoma of the collecting ducts of Bellini	8319/3	Haemangioma	9120/0
Renal medullary carcinoma	8319/3	Lymphangioma	9170/0
Xp11 translocation carcinomas		Juxtaglomerular cell tumour	8361/0
Carcinoma associated with neuroblastoma		Renomedullary interstitial cell tumour	8966/0
Mucinous tubular and spindle cell carcinoma		Schwannoma	9560/0
Renal cell carcinoma, unclassified	8312/3	Solitary fibrous tumour	8815/0
Papillary adenoma	8260/0		
Oncocytoma	8290/0	Mixed mesenchymal and epithelial tumours	
		Cystic nephroma	8959/0
Metanephric tumours		Mixed epithelial and stromal tumour	
Metanephric adenoma	8325/0	Synovial sarcoma	9040/3
Metanephric adenofibroma	9013/0		
Metanephric stromal tumour	8935/1	Neuroendocrine tumours	
		Carcinoid	8240/3
Nephroblastic tumours		Neuroendocrine carcinoma	8246/3
Nephrogenic rests		Primitive neuroectodermal tumour	9364/3
Nephroblastoma	8960/3	Neuroblastoma	9500/3
Cystic partially differentiated nephroblastoma	8959/1	Phaeochromocytoma	8700/0
Mesenchymal tumours		Haematopoietic and lymphoid tumours	
Occurring Mainly in Children		Lymphoma	
Clear cell sarcoma	9044/3	Leukaemia	
Rhabdoid tumour	8963/3	Plasmacytoma	9731/3
Congenital mesoblastic nephroma	8960/1		
Ossifying renal tumour of infants	8967/0	Germ cell tumours	
Occurring Mainly in Adults		Teratoma	9080/1
Leiomyosarcoma (including renal vein)	8890/3	Choriocarcinoma	9100/3
Angiosarcoma	9120/3		
Rhabdomyosarcoma	8900/3	Metastatic tumours	
Malignant fibrous histiocytoma	8830/3		

¹ Morphology code of the International Classification of Diseases for Oncology (ICD-O) (808) and the Systematized Nomenclature of Medicine (<http://snomed.org>). Behaviour is coded /0 for benign tumours, /3 for malignant tumours, and /1 for borderline or uncertain behaviour.

Ref : Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs, WHO 2004

CLASSIFICATION TNM DES TUMEURS DU REIN 2010

Primary Tumor (pT) Staging for Renal Cell Tumors (2010)

TNM	Definitions
pT1	Tumor 7 cm or less in greatest dimension, limited to kidney
pT1a	Tumor 4 cm or less in greatest dimension, limited to kidney
pT1b	Tumor > 4 cm but ≤ 7 cm in greatest dimension, limited to kidney
pT2	Tumor > 7 cm in greatest dimension, limited to kidney
pT2a	Tumor > 7 cm but ≤ 10 cm in greatest dimension, limited to kidney
pT2b	Tumor > 10 cm, limited to kidney
pT3	Tumor extends into major veins or perinephric tissues but not into ipsilateral adrenal gland and not beyond Gerota fascia
pT3a	Tumor grossly extends into renal vein or its segmental (muscle containing) branches, or tumor invades perirenal &/or renal sinus fat but not beyond Gerota fascia
pT3b	Tumor grossly extends into vena cava below diaphragm
pT3c	Tumor grossly extends into vena cava above diaphragm or invades wall of vena cava
pT4	Tumor invades beyond Gerota fascia (including contiguous extension into ipsilateral adrenal gland)

Primary Tumor (pT) Staging for Renal Pelvic and Ureteral Tumors

TNM	Definitions
pT0	No evidence of primary tumor
pTa	Papillary noninvasive carcinoma
pTis	Flat carcinoma in situ
pT1	Tumor invades subepithelial connective tissue (lamina propria)
pT2	Tumor invades muscularis propria
pT3	Tumor invades beyond muscularis into peripelvic or periureteral fat or renal parenchyma
pT4	Tumor invades adjacent organs or through kidney into perinephric fat

Used with the permission of the American Joint Committee on Cancer (AJCC), Chicago, Illinois. The original source for this material is the AJCC Cancer Staging Manual, Seventh Edition (2010) published by Springer Science and Business Media LLC, www.springerlink.com.

Ref : Diagnostic Pathology genitourinary , Mahul B. Amin 2010

3) De l'identification des premiers cas de carcinomes rénaux porteurs d'une translocation Xp11.2 à la reconnaissance officielle d'une nouvelle entité par l'OMS.

De nombreuses études rapportant des carcinomes à cellules rénales porteurs de réarrangement génique impliquant *TFE3* ont été publiées à la fin des années 1990 (10) (11) (12) (13) (14) (15) sans pouvoir faire véritablement de lien morphologique entre ces différentes observations. Les équipes qui travaillaient sur le sujet avaient rapporté leurs constatations en ce qui concerne le caryotype mais n'avaient pas forcément fait de corrélation entre l'aspect histologique, la présentation clinique et la génétique de ces tumeurs. Plusieurs tentatives de regroupement de ces carcinomes rénaux n'entrant dans aucune catégorie décrite par la classification d'Heidelberg ont été faites quand des similitudes morphologiques et cliniques ont été montrées entre ces tumeurs. L'équipe d'Argani et al. a particulièrement travaillé sur ce sujet et rapporté plusieurs séries de tumeurs porteuses de réarrangement *TFE3* avec différents partenaires (16) (11). Ils avaient notamment remarqué des similitudes morphologiques entre certaines tumeurs rénales d'aspect un peu inhabituel et les sarcomes alvéolaires, qui sont des tumeurs rares de l'enfant et de l'adulte jeune. Ces dernières sont caractérisées sur le plan moléculaire par la présence d'un réarrangement génique spécifique impliquant le gène *TFE3* et le gène *ASPSCR1* (*ASPL*). Différents travaux ont, par la suite, permis de mettre en évidence des réarrangements géniques impliquant *TFE3* avec d'autres partenaires, déjà décrits dans des carcinomes à cellules rénales, notamment avec *PRCC* (17) (3) , *PSF* et *NonO* (18). Ceci a permis de distinguer des groupes de tumeurs ayant des caractéristiques morphologiques communes. Il a également été montré que certaines tumeurs appartenant à cette catégorie impliquaient le gène *TFEB* avec le gène

alpha, donnant un transcrit alpha-TFEB t(6 ;11)(p21 ;q12-13), produisant le même effet tumoral (19) (20).

Un des principaux points communs à toutes ces tumeurs était de survenir majoritairement chez les enfants ou les jeunes adultes. Ce sous type de RCC a donc particulièrement été étudié chez l'enfant jusqu'à lui valoir d'être connu sous le nom de carcinome à cellules rénales de type juvénile (21).

De larges études ont progressivement été lancées afin de caractériser plus précisément ces tumeurs, à la fois sur le plan clinique, morphologique et immunohistochimique, mais même si cette entité à part entière est maintenant officiellement reconnue, elle reste mal comprise.

4) Données actuelles sur les carcinomes rénaux à translocations

XP11.2

Il est maintenant parfaitement reconnu que ces tumeurs touchent aussi bien l'enfant que l'adulte, même si elles prédominent chez les sujets jeunes. Leur incidence en France est estimée chez l'adulte à 0.06% des cancers, tous cancers confondus, et chez l'enfant à 2.4% des cancers, tous cancers confondus.

Si l'on ne s'intéresse qu'aux cancers du rein, les tRCC représentent 2% des carcinomes rénaux chez l'adulte et 40% des carcinomes rénaux chez l'enfant. Pour se donner une idée en nombre de cas par an en France, prenons l'exemple des données de institut national du cancer. En 2011, au total chez l'adulte, sont survenus 11080 cancers du rein. Les carcinomes à cellules rénales représentent 90% des cancers du rein de l'adulte (9) donc 2% des 90% nous donnent en théorie 200 cas de tRCC.

Leur mode de révélation est variable, elles peuvent aussi bien être révélées par une symptomatologie douloureuse, urinaire ou être découverte fortuitement. Leur évolution est décrite comme indolente chez l'enfant mais plus agressive chez l'adulte (22).

Il n'a pas été véritablement mis en évidence de facteur de risque de survenue de ces tumeurs, certaines équipes évoquent les antécédents de chimiothérapie (2) (23), mais cela n'a pas été retrouvé dans d'autres séries.

a) Aspect microscopique

Ces tumeurs sont très trompeuses, elles partagent en effet des aspects communs avec les carcinomes à cellules claires et les carcinomes papillaires, leur architecture pouvant être solide formant des nids, papillaire ou les deux. Les cellules tumorales,

de grande taille, ont un cytoplasme abondant pouvant être clair ou éosinophile. Les noyaux, ayant été peu étudiés pour leur propre compte, sont décrits le plus souvent comme arrondis et nucléolés avec un grade de Führman variant de 2 à 4. Ces aspects morphologiques n'ont rien de particulier, peuvent se voir dans d'autres types de carcinomes à cellules rénales, ce qui explique que ces tumeurs soient difficiles à différencier des carcinomes à cellules claires ou des carcinomes papillaires. En ce qui concerne les carcinomes à translocation impliquant *TFEB*, il existe plus d'aspects évocateurs (24) (25). L'architecture peut aussi être solide ou papillaire mais il existe souvent une population de cellules épithélioïdes mêlées à des cellules plus petites formant volontiers des regroupements de noyaux. On note également des zones de hyalinisation parfois extensives et des cellules très éosinophiles « oncocytoma-like ».

b) Profil immunohistochimique

Le profil immunohistochimique de ces tumeurs a maintenant été largement étudié (21) (3) (26) (27) (25) (28) (22). Il est assez particulier pour plusieurs raisons. Tout d'abord, ces tumeurs n'expriment que peu ou pas les cytokératines et l'EMA qui sont des marqueurs classiques des carcinomes. Ensuite, on note une faible expression de la vimentine, habituellement positive dans les carcinomes à cellules rénales, témoignant de leur origine tubulaire rénale.

Elles expriment en revanche des marqueurs communs à d'autres carcinomes à cellules rénales : le CD10, PAX2, PAX8 et la racémase (P504S).

Ce profil d'expression particulier permet de s'orienter face aux 3 principaux diagnostics différentiels des tRCC, que sont les carcinomes à cellules claires conventionnels, les carcinomes papillaires et les carcinomes à cellules chromophobes (3) (21).

Les seuls marqueurs spécifiques sont la protéine TFE3 ou la protéineTFEB en fonction du gène réarrangé. Cependant, bien que validés par plusieurs études avec un protocole publié par l'équipe d'Argani (29), l'anticorps anti TFE3 reste d'utilisation délicate. Il s'agit d'un anticorps polyclonal de chèvre, sujet à d'importantes variations en fonction du temps d'incubation et du temps de fixation des pièces. Ces difficultés d'utilisations ont conduit à recommander une étude moléculaire systématique pour confirmation diagnostique.

Les critères diagnostiques actuels reposent donc sur la mise en évidence de la surexpression de la protéine TFE3 ou TFEB par une étude immunohistochimique. La certitude diagnostique est obtenue par la mise évidence de la présence d'un réarrangement du gène *TFE3* ou *TFEB* par hybridation in situ, cytogénétique ou par PCR.

Notons une dernière particularité immunohistochimique de ces tumeurs. De nombreuses études ont rapporté une positivité surprenante des marqueurs mélanocytaires : MelanA et HMB45 (21) (26) (25) (28)(30).

Ces tRCC ont donc un profil « de recouvrement » entre des tumeurs épithéliales, conjonctives et mélanocytaires. Or, il a été montré que certains PEComes présentent un réarrangement génique ASPL-TFE3 (31) (32) et d'autre part que les mélanomes surexpriment la protéine MITF. Ces points communs ont fait évoquer à plusieurs équipes, notamment celle d'Argani (28), l'existence d'une famille tumorale MITF.

Tableau 1 PRINCIPAUX ANTICORPS UTILISES POUR LE DIAGNOSTIC DES CARCINOMES RENAUX

	CCRCC	PRCC	Chromophobe	tRCC
CD10	+	+	+/-	+
PAX2	+	+	+	+
PAX8	+	+	+	+
CK7	-	+	+	-/+
P504S	-	+	-	+
VIMENTINE	+	+	+/-	+/-
MELAN A	-	-	-	+/-
HMB45	-	-	-	+/-
E CADHERINE	-	-	+/-	+ /-
MITF	-	-	-	-
CAIX	+	+/-	nc	-/+
CD117	-	-	+	-
Cathepsine K	-	-	-	+/-
TFE3	-	-	-	+
TFEB	-	-	-	+

nc : Non Connu

+ : positif

- : négatif

+/- : le plus souvent positif mais peut être négatif

-/+ : le plus souvent négatif mais peut être positif

5) Gènes *TFE3*, *TFEB* et famille *MITF*.

a) Présentation de la famille *MITF*

TFE3 appartient à la super famille des gènes *MITF* (Microphthalmia Transcription Factor) qui comprend les gènes *TFE3*, *TFEB*, *TFEC* et *MITF*. Ces gènes sont impliqués dans la régulation de l'expression de nombreux gènes cibles. *TFE3* et *TFEB* sont d'expression ubiquitaire, *TFEC* ne serait exprimé que dans les cellules de la lignée monocyttaire et macrophagique (28) .

Dans les carcinomes à translocations, le gène *TFE3* (situé en Xp11.2) a 5 partenaires de réarrangement connus (33) (30) : *ASPSCR1* (17q25) également impliqué dans les sarcomes alvéolaires, *PRCC* (1q21), *CLTC* (17q23), *SFPQ* (1q34) et *NonO* (Xq12). Les réarrangements les plus fréquents impliquent les gènes *ASPSCR1* et *PRCC*. Le gène *TFEB* (situé en 6p21) a, quant à lui, un seul partenaire décrit, le gène *alpha* (situé en 11q12-13) (25) (24).

Le point de cassure peut survenir à 2 niveaux différents sur *TFE3* lorsqu'il fusionne avec *ASPSCR1* donnant naissance à 2 types de transcrit (type 1 et 2). Il y a également 2 points de cassures différents décrits sur le gène *PRCC* lors de sa fusion avec *TFE3*, générant de la même façon 2 types de transcrits (1 et 2).

GENES DE FUSION	TRANSLOCATION
ASPSCR1-TFE3	T(X ;17)(p11.2 ;q25)
PRCC-TFE3	T(X ;1)(p11.2 ;q21)
SFPQ-TFE3	T(X ;1)(p11.2 ;p34)
NonO-TFE3	Inv(X)(p11.2 ;q12)
CLTC-TFE 3	T(X ;17)(p11.2 ;q23)
ALPHA-TFEB	T(6 ;11)(p21 ;q12-13)

b) Fonction des différents partenaires de TFE3

ASPSCR1 (Alveolar Soft Part Sarcoma Chromosome Region candidate 1) code pour une protéine cytoplasmique impliquée dans la régulation intracellulaire du transporteur de glucose *GLUT4* (34).

PRCC (Papillary Renal Cell Carcinoma associated gene) code pour une protéine nucléaire qui jouerait un rôle dans l'épissage alternatif (3).

SFPQ (Splicing factor proline / glutamine – rich, aussi connu sous le nom PSF) code pour une protéine nucléaire également impliquée dans les processus d'épissage alternatif (35).

NonO (p54nrb, non-POU domain containing, octamer-binding) code pour une protéine nucléaire d'adhésion à l'ARN ayant plusieurs rôles dont la régulation transcriptionnelle et l'épissage alternatif (36).

CLTC (clathrin heavy chain) code pour la clathrine qui est une protéine impliquée dans les processus d'endocytose et de stabilisation du facteur de réponse à l'hypoxie *HIF-1 α* selon une récente étude (37).

6) Physiopathologie MITF

La protéine TFE3 est un facteur de transcription appartenant à la superfamille MITF, dont le représentant principal est MITF. Cette dernière est impliquée dans la cancérogenèse des mélanomes comme cela a été montré par différentes équipes (38) (39) (40) (41). Tous les membres de la famille *MITF* ont la même structure, comprenant un motif « hélice-boucle-hélice leucine zipper », un domaine de transactivation et une région de liaison à l'ADN. In vitro, une homodimérisation ou une hétérodimérisation impliquant tous les membres de la famille *MITF* peut se voir, mais cela n'a pas encore été établi in vivo. Quoiqu'il en soit, il semble que ces 4 protéines de la même famille régulent les mêmes gènes, notamment parce qu'elles reconnaissent et se fixent au niveau des mêmes séquences (CA [T/G] GTG) de type E-boxes (42) (43). La fonction particulière de chaque membre pourrait donc dépendre de son motif d'expression et des différentes isoformes exprimées en fonction du type de tissu. *MITF* est le membre de la famille le plus étudié et donc le mieux connu, mais ses similitudes avec les autres laissent supposer le même type de fonctionnement et les mêmes cibles.

MITF a été très étudié dans le mélanome car il semble y jouer un rôle important dans la cancérogenèse (41) (44). Il est entre autre impliqué dans la réponse au stress oxydatif engendré par les radicaux libres (40). Il est également impliqué dans la régulation de nombreux gènes bien connus dans les processus de carcinogenèse comme :

- *p21n* et *p16^{ink4}* (45) (44) impliqués dans la régulation du cycle cellulaire
- *CDKN2A* et *CDKN2B* (44) impliqués dans la croissance cellulaire
- *BLC2* et *HIF-1α* impliqués dans la survie cellulaire

- *C-MET* (46) connu pour son rôle dans la mobilité cellulaire et les processus d'invasion des cellules cancéreuses.

Il pourrait donc exister des similitudes entre la cancérogenèse des mélanomes et celle des carcinomes rénaux à translocation.

Une de ces voies, empruntée via *C-MET*, est la voie RAS RAF. Il n'a pas été mis en évidence de mutation *KRAS* ou *BRAF* dans les carcinomes rénaux à cellules claires, les carcinomes papillaires ni dans les carcinomes à cellules chromophobes (3), mais dans les tRCC ces voies n'ont jamais été explorées.

La voie *C-MET* est évoquée dans plusieurs études, elle serait mise en jeu par TFE3 via des processus de sumoylation (47).

Le rôle majeur de ces processus de sumoylation dans les cancers liés à *MITF* a été montré dans des études qui rapportent une prédisposition aux mélanomes et aux carcinomes rénaux lors de mutations du gène *MITF* (47) (48).

Les processus de sumoylation sont des modifications post transcriptionnelles qui fonctionnent sur le même principe que l'ubiquitinylation en ajoutant à la protéine cible un motif « **S**mall-**U**biquitin-like-**m**odifier ». Les conséquences seraient notamment une compétition avec les processus d'ubiquitinylation qui affecterait la stabilité de la protéine cible.

