



UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE - LILLE 2  
**FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG**  
2018

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Le carcinome papillaire rénal non de type 1 : Etude clinicopathologique,  
morphologique, immunohistochimique et moléculaire d'une série de  
65cas**

Présentée et soutenue publiquement le 13 avril 2018 à 18h  
au Pôle Formation de la Faculté de Médecine de Lille

**par Méline PRIN**

**JURY**

**Présidente :**

**Madame le Professeur LETEURTRE Emmanuelle**

**Assesseurs :**

**Monsieur le Professeur AUBERT Sébastien**

**Monsieur le Docteur FANTONI Jean-Christophe**

**Directeur de thèse :**

**Monsieur le Professeur LEROY Xavier**

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

# **Liste des abréviations**

Anhydrase carbonique IX (CAIX)

Alpha-méthylacyl-CoA racemase (AMACR)

Carcinome rénal à cellules claires (CRCC)

Carcinome rénal papillaire (CRP)

Carcinome papillaire de type 1 (CRP1)

Carcinome papillaire de type 2 (CRP2)

Carcinome à cellules chromophobes (CCC)

Carcinome à translocation de la famille MiTF (CT)

Carcinome rénal déficient en SDH (CSDH)

Carcinome rénal lié à une translocation ALK (CTA)

Carcinome papillaire à cellules claires (CRPCC)

Carcinome tubulo-kystique (CTK)

Carcinome inclassable (CI)

Carcinome lié au neuroblastome (CN)

Carcinome rénal lié à la maladie rénale kystique chronique (CMRK)

Carcinome rénal lié au syndrome de léiomyomatose héréditaire (CRLH)

Carcinome rénal médullaire (CM)

Carcinomes tubuleux et mucineux à cellules fusiformes (CTM)

Carcinome des tubes collecteurs de Bellini (CTCB)

Carcinomes multiloculaires kystiques à cellules rénales (CMK),

Cytokeratine 7 (CK7)

Cell Conditioning solution 1 (CC1)

Cell Conditioning solution 2 (CC2)

Epidermal Growth Factor receptor (EGFR)

Fumarate hydratase (FH)

Hématoxyline éosine safran (HES)

Hybridation in situ en immunofluorescence (FISH)

Index de prolifération (Ki67)

Mammalian target of rapamycin (mTOR)

Next generation sequencing (NGS)

Organisation mondiale de la santé (OMS)

Programmed death cell 1 ligand 1 (PD-L1)

Société Internationale de Pathologie Urologique (ISUP)

Succinate Dehydrogenase (SDH)

Tissue microarray (TMA)

Tyrosine-proteine kinase MET (MET)

Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase (BAP1)

UICC (Union for International Cancer Control)

Veine cave inférieure (VCI)

# TABLE DES MATIERES

RESUME	7
INTRODUCTION	9
1) Epidémiologie du cancer du rein.	11
2) Données cliniques et radiologiques du carcinome papillaire du rein.	15
a) Aspects cliniques.	15
b) Aspects radiologiques	15
3) Données anatomopathologiques du carcinome papillaire du rein.	18
a) Macroscopie.	18
b) Microscopie.	19
4) Profils chromosomiques et anomalies moléculaires du carcinome papillaire du rein.	24
5) Les diagnostics différentiels du carcinome papillaire rénal.	27
6) Les facteurs pronostiques	30
7) Prise en charge thérapeutique du carcinome papillaire du rein.	34
8) La classification de Vancouver et actualisation de la classification OMS 2016.	35
OBJECTIFS	39
MATERIELS & METHODES	42
1) Sélection des cas	42
2) Recueil des données anatomo-cliniques et pronostiques.	44
3) Examens histopathologiques propres à notre étude	45
4) « Tissue micro-array »	45
5) Analyse immunohistochimique	48
6) Interprétation de l'étude immunohistochimique	50
7) La technique FISH	52
8) Obligations légales	55
9) Statistiques	55
RESULTATS	57
1) Etude descriptive.	58
a) Les caractéristiques anatomopathologiques des CRP non de type 1	58
b) Les caractéristiques anatomopathologiques de chacun des sous-groupes	59
c) Les caractéristiques cliniques de l'ensemble des CRP non de type 1	61
d) Les caractéristiques cliniques propres à chaque sous-groupe	63
e) Les caractéristiques immunohistochimiques des CRP non de type 1	66
2) Analyse statistique: évaluation pronostique	75

a) Facteurs pronostiques selon les critères cliniques et histologiques pour les CRP non de type 1	77
b) Facteurs pronostiques selon les marqueurs immunohistochimiques	86
DISCUSSION	92
1) Identification et reclassement morphologiques des CRP non de type 1	92
a) Cas retenus	92
b) Données cliniques chez nos 65 patients	93
2) Identification et reclassement immunohistochimiques des CRP non de type 1	95
a) Anticorps anti-Fumarate Hydratase	95
b) Anticorps anti-SDHB	97
c) Anticorps anti-ALK	98
d) Anticorps anti-MelanA et Anti-TFE3	99
e) Anticorps anti-GATA3	100
3) Etude des facteurs pronostiques; les critères anatomo-cliniques :	101
a) Le type morphologique	101
b) Le grade nucléolaire	102
c) La taille tumorale	103
d) La nécrose	104
e) Le stade TNM	104
4) Etudes des marqueurs immunohistochimiques pronostiques et thérapeutiques	105
a) Anticorps anti-Ki67	106
b) Anticorps anti-CAIX	107
c) Anticorps anti-BAP1	108
d) Anticorps anti-MET	109
e) Anticorps anti-H3K27M et anti-H3K36M	110
f) Anticorps anti-PD-L1	111
CONCLUSION	114
BIBLIOGRAPHIE	116
ANNEXES	123

# RESUME

Le carcinome rénal papillaire (CRP) est une catégorie tumorale, subdivisée en types 1 et 2. Il existe, en fait, une grande hétérogénéité morphologique, mais aussi pronostique notamment parmi les CRP non de type 1. Des difficultés diagnostiques peuvent donc se poser, en particulier depuis la description de nouvelles entités dans la classification OMS 2016. Les objectifs de notre étude étaient de reclasser une série de CRP uniquement d'un point de vue morphologique, en différents sous-types, pour constituer une cohorte de CRP non de type 1. Celle-ci a été étudiée ensuite grâce à une analyse immunohistochimique permettant l'identification éventuelle des nouvelles entités décrites. Enfin, une évaluation pronostique a été réalisée sur notre cohorte globale et les sous-groupes constitutifs, en fonction de différents critères anatomo-cliniques et immunohistochimiques.

Cette étude rétrospective et monocentrique, s'étendant sur 26 ans, nous a permis de sélectionner 65 cas de CRP non de type 1 : CRP2 d'aspect homogène (61.5%), CRP mixtes (12.5%), CRP d'aspect oncocytaire (21.5%) et CRP avec foyers à cellules claires (4.5%). Une étude immunohistochimique sur TMA a été réalisée. Des marqueurs à visée diagnostique comprenant les anticorps suivants ont été utilisés : anti-FH, SDHB, MelanA, TFE3, GATA3, ALK ; mais aussi des marqueurs à visée pronostique et thérapeutique : anti-Ki67, CAIX, BAP1, H3K27M, H3K36M, MET et PD-L1.

Nous n'avons pas identifié de nouvelles entités décrites dans la classification OMS 2016 au sein de notre cohorte. Concernant les facteurs pronostiques, la taille tumorale, la présence de nécrose, l'extension à la graisse péri-rénale, l'extension vasculaire, l'extension ganglionnaire ou l'envahissement métastatique sont des critères péjoratifs, particulièrement dans le sous-groupe de CRP2 d'aspect homogène. Aucun lien statistique n'a été démontré avec les marqueurs à visée pronostique, hormis pour l'anticorps anti-

Ki67 (marquage>5%) qui a été identifié comme un facteur de mauvais pronostic dans le sous-groupe des CRP2 d'aspect homogène.

En conclusion, ce travail montre donc que les CRP non type 1 comportent plusieurs entités différentes qui doivent être distinguées. Nous avons confirmé la valeur pronostique des critères anatomopathologiques usuels et démontré que la nécrose tumorale est un facteur important à considérer dans l'évaluation pronostique des CRP de type 2 homogène. Nous avons également montré l'intérêt d'effectuer un immuno-marquage avec l'anticorps anti-Ki67 dans ce sous groupe particulier. Enfin, les résultats obtenus avec les marqueurs PD-L1 et MET laisse entrevoir de nouvelles perspectives pronostiques et thérapeutiques.



# INTRODUCTION

La classification des cancers du rein a beaucoup évolué depuis ces vingt dernières années. En effet, la classification de 1975 (*Atlas of tumor pathology, Second Series*), divisait primitivement les cancers du rein en deux catégories : les carcinomes à cellules claires et les carcinomes à cellules éosinophiles. En 1986, Les tumeurs corticales, dérivant de l'épithélium des tubules rénaux, ont été regroupées dans la catégorie des tumeurs à cellules rénales malignes et bénignes (1). De nouveaux progrès, grâce notamment à la cytogénétique et à la biologie moléculaire, vont faire évoluer la classification des tumeurs du rein. Celle proposée en 2004 par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en est une première illustration. Elle a permis l'identification de douze types de tumeurs épithéliales rénales différentes (Tableau 1).

En 2016, cette classification OMS a été actualisée après la conférence de consensus de la Société Internationale d'Urologie (ISUP) à Vancouver en 2013. Seize types tumoraux épithéliaux sont alors décrits. Quatre nouvelles entités ont donc été ajoutées (Tableau1). Le carcinome rénal avec translocation de la famille MiTF (CT), déjà évoqué en 2004, est à nouveau cité en 2016. Trois entités émergentes, en cours de reconnaissance, sont également décrites (Tableau1). Ces récentes modifications de 2016 s'appuient sur les données récentes, intéressant notamment les anomalies moléculaires associées aux cancers du rein. Cette classification fait aussi référence aux syndromes génétiques associés à certaines tumeurs rénales.

On mesure ici l'extrême difficulté d'un ordonnancement satisfaisant des tumeurs rénales bénignes ou malignes devant la multiplicité des paramètres à inclure. Cette difficulté s'accroît encore lorsque l'on connaît le caractère souvent instable des tumeurs malignes

avec l'émergence possible de sous-clones. Une classification adéquate est pourtant indispensable pour assurer une prise en charge thérapeutique optimale (2).

Notre travail s'est intéressé plus spécifiquement au carcinome rénal papillaire (CRP), deuxième cancer rénal le plus fréquent après le carcinome rénal à cellules claires (CRCC). Ce sous-type tumoral apparaît lui-même composé de plusieurs entités distinctes (type1, type2, mixte) à la fois sur le plan morphologique, moléculaire et pronostique. Le sous-groupe de type 1 (CRP1) est actuellement le mieux défini. En effet, les CRP non de type 1 présentent des aspects très hétérogènes morphologiques et immunohistochimiques qui sont associés à une multiplicité d'altérations chromosomiques, génétiques et épigénétiques. Il apparaît aujourd'hui nécessaire de refaire le point sur cette entité.

Après avoir fait un rappel des principales données de la bibliographie sur les aspects épidémiologiques, cliniques, histologiques et moléculaires des carcinomes rénaux, notamment des CRP non de type 1 ; nous présenterons une actualisation de la classification de ces cancers épithéliaux (Vancouver 2013, OMS 2016). Certains critères retenus dans cette classification, qui ont permis l'identification de nouvelles entités, nous ont guidés pour tenter de préciser le cadre de définition des CRP non de type 1. Dans ce travail, notre enquête diagnostique a été complétée par une investigation à la recherche de nouveaux facteurs pronostiques.

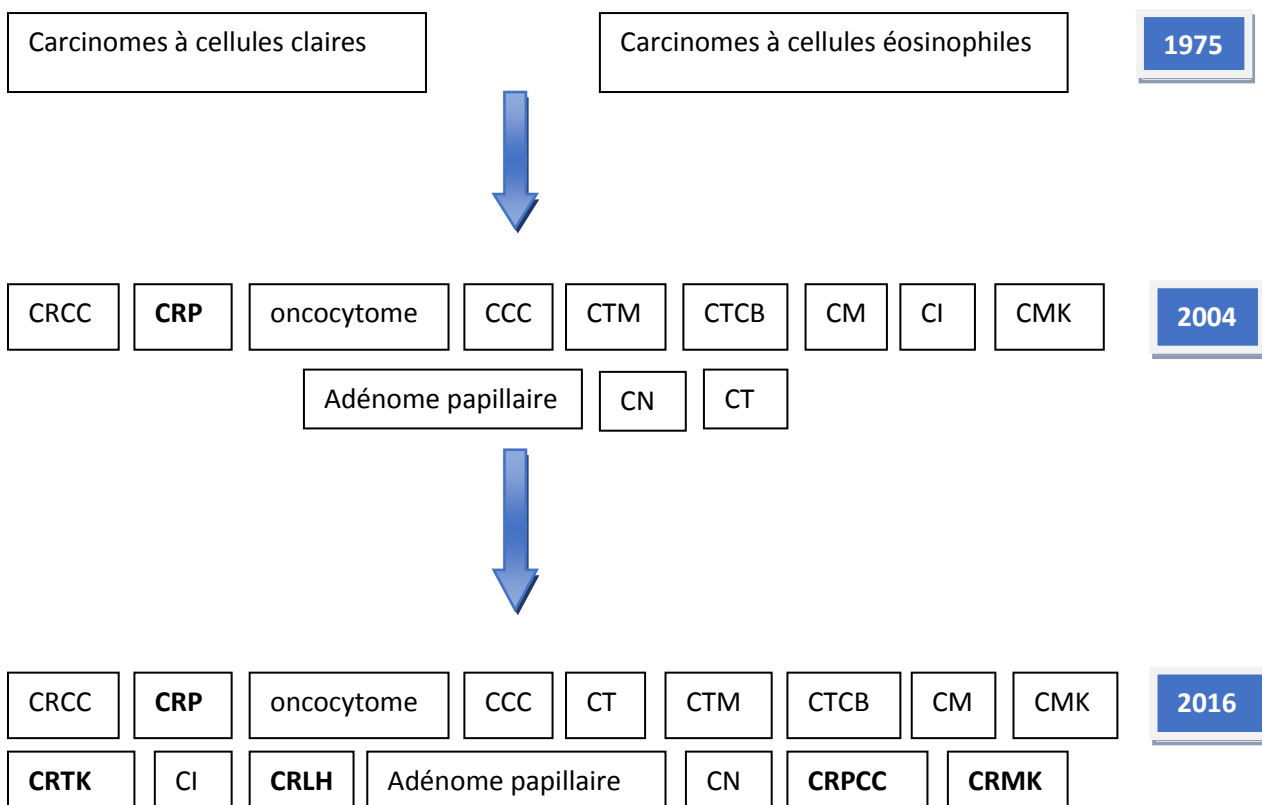


Tableau 1 : Evolution de la classification des carcinomes rénaux épithélias.

En 2004 : carcinomes à cellules claires (CRCC), carcinomes papillaires (CRP), oncocytome, carcinomes à cellules chromophobes (CCC), carcinomes tubuleux et mucineux à cellules fusiformes (CTM), carcinomes des tubes collecteurs de Bellini (CTCB), carcinomes médullaires (CM), carcinomes à translocation de la famille MiTF (CT), carcinomes multiloculaires kystiques à cellules rénales (CMK), carcinomes inclassables (CI), carcinomes liés au neuroblastome (CN), adénomes papillaires.

En 2016 : quatre nouvelles entités sont identifiées outre le CT: carcinome papillaire à cellules claires (CRPCC), carcinome rénal lié au syndrome de léiomyomatose héréditaire (CRLH), carcinome tubulo-kystique (CRTK) et le carcinome lié à la maladie rénale kystique (CRMK).

## 1) Epidémiologie du cancer du rein.

On estime à 384 442, le nombre de nouveaux cas de cancers diagnostiqués en 2015 en France métropolitaine. Parmi ceux-ci, le cancer du rein représente 3% des tumeurs malignes solides chez l'adulte soit plus de 11000 nouveaux cas par an en France, estimés par l'Institut de Veille Sanitaire (InVS) (3). Il présente une incidence géographique

variable. En effet, il est beaucoup plus fréquent en Europe, en Amérique du Nord ou en Australie alors qu'il est plus rare en Inde, au Japon, en Afrique ou en Chine (4).

Le cancer du rein est deux fois plus fréquent chez l'homme que chez la femme. Il s'agit de la neuvième cause de cancer chez l'homme alors qu'il est en quatorzième position chez la femme (5). Il touche, le plus souvent, une population âgée (65 ans en moyenne), mais il peut être diagnostiqué de 15 à 80 ans. Il est plus rarement observé chez l'enfant.

L'incidence des cancers du rein est en constante augmentation depuis une vingtaine d'années dans des pays ou régions comme l'Amérique du Nord, l'Europe ou l'Australie. En effet, 70% des nouveaux cas de cancer du rein observés dans le monde, sont retrouvés dans ces trois zones géographiques, avec notamment, 34% des nouveaux cas en Europe du Nord. La réalisation d'imageries médicales abdominales de plus en plus fréquente, notamment de scanners abdominaux, pour des pathologies variées, serait à l'origine de cette détection accrue dans les pays développés. On note ainsi une augmentation notable de diagnostics fortuits (6). Depuis une dizaine d'années, on observe toutefois une certaine stagnation du nombre de cas, surtout en Europe du Nord. Il faut noter, par ailleurs, qu'ils sont également diagnostiqués à des stades plus précoces, rendant leur prise en charge et leur pronostic meilleurs à ce jour. Néanmoins, une enquête réalisée en 2012, a montré que le cancer du rein était encore à l'origine de plus de 143 000 décès à travers le monde(2).

Les principaux facteurs de risque connus et identifiés du cancer du rein sont le tabagisme, l'obésité, l'hypertension artérielle ou un traitement par dialyse depuis plus de trois ans (Tableau 2). De nouveaux facteurs de risques potentiels ont été décrits plus récemment. Ainsi, le nombre de grossesses chez la femme, l'absence d'activité physique ou

l'exposition à certains agents industriels tels que le trichloroéthylène devraient être aussi pris en compte (7).

Facteurs de risque	Association	Commentaires
Tabac	Positive	Augmente en fonction des paquets-années
Obésité	Positive	Augmente en fonction du BMI
Hypertension artérielle	Positive	Augmente en fonction de la pression artérielle
Dialyse	Positive	Augmente lors de maladie rénale avancée entraînant une hémodialyse
Grossesse	Positive	Augmente en fonction du nombre de grossesses
Activité physique	Inversée	Diminue en fonction de l'activité physique
Exposition trichloroéthylène	Positive	Augmente avec l'exposition au trichloroéthylène

Tableau 2 : les différents facteurs de risque des cancers rénaux (**facteurs de risque établis** et facteurs de risque suspectés).

Les cancers rénaux, notamment le carcinome papillaire sont, pour la plupart, sporadiques mais il existe aussi des formes rares de cancers rénaux liées à une prédisposition génétique. On parle alors de formes héréditaires ou familiales qui représentent environ 2% des cancers du rein. Différentes anomalies génétiques germinales ont été décrites dans ces formes familiales (tableau 3). Nous en retiendrons deux pour leurs relations avec le CRP1 et le CRP2.

Le carcinome papillaire héréditaire est lié à la mutation activatrice du proto-oncogène *MET* entraînant le développement de nombreux carcinomes papillaires de type 1 (CRP1) souvent bilatéraux. Il s'agit d'une maladie génétique autosomique dominante, à pénétrance réduite (8). Cependant ce type d'anomalie du gène *MET* a été également

décrite pour certains CRP sporadiques (9). Il existe aussi, des carcinomes rénaux liés au syndrome de léiomyomatose héréditaire. Ce syndrome, autosomique dominant, est induit par la mutation du gène *FH* codant la fumarate hydratase. Il est associé à la présence de nombreux léiomyomes cutanés ou utérins mais aussi de carcinomes papillaire présentant un aspect de type 2, d'évolution agressive (Tableau 3) (10).

Pathologies génétiques	Anomalies génétiques	Transmission	Conséquences rénales
Von Hippel Lindau	Inactivation du gène suppresseur de tumeur <i>VHL</i>	Autosomique dominant	Nombreux carcinomes rénaux à cellules claires (CRCC)
Carcinomes papillaires héréditaires	Mutation activatrice du proto-oncogène <i>MET</i>	Autosomique dominant	Nombreux CRP1
Syndrome de léiomyomatose héréditaire	Mutation du gène <i>FH</i>	Autosomique dominant	Nombreux CRP, aspect de type2
Birt Hogg Dubé	Mutation du gène <i>BDH</i>		Tumeurs rénales bilatérales, oncocytomes, chromophobes, CRCC, tumeurs hybrides, CRP possible
Carcinomes déficients en SDH	Mutation du gène qui code pour enzymes du cycle de Krebs ( <i>SDHB/C/D</i> )	Autosomique dominant	SDHB : tumeurs rénales kystiques, tubuleuses ou solides, éosinophiles
Syndrome de Lynch	Mutation des gènes de réparation ( <i>MMR</i> )	Autosomique dominant	Carcinome urothéliaux
Syndrome des tumeurs hamartomateuses liées à <i>PTEN</i>	Mutation du gène suppresseur de tumeur <i>PTEN</i>		Nombreux CRP

Tableau 3 : Récapitulatif des principales formes héréditaires ou familiales de tumeurs rénales

## **2) Données cliniques et radiologiques du carcinome papillaire du rein.**

Il s'agit donc du deuxième cancer rénal le plus fréquent après le carcinome à cellules claires du rein (CRCC), il représente 10 à 20% des carcinomes rénaux (2). Il est très fréquemment retrouvé lors d'un contexte d'insuffisance rénale terminale. Le carcinome rénal papillaire (CRP) a été individualisé, pour la première fois, en 1976 par *Mancilla-Jimenez et al* (11). Il s'agissait d'une entité nouvelle, distincte du reste des autres carcinomes rénaux, avec une histologie et une description radiologique propres.

C'est 20 ans plus tard, que *Delahunt et al* (12) caractériseront des différences à la fois morphologiques et pronostiques au sein des CRP. Ils proposeront de subdiviser ceux-ci en deux catégories : les carcinomes papillaires de type 1 (CRP1) et les carcinomes papillaires de type 2 (CRP2).

### **a) Aspects cliniques.**

Le plus souvent les tumeurs rénales et notamment le CRP, sont diagnostiquées de façon fortuite lors d'une imagerie abdominale (environ 25% des cas) car elles sont majoritairement pauci-symptomatiques. L'OMS indique même qu'environ 50% des CRP sont asymptomatiques.

Les cancers rénaux peuvent aussi se manifester par une hématurie, une fatigue, une perte de poids, des douleurs lombaires avec même parfois la présence d'un contact lombaire palpable. La triade clinique associant hématurie, douleurs lombaires et contact lombaire est présente chez 10% des patients, le plus souvent à un stade avancé de la maladie (13).

### **b) Aspects radiologiques**

Il est parfois difficile de distinguer les différentes tumeurs rénales sur les simples données de l'imagerie. Le CRP est une tumeur du cortex rénal qui peut être multifocale. Il

présente un aspect morphologique et radiologique similaire à celui de l'adénome papillaire qui est une tumeur bénigne fréquente de moins de 15mm (6). Les critères de taille et de bonne limitation tumorale par une capsule sont donc des éléments utiles de distinction.

On sait que le CRP présente souvent une plus petite taille que le CRCC et qu'il est régulièrement plus homogène en imagerie que ce dernier. Le CRP, connu comme étant moins bien vascularisé que le CRCC, s'associe à une prise de contraste plus faible voire inexistante au scanner (Figure 1). *Wang et al* (14), ont mis en évidence que cette différence de « rehaussement » au scanner était directement proportionnelle à la vascularisation intra-tumorale, plus importante dans le CRCC (Figure 2) que dans le CRP. Au scanner, le CRP, hypovascularisé, présentera donc une absence ou une faible prise de contraste à la phase corticomedullaire ou excrétrice alors que le CRCC présentera une prise de contraste intense à la phase corticomedullaire. En IRM, le CRP est repéré par une pseudocapsule avec un signal de faible intensité en T1 et T2 (6).

Une absence de prise de contraste s'observe également dans d'autres types de carcinomes, c'est le cas des carcinomes chromophobes (CCC) qui peuvent donc poser un problème diagnostique en imagerie. Cependant les plages de nécrose ou d'hémorragies souvent présentes dans un CRP, peuvent lui donner un aspect légèrement hétérogène avec de possibles zones de prise de contraste. Cela peut permettre de faire la différence entre un CRP et un CCC qui lui restera d'aspect régulièrement homogène.



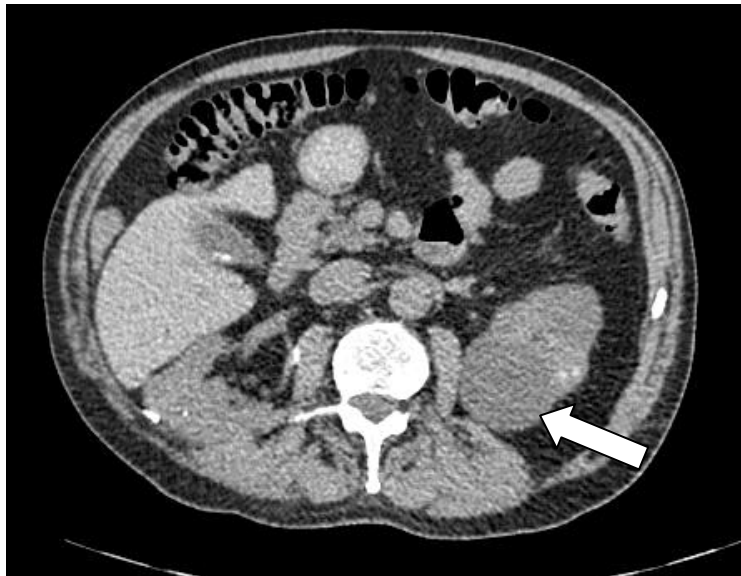


Figure 1 : aspect radiologique homogène, bien limité, hypodense au scanner non injecté d'un carcinome papillaire de type 1.



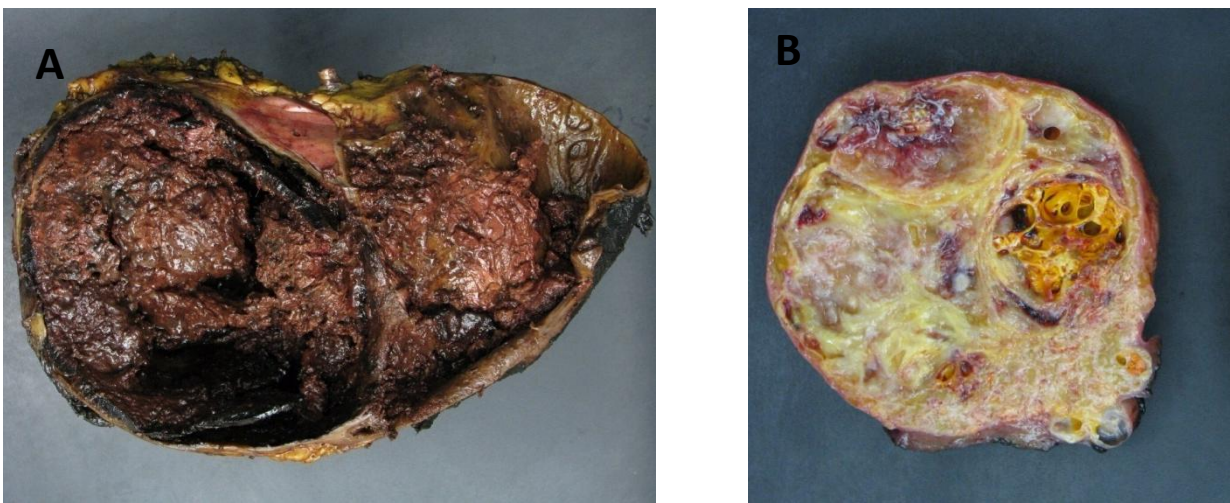
Figure 2 : aspect radiologique hétérogène hyperdense au scanner sans injection d'un carcinome rénal à cellules claires (CRCC).

Par contre, il n'est pas possible en imagerie de faire la différence de façon certaine entre les sous-groupes de CRP. Yamada *et al* (15), ont néanmoins évoqué le fait que le CRP2 serait plus volumineux et souvent détecté à un stade plus avancé. Son caractère, parfois hétérogène, avec des zones de nécroses et la présence d'un thrombus de la veine rénale serait ici plus fréquent. Le CRP1, quant à lui, serait plutôt homogène, de petite taille et bien limité.

### 3) Données anatomopathologiques du carcinome papillaire du rein.

#### a) Macroscopie.

Le CRP se définit macroscopiquement par une lésion de taille variable le plus souvent bien limitée et toujours encapsulée. Il doit mesurer au minimum 16 mm, sinon il s'agit d'un adénome papillaire selon la nouvelle classification OMS 2016. Il peut être unique ou multiple. Il est fréquemment solide, plus rarement kystique (16). Il présente un aspect friable avec une nécrose abondante souvent individualisée en macroscopie (Figure3).



*Figure 3 : aspect macroscopique, A : carcinome papillaire de type 2 nécrosé, B : autre aspect de carcinome papillaire*

En dessous de 15 mm et en l'absence de capsule fibreuse, il s'agit, selon la nouvelle classification de l'OMS 2016, d'un adénome papillaire (2). En effet, dans la précédente classification (OMS 2004), la taille maximale de l'adénome papillaire était de 5 mm, en l'absence d'une capsule. Au-delà ou en présence d'une capsule, quelque soit la taille, on évoquait alors le CRP. Plusieurs études ont mis en évidence, par la suite, que cette lésion de petite taille, de bas grade, jusqu'à une taille de 15mm, n'entraînait jamais de métastase. L'adénome papillaire est donc une tumeur à faible potentiel de malignité, de moins de 15mm, non encapsulée, qui ne peut être assimilé à un CRP.

## **b) Microscopie.**

Selon les critères de définition initialement retenues, le CRP doit présenter une architecture papillaire ou tubulo-papillaire étendue sur au moins 75% de sa surface tumorale. Il est constitué de papilles fines avec des axes conjonctivo-vasculaires étroits.

**Trois types de cancers papillaires du rein sont actuellement décrits (12):**

- **Type 1** (environ 60% des CRP): La présentation est souvent multifocale avec une architecture tubulo-papillaire. Il s'agit d'une lésion bien limitée par une capsule continue et mince. Les papilles fines sont revêtues d'un épithélium unistratifié avec des noyaux alignés au pôle basal. Il n'y a pas de stratification nucléaire. Les noyaux sont ronds, petits et peu atypiques. Les cellules sont petites, cubiques ou cylindriques au cytoplasme souvent basophile ou parfois clarifié. Des histiocytes spumeux (17) ou des psammomes calcifiés sont fréquemment individualisés. La nécrose de type ischémique est souvent présente. Le grade nucléolaire est égal à 1 ou 2 le plus souvent (annexe 1). L'étude immunohistochimique conventionnelle montre un marquage cytoplasmique avec les anticorps anti-CK7 (dans 80% des cas) et anti-racémase (AMACR). Les marquages avec les anticorps anti-CD10 et anti-vimentine (18,19) sont également positifs (Figure 4).



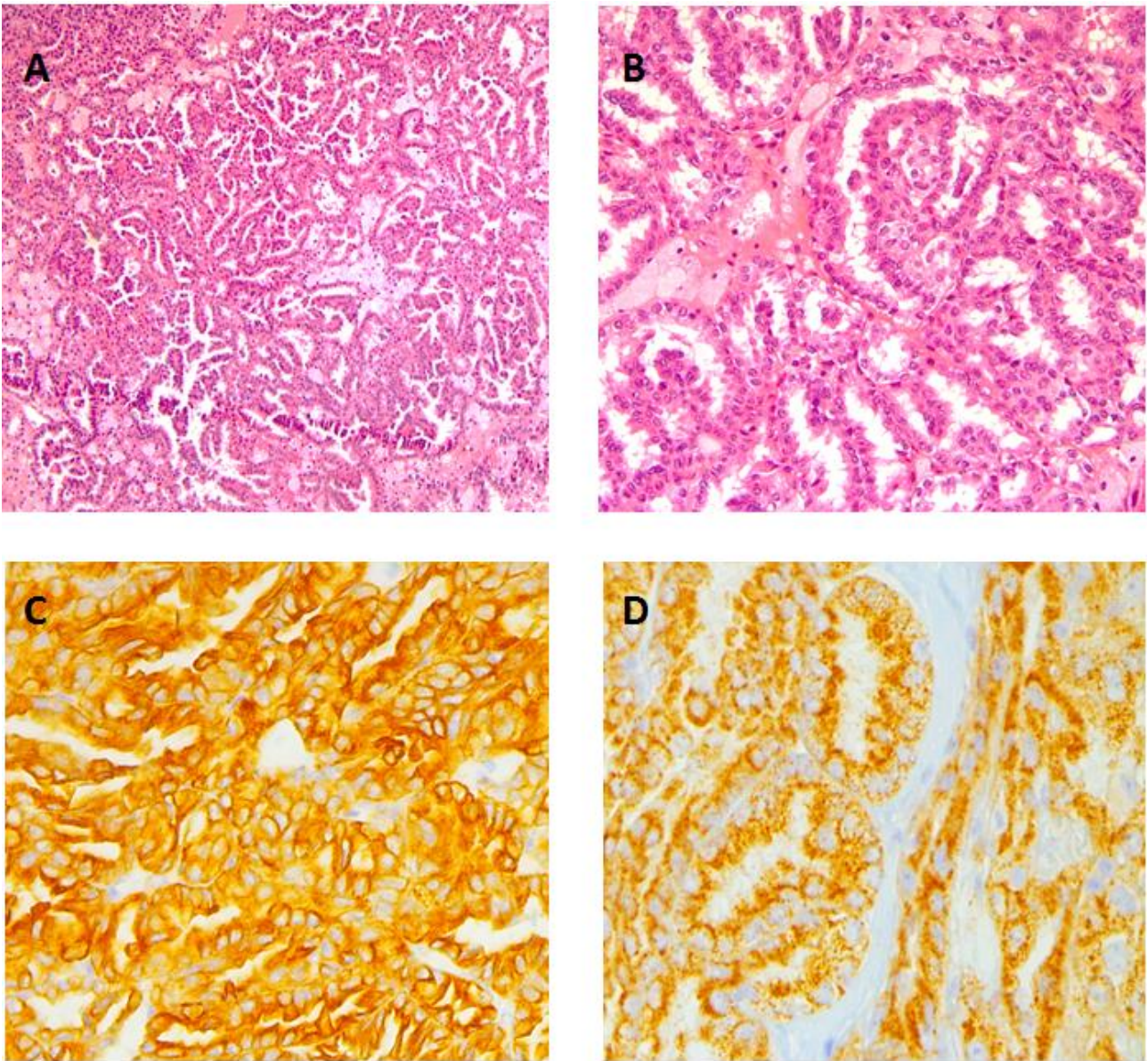


Figure 4 : carcinome papillaire de type 1, A : HES grossissement x10, B : HES x20, C : anticorps anti-CK7 x40 et D: anticorps anti-racémase x40

- **Type 2** (environ 30% des CRP) : Lésion limitée par une capsule épaisse ou discontinue. Les papilles sont parfois plus larges, recouvertes de grandes cellules tumorales cylindriques au cytoplasme le plus souvent éosinophile. Il existe des stratifications nucléaires, avec des noyaux plus volumineux, vésiculeux et des nucléoles proéminents (Figure 5). La nécrose observée dans le CRP2 présente souvent un aspect de nécrose tumorale. Le grade nucléolaire est fréquemment plus élevé que pour les CRP1, souvent supérieur ou égal à 3 (annexe 1). Une différenciation sarcomatoïde, qui sera décrite



ultérieurement, est retrouvée dans 5% des cas. Le marquage avec l'anticorps anti-CK7 est positif dans seulement 20% des cas. Celui obtenu avec l'anticorps anti-Topoisomerasell serait positif dans 90% des cas (20). Dans la littérature, le CRP2 est considéré comme étant de plus mauvais pronostic que le CRP1 avec un risque accru de rechute loco-régionale et métastatique (21). La survie globale serait de 80% pour le CRP1 contre 59% pour le CRP2 (22).

