



**HAL**  
open science

## Étude de l'expression de la protéine SPARC dans une série de 60 tumeurs à cellules rénales

Zoé Pedeutour-Braccini

► **To cite this version:**

Zoé Pedeutour-Braccini. Étude de l'expression de la protéine SPARC dans une série de 60 tumeurs à cellules rénales. Médecine humaine et pathologie. 2014. dumas-01275825

**HAL Id: dumas-01275825**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01275825>**

Submitted on 18 Feb 2016

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE NICE SOPHIA ANTIPOLIS  
FACULTE DE MEDECINE DE NICE

THESE

Pour obtenir le grade de

**DOCTEUR EN MEDECINE**

Présentée et soutenue publiquement par

**Zoé PEDEUTOUR-BRACCINI**

Le 23 septembre 2014

**ETUDE DE L'EXPRESSION  
DE LA PROTEINE SPARC  
DANS UNE DANS UNE SERIE DE  
60 TUMEURS A CELLULES RENALES**

JURY

Professeur Jean-François MICHIELS

Président

Professeur Jean AMIEL

Assesseur

Professeur Jean-Marc FERRERO

Assesseur

Docteur Sophie TARTARE-DECKERT

Assesseur

Docteur Damien AMBROSETTI

Directeur de thèse



UNIVERSITE DE NICE SOPHIA ANTIPOLIS  
FACULTE DE MEDECINE DE NICE

THESE

Pour obtenir le grade de

**DOCTEUR EN MEDECINE**

Présentée et soutenue publiquement par

**Zoé PEDEUTOUR-BRACCINI**

Le 23 septembre 2014

**ETUDE DE L'EXPRESSION  
DE LA PROTEINE SPARC  
DANS UNE SÉRIE DE  
60 TUMEURS A CELLULES RENALES**

JURY

Professeur Jean-François MICHIELS

Président

Professeur Jean AMIEL

Assesseur

Professeur Jean-Marc FERRERO

Assesseur

Docteur Sophie TARTARE-DECKERT

Assesseur

Docteur Damien AMBROSETTI

Directeur de thèse

## UNIVERSITÉ DE NICE-SOPHIA ANTIPOLIS

## FACULTÉ DE MÉDECINE

Liste des professeurs au 1<sup>er</sup> novembre 2013 à la Faculté de Médecine de Nice

Doyen	M. BAQUÉ Patrick
Assesseurs	M. BOILEAU Pascal M. HÉBUTERNE Xavier M. LEVRAUT Jacques
Conservateur de la bibliothèque	M. SCALABRE Grégory
Chef des services administratifs	Mme CALLEA Isabelle
Doyens Honoraires	M. AYRAUD Noël M. RAMPAL Patrick M. BENCHIMOL Daniel
Professeurs Honoraires	
M. BALAS Daniel	M. LALANNE Claude-Michel
M. BLAIVE Bruno	M. LAMBERT Jean-Claude
M. BOQUET Patrice	M. LAPALUS Philippe
M. BOURGEON André	M. LAZDUNSKI Michel
M. BOUTTÉ Patrick	M. LEFEBVRE Jean-Claude
M. BRUNETON Jean-Noël	M. LE BAS Pierre
Mme BUSSIERE Françoise	M. LE FICHOUX Yves
M. CHATEL Marcel	M. LOUBIERE Robert
M. COUSSEMENT Alain	M. MARIANI Roger
M. DAR COURT Guy	M. MASSEYEFF René
M. DELMONT Jean	M. MATTEI Mathieu
M. DEMARD François	M. MOUIEL Jean
M. DOLISI Claude	Mme MYQUEL Martine
M. FREYCHET Pierre	M. OLLIER Amédée
M. GÉRARD Jean-Pierre	M. ORTONNE Jean-Paul
M. GILLET Jean-Yves	M. SCHNEIDER Maurice
M. GRELLIER Patrick	M. TOUBOL Jacques
M. HARTER Michel	M. TRAN Dinh Khiem
M. INGLES AKIS Jean-André	M. ZIEGLER Gérard
M.C.A. Honoraire	Mlle ALLINE Madeleine
M.C.U. Honoraires	M. ARNOLD Jacques M. BASTERIS Bernard Mlle CHICHMANIAN Rose-Marie M. EMILIOZZI Roméo