Il a été prouvé que les protéines *MITF*, TFE3 et TFEB étaient sujettes à sumoylation et que des mutations affectant ces processus de sumoylation avaient des conséquences fonctionnelles sur l'activité transcriptionnelle, sans altérer la localisation nucléaire, la dimérisation ou la liaison à l'ADN.

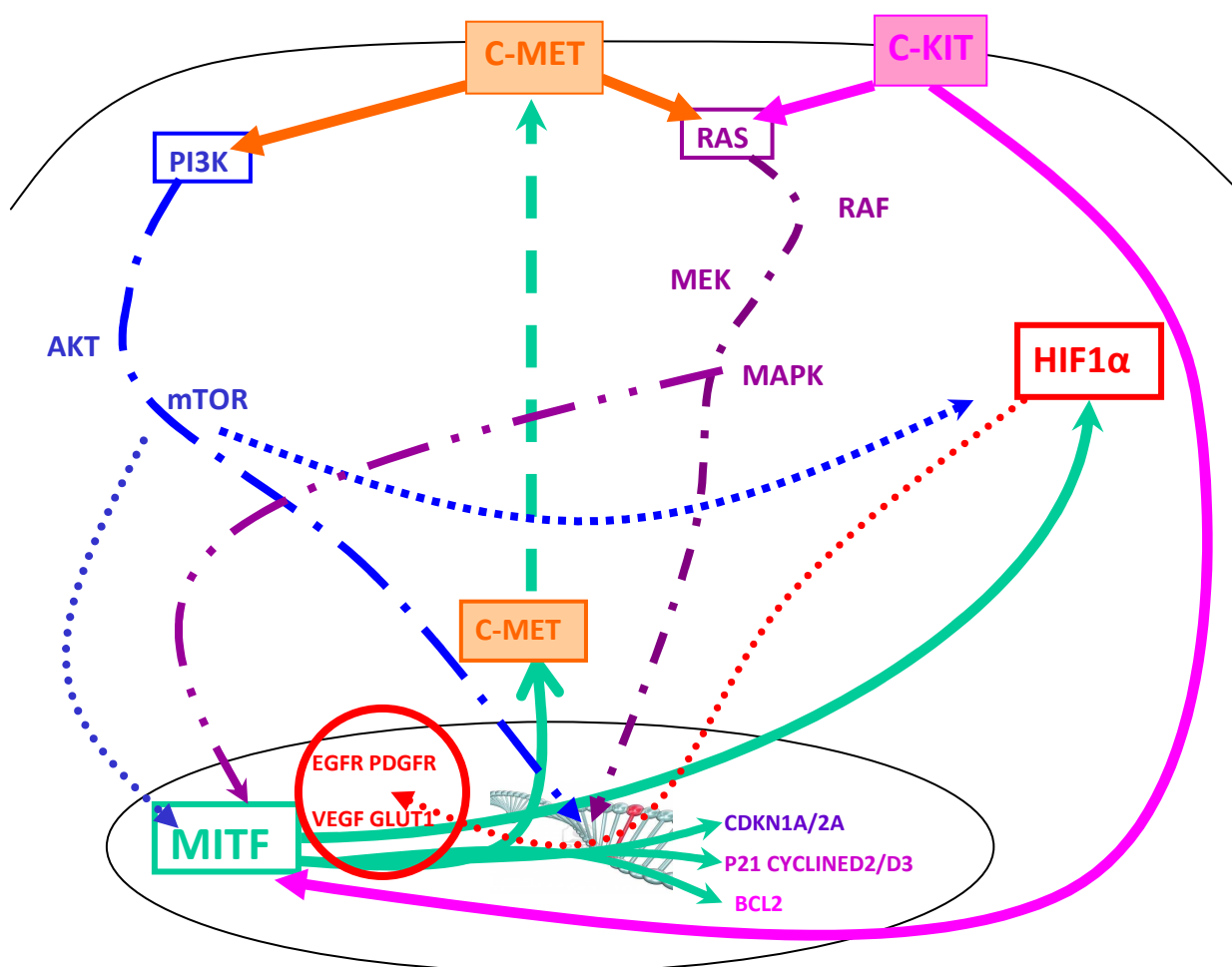
MITF est un facteur de transcription qui régule l'expression de nombreux gènes. Cette régulation se fait via des liaisons entre *MITF* et ses gènes cibles grâce à un ou plusieurs domaines de liaison. Il semble qu'une altération des processus de

sumoylation de MITF diminuerait l'expression des gènes cibles contrôlés par plusieurs domaines de liaisons et augmenterait l'expression des gènes cibles contrôlés par un seul domaine de liaison. Le résultat final serait donc une modification de l'équilibre transcriptionnel des cibles de MITF(49).

C-MET et *HIF-1 α* font partie de ces cibles transcriptionnelles et feraient partie des gènes dont l'expression est augmentée lors de l'altération des processus de sumoylation (47).

L'augmentation de *HIF-1 α* expliquerait en partie l'altération des processus de réponse au stress oxydatif.

Figure 1 : voies de carcinogénèse des tRCC



7) Pronostic et traitement

Le pronostic de ces carcinomes à translocation Xp11.2 est encore mal connu. Dans la classification de l'OMS 2004, il est rapporté des tumeurs de stade localement avancé gardant un pronostic plutôt favorable. Certaines tumeurs semblent pourtant très agressives. Certains auteurs pensent que le pronostic de ce type de tumeur est plus favorable chez l'enfant que chez l'adulte (22) (50) (51). D'autres évoquent une corrélation du pronostic avec l'envahissement ganglionnaire (52) (51).

La prise en charge thérapeutique n'est donc pour l'instant que peu codifiée (53), avec une adaptation au cas par cas selon l'évolutivité qui reste difficilement prévisible dans l'état actuel des connaissances.

Dans les carcinomes rénaux à cellules claires, qui sont les plus fréquents, un traitement adjuvant n'est actuellement recommandé qu'en cas de maladie métastatique (53). Les molécules utilisées sont le Sunitinib (anti-tyrosine kinase), le sorafenib (anti-tyrosine kinase), le bevacizumab (anticorps monoclonal anti-VEGF ligand), le temsirolimus (anti mTOR) et le Pazopanib (anti-tyrosine kinase).

Il n'est pas officiellement recommandé de traiter les patients à risque qui ne sont pas encore métastatiques mais leur inclusion dans les protocoles de recherche est encouragée pour déterminer s'il y a un gain en terme de survie.

Pour ce qui est des tRCC, la série française de 53 patients, qui est actuellement la plus grande série mondiale, rapportée par G. Malouf (54), montre qu'il n'y a pas de différence de réponse au traitement par thérapie ciblée anti angiogénique entre les ccRCC et tRCC.

III) MATERIEL ET METHODES

1) Sélection des cas

Il s'agit d'une étude rétrospective incluant 26 patients dont le diagnostic histopathologique a été porté dans le service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques du CHRU de Lille entre septembre 2003 et mars 2013.

Vingt et un patients ont été opérés au CHRU de Lille (Service d'Urologie, Pr VILLERS), 2 au CH de Valenciennes, 1 au CHU de Nîmes, 1 en clinique à Nîmes et 1 en clinique à Chambéry. Pour les patients opérés au CHRU de Lille, lorsque les conditions le permettaient (réception du prélèvement à l'état frais, non opposition du patient recueillie), un prélèvement était cytopréservé dans le cadre de la tumorothèque.

Le diagnostic de carcinome rénal à translocation Xp11.2 a été posé sur les critères histologiques et le profil immunohistochimique, avec notamment l'expression nucléaire de l'anticorps anti-TFE3 ou anti-TFEB par les cellules tumorales. Une confirmation moléculaire était réalisée pour les cas après 2010 (technique FISH alors disponible).

Une des patientes opérée au CHRU de Lille présentait une tumeur utérine associée, indépendante de la tumeur rénale, dont l'exérèse a été réalisée dans le même temps opératoire.

Les données cliniques, lorsqu'elles étaient disponibles, ont été consultées dans les dossiers médicaux des patients dans leur centre de suivi respectif (CHRU Lille, Centre Oscar Lambret, CHU Nîmes, CH Valenciennes) ou obtenues auprès du médecin traitant.

Les données recueillies systématiquement étaient :

- L'âge
- Le sexe
- Les antécédents personnels et familiaux
- Les circonstances de découverte
- Les traitements adjuvants éventuels
- La survenue d'une récurrence, de métastase, du décès (spécifique et global)

2) Etude histopathologique

Les prélèvements ont tous été fixés par le formol puis échantillonnés, inclus en paraffine et les lames colorées par l'HES.

L'ensemble des lames a été relu par deux pathologistes avec sélection d'un bloc le plus représentatif pour réaliser l'étude immunohistochimique et par technique FISH.

Pour le cas présentant une tumeur utérine associée, un bloc de chacune des deux tumeurs a été sélectionné.

Les tumeurs ont été classées selon la classification OMS 2004, le grade nucléaire de Fühman et la stadification TNM 2010.

3) Etude immunohistochimique

Les cas dont le profil immunohistochimique initial était douteux ont fait l'objet d'une nouvelle étude immunohistochimique avec l'anticorps anti-TFE3. Les cas dont le profil ne posait pas de problème diagnostique ont été relus pour caractériser précisément l'intensité de marquage et le nombre de cellules tumorales marquées. La technique utilisée était la même pour l'ensemble des cas.

a) Technique

L'étude immunohistochimique a été réalisée à l'aide du kit Dako LDAB+ Système HRB. Anticorps utilisé : TFE3 ployclonal, SC-5985 ; Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA. (Anticorps polyclonal de chèvre dilué au 1/3000).

Des coupes tissulaires de 4 µm ont été réalisées à partir des blocs inclus en paraffine sélectionnés en fonction de leur représentativité tumorale. Elles ont été étalées sur lames silanées à l'aide d'eau albuminée à 2% et séchées à l'étuve à 56°C.

Les différentes étapes étaient :

- Déparaffinage : effectué par l'action de la chaleur et d'une solution légèrement détergente
- Pré-traitement : réalisé par la chaleur (95°) et à l'aide d'un tampon EDTA, 3 minutes à pH 8.
- Blocage de l'activité peroxydase endogène : réalisé à l'aide de peroxydase d'hydrogène 3% fourni dans le kit.

- Incubation avec l'anticorps primaire pendant 30 minutes, puis 15 minutes avec le liquide de liaison.
- Révélation par le chromogène diaminobenzidine tétrahydrochloride (DAB +H₂O₂) produisant un précipité brun (DaBO₂).
- Contre coloration par l'hématoxyline associée au Bluing Reagent.
- Puis les lames étaient déshydratées, passées dans le xylène et montées.

b) Interprétation des immunomarquages

La positivité n'était retenue que si elle était nucléaire. Elle a été évaluée par deux observateurs selon les critères suivants :

- Evaluation du pourcentage de cellules marquées en 3 catégories : <5%, 5-50%, >50%.
- Quantification de l'intensité de marquage : faible(+), modéré (++) ou intense (+++).

Les tubules rénaux normaux et les lymphocytes péri-tumoraux servaient de contrôle interne négatif, les glomérules (noyaux des cellules podocytaires) servaient de contrôle interne positif.

4) Etude par technique FISH

Une étude par technique FISH a été réalisée au sein de l'institut de Pathologie du CHRU de Lille sous la responsabilité du Dr. Sc. Valérie Grégoire (ingénieur hospitalier). Le but était de confirmer la présence du réarrangement impliquant le gène *TFE3*. Seul un cas n'a pu être étudié en raison d'un manque de matériel.

a) Technique

Des coupes tissulaires de 3 µm ont été réalisées à partir des blocs précédemment sélectionnés pour l'étude immunohistochimique. Nous avons utilisé le kit de prétraitement DAKO® (Histology FISH Accessory Kit référence K5799). Le tampon de lavage et la solution de prétraitement ont été préparés extemporanément (dilution 1/20).

La technique FISH a été réalisée selon le protocole suivant :

- Déparaffinage des coupes tissulaires dans le xylène (3 fois 10 minutes), suivi d'une réhydratation par bains successifs d'éthanol de concentration décroissante (100% 2 fois 3 minutes, 95% 3 minutes, 70% 3 minutes). Rinçage des coupes déparaffinées dans le tampon de lavage pendant 5 minutes.
- Prétraitement des coupes par immersion 10 minutes à 95°C dans une solution de prétraitement préalablement chauffée à 95°C. Incubation de l'ensemble (lames et solution de prétraitement) à température ambiante 15 minutes. Deux rinçages successifs de 3 minutes.

- Digestion enzymatique : incubation avec 100µl de pepsine froide prête à l'emploi (fournie dans le kit) à 37°C 3 minutes dans une chambre d'incubation humide de marque SHANDON®. Rinçage 2 fois 3 minutes.
- Déshydratation par immersion dans des bains successifs d'éthanol de concentration croissante (70% 2 minutes, 95% 2 minutes, 100% 2 minutes).

Les étapes suivantes ont été réalisées en semi obscurité. Nous avons utilisé la sonde prête à l'emploi ZytoLight SPEC TFE3 Dual Color Break-apart CE IVD (ZytoVision référence Z2109-200).

- Co-dénaturation et hybridation

10 µl de sonde ont été déposés sur chaque coupe tissulaire. Une lamelle a été scellée sur chaque prélèvement pour éviter l'évaporation. L'ensemble était dénaturé à 75°C 10 minutes puis incubé pour hybridation 16 heures à 37°C dans la chambre d'incubation.

- Post-hybridation

Les lamelles ont été retirées et les lames immergées dans une solution de lavage SCC à 65°C 10 minutes. Avant la déshydratation, les lames ont été lavées 2 fois 3 minutes dans la solution SCC. Les coupes ont été déshydratées par bains successifs d'éthanol comme précédemment décrit ; puis séchées à l'air libre, à température ambiante 15 minutes. Pour finir, 10 µl de solution de montage contenant le DAPI ont été déposés. Une lamelle a été lutée sur chaque lame.

b) Interprétation

La lecture a été faite en semi-obscurité à l'aide du microscope à fluorescence Olympus BX61. Des photos ont été prises à l'aide du logiciel Cellsens (Olympus®).

Repérage des zones d'intérêt à faible grossissement (X 100) puis lecture à fort grossissement en immersion (X 600 et X1000).

L'interprétation a été effectuée selon les données de la littérature (55).

- Présence d'un réarrangement : 1 spot orange et 1 spot vert séparés par une distance égale à au moins deux fois le diamètre d'un spot, pouvant être associé à un couple de spots fusionnés jaune (orange/vert) s'il s'agissait d'une femme puisque le gène *TFE3* est localisé en Xp11.2.
- Absence de réarrangement : 1 à 2 spots de fusion orange/vert sans spots dissociés.

Pour chaque cas, l'ensemble de la lame a été lu. Au moins 100 noyaux ont été énumérés. La présence d'un réarrangement au sein de la tumeur a été retenue si plus de 10% des cellules étaient porteuses du réarrangement.

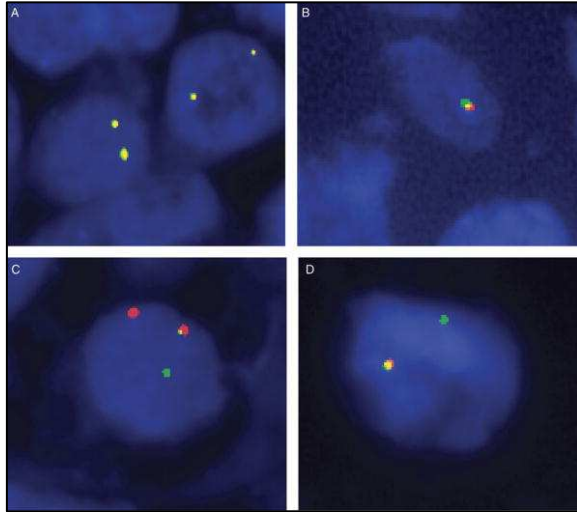
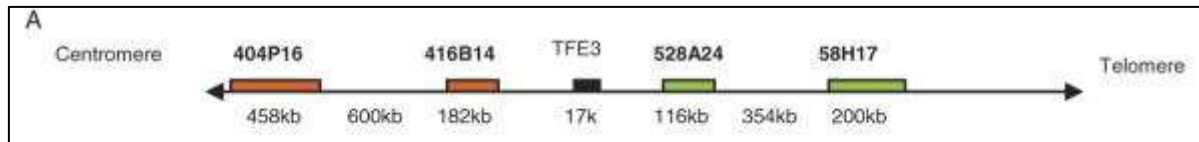


FIGURE 5. FISH was performed on the formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissues. A, Normal female's kidney tissue, 2 fusion signals present. B, Normal male's kidney tissue, 1 fusion signal present. C, Representative image from patient 2, 1 fusion signal, and 1 pair of green and red split signal present. D, Image from patient 4, which showed a fusion signal and a single green signal. The second red signal was lost due to der(X). FISH indicates fluorescence in situ hybridization.

Dual-color, Break-apart FISH Assay on Paraffin-embedded Tissues as an Adjunct to Diagnosis of Xp11 Translocation Renal Cell Carcinoma and Alveolar Soft Part Sarcoma.

Zhong, Minghao; MD, PhD; De Angelo, Patricia; Osborne, Lisa; Keane-Tarchichi, Megan; Goldfischer, Michael; Edelman, Lisa; Yang, Youfeng; Linehan, W; Merino, Maria; Aisner, Seena; Hameed, Meera

American Journal of Surgical Pathology. 34(6):757-766, June 2010.

DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181dd577e

5) Recherche de mutation KRAS et BRAF

L'étude moléculaire a été réalisée dans le service de biologie moléculaire du CHRU de Lille sous la responsabilité du Dr Fabienne Escande (Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Pr N Porchet) après obtention de la validation du projet par le comité scientifique de la tumorothèque.

a) Technique

Pour 20 des 26 cas, des copeaux de 10 µm d'épaisseur ont été réalisés à partir des blocs de tissu fixés par le formol et inclus en paraffine, sélectionnés de façon à être représentatif et comporter plus de 10% de cellules tumorales.

○ *Déparaffinage des tissus*

Les copeaux de tissus paraffinés étaient placés dans un tube eppendorf avec 1 ml de xylène. Après centrifugation (2 minutes à vitesse maximale) et pipetage du surnageant, 1 ml d'éthanol (96-100%) était ajouté au culot pour enlever les traces restantes de xylène. Après une deuxième centrifugation de 2 minutes l'éthanol était retiré par pipetage.

○ *Extraction des ADN*

L'extraction était réalisée à l'aide du kit FFPE QIAGEN® en suivant le protocole recommandé par le fournisseur. Ce kit permet la lyse des tissus, la fixation et la purification de l'ADN sur colonne, puis l'élution de l'ADN. Était ensuite réalisée une quantification et une vérification de la pureté de l'ADN en utilisant un spectrophotomètre Nanodrop® (Thermo Fisher Scientific).