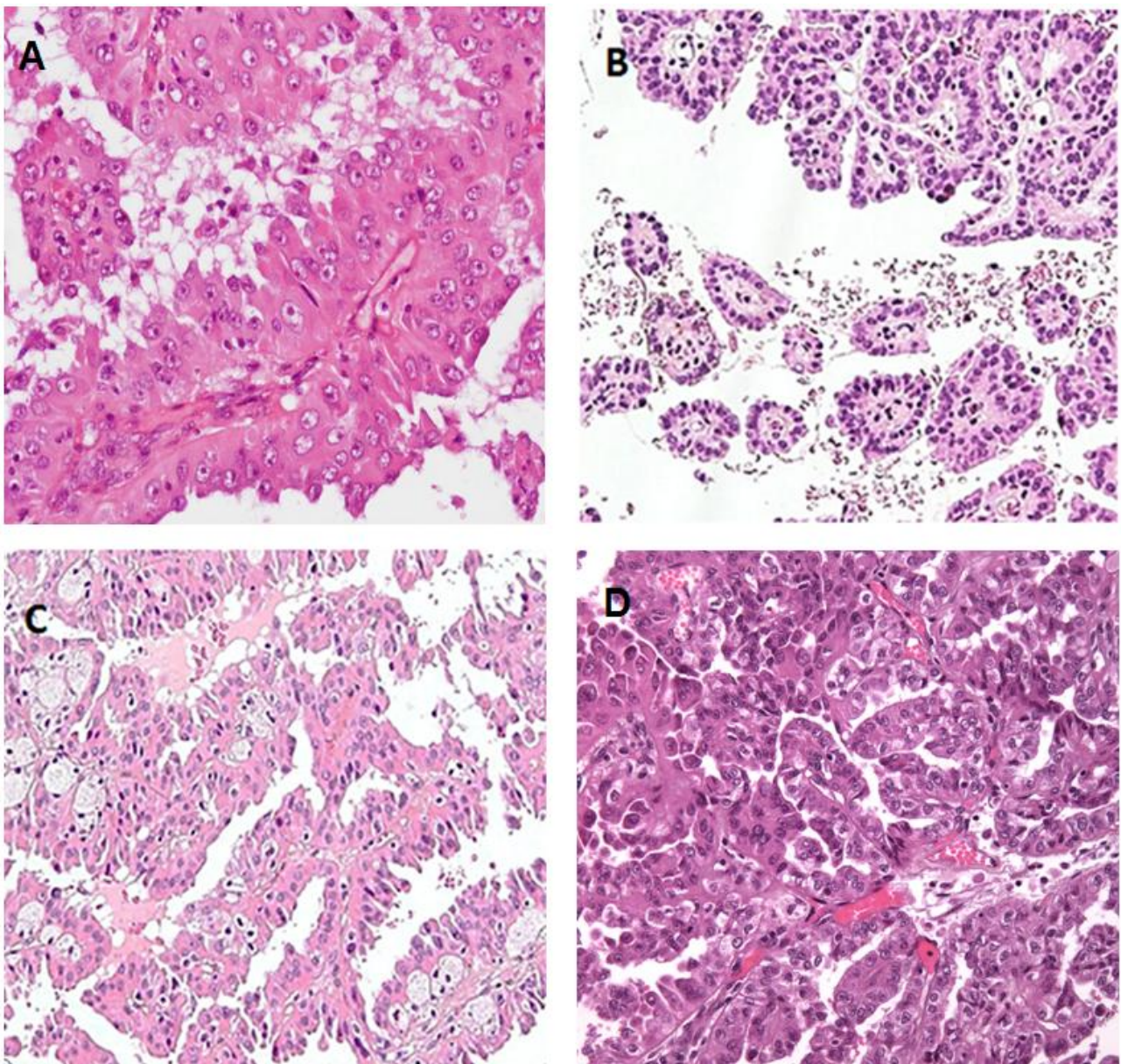


Figure 5 : carcinome papillaire de type 2, A : HES grossissement x40, B : HESx10, C : HES x20 et D : HES x20



- **Mixte** : Il peut être difficile de classer un CRP en type 1 ou 2. On peut utiliser le terme de carcinome papillaire mixte (CRP mixte) lorsque les deux types 1 et 2 sont présents au sein de la même lésion. Ce contexte représente environ 10% des diagnostics de CRP. Il n'existe pas de marqueurs immunohistochimiques permettant de différencier de façon certaine les deux types de CRP (Figure 6).

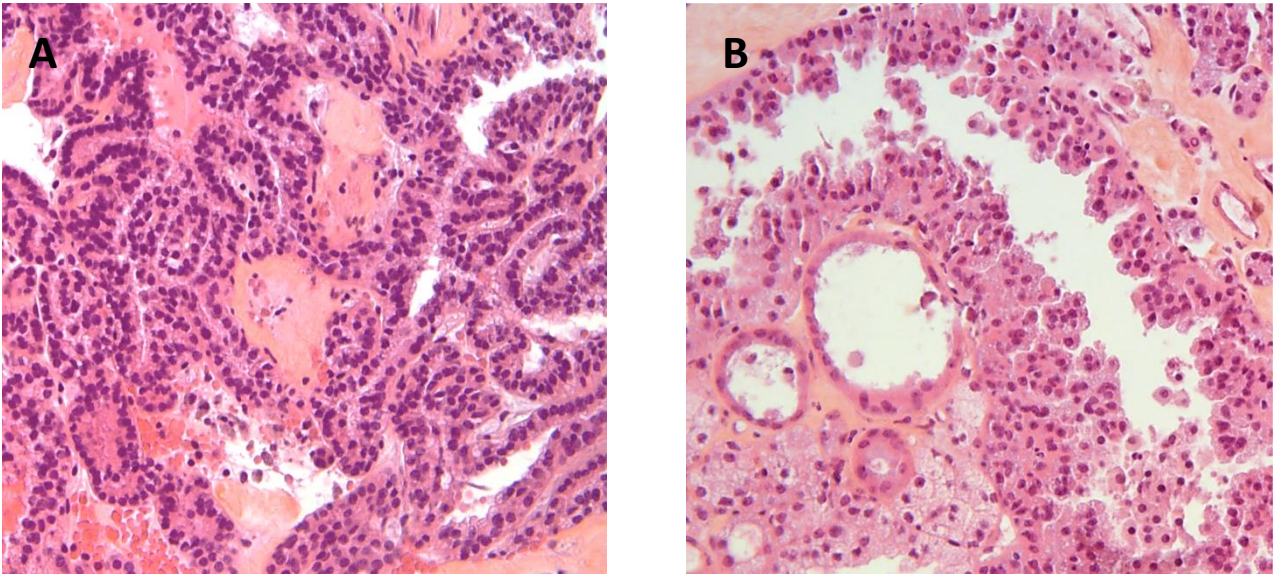


Figure 6 : carcinome papillaire mixte, A : HES zone type 1 x20, B : HES zone type 2 x20

#### **Autres variants de carcinomes papillaires :**

- Le carcinome papillaire solide (23) est un variant rare de CRP1. Il présente une architecture compacte solide constituée de massifs sans papilles individualisées avec les caractéristiques immunohistochimiques comparables aux CRP. Les cellules tumorales ont souvent un cytoplasme abondant éosinophile, une chromatine fine avec parfois un nucléole proéminent. Les atypies cytonucléaires sont rares. Il existe un immunomarquage des cellules tumorales avec l'anticorps anti-EMA ou anti-CK7. Cette tumeur possède également les caractéristiques chromosomiques retrouvées dans les CRP, ce qui peut apporter une aide au diagnostic. On note, en effet, la présence d'une trisomie du chromosome 7, 17 ou les deux. Il aurait une évolution indolente sans récurrence métastatique.

- Le carcinome papillaire oncocytaire (24) présente une architecture majoritairement papillaire avec de grandes cellules cylindriques au cytoplasme abondant éosinophile granuleux. Les stratifications nucléaires sont rares avec des noyaux ronds, nucléolés (Figure 7). L'étude immunohistochimique met en évidence un marquage positif avec l'anticorps anti-CK 7, anti-EMA, anti-racémase et anti-CD10. L'évolution pronostique de ce variant est encore mal définie. Certaines études évoquent une évolution indolente, d'autres décrivent une évolution pronostique plutôt proche de celle des CRP2.

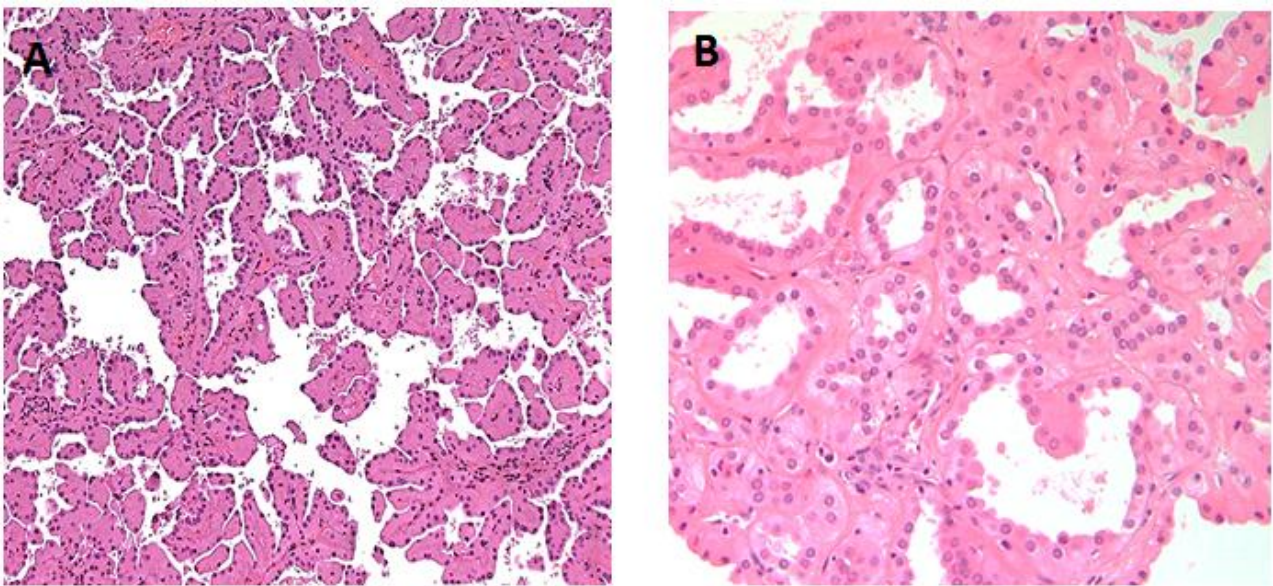


Figure 7 : carcinome papillaire oncocytaire, A : HES x10, B : HES x20

- Le carcinome papillaire à cellules claires (25,26), illustré dans la figure 8, n'est plus jugé aujourd'hui comme un variant des CRP. En effet, il est décrit désormais comme une entité à part entière depuis la conférence de consensus de 2013 de Vancouver (ISUP). Nous reviendrons par la suite sur ce changement de classification (27,28) (Tableau 4).



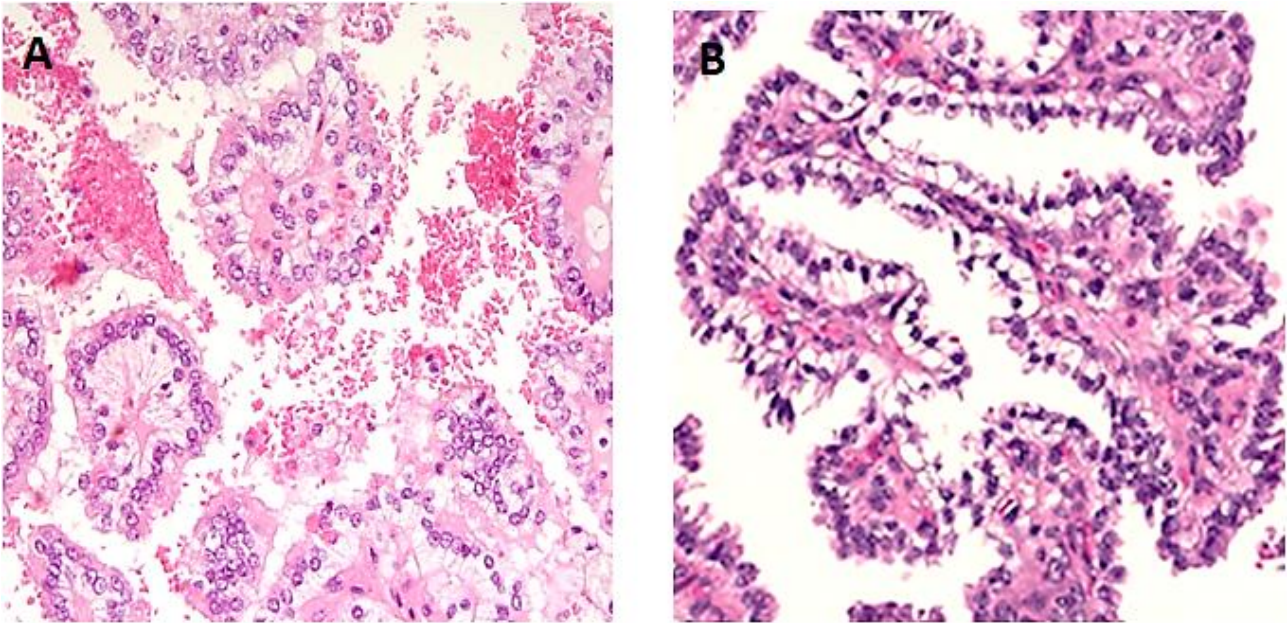


Figure 8 : carcinome papillaire à cellules claires, A : HES x20, B : HES x20

#### **4) Profils chromosomiques et anomalies moléculaires du carcinome papillaire du rein.**

S'il existe des formes familiales ou héréditaires de CRP bien documentées (Tableau 3), les anomalies génétiques acquises, décrites dans les formes sporadiques de CRP, sont multiples et souvent complexes (29).

Différentes altérations chromosomiques acquises sont aujourd'hui identifiées dans les CRP sporadiques. Ainsi, l'implication des chromosomes 7, 17, 3, 8, 12, 16 ou 20 a été évoquée dans la littérature. Pour le CRP1, on retrouve fréquemment un gain intéressant le chromosome 7 (80%) et des altérations affectant les chromosomes 12, 16 et/ou 17 avec une possible perte du chromosome Y. Un article met en exergue le fait que le gain intéressant le chromosome 17 concernerait 100% des CRP1 (18). Dans ce même contexte de CRP1, les altérations du gène *MET*, associées à un gain du chromosome 7, seraient retrouvées dans 81 % des cas (29). Le gain du chromosome 7 serait même considéré comme un événement promoteur de la carcinogénèse dans le cadre des CRP, notamment le CRP1. Bien que ce gain soit associé à la surexpression du proto-oncogène



*MET* (30), d'autres gènes, présents sur le chromosome 7, tel que le gène *EGFR*, pourrait alors aussi être impliqués dans la tumorigénèse des CRP (18,20). Dans une enquête récente, l'évaluation du nombre de copies chromosomiques au sein des cellules transformées, révèle trois profils distincts. Un premier sous-groupe rassemble surtout des CRP1 et des CRP2 de bas grade (multiples gains incluant presque systématiquement les chromosomes 7 et 17 ; plus rarement les chromosomes 2, 3, 12, 16 et 20). Les 2 autres sous-groupes sont principalement des CRP2. L'un d'eux a peu de copies altérées ; l'autre présente un haut degré d'aneuploïdie (délétion 9p ,notamment) avec un taux de survie plus faible (29).

Le processus tumoral est lié, le plus souvent, à l'accumulation acquise d'événements génétiques et épigénétiques dans les cellules transformées. La réalisation d'une "carte d'identité moléculaire tumorale" évaluant l'altération des gènes (structure et régulation de l'ADN) et de leur expression (ARNm et protéines) serait précieuse pour mieux appréhender l'origine du processus tumoral et de son développement. Cependant, l'existence d'événements promoteurs oncogènes communs est rarement retrouvée dans les CRP (30,31). Dans 25% des cas, de multiples mutations récurrentes sont décrites pour 5 gènes : *MET*, *SETD2*, *NF2*, *KDM6A*, *SMARCB1* (annexe 3). Des études complémentaires ont permis de cibler la mutation de 6 autres gènes : *BAP1*, *STAG2*, *FAT1*, *PBRM1*, *NFE2L2*, *TP53* (annexe 3). Dans 36% des cas , l'un de ces 6 gènes, au moins, était concerné (29). La fusion des gènes *TFE3/TFEB* ou la fusion de chacun de ces gènes (*TFE3* ou *TFEB*) avec d'autres "partenaires" ont aussi été mises en évidence dans les CRP (*TFE3/PRCC*; *TFEB/CADM2*...). La fusion *TFE3/TFEB*, décrite initialement dans les CRP2 a ensuite été intégrée dans une classe tumorale distincte : les carcinomes rénaux avec translocation de la famille MiTF (Tableau 4).

Devant le caractère très disparate des anomalies moléculaires identifiées, certains regroupements ont permis néanmoins de singulariser des caractéristiques se rapportant plus spécifiquement au CRP non de type 1. Pour ceux-ci, les éventuels événements oncogènes impliqués sont souvent difficiles à décrypter. De nombreuses altérations génétiques différentes ont été décrites dans ce cadre (25,27) :

- Des altérations affectant le gène *CDKN2A* ont été identifiées dans 25% des cas de CRP2. Celles-ci ont une incidence sur le contrôle du cycle cellulaire. Un tel contexte est associé à un mauvais pronostic avec une diminution de la survie globale chez ces patients, comparée à celle des CRP ne présentant pas ces altérations.
- Des altérations affectant les gènes *SETD2*, *BAP1* et *PBMR1* (mutations associées parfois à une perte chromosomique en 3p, vue classiquement dans les CRP2). Ces gènes sont impliqués dans le remodelage de la chromatine. Ces anomalies sont retrouvées dans les CRP2 mais aussi dans les CRCC.
- Différents événements affectant les processus de méthylation ont été décrits. Un phénotype méthylateur des îlots CpG ou "CIMP" a été mis en évidence dans les CRP2 (5%). Ce phénotype est associé à une hyperméthylation de nombreux loci normalement non-méthylés. Dans l'étude déjà évoquée, 55% des cas étudiés présentaient une mutation du gène *FH*. Le déficit en FH entraîne alors une accumulation de fumarate qui a des conséquences néfastes sur le contrôle des processus de méthylation de l'ADN. Ces quelques cas représenteraient une entité à part. En effet, leur survenue serait plus précoce et leur pronostic plus défavorable parmi les CRP2.
- Une activation de la voie NRF2-ARE, impliquée dans une réponse anti-oxydante a aussi été décrite dans les CRP2. Cette activation est liée à des mutations de gènes (*CUL3*, *NFE2L2*, *KEAP1* et *SIRT1*). Ces mutations ont été corrélées à une expression accrue du gène activé *NQO1* impliqué dans la voie NRF2-ARE. Une

augmentation d'expression de *NQO1* serait aussi un marqueur de mauvais pronostic.

L'étude chromosomique et génomique qui permet de cibler d'éventuels événements oncogènes dans le cadre des CRP sporadiques met en évidence le fait que CRP1 et CRP2 sont des entités finalement très différentes (32). Le CRP2 se distingue particulièrement par une cartographie tumorale très diversifiée avec de nombreux sous-types aux évolutions cliniques très variables (33,34).

Outre leur intérêt diagnostique et pronostique, l'identification des réarrangements génétiques observés dans les CRP pourrait permettre de mieux appréhender les mécanismes moléculaires et cellulaires en cause dans le processus tumoral. Ainsi, elle conduirait à un meilleur ciblage d'éventuels processus correctifs dans une perspective thérapeutique personnalisée.

## **5) Les diagnostics différentiels du carcinome papillaire rénal.**

Les difficultés diagnostiques, dans le cadre des cancers rénaux, sont d'autant plus grandes que nombre de processus tumoraux bénins ou malins présentent des similitudes morphologiques avec les CRP. Nous évoquerons ici certains contextes clinico-pathologiques qui méritent d'être discutés.

### ➤ L'adénome papillaire :

Il s'agit d'une lésion fréquente dans la population générale mais qui prédomine chez les patients insuffisants rénaux chroniques hémodialysés. Sur le plan histologique, elle n'est pas encapsulée, avec une architecture papillaire ou tubulo-papillaire, dont le diamètre est inférieur à 15mm depuis la nouvelle classification OMS 2016 (2). Préalablement, la taille

maximale de l'adénome papillaire était de 5mm (OMS 2004). Le pléomorphisme nucléaire est minime, sans figure de mitose. Le profil immunohistochimique est identique aux carcinomes papillaires. L'adénome papillaire est une tumeur de faible potentiel de malignité, de bas grade selon la nouvelle classification de l'OMS 2016. Il s'agit donc, à travers ces critères de taille et de défaut d'encapsulation, d'une modification importante par rapport aux caractéristiques initiales attribuées aux tumeurs rénales et notamment aux CRP.

➤ *Carcinome tubulo-papillaire à cellules claires :*

C'est une tumeur épithéliale qui représente 1 à 4% des tumeurs rénales. Elle touche des patients de 18 à 88 ans, sans prédominance masculine ou féminine. Elle peut être sporadique, dans le cadre d'une insuffisance rénale terminale ou apparaître dans le syndrome de Von Hippel Lindau (Tableau 3). Cette entité était autrefois considérée comme un variant des CRP. Cependant, en 2013, lors de la conférence de Consensus de Vancouver, elle est devenue une entité à part entière. Son pronostic diffère par rapport aux autres CRP, avec notamment une évolution qui serait plus indolente. Sur le plan histologique, il s'agit d'une lésion d'architecture tubuleuse, papillaire ou tubulo-papillaire intéressant plus de 50% de la lésion. Les cellules tumorales sont homogènes souvent clarifiées. Le grade nucléolaire ISUP est souvent bas (grade 1 ou 2). Le marquage obtenu avec les anticorps anti-CK7 et anti-CAIX est positif alors que celui obtenu avec l'anticorps anti-racémase est strictement négatif (Tableau 4).

➤ *Le carcinome à cellules claires avec composante papillaire :*

Le CRCC est le plus fréquent. Il représente 70% des cancers du rein. Il est souvent d'origine sporadique. Il peut cependant s'intégrer dans certaines affections héréditaires comme la maladie de Von Hippel Lindau (Tableau 3). Il est le plus souvent solide, parfois

kystique. En microscopie, il s'agit majoritairement d'une architecture en plages et/ou en nappes de cellules de grande taille au cytoplasme clarifié optiquement vide. Les noyaux sont ronds parfois nucléolés. La vascularisation est abondante constituée de nombreux capillaires. Cette tumeur peut parfois présenter une architecture papillaire. Celle-ci doit constituer moins de 50% de la lésion pour que l'on puisse évoquer le carcinome à cellules claires avec composante papillaire. En effet, si l'architecture papillaire représente plus de 50% de la lésion, il s'agit alors du carcinome papillaire à cellules claires, préalablement cité.

➤ Les carcinomes avec translocation de la famille MiTF (TFE3 ou TFEB):

C'est une tumeur peu fréquente touchant préférentiellement des patients jeunes d'environ 30-40 ans. Elle peut cependant être également retrouvée chez des patients plus âgés (70-80 ans). La cytotoxicité de certaines chimiothérapies augmenterait le risque de développer ce type de tumeur. Sur le plan histologique, il est difficile de distinguer les différents carcinomes avec translocation MiTF, qui peuvent avoir des morphologies très variées. Le plus souvent, ils se présentent sous la forme d'une lésion d'architecture papillaire constituée de cellules tumorales épithélioïdes ou clarifiées avec de nombreux psammomes. On peut parfois retrouver de la mélanine au sein de la lésion lorsque le gène TFE3 est affecté. Un marquage avec les anticorps anti-HMB45 ou anti-MelanA peut donc être positif (2). On peut également utiliser l'anticorps anti-TFE3 qui mettra en évidence un marquage nucléaire intense et diffus lorsqu'il s'agit d'un carcinome avec translocation Xp11. L'analyse par hybridation in situ en immunofluorescence (FISH) peut être réalisée dans un deuxième temps pour confirmer la translocation. Le pronostic est le même que pour les carcinomes à cellules claires mais il est généralement plus péjoratif que pour les carcinomes papillaires (Tableau 4).

➤ Adénome métanéphrique :

Il s'agit d'une entité rare et bénigne qui se développe chez des patients d'environ 50-60 ans, plutôt de sexe féminin. Sur le plan histologique, il peut présenter une architecture papillaire (50%) ce qui rend parfois le diagnostic différentiel difficile vis-à-vis du CRP. Il est, le plus souvent, très cellulaire, composé de tubes ou d'acini constitués de cellules de petite taille, homogènes avec un stroma œdémateux. Les figures de mitose sont rares. L'anticorps anti-WT1 montre un marquage nucléaire diffus et le gène *B-Raf* est fréquemment muté.

➤ Autres nouvelles entités ISUP 2013:

D'autres nouvelles entités, comme le carcinome papillaire à cellules claires, ont été décrites lors de la conférence de consensus de Vancouver. Il s'agit des carcinomes rénaux associés au syndrome de leiomyomatose héréditaire ou encore, des carcinomes rénaux déficitaires en SDH. Ces entités peuvent également présenter une architecture papillaire avec néanmoins un pronostic et une évolution clinique différente des CRP. (Tableau 4)

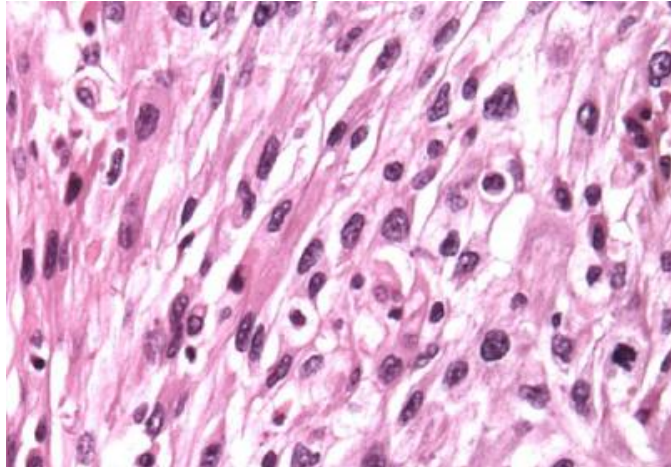
## 6) Les facteurs pronostiques

Le CRP présente un pronostic différent selon le sous-type considéré. En effet, certains CRP, ayant une présentation multifocale, comme le CRP1 auront une évolution plus favorable alors que d'autres avec une présentation de tumeur unique, comme certains CRP2 pourront avoir une progression plus agressive.

La première description précise de facteurs pronostiques dans le cancer du rein a été proposée en 1997 par *Srigley et al* (35). Dans cette évaluation, la morphologie tumorale, le

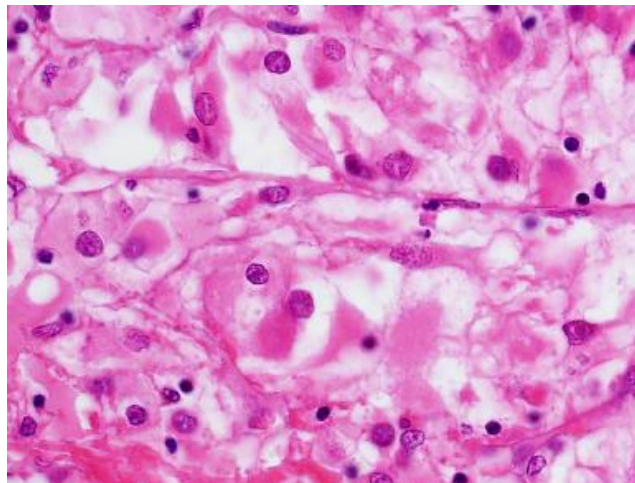
grade et la présence d'un contingent sarcomatoïde, décrit ci-après, étaient les seuls paramètres histologiques pronostiques utilisés en pratique. Ceux-ci présentaient toutefois quelques limites devant la faible variété morphologique proposée et une classification établie restreinte aux seuls critères de bas ou haut grade (27). Depuis cette date, de nouveaux critères ont été proposés pour établir le degré de gravité du CRP. On peut citer, après le grade de Fuhrman, le grade nucléolaire ISUP que nous évoquerons plus loin (annexe 1). La conférence de consensus en 2013, a permis de faire le point sur ces différents facteurs pronostiques:

- **Le morphotype tumoral** : la définition du morphotype tumoral serait un premier élément à prendre en compte pour établir un pronostic. En effet, il a été admis lors de cette conférence de consensus que le CRCC serait, par exemple, de moins bon pronostic que le CRP. Le CRP2 aurait, quant à lui, un pronostic plus péjoratif que le CRP1 (36). Par contre, le CRP à cellules claires serait de meilleur pronostic.
- **La différenciation sarcomatoïde** : il s'agit d'une différenciation de cellules tumorales en cellules fusiformes, pléomorphes avec des atypies cytonucléaires souvent marquées (Figure 9). Elle correspond à un grade nucléolaire 4 ISUP (annexe 1). Elle peut être retrouvée dans tous les types tumoraux. Elle est présente dans environ 5% des CRP. Elle peut être focale, mais doit toujours être notifiée dans le compte rendu anatomopathologique. Lorsqu'elle est présente, le pronostic est défavorable avec une survie de 4 à 9 mois après le diagnostic (37).



*Figure 9 : Contingent sarcomatoïde sur lame après coloration HES (x40)*

- **La différenciation rhabdoïde** : Il s'agit d'une différenciation des cellules tumorales en cellules volumineuses, cohésives, épithélioïdes avec des inclusions intracytoplasmiques éosinophiles. Les noyaux sont excentrés, de grande taille, irréguliers avec un nucléole proéminent (Figure 10). Comme la différenciation sarcomatoïde, elle peut être présente dans tous les types tumoraux. Elle est synonyme de mauvais pronostic et doit être précisée dans le compte rendu par la notification d'un pourcentage au sein de la lésion (38).



*Figure 10 : Contingent rhabdoïde sur lame après coloration HES (x40)*

- **La nécrose** : elle est fréquemment présente dans les carcinomes épithéliaux rénaux (27 à 31%), notamment dans 32 à 40% des CRP (39). La nécrose serait



corrélée à la taille tumorale. Elle a été décrite comme un facteur de mauvais pronostic uniquement pour les CRCC. En effet, les CRP, souvent mal vascularisés peuvent présenter une nécrose dont la valeur pronostique mérite d'être réévaluée, notamment pour les CRP non de type 1.

- **Le grade nucléolaire (*ISUP grading system*)** (40) : en 2013, la conférence de consensus de Vancouver organisée par la Société Internationale de Pathologie Urinaire, a permis de valider un nouveau système de classification. Celui-ci prenait en compte l'analyse nucléolaire des tumeurs épithéliales rénales : il s'agit de l'*ISUP grading system*. En effet, l'utilisation préalable du grade de Fuhrman, basée sur la taille et la forme nucléaire associées à la présence d'un nucléole proéminent, était décrite par certains auteurs comme obsolète, peu reproductible et faiblement corrélée au pronostic (41,42). De ce fait, un nouveau système permettant de « grader » les tumeurs rénales a donc été mis en place avec la seule appréciation de la présence et de la taille du nucléole (sauf pour le grade 4). Le grade nucléolaire n'est applicable que pour le CRCC et le CRP. Plus le grade nucléolaire est élevé, plus le pronostic est alors décrit comme péjoratif, dans la littérature.

L'*ISUP grading system* est divisé en 4 grades :

- Grade 1 : absence de nucléole au grossissement x40
- Grade 2 : présence d'un nucléole visible au grossissement x40 mais non visible au grossissement x10
- Grade 3 : présence d'un nucléole visible au grossissement x10
- Grade 4 : pléomorphisme nucléaire, cellules tumorales géantes multinuclées, contingent sarcomatoïde ou rhabdoïde

- **Le stade TNM 8eme édition (43)** : cette dernière édition TNM permet de déterminer un stade pour les carcinomes rénaux, selon le stade *pT*. Plus ce stade est élevé, plus le pronostic sera péjoratif (annexe 2).
- **L'invasion microvasculaire** : la conférence de consensus de l'ISUP n'a pas retenu ce paramètre comme étant un facteur pronostic.

## **7) Prise en charge thérapeutique du carcinome papillaire du rein.**

Le traitement de référence du cancer du rein, et notamment du CRP, est actuellement la chirurgie surtout lorsque la tumeur est limitée au rein et que celle-ci est accessible. Il est possible de réaliser soit une néphrectomie totale soit une néphrectomie partielle dite conservatrice. La néphrectomie conservatrice doit être privilégiée dès que celle-ci est techniquement possible même chez les patients métastatiques présentant une tumeur inférieure à 4 cm, comme le décrivent *Lenis et al* (44). En effet, elle serait corrélée à une meilleure survie globale lorsqu'elle peut être réalisée, comparée à la néphrectomie totale (45). Elle engendrerait également de ce fait moins d'effets indésirables. L'ablation par radiofréquence ou la cryothérapie peuvent être également une option thérapeutique pour un stade débutant ou en cas de tumeurs rénales chez des patients fragiles dont l'approche diagnostique par biopsie reste cependant délicate dans un tel contexte.

L'efficacité de la chimiothérapie et de la radiothérapie est faible. Il n'y a pas de protocole établi spécifiquement pour le traitement des CRP métastatiques. Actuellement les patients atteints d'un CRP métastatique sont intégrés dans des protocoles déjà conçus pour des CRCC métastatiques.

Cependant, le développement de thérapies ciblées a permis d'adopter de nouvelles alternatives thérapeutiques pour les cancers du rein métastatiques. Notamment, la découverte du rôle oncogène du facteur de croissance endothélial vasculaire (*VEGF*) dans les carcinomes rénaux est aujourd'hui à l'origine de l'utilisation de thérapies anti-angiogéniques. Cette nouvelle approche a permis d'améliorer la survie des patients métastatiques. L'utilisation de ces traitements (bevacizumab®, sunitinib®, sorafenib®) est indiquée actuellement mais ceux-ci sont moins efficaces pour les CRP que pour les CRCC métastatiques où il existe des altérations de la voie VHL-HIF1alpha-VEGF. Des études sont en cours pour évaluer l'efficacité potentielle des inhibiteurs de la voie *mTOR* (Everolimus®) dans le traitement des CRP ou CRCC (46).

Le traitement par inhibiteurs de la voie *MET* (anti-tyrosine kinases) est également en cours d'étude. Elle serait une option réelle pour les CRP métastatiques qui présentent une mutation ou une amplification avérée de *MET*. On note alors 50% de réponse à ce traitement lorsque l'amplification de *MET* est présente (47). Une étude récente sur essai clinique (48) utilisant le foretinib® qui est un inhibiteur multikinase de la voie *MET* et *VEGF* permettrait une meilleure réponse au traitement pour les patients atteints d'un CRP à un stade avancé avec une mutation *MET* identifiée.

Au travers de ces données récentes, on voit combien l'enjeu diagnostique est déterminant. Cela permettrait une prise en charge thérapeutique mieux ciblée.

## **8) La classification de Vancouver et actualisation de la classification OMS 2016.**

Nous avons souvent évoqué les travaux de l'ISUP en 2013 qui ont permis d'établir, dans le cadre d'une conférence de consensus, de nouvelles recommandations sur la classification des carcinomes rénaux. Différents critères évaluant les facteurs

pronostiques, les données de l'analyse immunohistochimique et génétique ont été appréhendés (40). A la suite de cette conférence, une actualisation de la classification OMS des tumeurs urinaires a été proposée en 2016 (5,15).

Cinq nouvelles entités, qui étaient considérées comme insuffisamment bien caractérisées, ont alors été ajoutées (tableau 4):

- Le carcinome rénal tubulokystique
- Le carcinome rénal associé à la maladie rénale kystique acquise
- Le carcinome papillaire à cellules claires
- Les carcinomes rénaux avec translocation de la famille MiTF (*TFE3,TFEB*)
- Les carcinomes rénaux liés au syndrome de leiomyomatose héréditaire

Trois entités émergentes ont également fait l'objet d'un consensus :

- Carcinome rénal de type folliculaire thyroïd-like
- Carcinome rénal déficient en *SDHB*
- Carcinome rénal associé à une translocation de *ALK*

Nouvelles entités	Morphologie et immuno- histochimie	Profil moléculaire	Evolution
<i>Carcinome rénal tubulo-kystique</i>	Originaire des canaux collecteurs Architecture tubulaire et kystique avec des cellules éosinophiles aux noyaux volumineux irréguliers et un nucléole proéminent	Proche au niveau moléculaire des CRP : Gain du chromosome 7 et 17 avec perte du chromosome Y	Evolution indolente Bon pronostic
<i>Carcinomes rénaux associés à la maladie kystique rénale acquise</i>	Architecture cribriforme, possiblement papillaire avec aspect de CRP2, Parfois multifocal, présence de cristaux d'acides oxaliques et vacuolisation	Gain chromosomes 1, 2, 3, 6, 7, 16 et Y	Bon pronostic car diagnostic souvent précoce
<i>Carcinome papillaire à cellules claires</i> (Figure 8)	Architecture tubulaire, kystique ou papillaire, cellules tumorales avec cytoplasmes clarifiés CK7+ (GATA3+ dans 70% des cas (49))	Pas le même profil moléculaire que le CRP ou le CRCC	Pas de métastase rapportée (50)
<i>Carcinomes rénaux avec translocation de la famille MiTF</i>	Peut présenter des morphologies très hétérogènes Architecture parfois papillaire, à cellules claires, présence de psammomes. Melan A+, HMB45+ et TFE3 +	Translocation du gène pour le facteur de transcription <i>TFE3</i> t(Xp11) ou <i>TFEB</i> t(6 ;11) Présence d'une fusion avec d'autres gènes partenaires	Classiquement chez les jeunes adultes et plus rarement le sujet âgé avec 10% de métastases
<i>Carcinomes rénaux associés au syndrome de leiomyomatose héréditaire</i>	Architecture papillaire, alvéolaire, solide, tubulaire Noyaux volumineux et nucléoles proéminents avec halo clair péri-nucléaire	Mutation du gène <i>FH</i> codant la fumarate hydratase	Autosomique dominant, présence de léiomyomes cutanés ou utérins Tumeur agressive de mauvais pronostic

<b>Nouvelles entités</b>	<b>Morphologie et immuno- histochimie</b>	<b>Profil moléculaire</b>	<b>Evolution</b>
<i>Carcinome rénal de type folliculaire Thyroïd-like</i>	Encapsulée, architecture macro et microfolliculaire mais possible architecture papillaire focale, matériel colloïd-like, noyaux ronds et réguliers avec nucléole proéminent. Anti TTF1 -, Anti thyroglobuline - (28)	Pas d'anomalie génétique identifiée retrouvée	Tout âge. Majoritairement indolente.
<i>Carcinome rénal déficient en SDH</i>	Cellules tumorales éosinophiles, polygonales avec présence de vacuoles cytoplasmiques	Mutation des gènes <i>SDH</i> codant les succinates deshydrogenases ( <i>B</i> )	Pheochromocytome, paragangliome, GIST Risque métastatique élevé si contingent sarcomatoïde
<i>Carcinome rénal avec translocation de ALK</i>	Cellules tumorales polygonales ou allongées	Fusion du gène <i>ALK</i> avec le gène <i>VCL</i> t(2 :10)(p23 ;q22) ou d'autres partenaires	Peu de cas observés Plutôt indolent

*Tableau 4 : Récapitulatif des nouvelles entités qui ont fait l'objet d'un consensus lors de la conférence en 2013 à Vancouver (société internationale de pathologie urinaire).*

Ainsi, les cancers corticaux rénaux ont été singularisés, ces dernières années, par leurs caractéristiques histologiques, chromosomiques ou moléculaires. Cela a donné lieu, nous l'avons vu, à des actualisations réitérées de la classification de l'OMS pour aboutir à celle de 2016 (Tableau 4). Malgré ces efforts de reclassement, le CRP non de type1 reste une catégorie hétérogène sur le plan morphologique et moléculaire. Elle est d'ailleurs souvent considérée comme un diagnostic d'exclusion. Elle regroupe, en fait, diverses entités qui restent mal caractérisées. Une identification plus précise, objectif de notre travail, est d'autant plus nécessaire que leur évolution pronostique peut être différente. Elle permettrait aussi une approche thérapeutique mieux adaptée.