M. GASTAUD Marcel  
 M. GIRARD-PIPAU Fernand  
 M. GIUDICELLI Jean  
 M. MAGNÉ Jacques  
 Mme MEMRAN Nadine  
 M. MENGUAL Raymond  
 M. POIRÉE Jean-Claude  
 Mme ROURE Marie-Claire

#### PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

M.	AMIEL Jean	Urologie (52.04)
M.	BENCHIMOL Daniel	Chirurgie Générale (53.02)
M.	CAMOUS Jean-Pierre	Thérapeutique (48.04)
M.	DARCOURT Jacques	Biophysique et Médecine Nucléaire (43.01)
M.	DELLAMONICA Pierre	Maladies Infectieuses ; Maladies Tropicales (45.03)
M.	DESNUELLE Claude	Biologie Cellulaire (44.03)
Mme	EULLER-ZIEGLER Liana	Rhumatologie (50.01)
M.	FENICHEL Patrick	Biologie du Développement et de la Reproduction (54.05)
M.	FUZIBET Jean-Gabriel	Médecine Interne (53.01)
M.	FRANCO Alain	Gériatrie et Biologie du vieillissement (53.01)
M.	GASTAUD Pierre	Ophthalmologie (55.02)
M.	GILSON Éric	Biologie Cellulaire (44.03)
M.	GRIMAUD Dominique	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
M.	HASSEN KHODJA Reda	Chirurgie Vasculaire (51.04)
M.	HÉBUTERNE Xavier	Nutrition (44.04)
M.	HOFMAN Paul	Anatomie et Cytologie Pathologiques (42.03)
M.	LACOUR Jean-Philippe	Dermato-Vénérologie (50.03)
Mme	LEBRETON Élisabeth	Chirurgie Plastique, Reconstructrice et Esthétique (50.04)
M.	MICHIELS Jean-François	Anatomie et Cytologie Pathologiques (42.03)
M.	PRINGUEY Dominique	Psychiatrie d'Adultes (49.03)
M.	QUATREHOMME Gérald	Médecine Légale et Droit de la Santé (46.03)
M.	SANTINI Joseph	O.R.L. (55.01)
M.	THYSS Antoine	Cancérologie, Radiothérapie (47.02)
M.	VAN OBBERGHEN Emmanuel	Biochimie et Biologie Moléculaire (44.01)

#### PROFESSEURS PREMIERE CLASSE

M.	BATT Michel	Chirurgie Vasculaire (51.04)
M.	BÉRARD Étienne	Pédiatrie (54.01)
M.	BERNARDIN Gilles	Réanimation Médicale (48.02)
M.	BOILEAU Pascal	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (50.02)
M.	BONGAIN André	Gynécologie-Obstétrique (54.03)
Mme	CRENESSE Dominique	Physiologie (44.02)
M.	DE PERETTI Fernand	Anatomie-Chirurgie Orthopédique (42.01)
M.	DRICI Milou-Daniel	Pharmacologie Clinique (48.03)
M.	ESNAULT Vincent	Néphrologie (52-03)
M.	FERRARI Émile	Cardiologie (51.02)
M.	GIBELIN Pierre	Cardiologie (51.02)
M.	GUGENHEIM Jean	Chirurgie Digestive (52.02)
Mme	ICHAÏ Carole	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
M.	LONJON Michel	Neurochirurgie (49.02)
M.	MARQUETTE Charles-Hugo	Pneumologie (51.01)
M.	MARTY Pierre	Parasitologie et Mycologie (45.02)
M.	MOUNIER Nicolas	Cancérologie, Radiothérapie (47.02)
M.	MOUROUX Jérôme	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire (51.03)

M.	PADOVANI Bernard	Radiologie et Imagerie Médicale (43.02)
M.	PAQUIS Philippe	Neurochirurgie (49.02)
Mme	PAQUIS Véronique	Génétique (47.04)
M.	RAUCOULES-AIMÉ Marc	Anesthésie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
Mme	RAYNAUD Dominique	Hématologie (47.01)
M.	ROBERT Philippe	Psychiatrie d'Adultes (49.03)
M.	ROSENTHAL Éric	Médecine Interne (53.01)
M.	SCHNEIDER Stéphane	Nutrition (44.04)
M.	TRAN Albert	Hépto Gastro-entérologie (52.01)