○ **Choix des amorces pour l'amplification par PCR**

Cette technique étant utilisée en routine dans le laboratoire de biologie moléculaire du CHRU de Lille, les amorces d'amplifications choisies pour la recherche de mutation *BRAF* et *KRAS* de routine ont été utilisées. Leur design a été réalisé en fonction des critères suivants : recherche des mutations les plus fréquentes au niveaux des codons 12 et 13 de l'exon 2 du gène *KRAS* et du codon 600 de l'exon 15 du gène *BRAF* :

- Adaptation en fonction de la taille des fragments souhaités (<200pb).
- Homogénéisation des températures de fusions (TM) des amorces.
- Absence de polymorphisme nucléotidique au sein des sites d'hybridation vérifiée à l'aide de l'outil informatique SNPCheck Version 3 (National Genetics Reference Laboratory, manchester, UK).

<http://ngri.manchester.ac.uk/SNPCheckV3/snpcheck.htm>).

- Absence d'hybridation des amorces sur d'autres cibles vérifiée par une recherche BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)
(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

○ **Amplification par PCR classique**

Un témoin négatif *KRAS*, un témoin négatif *BRAF* et un témoin H₂O étaient ajoutés à la plaque. Les amplifications ont été réalisées sur plaque, dans un thermocycleur Biometra T3000® (Applied Biosystems) suivant les paramètres suivants : un cycle de dénaturation de 10 minutes à 95°C, suivi de 35 cycles comprenant chacun une étape de dénaturation à 95°C (30 secondes), une étape

d'hybridation à une température de 58°C (30 secondes), puis une étape d'extension à 72°C (1 minute). Le tout était complété par une extension finale à 72°C pendant 15 minutes.

○ **Pyroséquençage**

Le pyroséquençage a été réalisé à l'aide du pyroséquenceur PyroMark™ MD.

▪ Préparation des mix :

✓ Mix Binding : sur plaque, 2µl de billes de streptavidine, 30 µl d'eau et 38 µl de Bonding Buffer étaient distribués par puit ; 10 µl de produit PCR étaient ajoutés, puis la plaque était mise en agitation pendant 12 minutes à 1400 tours.

✓ Mix Annealing : sur une deuxième plaque, 0.5 µl d'amorce de séquençage et 11.5 µl de tampon annealing étaient distribués par puit.

▪ Lavages :

3 lavages successifs du Mix Binding étaient réalisés au laveur avec aspirateur comme suit : aspiration du contenu des puits, puis lavage à l'éthanol 70% (6 secondes), à la soude (6 secondes), et au tampon de lavage (12 secondes). Les billes sur lesquelles sont accrochées les brins biotinylés étaient ensuite récupérées et déposées dans les puits de la plaque Mix Annealing pour être chauffées 2 minutes 30 à 80°C puis mises 10 minutes à température ambiante.

▪ Lancement du run :

Le run était lancé après remplissage des tips du pyroséquenceur, suivant les volumes recommandés, en bases A, T, C, G, enzymes et substrat, et après avoir effectué un test de fonctionnalité des Tips.

- Impression des profils

b) Interprétation

Les courbes et les pourcentages de bases nucléotidiques étaient interprétés en fonction du pourcentage de cellules tumorales présentes dans les échantillons, et comparés aux témoins négatifs.

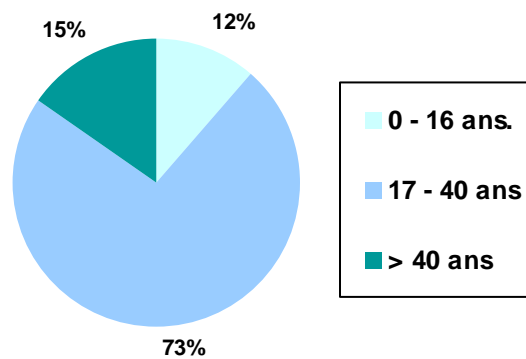
En cas de doute ou de positivité, la vérification était effectuée sur une nouvelle amplification par une autre technique.

IV) RESULTATS

1) Données cliniques

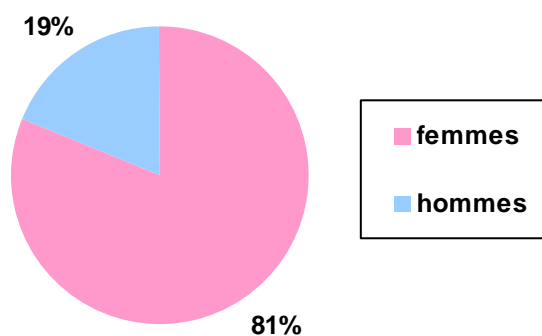
a) Age

Parmi les 26 cas inclus dans notre étude, l'âge moyen était de 32,5 ans et l'âge médian de 31 ans, avec des extrêmes de 7 à 76 ans. Il y avait 3 patients de moins de 16 ans (11.5%) et 4 de plus de 40 ans (15.4%).



b) Sexe

On notait une large prédominance féminine avec 4,2 femmes (81%) pour 1 homme (19%) (21 femmes, 5 hommes) .



c) Antécédents

Une patiente présentait des antécédents de chimiothérapie pour le traitement d'un lymphome. Cette même patiente présentait un antécédent de carcinome mammaire.

Une deuxième patiente présentait un antécédent de carcinome mammaire, et une troisième présentait un carcinome mammaire synchrone du carcinome rénal.

Pour 2 patients, on notait un antécédent familial de cancer au premier degré (œsophage et poumon).

Une patiente présentait une sclérose tubéreuse de Bourneville confirmée par étude génétique (mutation constitutionnelle du gène *TSC2*). Cette patiente présentait 2 tumeurs différentes, d'évolution synchrone, l'une utérine (PECome) et l'autre rénale.

Les autres patients ne présentaient pas d'antécédents personnels ou familiaux notables.

Tableau 2 : ANTECEDENTS

ANTECEDENTS	
1	∅
2	∅
3	∅
4	Hémochromatose, allergie aux neuroleptiques
5	∅
6	Cure de varicocèle. Cancer de l'oesophage chez le père
7	Migraines, polyadénomatose hépatique
8	Tabagisme 5PA sévère
9	ND
10	Cancer du poumon chez les 2 parents. Méga-uretère congénital. Carcinome mammaire d'évolution concomitante au cancer rénal
11	ND
12	∅
13	∅
14	Sclérose tubéreuse de Bourneville
15	ND
16	Hyperplasie nodulaire focale hépatique
17	Ulcère gastrique
18	Lymphome traité par chimiothérapie. Carcinome canalaire du sein
19	∅
20	∅
21	Carcinome mammaire traité par chirurgie et chimiothérapie (3FEC)
22	∅
23	Tuberculose, colique néphrétique, adénome de prostate
24	∅
25	Appendicectomie, kyste de l'ovaire
26	∅

d) Présentation clinique :

La lésion était révélée de façon fortuite dans 8 cas (40%), par des douleurs lombaires ipsi-latérale dans 6 cas (30%) associées à une pollakiurie dans 1 cas, par des douleurs abdominales dans 3 cas (15%), par une colique néphrétique ipsi-latérale dans 3 cas (15%). Une altération de l'état général était associée dans 2 cas.

Parmi les cas découverts de façon fortuite, un l'a été lors du suivi systématique d'un carcinome mammaire et un autre lors du bilan d'extension d'un carcinome mammaire.

Tableau 3 : MODE DE REVELATION

MODE DE REVELATION	
1	Douleurs abdominales
2	Douleurs lombaires, pollakiurie
3	Pyélonéphrite aigüe droite
4	Asymptomatique
5	Asymptomatique
6	Douleurs lombaires gauches depuis plusieurs mois et colique néphrétique gauche
7	Asymptomatique
8	Douleurs fosse lombaire droite
9	Asymptomatique
10	Découvert lors du suivi systématique d'un carcinome mammaire
11	ND
12	Asymptomatique
13	ND
14	Douleurs lomboabdominales droites, AEG avec perte de 4Kg
15	ND
16	ND
17	Asymptomatique
18	ND
19	Douleurs lombaires
20	Asymptomatique
21	Découverte fortuite lors du bilan d'extension du carcinome mammaire
22	ND
23	Douleurs abdominales
24	Hématurie, douleurs lombaires
25	Colique néphrétique droite sur caillotage de la VEU
26	Douleurs hypocondre droit et AEG avec asthénie

e) Evolution clinique :

La durée de suivi allait de 1 mois, pour le patient le plus récemment opéré, jusqu'à 8 ans pour le patient le plus ancien. Le suivi moyen était de 39 mois.

Trois patients sont décédés de la maladie. Une patiente est en échappement thérapeutique (patiente 19) avec métastases vertébrales non contrôlées par thérapie ciblée anti angiogénique et radiothérapie. Seize sont en rémission après chirurgie seule.

Pour 5 patients, les données cliniques n'étaient pas disponibles : 1 perdue de vue et 4 cas extérieurs (avis diagnostic).

Stadification TNM :

- 12 patients étaient classés pT1 (55%) : 7 pT1a et 5 pT1b, 6 étaient pT2 (27%) : 3 pT2a et 3 pT2b, 4 étaient pT3 (18%) : 2 pT3a et 2 pT3b. Pour 4 patients l'information n'était pas disponible.
- 6 patients présentaient un envahissement ganglionnaire : 1 pT1aN1, 1 pT1bN1, 1 pT2aN2, 2 pT3aN2 et 1 pT3bN2.
- 3 patients présentaient des métastases viscérales, 1 au diagnostic (pT2aN2M1) et 2 au cours de l'évolution (pT3aN2M1).

Les sites métastatiques étaient :

- Pour les ganglions : para-aortique, inter-aortico-cave, rétro-cave, pédicule rénal homolatéral et pédicule mésentérique.
- Pour les viscères : poumon (2), plèvre (1), diaphragme (1), médiastin (1), péritoine (1), foie (2), rate (1), intestin grêle (1), os (1) et cerveau (1).

Parmi les patients avec des métastases ganglionnaires (6), 3 sont décédés de la maladie, 1 continue à évoluer sous thérapie ciblée.

Parmi les 3 patients ayant des métastases viscérales, 2 sont décédés de la maladie et une évolue sous thérapie ciblée (sunitinib puis sorafenib).

Parmi les patients décédés de la maladie : la tumeur a été découverte à un stade localement avancé (pT3) pour 2 patients, à un stade pT1 pour une patiente ; 2 avaient des métastases ganglionnaires et viscérales au diagnostic, une avait des métastases ganglionnaire lors du diagnostic puis des métastases viscérales se sont développées dans l'évolution.

Pour la patiente en cours d'évolution sous thérapie ciblée, il s'agissait également d'un stade pT2 avec métastases ganglionnaires et viscérales au diagnostic (Cas N°19).

Une patiente présentait des micrométastases ganglionnaires au diagnostic et un stade pT1. Elle n'a pas récidivé après 8 ans de suivi (Cas N°2).

Tableau 4 : SYNTHÈSE CLINIQUE

SYNTHÈSE CLINIQUE	
Age (années)	7-76 Moyen = 32,5 Médian = 31
Homme	5 (19%)
Femme	21 (81%)
ATCD familiaux de cancer	2 (9%)
ATCD personnels de cancer	2 (9%)
ATCD de chimiothérapie	2 (9%)
Découverte fortuite	8 (39%)
Découverte symptomatique	13 (61%)
pT1	12 (55%)
pT1a	7
pT1b	5
pT2	6 (27%)
pT2a	3
pT2b	3
pT3	4 (18%)
pT3a	2
pT3b	2
Métastases viscérales	3 (13%)
Métastases ganglionnaires	6 (26%)
Rémission	16 (76%)
Progression sous thérapie	1 (5%)
Décès spécifique	3 (19%)
Décès autre	1 (5%)
Pas d'information	5 (19%)

Tableau 5: SYNTHÈSE CLINIQUE ET ÉVOLUTION (en gras: patients avec une évolution péjorative)

CAS	AGE	SEXE	TAILLE (cm)	TNM	TRAITEMENT	Durée suivi (mois)	ÉVOLUTION
1	25	F	19	pT3a N2 M1	chirurgie seule	24	décédée de la maladie
2	22	F	3,8	pT1a N1M0	chirurgie	96	Ø récurrence
3	30	F	2,8	pT1a N0 M0	chirurgie	83	Ø récurrence
4	24	F	6	pT1b N0 M0	chirurgie	78	Ø récurrence
5	16	H	3	pT1a N0 M0	chirurgie	65	Ø récurrence
6	22	H	5	T3a N2 M1	chirurgie + sutent puis torisel puis afinitor	55	décédé de la maladie
7	30	F	2	pT1a N0 M0	chirurgie	48	Ø récurrence
8	44	F	4,5	pT1b N1M0	chirurgie	24	Décédée de la maladie
9	45	F	2	pT1a N0 M0	chirurgie	46	Ø récurrence
10	40	F	2,2	pT1a N0 M0	chirurgie	41	Ø récurrence
11	22	F	ND	ND	ND	ND	ND
12	27	F	12	pT2b N0 M0	Chirurgie	45	Ø récurrence
13	7	H	10	pT2b N0 M0	chirurgie	36	Ø récurrence
14	54	F	23	pT2b N0 M0	chirurgie	30	Ø récurrence
15	31	F	3,7	pT1aN0M0	ND	ND	ND
16	31	F	4,5	ND	ND	ND	ND
17	47	H	6	pT1b N0 M0	chirurgie	30	Ø récurrence
18	33	F	ND	ND	ND	ND	ND
19	15	F	7,7	pT2a N2 M1	chirurgie + Sunitinib puis Sorafenib. Radiothérapie vertébrale à visée antalgique	13	métastases vertébrales L1 L2 puis L3
20	34	F	9,5	pT2a N0 M0	chirurgie	19	Ø récurrence
21	30	F	4	pT1a N 0M0	chirurgie	20	Ø récurrence
22	32	F	ND	ND	ND	ND	ND
23	76	H	8	pT3b N2M0	Chirurgie	3	Décédé des complications du traitement
24	33	F	7,5	pT2 a N0 M0	chirurgie	1.5	Ø récurrence
25	36	F	7	pT1b N0 M0	chirurgie	1.5	Ø récurrence
26	38	F	19	pT3b N0 M0	chirurgie	1	Ø récurrence

2) Etude morphologique

Les tailles tumorales s'échelonnaient de 2 à 19 cm avec une moyenne de 7,25 cm et une médiane de 6 cm.

a) Macroscopie

Les tumeurs présentaient à l'état frais un aspect souvent jaune d'or, avec de nombreuses suffusions hémorragiques. De la nécrose était présente pour 9 cas. Sept étaient kystiques.

b) Microscopie

On observait une architecture tumorale papillaire dans 35% des cas, solide dans 17% des cas, les 2 associés dans 48% des cas.

22% des tumeurs étaient kystiques.

Les cellules tumorales étaient de grande taille, au cytoplasme clair ou faiblement éosinophile, plus rarement franchement éosinophile. Les cellules claires étaient prédominantes dans 19 cas, absentes dans 2 cas. Les cellules étaient exclusivement éosinophiles dans 2 cas.

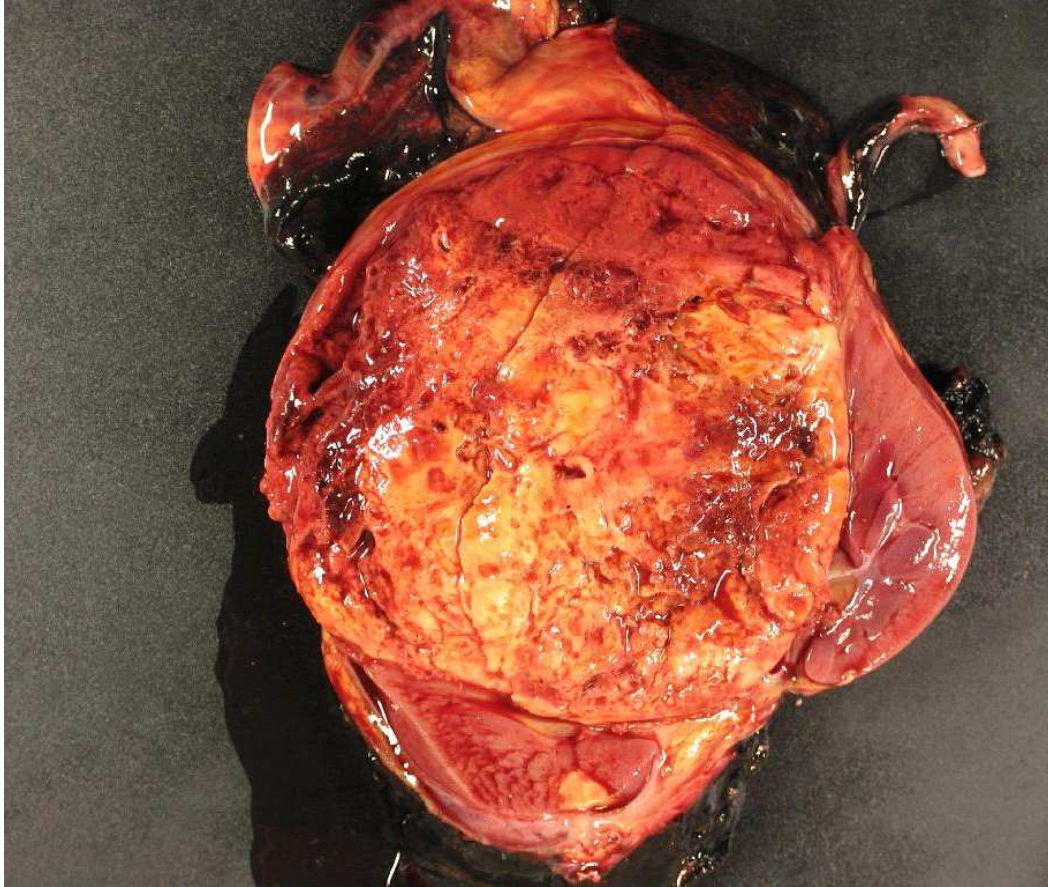
Les noyaux étaient volumineux, volontiers chiffonnés « pseudo chromophobe like », rainurés, nucléolés, avec une chromatine hétérogène souvent clarifiée. On notait une hétérogénéité intra tumorale avec des zones de cellules à petits noyaux et des zones de cellules pourvues de noyaux très atypiques. Le grade nucléaire de Fühman variait de 2 à 4 avec une large majorité de grade 3 (grade 2 : 6 cas= 23%, grade 3 : 16 cas = 62% et grade 4 : 4 cas = 15%).

L'activité mitotique pour 10 champs à fort grossissement (CFG) consécutifs était < 1 mitose dans 17 cas, de 1 à 2 mitoses dans 2 cas, et de 6 à 10 mitoses dans 5 cas. Pour un cas les lames n'étaient plus disponibles (cas extérieur). Il est à noter que pour tous les cas avec une activité mitotique supérieure à 5 mitoses l'évolution a été défavorable.