# OBJECTIFS

Au travers des données de la littérature, il apparaît indispensable de mieux appréhender les caractéristiques des CRP et notamment celles des CRP non de type 1. L'enjeu diagnostique est déterminant devant l'incertitude de certains critères de définition et la multiplicité des entités décrites au sein des cancers du rein. Une caractérisation plus affinée devrait permettre de mieux définir le cadre du CRP non de type 1 et ses risques évolutifs. Il permettrait aussi d'envisager une meilleure prise en charge thérapeutique. C'est dans cette perspective que s'inscrit notre travail avec une double démarche :

- Dans un premier temps, nous avons reclassé tous les CRP, inclus dans notre étude, selon des critères morphologiques. Cela nous a permis d'individualiser différentes catégories tumorales : CRP1, adénomes, carcinomes tubuleux et mucineux (CTM), CRP2, CRP mixte, CRP oncocytaire, CRP à cellules claires. Après exclusion des CRP1, des adénomes et du CTM, nous souhaitons identifier, au sein des quatre catégories retenues, les nouvelles entités décrites récemment par l'ISUP 2013 et l'OMS 2016 grâce à des marqueurs immunohistochimiques diagnostiques.
- Dans un deuxième temps, nous avons étudié les caractéristiques anatomo-cliniques et immunohistochimiques pronostiques intéressant la totalité de notre cohorte et ses sous-groupes constitutifs.

Pour l'identification de nouvelles entités et la caractérisation de marqueurs pronostiques, nous avons fait le choix d'utiliser un panel de treize anticorps pour la réalisation de l'analyse immunohistochimique :

- **Les marqueurs diagnostiques retenus et les résultats attendus :**

- L'anticorps anti-fumarate hydratase (FH) : recherche d'une perte d'expression de FH associée aux cancers rénaux. Ce marqueur s'est avéré utile dans le cadre de la léiomyomatose héréditaire (19).
- L'anticorps anti-SDHB : recherche d'une perte d'expression de SDHB observée dans les cancers rénaux déficients en SDH. Ceux-ci, liés à des mutations concernant les gènes *SDH* peuvent être associés à d'autres tumeurs comme des paragangliomes familiaux (19).
- L'anticorps anti-MelanA : recherche d'un marquage cytoplasmique observé dans le cadre des cancers rénaux liés à des translocations de la famille MiTF intéressant le gène TFEB.
- L'anticorps anti-TFE3 : recherche d'un marquage nucléaire intense et diffus observé dans le cadre des cancers rénaux liés à des translocations affectant le gène *TFE3*.
- L'anticorps anti-ALK : recherche d'une surexpression de ALK qui se traduit par la présence d'un marquage cytoplasmique granuleux (19). Celui-ci s'observe dans le cadre d'une nouvelle entité émergente de cancer rénal d'architecture papillaire avec réarrangement du gène ALK (tableau 4).
- L'anticorps anti-GATA3 : recherche d'un marquage nucléaire observé préférentiellement dans le cadre des CRP oncocytaires et des CRP à cellules claires (49,51).



- **Les marqueurs pronostiques et thérapeutiques retenus et les résultats attendus:**

- L'anticorps anti-Ki67, évaluation de l'index de prolifération tumorale (52).
- L'anticorps anti-BAP1 : une perte d'expression nucléaire est corrélée à un mauvais pronostic dans le cadre des CRCC (53,54). Nous avons voulu étudier sa valeur pour les CRP non de type 1.
- L'anticorps anti-CAIX : une perte de marquage ou un marquage cytoplasmique focal faible serait un facteur de mauvais pronostic (51,52).
- L'anticorps anti-PD-L1 : PD1 (Programmed Death 1) une fois activé par son ligand (PD-L1), il délivre des signaux membranaires d'inhibition de prolifération. On évalue le niveau d'expression de ce marqueur membranaire sur les cellules tumorales pour juger de l'opportunité d'une éventuelle immunothérapie dans certains cas de CRP.
- Les anticorps anti-H3K27M et anti-H3K36M : dans la littérature, la présence de mutations du gène *SETD2* et d'autres gènes affectant la méthylation des histones (H3, annexe 3), serait un facteur de mauvais pronostic pour les CRCC (55). Nous voulions rechercher s'il existait également un lien pronostique pour le CRP non de type1.
- L'anticorps anti-MET : recherche d'une amplification et/ou d'une mutation du gène *MET* avec expression accrue de son produit qui se traduit par un marquage membranaire et cytoplasmique. Cette observation serait associée à un facteur de mauvais pronostic (56). Cette étude immunohistochimique a été complétée par une analyse par FISH qui confirme alors le processus d'amplification.

# MATERIELS & METHODES

## **1) Sélection des cas**

Il s'agit d'une étude rétrospective et monocentrique réalisée dans le service d'anatomopathologie du CHRU de Lille. Elle inclut uniquement des patients opérés dans le service d'Urologie du CHRU de Lille entre le mois d'Avril 1992 et Novembre 2016, patients pour lesquels un résultat anatomopathologique concluait : carcinome papillaire rénal. Cette enquête rétrospective a pu être réalisée à l'aide du logiciel DIAMIC (infologic santé). Toutes les lésions devaient mesurer plus de 15mm. En dessous de cette taille la nouvelle classification OMS 2016 reclasse celles-ci en adénome papillaire qui est une tumeur bénigne non étudiée lors de notre analyse.

Tous les cas étudiés présentaient une architecture papillaire supérieure à 75%, avec des caractéristiques morphologiques de CRP non de type 1 selon les critères de l'OMS 2016, à savoir : des stratifications nucléaires, des cellules cylindriques avec un cytoplasme abondant éosinophile, un aspect oncocytaire parfois, des atypies cyto-nucléaires, un grade nucléolaire élevé (2 à 4), la présence possible de nécrose ou d'embolies vasculaires. Pour l'ensemble des cas, nous avons sélectionné une lame représentative pour chaque tumeur, présentant tous les sous-types tumoraux si la lésion était hétérogène.

Cent vingt sept cas ont été relus conjointement par un anatomopathologiste sénior référent en Uropathologie et un anatomopathologiste junior pour sélectionner les différentes catégories :

- CRP de type 1,
- Adénome papillaire,
- Carcinomes tubuleux et mucineux (CTM),

- CRP oncocytaire,
- CRP à cellules claires,
- CRP mixte (type1 et type2)
- CRP de type 2.

Pour notre étude, nous n'avons retenu que les quatre dernières catégories tumorales regroupées sous le terme de « CRP non de type 1 ». Avec ce choix, nous souhaitons évaluer les caractéristiques morphologiques, immunohistochimiques et chromosomiques de catégories tumorales considérées, dans la littérature pour les CRP2 et les nouvelles entités, comme pouvant être de moins bon pronostic. Nous nous sommes donc focalisés sur les CRP2 d'aspect homogène (dont certains pouvaient évoquer un carcinome à translocation), les CRP mixtes, les CRP d'aspect oncocytaire et les CRP à cellules claires. Cela représentait une cohorte de soixante cinq patients au total (Figure 11).

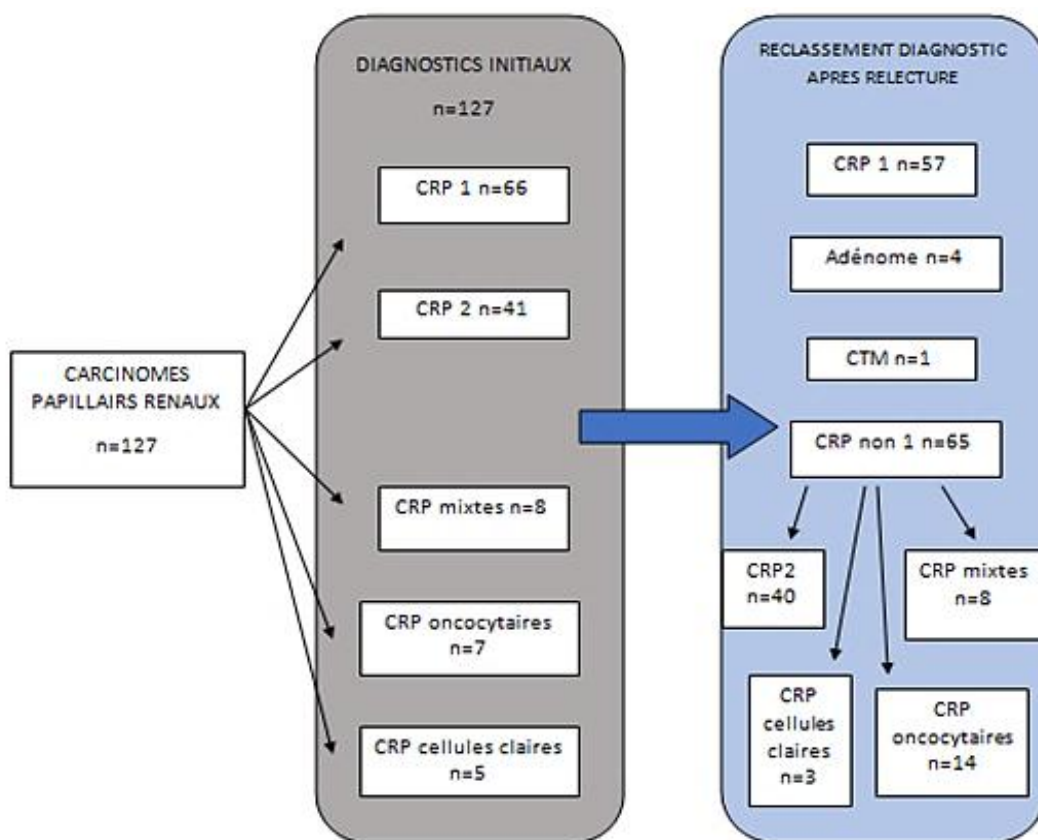


Figure 11 : Récapitulatif de la sélection pour notre cohorte de 65 patients

## **2) Recueil des données anatomo-cliniques et pronostiques.**

Pour l'ensemble des cas sélectionnés, nous avons récupéré les données histopathologiques grâce au logiciel DIAMIC (infologic santé) utilisé dans le service d'anatomopathologie du CHRU de Lille. Cette exploration a permis la récupération de tous les comptes rendus anatomopathologiques au moment du diagnostic.

Les données cliniques ont été obtenues grâce au logiciel SILLAGE (dossier patient informatisé du CHRU de Lille), au logiciel SICOL (dossier patient du Centre Oscar Lambret) et à Agathe (interne) dans les archives du service d'Urologie au CHRU de Lille:

- Age du patient lors du diagnostic, sexe
- Antécédents personnels et familiaux (tabac, insuffisance rénale, hypertension artérielle, tumeurs rénales familiales...)
- Caractère unifocal ou multifocal des lésions rénales
- Critères de gravité au moment du diagnostic (extension locale, métastases ganglionnaires, métastases à distance, présence d'embolies vasculaires...)
- Type de chirurgie (totale ou partielle)
- Qualité de l'exérèse chirurgicale
- Stade TNM
- Grade ISUP avec présence d'un contingent sarcomatoïde ou rhabdoïde
- Survenue de rechute ou décès

Le recueil des données pronostiques, nous a permis de connaître, lorsque cela était possible, les conditions de rechute, de décès ou au contraire l'absence de rechute pour chaque patient suivi dans le service. Lorsque nous n'avions pas les données récentes pour certains patients, nous nous sommes basés sur les informations recueillies à la date de dernières nouvelles.

### **3) Examens histopathologiques propres à notre étude**

A l'issue de cette présélection, toutes les tumeurs ont été fixées par le formol tamponné à 10%. Le temps de fixation était d'environ 24h. Toutes les lames colorées par l'Hématoxyline, Eosine, Safran (HES) ont été évaluées par un anatomopathologiste sénior référent en Uropathologie et un anatomopathologiste junior. Les caractéristiques suivantes ont été appréhendées :

- Architecture tumorale papillaire ou tubulo-papillaire > 75%
- Atypies cyto-nucléaires
- Présence de nucléoles bien visible avec réévaluation pour chaque tumeur du grade nucléolaire selon le grade ISUP
- Présence de cellules cylindriques, cytoplasme abondant éosinophile
- Présence d'un contingent oncocytaire ou à cellules claires
- Nécrose
- Embole vasculaire
- Infiltration de la graisse péri-rénale

Nous recherchions, à chaque fois, un contingent histologique même focal de CRP2, permettant de les classer en CRP non de type 1, pour pouvoir étudier, dans un deuxième temps, leur profil clinique, immunohistochimique voire chromosomique.

### **4) « Tissue micro-array »**

L'ensemble des tumeurs sélectionnées opérées de 1992 à 2016, offrant suffisamment de matériel disponible, ont fait l'objet d'une technique dite de « tissue micro-array ou TMA ».

La constitution du TMA s'est faite dans le service d'anatomopathologie du CHRU de Lille par une technicienne expérimentée. Cette technique préparatoire a été réalisée à l'aide d'un appareillage dénommé : tissue micro-array semi-automatique Minicore (alphelys). Celui-ci utilise un système co-axial d'aiguilles : une aiguille de plus grand calibre pour la réalisation du puits dans le bloc de paraffine dit bloc « receveur » et une aiguille de plus petit calibre pour réaliser une carotte biopsique provenant du bloc « donneur » contenant la tumeur étudiée (figure 12). Dans le bloc de paraffine vierge « receveur », un point de forage bien précis est réalisé selon un plan pré-établi avec une abscisse et une ordonnée déterminées. Puis la carotte biopsique du bloc « donneur » est prélevée, mesurant 1mm de diamètre, en regard de la zone d'intérêt préalablement sélectionnée. Cette carotte biopsique est ensuite insérée dans le puits du bloc « receveur ». Les blocs « receveurs » sont ensuite coupés par un microtome standard. Un contrôle morphologique HES est réalisé avec, au total, 65 tumeurs incluses dans l'étude.

La technique de TMA permet l'inclusion dans un bloc « receveur » de paraffine de différentes carottes biopsiques récupérées à partir de nombreux blocs « donneurs » permettant une analyse plus rapide sur une seule lame de plusieurs échantillons. Nous avons utilisé cette technique pour l'analyse immunohistochimique dans un premier temps, mais aussi pour la FISH dans un deuxième temps. Cela nous a permis de réaliser une étude comparative, simple, rapide et standardisée, avec un minimum de tissu utilisé.

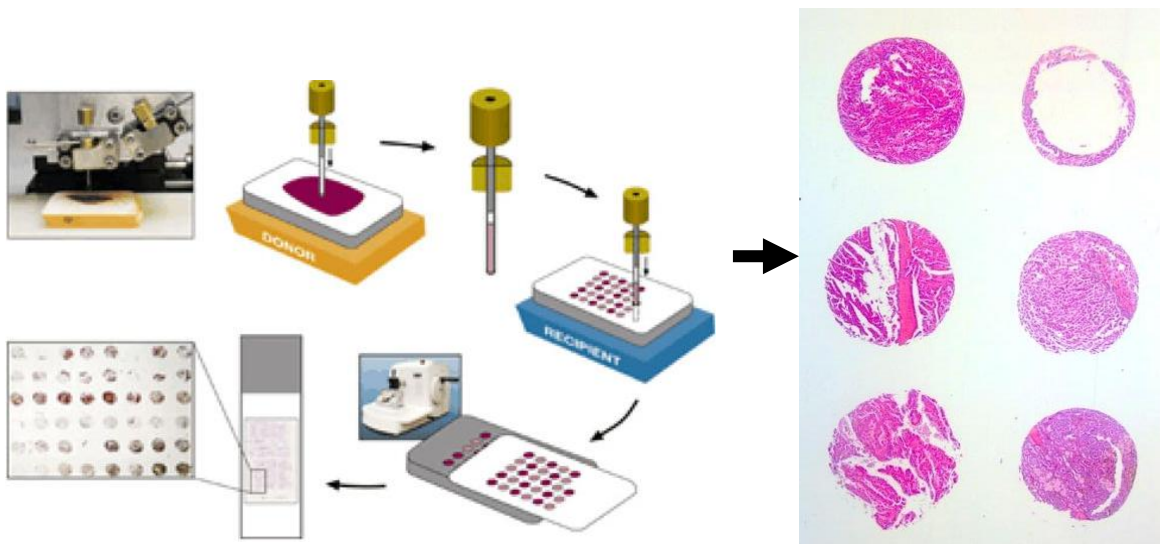


Figure 12 : Techniques TMA (Marie Alice Poul, Institut de recherche en cancérologie, Montpellier)

Nous avons sélectionné, pour chaque tumeur, trois zones d'intérêt différentes sur le plan morphologique. En effet, cela nous a permis d'avoir une meilleure représentativité globale des tumeurs qui peuvent être parfois hétérogènes (Figure 13). La préparation des blocs « donneurs » consistait en une sélection sur lame colorée par l'HES puis sur le bloc de paraffine correspondant aux trois spots d'intérêt. Nous n'avons pas réalisé de prélèvement biopsique sur le tissu non tumoral car notre étude avait pour but uniquement de caractériser les tissus tumoraux sans nécessité de les comparer au tissu sain.

Pour notre étude, nous avons donc constitué quatre blocs « receveurs » selon cette technique de TMA. Le premier bloc comprend 8 tumeurs différentes avec pour chacune trois spots biopsiques. Le deuxième bloc est constitué de 18 tumeurs, le troisième bloc de 16 tumeurs et le quatrième bloc de 23 tumeurs différentes.

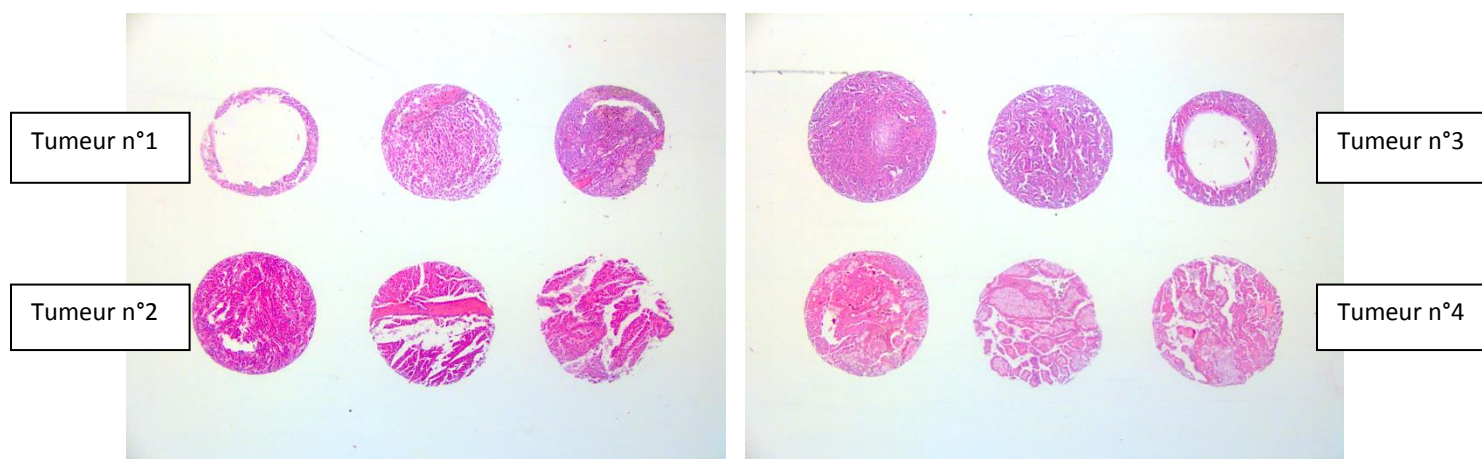


Figure 13 : TMA réalisés en HES x5

## 5) Analyse immunohistochimique

Nous avons réalisé une étude immunohistochimique (méthode immuno-enzymatique) sur nos lames blanches de TMA réalisées au préalable. Treize anticorps monoclonaux différents ont été testés: anticorps anti-fumarate hydratase (FH), anticorps anti-SDHB, anticorps anti-Ki67, anticorps anti-BAP1, anticorps anti-MelanA, anticorps anti-ALK, anticorps anti-GATA3, anticorps anti-CAIX, anticorps anti-PDL-1, anticorps anti-H3K27Me, anticorps anti-H3K36Me, anticorps anti-TFE3 et anticorps anti-MET (Tableau 5).

Des coupes de 4 $\mu$ m ont été réalisées au microtome puis étalées à l'eau distillée sur des lames silanées (DakoFlex). Les techniques d'immunohistochimie étaient toutes automatisées (automate BenchMark Ultra, Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA) gage d'une meilleur reproductibilité.

Dans un premier temps, pour toutes les techniques d'immunohistochimie, nous avons procédé à un déparaffinage (EZ prep) puis à une réhydratation. Des peroxydases endogènes ont été bloquées par l'ajout d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pendant 4 minutes. Ensuite, le démasquage antigénique a été réalisé en fonction des différents anticorps par un pré-traitement à la chaleur et/ou par digestion protéasique. Celui-ci permet alors d'hydrolyser les liaisons covalentes formées par le formol pour que l'anticorps primaire accède plus



facilement au site antigénique. La restauration antigénique grâce à la chaleur fut réalisé à l'aide d'un tampon de type Tris à un pH de 8,4 (Cell Conditioning solution 1, CC1, Ventana Medical System, Tucson, AZ, USA) et à une température de 100°C pendant 30 à 90 minutes ou à l'aide d'un tampon de type Citrate à un pH 6 (Cell Conditioning Solution 2, CC2, Ventana Medical System, Tucson, AZ, USA) et à une température de 91°C pendant 30 minutes.

La digestion enzymatique s'est faite par l'ajout d'une protéase de type Trypsine (protease2, Ventana Medical System, Tucson, AZ, USA) à une concentration de 0.1mg/ml ou Ficine (protease 3, Ventana Medical System, Tucson, AZ, USA) à une concentration de 0.24µg/ml durant 8 minutes à 37°C. L'incubation des différents anticorps primaires a été faite à une température de 37°C pendant 16 à 60 minutes. Les différentes références et dilutions des anticorps primaires sont résumées dans le Tableau 5.

La révélation du complexe anticorps-antigène se fait de façon indirecte avec l'aide du kit UltraView Universal DAB Detection (Ventana Medical System, Tucson, AZ, USA) en associant un anticorps anti-Ig de lapin/souris à un multimère marqué par la peroxydase de Raifort pour amplifier le signal. L'incubation avec l'anticorps secondaire dure ensuite 8 minutes à une température de 37°C. Enfin, la diaminobenzidine est ajoutée comme substrat chromogène, permettant alors la mise en évidence de la formation du complexe anticorps-antigène par une couleur brune, grâce à la réaction enzymatique par la peroxydase de Raifort. Entre ces différentes étapes, les lames ont été rincées par un tampon (reaction buffer) avec également à chaque étape une pose d'huile de paraffine pour éviter l'évaporation du liquide sur la lame.

Dans un dernier temps, une contre coloration par l'hématoxyline a été réalisée, puis les lames ont été rincées et enfin une post contre-coloration au bluing reagent (solution

aqueuse de carbonate de lithium tamponné) a été effectuée. Les coupes de tissus sont enfin rincées, déshydratées puis montées entre lame et lamelle.

Anticorps	Nom complet	Distributeur	Référence	Dilution	Hôte	Clone	Démasquage (minutes)	Incubation (minutes)
<b>PDL1</b>	Programmed death cell 1 Ligand 1	Dako	M3653	1/50	souris	22C3	CC1 (32)	60
<b>CAIX</b>	Carbonic anhydrase IX	Leica	NCL-L-CAIX	1/50	souris	TH22	CC1(30)+P3(4)	32
<b>MelanA</b>	Anti MelanA MART-1	Dako	M7196	1/25	Souris	A103	CC1 (30)	32
<b>BAP1</b>	Ubiquitin carboxy-terminal hydrolaseBAP1 (C-4)	Santacruz	SC-28383	1/100	Souris	C-4	CC1 (64)	32
<b>FH</b>	Fumarate Hydratase	Santacruz	SC-100743	1/200	Souris	J-13	CC1 (30)	32
<b>Ki67/MIB1</b>	Anti Ki67 MIB1	Dako	M7240	1/50	Souris	MIB-1	CC1 (60)	32
<b>ALK (D5F3)</b>	ALK poumon (D5F3)	Cell Signaling	3633	1/100 tampon ROCHE	Lapin	D5F3	CC1 (92)	60
<b>GATA3</b>	GATA3	Biocare Eurobio	CM405A	1/100	Souris	L250-823	CC1 (60)	44
<b>SDHB</b>	Succinate Dehydrogenase	Abcam	Ab-14714	1/50	Souris	21A11A E7	CC1 (64)	40
<b>CMET</b>	CMET	Ventana Roche	790-4430	Prédilué	Souris	SP44	CC1 (60)	16
<b>H3K27</b>	H3K27	Diagenode	C15410195	1/750	Lapin	Poly	CC1 (60)	32
<b>H3K36M Histone3</b>	Anti-Histone H3 K36M	Biosciences	31-1085-00	1/2000	Lapin	RM193	CC1 (60)	32
<b>TFE3</b>	TFE3	Ventana Roche	760-4622	Prédilué	Lapin	MRQ-37	CC1 (60)	32

Tableau 5 : Etude immunohistochimique, liste des anticorps et des conditions de pré-traitement

## 6) Interprétation de l'étude immunohistochimique

Avec les anticorps anti-FH et anti-SDHB ; la notion de perte d'expression est retenue si l'ensemble des cellules tumorales ne présente aucun marquage avec ces anticorps.

Pour l'anticorps anti-BAP1 ; on considère qu'il existe une préservation d'expression, si on observe un marquage nucléaire sur plus de 10% des cellules.

Avec l'anticorps anti-MelanA; le résultat est considéré comme positif si on observe, même focalement, un marquage cytoplasmique des cellules tumorales.

Avec l'anticorps anti-GATA3, le résultat est considéré comme positif si on note un marquage nucléaire même focal des cellules tumorales.

Les résultats obtenus avec l'anticorps anti-CAIX ont été classés en trois catégories : un marquage cytoplasmique et membranaire diffus pour la première, un marquage cytoplasmique et membranaire focal (avec moins de 20% des cellules marquées) pour la seconde, aucun marquage détectable pour la troisième.

Les résultats obtenus avec l'anticorps anti-Ki67 ont été quantifiés en évaluant le pourcentage de noyaux marqués sur 200 cellules étudiées, contrainte liée au matériel analysable limité sur TMA.

Les résultats obtenus avec l'anticorps anti-ALK (D5F3) sont jugés positifs lorsqu'il existe un marquage cytoplasmique granulaire au sein des cellules tumorales.

Le résultat obtenu avec l'anticorps anti-PD-L1 est considéré comme positif si on retrouve un marquage membranaire. On précise alors qu'il s'agit d'un marquage focal si moins de 30% des cellules tumorales sont marquées, un marquage diffus si plus de 30% des cellules tumorales sont marquées.

Le résultat obtenu avec l'anticorps anti-TFE3 est considéré comme positif si on retrouve un marquage nucléaire intense et diffus avec cet anticorps.

Avec l'anticorps anti-H3K36M, le résultat est considéré comme positif et témoigne d'une mutation s'il existe un marquage nucléaire intense et diffus des cellules tumorales.

Avec l'anticorps anti-H3K27M, un marquage nucléaire positif traduit l'expression constitutionnelle de ce marqueur dans toutes les cellules. Toutes anomalies, recherchées ici, se traduira donc par une perte totale du marquage nucléaire attendu.

Enfin, les données fournies avec l'anticorps anti-MET(56) ont été analysées selon le score immunohistochimique de MET ou « scoring guide algorithm» (Tableau 6) fourni avec le kit Ventana Roche de l'anticorps primaire. Les cas présentant un marquage cytoplasmique et membranaire avec un score 3+ ont fait l'objet d'une analyse par FISH dans un deuxième temps.

Pour chaque anticorps étudié, le marquage ou l'absence de marquage obtenus sont vérifiés sur chaque lame de TMA par la présence d'un témoin externe.

Diagnostic clinique	Score clinique	Critères immunohistochimiques
<b>Négatif</b>	0	Absence de marquage ou marquage équivoque (membranaire et/ou cytoplasmique) des cellules tumorales ou moins de 50% des cellules tumorales marquées quelque soit l'intensité
<b>Négatif</b>	1+	Au moins 50% des cellules tumorales présentant un marquage au moins d'intensité faible (membranaire et/ou cytoplasmique) mais moins de 50% des cellules tumorales avec un marquage d'intensité modérée à forte
<b>Positif</b>	2+	Au moins 50% des cellules tumorales présentant un marquage d'intensité au moins modérée (membranaire et/ou cytoplasmique) mais moins de 50% des cellules présentant un marquage d'intensité forte
<b>Positif</b>	3+	Au moins 50% des cellules tumorales présentant un marquage d'intensité forte membranaire et/ou cytoplasmique

Tableau 6 : « scoring guide algorithm cMET » Ventana Roche permettant la réalisation d'un score immunohistochimique pour l'anticorps anti-MET

## 7) La technique FISH

La FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) est une technique basée sur la propriété d'hybridation spécifique des bases complémentaires des séquences nucléotidiques des acides nucléiques (association ADN cible / sonde marquée avec un fluorophore). L'utilisation de plusieurs fluorophores, ici l'Isocyanate de Fluoresceine (FITC) et la Rhodamine, couplés à des sondes nucléotidiques dirigées contre des

séquences différentes permet la détection de l'emplacement des gènes d'intérêt (cartographie dans le noyau cellulaire). Cette technique est réalisée sur des cellules en interphase au sein d'un tissu fixé au formol et inclus en paraffine. Elle permet de mettre en évidence des anomalies au niveau des gènes d'intérêt (délétion, translocation, gain...) ou au niveau chromosomique (monosomie, trisomie...).

Une analyse FISH a été réalisée dès lors qu'un marquage de score 3+ était obtenu lors de l'étude immunohistochimique avec l'anticorps anti-MET (clone SP44, 790-4430, lot DO 9744, Ventana). Notre analyse a porté sur 13 patients dont les prélèvements étaient répartis en 2 TMA. Deux spots ont été réalisés pour chaque patient, séparés par un spot de parenchyme hépatique normal.

La technique de FISH se réalise sur deux jours à partir de lames de tissu inclus en paraffine séchées 1 heure à 56°C.

La 1<sup>ère</sup> étape consiste en un déparaffinage et une réhydratation des lames par des bains successifs de xylène (3 x 10secondes), d'éthanol 100° (2 x 3secondes), d'éthanol 95° (1 x 3secondes), et d'éthanol 70° (1 x 3 secondes). Les lames sont ensuite lavées avec le tampon Wash Dako (5 secondes) (kit de prétraitement DAKO référence K5799). Les lames sont alors incubées à 97°C pendant 10secondes avec la solution de prétraitement Dako, puis rééquilibrées 15secondes à température ambiante. Deux lavages successifs des lames (2 x 3secondes) sont réalisés avec le tampon de lavage 1X.

Une digestion enzymatique de 3secondes à 37°C avec la pepsine (fournie dans le kit Dako) est effectuée en ThermoBrite® avec ensuite un lavage des lames rincées au tampon de lavage.

Suite au lavage, les lames sont dénaturées à 75°C pendant 10 minutes en présence de la sonde SPEC Zytolight MET Z2087-200 de la société Zytovision (lot P131-PD1, Zytovision)

dans le ThermoBrite®. L'ensemble est ensuite incubé une nuit à 37°C. A noter que ces 2 étapes se font entre lame et lamelle afin d'éviter toute évaporation.

Le deuxième jour, les lames sans lamelle sont immergées 10secondes dans du tampon SCC 1X 70°C puis lavées avec le tampon de lavage Dako (2 x 3secondes) à température ambiante.

La dernière étape consiste en une déshydratation des lames via des bains successifs d'éthanol 70° (1 x 2secondes), d'éthanol 95° (1 x 2secondes), et d'éthanol 100° (1 x 2secondes) suivi d'un séchage à l'air libre (10secondes). Une goutte (10 a 20 microlitres) de solution de montage contenant du DAPI (Vectashield® H-1200), pour la visualisation des noyaux, est déposé sur chaque lame puis une lamelle est fixée avec du vernis. Afin de faciliter le repérage des prélèvements, l'ensemble des spots est délimité par un tracé sur la lame. La lecture peut être effectuée 20 min après l'étape de montage.

Les lectures sont réalisées sur microscope Olympus au grossissement x 60 en immersion (huile Zeiss Immersol 518F) tel que :

- Une première lecture sur microscope OLYMPUS BX61 a été réalisée par une technicienne expérimentée, confirmant la bonne hybridation des sondes.
- Une seconde lecture est effectuée, en partenariat avec l'ingénieure spécialisée sur le microscope Olympus BX63 couplé au logiciel Bioview (logiciel de capture et de traitement d'images).

Un premier repérage des spots d'intérêt est fait au grossissement x 10 au DAPI. Plusieurs photos des zones tumorales sont prises via le Bioview. Un comptage sur les images de synthèse (fusion des 3 filtres FITC-DAPI-Rhodamine sur 19 plans Z) portant sur 50 cellules est assuré par les 2 lectrices.

Le gène *MET* est visualisé par la sonde couplée au FITC (signal vert), le centromère du chromosome 7 est marqué avec une sonde couplée à la rhodamine (signal orange). Un comptage précis de chaque signal est effectué pour chaque noyau des 50 cellules analysées. Le ratio (rapport du nombre de copies du gène *MET* sur le nombre de centromères) est déterminé ainsi que le nombre moyen de copies du gène *MET* par noyau. L'interprétation est faite telle que :

- Une amplification faible est observée pour un ratio  $1,8 \leq \text{ratio MET/CEN7} \leq 2,2$
- Une amplification modérée est observée pour un ratio  $2,2 < \text{ratio MET/CEN7} < 5$
- Une amplification forte est observée pour un ratio  $\geq 5$ .

## **8) Obligations légales**

Cette étude rétrospective, non interventionnelle, a fait l'objet d'une déclaration auprès du représentant, au sein du CHRU, de la Commission Nationale Informatique et Liberté (CNIL) avec comme référence : DEC 16-123.

L'ensemble des données en rapport avec les patients a donc été anonymisé et conservé de façon sécurisée. Le matériel biologique est issu de la collection déclarée et autorisée de l'Institut de Pathologie du Centre de Biologie Pathologie du CHRU de Lille (DC-2008-642).

## **9) Statistiques**

L'analyse statistique a été réalisée par Mr Machuron, statisticien dans le service de Biostatistique du CHRU de Lille. Les variables quantitatives ont été décrites par la moyenne et l'écart type ou par la médiane et l'intervalle interquartile. La normalité des

distributions a été vérifiée graphiquement ainsi que par l'intermédiaire du test de Shapiro-Wilk.

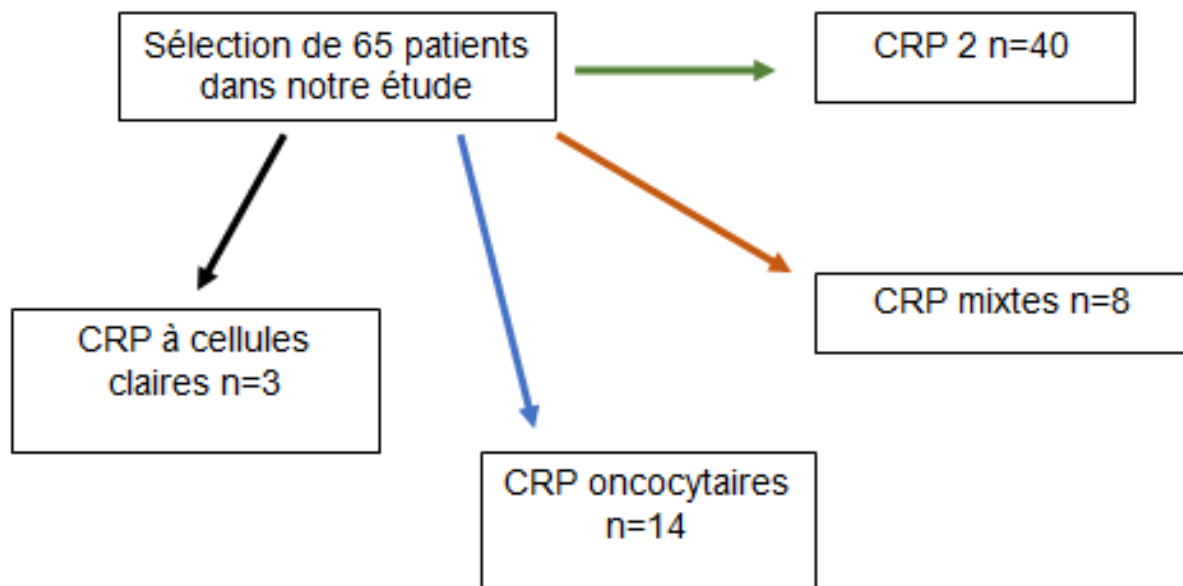
Les variables qualitatives ont été décrites par la fréquence et le pourcentage. La survie sans rechute a été estimée par la méthode de Kaplan-Meier.