#### PROFESSEURS DEUXIEME CLASSE

M.	ALBERTINI Marc	Pédiatrie (54.01)
Mme	ASKENAZY-GITTARD Florence	Pédopsychiatrie (49.04)
M.	BAHADORAN Philippe	Cytologie et Histologie (42.02)
M.	BAQUÉ Patrick	Anatomie - Chirurgie Générale (42.01)
M.	BARRANGER Emmanuel	Gynécologie Obstétrique (54.03)
M.	BENIZRI Emmanuel	Chirurgie Générale (53.02)
Mme	BLANC-PEDEUTOUR Florence	Cancérologie – Génétique (47.02)
M.	BREAUD Jean	Chirurgie Infantile (54-02)
Mlle	BREUIL Véronique	Rhumatologie (50.01)
M.	CANIVET Bertrand	Médecine Interne (53.01)
M.	CARLES Michel	Anesthésiologie Réanimation (48.01)
M.	CASSUTO Jill-Patrice	Hématologie et Transfusion (47.01)
M.	CASTILLO Laurent	O.R.L. (55.01)
M.	CHEVALLIER Patrick	Radiologie et Imagerie Médicale (43.02)
M.	DUMONTIER Christian	Chirurgie plastique
M.	FERRERO Jean-Marc	Cancérologie ; Radiothérapie (47.02)
M.	FOURNIER Jean-Paul	Thérapeutique (48-04)
M.	FREDENRICH Alexandre	Endocrinologie, Diabète et Maladies métaboliques (54.04)
Mlle	GIORDANENGO Valérie	Bactériologie-Virologie (45.01)
M.	GUÉRIN Olivier	Gériatrie (48.04)
M.	HANNOUN-LEVI Jean-Michel	Cancérologie ; Radiothérapie (47.02)
M.	IANNELLI Antonio	Chirurgie Digestive (52.02)
M.	JOURDAN Jacques	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire (51.03)
M.	LEVRAUT Jacques	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
M.	PASSERON Thierry	Dermato-Vénérologie (50-03)
M.	PICHE Thierry	Gastro-entérologie (52.01)
M.	PRADIER Christian	Épidémiologie, Économie de la Santé et Prévention (46.01)
M.	ROGER Pierre-Marie	Maladies Infectieuses ; Maladies Tropicales (45.03)
M.	ROHRLICH Pierre	Pédiatrie (54.01)
M.	RUIMY Raymond	Bactériologie-virologie (45.01)
M.	SADOUL Jean-Louis	Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques (54.04)
M.	STACCINI Pascal	Biostatistiques et Informatique Médicale (46.04)
M.	THOMAS Pierre	Neurologie (49.01)
M.	TROJANI Christophe	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (50.02)
M.	VENISSAC Nicolas	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire (51.03)

#### PROFESSEUR DES UNIVERSITÉS

M.	SAUTRON Jean-Baptiste	Médecine Générale
----	-----------------------	-------------------

## MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme	ALUNNI-PERRET Véronique	Médecine Légale et Droit de la Santé (46.03)
M.	AMBROSETTI Damien	Cytologie et Histologie (42.02)
Mme	BANNWARTH Sylvie	Génétique (47.04)
M.	BENOLIEL José	Biophysique et Médecine Nucléaire (43.01)
Mme	BERNARD-POMIER Ghislaine	Immunologie (47.03)
Mme	BUREL-VANDENBOS Fanny	Anatomie et Cytologie pathologiques (42.03)
M.	DELOTTE Jérôme	Gynécologie-Obstétrique (54.03)
M.	DOGLIO Alain	Bactériologie-Virologie (45.01)
Mme	DONZEAU Michèle	Biologie du Développement et de la Reproduction (54.05)
M.	FOSSE Thierry	Bactériologie-Virologie-Hygiène (45.01)
M.	FRANKEN Philippe	Biophysique et Médecine Nucléaire (43.01)
M.	GARRAFFO Rodolphe	Pharmacologie Fondamentale (48.03)
Mme	HINAULT Charlotte	Biochimie et biologie moléculaire (44.01)
Mlle	LANDRAUD Luce	Bactériologie-Virologie (45.01)
Mme	LEGROS Laurence	Hématologie et Transfusion (47.01)
Mme	MAGNIÉ Marie-Noëlle	Physiologie (44.02)
Mme	MUSSO-LASSALLE Sandra	Anatomie et Cytologie pathologiques (42.03)
M.	NAÏMI Mourad	Biochimie et Biologie moléculaire (44.01)
M.	PHILIP Patrick	Cytologie et Histologie (42.02)
Mme	POMARES Christelle	Parasitologie et mycologie (45.02)
Mlle	PULCINI Céline	Maladies Infectieuses ; Maladies Tropicales (45.03)
M.	ROUX Christian	Rhumatologie (50.01)
M.	TESTA Jean	Épidémiologie Économie de la Santé et Prévention (46.01)
M.	TOULON Pierre	Hématologie et Transfusion (47.01)