Aucun contingent sarcomatoïde n'a été identifié.

Des calcosphérites étaient présentes dans 14 cas.

On confirmait la nécrose tumorale dans 9 cas.



Macroscopie à l'état frais



Macroscopie après fixation formolée

Tableau 6 : SYNTHÈSE MORPHOLOGIE (En gras : patients avec une évolution péjorative)

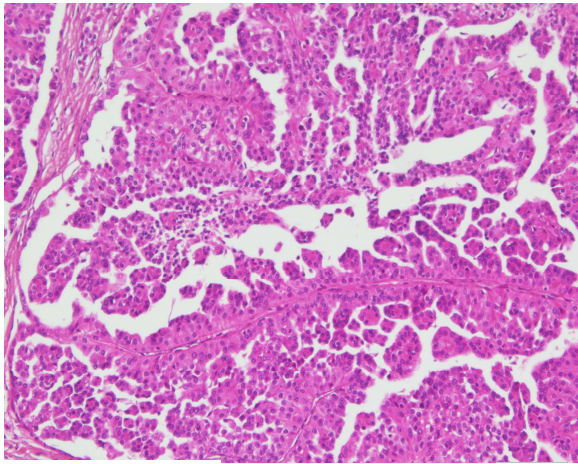
	Architecture	Cytologie	Noyaux	calcosphérites	Nécrose	Führman
1	Mixte à prédominance papillaire	Cellules claires ou éosinophiles	Pléomorphes, volumineux à chromatine vésiculeuse, volumineux nucléole. Par endroits anguleux rainurés, chiffonnés	Oui	< 50%	4
2	Solide en nids	Cellules faiblement éosinophiles	Volumineux, contours irréguliers, anguleux. Anisocaryose. Chromatine claire, rainures, gros nucléole. Rares inclusions	Oui	Non	3
3	Papillaire	Cellules claires parfois éosinophiles	Volumineux, contours anguleux. Anisocaryose. Chromatine claire, gros nucléole, rares inclusions	Non	Non	3
4	Papillaire	Cellules éosinophiles ou clarifiées	Anguleux rainurés parfois en demi-lune. Chromatine claire. Gros nucléole. Pléomorphisme marqué	Oui	Non	3
5	Mixte à prédominance papillaire	Cellules éosinophiles ou clarifiées	Variables : parfois ronds avec un nucléole bien visible, parfois anguleux. Rares inclusions	Non	Non	3
6	Papillaire	Cellules claires ou éosinophiles	Volumineux, contours anguleux, parfois rainurés, chromatine claire, gros nucléole. Pléomorphisme marqué avec des monstruosité	Oui	<50%	4
7	Mixte à prédominance papillaire	Cellules faiblement éosinophiles ou claires	Volumineux, chiffonnés, chromatine claire, nucléole bien visible, binucléations.	Non	Non	3
8	Solide en nids	Cellules éosinophiles ou clarifiées	Ovales à chromatine claire, ou anguleux, rainurés, chromatiques, chiffonnés.	Non	50%	3
9	Solide en nids	Cellules claires	Noyaux ronds, petit nucléole	Oui	Non	2
10	Kystique, papillaire, rares zones solides	Cellules claires ou légèrement éosinophiles	Chiffonnés, contours anguleux, certains rainurés. Rares inclusions. Nucléole variable, quand présent bien visible	Non	>50%	3
11	Solide en nids	Cellules claires	Arrondis ou chiffonnés à contours anguleux	Non	Non	3
12	Kystique, papillaire	Cellules claires ou légèrement éosinophiles	Des secteurs de bas grade avec noyaux arrondis et petit nucléole, des secteurs avec noyaux très volumineux, contours anguleux et gros nucléole	Oui	<50%	3
13	Papillaire + zones tubulaires ou rétifomes	Cellules éosinophiles, parfois en clou de tapissier plus claires dans les zones tubulées	Pléomorphisme très marqué avec noyaux souvent volumineux, contours irréguliers, chiffonnés, et des monstruosité. Chromatine claire, inclusions, nucléole	Oui	>50%	4
14	Solide en nids ou tubes	Cellules éosinophiles ou clarifiées	Ronds parfois ovale ou plus anguleux. Chromatine fine, petit nucléole	Non	<50%	2

Tableau 6 suite

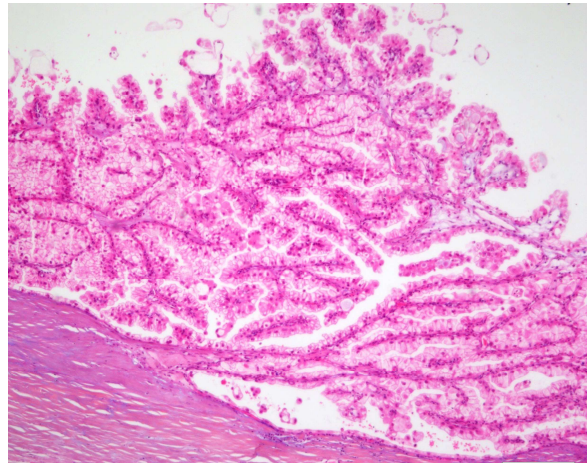
	Architecture	Cytologie	Noyaux	calcosphérites	Nécrose	Führman
15	Mixte partiellement kystique	Cellules éosinophiles ou clarifiées	Volumineux, contours anguleux, rainurés, chiffonnés, chromatiques, nucléole bien visible.	Non	Non	3
16	Kystique, papillaire	Cellules claires	Chiffonnés, incisurés, rares inclusions. Nucléole bien visible quand présent	Oui	Non	3
17	Mixte à prédominance solide	Cellules claires, rares secteurs éosinophiles	Arrondis petit nucléole dans les zones claires. Plus atypiques avec noyaux très volumineux, irréguliers et chromatiques en zone éosinophiles ; Présence de monstruosité	Oui	Non	4
18	Entièrement kystique, rares papilles	Cellules claires ou légèrement éosinophiles	Arrondis ou légèrement anguleux, chromatine claire. Inclusions. Petit nucléole	Oui	Non	2
19	Papillaire	Cellules claires ou légèrement éosinophiles	Pléomorphisme marqué, zones de petits noyaux ronds regroupés et zones de volumineux noyaux atypiques à chromatine hétérogène, contours anguleux, rainures. Rares inclusions. Nucléole bien visible	Non	<50%	3
20	Mixte et partiellement kystique	Cellules claires	Secteurs de petits noyaux ronds, d'autres atypiques avec noyaux volumineux à contours anguleux, aspect chiffonné, quelques demi-lunes. Chromatine claire.	Oui	Non	2
21	Mixte à prédominance solide	Cellules claires	Contours anguleux aspect chiffonné, chromatine vésiculeuse, volumineux nucléole. Bi et multinucléations.	Oui	Non	3
22	Mixte	Cellules éosinophiles	Zones de regroupement de noyaux arrondis taille moyenne, zones de noyaux volumineux arrondis ou anguleux, chromatine clarifiée, gros nucléole	Non	Non	3
23	Papillaire, multi nodulaire	Cellules éosinophiles	Ronds ou anguleux, chromatine claire, vésiculeuse, gros nucléole	Non	Non	3
24	Mixte à prédominance solide	Cellules éosinophiles ou clarifiées	Arrondis ou étirés et plus anguleux, volumineux, quelques rainures, nucléole bien visible.	Non	<50%	3
25	Solide en nids, partiellement kystique	Cellules éosinophiles ou clarifiées	Hétérogènes selon les secteurs, ronds ou allongés voir anguleux. Chromatine fine ou clarifiée, rainures, rares inclusions. Petit nucléole	Oui	Non	2
26	Mixte à prédominance solide	Cellules éosinophiles ou clarifiées	Arrondis ou ovalaires, contours irréguliers, anguleux, aspect chiffonné, rainures. Nucléole bien visible	Oui	Non	3

Tableau 7 : SYNTHÈSE MORPHOLOGIE

SYNTHÈSE MORPHOLOGIE	
Architecture solide	6 (17%)
Architecture papillaire	10 (35%)
Architecture mixte	8 (48%)
Présence de calcosphérites	14 (54%)
Nécrose	9 (35%)
Fürhman 2	6 (23%)
Fürhman 3	16 (62%)
Fürhman 4	4 (15%)
Mitoses < 1/10 CFG	17
Mitoses 1-5 /10 CFG	3
Mitoses > 5 /10 CFG	5