La sélection des facteurs associés à la survie sans rechute a été réalisée par l'intermédiaire de modèles de Cox à risques proportionnels. Le seuil de significativité a été fixé à 0.05. Les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel SAS version 9.4 (SAS Institute, Cary NC, USA).



# RESULTATS

Cent vingt sept patients opérés d'une tumeur papillaire rénale au CHRU de Lille entre Avril 1992 et Novembre 2016, ont été inclus dans notre étude. Après une relecture des lames ne prenant en compte que les aspects strictement morphologiques, nous avons reclassé ces CRP en huit catégories : CRP1, adénomes papillaires, CRP2, CRP mixtes, CRP oncocytaires, CRP à cellules claires et CTM (cf matériels et méthodes). Nous avons exclu de notre étude, les CRP1, les adénomes papillaires et les CTM, qui sortaient du cadre de notre travail. Il ne restait donc que 65 patients dont toutes les tumeurs présentaient au moins 75% de tubules ou de papilles permettant d'assurer le diagnostic de CRP. Parmi ceux-ci, 61.5% présentaient une morphologie de type CRP2 d'aspect homogène alors que 12.5% possédaient une morphologie de type CRP mixtes (CRP1 et CRP2). Des aspects en foyers de CRP de type oncocyttaire (21.5%) et de CRP à cellules claires (4.5%), associés au CRP2, ont également été individualisés. Ces 4 sous-groupes seront rassemblés sous la dénomination de « CRP non de type 1 » (Tableau 7).



## **1) Etude descriptive.**

### **a) Les caractéristiques anatomopathologiques des CRP non de type1**

L'ensemble des données détaillées ici, figure dans le tableau 7.

Différents grades nucléolaires ont été observés : le grade nucléolaire 2 (23%), le grade nucléolaire 3, le plus représenté (72%) et enfin le grade nucléolaire 4 (présence d'un contingent sarcomatoïde), le moins représenté dans cette étude (5%).

La présence de nécrose a été identifiée dans 63% des cas analysés.

La taille tumorale s'échelonnait de 1.5 cm à 21 cm (taille moyenne de 6.5 cm, taille médiane de 5 cm).

Une extension locale à la graisse péri-rénale ou sinusale était retrouvée dans 22% des cas. Une extension vasculaire était présente dans 12% des cas. Il existait un envahissement ganglionnaire avec ou sans rupture capsulaire dans 22% des cas. Une extension surrénalienne et/ou des métastases d'organes à distance étaient identifiées dans 12% des cas analysés.

<i>Variables analysées</i>	<i>Modalités</i>	<i>Résultats descriptifs Nombre (n)</i>	<i>Pourcentages %</i>
<b>Morphologie</b>	CRP2 homogène	40	61.5
	Aspect oncocytaire	14	21.5
	CRP mixtes	8	12.5
	Aspect cellules claires	3	4.5
<b>Grade nucléolaire</b>	Grade2	15	23
	<b>Grade3</b>	47	<b>72</b>
	Grade4	3	5
<b>Nécrose</b>	<b>Présente</b>	41	<b>63</b>
	Absente	24	37
<b>Extension locale</b>	Extension graisse	14	22
	<b>Absente</b>	51	<b>78</b>
<b>Extension vasculaire</b>	Emboles et infiltration	6	10
	Thrombus VCI	1	2
	<b>Absente</b>	58	<b>88</b>
<b>Extension ganglionnaire</b>	Présente	14	22
	<b>Absente</b>	51	<b>78</b>
<b>Extension à distance</b>	Métastases surrénalienne	2	3
	Métastases à distance	4	6
	Les deux (à distance et surrénalienne)	2	3
	<b>Absente</b>	57	<b>88</b>

Tableau 7 : Récapitulatif des résultats descriptifs de l'analyse morphologique (tumeurs et métastases) des 65 cas analysés

#### **b) Les caractéristiques anatomopathologiques de chacun des sous-groupes**

Les quatre sous-groupes, individualisés selon leurs aspects morphologiques après lecture sur coloration HES (CRP2 d'aspect homogène, CRP mixtes, CRP ayant un contingent de type oncocytaire ou à cellules claires) ont fait l'objet d'une même analyse descriptive. Les résultats obtenus pour chaque sous-groupe ont été confrontés. L'effectif, trop faible, pour le dernier sous-groupe (n=3), ne nous a pas permis de le distinguer. Seuls, les trois autres sous-groupes ont donc pu faire l'objet de ces analyses comparatives.

L'ensemble des données seront détaillées dans le tableau 8 :

Concernant le grade nucléolaire, nous observons que le grade 3 est le plus représenté à la fois pour les CRP d'aspect oncocytaire (78.6%), pour les CRP2 d'aspect homogène (67.5%) et pour les CRP mixtes (75%). Le grade 4, peu représenté (5%), n'est observé que dans deux cas de CRP2 d'aspect homogène et dans un seul cas de CRP mixte.

La présence de nécrose est fréquente également dans ces trois groupes : les CRP d'aspect oncocytaire (64,3%), les CRP2 d'aspect homogène (60%) et les CRP mixtes (75%). Ce critère ne permet donc pas de singulariser l'un des sous-groupes.

La taille tumorale moyenne, assez homogène selon les différents sous-groupes, est proche de la taille moyenne notifiée sur la cohorte globale: elle est de 6.5 cm pour les CRP d'aspect oncocytaire, de 6.8 cm pour les CRP2 d'aspect homogène et de 5.3 cm pour les CRP mixtes.

L'extension locale tumorale a été mise en évidence dans les trois sous-groupes : les CRP d'aspect oncocytaire (28.6%), les CRP2 d'aspect homogène (22.5%) et les CRP mixtes (12.5%). L'extension vasculaire est surtout observée dans le cadre des CRP2 d'aspect homogène (n=5, 12.5%). Elle est observée dans deux cas de CRP d'aspect oncocytaire (14%) mais elle est absente dans les CRP mixtes. Une extension ganglionnaire a été mise en évidence uniquement dans le cadre des CRP d'aspect oncocytaire (28.6%) et des CRP2 d'aspect homogène (25%). De même, une extension métastatique n'a été observée que dans le cadre des CRP d'aspect oncocytaire (14%) et des CRP2 d'aspect homogène (15%).

Variables analysées	Modalités	Résultats descriptifs Nombre (n) / Pourcentage en %		
		CRP oncocytaires	CRP2 homogènes	CRP mixtes
Grade nucléolaire	Grade2	3 / 21.4	11 / 27.5	1 / 12.5
	<b>Grade3</b>	<b>11 / 78.6</b>	<b>27 / 67.5</b>	<b>6 / 75</b>
	Grade4	0 / 0	2 / 5	1 / 12.5
Nécrose	<b>Présente</b>	<b>9 / 64.3</b>	<b>24 / 60</b>	<b>6 / 75</b>
	Absente	5 / 35.7	16 / 40	2 / 25
Extension locale	Extension graisse	4 / 28.6	9 / 22.5	1 / 12.5
	<b>Absente</b>	<b>10 / 71.4</b>	<b>31 / 77.5</b>	<b>7 / 87.5</b>
Extension vasculaire	Emboles et infiltration	1 / 7.1	5 / 12.5	0 / 0
	Thrombus VCI	1 / 7.1	0 / 0	0 / 0
	<b>Absente</b>	<b>12 / 85.7</b>	<b>35 / 87.5</b>	<b>8 / 100</b>
Extension ganglionnaire	Présente	4 / 28.6	10 / 25	0 / 0
	<b>Absente</b>	<b>10 / 71.4</b>	<b>30 / 75</b>	<b>8 / 100</b>
Extension à distance	Présente	2 / 14,3	6 / 15	0 / 0
	<b>Absente</b>	<b>12 / 85.7</b>	<b>34 / 85</b>	<b>8 / 100</b>

Tableau 8 : Récapitulatif des résultats descriptifs de l'analyse anatomopathologique (tumeurs et métastases) des différents sous-groupes

### c) Les caractéristiques cliniques de l'ensemble des CRP non de type 1

L'ensemble de nos données cliniques est résumé dans le tableau 9.

Dans notre étude, l'âge au moment du diagnostic se situait entre 27 et 85 ans avec un âge moyen de 64 ans. On observait, des CRP non de type 1 chez 26% de femmes et chez 74% d'hommes dans notre cohorte. Pour 17% de nos patients, un caractère multifocal des lésions de CRP était retrouvé.

En prenant en compte les facteurs de risque déjà répertoriés dans la littérature, on observait, dans notre cohorte, 22% de patients consommant du tabac, 40% des patients présentant une hypertension artérielle et 14% des patients présentant une insuffisance rénale.

La notion d'antécédents familiaux de cancer du rein était très rarement renseignée. On retrouvait ce type d'information uniquement pour huit patients dont deux présentaient effectivement des antécédents familiaux de cancer du rein.

Concernant la prise en charge chirurgicale, on notait que 71% des patients avaient bénéficié d'une néphrectomie élargie, alors qu'une néphrectomie partielle concernait les autres patients (29%). L'exérèse était complète pour 95% des cas.

Le stade pTNM (annexe 2), évalué systématiquement, montrait qu'il existait une prédominance de stade pT1 chez 57% des patients. Les stades pT2, pT3 et pT4 concernaient respectivement 21%, 19% et 3% des patients. Pour le stade pN, 22% des patients présentaient des métastases ganglionnaires identifiées. Et enfin 12% des patients présentaient des métastases viscérales (M1).

Dans notre cohorte, 22% des patients sont décédés de la maladie et 31% ont présenté une rechute lors du suivi clinique et radiologique annuel.

Le délai de rechute observé dans notre étude était en moyenne de 766 jours

<i>Variables analysées</i>	<i>Modalités</i>	<i>Résultats descriptifs Nombre (n)</i>	<i>Pourcentages %</i>
Sexe	<b>Homme</b>	<b>48</b>	<b>74</b>
	Femme	17	26
Nombre de lésions	<b>Unique</b>	<b>54</b>	<b>83</b>
	Multiple	11	17
Tabac	Présence	14	22
	Absence	51	78
HTA	Présence	26	40
	Absence	39	60
Insuffisance rénale	Présence	9	14
	Absence	56	86
Chirurgie	<b>Néphrectomie élargie</b>	<b>46</b>	<b>71</b>
	Néphrectomie partielle	19	29
Exérèse	<b>Complète</b>	<b>62</b>	<b>95</b>
	Incomplète	3	5
pT	<b>pT1</b>	<b>37</b>	<b>57</b>
	pT2	14	21
	pT3	12	19
	pT4	2	3
N	<b>N0</b>	<b>51</b>	<b>78</b>
	N+	14	22
M	<b>M0</b>	<b>58</b>	<b>89</b>
	M+	7	11
Rechute	Présente	20	31
	<b>Absente</b>	<b>45</b>	<b>69</b>
Décès	Présent	14	22
	<b>Absent</b>	<b>51</b>	<b>78</b>

*Tableau 9 : Récapitulatif des données cliniques de notre étude*

#### **d) Les caractéristiques cliniques propres à chaque sous-groupe**

L'ensemble de nos données cliniques est résumé dans le tableau 10 pour les différents sous-groupes de notre cohorte.

Dans notre étude, l'âge moyen au moment du diagnostic est de 67 ans pour les CRP d'aspect oncocytaire, de 64 ans pour les CRP2 d'aspect homogène et de 62 ans pour les CRP mixtes.

On observe une nette prédominance masculine, au sein de chaque sous-groupe : les CRP d'aspect oncocytaire (64.3%), les CRP2 d'aspect homogène (80%) et les CRP mixtes (62.5%).

Des tumeurs rénales multiples sont décrites dans les CRP d'aspect oncocytaire (14.3%), les CRP2 d'aspect homogène (20%) et les CRP mixtes (12.5%). La présence d'une atteinte unifocale est donc largement majoritaire dans l'ensemble des sous-groupes.

En prenant en compte, les facteurs de risque déjà décrits dans la littérature, on enregistrait les données suivantes concernant la consommation de tabac (CRP d'aspect oncocytaire : 21.4% de patients, CRP2 d'aspect homogène : 20% et CRP mixtes : 37.5%), les cas d'hypertension artérielle (CRP d'aspect oncocytaire : 50% des patients, CRP2 d'aspect homogène : 35% et CRP mixtes : 50%) et enfin les cas d'insuffisance rénale (CRP d'aspect oncocytaire 7.1%, CRP2 d'aspect homogène 12.5% et CRP mixtes 12.5%).

La notion d'antécédents familiaux de cancer du rein était très rarement renseignée. Il existait un seul cas mentionné dans le sous-groupe des CRP d'aspect oncocytaire et un seul autre cas dans le sous-groupe des CRP2 d'aspect homogène.

Concernant la prise en charge chirurgicale, on notait que 78.6% des cas de CRP d'aspect oncocytaire, 72.5% des CRP2 d'aspect homogène et 50% des CRP mixtes, ont bénéficié d'une néphrectomie élargie. Une exérèse incomplète n'a été notifiée que dans le cas de CRP2 d'aspect homogène (7.5%).

Le stade TNM (annexe 2), évalué systématiquement, montrait qu'il existait une prédominance de stade pT1 dans le cadre des CRP d'aspect oncocytaire (50%), les CRP2 d'aspect homogène (55%) et les CRP mixtes (62.5%). Le stade pT4 n'était décrit que dans le cadre des CRP2 d'aspect homogène (5%). Concernant le stade pN, on retrouvait pour 28.6% des CRP d'aspect oncocytaire et 25% des CRP2 d'aspect homogène, la présence de métastases ganglionnaires identifiées. Et enfin pour le stade M, 14.3% des CRP



d'aspect oncocytaire et 12.5% des CRP2 d'aspect homogène présentaient des métastases surrenaliennes et/ou à distance. Il n'a été noté ni métastase ganglionnaire, ni métastase à distance pour le sous-groupe des CRP mixtes.

On a répertorié dans notre cohorte, 21.4% des cas de décès pour les CRP d'aspect oncocytaire, 25% pour les CRP2 d'aspect homogène et 12.5% pour les CRP mixtes. Lors du suivi clinique et radiologique 35.7% de cas de rechutes ont été observés pour les CRP d'aspect oncocytaire, 32.5% pour les CRP2 d'aspect homogène et 12.5% pour les CRP mixtes.

Le délai de rechute observé dans notre étude était en moyenne de 864 jours pour les CRP d'aspect oncocytaire, 635 jours pour les CRP2 d'aspect homogène et 254 jours pour les CRP mixtes.

Variables analysées	Modalités	Résultats descriptifs Nombre (n) / Pourcentage en %		
		CRP oncocytaires	CRP2 homogènes	CRP mixtes
Sexe	<b>Homme</b>	<b>9 / 64.3</b>	<b>32 / 80</b>	<b>5 / 62.5</b>
	Femme	5 / 35.7	8 / 20	3 / 37.5
Nombre de lésion	<b>Unique</b>	<b>12 / 85.7</b>	<b>31 / 77.5</b>	<b>7 / 87.5</b>
	Multiple	2 / 14.3	8 / 20	1 / 12.5
Tabac	Présence	3 / 21.4	8 / 20	3 / 37.5
	<b>Absence</b>	<b>11 / 78.6</b>	<b>32 / 80</b>	<b>5 / 62.5</b>
HTA	Présence	7 / 50	14 / 35	4 / 50
	<b>Absence</b>	<b>7 / 50</b>	<b>26 / 65</b>	<b>4 / 50</b>
Insuffisance rénale	Présence	1 / 7.1	5 / 12.5	1 / 12.5
	<b>Absence</b>	<b>13 / 92.9</b>	<b>35 / 87.5</b>	<b>7 / 87.5</b>
Antécédents familiaux	Présence	1 / 100	1 / 25	0 / 0
	Absence	0 / 0	3 / 75	2 / 100
Type de chirurgie	Néphrectomie partielle	3 / 21.4	11 / 27.5	4 / 50
	<b>Néphrectomie élargie</b>	<b>11 / 78.6</b>	<b>29 / 72.5</b>	<b>4 / 50</b>
Exérèse	<b>Complète</b>	<b>14 / 100</b>	<b>37 / 92.5</b>	<b>8 / 100</b>
	Incomplète	0 / 0	3 / 7.5	0 / 0
pT	<b>pT1</b>	<b>7 / 50</b>	<b>22 / 55</b>	<b>5 / 62.5</b>
	pT2	3 / 21.4	9 / 22.5	2 / 25
	pT3	4 / 28.6	7 / 17.5	1 / 12.5
	pT4	0 / 0	2 / 5	0 / 0
N	<b>N0</b>	<b>10 / 71.4</b>	<b>30 / 75</b>	<b>8 / 100</b>
	N+	4 / 28.6	10 / 25	0 / 0
M	<b>M0</b>	<b>12 / 85.7</b>	<b>35 / 87.5</b>	<b>8 / 100</b>
	M+	2 / 14.3	5 / 12.5	0 / 0
Rechute	Présence	5 / 35.7	13 / 32.5	1 / 12.5
	<b>Absence</b>	<b>9 / 64.3</b>	<b>27 / 67.5</b>	<b>7 / 87.5</b>
Décès	Présence	3 / 21.4	10 / 25	1 / 12.5
	<b>Absence</b>	<b>11 / 78.6</b>	<b>30 / 75</b>	<b>7 / 87.5</b>

Tableau 10 : Récapitulatif des résultats descriptifs de l'analyse clinique des différents sous-groupes

#### e) Les caractéristiques immunohistochimiques des CRP non de type 1

- **Recherche de marqueurs diagnostiques d'entités récentes (Tableau 11)**
- **L'anticorps anti-fumarate hydratase** : 100% de nos cas présentent un marquage cytoplasmique sur plus de 70% de cellules tumorales. Nous n'avons donc pas retrouvé dans notre étude de perte d'expression de FH sur l'ensemble de nos 65 patients (figure 14).

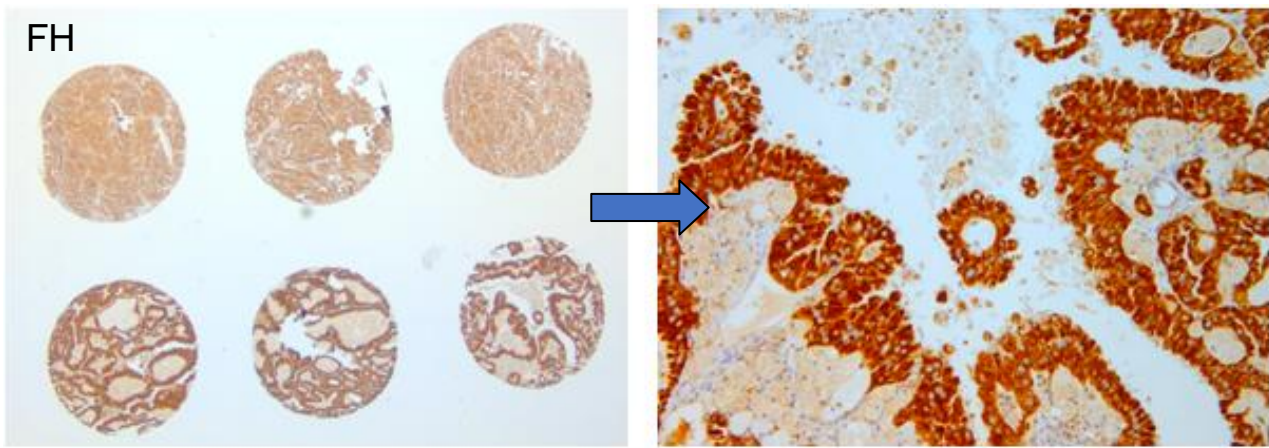


Figure 14 : Résultats obtenus avec l'anticorps anti-FH pour les CRP non de type1 : Analyse après TMA (x5) et exemple de l'immunomarquage positif (x20)

- **L'anticorps anti-SDHB** : 100% de nos cas présentent un marquage cytoplasmique sur plus de 70% des cellules tumorales. Là encore, nous n'avons pas observé, dans notre étude, de perte d'expression de l'enzyme SDHB chez nos 65 patients (figure 15).

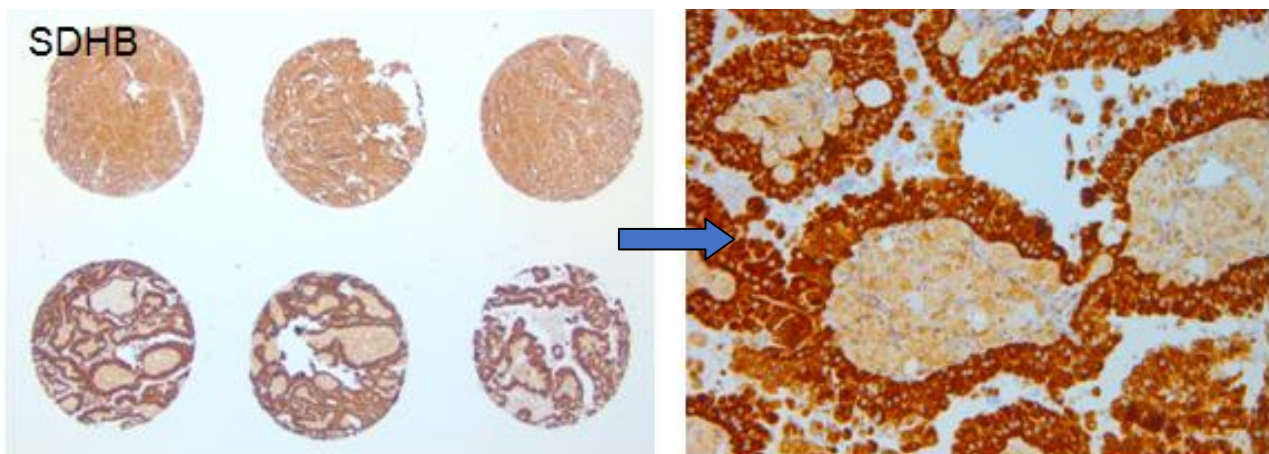


Figure 15 : Résultats obtenus avec l'anticorps anti-SDHB pour les CRP non de type1 : Analyse après TMA (x5) et exemple de l'immunomarquage positif (x20)

- **L'anticorps anti-MelanA** : Aucun des 65 patients testés n'a présenté de marquage significatif avec cet anticorps (figure 16).

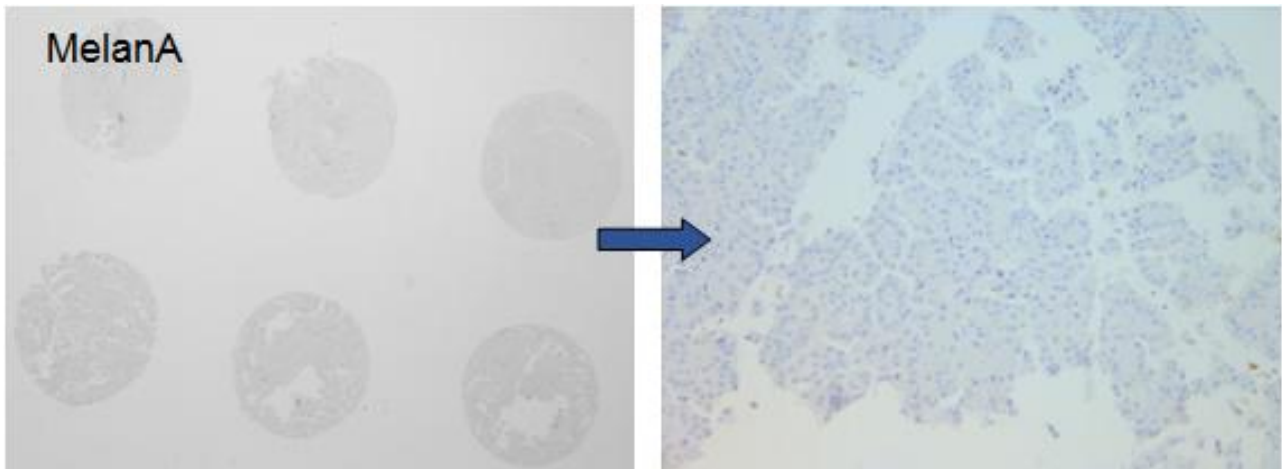


Figure 16 : Résultats obtenus avec l'anticorps anti-MelanA pour les CRP non de type1 : Analyse après TMA (x5) et exemple de l'immunomarquage négatif (x20)

- **L'anticorps anti-TFE3** : Aucun de nos 65 patients testés n'a présenté le marquage nucléaire intense et diffus attendu avec cet anticorps (figure 17).

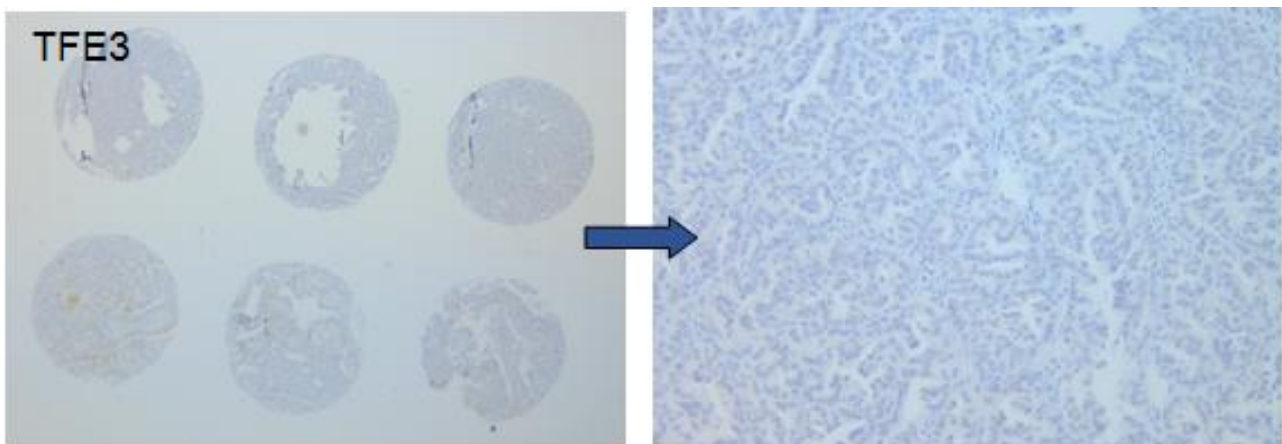


Figure 17 : Résultats obtenus avec l'anticorps anti-TFE3 pour les CRP non de type1 : Analyse après TMA (x5) et exemple de l'immunomarquage négatif (x20)

- **L'anticorps anti-ALK** : Aucun de nos 65 patients testés n'a présenté de marquage pour cet anticorps (figure 18).



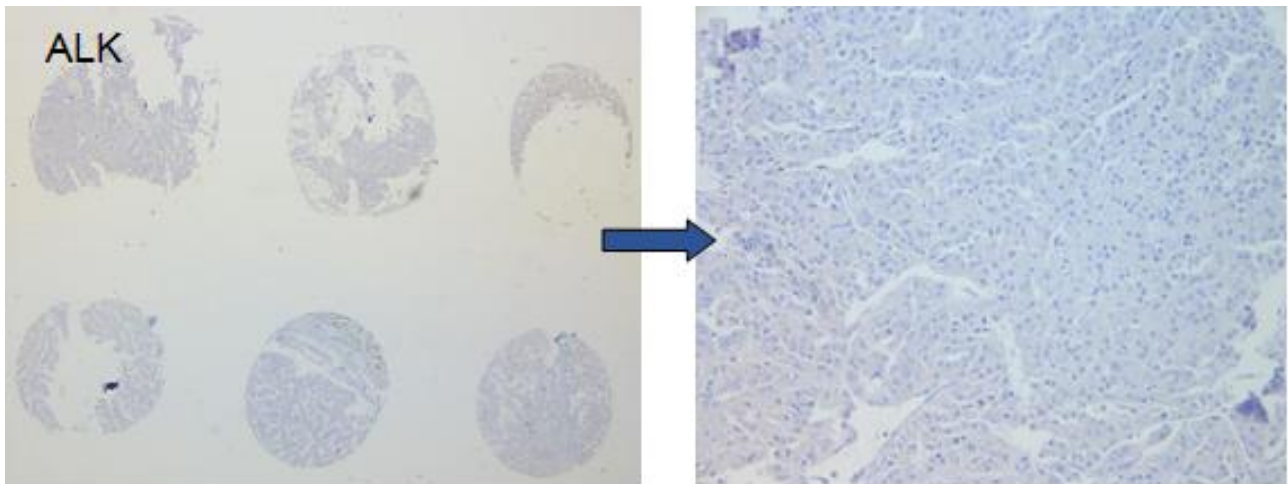


Figure 18 : Résultats obtenus avec l'anticorps anti-ALK pour les CRP non de type1 : Analyse après TMA (x5) et exemple de l'immunomarquage négatif (x20)

- **L'anticorps anti-GATA3** : Un seul cas a présenté une positivité nucléaire significative avec cet anticorps (figure 19). Il s'agit d'un cas de CRP d'aspect oncocytaire où ce type de marquage a déjà été décrit.

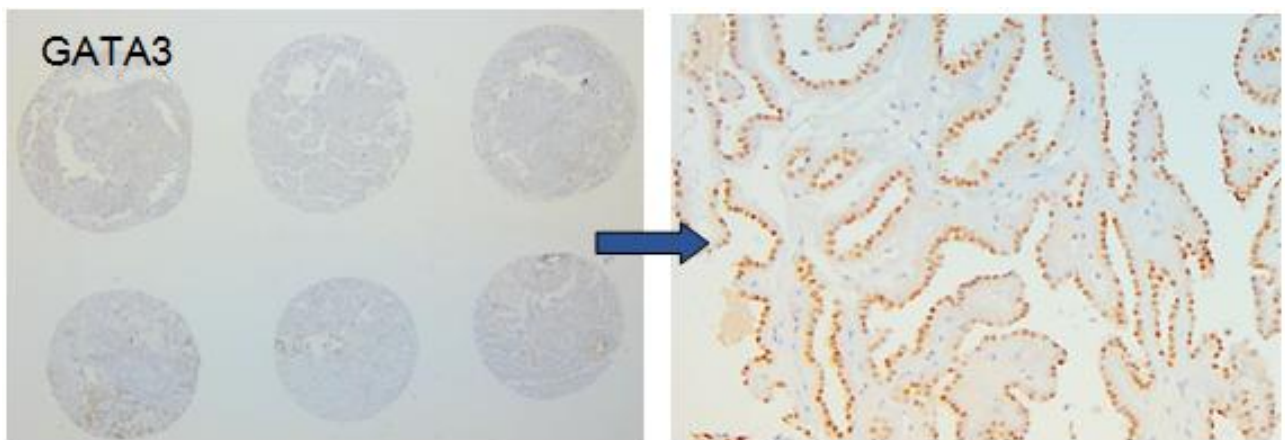


Figure 19 : Résultats obtenus avec l'anticorps anti-GATA3 pour les CRP non de type1 : Analyse après TMA (x5) et exemple d'un immunomarquage positif (x20)

Marqueurs	Elément témoin de l'anomalie	Patients concernés
Anticorps anti-FH	Perte d'expression	Aucun
Anticorps anti-SDHB	Perte d'expression	Aucun
Anticorps anti-MelanA	Expression cytoplasmique	Aucun
Anticorps anti-TFE3	Expression nucléaire	Aucun
Anticorps anti-ALK	Expression cytoplasmique	Aucun
Anticorps anti-GATA3	Expression nucléaire	1 cas de CRP d'aspect oncocytaire

Tableau 11 : Les marqueurs diagnostiques : récapitulatif des résultats d'immunomarquages

- **Evaluation des marqueurs pronostiques (Tableau 12).**

- **L'anticorps anti-BAP1** : 89% des patients présentent un marquage nucléaire positif. Parmi les CRP d'aspect oncocytaire, deux cas sont négatifs (14%). Pour les CRP2 d'aspect homogène, quatre cas sont négatifs (10%). Pour les CRP mixtes, un seul cas est négatif (12,5%). Une perte d'expression de BAP1 (figure 20) n'est donc observée que dans 10% à 14% des cas.

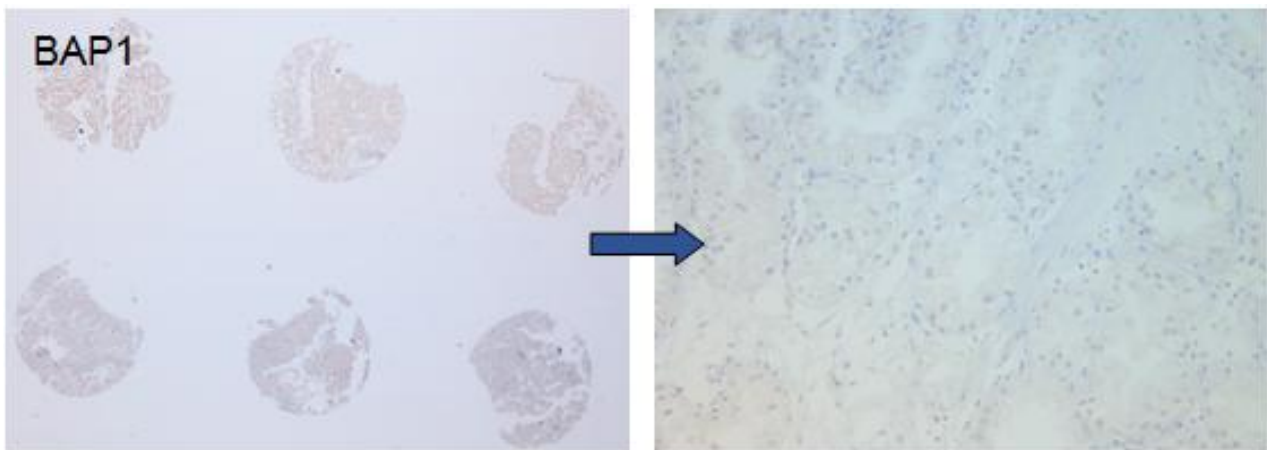


Figure 20 : Résultats obtenus avec l'anticorps anti-BAP1 pour les CRP non de type 1 : Analyse après TMA (x5) et exemple d'un immunomarquage négatif (x20)

- **L'anticorps anti-CAIX** : chez 67% des patients aucun marquage n'était détectable. Pour 30% des patients, seul un marquage focal était observé. Enfin dans 3% des cas on notait l'existence d'une positivité cytoplasmique diffuse (figure 21). Pour les

CRP d'aspect oncocytaire, deux types de marquage ont été enregistrés (négatif 71% et focal 29%), pour les CRP2 d'aspect homogène, trois types de marquages ont été observés (négatif 69%, focal 28%, positivité diffuse 3%) et pour les CRP mixtes, deux types de marquages (négatif 62% et focal 38%).

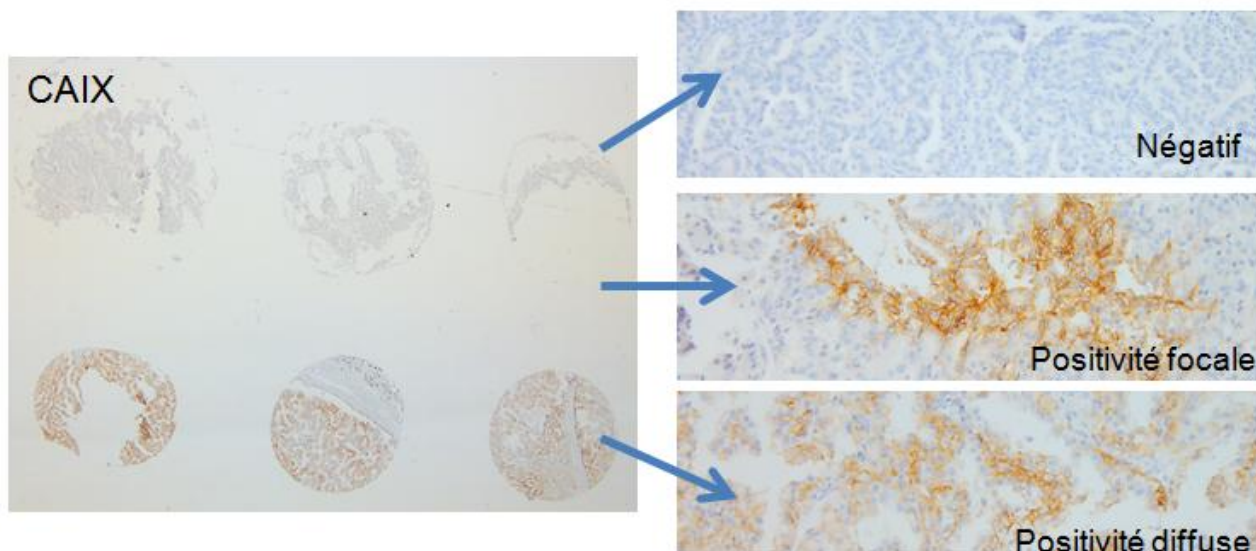


Figure 21 : Résultats obtenus avec l'anticorps anti-CAIX pour les CRP non de type 1 : TMA (x5) et exemple d'un immunomarquage négatif, positif focal et positif diffus (x20).

- **L'anticorps anti-Ki67** : pour 3% des patients, un index de prolifération situé entre 21 et 25% était noté (index le plus élevé dans notre analyse) (Figure 22). Un index de prolifération situé entre 6 et 10% était retrouvé dans 6% des cas (index élevé). Tous les autres cas (91%) présentaient un index de prolifération bas, compris entre 0 et 5% (index faible ou nul). Ce dernier résultat explique la valeur moyenne faible de l'index de prolifération dans notre étude (1.8%). Pour les CRP d'aspect oncocytaire, deux résultats se sont avérés positifs : un cas avait un index très élevé (21-25%) et un autre cas avec un index élevé (6-10%). Pour les CRP2 d'aspect homogène, trois cas présentaient un index élevé (6-10%). Enfin, pour les CRP mixtes, on note uniquement, pour un seul cas, l'existence d'un index très élevé (21-

25%). Un index faible ou nul a été observé, en revanche, pour les trois cas de CRP à cellules claires.