## PROFESSEURS ASSOCIÉS

M.	DIOMANDE Mohenou Isidore	Anatomie et Cytologie Pathologiques
M.	HOFLLIGER Philippe	Médecine Générale
M.	MAKRIS Démosthènes	Pneumologie
M.	PITTET Jean-François	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale
Mme	POURRAT Isabelle	Médecine Générale

## MAITRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Mme	CHATTI Kaouthar	Biophysique et Médecine Nucléaire
M.	GARDON Gilles	Médecine Générale
Mme	MONNIER Brigitte	Médecine Générale
M.	PAPA Michel	Médecine Générale

## PROFESSEURS CONVENTIONNÉS DE L'UNIVERSITÉ

M.	BERTRAND François	Médecine Interne
M.	BROCKER Patrice	Médecine Interne Option Gériatrie
M.	CHEVALLIER Daniel	Urologie
Mme	FOURNIER-MEHOUAS Manuella	Médecine Physique et Réadaptation
M.	QUARANTA Jean-François	Santé Publique



## REMERCIEMENTS

**A Monsieur le Professeur Jean-François Michiels,**

Vous m'avez accueillie avec bienveillance dans la spécialité et me faites l'honneur de présider ce jury.

Au cours de ces dernières années j'ai pu apprécier l'étendue de vos connaissances et votre inégalable dévouement pour votre équipe. Les stages dans votre service ont été une étape essentielle dans ma formation. Je tiens à vous exprimer ma fierté de compter parmi vos élèves et vous remercie pour votre enseignement dispensé avec enthousiasme.

Soyez assuré de mon admiration et mon profond respect.

**A Monsieur le Professeur Jean Amiel,**

Vous me faites l'honneur de siéger parmi ce jury.

Soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.

**A Monsieur le Professeur Jean-Marc Ferrero,**

Je vous remercie d'avoir accepté de juger mon travail et de nous faire partager votre expertise en cancérologie.

Soyez assuré de mon estime et de ma gratitude.

**A Madame le Docteur Sophie Tartare-Deckert,**

Je vous remercie pour nos échanges enrichissants, votre gentillesse et vos conseils avisés.

**A Monsieur le Docteur Damien Ambrosetti,**

Je te suis très reconnaissante d'avoir dirigé cette thèse et su me guider dans sa réalisation. J'ai pu apprécier ton esprit critique et novateur et ta disponibilité sans faille. Ton bureau est toujours ouvert et tu as grandement participé à ma formation durant mon internat.

Je te remercie pour ta bonne humeur, ta patience et tes précieux conseils.

**A Monsieur le Docteur Eric Fontas et Madame Coralie Roger,**

Je vous remercie de m'avoir aidée dans la concrétisation statistique de ce travail.

Votre disponibilité et votre savoir-faire ont été pour moi d'une aide immense.

Soyez assurés de mon estime et de ma gratitude.

**A Mélanie Tichet** pour ses travaux sur la protéine SPARC.

Au service d'urologie (**Professeur Jean Amiel**) du CHU de Nice,

Au service de chirurgie urologique (**Docteur Christian Choquenot**) et au laboratoire d'anatomopathologie (**Docteur Florence Dupre**) du Centre Hospitalier Princesse Grace à Monaco, pour avoir contribué à ce travail.