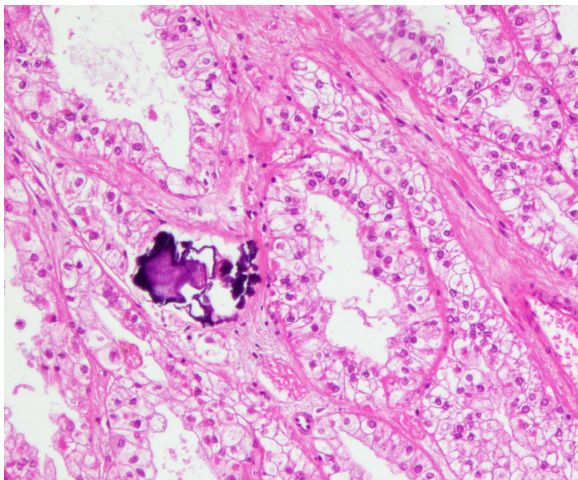


HES X 50



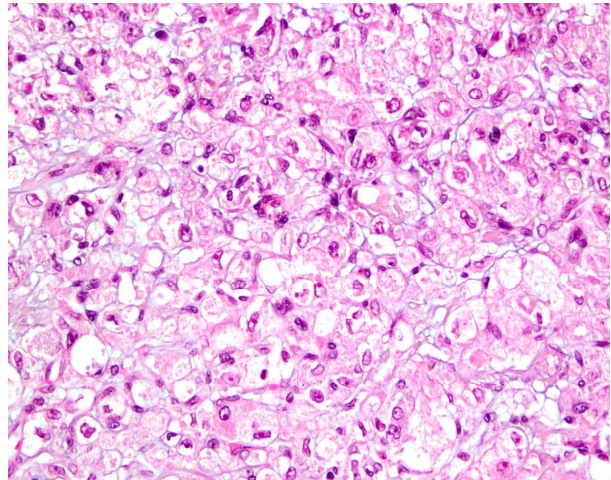
HES X 50

Architecture papillaire



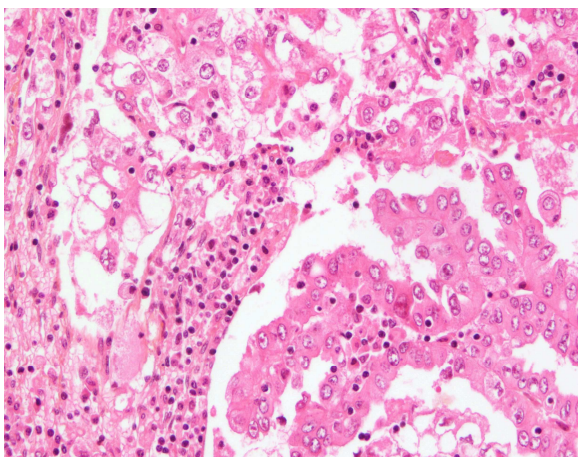
HES X 100

Zones plus tubulaires et
calcosphérites



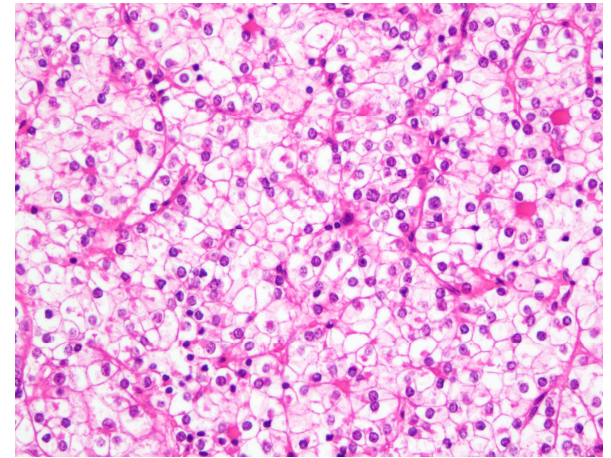
HES X 100

Zones solides



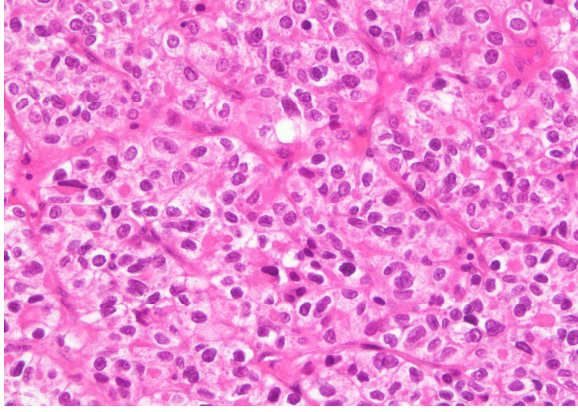
HES X 100

Aspect très éosinophile oncocytaire mimant
un carcinome papillaire type II



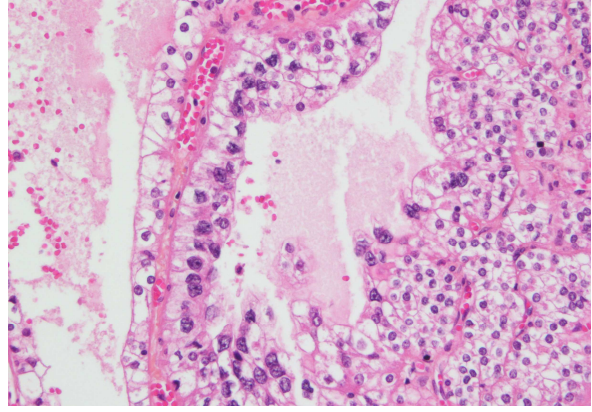
HES X 100

Cellules claires mimant un CRCC



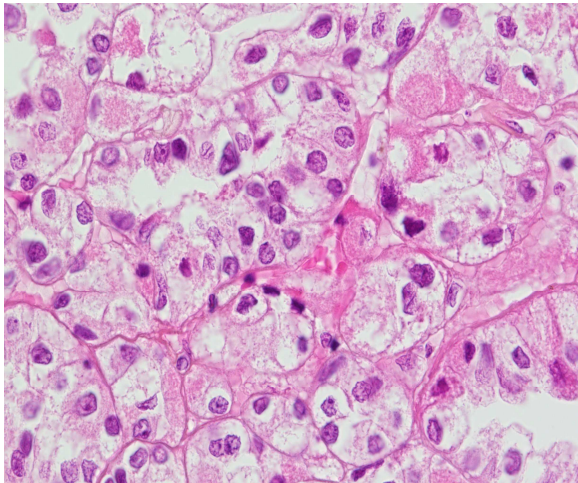
HES X 200

Cellules éosinophiles avec des volumineux noyaux ovales



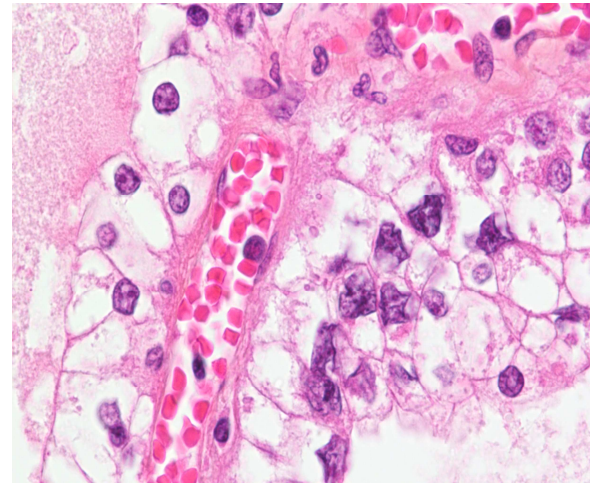
HES X 200

Atypies nucléaires marquées mais focales



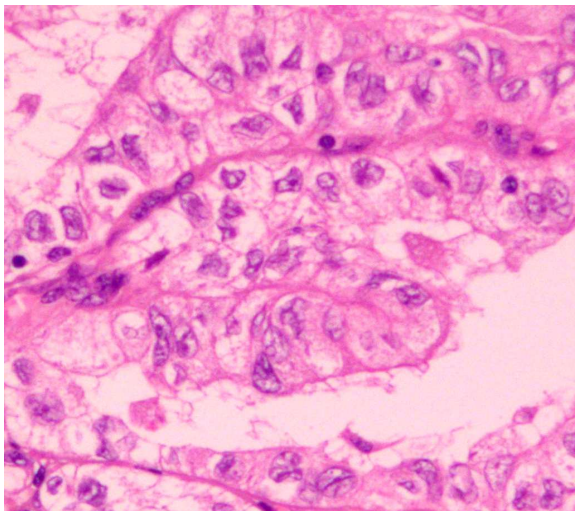
HES X 400

Nids de cellules discrètement éosinophiles à noyau rond nucléolé



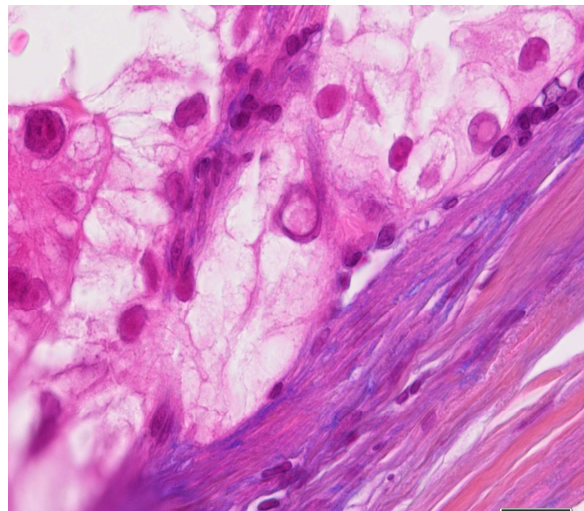
HES X 400

Noyaux à contours irréguliers, anguleux, aspect chiffonné



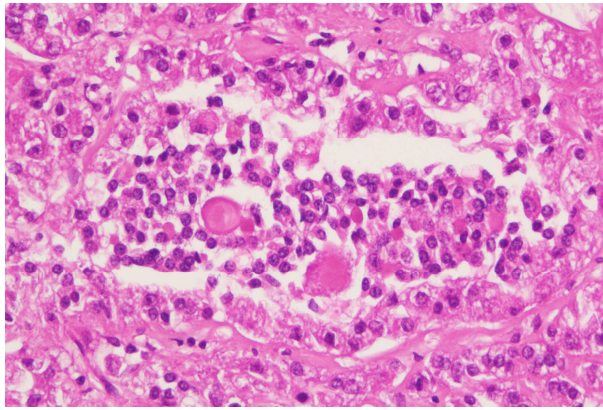
HES X 400

Noyaux clarifiés, nucléolés, contours anguleux, demi-lunes

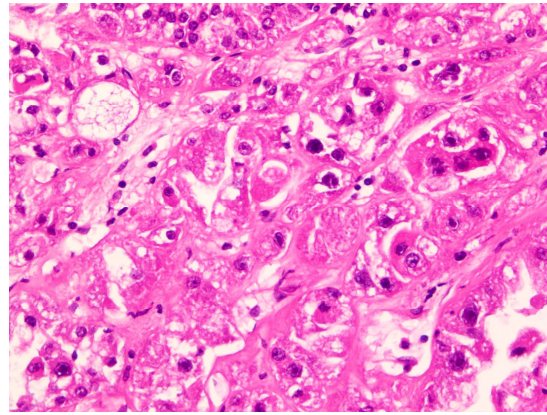


HES X 1000

Inclusion cytoplasmique intranucléaire

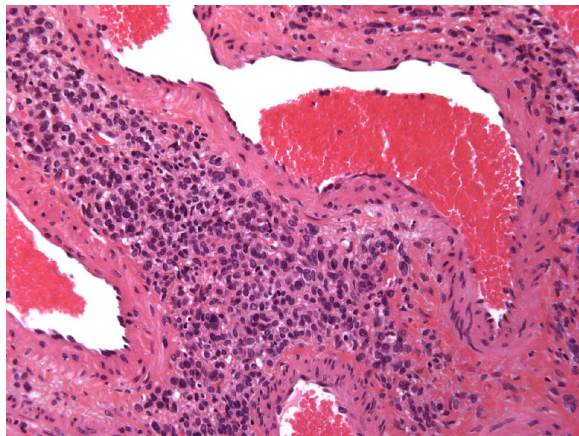


HES X 100

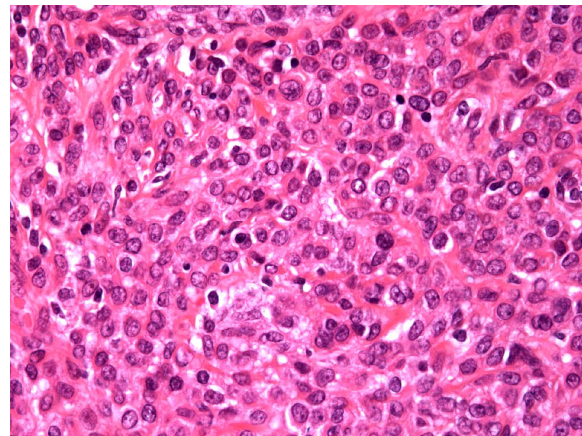


HES X 100

Aspect particulier des tRCC α -TFEB avec des regroupements de noyaux et des grandes cellules éosinophiles épithélioïdes

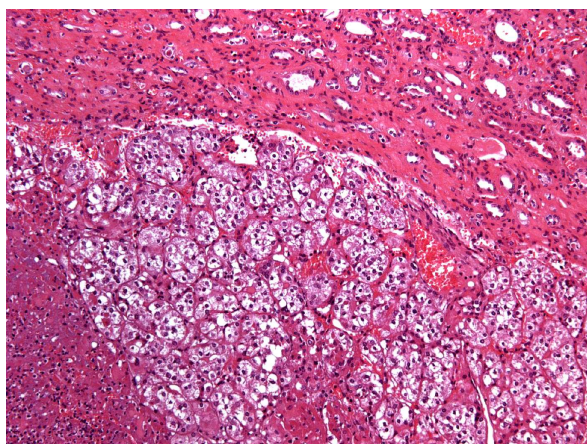


HES X 100

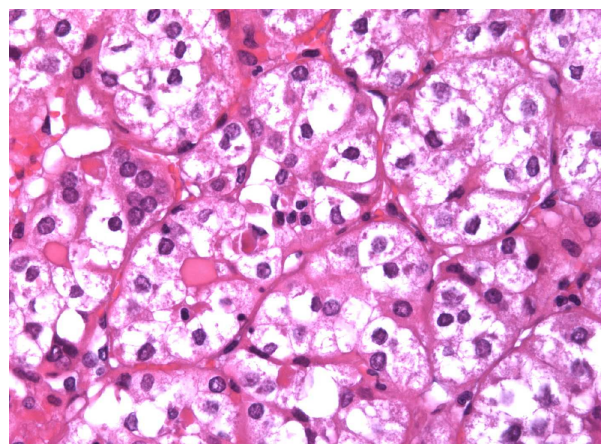


HES X 400

PECome utérin : architecture solide, cellules éosinophiles épithélioïdes péri-vasculaires, noyaux ovales nucléolés cas 14



HES X 100



HES X 400

Carcinome rénal associé au PECome utérin. Architecture solide, en nids, cellules claires, noyaux arrondis nucléolés (cas 14)

3) Etude immunohistochimique

Une positivité nucléaire avec l'anticorps anti-TFE3 était présente pour 25 des 26 tumeurs. Une tumeur sur 26 était marquée par l'anticorps anti-TFEB (réalisé au CHU de Rennes par le Pr Rioux-Leclercq).

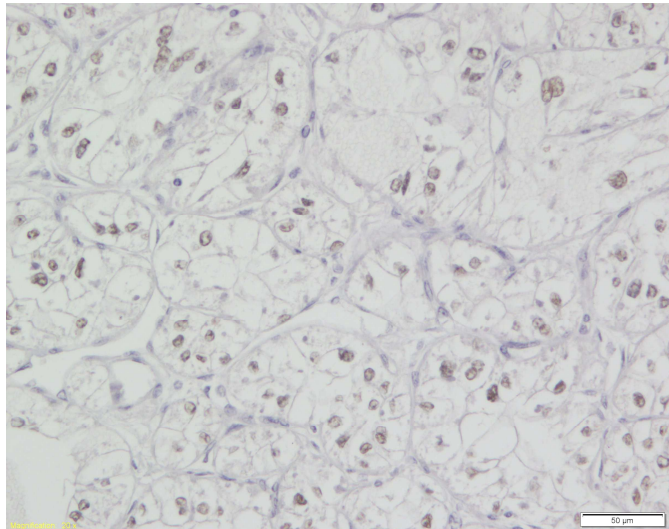
19 cas présentaient un marquage de plus de 50% des cellules tumorales (73%).

Sept cas présentaient moins de 50 % de cellules marquées (27%).

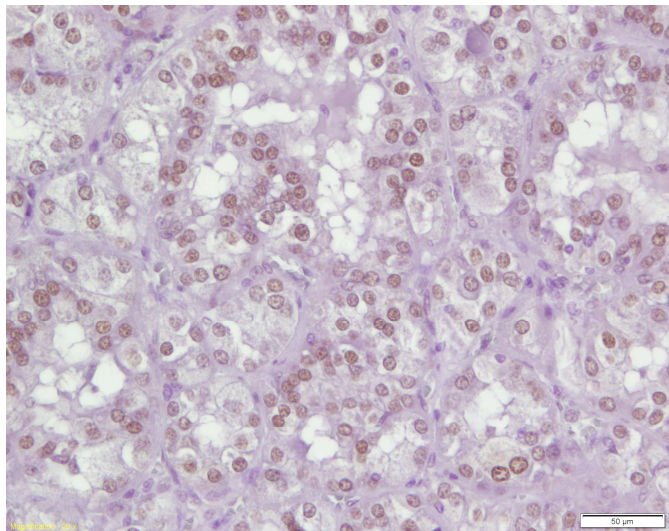
L'intensité de marquage était faible pour 6 cas (23%) avec 2 cas très hétérogènes, modéré pour 10 cas (40%) et intense pour 9 cas (37%).

Tableau 8 - IMMUNOHISTOCHIMIE

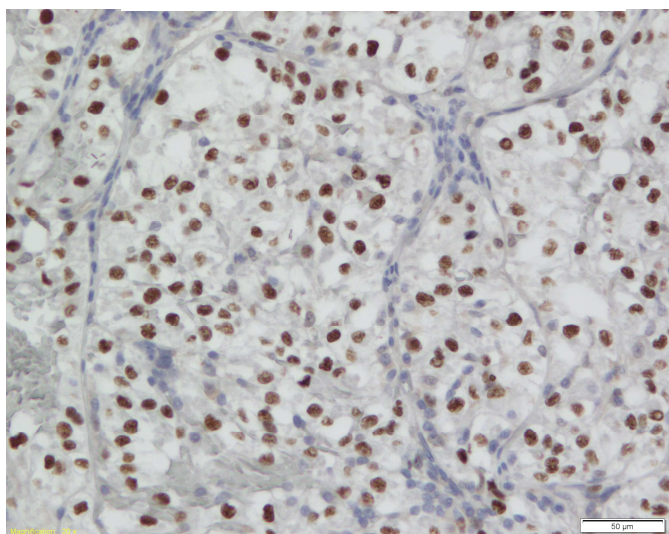
PATIENTS	POURCENTAGE DE CELLULES MARQUEES	INTENSITE DE MARQUAGE
1	5-50	+
2	> 50%	+++
3	> 50%	+++
4	5-50	+
5	> 50%	++
6	> 50%	+++
7	> 50%	+++
8	> 50%	+++
9	> 50%	+++
10	> 50%	++
11	> 50%	++
12	> 50%	++
13	5-50	hétérogène +
14	5-50	++
15	> 50%	+ à ++
16	> 50%	+
17	> 50%	++
18	> 50%	+++ mais bruit de fond +++
19	> 50%	hétérogène +
20	> 50%	++
21	> 50%	+++
22	> 50% (TFEB)	+++
23	5-50	+ à ++
24	5-50	+
25	> 50%	+++
26	5-50	+



X200 **Ac TFE3 Intensité faible +**



X200 **Ac TFE3 Intensité modérée +**



X200 **Ac TFE3 Intensité forte ++**

4) Etude par technique FISH

La présence d'un réarrangement du gène TFE3 était observée dans 23 des 25 tumeurs analysées. Pour 3 cas, le nombre de cellules porteuses du réarrangement spécifique était faible, juste supérieur aux 10% requis pour être pris en compte.

La tumeur TFEB positive n'était pas porteuse du réarrangement TFE3 (il n'y a pas eu d'étude moléculaire de TFEB pour ce cas).

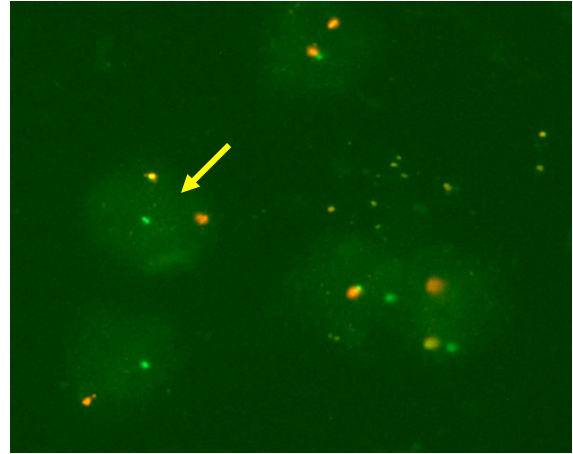
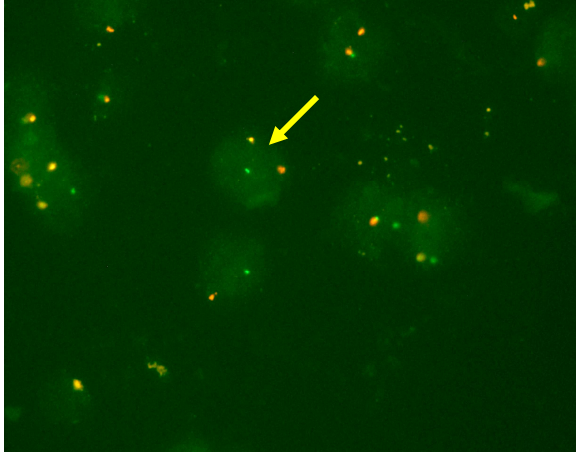
Pour un cas le matériel était insuffisant pour réaliser l'analyse (tumeur entièrement kystique).

Pour un cas l'étude était ininterprétable à cause d'un bruit de fond trop important par auto-fluorescence.

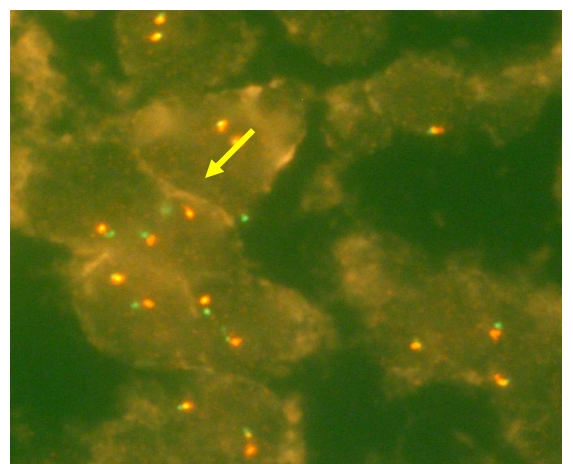
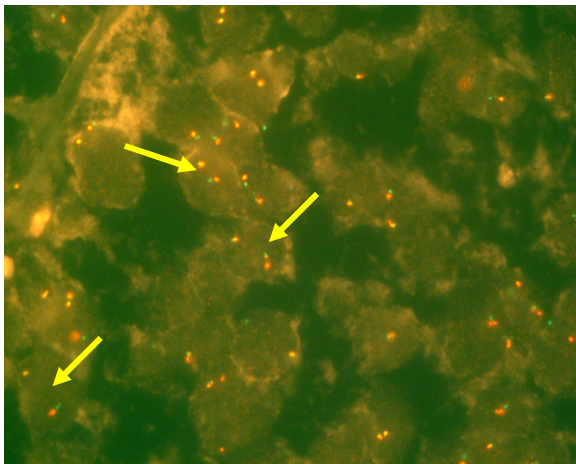
Pour le cas comportant une tumeur rénale et une tumeur utérine, le réarrangement était observé dans les 2 tumeurs.

Tableau 9 : COMPARAISON FISH / IMMUNOHISTOCHIMIE

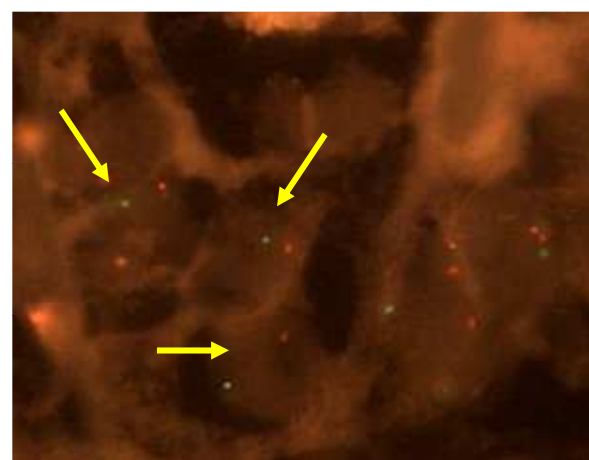
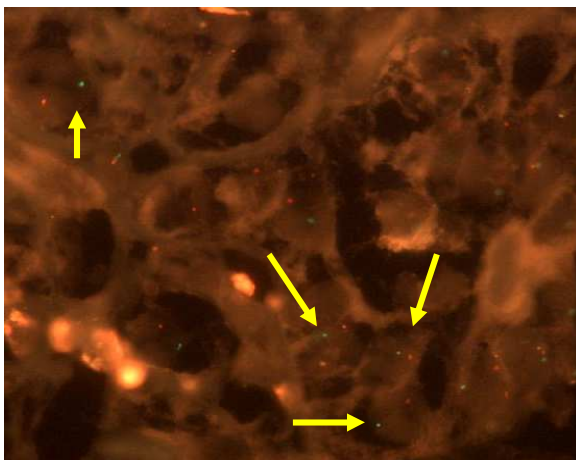
PATIENTS	IHC TFE3	FISH
1	5-50% +	+
2	> 50% +++	+
3	>50% +++	+
4	5-50% +	+
5	>50 % ++	+
6	>50 % +++	+
7	>50% +++	+
8	>50% +++	+
9	>50% +++	+
10	>50% ++	+ faible
11	>50 % ++	Non réalisée
12	> 50% ++	+ faible
13	hétérogène 5 - 50% +	+ faible
14	5-50% ++	+
15	>50% + à ++	+
16	>50% +	+
17	> 50% ++	+
18	>50% +++ mais bruit de fond +++	ININTERPRETABLE
19	hétérogène > 50% +	+
20	>50 % ++	+
21	>50% +++	+
22	0	-
23	Hétérogène 5-50% + à ++	+
24	5-50% +	+
25	> 50% +++	+
26	5-50 % +	+



FISH positive chez une femme : 1 spot fusionné jaune et 1 dissocié orange / vert



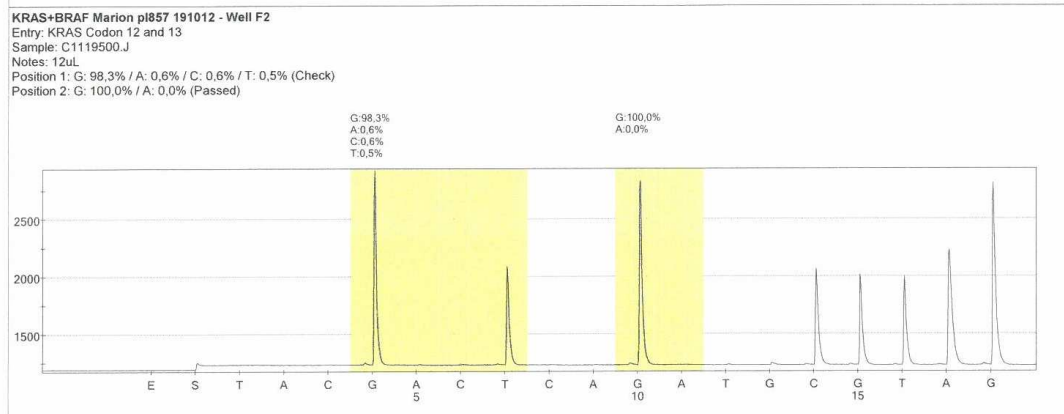
FISH positive chez une femme : 1 spot fusionné jaune et 1 dissocié orange / vert



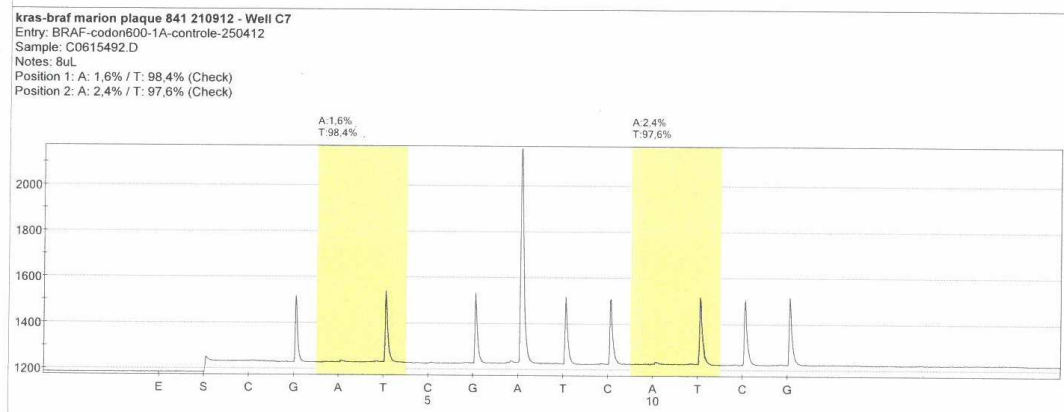
FISH positive chez un homme : 1 seul spot dissocié orange / vert

5) Recherche de mutation KRAS BRAF

Aucune des tumeurs analysées ne présentait de mutation *KRAS* ou *BRAF* après deux analyses différentes. Pour 1 cas il y avait un doute sur une mutation *BRAF* V600E avec un taux de A en 1^{ère} position du codon 600 de 9.1% suggérant la présence d'une population minoritaire de cellules porteuses d'une mutation p.Val600glu (c.1799T>A). Ce cas a été vérifié sur nouvelle amplification puis extension d'amorces (SnaPshot), qui a confirmé l'absence de mutation *BRAF*.