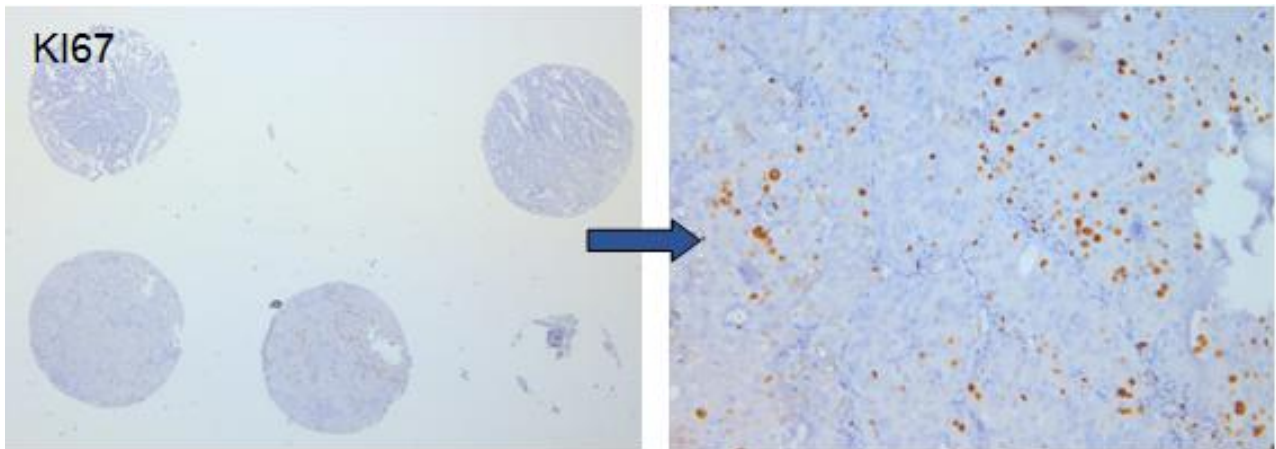


Figure 22 : Résultats obtenus avec l'anticorps anti-Ki67 pour les CRP non de type 1 : Analyse après TMA (x5) et exemple d'un index de prolifération élevé (x20)

- **L'anticorps anti-H3K27M** : Chez 23% des patients, on observe une perte d'un marquage nucléaire qui est constitutionnellement observable dans toutes cellules normales. Pour 77% des autres patients, le marquage nucléaire était intense et diffus (figure 23). Une perte de marquage a ainsi été observée dans deux cas de CRP d'aspect oncocyttaire (14%), dix cas de CRP2 d'aspect homogène (25%) et un seul cas de CRP mixtes (12,5%).

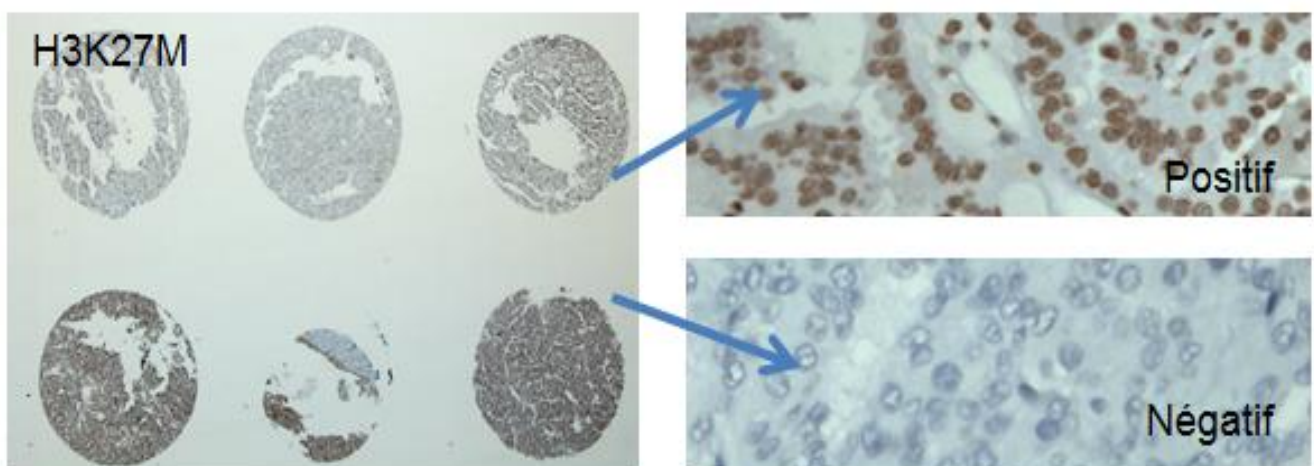


Figure 23 : Résultats obtenus avec l'anticorps anti-H3K27M pour les CRP non de type 1 : Analyse après TMA (x5) et exemple d'un immunomarquage négatif (x20)



- **L'anticorps anti-H3K36M** : Aucun de nos 65 patients étudiés ne présente de marquage nucléaire pour cet anticorps (figure 24).

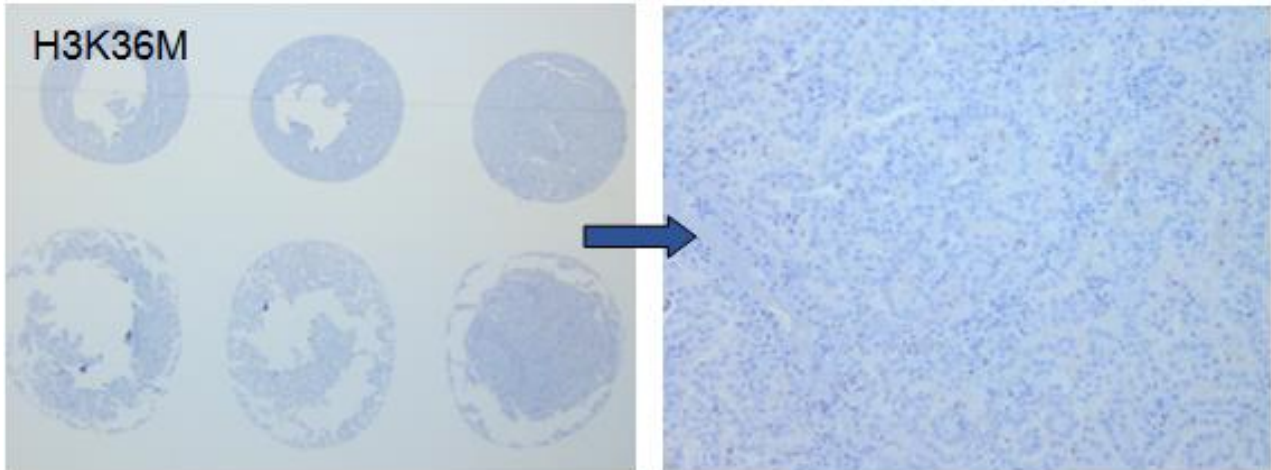


Figure 24 : Résultats obtenus avec l'anticorps anti-H3K36M pour les CRP non de type 1 : Analyse après TMA (x5) et exemple de l'immunomarquage négatif (x20)

- **Evaluation de marqueurs thérapeutiques (Tableau 12).**

- **L'anticorps anti-MET** : pour 5% des patients, l'immunomarquage est négatif. En revanche, 30% des patients présentaient un score 1+, 45% un score 2+ et 20% un score 3+ (figure 26). Pour les CRP d'aspect oncocytaire, on notait les résultats suivants : négatif (7.1%), cinq cas avec un score 1+ (35.7%), cinq cas avec un score 2+ (35.7%) et trois cas avec un score 3+ (21.4%). Pour les CRP2 d'aspect homogène : deux cas avec un score négatif (5.1%), neuf cas avec un score 1+ (23.1%), vingt cas avec un score 2+ (51.3) et huit cas avec un score 3+ (20.5%). Enfin, pour les CRP mixtes : quatre cas avec un score 1+ (50%), deux cas avec un score 2+ (25%) et deux cas avec un score 3+ (25%).

Pour 13 patients présentant un score 3+ en immunohistochimie avec l'anticorps anti-MET, une analyse complémentaire par FISH sur TMA a été réalisée (Figure

26). Celle-ci a permis de mettre en évidence une seule amplification faible avec un ratio égal à 1.9 (1.8 et 2.2) pour un seul patient.

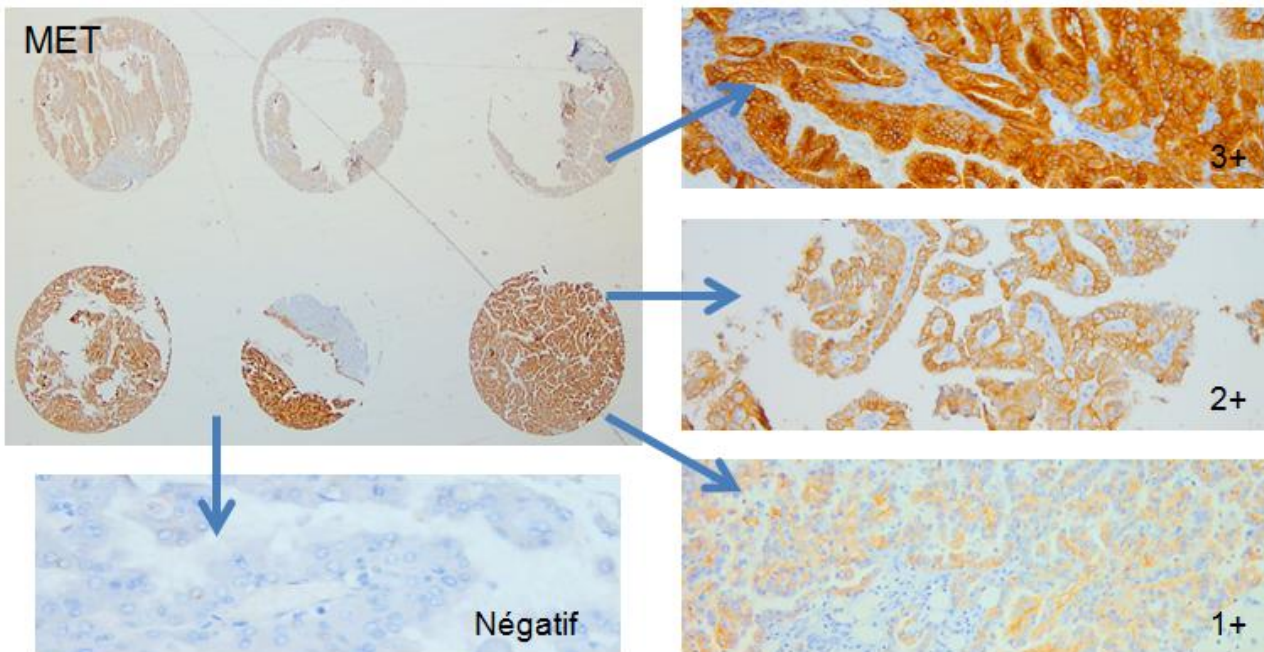


Figure 25 : Résultats obtenus avec l'anticorps anti-MET pour les CRP non de type 1 : Analyse après TMA (x5) et exemple d'un immunomarquage négatif, 1+, 2+ et 3+ (x20)

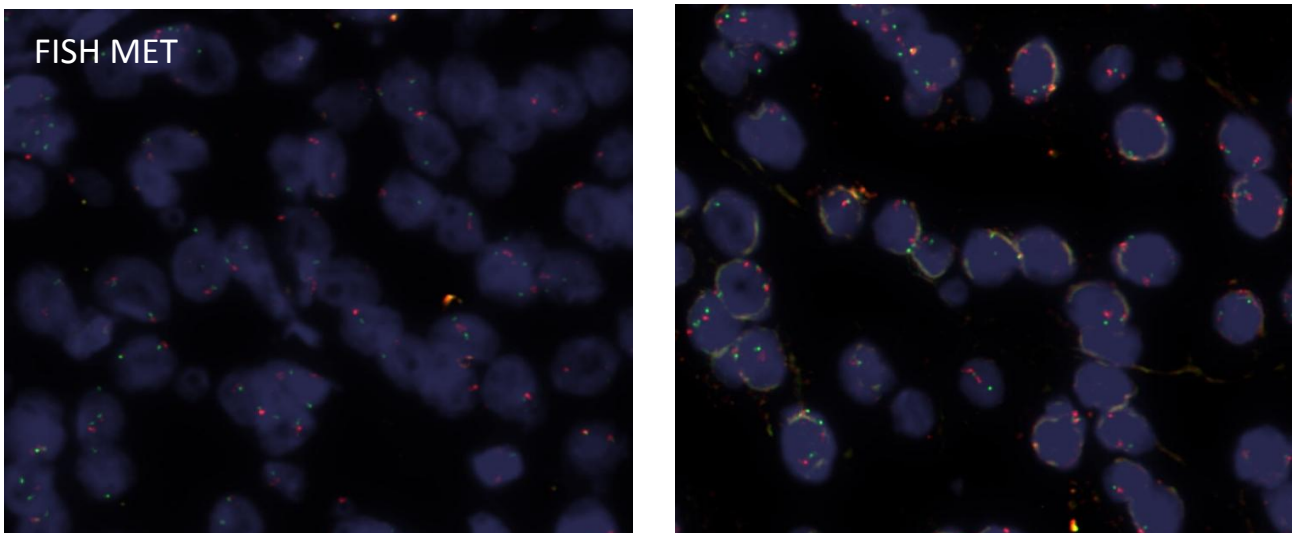


Figure 26 : Résultat obtenu par FISH pour le gène MET(x60) avec le logiciel Bioview.

- **L'anticorps anti PD-L1** : 3% des patients présentaient un marquage membranaire sur plus de 30% de la lésion (un cas de CRP d'aspect oncocytaire et un cas de CRP mixte), 3% présentaient un marquage membranaire inférieur à 30% (deux cas

de CRP d'aspect oncocytaire). Tous les autres cas ne présentaient aucun marquage détectable avec cet anticorps (figure 27).

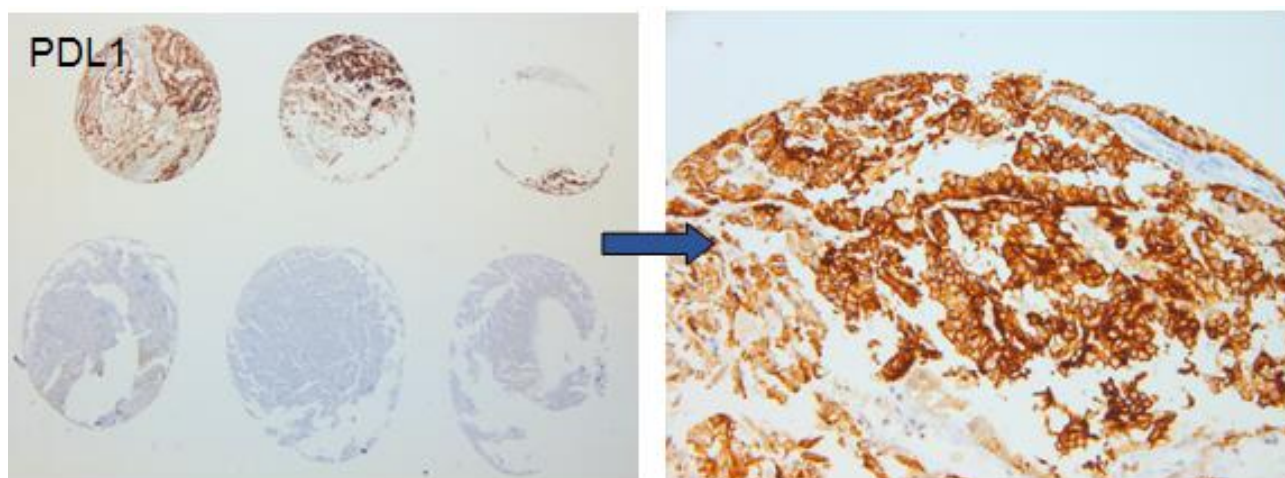


Figure 27 : Résultats obtenus avec l'anticorps anti-PDL1 pour les CRP non de type 1 : Analyse après TMA (x5) et exemple d'un immunomarquage positif (x20)

Marqueurs	Éléments suspecté d'un mauvais pronostique	CRP2 aspect homogène	CRP aspect oncocytaire	CRP mixtes
Anticorps anti-BAP1	Perte d'expression	n=4	n=2	n=1
Anticorps anti-CAIX	Absence de marquage / marquage focal cytoplasmique	n=28/n=11	n=10/n=4	n=5/n=3
Anticorps anti-Ki67	Marquage nucléaire ++ Marquage nucléaire +	n=0 n=3	n=1 n=1	n=1 n=0
Anticorps anti-H3K27M	Perte d'expression	n=10	n=2	n=1
Anticorps anti-H3K36M	Expression nucléaire	n=0	n=0	n=0
Anticorps anti-MET	Expression cytoplasmique et membranaire +++ ++	n=8 n=21	n=3 n=5	n=2 n=2
Anticorps anti PDL1	Expression membranaire >30% <30%	n=0 n=0	n=1 n=2	n=1 n=0

Tableau 12 : Récapitulatif des résultats d'immunomarquages : les marqueurs pronostiques et thérapeutique

## 2) Analyse statistique: évaluation pronostique

Après une première étape de sélection de nos 65 patients, puis le recueil des principales données cliniques et histologiques ; une première évaluation pronostique a été

réalisée. Dans cette perspective, différentes analyses statistiques ont été exploitées (matériels et méthodes) pour tenter d'établir un lien entre certains facteurs de risques, connus ou pouvant être suspectés dans les CRP non de type 1 et les modalités évolutives.

Une courbe de survie sans événements (ni rechute, ni décès) a d'abord été estimée pour nos 65 patients. Cette analyse, illustrée dans la figure 28, a permis d'établir que 50% de notre effectif avait fait une rechute et/ou était décédé au 111<sup>ème</sup> mois du suivi clinique et radiologique.

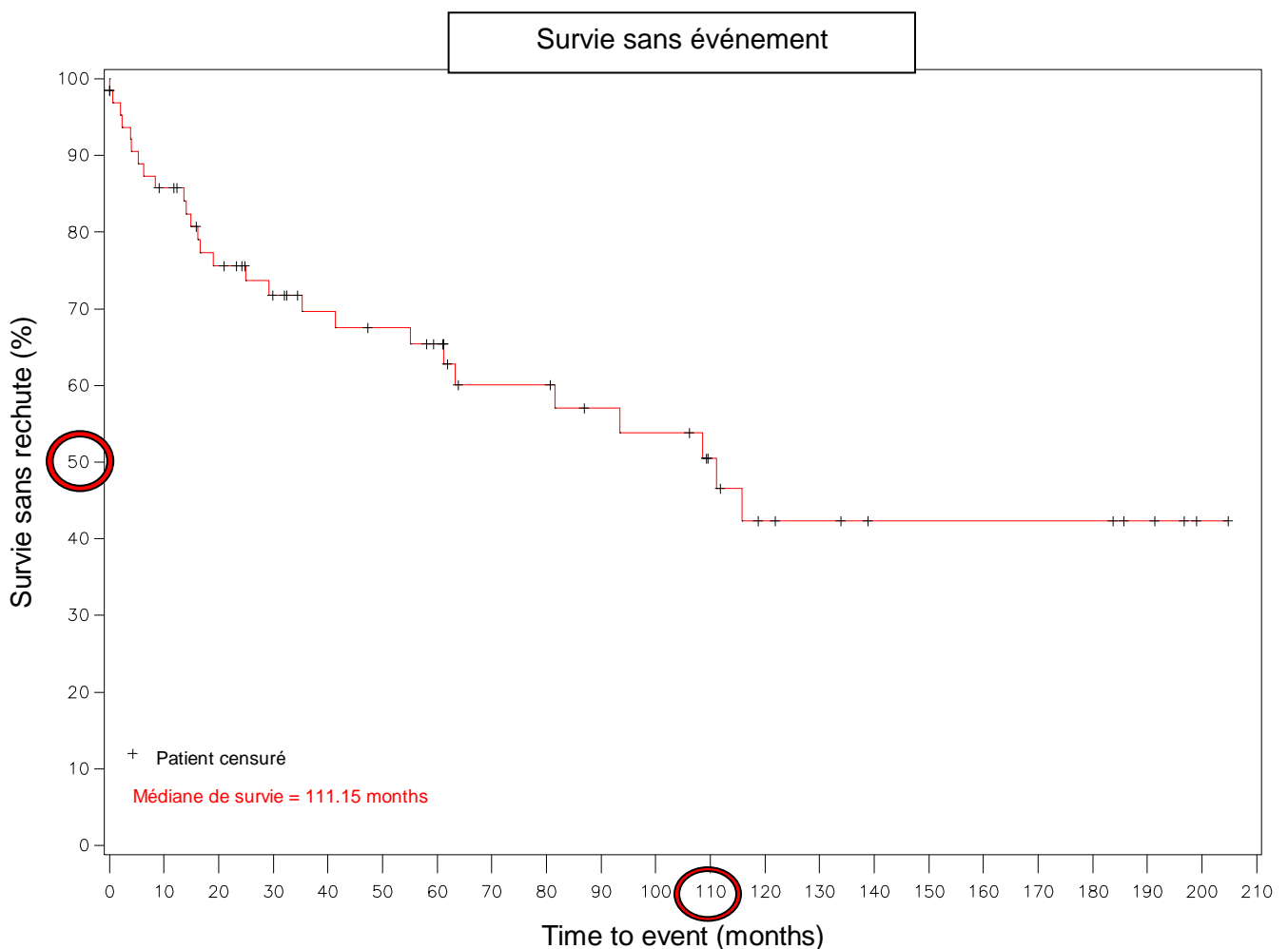


Figure 28: Courbe de survie sans événement (rechute ou décès)

a) **Facteurs pronostiques selon les critères cliniques et histologiques pour les CRP non de type 1**

- **Evaluation pronostique en fonction des éléments cliniques et histologiques pour l'ensemble des CRP non de type 1**

Les différents paramètres analysés et les données statistiques sont présentés dans le tableau 13 :

- Age du patient au moment de la découverte de la tumeur : ce paramètre ne peut être retenu comme un facteur pronostique dans notre étude.
- Sexe : ce paramètre ne peut être retenu comme un facteur pronostique dans notre étude.
- Prise en charge chirurgicale : dans notre étude, il n'y a pas de différence significative pesant sur le pronostic selon que nos patients aient bénéficié d'une néphrectomie élargie ou partielle.
- Modalités de l'exérèse : il n'a pas été mis en évidence de lien entre le pronostic et le type d'exérèse complète ou incomplète, réalisé.
- Grade nucléolaire : ce paramètre ne peut être retenu comme un facteur pronostique dans notre étude.
- Présence d'un contingent sarcomatoïde : il n'a pas été mis en évidence d'impact sur le pronostic dans notre étude.
- Taille tumorale : ce paramètre peut être retenu comme un facteur pronostique dans notre étude. En effet, **plus la taille tumorale augmente, plus le risque de rechute ou de décès augmente de façon significative.**

- Nécrose tumorale : ce paramètre peut être retenu comme un facteur pronostique dans notre étude. **En effet, si la nécrose était présente pour nos CRP analysés, il y avait 2.8 fois plus de risque de rechute et/ou de décès.**
- Stade *pT* : ce paramètre peut être retenu comme un facteur pronostique dans notre étude, uniquement pour le stade *pT3*. **Cela signifie que lorsque nos patients étaient classés *pT3*, ils avaient 4.3 fois plus de risque de rechute et/ou de décès.** Cela est cohérent avec les résultats obtenus concernant la taille tumorale.
- Le stade *pN* : ce paramètre peut être retenu comme un facteur pronostique dans notre étude. **Si nos patients présentaient des métastases ganglionnaires, ils avaient 5.3 fois plus de risque de rechute et/ou de décès.**
- Le stade M : ce paramètre peut être retenu comme un facteur pronostique dans notre étude. **Pour nos patients, la présence de métastases à distance entraînait 5.9 fois plus de risque de rechute et/ou de décès.**
- Extension tumorale locale (extension dans la graisse péri-rénale) : ce paramètre peut être retenu comme un facteur pronostique dans notre étude. **En effet, si nos patients présentaient une extension locale tumorale, ils avaient 3.2 fois plus de risque de rechute et/ou de décès.** Cela est cohérent avec les résultats obtenus pour l'indice *pT3*.
- Extension vasculaire : ce paramètre peut être retenu comme un facteur pronostique dans notre étude. En effet, **la présence d'une extension vasculaire multiplie par 9, le risque de rechute et/ou de décès.**



PARAMETRES	Chi-square	Pr>ChiSq	Hazard Ratio	Intervalle de confiance (Hazard Ratio 95%)		INTERPRETATION
Age au diagnostic	0.2154	0.6425	1.008	0.973	1.045	Non significatif
Sexe	0.0617	0.8039	1.115	0.471	2.643	Non significatif
Type de chirurgie	0.2560	0.6129	0.808	0.353	1.848	Non significatif
Caractère uni ou multifocal	2.7727	0.0959	2.091	0.878	4.984	Non significatif
Grade nucléolaire	2.5740	0.1086	1.946	0.863	4.391	Non significatif
Contingent sarcomatoïde	0.0770	0.7814	1.330	0.178	9.945	Non significatif
<b>Taille tumorale</b>	<b>8.9465</b>	<b>0.0028</b>	<b>1.111</b>	<b>1.037</b>	<b>1.191</b>	<b>Significatif</b>
<b>Nécrose tumorale</b>	<b>5.3140</b>	<b>0.0212</b>	<b>2.798</b>	<b>1.167</b>	<b>6.710</b>	<b>Significatif</b>
<b>Indice pT3</b>	<b>9.2323</b>	<b>0.0024</b>	<b>4.286</b>	<b>1.676</b>	<b>10.958</b>	<b>Significatif</b>
<b>Indice pN</b>	<b>15.7709</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>5.535</b>	<b>2.335</b>	<b>12.190</b>	<b>Significatif</b>
<b>Indice M</b>	<b>15.2890</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>5.957</b>	<b>2.435</b>	<b>14.572</b>	<b>Significatif</b>
<b>Extension tumorale locale</b>	<b>7.5731</b>	<b>0.0059</b>	<b>3.188</b>	<b>1.396</b>	<b>7.279</b>	<b>Significatif</b>
<b>Extension vasculaire</b>	<b>17.8513</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>9.078</b>	<b>3.263</b>	<b>25.257</b>	<b>Significatif</b>
<b>Extension ganglionnaire</b>	<b>15.7709</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>5.335</b>	<b>2.335</b>	<b>12.190</b>	<b>Significatif</b>
<b>Métastases</b>	<b>11.4733</b>	<b>0.0007</b>	<b>4.682</b>	<b>1.916</b>	<b>11.439</b>	<b>Significatif</b>

Tableau 13 : Tableau récapitulatif des analyses statistiques pour les éléments cliniques et histologiques concernant l'ensemble des CRP non de type 1.

- **Evaluations pronostiques clinique et morphologique en fonction des différents sous-groupes des CRP non de type1**

L'analyse statistique pronostique a été réalisée sur les quatre morphotypes : les CRP2 d'aspect homogène, les CRP mixtes, les CRP avec aspect oncocytaire ou à cellules claires. Les résultats sont présentés dans le tableau 14 et illustré dans la figure 30.

**Modalités évolutives** : Lorsque l'on prend en compte la notion d'évolution sans survenue d'événement (rechute et/ou décès), il n'a pas été mis en évidence de caractère péjoratif distinctif entre les quatre sous-groupes. A titre d'exemple, on note que la courbe de survie sans événement des CRP2 d'aspect homogène est superposable à la courbe de survie globale (Figure 29).

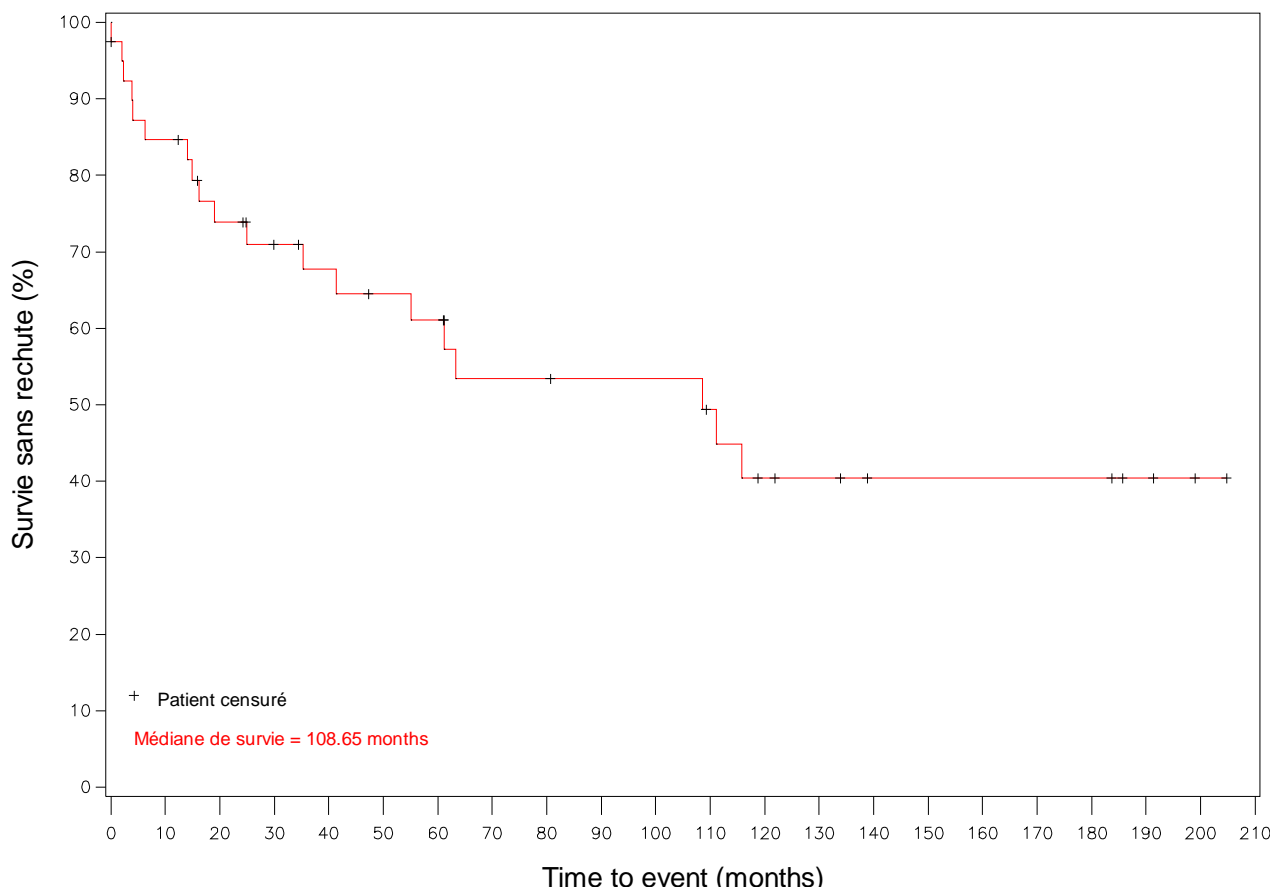


Figure 29 : Courbe de survie sans événement (rechute et/ou décès) pour les CRP2 d'aspect homogène



Le cas des CRP2 d'aspect homogène : dix-neuf patients sur quarante (48%) sont décédés et/ou ont présenté une rechute lors du suivi. C'est dans ce sous-groupe que l'on note une tendance évolutive qui paraît toutefois la moins favorable (13 rechutes et 10 décès).

Le cas des CRP mixtes : deux patients sur huit (25%) sont décédés et/ou ont présenté une rechute. Dans ce sous-groupe, un patient a fait une rechute et un patient est décédé :

- Le premier présentait un stade tumoral pT1N0 lors du diagnostic. Il a rechuté un an plus tard, avec l'apparition d'une tumeur rénale controlatérale. Lors du suivi clinique et radiologique étalé sur 10 ans, l'évolution est restée stable.
- Le deuxième patient présentait un stade tumoral pT3N0 au moment du diagnostic. Il est décédé d'un choc septique un an plus tard, dans les suites de son opération pour un carcinome urothélial.

Le cas des CRP à cellules claires : sur les trois patients figurant dans notre panel, un seul a fait une rechute, les deux autres n'ont connu aucune évolution défavorable (66%). La rechute est apparue, 7ans après un premier diagnostic de CRP. Elle s'est traduite par l'apparition de multiples CRCC, cette fois ci, traités par radiofréquence et cryothérapie. Dix ans plus tard, il a développé un carcinome rénal indifférencié sarcomatoïde de haut grade.

Le cas des CRP d'aspect oncocytaire : sur les quatorze patients suivis, cinq sont décédés et/ou ont présenté une rechute (36%) ; avec 5 rechutes et 3 décès.

PARAMETRES	Chi-square	Pr>ChiSq	Hazard Ratio	Intervalle de confiance (Hazard Ratio 95%)		INTERPRETATION
Morphologie oncocytaire	0.0477	0.8271	0.897	0.339	2.376	Non significatif
Morphologie à cellules claires	0.0830	0.7733	0.743	0.099	5.600	Non significatif
Morphologie CRP mixtes	0.2676	0.6050	0.678	0.155	2.958	Non significatif
Morphologie CRP2 homogène	0.3260	0.5681	1.275	0.553	2.941	Non significatif

Tableau 14 : Tableau récapitulatif des analyses statistiques pour les CRP non de type 1

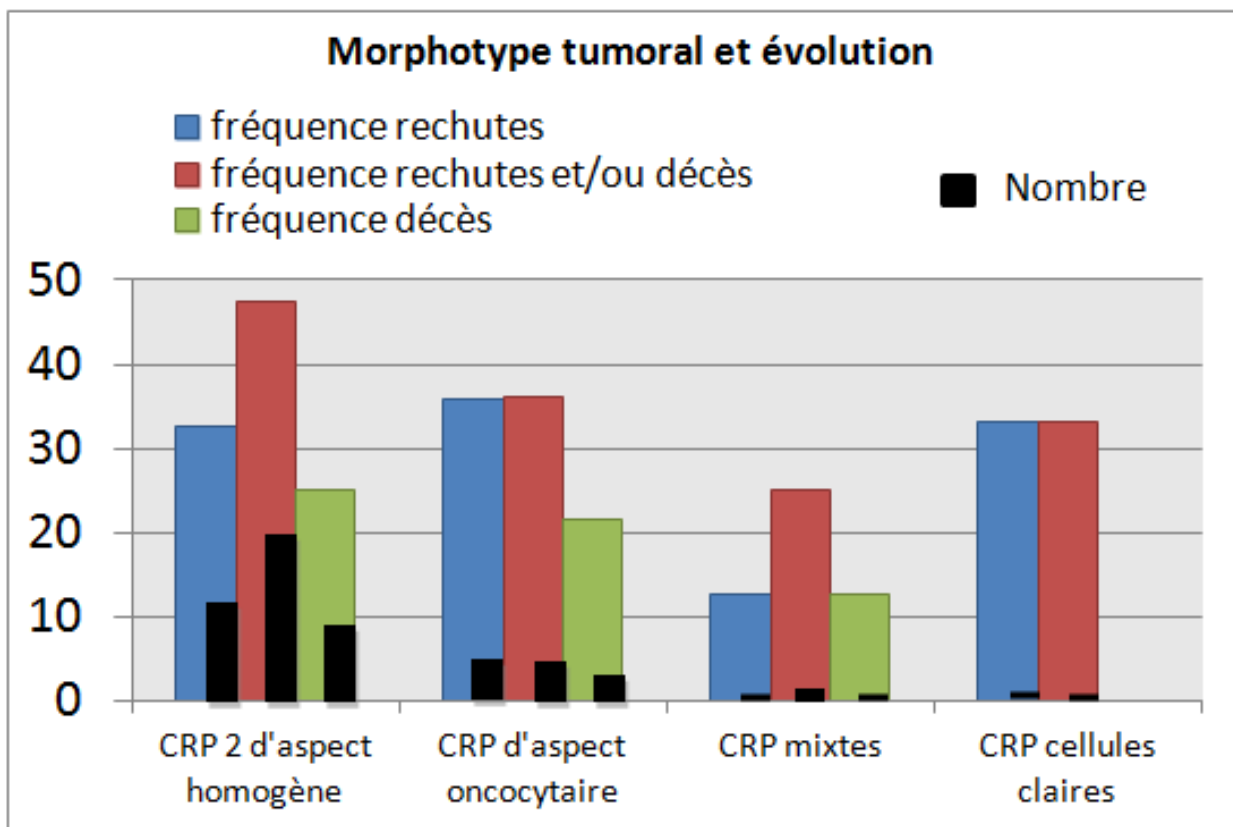


Figure 30 : Fréquence (pourcentage) et nombre des différents morphotypes tumoraux en fonction des rechutes et/ou des décès

**Données cliniques et morphologiques :** L'analyse statistique pronostique considérant les données cliniques et morphologiques a été réalisée pour les CRP2 d'aspect homogène (Tableau 15) et les CRP d'aspect oncocytaire (Tableau 16), illustrée également dans la figure 31. Elle n'a pas été réalisée pour les CRP à cellules claires (n=3) ni pour les CRP mixtes (n=8) en raison des effectifs trop restreints.

CRP2 d'aspect homogène (n=40):

L'âge du patient lors du diagnostic, le sexe, le grade nucléolaire sont autant de paramètres qui ne semblent exercer aucune influence sur les modalités évolutives de la maladie. Toutefois, pour le grade nucléolaire, nous avons observé que deux des trois cas ayant un grade 4 étaient des CRP 2 d'aspect homogène. Le premier patient présentait un stade tumoral pT1N0. Après deux ans de suivi, on n'observait ni rechute, ni décès. Le deuxième patient présentait un stade tumoral pT3N+M+. Il a rechuté deux mois après le diagnostic initial. Il n'est pas décédé après un an de suivi. Le dernier cas, classé parmi les CRP mixtes, présentait un stade tumoral pT2N0. Au cours des 6 ans de suivi, on n'observait ni rechute, ni décès.

D'autres paramètres, en revanche, ont une influence sur les modalités évolutives de la maladie. C'est le cas pour :

***La taille tumorale :* lorsque celle-ci s'accroît de 1 cm, le risque de rechute et/ou de décès augmente de façon significative.**

***La nécrose tumorale :* lorsqu'elle était présente il y avait 4 fois plus de risque de rechute et/ou de décès.**

***L'extension tumorale locale (extension dans la graisse péri-rénale) :* si nos patients présentaient une extension locale tumorale, ils avaient 5 fois plus de risque de rechute et/ou de décès.**

*Le stade pN* : si les patients présentaient un envahissement ganglionnaire, ils avaient 6 fois plus de risque de rechute et/ou de décès.

*Le stade M* : la présence de métastases à distance entraînait 8 fois plus de risque de rechute et/ou de décès.

PARAMETRES	Chi-square	Pr>ChiSq	Hazard Ratio	Intervalle de confiance (Hazard Ratio 95%)		INTERPRETATION
Age au diagnostic	0.1473	0.7011	1.008	0.968	1.050	Non significatif
Sexe	1.6291	0.2018	2.599	0.600	11.266	Non significatif
Grade nucléolaire	2.1758	0.1402	2.074	0.787	5.465	Non significatif
<b>Taille tumorale</b>	<b>7.6081</b>	<b>0.0058</b>	<b>1.124</b>	<b>1.034</b>	<b>1.221</b>	<b>Significatif</b>
<b>Nécrose tumorale</b>	<b>6.4942</b>	<b>0.0108</b>	<b>4.273</b>	<b>1.398</b>	<b>13.058</b>	<b>Significatif</b>
<b>Indice N</b>	<b>12.1688</b>	<b>0.0005</b>	<b>6.348</b>	<b>2.247</b>	<b>17.929</b>	<b>Significatif</b>
<b>Indice M</b>	<b>12.5772</b>	<b>0.0004</b>	<b>8.349</b>	<b>2.584</b>	<b>26.978</b>	<b>Significatif</b>
<b>Extension tumorale locale</b>	<b>7.8571</b>	<b>0.0051</b>	<b>5.001</b>	<b>1.623</b>	<b>15.413</b>	<b>Significatif</b>
<b>Extension ganglionnaire</b>	<b>12.1688</b>	<b>0.0005</b>	<b>6.348</b>	<b>2.247</b>	<b>17.929</b>	<b>Significatif</b>
<b>Métastases</b>	<b>11.4733</b>	<b>0.0007</b>	<b>4.682</b>	<b>1.916</b>	<b>11.439</b>	<b>Significatif</b>

Tableau 15 : Tableau récapitulatif des analyses statistiques pour les éléments cliniques et histologiques concernant le sous-groupe CRP2 d'aspect homogène.

CRP d'aspect oncocytaire (n=14) :

Aucun des paramètres sus-cités n'apparaît impliqué, de manière significative, sur les modalités évolutives de la maladie.

PARAMETRES	Chi-square	Pr>ChiSq	Hazard Ratio	Intervalle de confiance (Hazard Ratio 95%)		INTERPRETATION
Age au diagnostic	0.5894	0.4426	1.060	0.913	1.231	Non significatif
Sexe	1.7311	0.1883	2.299	0.049	1.807	Non significatif
Taille tumorale	0.4036	0.5253	1.050	0.904	1.220	Non significatif
Nécrose tumorale	0.0317	0.8588	1.178	0.194	7.136	Non significatif
Indice pT3	0.7953	0.3725	3.024	0.266	34.402	Non significatif
Indice M	2.1086	0.1465	3.868	0.624	23.872	Non significatif
Extension tumorale locale	0.1387	0.7095	1.414	0.228	8.764	Non significatif
Extension ganglionnaire	2.0295	0.1543	3.694	0.612	22.294	Non significatif

*Tableau 16 : Tableau récapitulatif des analyses statistiques pour les éléments cliniques et histologiques concernant le sous-groupe CRP2 d'aspect oncocytaire.*

## Données anatomopathologiques

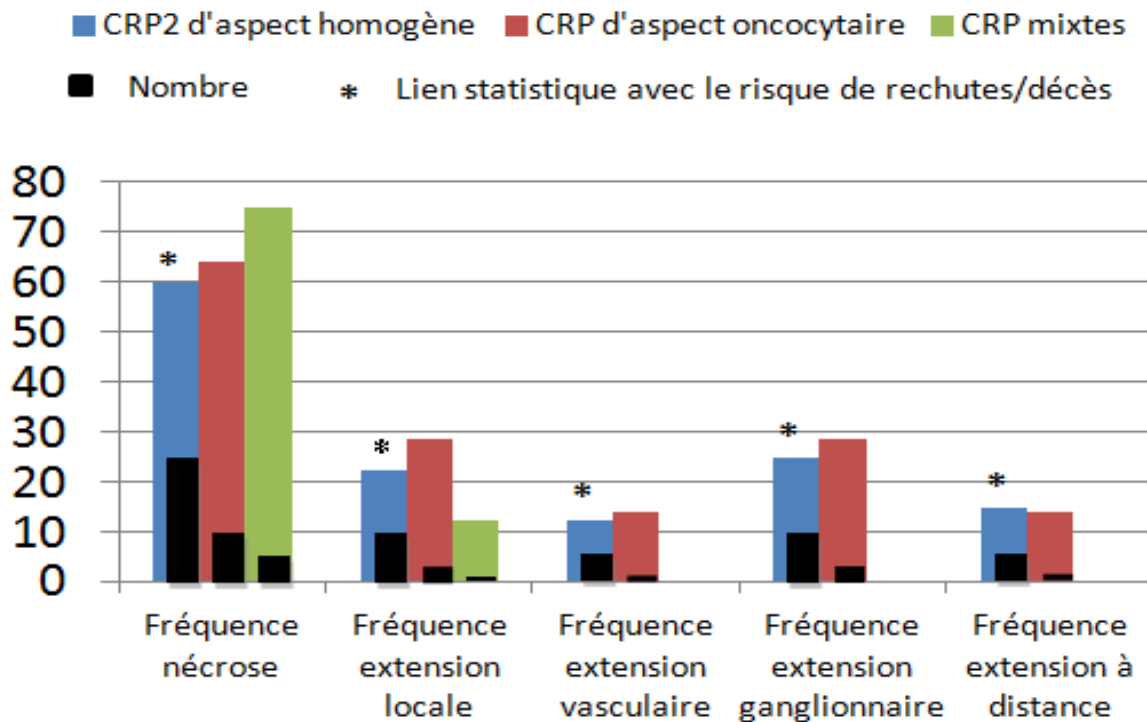


Figure 31 : Fréquence (pourcentage), nombre et lien statistique pour les données anatomopathologiques en fonction du risque de rechute et/ou de décès

### b) Facteurs pronostiques selon les marqueurs immunohistochimiques

- **Evaluation des marqueurs pronostiques pour l'ensemble des CRP non de type 1**

Après une première évaluation pronostique où les données cliniques et histologiques ont été confrontées aux modalités évolutives des CRP, nous complétons cette enquête en prenant en compte les différents marqueurs choisis pour l'analyse immunohistochimique. Dans cette perspective, différentes analyses statistiques ont été exploitées (matériels et méthodes) pour tenter d'établir un lien entre certains marqueurs, connus ou suspectés dans les CRP non de type 1 et le risque de décès et/ou rechute.

L'ensemble des résultats obtenus et les données statistiques sont présentés dans le tableau 17 :

- **Index de prolifération évalué avec l'anticorps anti-Ki67** : ce paramètre ne peut être retenu comme un facteur pronostique dans notre étude. Néanmoins, les résultats montrent une tendance entre la présence d'un index de prolifération supérieur à 5% et un risque d'évolution péjorative.
- **Marquage avec l'anticorps anti-BAP1** : ce paramètre ne peut être retenu comme un facteur pronostique dans notre étude.
- **Marquage avec l'anticorps anti-CAIX** : cette analyse n'a pu faire l'objet d'une étude statistique. En effet, il existait trop peu d'événements associés à une positivité cytoplasmique/membranaire diffuse (n=2) comparés à la positivité cytoplasmique/membranaire focale (n=19) ou à l'absence de marquage (n=43).
- **Marquage avec l'anticorps anti-GATA3**, potentiellement observé dans les CRP d'aspect oncocytaire ou à cellules claires : pour les CRP à cellules claires, nous avons un trop faible effectif (n=3) pour la recherche d'un lien pronostique, d'autant qu'aucun cas ne s'est révélé positif.  
  
Pour les CRP d'aspect oncocytaire (n=14), l'effectif était là encore trop faible pour étudier un lien pronostique, d'autant là encore, qu'un seul cas s'est révélé positif.
- **Marquage avec l'anticorps anti-H3K27M** : ce paramètre ne peut être retenu comme un facteur pronostique dans notre étude.
- **Marquage avec l'anticorps anti-MET** : ce paramètre ne peut être retenu comme un facteur pronostique dans notre étude. Aucun lien statistique pronostique n'a pu être mis en évidence dans notre étude pour un score immunohistochimique 2+ ou 3+. Le score 2+ ou 3+ ne correspond donc pas à un facteur de mauvais pronostique lors de notre analyse.

PARAMETRES	Chi-square	Pr>ChiSq	Hazard Ratio	Intervalle de confiance (Hazard Ratio 95%)		INTERPRETATION
Ki67	2.2564	0.1331	1.053	0.984	1.127	Non significatif
BAP1	0.1187	0.7304	1.235	0.371	4.112	Non significatif
H3K27M	0.1352	0.7132	0.833	0.315	2.203	Non significatif
MET	0.2267	0.6340	0.829	0.383	1.795	Non significatif

Tableau 17 : Tableau récapitulatif des analyses statistiques pour les marqueurs immunohistochimiques à valeur pronostique

- **Evaluation des marqueurs pronostiques pour les sous-groupes de CRP non de type1**

L'ensemble des résultats obtenus et les données statistiques sont illustrés dans la figure 32 et détaillés dans le tableau 18 pour les CRP2 d'aspect homogène et dans le tableau 19 pour les CRP d'aspect oncocytaire :

**Index de prolifération évalué avec l'anticorps anti-Ki67** : ce paramètre n'a pu être retenu comme un facteur pronostique pour les CRP d'aspect oncocytaire. En revanche, un index de prolifération supérieur à 5% apparaît être un facteur de mauvais pronostic dans le cadre des CRP d'aspect homogène. Dans notre étude, six patients présentaient un index de prolifération supérieur à 5%. Trois patients avaient été classés parmi les CRP2 d'aspect homogène, deux parmi les CRP d'aspect oncocytaire et un seul parmi les CRP mixtes.

**Ainsi, lors de l'analyse en sous-groupes, l'index de prolifération supérieur à 5% est apparu comme un facteur de mauvais pronostic pour les CRP2 d'aspect homogène avec un risque accru de rechute et/ou de décès.**



**Marquage avec l'anticorps anti-BAP1** : ce paramètre ne peut être retenu comme un facteur pronostique ni pour les CRP2 d'aspect homogène ni pour les CRP d'aspect oncocytaire.

**Marquage avec l'anticorps anti-CAIX** : cette analyse n'a pu faire l'objet d'une étude statistique pour les CRP2 d'aspect homogène. En effet, il existait trop peu d'événements. Pour les CRP d'aspect oncocytaire, ce paramètre ne peut être retenu comme un facteur pronostique.

**Marquage avec l'anticorps anti-H3K27M** : ce paramètre ne peut être retenu comme un facteur pronostique pour les CRP2 d'aspect homogène. L'analyse statistique n'a pas pu être réalisée pour les CRP d'aspect oncocytaire.

**Marquage avec l'anticorps anti-MET** : ce paramètre ne peut être retenu comme un facteur pronostique pour les CRP2 d'aspect homogène. Aucun lien statistique pronostique n'a pu être mis en évidence dans notre étude pour un score immunohistochimique 2+ ou 3+. Ces scores ne correspondraient donc pas à un facteur de mauvais pronostic dans les conditions de notre analyse. L'étude statistique n'a pas pu être réalisée pour les CRP d'aspect oncocytaire.

PARAMETRES	Chi-square	Pr>ChiSq	Hazard Ratio	Intervalle de confiance (Hazard Ratio 95%)		INTERPRETATION
Ki67	4.5337	0.0332	1.257	1.018	1.551	Significatif
BAP1	0.1472	0.7012	1.333	0.307	5.799	Non significatif
H3K27M	0.6738	0.4117	0.596	0.174	2.049	Non significatif
MET	0.3959	0.5292	2.037	0.222	18.682	Non significatif

Tableau 18 : Tableau récapitulatif des analyses statistiques pour les marqueurs immunohistochimiques à valeur pronostique concernant les CRP2 d'aspect homogène.

PARAMETRES	Chi-square	Pr>ChiSq	Hazard Ratio	Intervalle de confiance (Hazard Ratio 95%)		INTERPRETATION
Ki67	2.8152	0.0934	1.088	0.986	1.202	Non significatif
BAP1	0.5054	0.4771	0.438	0.045	4.258	Non significatif
CAIX	2.0295	0.1543	3.694	0.612	22.294	Non significatif

Tableau 19 : Tableau récapitulatif des analyses statistiques pour les marqueurs immunohistochimiques à valeur pronostique concernant les CRP d'aspect oncocytaire.

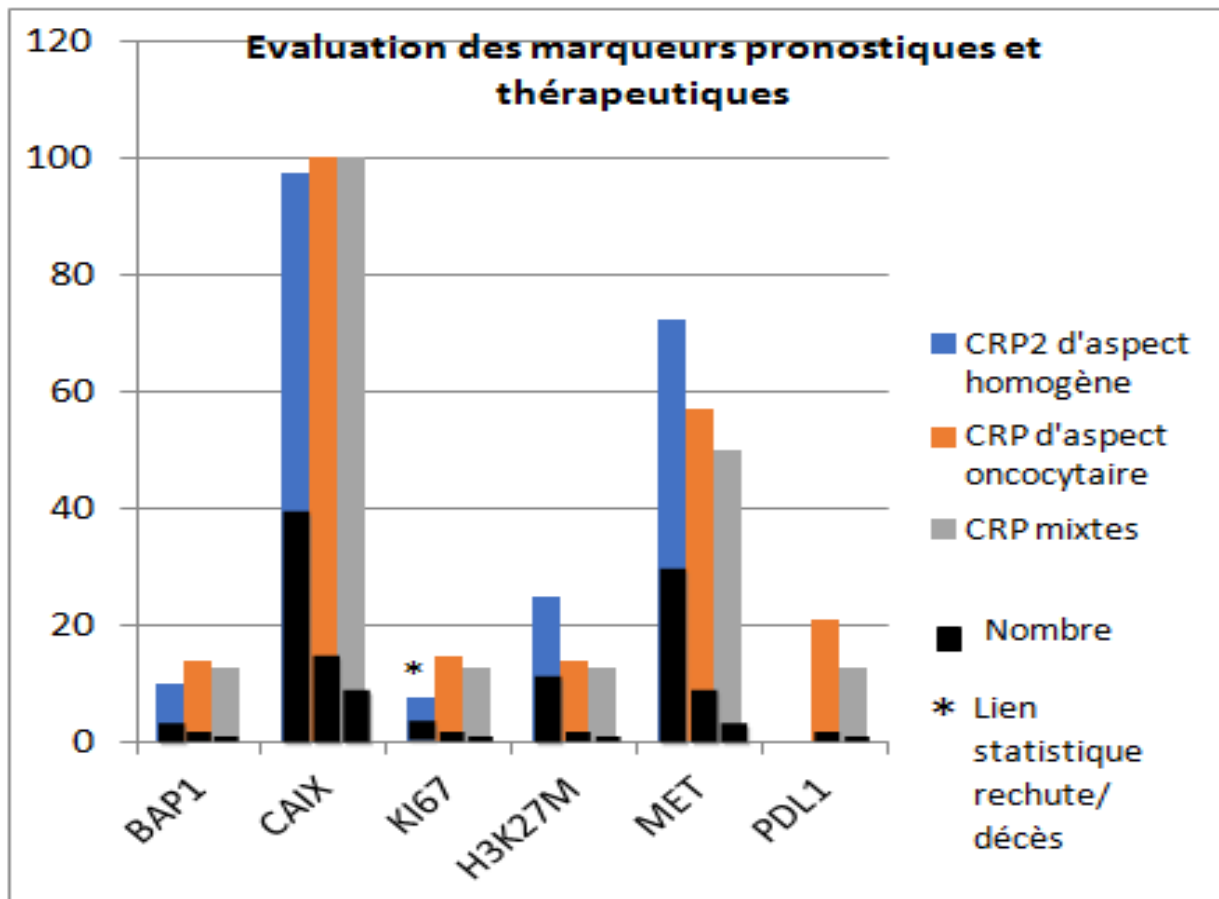


Figure 32 : Fréquence (pourcentage), nombre et lien statistique des marqueurs pronostiques et thérapeutiques en fonction du risque de rechute et/ou de décès

# DISCUSSION

Les données de la littérature et notre expérience clinicopathologique mettent en exergue le caractère très hétérogène des CRP. Si l'identification du CRP de type 1 semble, de nos jours, mieux définie avec des critères morphologiques et moléculaires qui paraissent établis (2) ; en revanche, les CRP non de type 1 restent mal caractérisés. Une mise au point, prenant en compte, la nouvelle classification de l'OMS 2016 et les données les plus récentes de la littérature, peut s'avérer aujourd'hui utile pour tenter de mieux définir ce groupe composite. C'est, bien entendu aussi, un préalable indispensable pour la mise en œuvre ultérieure d'un traitement plus approprié des CRP. Après avoir rappelé et justifié le cadre de notre étude, nous discuterons des principaux résultats acquis concernant la recherche de nouveaux marqueurs diagnostiques et pronostiques.

## **1) Identification et reclassement morphologiques des CRP non de type 1**

### **a) Cas retenus**

Le choix d'une étude élargie portant sur un panel sélectionné de CRP non de type 1 nous paraît légitime. En effet, les éléments d'analyses strictement morphologiques sont parfois d'interprétation délicate voire trompeuse. Ils ne permettent pas toujours l'établissement d'une classification assurée. En témoigne, l'existence des formes mixtes, de variants, de formes reclassées de CRP décrites dans la littérature (23–28). Des études récentes immunohistochimiques et moléculaires, notamment celle de *Saleeb et al* (51), remettent aussi en question une subdivision qui ne serait restreinte qu'à deux sous-types histologiques des CRP : CRP1 et CRP2. Notre étude montre bien qu'une partie des CRP

ne peut être classée dans l'une ou l'autre de ces catégories. Ces CRP non classés sont d'ailleurs souvent identifiés à tort comme des CRP2 et/ou retenus comme un diagnostic d'exclusion. Dans l'étude précédemment citée, quatre catégories de CRP présentant un profil immunohistochimique et un pronostic différents, ont été décrits. Ainsi les CRP1 (anticorps anti-CAIX et anti-GATA3 -), les CRP2 d'aspect homogène (anticorps anti-CAIX+), des CRP d'aspect mixte évoluant comme des CRP2 (anticorps anti-CAIX-) et enfin les CRP de type oncocytaire (anticorps anti GATA3+), ont été distingués. Un travail plus récent encore, met aussi en évidence la multiplicité des formes de CRP avec un large spectre d'anomalies moléculaires (29).

Devant une telle diversité de données, nous avons pris le parti, de prendre comme critère de choix initial, l'aspect morphologique de différents types de CRP. Cette démarche nous a permis d'établir une cohorte de 65 cas de CRP non de type 1 qui a fait l'objet de notre étude. Toutes les tumeurs retenues présentaient, une architecture papillaire majoritaire. Cependant, on pouvait observer, dans certains cas, des secteurs atypiques (aspect mixte, oncocytaire ou à cellules claires) associés aux CRP2. Le fait que ces différents aspects soient associés aux CRP2 pourrait être lié à un risque d'évolution plus péjorative (22). Ainsi, dans notre cohorte, nous avons une majorité de CRP2 d'aspect homogène (61.5%), des CRP mixtes (12.5%), des CRP2 avec un aspect oncocytaire associé (21.5%) et enfin des CRP2 présentant un contingent à cellules claires (4.5%). Ce dernier aspect, ici peu représenté, n'est décrit, dans la littérature, que dans 2 à 9% des carcinomes rénaux (26,50).

#### **b) Données cliniques chez nos 65 patients**

L'analyse rétrospective, réalisée après lecture des 65 dossiers sélectionnés, qui rassemble nos quatre sous-groupes, permet de recueillir certaines informations et

caractéristiques cliniques, déjà décrites dans la littérature (4,5,7). Pour l'ensemble des données mentionnées, nous n'observons pas de différences significatives entre l'analyse descriptive globale et les renseignements fournis par l'analyse descriptive propre à chaque sous-groupe. Aucun caractère distinctif clinique ne peut donc être attribué à un sous-groupe particulier.

Ainsi, l'âge moyen de survenue de ce type de cancer (65-70ans), une nette prédominance masculine (74%), et les modalités évolutives (risques de rechute et/ou décès) sont comparables.

Les différents facteurs de risques, habituellement décrits, sont ici retrouvés (7).

Nous avons une majorité de tumeur unique (83%), résultat attendu dans le ce cadre de CRP non de type 1. En effet, le caractère multifocal de CRP est essentiellement décrit dans le CRP1 avec le syndrome du carcinome papillaire héréditaire associé à l'activation du proto-oncogène *MET* (57).

Concernant la conduite thérapeutique, on note que la néphrectomie élargie a été privilégiée chez 71% des patients. Cette constatation ne prend pas en compte la démarche proposée aujourd'hui. L'analyse des 65 dossiers s'étend, en effet, sur une période très longue de 26 ans avec de nombreuses inclusions avant 2010. Depuis une dizaine d'années, la chirurgie conservatrice est systématiquement préférée lorsqu'elle est réalisable techniquement car elle permet une préservation néphronique chez des patients souvent insuffisants rénaux (44,58). Nous avons constaté, par ailleurs, que l'exérèse de la tumeur était complète dans 95% des cas (59). Sur les trois cas d'exérèse incomplète, deux patients avaient bénéficié d'une néphrectomie partielle. Aucun d'eux n'a rechuté ou n'est décédé des suites de son CRP. Un patient ayant bénéficié d'une néphrectomie élargie avec une recoupe de la veine cave envahie par la prolifération tumorale, a

présenté 6 mois après la chirurgie de nombreuses métastases ganglionnaires puis il est décédé 4 ans plus tard.

Concernant le profil évolutif, nous observons ici une fréquence moindre de rechutes et/ou de décès que celle habituellement décrite dans les CRP2 (50% de survie sans événement=111mois) (22).

## **2) Identification et reclassement immunohistochimiques des CRP non de type 1**

Nous avons, tout d'abord, tenté d'identifier, au sein de ce panel de 65 patients, de nouvelles entités décrites dans la classification de Vancouver puis la classification OMS 2016. Cette comparaison se justifie car les nouvelles entités décrites présentent elles-mêmes des aspects histologiques hétérogènes difficiles à identifier sur coloration HES. Une architecture papillaire surtout de type 2 est d'ailleurs parfois observée (19). Nous avons donc testé les différents marqueurs diagnostiques qui sont apparus précieux pour l'identification et le classement des nouvelles entités rappelées dans le tableau 4. Dans cette perspective, l'expression ou la perte d'expression des produits de 6 gènes ont été évaluées : FH, SDHB, MelanA, TFE3, ALK et GATA3.

### **a) Anticorps anti-Fumarate Hydratase**

Le cancer rénal associé à la leiomyomatose héréditaire est une nouvelle entité rare de la classification OMS 2016 (60,61). Cette maladie est liée à une mutation germinale du gène codant la Fumarate hydratase. Elle est associée à la présence de léiomyomes cutanés ou utérins mais aussi à des carcinomes épithéliaux rénaux. Les tumeurs rénales, dans ce syndrome, sont le plus souvent unilatérales. Celles-ci présentent des similitudes

morphologiques avec le CRP2, d'où une réelle difficulté diagnostique. En effet, on retrouve le plus souvent une architecture tubulo-papillaire ou acineuse constituée de cellules au cytoplasme éosinophile abondant et de grands nucléoles irréguliers entourés par un halo clair. On peut également retrouver des foyers de type oncocytaire ou à cellules claires ainsi que des atypies cyto-nucléaires marquées (62). Cette nouvelle entité est corrélée à un plus mauvais pronostic avec des métastases ganglionnaires et/ou à distance plus fréquentes (19).

Une perte de marquage cytoplasmique avec l'anticorps anti-FH et une expression liée à l'anticorps anti-S-(2succino)cystéine, permettraient de caractériser ce type de cancer rénal avec une spécificité et une sensibilité élevées (19,63). Nous n'avions pas à notre disposition, au laboratoire, l'anticorps anti-S-(2succino)cystéine. Néanmoins, dans aucun des cas testés, une perte d'expression de FH n'a été observée.

Ainsi, cette nouvelle entité n'a pu être identifiée parmi nos 65 patients. Ces données suggèrent que cette entité reste très rare. Morphologiquement hétérogène, elle a pu être classée dans une autre catégorie tumorale qui n'était pas incluse dans notre étude. Elle peut aussi avoir été identifiée, au moment du diagnostic initial, comme un authentique carcinome rénal associé à la léiomyomatose héréditaire.

**Dans le cadre des pathologies liées aux syndromes génétiques, notre étude montre l'absence d'intérêt de l'utilisation systématique de l'anticorps anti-FH sur une population étendue de CRP non de type 1. Il faudra donc orienter cette étude immunohistochimique à des tumeurs ciblées. Ces données soulignent l'importance du dialogue interdisciplinaire. Ainsi, devant une histoire familiale particulière ou chez un patient jeune (moins de 40 ans) et/ou devant la notion d'antécédents de tumeurs musculaires lisses cutanée ou utérine, il conviendra de la réaliser.**



**L'incidence réelle de mutations de FH dans les carcinomes du rein avec perte d'expression de FH reste encore à préciser sur de larges séries.**

### **b) Anticorps anti-SDHB**

Le cancer rénal déficient pour SDHB est une nouvelle entité rare également décrite comme entité émergente dans la classification OMS 2016. Il s'agit d'une mutation germinale, autosomique dominante, des gènes qui codent pour les Succinates deshydrogenases, enzymes appartenant à un complexe mitochondrial intervenant dans le cycle de Krebs. Dans un tel contexte, on note le risque accru (14%) de développer des paragangliomes, des phéochromocytomes, des tumeurs gastro-intestinal stromales de type 2 (GIST) et des carcinomes rénaux (19).

L'aspect morphologique de ce type de tumeurs rénales se caractérise par l'existence d'une architecture tubulaire, solide ou papillaire de cellules cuboïdes éosinophiles avec un noyau central présentant une chromatine granuleuse. Il est souvent noté, que le cytoplasme abondant peut contenir des dépôts éosinophiles associés à des inclusions intra-cytoplasmiques. On peut observer également, plus rarement, un contingent sarcomatoïde au sein de ces lésions. Auparavant, ce type tumoral était classé dans d'autres catégories aussi variées que le CRCC, le CRP2, les oncocytomes, le carcinome chromophile ou le carcinome inclassable.

La perte du marquage granuleux cytoplasmique avec l'anticorps anti-SDHB est associée à la mutation des gènes SDH (64). Il s'agirait donc d'un réel outil diagnostique.

Les tumeurs rénales, dans ce contexte, seraient globalement de bon pronostic sauf s'il existe un contingent sarcomatoïde.

Dans notre étude, aucune perte d'expression de ce marqueur n'a été identifiée. Ainsi, cette nouvelle entité n'a pu être caractérisée parmi nos 65 patients.

Ce résultat négatif suggère qu'une telle entité est très rare, possiblement classée dans une autre catégorie tumorale (CRCC, oncocytome...), en raison des caractéristiques morphologiques évoquées plus haut.

**Dans le cadre des pathologies liées aux syndromes génétiques ; notre étude montre l'absence d'intérêt d'une utilisation systématique de l'anticorps anti-SDHB sur une population étendue de CRP non de type 1. Il faudra donc limiter cette étude immunohistochimique à des tumeurs ciblées comme pour la tumeur associée à la léiomyomatose.**

### **c) Anticorps anti-ALK**

Le cancer rénal avec translocation du gène *ALK* est une nouvelle entité très rare également décrite comme entité émergente dans la classification OMS 2016. Ces tumeurs présentent des réarrangements complexes du gène *ALK*, le plus souvent avec le gène *VCL* (65). Elles se développent essentiellement chez les enfants ou les jeunes adultes. L'aspect morphologique de ces lésions se caractérise par l'existence d'une architecture hétérogène de cellules polygonales ou fusiformes éosinophiles avec des inclusions intracytoplasmiques. L'anticorps anti-ALK permet le diagnostic de ce type tumoral, avec la présence d'un marquage cytoplasmique granuleux positif des cellules carcinomateuses. Le pronostic pour cette nouvelle entité est difficile à établir du fait du faible nombre de cas recensés. Elle présenterait une évolution plutôt indolente (19).

**Dans notre étude, aucun marquage avec l'anticorps anti-ALK n'a été détecté dans l'ensemble des cas testés. Cette nouvelle entité n'est donc pas présente dans notre cohorte. Son extrême rareté peut expliquer cette absence.**

#### **d) Anticorps anti-MelanA et Anti-TFE3**

Le cancer rénal avec translocation de la famille MiTF est une entité qui était déjà décrite dans la classification OMS 2004. Elle a été retenue dans la classification de l'OMS 2016. Ce cancer est associé à la mise en évidence de différentes fusions de gènes impliquant le plus souvent les gènes *TFE3* et *TFEB*. Il se développe préférentiellement chez des sujets jeunes et lors de traitement par certaines chimiothérapies (66).

Le spectre morphologique de cette entité est extrêmement varié. L'architecture est souvent papillaire avec des cellules au cytoplasme abondant éosinophile granuleux. Les noyaux sont volumineux et irréguliers avec des nucléoles proéminents. Auparavant, ce cancer pouvait être classé dans d'autres catégories tumorales comme les CRP2, les CRCC ou les oncocytomes. Aujourd'hui, cette entité est fortement suspectée devant tout carcinome rénal découvert chez l'enfant ou le sujet jeune. Cependant, sa survenue chez les sujets âgés peut aussi être observée (67).

L'étude immunohistochimique peut apporter sa contribution pour l'enquête diagnostique. Les marqueurs mélanocytaires reconnus par l'anticorps anti-MelanA peuvent être identifiés. Par ailleurs, les anticorps anti-TFE3 ou TFEB permettent d'obtenir classiquement un marquage nucléaire positif diffus (19). Une fois le diagnostic suspecté à la suite de l'étude immunohistochimique, le résultat sera confirmé grâce à l'analyse FISH à la recherche de cette translocation. Le pronostic pour cette entité est encore mal défini mais il semblerait qu'il existe un risque métastatique accru (68).

**Dans notre étude, la recherche d'un marquage avec les anticorps anti-MelanA et anti-TFE3 s'est avérée infructueuse. Nous n'avons pas pu réaliser de test avec l'anticorps anti-TFEB, indisponible au laboratoire. Ainsi, cette entité n'a pu être identifiée parmi nos 65 patients. Le typage correct a donc été probablement effectué dès le diagnostic initial. Actuellement, une trentaine de cas de carcinomes à translocation TFE ont été identifiés dans la série du CHRU de Lille et publiés récemment par notre équipe (69).**

#### **e) Anticorps anti-GATA3**

Dans la littérature récente, les données apparaissent contradictoires, à propos de ce marqueur. *Mantilla et al*, soulignent, dans leur article, que l'anticorps anti-GATA3 serait un marqueur sensible (76%) et spécifique (100%) pour caractériser les CRP à cellules claires. Ils affirment même qu'un co-marquage positif associant les anticorps anti-GATA3 et anti-CK7, serait un élément déterminant pour différencier le CRP à cellules claires des autres entités morphologiquement proches (49). Cependant, *Raspollini et al*, étudiant une cohorte de CRP à cellules claires, ne mettent pas en évidence un tel marquage positif avec l'anticorps anti-GATA3 (25). Des études complémentaires montrent que ce co-marquage GATA3+/CK7+, décrit précédemment comme spécifique des CRP à cellules claires, est également observé dans le cadre d'autres CRP, notamment les CRP oncocytaires (51). Cela met en exergue les difficultés diagnostiques actuelles pour caractériser ces deux entités parfois hétérogènes, difficiles à classer, dont le pronostic est semble-t-il variable.

**Dans notre étude, un marquage avec l'anticorps anti-GATA3 n'a été observé que dans un seul cas parmi nos 65 patients. Il s'agissait d'un CRP d'aspect oncocytaire, seul cas positif parmi les 14 CRP d'aspect oncocytaire analysés. De plus, aucun**

marquage n'a été observé pour nos trois CRP à cellules claires. Cela confirmerait l'intérêt diagnostique limité de ce marqueur pour le CRP oncocytaire ou le CRP à cellules claires.

### **3) Etude des facteurs pronostiques; les critères anatomo-cliniques :**

Dans le suivi clinique et radiologique de l'ensemble de nos patients, nous avons répertorié 22% de cas de décès et/ou 31% de cas de rechutes avec une médiane de survie sans événement égale à 111 mois.

Le fait d'avoir constitué un groupe composite de CRP non de type 1, même avec une majorité de CRP2, doit nous rendre prudent quant à l'interprétation des résultats. Certains sous-groupes présentent des effectifs réduits. Comme nous l'avons déjà évoqué, la grande disparité des effectifs limitent la significativité des analyses comparatives et des données statistiques. Par ailleurs, le caractère rétrospectif de l'étude et l'étalement du suivi sur une durée de 26 ans, induisent obligatoirement une hétérogénéité dans le recueil des données pour chaque patient. Ces considérations seront à prendre en compte dans l'appréciation de la valeur des facteurs pronostiques potentiels rapportés ici.

#### **a) Le type morphologique**

L'étude des modalités évolutives des différents morphotypes tumoraux ne permet pas de distinguer un sous-groupe présentant un pronostic plus péjoratif. Ce résultat est probablement lié, nous l'avons vu, aux faibles effectifs enregistrés pour certains de nos sous-groupes, particulièrement les CRP mixtes (n=8) et les CRP à cellules claires (n=3). L'analyse descriptive nous permet, néanmoins, de dégager certaines tendances. Pour les CRP2 d'aspect homogène, dix-neuf patients sur quarante (47.5%) ont rechuté ou sont

décédés. Pour les CRP d'aspect oncocytaire, une évolution défavorable affecte cinq patients (36%). Pour les CRP mixtes, deux patients sur huit (25%) ont rechuté ou sont décédés (25%). Pour les trois CRP à cellules claires, un seul patient a présenté une rechute (33%).

**L'analyse statistique ne permet pas de distinguer un sous-groupe de mauvais pronostic. L'analyse descriptive, en revanche, révèle que les CRP2 d'aspect homogène semblent présenter une évolution plus défavorable. Si ces données sont à interpréter avec prudence, elles sont néanmoins en accord avec celles de la littérature montrant l'impact pronostique du CRP2 comme sous-type tumoral (22,36). Pour les CRP d'aspect oncocytaire, 36% de nos patients ont présenté une évolution défavorable avec une rechute et/ou un décès. Les données de la littérature concernant les CRP oncocytaires sont contradictoires, mais il est souvent décrit comme un variant à faible potentiel de malignité (70,71). Nos résultats ne permettent pas d'apporter d'arguments à cette discussion mais montrent l'importance de les considérer comme d'authentiques carcinomes à potentiel d'évolutivité.**

#### **b) Le grade nucléolaire**

La valeur pronostique du grade nucléaire, récemment modifié nucléolaire, a fait l'objet de travaux antérieurs. Une survie globale de 92% pour le grade 1 et 2 et de 63% pour le grade 3 et 4 ont été mentionnées (72). Le CRP2, connu comme étant de moins bon pronostic que le CRP 1, présente effectivement un grade nucléolaire souvent plus élevé (22,36).

Dans notre étude, le grade 3 est apparu majoritaire, comme cela est décrit dans la classification OMS 2016 pour les CRP2. Il est ici le grade le plus représenté dans les trois

sous-groupes évalués : le CRP2 d'aspect homogène, comme attendu, mais aussi les CRP mixtes et les CRP d'aspect oncocytaire. Cela témoigne, donc, d'une certaine homogénéité dans notre cohorte. On note, toutefois que trois patients (5%) présentent un grade nucléolaire 4 avec la présence d'un contingent sarcomatoïde (deux cas de CRP2 d'aspect homogène et un cas de CRP mixte). Dans la littérature, une fréquence de 5% de cas de différenciation sarcomatoïde au sein des CRP2 a aussi été observée (2).