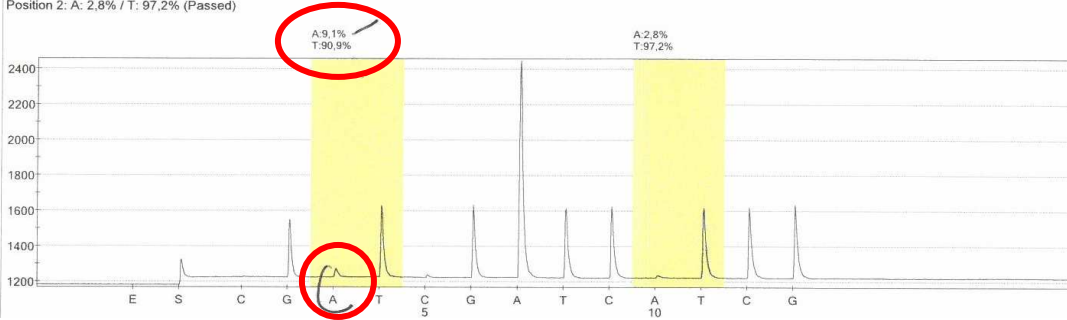


Profil pyroséquence KRAS WT

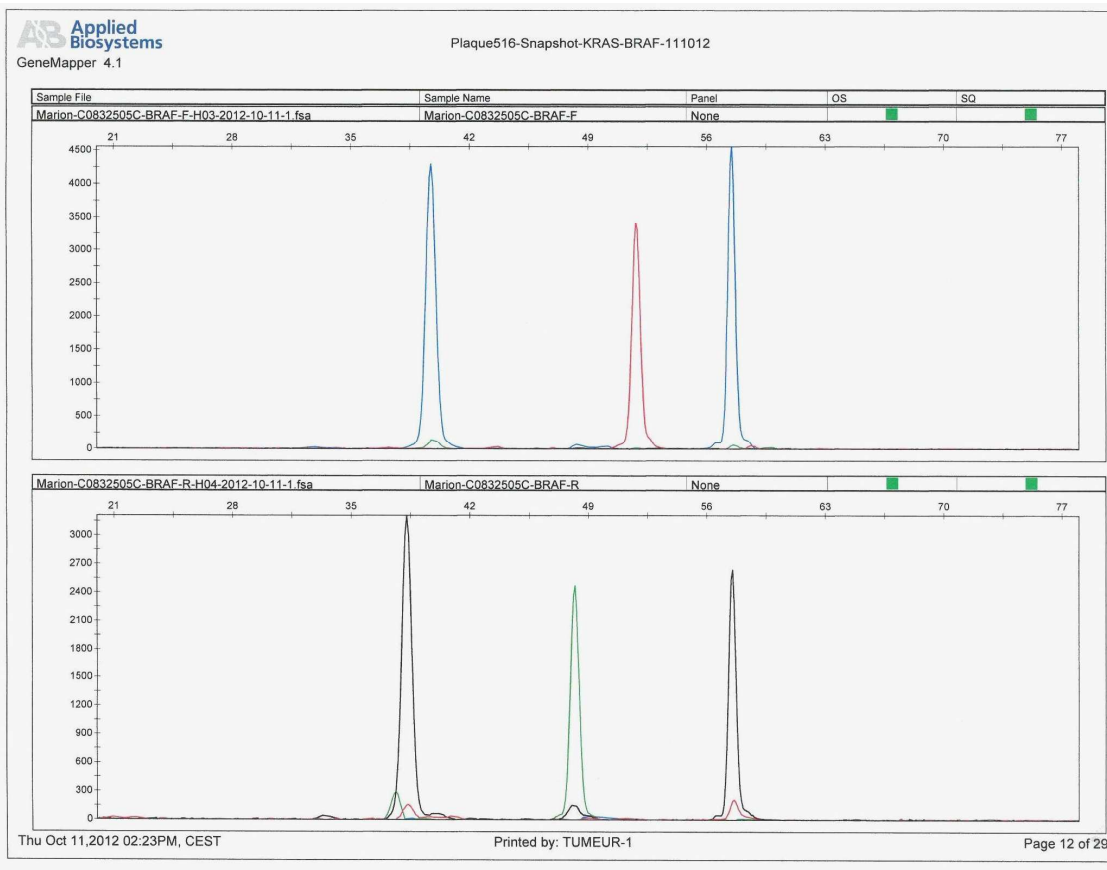


Profil pyroséquence BRAF WT

kras-braf marion plaque 841 210912 - Well H7
 Entry: BRAF-codon600-1A-contrôle-250412
 Sample: C0832505.C
 Notes: Bul
 Position 1: A: 9.1% / T: 90.9% (Passed)
 Position 2: A: 2.8% / T: 97.2% (Passed)



Profil pyroséquençage BRAF doute sur V600E



Profil SNaPshot BRAF WT

V) DISCUSSION

Les carcinomes à translocation Xp11.2 sont une entité rare et les différentes séries publiées, comportent rarement plus de 20 patients. Depuis les premiers cas rapportés isolément, au total 18 séries sont maintenant publiées, dont 6 par l'équipe d'Argani et al. (1) (3) (11) (21) (23) (26) (27) (30) (33) (51) (56) (57) (58) (59) (60) (61) (62) (63). Toutes ces séries se complètent, rapportant des données parfois contradictoires, avec des conclusions sur les données immunohistochimiques et l'évolution clinique parfois très variables.

1) Morphologie

Dans notre série, les tumeurs avaient un aspect assez polymorphe avec des architectures tantôt papillaire, tantôt solide, ou les deux. 22 % étaient kystiques. Dans la majorité des cas, on observait un caractère mixte avec des nids et des papilles bien que 17% des tumeurs étaient exclusivement faites de nids et 35% étaient exclusivement papillaires.

Les cellules tumorales étaient grandes avec un cytoplasme abondant, clair ou faiblement éosinophile. Dans 2 cas, les cellules étaient exclusivement éosinophiles pouvant orienter à tort vers une tumeur oncocytaire ou un carcinome papillaire type 2. Aucun contingent sarcomatoïde n'a été mis en évidence. Dans la littérature, seul 1 cas d'aspect sarcomatoïde a été décrit chez un enfant (57).

Ces aspects morphologiques polymorphes et peu spécifiques se retrouvent dans toutes les séries publiées (1) (3) (11) (16) (21) (26) (30) (60) (62).

En revanche, peu d'études se sont intéressées à l'aspect des noyaux. Ils sont pourtant un bon signe d'appel, surtout chez l'adulte car on évoque moins facilement

ce diagnostic après 40 ans. Leur aspect est certes variable selon les secteurs et selon les tumeurs, mais il y a des aspects récurrents avec des noyaux aux contours irréguliers, parfois en demi-lune, ou chiffonnés « pseudo chromophobe », ou encore rainurés, rarement percés d'une inclusion cytoplasmique intranucléaire. Ils sont souvent clarifiés avec une chromatine vésiculeuse mais peuvent aussi être très chromatiques. Les nucléoles ne sont pas toujours bien visibles, mais le grade de Führman est le plus souvent élevé avec 77% de grade 3-4 et 23% de grade 2.

Dans les 6 principales séries qui se sont intéressées au grade de Führman, les chiffres sont très variables (1) (3) (21) (33) (51) (59). En effet des tumeurs de hauts grade nucléaire (3-4) sont décrites comme prédominantes dans la moitié des séries (de 61 à 100%) (51) (21) (59) et minoritaires dans l'autre moitié (de 24 à 36%) (3) (1) (33). Par contre les tumeurs agressives étaient toujours de haut grade, dans notre série comme dans les autres.

Les noyaux sont donc un élément d'orientation diagnostique dans notre série.

Des calcosphérites étaient présentes dans 53% de tumeurs, ce qui a été décrit par plusieurs équipes sans jamais véritablement évoquer de caractère spécifique. Cela pourrait constituer, en association avec l'architecture papillaire, les cellules claires et éosinophiles et l'aspect des noyaux, un faisceau d'arguments très évocateur.

Il est rare d'observer des mitoses dans les carcinomes rénaux. L'activité mitotique n'a d'ailleurs été étudié dans aucune série de tRCC. Dans notre étude, tous les cas présentant plus de 5 mitoses pour 10 CFG ont eu une évolution péjorative. Ceci semble être un facteur pronostique intéressant qui devra néanmoins être confirmé sur de plus larges séries.

2) Immunohistochimie et étude moléculaire.

a) Immunohistochimie et FISH

La valeur diagnostique de l'anticorps anti-TFE3 a été démontrée par l'équipe de Argani et al. en 2003 (29). Dans cette étude, il existait une très bonne corrélation entre le marquage immunohistochimique et les études moléculaires avec une sensibilité de 97.5% et une spécificité de 99.6%. Il s'agissait d'une série de 21 cas prouvés sur le plan moléculaire. D'autres travaux ont par la suite rapporté une sensibilité moindre, notamment celle de Camparo et al. qui montre dans une série de 31 cas dont 12 prouvés sur le plan moléculaire, une sensibilité de 82% (21). Comme le rapportent également L. Gaillot-Durand et al. (62), décrivant 9 cas où l'immunohistochimie était positive avec au final seulement 2 cas prouvés par technique moléculaire. Dans cette dernière étude, il est proposé en conclusion de ne retenir comme positif que les marquages d'intensité modérée (++) à forte (+++).

Une série Japonaise de Komai et al. (58) de 7 cas positifs dont 4 prouvés par biologie moléculaire parmi 244 carcinomes à cellules rénales étudiés, rapporte une bonne corrélation entre étude immunohistochimique et moléculaire avec un marquage intense des 7 cas par l'anticorps anti-TFE3.

Une série canadienne de Maria Carmen Mir et al. (59) rapporte 8 cas diagnostiqués uniquement par immunohistochimie en gardant comme critères diagnostiques un marquage modéré à intense même s'il était focal.

Dans la série de G Malouf et al. (51), étaient considérés comme positifs, les cas dont le marquage était modéré à intense dans au moins 10% des cellules tumorales.

Dans notre série, l'intensité de marquage était faible pour 6 cas (23%) dont 2 très faibles et hétérogènes, modéré pour 10 cas (38,5%) et intense pour 9 cas (38,5%). Pour 23 cas sur 26, le diagnostic a été prouvé par FISH (1 n'a pu être réalisé par manque de matériel, un était non interprétable et le cas marqué par l'anticorps anti-TFEB n'a pas fait l'objet d'étude moléculaire TFEB). Ceci remet en question le fait de ne considérer comme positif que les marquages modérés à intenses puisque deux de nos cas étaient très faiblement marqués et hétérogènes.

Zhong et al. (30) ont testé 121 RCC, 11 étaient marqués avec l'anticorps anti-TFE3 et seulement 6 prouvés par étude moléculaire. Ces 6 cas avec translocation présentaient un marquage immunohistochimique modéré à intense.

Dans notre expérience (non publiée) nous avons également observé un certain nombre de faux positifs, avec souvent un marquage uniquement en périphérie de la tumeur, mais aussi de véritables marquages homogènes dans certains carcinomes à cellules chromophobes. Les faux positifs avec marquage périphérique font soulever le problème de la qualité de fixation, qui a déjà été évoqué notamment par l'équipe de Zhong (30) et par Argani lui-même dans sa description initiale (29).

Zhong qui a validé la technique FISH pour mettre en évidence le réarrangement Xp11.2 sur coupe paraffinée (55) met également en cause le problème de la subjectivité de l'interprétation de l'intensité du marquage immunohistochimique. Il défend l'idée que l'étude par FISH serait moins sujette à ces problèmes de subjectivité, mais au final, aucun seuil de détection objectif de l'anomalie moléculaire n'a été proposé.

Dans notre étude, nous avons décidé de prendre en compte le marquage immunohistochimique à partir de 5% de cellules marquées et pour la FISH nous

avons fixé le seuil à 10% de cellules porteuses du réarrangement. Pour ce qui est du marquage immunohistochimique, il ne concernait jamais moins de 5 % des cellules. Par contre pour 3 cas, le nombre de cellules porteuses du réarrangement en FISH était tout juste de 10%. Ces cas avec peu de cellules réarrangées, montrent bien les difficultés d'interprétation qui existent tout autant en technique FISH qu'en immunohistochimie.

Dans la série allemande de Macher-Goeppinger et al. (33) est fait mention d'une possible amplification du gène TFE3 dans certains carcinomes rénaux non à translocation.

Au final notre étude confirme la complémentarité de la technique FISH et de l'immunohistochimie. L'immunohistochimie est utile pour orienter le diagnostic lorsque la morphologie et/ou le contexte clinique (jeune âge) sont évocateurs ; la confirmation étant apportée par la FISH pour s'affranchir des faux positifs et faux négatifs.

Se pose ensuite la question de la place des autres techniques moléculaires, que sont la RT-PCR et la cytogénétique.

b) FISH / RT-PCR ou cytogenétique?

Dans son étude sur la FISH (55), Zhong met en avant la facilité technique pour les pathologistes d'avoir une confirmation moléculaire sur matériel inclus en paraffine. En effet il n'est pas toujours évident d'avoir à disposition du matériel congelé .

La technique FISH est également plus rapide et moins onéreuse que la RT-PCR puisqu'elle recherche la présence d'un réarrangement au sein du gène TFE3 sans avoir besoin de savoir quel est le partenaire de réarrangement impliqué. Pour les techniques de PCR, il faut disposer de différents couples d'amorces adaptés à chaque partenaire et de plus pour ASPSCR1 et PRCC il faut 2 couples d'amorces différents pour le même partenaire puisqu'il existe 2 points de cassure possible (33).

Néanmoins, la RT-PCR a une place en complément de la FISH, notamment en cas de non interprétabilité ou de doute diagnostique si le nombre de cellules réarrangé est faible ou en cas d'artéfacts d'autofluorescence des tissus rendant impossible la lecture des signaux.

Un autre aspect à soulever est la mise en évidence du partenaire impliqué. Cette information est intéressante si l'on suppose comme certains auteurs (11) (58) (60) que certains partenaires peuvent être de plus mauvais pronostic que d'autres. Deux techniques permettent d'obtenir cette information : la RT-PCR et la cytogénétique.

La RT-PCR nécessite d'avoir du matériel congelé, une équipe entraînée, et les couple d'amorces nécessaires avec une mise au point optimale des conditions sensibles de réaction.

La cytogénétique est la technique qui a permis de découvrir les premiers cas (11) (16). Malheureusement cette technique pose plusieurs problèmes : c'est une

technique longue, difficile et coûteuse qui nécessite du matériel frais préservé dans le RPMI, et là encore un équipe entraînée car il y a de nombreux échecs de culture.

Dans notre série, nous n'avons pas encore réalisé l'analyse du transcrit impliqué. Une étude complémentaire est en cours dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe de G Malouf.

3) Physiopathogénèse

a) *Conséquences fonctionnelles du transcrit de fusion.*

Plusieurs études rapportent un lien pronostique entre le partenaire de fusion et l'agressivité tumorale.

Une étude récente a été publiée sur les effets du transcrit de fusion ASPSCR1-TFE3 (34). Elle montre notamment qu'il est localisé au noyau grâce au signal de localisation nucléaire de TFE3 et surtout que l'activité activatrice sur le plan transcriptionnel est supérieure pour ASPSCR1-TFE3 fusionné que pour la forme native de TFE3. Cette augmentation d'activité est encore plus importante quand il s'agit du transcrit de type 2 que du transcrit de type 1. Ceci confirme tout d'abord que le transcrit est bien produit et qu'il a une activité propre, mais surtout que cette fusion est très avantageuse sur le plan fonctionnel pour la cellule puisqu'elle permet d'augmenter son rendement en terme de production protéique. Le fait qu'un type de transcrit semble avoir une augmentation d'activité plus importante que l'autre pourrait soutenir l'hypothèse selon laquelle certains transcrits seraient associés à une évolution plus agressive. Dans cette étude, qui s'est focalisée sur le transcrit ASPSCR1-TFE3 commun aux sarcomes alvéolaires et aux tRCC, de nombreux gènes cibles ont été identifiés. Il s'agit en particulier de *C-MET*, qui est un récepteur membranaire impliqué à la fois dans la voie PI3K/AKT et dans la voie RAS/RAF, de *CYP17A1* (encode la sous famille XII du cytochrome P450), de *UPP1* (encode une uridine phosphorylase), et de *ANGPTIL2* (encode la protéine angiopoïétin-like2).

b) Carcinome rénal à translocation et PECome : des voies de cancérogenèse communes au sein d'une même famille ?

Dans notre série, une patiente présentait 2 tumeurs, l'une utérine et l'autre rénale, de découverte synchrone. Au niveau rénal, il s'agissait d'un tRCC et au niveau utérin d'un PECome. Ces 2 tumeurs présentaient une surexpression TFE3 intense en immunohistochimie et étaient toutes deux porteuses d'un réarrangement TFE3 en FISH.

Les PEComes sont une famille de tumeurs mésoenchymateuses faites de cellules épithélioïdes péri-vasculaires qui ont une différenciation à la fois mélanocytaire et musculaire lisse. C'est une famille hétérogène qui comprend plusieurs entités et notamment les angiomyolipomes, lymphangioliomyomatoses, les tumeurs « sucres » à cellules claires pulmonaires et les PEComes sans autre précision (NOS). Les PEComes NOS surviennent le plus souvent au niveau utérin. Ils peuvent présenter une morphologie fusiforme et dans ce cas ils expriment volontiers les marqueurs musculaires, ou plutôt épithélioïdes, comme c'était le cas dans notre étude, et dans ce cas ils expriment moins intensément les marqueurs musculaires.

Les PEComes qui présentent un réarrangement de TFE3 sont caractérisés par une morphologie épithélioïde et une faible immunoréactivité pour l'actine (31). Dans notre cas, la morphologie était bien épithélioïde mais les marqueurs musculaires, dont l'actine étaient fortement exprimés.

Les PEComes et les tRCC partagent donc certaines caractéristiques morphologiques et immunohistochimiques qui a fait soulever par certains auteurs leur éventuelle appartenance au même spectre tumoral, les tumeurs de la famille MITF.

C'est à ce jour le premier cas décrit dans la littérature d'association chez la même patiente de ces 2 lésions. Ceci vient renforcer l'idée d'une origine commune possible avec un chevauchement morphologique et phénotypique.

Il existe une association forte entre la sclérose tubéreuse de Bourneville et certains PEComes et angiomyolipomes. Jusqu'à présent les PEComes avec réarrangement de TFE3 décrits dans la littérature sont survenus en dehors de tout contexte de Sclérose Tubéreuse de Bourneville (32) (28).

Dans cette observation, d'association d'un carcinome rénal à translocation et d'un PECome utérin, avec réarrangement de TFE3, la patiente est atteinte d'une Sclérose Tubéreuse de Bourneville (mutation constitutionnelle TSC2). C'est à notre connaissance le seul cas rapporté. Ceci doit faire poursuivre les investigations concernant le phénotype et les mécanismes physiopathologiques impliqués dans les PEComes et les tRCC avec comme corollaire, l'hypothèse déjà formulée par Argani d'un spectre lésionnel de la famille MITF.

4) Clinique

Dans notre série, l'âge moyen des patients était de 32.5 ans avec une médiane de 31 ans (extrêmes 7-76 ans). Au sens strict du terme, seuls 3 cas (11%) étaient véritablement pédiatriques (jusque 16 ans) et 4 (15%) touchaient des sujets de plus de 40 ans. L'âge médian et moyen confirme dans notre série que ce type tumoral touche préférentiellement les sujets jeunes. Les âges moyens publiés dans les principales séries vont de 24.7 à 53 ans avec des extrêmes allant de 4 à 78 ans (1) (3) (11) (21) (23) (26) (27) (30) (33) (51) (56) (57) (58) (59) (60) (61) (62) (63). Ces chiffres sont tout à fait similaires aux nôtres avec toutefois une sous représentation des cas pédiatriques lié à un probable biais de recrutement. En effet la plupart des séries ne rapportent, soit pas de cas pédiatriques, soit uniquement des cas pédiatriques comme c'est le cas pour la série test de la mise au point de l'anticorps anti-TFE3 par Argani (29) ou la série rapportée par Geller et al. (52).

Pour ce qui est de la prédominance féminine déjà décrite, notre série la confirme tout à fait avec un sexe ratio de 4.2 femmes pour 1 homme. Dans les autres séries, elle existe également de façon plus ou moins marquée.

A l'instar des autres cancers du rein, la découverte reste fortuite dans 39% des cas. Cette fraction de tumeurs asymptomatiques est également importante dans d'autres séries avec 37% dans une série espagnole (59), 33% dans une série anglaise (1) et 50% dans une série japonaise (58). Seules 2 séries rapportent 100% de tumeurs symptomatiques, celle de Geller et al. (52) et celle de Meyer et al. (22). Quand ces tumeurs sont symptomatiques, elles se révèlent volontiers par des douleurs lombaires ou abdominales et dans notre série possiblement par un épisode de colique néphrétique du côté de la lésion. Dans la littérature, ce sont ces mêmes

symptômes qui sont rapportés avec des épisodes d'hématuries fréquents notamment dans la série de Camparo et al. (21).

Cinq études posent la question des antécédents des chimiothérapie comme éventuel facteur de risque de survenue des tRCC (2) (23) (30) (51) (64). Quatre sont en faveur d'une association entre les antécédents de chimiothérapie et la survenue d'un tRCC sans pouvoir incriminer de classe thérapeutique en particulier. Dans notre série, une patiente avait reçu de la chimiothérapie pour un lymphome, mais nous ne connaissons pas l'intervalle entre l'exposition à la chimiothérapie et la survenue du carcinome rénal, et une patiente avait reçu de la chimiothérapie pour un carcinome mammaire.

Il faut noter également que 3 patientes présentaient soit un antécédent de carcinome mammaire, soit pour une patiente, un carcinome mammaire synchrone. Deux patients, dont la patiente présentant un carcinome mammaire synchrone, présentaient des antécédents familiaux de cancer au premier degré. Ceci n'a pas été décrit dans d'autres séries.

En ce qui concerne le stade TNM des patients, dans notre série, les tumeurs étaient de stade pT1-2 dans 82% des cas, et de stade pT3 dans 18% des cas. Dans la littérature, 6 séries décrivent une répartition similaire avec une prédominance de stade pT1-2 allant de 58 à 100% (1) (21) (26) (51) (58) (59). Quatre séries rapportent une prédominance de stade avancés, pT3-4, allant de 53 à 75% (3) (16)(33) (52).

Des métastases ganglionnaires étaient présentes pour 26% des cas de notre étude. Dans la littérature, on trouve de 17 à 42% de cas avec des métastases ganglionnaires (1) (3) (21) (26) (33) (51) (52)(58) (59).

Pour ce qui est des métastases viscérales, dans notre série 13% des patients en présentaient. Dans la littérature, sont décrits de 6 à 42 % de patients métastatiques avec une moyenne de 24% (1) (3) (21) (26) (33) (51) (52) (58) (59).

L'évolution clinique reste difficile à prévoir et plusieurs facteurs ont été évalués. Certains auteurs comme Argani, évoquent une implication du partenaire de réarrangement en jeu (11) (58) (64), d'autres évoquent l'âge, décrivant une plus grande agressivité de ces tumeurs chez l'adulte (22) (51) (62) (50). D'autres encore évoquent la présence de métastases ganglionnaires et/ou viscérales (52) (57) (59).

En ce qui concerne l'âge, Geller et al. suggèrent que dans les cas pédiatriques l'évolution est favorable même en cas de métastases ganglionnaires (52). Dans une étude plus récente des mêmes auteurs, est évoquée une forte implication pronostique de l'envahissement ganglionnaire quelque soit l'âge (57). Dans notre étude, seuls 3 cas entraient véritablement dans la catégorie pédiatrique (≤ 16 ans), un petit garçon de 7 ans, une jeune fille de 15 ans et un adolescent de 16 ans. Les 2 garçons ont une évolution favorable après chirurgie seule, en revanche la jeune fille présente une progression tumorale avec des métastases osseuses vertébrales malgré un traitement par thérapie ciblée et radiothérapie. Les 2 garçons présentaient des tumeurs de stade pT1a et pT2, N0 M0. La jeune fille présentait un stade pT2 N2 M1 au diagnostic. Ces résultats corroborent l'hypothèse d'un lien entre l'envahissement ganglionnaire et un pronostic péjoratif. Toujours en ce qui concerne l'âge, plusieurs équipes évoquent une plus grande agressivité de ces tumeurs chez l'adulte au-delà de 30 ans (2) (22) (50) (51)(62). Ceci n'est pas confirmé dans notre série puisqu'une patiente de 15 ans évolue défavorablement et les 3 patients décédés de la maladie avaient respectivement 22, 25 et 44 ans.

Chez deux de ces patients de 22 et 25 ans, la tumeur était de stade pT3, mais la patiente de 44 ans présentait une tumeur de stade pT1b. En revanche tous les 3 présentaient dès le diagnostic un envahissement ganglionnaire. Tous les autres patients avec évolution favorable sont indemnes d'envahissement ganglionnaire. Notons qu'une patiente de 22 ans présentait une micro-métastase ganglionnaire avec un stade pT1a, sans récurrence après un recul de 8 ans. Dans la série pédiatrique de Geller et al., 6 patients sur 11 avaient des métastases ganglionnaires et/ou viscérales, 4 sont décédés de la maladie et un évolue toujours sous traitement adjuvant.

L'envahissement ganglionnaire est donc bien un facteur de mauvais pronostic.

En ce qui concerne le lien entre le type de partenaire de fusion avec *TFE3*, les deux transcrits les plus fréquents sont *ASPL-TFE3* et *PRCC-TFE3*. Selon Argani, *ASPL-TFE3* serait de plus mauvais pronostic.

5) Perspectives thérapeutiques

Aucune thérapeutique spécifique n'a pour l'instant été mise au point, les voies de carcinogénèse de ce type tumoral restant mal connues.

La plus grande série rapportée comporte 53 patients (54), dont seulement 5 cas sont prouvés par étude moléculaire. Au final seuls 23 étaient métastatiques et ont véritablement été étudiés. Dans cette étude, la survie sans progression était de 8.2 mois pour les patients traités par sunitinib (n = 11) et 2 mois pour les patients traités par cytokine (n=9) pour une durée moyenne de suivi de 19 mois. La survie globale n'était pas disponible. Les résultats montrent 43% des patients décédés, 14 % de patients en phase palliative, 0.4% (n=1) de patient en rémission et 42.6% des patients toujours sous traitement (2^e ou 3^e ligne).

Une série américaine de 15 patients présentant un tRCC métastatique traité par sunitinib, sorafenib ou anticorps monoclonal anti-VEGF (61) parle d'une « certaine » efficacité de ces traitements, avec toutefois une issue qui reste péjorative pour l'ensemble de patients. Trois patients (20%) ont présenté une réponse d'une durée respective de 7, 13 et 27 mois. Sept patients ont été stabilisés (47%). La survie sans progression était de 7.1 mois et la survie globale de 14.3 mois. Tous les décès étaient liés à la maladie. Il n'y avait pas de différence de survie entre les patients traités par sunitinib par rapport à ceux traités par d'autres molécules. Les chiffres de cette série américaine sont finalement assez proches de ceux publiés par l'équipe française de G. Malouf mais sont, dans les deux cas, à interpréter de façon prudente étant donné les faibles effectifs.

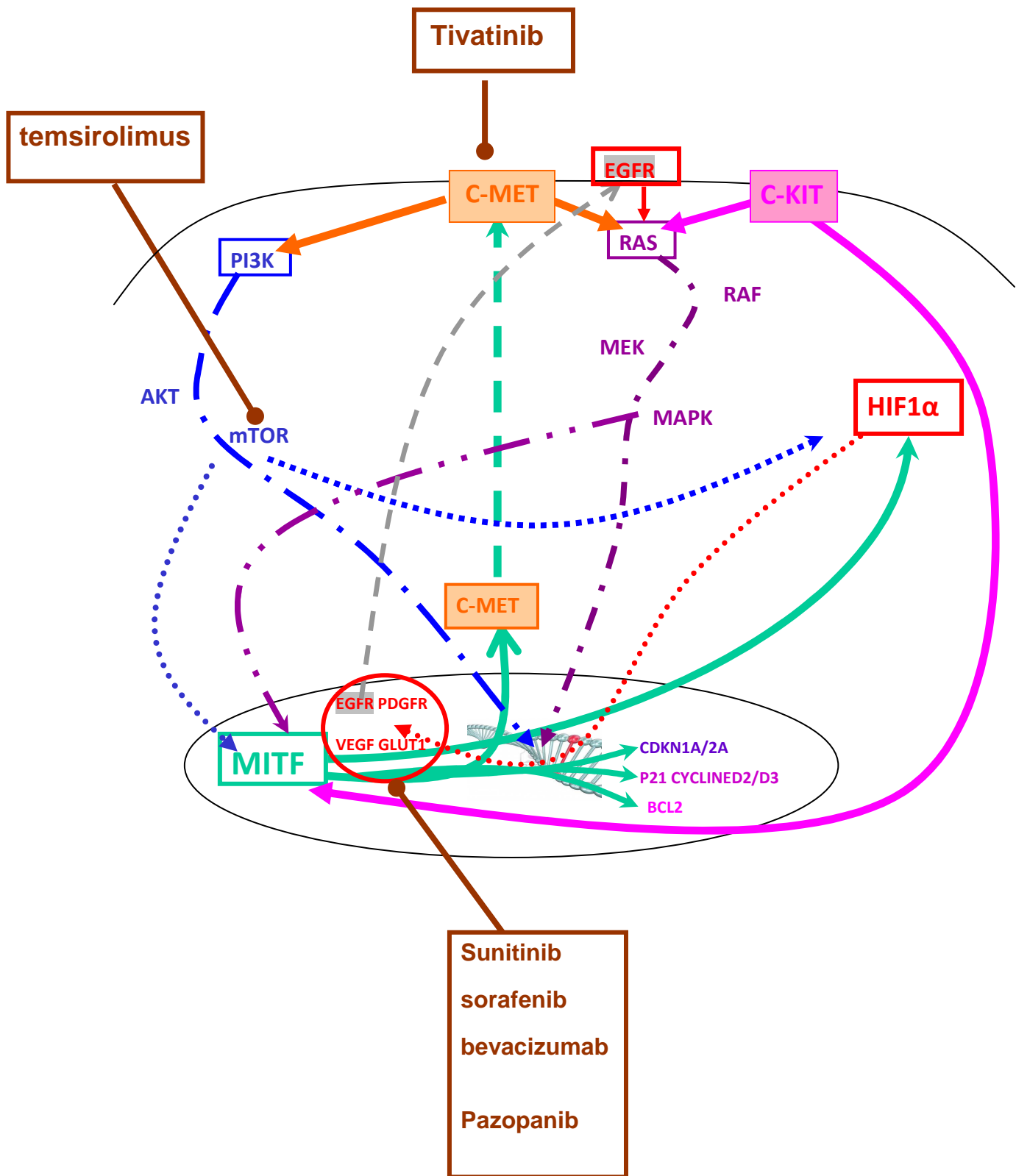
Dans notre étude, parmi les 3 patients qui ont bénéficié d'un traitement par Sunitinib l'évolution a été péjorative avec 2 décès spécifiques et une patiente en progression sous traitement.

D'autres perspectives thérapeutiques sont à l'étude. Les découvertes récentes sur les voies de carcinogenèse de ces tRCC montrent une forte implication du récepteur membranaire à l'HGF C-MET. Ceci laisse à penser que des thérapies ciblant C-MET, pourraient être efficaces. Une étude récente de phase 2 a testé l'efficacité d'un traitement inhibiteur de C-MET (Tivantinib) sur des tumeurs de la famille MITF comprenant des sarcomes alvéolaires, sarcomes à cellules claires et des tRCC (63). Les résultats sont mitigés avec une efficacité assez modeste quelque soit le type tumoral.

Certaines équipes mettent en place des essais d'association thérapeutique pour bloquer en même temps EGFR et C-MET, notamment dans des cancers colorectaux et des carcinomes pulmonaires non à petites cellules, une idée qui paraît prometteuse étant donné la complexité des voies de carcinogenèse impliquées dans ce type de tumeurs (63).

Une dernière voie thérapeutique est soulevée par l'étude récente de Laydani et al. (64), la chimiothérapie conventionnelle par le 5-FU. En effet le gène UPP1 codant une enzyme qui convertit l'analogue pyrimidique 5'-deoxy-5'fluorouridine en 5-fluorouracil (5-FU) est une cible de la protéine de fusion ASPSCR1-TFE3. Ceci pourrait permettre une action du 5-FU qui serait intéressante en cas de tumeur agressive et non contrôlée par la chirurgie seule.

Figure 2 : Cibles thérapeutiques des voies de carcinogèneses des tRCC



VI) CONCLUSION

Notre étude des carcinomes rénaux à translocation confirme une nette prédominance féminine mais un mode de révélation semblable à celui des autres carcinomes rénaux. Ces tumeurs touchent plutôt les sujets jeunes mais leur existence possible quelque soit l'âge doit faire systématiquement évoquer le diagnostic devant toute tumeur rénale de morphologie inhabituelle.

Nous avons montré que la présentation histologique peut-être déroutante avec des aspects variés. En revanche, l'association d'une architecture papillaire avec des cellules claires et éosinophiles, des anomalies nucléaires et des calcosphérites est très évocatrice. Dans notre travail, l'étude immunohistochimique avec l'anticorps anti-TFE3 est bien corrélée à la présence d'un réarrangement en FISH, malgré une certaine hétérogénéité de son expression. Une confirmation moléculaire doit par conséquent être systématique. Cette étude est la première à décrire l'absence de mutation *KRAS* ou *BRAF* dans cette entité.

En ce qui concerne le pronostic, nous avons identifié, sans pouvoir le prouver statistiquement compte-tenu d'un effectif trop faible, qu'une activité mitotique supérieure à 5 mitoses, de même qu'un envahissement ganglionnaire, étaient associés à un pronostic défavorable. Ces éléments méritent d'être confirmés sur une plus large série.

Les voies de carcinogenèse des carcinomes rénaux à translocation sont complexes et partiellement identifiées. Une meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques permettra probablement d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques.