**Ainsi seul un patient sur trois, présentant un grade 4, a eu une évolution défavorable (CRP2 d'aspect homogène). Les conditions d'analyse (CRP non de type 1 composite avec des effectifs inégaux dans chacun des sous-groupe) expliquent sans doute le fait que ce critère n'a pas ici la valeur pronostique que lui accordent les données de la littérature (27,73).**

### **c) La taille tumorale**

La taille des tumeurs rénales est considérée, comme un facteur pronostique établi. En effet, son augmentation a été corrélée à un risque plus élevé d'extension à la graisse péri-rénale ou à l'invasion vasculaire tumorale. Ce critère est d'ailleurs pris en compte en routine, au cours du suivi post-opératoire et pour la prise en charge thérapeutique ultérieure (74). **Dans notre étude, comme dans la littérature, nous observons effectivement qu'une augmentation de la taille tumorale est un facteur de mauvais pronostique. Pour ce critère de taille, le sous-groupe des CRP2 d'aspect homogène apparait ici encore impliqué de façon significative.**

#### d) La nécrose

La nécrose est actuellement reconnue comme un facteur de mauvais pronostic uniquement dans le cadre des CRCC (39,75). Si la nécrose est classiquement décrite dans les CRP (2), elle n'est pas, pour autant, considérée, à ce jour, comme un marqueur d'évolution défavorable. En effet, dans le cadre des CRP1, elle est fréquemment identifiée comme une nécrose d'origine ischémique. En revanche, pour les CRP non de type 1, il s'agirait plutôt d'une nécrose tumorale liée à une prolifération cellulaire incontrôlée. Ceci pourrait expliquer une évolution plus péjorative en présence d'un tel marqueur, repéré notamment dans notre étude. **L'analyse statistique met en exergue la valeur pronostique défavorable de ce facteur, particulièrement pour le sous-groupe des CRP2 d'aspect homogène. Cette donnée mérite néanmoins d'être confortée par une étude intéressant un effectif plus représentatif des CRP. Elle devrait permettre de reconsidérer l'incidence de ce facteur dans le cadre des CRP2 et devrait toujours être précisée dans le compte rendu anatomopathologique.**

#### e) Le stade TNM

La prise en compte du stade  $pT$ , montre qu'une majorité de patients présentait un stade localisé  $pT1$  (57%). Cela est sans doute lié à une détection de plus en plus précoce de ces tumeurs grâce à l'utilisation fréquente de l'imagerie (76). Ce résultat est néanmoins inattendu. En effet, les CRP non de type 1, d'évolution souvent plus agressive, sont préférentiellement diagnostiqués à un stade plus évolué que les CRP1 (12).

**Dans notre analyse, le stade  $pT3$  qui correspond à une extension tumorale dans la graisse péri-rénale ou vasculaire est ici peu représenté (19%). Un lien a néanmoins été établi entre cet indice et une évolution péjorative, notamment pour le sous-groupe des CRP2 d'aspect homogène, comme cela a déjà été décrit (74,77). Aucun**



lien statistique n'a été observé en revanche, pour le stade *pT4* compte tenu du faible effectif (n=2).

**Comme l'extension locale avec envahissement de la graisse péri-rénale, l'envahissement vasculaire, l'atteinte ganglionnaire et/ou la présence de métastases; sont tous des éléments péjoratifs.** Ainsi la présence d'un thrombus tumoral de la veine rénale, même s'il est peu fréquent (12%) est ici un facteur de mauvais pronostic dans notre étude, comme cela a été établi dans d'autres travaux (36). Il en est de même pour l'atteinte ganglionnaire, présente dans 22% des cas. Cette donnée était attendue car il existe un risque métastatique accru connu dans le cadre des CRP2 (78). Ce critère correspond également à un facteur de mauvais pronostic dans notre étude. Dans la littérature, la présence de métastases à distance est plus fréquente dans les CRCC (12 à 27%) que dans les CRP (6 à 11%) avec une localisation pulmonaire préférentielle pour ces derniers (59). Ces résultats concordent avec nos propres observations. En effet, nous avons observé que 12% des CRP non de type 1 sont associés à des métastases surrenaliennes et/ou à distance. **Tous ces critères de mauvais pronostic corroborent les données de la littérature. Le sous-groupe des CRP2 d'aspect homogène apparaît, ici encore, impliqué de façon significative.**

#### **4) Etudes des marqueurs immunohistochimiques pronostiques et thérapeutiques**

Nous avons testé, dans un dernier temps, différents marqueurs pronostiques déjà décrits dans la littérature, comme des éléments potentiellement utiles et exploitables dans les CRP non de type 1. Dans la pratique quotidienne, la caractérisation de tels marqueurs, accessibles grâce à une étude immunohistochimique, serait, en effet, précieuse pour le suivi de ce type de cancer. Dans cette perspective, les modalités d'expression des

produits de 6 gènes (expression ou perte d'expression) ont été évaluées (Ki67, CAIX, BAP1, MET, H3K36M, H3K27M) et confrontées à l'évolution clinique de nos 65 patients. Deux marqueurs décrits comme utiles pour la conduite thérapeutique ont également été testés; il s'agit des anticorps anti- MET et anti-PD-L1.

#### **a) Anticorps anti-Ki67**

L'anticorps anti-Ki67 (index de prolifération) permet un marquage nucléaire qui indique l'entrée dans le cycle cellulaire (phases G1, S, G2 et M). Cet index est déjà largement utilisé comme un facteur pronostic, notamment dans le cadre des cancers du sein (79). Plusieurs articles récents montrent qu'un tel marquage nucléaire lorsqu'il est supérieur à 5%, serait un facteur de mauvais pronostic dans les carcinomes du rein, notamment dans les CRP (80,81). Cependant, d'autres articles contestent ces résultats (82). Dans notre étude, six tumeurs présentaient un index de prolifération supérieur à 5%. Trois cas avaient été classés parmi les CRP2 d'aspect homogène, deux parmi les CRP d'aspect oncocytaire et un seul parmi les CRP mixtes.

**Ce marqueur n'avait pas de valeur pronostique lors de notre analyse statistique globale (ensemble des tumeurs non de type 1). Cependant, lors de l'analyse en sous-groupe, un index de prolifération supérieur à 5% est apparu comme un facteur de mauvais pronostic concernant plus particulièrement les CRP2 d'aspect homogène. Ce résultat conforte l'idée que l'évaluation d'un tel marqueur serait intéressante lors d'un diagnostic de CRP non de type 1 pour adapter la surveillance clinique. En effet, cela permettrait d'identifier les patients à haut risque de rechute, en raccourcissant alors le délai des imageries de surveillance. Ils pourraient notamment bénéficier d'un traitement adjuvant précoce. Cette observation est en accord avec une méta-analyse récente sur les carcinomes rénaux qui discute les**

**données controversées publiées auparavant et confirme la valeur pronostique de ce marqueur (83).**

### **b) Anticorps anti-CAIX**

L'anhydrase carbonique IX est considérée comme un marqueur d'hypoxie tumorale. Des traitements anti-CAIX sont d'ailleurs aujourd'hui envisagés afin de limiter les conséquences liées à cette hypoxie (84). Un marquage significatif avec cet anticorps (expression dans plus de 85% des cellules tumorales) serait plus fréquemment rencontré dans les CRCC (71%) que dans les autres carcinomes (3%), parmi lesquels les CRP ont aussi été testés (85). Dans cet article, c'est surtout la qualité de marqueur diagnostique des CRCC qui était attribuée à CAIX. Compte tenu, à la fois de l'évolution défavorable des CRCC comparée à celle des CRP et des propriétés de CAIX en relation avec l'hypoxie, une valeur pronostique péjorative semblait aussi pouvoir lui être attribuée. De façon surprenante, c'est au contraire une diminution ou une perte d'expression du CAIX qui ont été décrites comme pouvant être corrélées à un pronostic défavorable dans les CRCC, lorsque ce défaut de marquage est associé à une augmentation de l'index de prolifération (52). Concernant les CRP, il a été montré que l'anticorps anti-CAIX permettrait de différencier, d'une part les CRP1 (CAIX négatif), de certains CRP2 (CAIX positif) et d'autre part, les CRP2 d'aspect homogène (CAIX positif) des CRP mixtes (CAIX négatif) évoluant comme des CRP2 (51). Toutes ces dernières données nous ont incités à explorer ce marqueur dans le cadre de notre étude.

Comme cela a été décrit par *Genega et al*, nous identifions, un nombre faible de cas présentant un marquage diffus dans ce cadre de carcinomes non CRCC (85). Nous avons noté dans 97% des cas, la présence d'un marquage focal ou négatif, décrit comme un possible facteur de mauvais pronostic, s'il est associé à un index de prolifération élevé

(c'est le cas des six patients ayant un Ki67>5%). Sur les dix neuf patients présentant un marquage cytoplasmique focal, dix sont décédés et/ou ont rechuté (52%). L'un d'entre eux, avait été classé, d'ailleurs, parmi les CRP à cellules claires. Sur les quarante trois patients présentant une absence de marquage, seize sont décédés et/ou ont rechuté (37%).

**Si la valeur de CAIX, comme marqueur diagnostique des « carcinomes non CRCC » préserve son intérêt, sa valeur pronostique reste hypothétique. Cette analyse n'a pas pu faire l'objet d'une étude statistique. Il existait une trop grande disparité d'effectifs entre les différentes modalités de marquage dans notre cohorte. La relation préalablement établie entre Ki-67 et CAIX n'a pu être retrouvée ici. L'analyse descriptive montre cependant qu'un marquage négatif ou focal avec l'anticorps anti-CAIX est observé chez 42% des patients suivis qui ont rechuté ou sont décédés. Il serait nécessaire de réitérer cette analyse sur un effectif plus large permettant la réalisation d'études comparatives.**

### **c) Anticorps anti-BAP1**

Dans les CRCC sporadiques, la mutation du gène *BAP1* est plus fréquente (10 à 15%) que dans les autres carcinomes rénaux (86). Dans plusieurs études, la perte de marquage avec l'anticorps anti-BAP1 est considérée comme un facteur de mauvais pronostic pour les CRCC (53,87). Ce résultat n'a cependant pas été mis en évidence pour tous les cancers (87). Compte tenu du caractère partagé de certains marqueurs entre CRCC et CRP, il nous est apparu judicieux de tester celui-ci dans notre série de CRP non de type 1 (86–88).

**Dans notre étude, une absence de marquage était notée chez peu de patients (7 cas sur 65). Compte tenu probablement de la disparité des effectifs dans chaque sous-**

**groupe, nous n'avons pu retenir ce critère comme un élément distinctif au sein de notre cohorte. Il sera sans doute utile de l'évaluer sur un groupe plus représentatif avant de conclure.**

#### **d) Anticorps anti-MET**

Le gène *MET* est un proto-oncogène codant le récepteur membranaire de l'HGF (*Hepatocyte Growth Factor*). Celui-ci, appartenant à la famille des récepteurs de tyrosine kinases, est largement exprimé sur les cellules épithéliales et modulerait la migration, la différenciation, la prolifération et la survie cellulaires (89). Une expression accrue de ce gène est impliquée dans la carcinogénèse de nombreux cancers (9). Dans les CRP1, les anomalies (amplification génomique, mutations) affectant le gène *MET* sont souvent héréditaires mais aussi parfois acquises (90). Elles ont ainsi été décrites dans 7% des CRP sporadiques. Une surexpression de ce gène a aussi été identifiée comme un facteur de mauvais pronostic pour le CRP (57), les CRCC (91) mais aussi dans d'autres pathologies, comme le cancer du sein ou le cancer de l'estomac (92,93). Il pourrait être alors une nouvelle cible thérapeutique de choix, notamment pour les carcinomes rénaux. La question d'une éventuelle implication du gène *MET* dans l'évolution péjorative des CRP non de type1 mérite donc d'être posée.

Dans notre étude, nous avons recherché, dans un premier temps, une surexpression du produit du gène *MET* par une approche immunohistochimique. Elle est observée dans 66% des cas et dans tous les sous-groupes testés. Pour les treize cas présentant un score 3+ (21%), nous avons réalisé une analyse FISH complémentaire pour visualiser l'amplification du gène. Un seul cas a présenté une concordance entre les deux tests avec une amplification faible observée en FISH. Ce patient présentait une tumeur unique (pT1N0M0). Il n'a pas rechuté et il n'est pas décédé au cours de notre suivi. Nous l'avons

classé dans le sous-groupe des CRP2 d'aspect homogène. Nos résultats soulignent l'importance de la confrontation d'analyses complémentaires avant de conclure. **En effet, la surexpression de ce marqueur peut également témoigner d'autres anomalies moléculaires non détectables par FISH (mutations). Une analyse en biologie moléculaire (technique par séquençage haut débit) devra être envisagée dans les suites de notre travail.**

**Aucun lien statistique pronostique n'a pu être mis en évidence entre les données de l'analyse immunohistochimique et les risques évolutifs. Par ailleurs, les résultats obtenus avec l'analyse par FISH nous interrogent sur l'implication possible d'autres anomalies moléculaires. Ces données discordantes soulignent l'importance de la confrontation d'analyses complémentaires. Ici encore, la disparité de nos effectifs au sein de chaque sous-groupe n'a pas permis de dégager des résultats significatifs. Les données descriptives montrent néanmoins que, dans des CRP non de type1, comme dans les CRP1, une surexpression du gène *MET* peut être observée. Cela confirme les données de la littérature qui ont identifié l'implication de ce gène, nous l'avons vu dans les CRP1, mais aussi dans les CRCC, les CRP à cellules claires ou les carcinomes chromophobes (56). La place accordée à l'oncogène *MET* dans différents cancers justifie le développement croissant de stratégies thérapeutiques ciblées visant à son inhibition.**

#### **e) Anticorps anti-H3K27M et anti-H3K36M**

La méthylation de l'ADN, le remodelage de la chromatine avec la modification des histones sont des mécanismes épigénétiques participant aux premières étapes du contrôle de l'expression des gènes. Leur implication est fréquemment évoquée lors de la carcinogénèse de tumeurs (55,94). L'évaluation de l'impact pronostique de certains

marqueurs intéressant les histones (anticorps anti-H3K27M et anti H3K36M) apparaît donc légitime. D'autant que des travaux antérieurs soulignent qu'une perte de marquage avec l'anticorps anti-H3K27M serait un facteur de mauvais pronostic dans les carcinomes rénaux (94). Dans notre étude, cette perte d'expression a été observée dans chacun des sous-groupes testés: les CRP2 d'aspect homogène (25%), les CRP d'aspect oncocytaire (14%), les CRP mixtes (12.5%) et les CRP avec contingent à cellules claires (66%). En revanche, les tests réalisés avec l'anticorps anti-H3K36M n'a pas permis de détecter une expression inappropriée de ce marqueur chez aucun de nos 65 patients.

**La perte de marquage avec l'anticorps anti H3K27M n'a pu être retenue comme un facteur pronostique dans notre étude qu'elle soit globale ou en sous-groupe. Cependant, comme nous l'avons déjà évoqué, ce résultat doit être interprété avec prudence en raison des conditions de notre étude. Il sera sans doute utile d'évaluer ces marqueurs sur un groupe plus représentatif avant de conclure.**

#### **f) Anticorps anti-PD-L1**

Le PD-L1 (Programmed Death Ligand 1) se lie au récepteur PD-1 exprimé par les lymphocytes T activés lors de la réponse immune anti-tumorale. Ce ligand, présent sur les cellules tumorales, est actuellement une nouvelle cible thérapeutique utile pour le traitement du poumon, des cancers colo-rectaux ou du mélanome. En effet, la liaison du PD-L1 à son récepteur entraîne une inhibition des lymphocytes T activés et limite leur effet cytotoxique. Certaines nouvelles immunothérapies anti-PD-L1, comme l'atezolizumab®, permettraient une levée de cette inhibition pour améliorer la réponse immune anti-tumorale. Une détection de la présence de ce ligand avec l'anticorps anti-PD-L1, au sein des zones à traiter, peut ainsi permettre de prédire l'intérêt potentiel d'un tel traitement. Actuellement, il existe plusieurs études montrant l'efficacité de ces immunothérapies dans

le cadre des carcinomes rénaux métastatiques (95). Dans une récente analyse de phase III datant de février 2018, une amélioration de la survie sans progression d'une durée de 2,8 mois, a été observée grâce à une combinaison d'un traitement associant anti-PD-L1 (atezolizumab®) et anti-VEGF (bevacizumab®), étude faite en comparaison avec un traitement anti-tyrosine kinase (sunitinib®) (96). Il paraît donc légitime d'évaluer un tel marqueur dans notre cohorte de CRP non de type 1.

**Le marquage avec l'anticorps anti-PD-L1 n'a été observé que dans quatre cas (trois CRP d'aspect oncocytaire et un CRP mixte). L'expression de PD-L1 semble donc restreinte à certains CRP non de type 1. La valeur accordée à la présence ou l'absence d'un tel marqueur dans une perspective thérapeutique doit être nuancée. En effet, il est reconnu que l'expression de PD-L1 n'est pas toujours un marqueur très fiable vis-à-vis de la réponse ultérieure aux immunothérapies (97). Ainsi, certains cancers pulmonaires, mélanomes ou cancers de vessie, sans expression détectable de PD-L1 se sont avérés pourtant être sensibles à des thérapies ciblées. De la même manière, si on observe une réponse plus importante chez les patients présentant plus de 50% de cellules marquées, il existe cependant des tumeurs fortement marquées sans réponse clinique objective. Cette discordance pourrait être liée à la modulation d'expression membranaire de PD-L1, sur les cellules tumorales, par des traitements antérieurs (98,99).**

Après cette évaluation réalisée dans le cadre d'une approche thérapeutique ciblée, son étude en tant que facteur pronostique peut aussi être envisagée. En effet, *Wang et al*, ont mis en évidence, récemment, que l'expression du PD-L1 dans les carcinomes rénaux pourrait être un facteur de mauvais pronostic. Sa présence serait associée à un risque accru de métastases ganglionnaires ou à distance. Cette détection serait également corrélée à d'autres paramètres péjoratifs tels que : la présence de nécrose,



un grade nucléolaire plus élevé, ou un stade avancé (100). Son évaluation comme facteur pronostique est d'autant plus justifiée, dans le cadre de notre étude, qu'une expression accrue du PD-L1, a été décrite comme plus fréquente dans les CRP2 (36%) que dans les CRP1 (22%), notamment pour les grades nucléolaires 3/4 (21%) (101). **Cependant, ce marqueur n'a pu être évalué dans cette perspective pronostique ici car notre effectif était peu représentatif (n=4).**

# CONCLUSION

L'actualisation réalisée par la classification OMS 2016 souligne l'importance d'une bonne identification des cancers du rein en particulier dans le groupe des tumeurs papillaires. C'est dans cette perspective que s'est inscrit notre travail.

Cette étude a d'abord confirmé l'existence de plusieurs entités différentes au sein du groupe des carcinomes papillaires non de type 1. Si le sous-groupe type 2 homogène prédomine, nous avons également identifié d'autres sous-types plus rares comme les carcinomes papillaires d'aspect oncocytaire et les carcinomes papillaires de type mixte. Nous avons montré que l'incidence des tumeurs associées aux syndromes génétiques familiaux comme la léiomyomatose héréditaire ou les tumeurs associées aux mutations de SDH reste exceptionnelle et ne justifie pas la réalisation d'une étude immunohistochimique complémentaire systématique. Au contraire, elle devrait être orientée par les données cliniques d'âge, d'antécédents personnels ou familiaux.

Notre analyse par sous-groupe a confirmé la valeur pronostique déjà connue des critères histopronostiques classiques comme le stade TNM. Elle a également permis de conforter l'intérêt de bien identifier la nécrose tumorale comme facteur pronostique complémentaire important dans les types 2. Ce critère devrait être systématiquement renseigné dans les comptes rendus anatomopathologiques. Ces facteurs pronostiques complémentaires pourraient permettre de réaliser une meilleure surveillance en post-opératoire voire de proposer des traitements adjuvants dans le cadre d'essais thérapeutiques.

Parmi les marqueurs pronostiques potentiels que nous avons testés, seul l'index Ki-67 pourrait avoir un intérêt. Ainsi un index supérieur à 5% semble être un facteur défavorable, notamment dans le sous-groupe de CRP2 d'aspect homogène. Il serait donc utile, pour ce type tumoral particulier de réaliser systématiquement cet immunomarquage. Pour autant,

des cohortes plus larges seraient nécessaires pour valider définitivement son utilisation en routine. Concernant les autres marqueurs pronostiques ou thérapeutiques potentiels évalués, nous n'avons pas pu démontrer de valeur statistique significative, probablement en rapport avec de trop faibles effectifs. Cependant, dès à présent, le ciblage moléculaire possible grâce au développement de nouvelles thérapies anti-MET ou d'autres immunothérapies, ouvre de nouvelles perspectives pour ces tumeurs peu sensibles aux traitements classiques « anti-angiogéniques » déjà employés.

# BIBLIOGRAPHIE

1. Thoenes W, Störkel S, Rumpelt HJ. Histopathology and Classification of Renal Cell Tumors (Adenomas, Oncocytomas and Carcinomas). *Pathol - Res Pract.* mai 1986;181(2):125-43.
2. Moch H, Humphrey P, Ulbright T, Reuter V. WHO classification of tumors of the urinary system and male genital organs, 4th edition, volume 8 2016 (IARC WHO classification of tumors). IARC. Vol. 8. Lyon;
3. Institut National Du Cancer [Internet. *Epidémiologie des cancers - Les chiffres du cancer en France.* [www.e-cancer.fr](http://www.e-cancer.fr).
4. Ljungberg B, Campbell SC, Cho HY, Jacqmin D, Lee JE, Weikert S, et al. The Epidemiology of Renal Cell Carcinoma. *Eur Urol.* oct 2011;60(4):615-21.
5. Medina-Rico M, López-Ramos H, Lobo M, Romo J, Guillermo Prada J. Epidemiology of renal cancer in developing countries: Review of the literature. *Can Urol Assoc J [Internet].* 16 déc 2017 [cité 1 janv 2018];12(3). Disponible sur: <http://cuaj.ca/index.php/journal/article/view/4464>
6. Vikram R, Ng CS, Tamboli P, Tannir NM, Jonasch E, Matin SF, et al. Papillary renal cell carcinoma: radiologic-pathologic correlation and spectrum of disease. *Radiogr Rev Publ Radiol Soc N Am Inc.* juin 2009;29(3):741-54; discussion 755-757.
7. Chow W-H, Dong LM, Devesa SS. Epidemiology and risk factors for kidney cancer. *Nat Rev Urol.* mai 2010;7(5):245-57.
8. Schmidt L, Duh F-M, Chen F, Kishida T, Glenn G, Choyke P, et al. Germline and somatic mutations in the tyrosine kinase domain of the MET proto-oncogene in papillary renal carcinomas. *Nat Genet.* mai 1997;16(1):68-73.
9. Schmidt L, Junker K, Nakaigawa N, Kinjerski T, Weirich G, Miller M, et al. Novel mutations of the MET proto-oncogene in papillary renal carcinomas. *Oncogene.* avr 1999;18(14):2343-50.
10. Przybycin CG, Magi-Galluzzi C, McKenney JK. Hereditary Syndromes With Associated Renal Neoplasia: A Practical Guide to Histologic Recognition in Renal Tumor Resection Specimens. *Adv Anat Pathol.* juill 2013;20(4):245-63.
11. Mancilla-Jimenez R, Stanley RJ, Blath RA. Papillary renal cell carcinoma: a clinical, radiologic, and pathologic study of 34 cases. *Cancer.* déc 1976;38(6):2469-80.
12. Delahunt B, Eble JN, McCredie MRE, Bethwaite PB, Stewart JH, Bilous AM. Morphologic typing of papillary renal cell carcinoma: Comparison of growth kinetics and patient survival in 66 cases. *Hum Pathol.* juin 2001;32(6):590-5.
13. Garfield K, LaGrange CA. Cancer, Renal Cell. In: *StatPearls [Internet].* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2017 [cité 1 janv 2018]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470336/>
14. Wang JH, Min PQ, Wang PJ, Cheng WX, Zhang XH, Wang Y, et al. Dynamic CT Evaluation of Tumor Vascularity in Renal Cell Carcinoma. *AJR Am J Roentgenol.* mai 2006;186(5):1423-30.
15. Yamada T, Endo M, Tsuboi M, Matsushashi T, Takase K, Higano S, et al. Differentiation of pathologic subtypes of papillary renal cell carcinoma on CT. *AJR Am J Roentgenol.* nov 2008;191(5):1559-63.

16. Honda Y, Goto K, Nakamura Y, Terada H, Sentani K, Yasui W, et al. Imaging features of papillary renal cell carcinoma with cystic change-dominant appearance in the era of the 2016 WHO classification. *Abdom Radiol.* juill 2017;42(7):1850-6.
17. Krawczyk KM, Nilsson H, Allaoui R, Lindgren D, Arvidsson M, Leandersson K, et al. Papillary renal cell carcinoma-derived chemerin, IL-8, and CXCL16 promote monocyte recruitment and differentiation into foam-cell macrophages. *Lab Invest J Tech Methods Pathol.* nov 2017;97(11):1296-305.
18. Marsaud A, Dadone B, Ambrosetti D, Baudoin C, Chamorey E, Rouleau E, et al. Dismantling papillary renal cell carcinoma classification: The heterogeneity of genetic profiles suggests several independent diseases: Heterogeneity of Papillary Renal Cell Carcinomas. *Genes Chromosomes Cancer.* juin 2015;54(6):369-82.
19. Udager AM, Mehra R. Morphologic, Molecular, and Taxonomic Evolution of Renal Cell Carcinoma: A Conceptual Perspective With Emphasis on Updates to the 2016 World Health Organization Classification. *Arch Pathol Lab Med.* oct 2016;140(10):1026-37.
20. Yang XJ, Tan M-H, Kim HL, Ditlev JA, Betten MW, Png CE, et al. A Molecular Classification of Papillary Renal Cell Carcinoma. *Cancer Res.* 1 juill 2005;65(13):5628-37.
21. Wagener N, Edelmann D, Benner A, Zigeuner R, Borgmann H, Wolff I, et al. Outcome of papillary versus clear cell renal cell carcinoma varies significantly in non-metastatic disease. *PLoS One.* 2017;12(9):e0184173.
22. Mejean A, Hopirtean V, Bazin JP, Larousserie F, Benoit H, Chrétien Y, et al. Prognostic factors for the survival of patients with papillary renal cell carcinoma: meaning of histological typing and multifocality. *J Urol.* sept 2003;170(3):764-7.
23. Renshaw AA, Zhang H, Corless CL, Fletcher JA, Pins MR. Solid variants of papillary (chromophil) renal cell carcinoma: clinicopathologic and genetic features. *Am J Surg Pathol.* oct 1997;21(10):1203-9.
24. Park B-H, Ro JY, Park WS, Jee KJ, Kim K, Gong G, et al. Oncocytic papillary renal cell carcinoma with inverted nuclear pattern: Distinct subtype with an indolent clinical course. *Pathol Int.* mars 2009;59(3):137-46.
25. Raspollini MR, Castiglione F, Cheng L, Montironi R, Lopez-Beltran A. Genetic mutations in accordance with a low malignant potential tumour are not demonstrated in clear cell papillary renal cell carcinoma. *J Clin Pathol.* juin 2016;69(6):547-50.
26. Aydin H, Chen L, Cheng L, Vaziri S, He H, Ganapathi R, et al. Clear cell tubulopapillary renal cell carcinoma: a study of 36 distinctive low-grade epithelial tumors of the kidney. *Am J Surg Pathol.* nov 2010;34(11):1608-21.
27. Delahunt B, Cheville JC, Martignoni G, Humphrey PA, Magi-Galluzzi C, McKenney J, et al. The International Society of Urological Pathology (ISUP) Grading System for Renal Cell Carcinoma and Other Prognostic Parameters: *Am J Surg Pathol.* oct 2013;37(10):1490-504.
28. Srigley JR, Delahunt B, Eble JN, Egevad L, Epstein JI, Grignon D, et al. The International Society of Urological Pathology (ISUP) Vancouver Classification of Renal Neoplasia: *Am J Surg Pathol.* oct 2013;37(10):1469-89.
29. The Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive Molecular Characterization of Papillary Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med.* 14 janv 2016;374(2):135-45.

30. Durinck S, Stawiski EW, Pavía-Jiménez A, Modrusan Z, Kapur P, Jaiswal BS, et al. Spectrum of diverse genomic alterations define non-clear cell renal carcinoma subtypes. *Nat Genet.* janv 2015;47(1):13-21.
31. Kovac M, Navas C, Horswell S, Salm M, Bardella C, Rowan A, et al. Recurrent chromosomal gains and heterogeneous driver mutations characterise papillary renal cancer evolution. *Nat Commun [Internet].* déc 2015 [cité 29 janv 2018];6(1). Disponible sur: <http://www.nature.com/articles/ncomms7336>
32. Saleeb RM, Plant P, Tawedrous E, Krizova A, Brimo F, Evans AJ, et al. Integrated Phenotypic/Genotypic Analysis of Papillary Renal Cell Carcinoma Subtypes: Identification of Prognostic Markers, Cancer-related Pathways, and Implications for Therapy. *Eur Urol Focus.* 22 sept 2016;
33. Pitra T, Pivovarcikova K, Alaghebandan R, Hes O. Chromosomal numerical aberration pattern in papillary renal cell carcinoma: Review article. *Ann Diagn Pathol.* 8 nov 2017;
34. Lee BH. Commentary on: « Comprehensive molecular characterization of papillary renal-cell carcinoma. » *Cancer Genome Atlas Research Network.: N Engl J Med.* 2016 Jan 14;374(2):135-45. *Urol Oncol.* sept 2017;35(9):578-9.
35. Srigley JR, Hutter RV, Gelb AB, Henson DE, Kenney G, King BF, et al. Current prognostic factors--renal cell carcinoma: Workgroup No. 4. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer.* 1 sept 1997;80(5):994-6.
36. Margulis V, Tamboli P, Matin SF, Swanson DA, Wood CG. Analysis of clinicopathologic predictors of oncologic outcome provides insight into the natural history of surgically managed papillary renal cell carcinoma. *Cancer.* 1 avr 2008;112(7):1480-8.
37. Shuch B, Bratslavsky G, Shih J, Vourganti S, Finley D, Castor B, et al. Impact of pathological tumour characteristics in patients with sarcomatoid renal cell carcinoma. *BJU Int.* juin 2012;109(11):1600-6.
38. Humphrey PA. Renal cell carcinoma with rhabdoid features. *J Urol.* août 2011;186(2):675-6.
39. Lee SE, Byun S-S, Oh JK, Lee SC, Chang IH, Choe G, et al. Significance of macroscopic tumor necrosis as a prognostic indicator for renal cell carcinoma. *J Urol.* oct 2006;176(4 Pt 1):1332-7; discussion 1337-1338.
40. Delahunt B, Srigley JR, Montironi R, Egevad L. Advances in Renal Neoplasia. *Urology.* mai 2014;83(5):969-74.
41. Sika-Paotonu D, Bethwaite PB, McCredie MRE, William Jordan T, Delahunt B. Nucleolar grade but not Fuhrman grade is applicable to papillary renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol.* sept 2006;30(9):1091-6.
42. Delahunt B, Egevad L, Srigley JR, Samaratunga H. Fuhrman grading is inappropriate for papillary renal cell carcinoma. *World J Urol.* 18 déc 2017;
43. Brierley J, Gospodarowicz M, Wittekind C. *TNM classification des tumeurs malignes, huitième édition, UICC.* cassini. 2017. 304 p.
44. Lenis AT, Salmasi AH, Donin NM, Faiena I, Johnson DC, Drakaki A, et al. Trends in usage of cytoreductive partial nephrectomy and effect on overall survival in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Urol Oncol Semin Orig Investig [Internet].* nov 2017 [cité 1 janv 2018]; Disponible sur: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1078143917305276>
45. Venkatramani V, Koru-Sengul T, Miao F, Nahar B, Prakash NS, Swain S, et al. A comparison of overall survival and perioperative outcomes between partial and radical nephrectomy for cT1b and cT2 renal cell carcinoma—Analysis of a national cancer registry. *Urol Oncol Semin Orig Investig [Internet].* déc

2017 [cité 1 janv 2018]; Disponible sur:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1078143917305938>

46. Courthod G, Tucci M, Di Maio M, Scagliotti GV. Papillary renal cell carcinoma: A review of the current therapeutic landscape. *Crit Rev Oncol Hematol.* oct 2015;96(1):100-12.
47. Ravaud A, Oudard S, De Fromont M, Chevreau C, Gravis G, Zanetta S, et al. First-line treatment with sunitinib for type 1 and type 2 locally advanced or metastatic papillary renal cell carcinoma: a phase II study (SUPAP) by the French Genitourinary Group (GETUG)†. *Ann Oncol.* juin 2015;26(6):1123-8.
48. Choueiri TK, Vaishampayan U, Rosenberg JE, Logan TF, Harzstark AL, Bukowski RM, et al. Phase II and Biomarker Study of the Dual MET/VEGFR2 Inhibitor Foretinib in Patients With Papillary Renal Cell Carcinoma. *J Clin Oncol.* 10 janv 2013;31(2):181-6.
49. Mantilla JG, Antic T, Tretiakova M. GATA3 as a valuable marker to distinguish clear cell papillary renal cell carcinomas from morphologic mimics. *Hum Pathol.* août 2017;66:152-8.
50. Massari F, Ciccarese C, Hes O, Michal M, Calì A, Fiorentino M, et al. The Tumor Entity Denominated “clear cell-papillary renal cell carcinoma” According to the WHO 2016 new Classification, have the Clinical Characters of a Renal Cell Adenoma as does Harbor a Benign Outcome. *Pathol Oncol Res* [Internet]. 10 juill 2017 [cité 26 déc 2017]; Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/s12253-017-0271-x>
51. Saleeb RM, Brimo F, Farag M, Rompré-Brodeur A, Rotondo F, Beharry V, et al. Toward Biological Subtyping of Papillary Renal Cell Carcinoma With Clinical Implications Through Histologic, Immunohistochemical, and Molecular Analysis: *Am J Surg Pathol.* déc 2017;41(12):1618-29.
52. Bui MHT, Visapaa H, Seligson D, Kim H, Han K-R, Huang Y, et al. Prognostic value of carbonic anhydrase IX and Ki67 as predictors of survival for renal clear cell carcinoma. *J Urol.* juin 2004;171(6 Pt 1):2461-6.
53. Joseph RW, Kapur P, Serie DJ, Parasramka M, Ho TH, Cheville JC, et al. Clear Cell Renal Cell Carcinoma Subtypes Identified by BAP1 and PBRM1 Expression. *J Urol.* janv 2016;195(1):180-7.
54. Peña-Llopis S, Vega-Rubín-de-Celis S, Liao A, Leng N, Pavía-Jiménez A, Wang S, et al. BAP1 loss defines a new class of renal cell carcinoma. *Nat Genet.* 10 juin 2012;44(7):751-9.
55. Piva F, Santoni M, Matrana MR, Satti S, Giulietti M, Occhipinti G, et al. BAP1, PBRM1 and SETD2 in clear-cell renal cell carcinoma: molecular diagnostics and possible targets for personalized therapies. *Expert Rev Mol Diagn.* 2015;15(9):1201-10.
56. Kim JH, Kim BJ, Kim HS. Clinicopathological impacts of high c-Met expression in renal cell carcinoma: a meta-analysis and review. *Oncotarget* [Internet]. 25 sept 2017 [cité 18 déc 2017]; Disponible sur: <http://www.oncotarget.com/fulltext/20796>
57. Sweeney P, El-Naggar AK, Lin S-H, Pisters LL. Biological significance of c-met over expression in papillary renal cell carcinoma. *J Urol.* juill 2002;168(1):51-5.
58. Leppert JT, Lamberts RW, Thomas I-C, Chung BI, Sonn GA, Skinner EC, et al. Incident CKD after Radical or Partial Nephrectomy. *J Am Soc Nephrol.* 10 oct 2017;ASN.2017020136.
59. Beck SDW, Patel MI, Snyder ME, Kattan MW, Motzer RJ, Reuter VE, et al. Effect of papillary and chromophobe cell type on disease-free survival after nephrectomy for renal cell carcinoma. *Ann Surg Oncol.* janv 2004;11(1):71-7.

60. Kiuru M, Lehtonen R, Arola J, Salovaara R, Järvinen H, Aittomäki K, et al. Few FH mutations in sporadic counterparts of tumor types observed in hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer families. *Cancer Res.* 15 août 2002;62(16):4554-7.
61. Bhola PT, Gilpin C, Smith A, Graham GE. A retrospective review of 48 individuals, including 12 families, molecularly diagnosed with hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer (HLRCC). *Fam Cancer.* 8 févr 2018;
62. Merino MJ, Torres-Cabala C, Pinto P, Linehan WM. The morphologic spectrum of kidney tumors in hereditary leiomyomatosis and renal cell carcinoma (HLRCC) syndrome. *Am J Surg Pathol.* oct 2007;31(10):1578-85.
63. Muller M, Guillaud-Bataille M, Salleron J, Genestie C, Deveaux S, Slama A, et al. Pattern multiplicity and fumarate hydratase (FH)/S-(2-succino)-cysteine (2SC) staining but not eosinophilic nucleoli with perinucleolar halos differentiate hereditary leiomyomatosis and renal cell carcinoma-associated renal cell carcinomas from kidney tumors without FH gene alteration. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc.* 6 févr 2018;
64. Gill AJ, Pachter NS, Chou A, Young B, Clarkson A, Tucker KM, et al. Renal tumors associated with germline SDHB mutation show distinctive morphology. *Am J Surg Pathol.* oct 2011;35(10):1578-85.
65. Debelenko LV, Raimondi SC, Daw N, Shivakumar BR, Huang D, Nelson M, et al. Renal cell carcinoma with novel VCL-ALK fusion: new representative of ALK-associated tumor spectrum. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc.* mars 2011;24(3):430-42.
66. Liu N, Wang Z, Gan W, Xiong L, Miao B, Chen X, et al. Renal Cell Carcinoma Associated with Xp11.2 Translocation/TFE3 Gene Fusions: Clinical Features, Treatments and Prognosis. Bottaro DP, éditeur. *PLOS ONE.* 28 nov 2016;11(11):e0166897.
67. Cutruzzola P, Cahn D, Kivlin D, Tong C, Edwards D, Amster M. A Review of Translocation T(6;11) Renal Cell Carcinoma Tumors in the Adult Patient. *Curr Urol.* juill 2017;10(2):69-71.
68. 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):24-9.
69. Classe M, Grégoire V, Malouf GG, Leroy X. Reply to « Incidence, clinicopathological features and fusion transcript landscape of translocation renal cell carcinomas ». *Histopathology.* 2017;71(5):836-7.
70. Matsuoka T, Ichikawa C, Fukunaga A, Yano T, Sugino Y, Okada T, et al. [Two Cases of Oncocytic Papillary Renal Cell Carcinoma]. *Hinyokika Kyo.* avr 2016;62(4):187-91.
71. Xia Q-Y, Rao Q, Shen Q, Shi S-S, Li L, Liu B, et al. Oncocytic papillary renal cell carcinoma: a clinicopathological study emphasizing distinct morphology, extended immunohistochemical profile and cytogenetic features. *Int J Clin Exp Pathol.* 2013;6(7):1392-9.
72. Kuthi L, Jenei A, Hajdu A, Németh I, Varga Z, Bajory Z, et al. Prognostic Factors for Renal Cell Carcinoma Subtypes Diagnosed According to the 2016 WHO Renal Tumor Classification: a Study Involving 928 Patients. *Pathol Oncol Res POR.* juill 2017;23(3):689-98.
73. Samaratunga H, Gianduzzo T, Delahunt B. The ISUP system of staging, grading and classification of renal cell neoplasia. *J Kidney Cancer VHL.* 2014;1(3):26-39.