VII) REFERENCES

1. Sukov WR, Hodge JC, Lohse CM, Leibovich BC, Thompson RH, Pearce KE, et al. TFE3 rearrangements in adult renal cell carcinoma: clinical and pathologic features with outcome in a large series of consecutively treated patients. *Am. J. Surg. Pathol.* mai 2012;36(5):663-670.
2. Ross H, Argani P. Xp11 translocation renal cell carcinoma. *Pathology.* juin 2010;42(4):369-373.
3. Klatte T, Streubel B, Wrba F, Remzi M, Krammer B, de Martino M, et al. Renal cell carcinoma associated with transcription factor E3 expression and Xp11.2 translocation: incidence, characteristics, and prognosis. *Am. J. Clin. Pathol.* mai 2012;137(5):761-768.
4. Parkin DM, Pisani P, Lopez AD, Masuyer E. At least one in seven cases of cancer is caused by smoking. Global estimates for 1985. *Int. J. Cancer.* 15 nov 1994;59(4):494-504.
5. Bergström A, Lindblad P, Wolk A. Birth weight and risk of renal cell cancer. *Kidney Int.* mars 2001;59(3):1110-1113.
6. Sausville JE, Hernandez DJ, Argani P, Gearhart JP. Pediatric renal cell carcinoma. *J Pediatr Urol.* août 2009;5(4):308-314.
7. Thoenes W, Störkel S, Rumpelt HJ. Histopathology and classification of renal cell tumors (adenomas, oncocytomas and carcinomas). The basic cytological and histopathological elements and their use for diagnostics. *Pathol. Res. Pract.* mai 1986;181(2):125-143.
8. Kovacs G, Akhtar M, Beckwith BJ, Bugert P, Cooper CS, Delahunt B, et al. The Heidelberg classification of renal cell tumours. *J. Pathol.* oct 1997;183(2):131-133.
9. Compérat E, Camparo P, Vieillefond A. [WHO classification 2004: tumors of the kidneys]. *J Radiol.* sept 2006;87(9):1015-1024.
10. Meloni AM, Dobbs RM, Pontes JE, Sandberg AA. Translocation (X;1) in papillary renal cell carcinoma. A new cytogenetic subtype. *Cancer Genet. Cytogenet.* janv 1993;65(1):1-6.
11. Argani P, Antonescu CR, Couturier J, Fournet J-C, Sciot R, Debiec-Rychter M, et al. PRCC-TFE3 renal carcinomas: morphologic, immunohistochemical, ultrastructural, and molecular analysis of an entity associated with the t(X;1)(p11.2;q21). *Am. J. Surg. Pathol.* déc 2002;26(12):1553-1566.
12. Désangles F, Camparo P, Fouet C, Houlgatte A, Arborio M. Translocation (X;1) associated with a nonpapillary carcinoma in a young woman: a new definition for an Xp11.2 RCC subtype. *Cancer Genet. Cytogenet.* sept 1999;113(2):141-144.
13. Dal Cin P, Stas M, Sciot R, De Wever I, Van Damme B, Van den Berghe H. Translocation (X;1) reveals metastasis 31 years after renal cell carcinoma. *Cancer Genet. Cytogenet.* févr 1998;101(1):58-61.
14. Dijkhuizen T, van den Berg E, Störkel S, Terpe HI, Bürger H, de Jong B. Distinct features for chromophilic renal cell cancer with Xp11.2 breakpoints. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1 juill 1998;104(1):74-76.
15. Kardaš I, Denis A, Babińska M, Gronwald J, Podolski J, Zajaczek S, et al. Translocation (X;1)(p11.2;q21) in a papillary renal cell carcinoma in a 14-year-old girl. *Cancer Genet. Cytogenet.* mars 1998;101(2):159-161.

16. Argani P, Antonescu CR, Illei PB, Lui MY, Timmons CF, Newbury R, et al. Primary renal neoplasms with the ASPL-TFE3 gene fusion of alveolar soft part sarcoma: a distinctive tumor entity previously included among renal cell carcinomas of children and adolescents. *Am. J. Pathol.* juill 2001;159(1):179-192.
17. Sidhar SK, Clark J, Gill S, Hamoudi R, Crew AJ, Gwilliam R, et al. The t(X;1)(p11.2;q21.2) translocation in papillary renal cell carcinoma fuses a novel gene PRCC to the TFE3 transcription factor gene. *Hum. Mol. Genet.* sept 1996;5(9):1333-1338.
18. Clark J, Lu YJ, Sidhar SK, Parker C, Gill S, Smedley D, et al. Fusion of splicing factor genes PSF and NonO (p54nrb) to the TFE3 gene in papillary renal cell carcinoma. *Oncogene.* oct 1997;15(18):2233-2239.
19. Davis IJ, Hsi B-L, Arroyo JD, Vargas SO, Yeh YA, Motyckova G, et al. Cloning of an Alpha-TFEB fusion in renal tumors harboring the t(6;11)(p21;q13) chromosome translocation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 13 mai 2003;100(10):6051-6056.
20. Kuiper RP, Schepens M, Thijssen J, van Asseldonk M, van den Berg E, Bridge J, et al. Upregulation of the transcription factor TFEB in t(6;11)(p21;q13)-positive renal cell carcinomas due to promoter substitution. *Hum. Mol. Genet.* 15 juill 2003;12(14):1661-1669.
21. Camparo P, Vasiliu V, Molinie V, Couturier J, Dykema KJ, Petillo D, et al. Renal translocation carcinomas: clinicopathologic, immunohistochemical, and gene expression profiling analysis of 31 cases with a review of the literature. *Am. J. Surg. Pathol.* mai 2008;32(5):656-670.
22. Meyer PN, Clark JI, Flanigan RC, Picken MM. Xp11.2 translocation renal cell carcinoma with very aggressive course in five adults. *Am. J. Clin. Pathol.* juill 2007;128(1):70-79.
23. Argani P, Laé M, Ballard ET, Amin M, Manivel C, Hutchinson B, et al. Translocation carcinomas of the kidney after chemotherapy in childhood. *J. Clin. Oncol.* 1 avr 2006;24(10):1529-1534.
24. Argani P, Hawkins A, Griffin CA, Goldstein JD, Haas M, Beckwith JB, et al. A distinctive pediatric renal neoplasm characterized by epithelioid morphology, basement membrane production, focal HMB45 immunoreactivity, and t(6;11)(p21.1;q12) chromosome translocation. *Am. J. Pathol.* juin 2001;158(6):2089-2096.
25. Argani P, Yonescu R, Morsberger L, Morris K, Netto GJ, Smith N, et al. Molecular confirmation of t(6;11)(p21;q12) renal cell carcinoma in archival paraffin-embedded material using a break-apart TFEB FISH assay expands its clinicopathologic spectrum. *Am. J. Surg. Pathol.* oct 2012;36(10):1516-1526.
26. Argani P, Olgac S, Tickoo SK, Goldfischer M, Moch H, Chan DY, et al. Xp11 translocation renal cell carcinoma in adults: expanded clinical, pathologic, and genetic spectrum. *Am. J. Surg. Pathol.* août 2007;31(8):1149-1160.
27. Martignoni G, Gobbo S, Camparo P, Brunelli M, Munari E, Segala D, et al. Differential expression of cathepsin K in neoplasms harboring TFE3 gene fusions. *Mod. Pathol.* oct 2011;24(10):1313-1319.
28. Argani P, Aulmann S, Karanjawala Z, Fraser RB, Ladanyi M, Rodriguez MM. Melanotic Xp11 translocation renal cancers: a distinctive neoplasm with overlapping features of PEComa, carcinoma, and melanoma. *Am. J. Surg. Pathol.* avr 2009;33(4):609-619.

29. Argani P, Lal P, Hutchinson B, Lui MY, Reuter VE, Ladanyi M. Aberrant nuclear immunoreactivity for TFE3 in neoplasms with TFE3 gene fusions: a sensitive and specific immunohistochemical assay. *Am. J. Surg. Pathol.* juin 2003;27(6):750-761.
30. Zhong M, De Angelo P, Osborne L, Paniz-Mondolfi AE, Geller M, Yang Y, et al. Translocation renal cell carcinomas in adults: a single-institution experience. *Am. J. Surg. Pathol.* mai 2012;36(5):654-662.
31. Argani P, Aulmann S, Illei PB, Netto GJ, Ro J, Cho H, et al. A distinctive subset of PEComas harbors TFE3 gene fusions. *Am. J. Surg. Pathol.* oct 2010;34(10):1395-1406.
32. Lee SE, Choi Y-L, Cho J, Kim T, Song SY, Sung CO. Ovarian perivascular epithelioid cell tumor not otherwise specified with transcription factor E3 gene rearrangement: a case report and review of the literature. *Hum. Pathol.* juill 2012;43(7):1126-1130.
33. Macher-Goeppinger S, Roth W, Wagener N, Hohenfellner M, Penzel R, Haferkamp A, et al. Molecular heterogeneity of TFE3 activation in renal cell carcinomas. *Mod. Pathol.* févr 2012;25(2):308-315.
34. Kobos R, Nagai M, Tsuda M, Merl MY, Saito T, Laé M, et al. Combining integrated genomics and functional genomics to dissect the biology of a cancer-associated, aberrant transcription factor, the ASPSCR1-TFE3 fusion oncoprotein. *J. Pathol.* avr 2013;229(5):743-754.
35. Patton JG, Porro EB, Galceran J, Tempst P, Nadal-Ginard B. Cloning and characterization of PSF, a novel pre-mRNA splicing factor. *Genes Dev.* mars 1993;7(3):393-406.
36. Fox AH, Bond CS, Lamond AI. P54nrb forms a heterodimer with PSP1 that localizes to paraspeckles in an RNA-dependent manner. *Mol. Biol. Cell.* nov 2005;16(11):5304-5315.
37. Tung K-H, Lin C-W, Kuo C-C, Li L-T, Kuo Y-H, Lin C-W, et al. CHC promotes tumor growth and angiogenesis through regulation of HIF-1 α and VEGF signaling. *Cancer Lett.* 30 avr 2013;331(1):58-67.
38. Davis IJ, Fisher DE. MiT transcription factor associated malignancies in man. *Cell Cycle.* 15 juill 2007;6(14):1724-1729.
39. Bertolotto C, Lesueur F, Bressac de Paillerets B. [MITF: a genetic key to melanoma and renal cell carcinoma?]. *Med Sci (Paris).* mars 2012;28(3):258-261.
40. Liu F, Fu Y, Meyskens FL Jr. MiTF regulates cellular response to reactive oxygen species through transcriptional regulation of APE-1/Ref-1. *J. Invest. Dermatol.* févr 2009;129(2):422-431.
41. Yokoyama S, Salma N, Fisher DE. MITF pathway mutations in melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.* août 2009;22(4):376-377.
42. Hemesath TJ, Steingrímsson E, McGill G, Hansen MJ, Vaught J, Hodgkinson CA, et al. microphthalmia, a critical factor in melanocyte development, defines a discrete transcription factor family. *Genes Dev.* 15 nov 1994;8(22):2770-2780.
43. Aksan I, Goding CR. Targeting the microphthalmia basic helix-loop-helix-leucine zipper transcription factor to a subset of E-box elements in vitro and in vivo. *Mol. Cell. Biol.* déc 1998;18(12):6930-6938.

44. Haq R, Fisher DE. Biology and clinical relevance of the microphthalmia family of transcription factors in human cancer. *J. Clin. Oncol.* 1 sept 2011;29(25):3474-3482.
45. Davis IJ, Kim JJ, Oszolak F, Widlund HR, Rozenblatt-Rosen O, Granter SR, et al. Oncogenic MITF dysregulation in clear cell sarcoma: defining the MiT family of human cancers. *Cancer Cell.* juin 2006;9(6):473-484.
46. Davis IJ, McFadden AW, Zhang Y, Coxon A, Burgess TL, Wagner AJ, et al. Identification of the receptor tyrosine kinase c-Met and its ligand, hepatocyte growth factor, as therapeutic targets in clear cell sarcoma. *Cancer Res.* 15 janv 2010;70(2):639-645.
47. Bertolotto C, Lesueur F, Giuliano S, Strub T, de Lichy M, Bille K, et al. A SUMOylation-defective MITF germline mutation predisposes to melanoma and renal carcinoma. *Nature.* 1 déc 2011;480(7375):94-98.
48. Yokoyama S, Woods SL, Boyle GM, Aoude LG, MacGregor S, Zismann V, et al. A novel recurrent mutation in MITF predisposes to familial and sporadic melanoma. *Nature.* 1 déc 2011;480(7375):99-103.
49. Miller AJ, Levy C, Davis IJ, Razin E, Fisher DE. Sumoylation of MITF and its related family members TFE3 and TFEB. *J. Biol. Chem.* 7 janv 2005;280(1):146-155.
50. Arnoux V, Long J-A, Fiard G, Pasquier D, Bensaadi L, Terrier N, et al. [Xp11.2 translocation renal carcinoma in adults over 50 years of age: about four cases]. *Prog. Urol. nov* 2012;22(15):932-937.
51. Malouf GG, Camparo P, Molinié V, Dedet G, Oudard S, Schleiermacher G, et al. Transcription factor E3 and transcription factor EB renal cell carcinomas: clinical features, biological behavior and prognostic factors. *J. Urol. janv* 2011;185(1):24-29.
52. Geller JI, Dome JS. Local lymph node involvement does not predict poor outcome in pediatric renal cell carcinoma. *Cancer.* 2004;101(7):1575-83.
53. Neuzillet Y, Rioux-Leclercq N, Escudier B. [Update on the different histological types of renal cell carcinoma and their specific treatment]. *Prog. Urol. mars* 2011;21 Suppl 2:S23-26.
54. Malouf GG, Camparo P, Oudard S, Schleiermacher G, Theodore C, Rustine A, et al. Targeted agents in metastatic Xp11 translocation/TFE3 gene fusion renal cell carcinoma (RCC): a report from the Juvenile RCC Network. *Ann. Oncol. sept* 2010;21(9):1834-1838.
55. Zhong M, De Angelo P, Osborne L, Keane-Tarchichi M, Goldfischer M, Edelmann L, et al. Dual-color, break-apart FISH assay on paraffin-embedded tissues as an adjunct to diagnosis of Xp11 translocation renal cell carcinoma and alveolar soft part sarcoma. *Am. J. Surg. Pathol. juin* 2010;34(6):757-766.
56. Argani P, Ladanyi M. Translocation carcinomas of the kidney. *Clin. Lab. Med. juin* 2005;25(2):363-378.
57. Geller JI, Argani P, Adeniran A, Hampton E, De Marzo A, Hicks J, et al. Translocation renal cell carcinoma: lack of negative impact due to lymph node spread. *Cancer.* 1 avr 2008;112(7):1607-1616.

58. Komai Y, Fujiwara M, Fujii Y, Mukai H, Yonese J, Kawakami S, et al. Adult Xp11 translocation renal cell carcinoma diagnosed by cytogenetics and immunohistochemistry. *Clin. Cancer Res.* 15 févr 2009;15(4):1170-1176.
59. Mir MC, Trilla E, de Torres IM, Panizo A, Zlotta AR, Van Rhijn B, et al. Altered transcription factor E3 expression in unclassified adult renal cell carcinoma indicates adverse pathological features and poor outcome. *BJU Int.* juill 2011;108(2 Pt 2):E71-76.
60. Argani P, Hicks J, De Marzo AM, Albadine R, Illei PB, Ladanyi M, et al. Xp11 translocation renal cell carcinoma (RCC): extended immunohistochemical profile emphasizing novel RCC markers. *Am. J. Surg. Pathol.* sept 2010;34(9):1295-1303.
61. Choueiri TK, Lim ZD, Hirsch MS, Tamboli P, Jonasch E, McDermott DF, et al. Vascular endothelial growth factor-targeted therapy for the treatment of adult metastatic Xp11.2 translocation renal cell carcinoma. *Cancer.* 15 nov 2010;116(22):5219-5225.
62. Gaillot-Durand L, Chevallier M, Colombel M, Couturier J, Pierron G, Scoazec JY, et al. Diagnosis of Xp11 translocation renal cell carcinomas in adult patients under 50 years: interest and pitfalls of automated immunohistochemical detection of TFE3 protein. *Pathol. Res. Pract.* 15 févr 2013;209(2):83-89.
63. Wagner AJ, Goldberg JM, Dubois SG, Choy E, Rosen L, Pappo A, et al. Tivantinib (ARQ 197), a selective inhibitor of MET, in patients with microphthalmia transcription factor-associated tumors: results of a multicenter phase 2 trial. *Cancer.* 1 déc 2012;118(23):5894-5902.
64. Argani P, Ladanyi M. The Evolving Story of Renal Translocation Carcinomas. *AJCP.* 9 janv 2006;126(3):332-334.

AUTEUR : CLASSE Marion

Date de Soutenance : 20 juin 2013

Titre de la Thèse : carcinome rénal a translocation, une entité rare. Etude des critères diagnostiques et pronostiques d'une série de 26 cas.

Thèse - Médecine - Lille 2013

Cadre de classement : DES d'Anatomie et Cytologie Pathologiques

Mots-clés : carcinome rénal à translocation, TFE3, TFE3, immunohistochimie, FISH.

Résumé :

Le carcinome rénal à translocation est une entité rare de description récente.

Le but de notre étude était de caractériser cette tumeur sur le plan clinique et morphologique, d'étudier la corrélation entre l'immunomarquage avec l'anticorps anti-TFE3 et la mise en évidence d'un réarrangement du gène *TFE3* en hybridation in situ (FISH), et enfin de rechercher d'éventuelles mutations des gènes *KRAS* et *BRAF*.

Une étude clinique, morphologique, immunohistochimique avec l'anticorps anti-TFE3 et par technique FISH avec la sonde TFE3 a été réalisée sur 26 cas. La recherche de mutation *KRAS* et *BRAF* a été effectuée par PCR puis pyroséquençage à partir d'ADN tumoral extrait d'échantillons inclus en paraffine.

L'âge moyen de survenue était de 32.5 ans (7-76 ans), avec une large prédominance féminine (4.2:1). Deux patientes présentaient des antécédents de chimiothérapie, et une, de sclérose tubéreuse de Bourneville. Le mode de révélation était fortuit dans 40% des cas, révélé par une symptomatologie urinaire dans 60% des cas. L'architecture tumorale était papillaire (35%), solide (17%) ou mixte (48%). Les cellules tumorales étaient claires ou éosinophiles avec des atypies nucléaires marquées parfois focales et des calcosphérites dans 14 cas (54%).

12 cas étaient de stade pT1 (55%), 6 étaient pT2 (27%) et 4 pT3 (18%). Pour 4 patients, l'information n'était pas disponible. Trois patients de 22, 25 et 44 ans sont décédés de la maladie, une patiente de 15 ans est en vie avec des métastases vertébrales et bénéficie d'une thérapie ciblée. Tous les patients dont l'évolution a été péjorative présentaient des métastases ganglionnaires au diagnostic et une activité mitotique supérieure à 5 mitoses pour 10 champs à fort grossissement. L'immunomarquage avec l'anticorps anti-TFE3 était faible et hétérogène pour 6 cas (23%), modéré pour 10 cas (40%) et intense pour 9 cas (37%). Tous les cas étudiés ont été confirmés avec un réarrangement du gène *TFE3* en FISH. L'analyse moléculaire des gènes *KRAS* et *BRAF* n'a pas montré de mutation.

Les carcinomes rénaux à translocation touchent préférentiellement les sujets jeunes de sexe féminin mais peuvent survenir à tout âge. L'étude par immunohistochimie a une bonne valeur d'orientation mais doit obligatoirement être confirmée par une technique moléculaire. Ces tumeurs ne présentent pas de mutations des gènes *KRAS* et *BRAF*. Une activité mitotique supérieure à 5 mitoses et l'envahissement ganglionnaire semblent être des facteurs de mauvais pronostic.

Composition du Jury :

Président : Madame le Professeur Marie-Christine COPIN

Assesseurs : Monsieur le Professeur Arnauld VILLERS

Madame le Docteur Fabienne ESCANDE

Directeur de Thèse : Monsieur le Professeur Xavier LEROY

Adresse de l'auteur : [REDACTED]