74. Trpkov K, Grignon DJ, Bonsib SM, Amin MB, Billis A, Lopez-Beltran A, et al. Handling and Staging of Renal Cell Carcinoma: The International Society of Urological Pathology Consensus (ISUP) Conference Recommendations. *Am J Surg Pathol.* oct 2013;37(10):1505-17.
75. Delahunt B, McKenney JK, Lohse CM, Leibovich BC, Thompson RH, Boorjian SA, et al. A Novel Grading System for Clear Cell Renal Cell Carcinoma Incorporating Tumor Necrosis: *Am J Surg Pathol.* mars 2013;37(3):311-22.
76. Mydlo JH, Bard RH. Analysis of papillary renal adenocarcinoma. *Urology.* déc 1987;30(6):529-34.
77. Leibovich BC, Lohse CM, Cheville JC, Zaid HB, Boorjian SA, Frank I, et al. Predicting Oncologic Outcomes in Renal Cell Carcinoma After Surgery. *Eur Urol [Internet].* févr 2018 [cité 4 mars 2018]; Disponible sur: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0302283818300095>
78. Kosaka T, Mikami S, Miyajima A, Kikuchi E, Nakagawa K, Ohigashi T, et al. Papillary renal cell carcinoma: clinicopathological characteristics in 40 patients. *Clin Exp Nephrol.* juin 2008;12(3):195-9.
79. Tan Q-X, Qin Q-H, Yang W-P, Mo Q-G, Wei C-Y. Prognostic value of Ki67 expression in HR-negative breast cancer before and after neoadjuvant chemotherapy. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7(10):6862-70.
80. Bellut J, Bertz S, Nolte E, Stöhr C, Polifka I, Lieb V, et al. Differential prognostic value of MYC immunohistochemistry in subtypes of papillary renal cell carcinoma. *Sci Rep.* 27 nov 2017;7(1):16424.
81. Abel EJ, Bauman TM, Weiker M, Shi F, Downs TM, Jarrard DF, et al. Analysis and validation of tissue biomarkers for renal cell carcinoma using automated high-throughput evaluation of protein expression. *Hum Pathol.* mai 2014;45(5):1092-9.
82. Gontero P, Ceratti G, Guglielmetti S, Andorno A, Terrone C, Bonvini D, et al. Prognostic factors in a prospective series of papillary renal cell carcinoma. *BJU Int.* sept 2008;102(6):697-702.
83. Xie Y, Chen L, Ma X, Li H, Gu L, Gao Y, et al. Prognostic and clinicopathological role of high Ki-67 expression in patients with renal cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 13 mars 2017;7:44281.
84. Lucarini L, Magnelli L, Schiavone N, Crisci A, Innocenti A, Puccetti L, et al. Plasmatic carbonic anhydrase IX as a diagnostic marker for clear cell renal cell carcinoma. *J Enzyme Inhib Med Chem.* déc 2018;33(1):234-40.
85. Genega EM, Ghebremichael M, Najarian R, Fu Y, Wang Y, Argani P, et al. Carbonic Anhydrase IX Expression in Renal Neoplasms: Correlation With Tumor Type and Grade. *Am J Clin Pathol.* déc 2010;134(6):873-9.
86. Ho TH, Kapur P, Joseph RW, Serie DJ, Eckel-Passow JE, Parasramka M, et al. Loss of PBRM1 and BAP1 expression is less common in non-clear cell renal cell carcinoma than in clear cell renal cell carcinoma. *Urol Oncol Semin Orig Investig.* janv 2015;33(1):23.e9-23.e14.
87. Wang Z, Wang X-Y, Li J, Zhu W-W. Prognostic and Clinicopathological Significance of *BAP1* Protein Expression in Different Types of Cancer—A Meta-Analysis. *Genet Test Mol Biomark.* févr 2018;22(2):115-26.
88. Ge Y-Z, Xu L-W, Zhou C-C, Lu T-Z, Yao W-T, Wu R, et al. A *BAP1* Mutation-specific MicroRNA Signature Predicts Clinical Outcomes in Clear Cell Renal Cell Carcinoma Patients with Wild-type *BAP1*. *J Cancer.* 2017;8(13):2643-52.

89. Anne-Marie Ruppert, Lavolé A, Antoine M, Wislez M, Cadranet J. MET, une nouvelle cible thérapeutique dans le cancer bronchique. *Onco-Théranostic*. juin 2013;Vol. II-n° 2.
90. Lindor NM, Dechet CB, Greene MH, Jenkins RB, Zincke MT, Weaver AL, et al. Papillary renal cell carcinoma: analysis of germline mutations in the MET proto-oncogene in a clinic-based population. *Genet Test*. 2001;5(2):101-6.
91. Gibney GT, Aziz SA, Camp RL, Conrad P, Schwartz BE, Chen CR, et al. c-Met is a prognostic marker and potential therapeutic target in clear cell renal cell carcinoma. *Ann Oncol*. 1 févr 2013;24(2):343-9.
92. Ghossein RA, Dillon DA, D'Aquila T, Rimm EB, Fearon ER, Rimm DL. Expression of c-met is a strong independent prognostic factor in breast carcinoma. *Cancer*. 15 avr 1998;82(8):1513-20.
93. Nakajima M, Sawada H, Yamada Y, Watanabe A, Tatsumi M, Yamashita J, et al. The prognostic significance of amplification and overexpression of c-met and c-erb B-2 in human gastric carcinomas. *Cancer*. 1 mai 1999;85(9):1894-902.
94. Rogenhofer S, Kahl P, Mertens C, Hauser S, Hartmann W, Büttner R, et al. Global histone H3 lysine 27 (H3K27) methylation levels and their prognostic relevance in renal cell carcinoma. *BJU Int*. févr 2012;109(3):459-65.
95. Koshkin VS, Barata PC, Zhang T, George DJ, Atkins MB, Kelly WJ, et al. Clinical activity of nivolumab in patients with non-clear cell renal cell carcinoma. *J Immunother Cancer*. 29 janv 2018;6(1):9.
96. Drug Combo Bests Sunitinib in RCC. *Cancer Discov*. 26 févr 2018;
97. Carlo MI, Voss MH, Motzer RJ. Checkpoint inhibitors and other novel immunotherapies for advanced renal cell carcinoma. *Nat Rev Urol*. juill 2016;13(7):420-31.
98. Sharpe K, Stewart GD, Mackay A, Van Neste C, Rofe C, Berney D, et al. The effect of VEGF-targeted therapy on biomarker expression in sequential tissue from patients with metastatic clear cell renal cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 15 déc 2013;19(24):6924-34.
99. Liu X-D, Hoang A, Zhou L, Kalra S, Yetil A, Sun M, et al. Resistance to Antiangiogenic Therapy Is Associated with an Immunosuppressive Tumor Microenvironment in Metastatic Renal Cell Carcinoma. *Cancer Immunol Res*. 1 sept 2015;3(9):1017-29.
100. Wang Z, Peng S, Xie H, Guo L, Cai Q, Shang Z, et al. Prognostic and clinicopathological significance of PD-L1 in patients with renal cell carcinoma: a meta-analysis based on 1863 individuals. *Clin Exp Med* [Internet]. 23 janv 2018 [cité 19 févr 2018]; Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/s10238-018-0488-3>
101. Motoshima T, Komohara Y, Ma C, Dewi AK, Noguchi H, Yamada S, et al. PD-L1 expression in papillary renal cell carcinoma. *BMC Urol*. 13 janv 2017;17(1):8.
102. <https://ghr.nlm.nih.gov>. Genetics Home Reference, [Internet]. Disponible sur: <https://ghr.nlm.nih.gov>

# ANNEXES

## **1. Les quatre grades de l'ISUP grading system:**

- Grade 1 : absence de nucléole au grossissement x40
- Grade 2 : présence d'un nucléole visible au grossissement x40 mais non visible au grossissement x10
- Grade 3 : présence d'un nucléole visible au grossissement x10
- Grade 4 : pléomorphisme nucléaire, cellules tumorales géantes multinucléées, présence d'un contingent sarcomatoïde ou rhabdoïde

## **2. Les stades TNM :**

pTx : tumeur rénale primitive non accessible

pT0 : pas de mise en évidence de la tumeur rénale primitive

pT1 : tumeur de 7 cm ou moins de grand axe, limitée au rein

- pT1a : tumeur de 4 cm ou moins
- pT1b : tumeur dont la taille est comprise entre 4 et 7 cm

pT2 : tumeur mesurant plus de 7 cm de grand axe, limitée au rein

- p T2a : tumeur mesurant plus de 7 cm mais moins de 10 cm
- p T2b : tumeur mesurant plus de 10 cm limitée au rein

pT3 : tumeur étendue aux veines principales ou aux tissus péri-rénaux mais non étendue à la surrénale ou au fascia de Gerota

- pT3a : tumeur étendue à la veine rénale ou une branche de celle-ci, ou envahissant les cavités pyélo-calicielles ou la graisse péri-rénale ou encore la graisse du hile rénal mais ne dépassant pas le fascia de Gerota

- pT3b : tumeur étendue à la veine cave inférieure sous le diaphragme
- pT3c : tumeur étendue à la veine cave inférieure au dessus du diaphragme ou envahissant la paroi de la veine cave

pT4 : tumeur étendue au-delà du fascia de Gerota (incluant une extension à la surrénale homolatérale)

pNx : ganglions loco-régionaux non accessibles

pN0 : absence de métastase dans les ganglions loco-régionaux

pN1 : présence de métastase dans les ganglions loco-régionaux

M0 : pas de métastase à distance

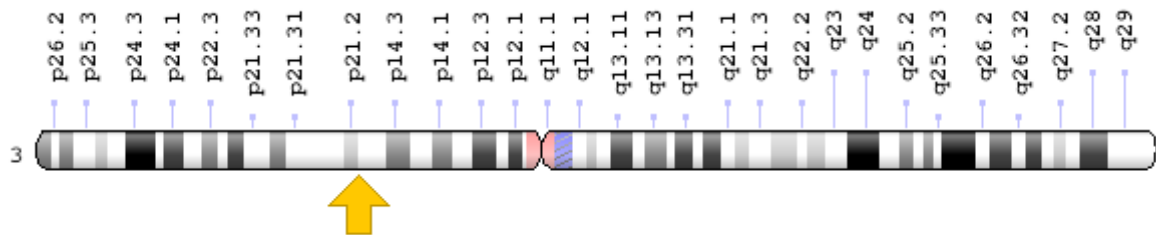
M1 : présence de métastase à distance

- *Stade 1 : T1 N0 M0*
- *Stade 2 : T2 N0 M0*
- *Stade 3 : T3 N0 M0 ou T1/T2/T3 N1 M0*
- *Stade 4 : T4 N0/N1 M0 ou T1/T2/T3/T4 N0/N1 M1*

### 3. Les principaux gènes cités (102):

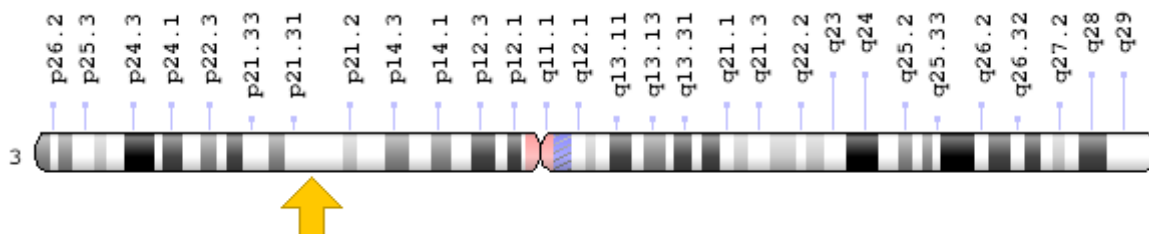
- Le gène *BAP1* (*BRCA associated protein 1*): ce gène permet la synthèse d'une protéine l'ubiquitine carboxy-terminale hydrolase ou BAP1. Cette enzyme possède une fonction de désubiquitinylation ; elle retire donc l'ubiquitine de certaines protéines). La présence ou non de l'ubiquitine sur ces protéines peuvent affecter leur activité ou leur interaction avec d'autres protéines. De ce fait, BAP1 joue un rôle dans la prolifération, la division et la mort cellulaire. Le mécanisme n'est pas encore clairement établi, mais le gène *BAP1* serait un gène suppresseur de tumeur.

Un syndrome héréditaire de prédisposition aux cancers impliquant le gène *BAP1* a été décrit. Les patients atteints présentent des tumeurs cutanées (mélanome, carcinome baso-cellulaire), des tumeurs rénales (CRCC), des mésothéliomes. Les mutations somatiques ou héréditaires, présentes dans les cellules tumorales entraînent une perte de fonction de la protéine BAP1.



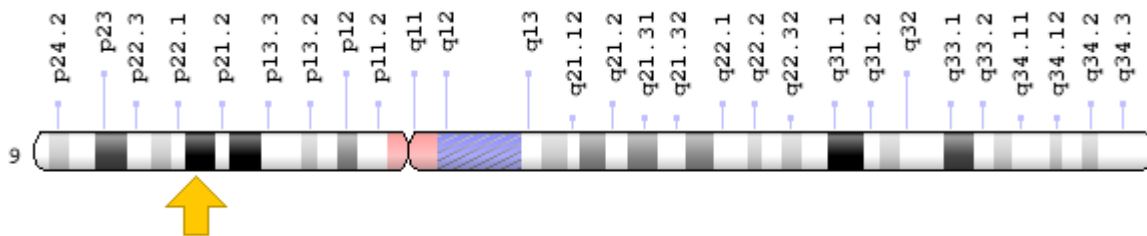
*Localisation chromosomique du gène BAP1 : 3p21.1*

- Le gène *SETD2* (*SET domain containing 2*) : Ce gène, localisé sur le bras court du chromosome 3, code une protéine, une méthyltransférase intervenant sur les histones et ainsi sur la conformation de la chromatine. Elle favoriserait également l'hyperméthylation de l'ARNpolymérase II. Cette enzyme joue un rôle majeur dans la triméthylation des histones et notamment de l'H3K36Me3 qui participe à la modulation de la structure de la chromatine. Ce gène agirait donc comme un gène suppresseur de tumeur selon la littérature. Il a été décrit dans les tumeurs sporadiques du rein.



*Localisation chromosomique du gène SETD2 : 3p21.31*

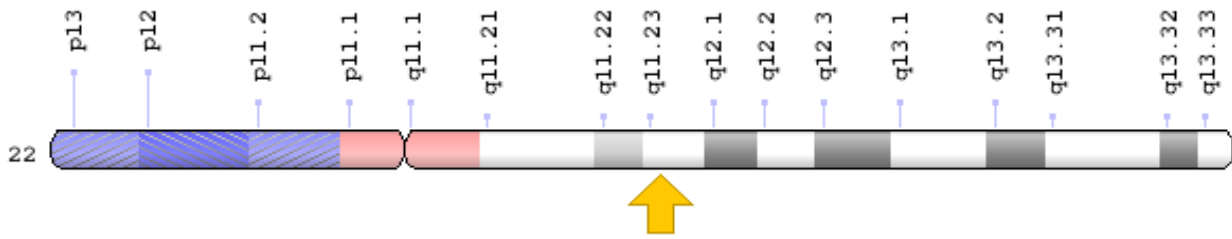
- Le gène *CDKN2A* (*cyclin dependent kinase inhibitor 2A*): le produit de ce gène intervient dans l'activité de plusieurs protéines, notamment celle des protéines p14 (ARF) et p16 (INK4a) qui jouent, toutes les deux, un rôle suppresseur de tumeur. Celles-ci empêchent, en effet, la division trop rapide et incontrôlée des cellules. La mutation de ce gène est retrouvée dans de nombreux cancers comme les carcinomes épidermoïdes, les mélanomes, le cancer du poumon ou encore le cancer du sein.



*Localisation chromosomique du gène CDKN2A : 9p21.3*

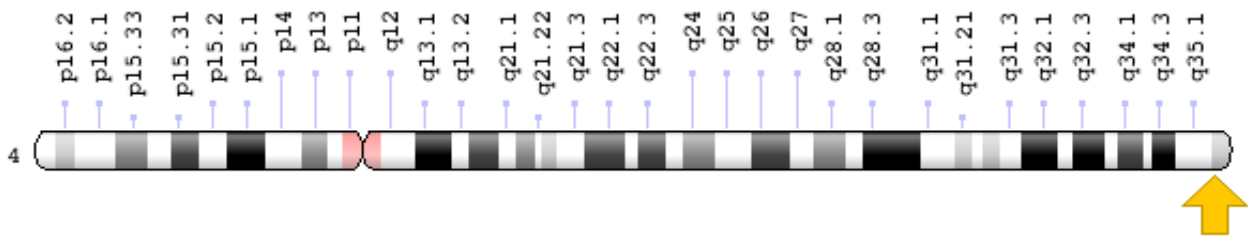
- Le gène *SMARCB1* (*SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily b, member1*): Le produit de ce gène est lié à la voie SWI/SNF. En effet, il interviendrait, de façon encore mal connue, sur le fonctionnement de plusieurs protéines appartenant à cette voie qui régulent l'expression des gènes en jouant sur le remodelage de la chromatine (accessibilité de l'ADN lors de la régulation de la transcription). Cette voie SWI/SNF joue également un rôle dans la réparation des altérations de l'ADN.

Il s'agit donc d'un gène suppresseur de tumeur intervenant dans la division et la maturation cellulaire. Les mutations de ce gène sont retrouvées dans plusieurs syndromes comme le syndrome de Coffin-Siris ou dans le syndrome de prédisposition aux tumeurs rhabdoïdes.



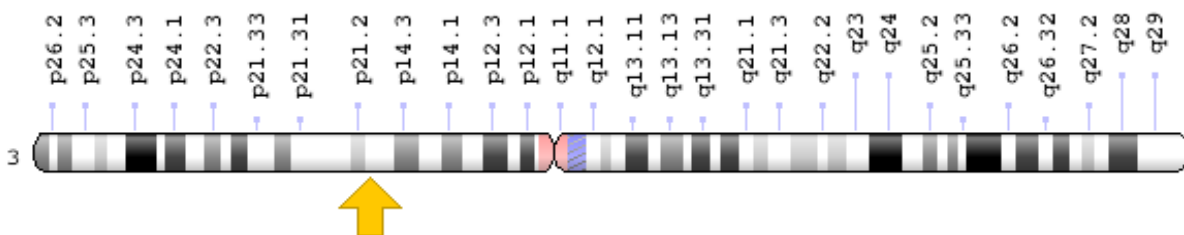
*Localisation chromosomique du gène SMARCB1: 22q11.23*

- Le gène *FAT1* (*FAT atypical cadherin 1*) : ce gène intervient dans le contrôle de la prolifération cellulaire et joue donc un rôle de gène suppresseur de tumeur. Le produit de ce gène fait partie de la famille des cadherines. Il jouerait un rôle dans la polarisation des cellules, leur migration et modulerait le contact entre les cellules.



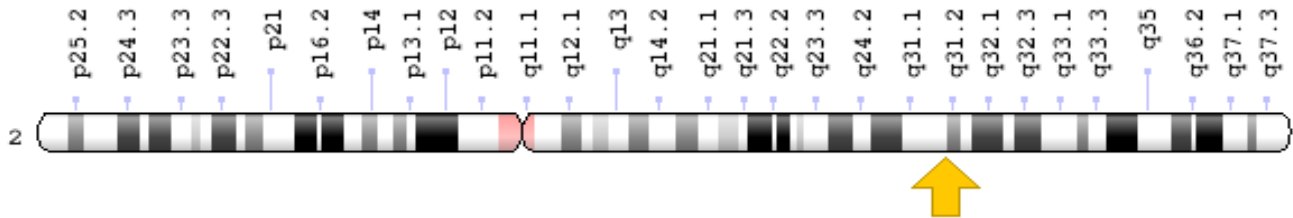
*Localisation chromosomique du gène FAT1: 4q35.2*

- Le gène *PBRM1* (*polybromo 1*) : ce gène code une sous-unité du complexe protéique impliqué dans le remodelage de la chromatine ATP-dépendant. Un lien a été mis en évidence entre la mutation de ce gène et les carcinomes rénaux à cellules claires. Ce gène aurait une action inhibitrice sur la prolifération cellulaire, il serait donc un gène suppresseur de tumeur. Il a été décrit également dans le cholangiocarcinome.



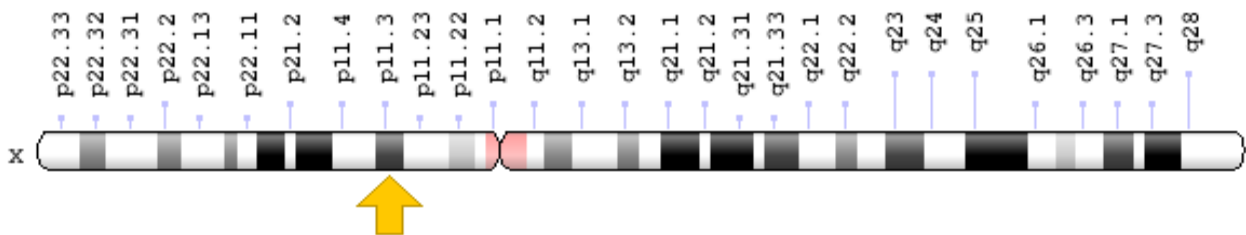
*Localisation chromosomique du gène PBRM1: 3p21.1*

- Le gène *NFE2L2* (*nuclear factor, erythroid 2 like 2*): ce gène code un facteur de transcription qui régule d'autres gènes codants des antioxydants (ARE) et intervenant sur le contrôle de la production de radicaux libres.



*Localisation chromosomique du gène NFE2L2: 2q31.2*

- Le gène *KDM6A* (*lysine demethylase 6A*): Ce gène code une enzyme, la « déméthylase lysine-spécifique 6A » qui est impliquée dans la méthylation des histones. Elle participe donc au contrôle de l'expression de nombreux autres gènes (accessibilité de l'ADN lors de la régulation de la transcription). Il s'agirait d'un gène suppresseur de tumeur. Les mutations de ce gène sont retrouvées dans le syndrome de Kabuki ou dans de nombreux cancers comme le cancer du sein, de l'œsophage, du colon ou du rein.

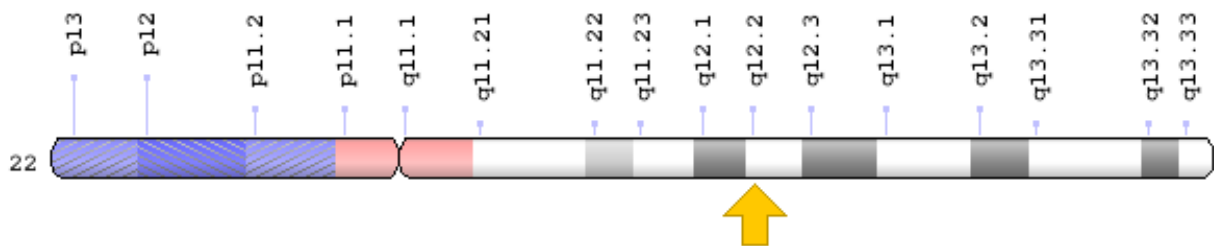


*Localisation chromosomique du gène KDM6A: Xp11.3*

- Le gène *NF2* (*neurofibromin 2*): Ce gène intervient dans la production d'une protéine dénommée merlin ou schwannomin qui joue un rôle au niveau du système nerveux. Cette protéine régule également plusieurs voies importantes dans le contrôle de différentes propriétés cellulaires comme la forme, la taille et l'adhésion

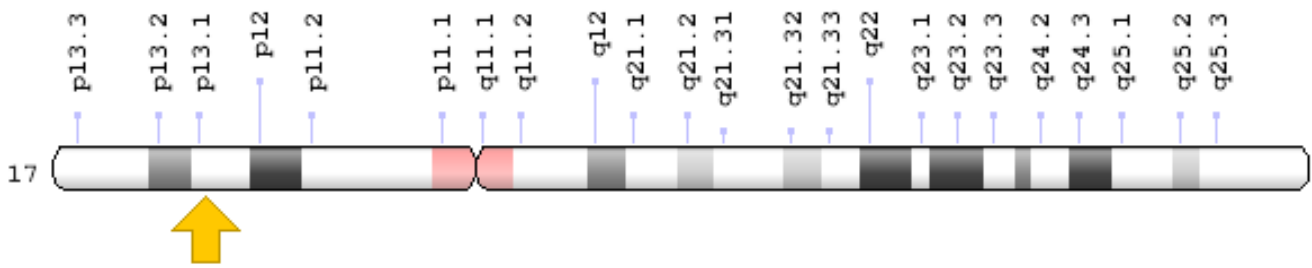


cellulaire. Ce gène est identifié comme un gène suppresseur de tumeur. Des mutations multiples concernant ce gène sont retrouvées dans la neurofibromatose de type 2. Il a été également identifié dans la schwannomatose sporadique, entraînant le développement de nombreux schwannomes. Enfin, lorsqu'il est inactivé, il est aussi impliqué dans le développement de tumeurs comme par exemple, les méningiomes, les épendymomes ou les mésothéliomes.



*Localisation chromosomique du gène NF2: 22q12.2*

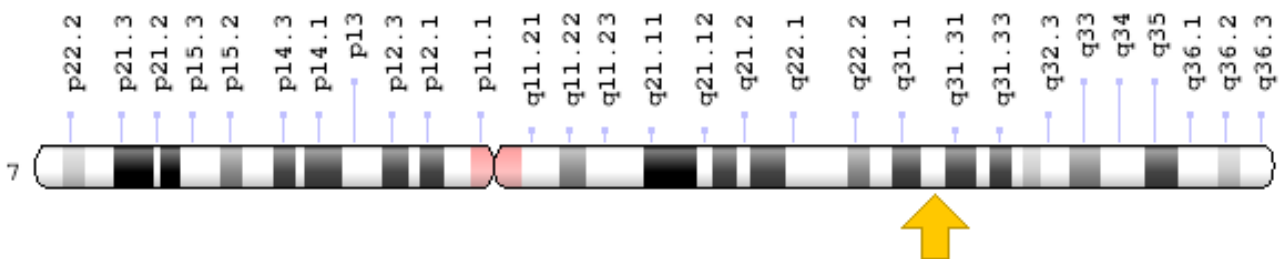
- Le gène *TP53* (*tumor protein p53*) : Ce gène code la protéine p53 qui agit comme un suppresseur de tumeur. Cette protéine régule la division et la prolifération cellulaire. Lors de dommages cellulaires, son rôle est impliqué dans les processus de contrôle qui évaluent si les lésions de l'ADN sont réparables ou si la cellule doit entrer en apoptose. Ainsi, en stoppant les cellules en division, présentant des mutations ou des dommages sur leur ADN, la p53 empêche le développement des tumeurs. Cette protéine a pris d'ailleurs le nom de « gardienne du génome ». La mutation de ce gène est impliquée dans plusieurs syndromes, notamment le syndrome de Li-Fraumeni où de nombreux cancers se développent. On peut également retrouver des altérations de ce gène dans des tumeurs sporadiques comme le cancer du poumon, de la vessie, des ovaires, du colon...



Localisation chromosomique du gène TP53: 17p13.1

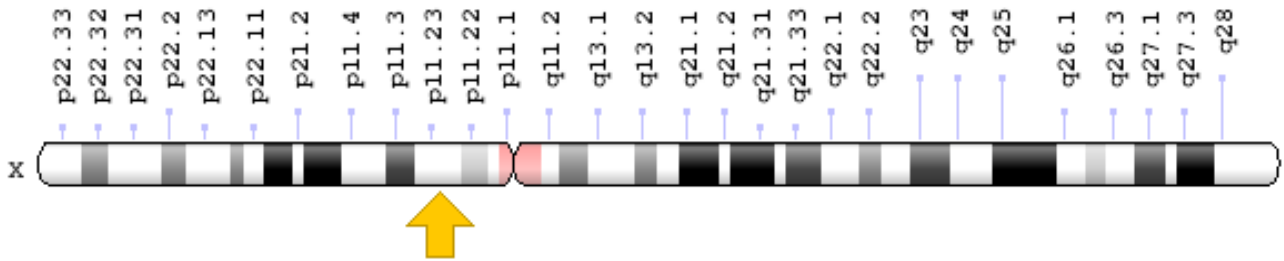
- Le gène *MET* (*MET* proto-oncogène, *receptor tyrosine kinase*): Ce gène code un membre de la famille des récepteur à tyrosine kinase (HGF-R). Il participe à la production des sous-unités alpha et beta du récepteur. La liaison à son ligand, hepatocyte growth factor, entraîne une dimérisation et une activation du récepteur qui agira sur la survie et la migration cellulaire.

La mutation de ce gène est connu dans le carcinome rénal papillaire, notamment dans les carcinomes papillaires de type 1 mais aussi dans l'hépatocarcinome. L'amplification de ce gène et sa surexpression sont associées également au développement de multiples cancers.



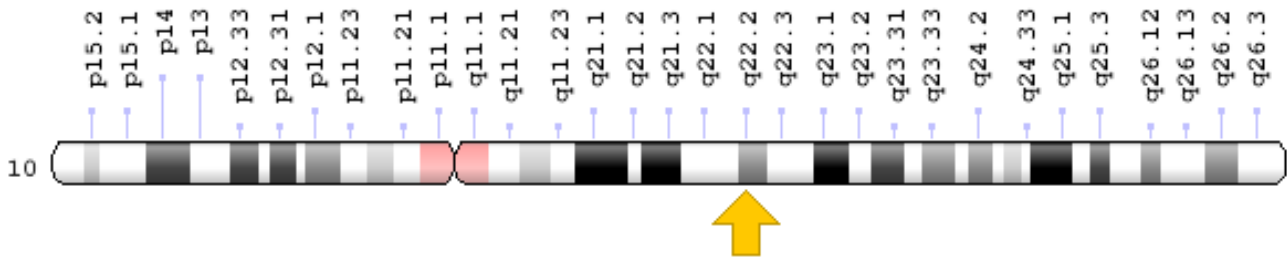
Localisation chromosomique du gène MET: 7q31.2

- Le gène *TFE3* (*transcription factor binding to IGHM enhancer 3*): Ce gène est impliqué dans les carcinomes rénaux avec translocation de la famille MiTF. Ces partenaires de translocation sont, entre autres, le PRCC, NONO ou ASPSCR1.



Localisation chromosomique du gène *TFE3*: Xp11.23

- Le gène *VCL* (*Vinculin*) : Ce gène code la vinculine, une protéine du cytosquelette impliquée dans l'adhésion des cellules entre elles. Un défaut de cette protéine est incriminé dans les cardiomyopathies dilatées type 1W. Ce gène serait donc impliqué dans le contrôle de la morphologie et de la mobilité cellulaire.

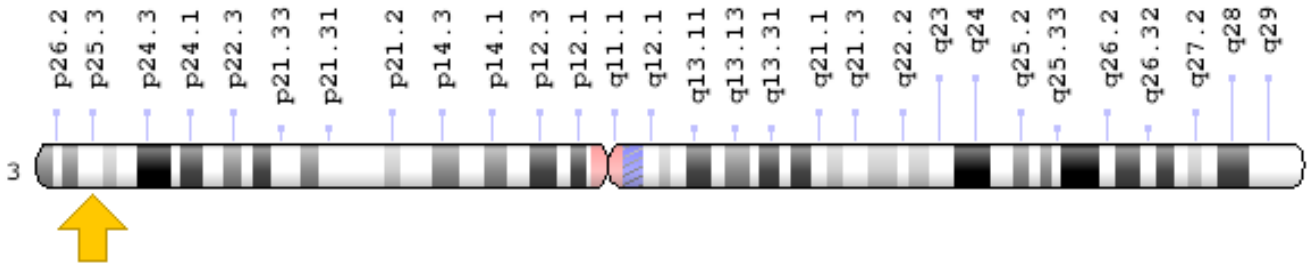


Localisation chromosomique du gène *VCL*: 10q22.2

- Le gène *VHL* (*Von Hippel-Lindau tumor suppressor*) : Ce gène code une protéine appartenant au complexe de protéines VCB-CUL2. Ce complexe intervient dans un processus de protéolyse, nécessaire au bon fonctionnement cellulaire. Il jouerait alors un rôle dans la prolifération cellulaire et participerait aussi à la formation de nouveaux vaisseaux.

Il s'agit d'un gène suppresseur de tumeur. Ce gène est muté notamment dans le syndrome de Von Hippel-Lindau entraînant la formation de nombreuses formations tumorales ou kystiques (rein, cerveau). Une mutation de ce gène peut également engendrer un risque accru de paragangliomes ou de phéochromocytomes. Certains

cancers sporadiques présentent aussi des altérations de ce gène, comme par exemple, le carcinome rénal à cellules claires.



*Localisation chromosomique du gène VHL: 3p25.3*

**AUTEUR : Nom : PRIN**

**Prénom : Méline**

**Date de soutenance : 13 Avril 2018**

**Titre de la thèse : Le carcinome papillaire rénal non de type 1 : Etude clinico-pathologique, morphologique, immuno-histochimique et moléculaire d'une série de 65 cas.**

**Thèse – Médecine – Lille 2018**

**Cadre de classement : Anatomie et Cytologie Pathologique.**

**Mots-clés : Carcinome papillaire rénale non de type 1, classification OMS 2016, tissu micro-array, étude pronostique, immunohistochimie**

**Résumé :**

Le carcinome rénal papillaire (CRP) est une catégorie tumorale, subdivisée en types 1 et 2. Il existe, en fait, une grande hétérogénéité morphologique, mais aussi pronostique notamment parmi les CRP non de type 1. Des difficultés diagnostiques peuvent donc se poser, en particulier depuis la description de nouvelles entités dans la classification OMS 2016. Les objectifs de notre étude étaient de reclasser un série de CRP uniquement d'un point de vue morphologique, en différents sous-types, pour constituer une cohorte de CRP non de type 1. Celle-ci a été étudiée ensuite grâce à une analyse immunohistochimique permettant l'identification éventuelle des nouvelles entités décrites. Enfin, une évaluation pronostique a été réalisée sur notre cohorte globale et les sous-groupes constitutifs, en fonction de différents critères anatomo-cliniques et immunohistochimiques.

Cette étude rétrospective et monocentrique, s'étendant sur 26 ans, nous a permis de sélectionner 65 cas de CRP non de type 1 : CRP2 d'aspect homogène (61.5%), CRP mixtes (12.5%), CRP d'aspect oncocytaire (21.5%) et CRP avec foyers à cellules claires (4.5%). Une étude immunohistochimique sur TMA a été réalisée. Des marqueurs à visée diagnostique comprenant les anticorps suivants ont été utilisés : anti-FH, SDHB, MelanA, TFE3, GATA3, ALK ; mais aussi des marqueurs à visée pronostique et thérapeutique : anti-Ki67, CAIX, BAP1, H3K27M, H3K36M, MET et PD-L1.

Nous n'avons pas identifié de nouvelles entités décrites dans la classification OMS 2016 au sein de notre cohorte. Concernant les facteurs pronostiques, la taille tumorale, la présence de nécrose, l'extension à la graisse péri-rénale, l'extension vasculaire, l'extension ganglionnaire ou l'envahissement métastatique sont des critères péjoratifs, particulièrement dans le sous-groupe de CRP2 d'aspect homogène. Aucun lien statistique n'a été démontré avec les marqueurs à visée pronostique, hormis pour l'anticorps anti-Ki67 (marquage>5%) qui a été identifié comme un facteur de mauvais pronostic dans le sous-groupe des CRP2 d'aspect homogène.

En conclusion, ce travail montre donc que les CRP non type 1 comportent plusieurs entités différentes qui doivent être distinguées. Nous avons confirmé la valeur pronostique des critères anatomopathologiques usuels et démontré que la nécrose tumorale est un facteur important à considérer dans l'évaluation pronostique des CRP de type 2 homogène. Nous avons également montré l'intérêt d'effectuer un immuno-marquage avec l'anticorps anti-Ki67 dans ce sous groupe particulier. Enfin, les résultats obtenus avec les marqueurs PD-L1 et MET laisse entrevoir de nouvelles perspectives pronostiques et thérapeutiques.

**Composition du jury :**

**Présidente : Madame le Professeur Emmanuelle LETEURTRE**

**Assesseurs : Monsieur le Professeur Sébastien AUBERT**

**Monsieur le Docteur Jean-Christophe FANTONI**

**Directeur: Monsieur le Professeur Xavier LEROY**