A tous les membres de l'équipe du Laboratoire de Génétique des Tumeurs Solides (**Professeur Florence Pedeutour**) pour leur aide concernant les données cytogénétiques mais aussi pour leur encadrement particulièrement chaleureux lors de mon stage effectué dans le cadre du D.I.U de pathologie moléculaire.

Aux médecins qui ont participé à ma formation avec compétence, patience et sympathie :

A **Fanny**, pour tes compétences en neuropathologie et pour tes précieux conseils lors de mon Master 2 que tu as toujours dispensés avec gentillesse,

**Nathalie**, pour ton enseignement en dermatopathologie et ces nombreux fous rires,

**Maxime**, pour ta disponibilité et ta constante bonne humeur,

Au **Docteur Marie-Christine Saint-Paul**, pour votre enseignement en pathologie digestive et votre rigueur,

Au **Docteur Christophe Perrin**,

Au **Professeur Isidore Diomande**, pour vos nombreux cours sur la pathologie infectieuse,

Aux **Docteurs Anne Chevallier, Marjorie Piche, et Agnès Rampal**, pour votre accueil sympathique et votre enseignement lors de mon semestre à l'Archet,

Aux **Docteurs Isabelle Peyrottes et Anne Sudaka** pour m'avoir accueillie dans leur service, pour la qualité de la formation qu'elles y dispensent, et la confiance qu'elles m'ont accordée,

A **Juliette et Myriam** pour votre gentillesse et votre enseignement, notamment en pathologie mammaire. J'ai beaucoup apprécié mon semestre à vos côtés,

Au **Professeur Paul Hofman** chez qui j'ai passé un dernier semestre très enrichissant et que je remercie pour ses enseignements,

Aux **Docteurs Catherine Butori, Véronique Hofman**, pour votre disponibilité et votre enseignement délivré avec grand enthousiasme,

A **Elodie, Sandra**, pour vos conseils et votre sympathie.

A mes co-internes

**Béregère, Sophie Zaïgouche, Julie La Barbe, Nouran**, merci pour votre bonne humeur qui a tant embelli ces années d'internat, et pour tous ces bons moments partagés, surtout hors-laboratoire !

**Julien, Coraline, Mélanie**,

A **Jérôme**, pour ce semestre de chirurgie viscérale à Lenval qui fût sans doute un des plus agréables de mon cursus !

Aux gynécologues, avec une pensée particulière pour **Lyna, Béregère, Sarah, Olivier, Sylvie**,

Aux chefs «de la clinique »

**Stéphanie**, je garde un très bon souvenir de notre semestre partagé dans le même bureau lors de l'écriture de ta propre thèse, je te comprends tellement maintenant ! Tu es pour nous toutes un modèle,

**Caroline, Marius**,

A l'ensemble des **techniciens et secrétaires** du LCAP, du CAL et du LPCE pour votre accueil chaleureux lors de chaque semestre et pour votre compétence si précieuse,

Aux **ingénieurs**,

A **Christelle** et **Jean-Marc** pour nous avoir hébergées Sophie et moi avec excellente humeur dans votre bureau lors du dernier semestre, et merci Christelle de m'avoir sauvée plusieurs fois avec le logiciel Excel !

Aux **ASH** pour leur gentillesse,



Au **Professeur Valérie Costes-Martineau**, au **Docteur Valérie Rigau**, au **Professeur Hugues Duffau**, à mes « ex » co-internes montpelliérains et à toute l'équipe du laboratoire d'anatomo-pathologie du CHU Gui de Chauliac de Montpellier,

Je vous remercie pour votre accueil et votre formation lors mon stage d'inter-CHU et de mon Master 2. Soyez assurés de ma reconnaissance.

Au **Professeur André Bongain**, pour son dynamisme lors de ma formation initiale en gynécologie-obstétrique,

Au **Professeur Jean-Stéphane Valla**, pour sa compétence, et son accueil particulièrement sympathique lors de mon semestre dans son service de chirurgie viscérale pédiatrique.

**A ma fille Romane,**

Tu combles notre vie de bonheur, te voir grandir est le plus beau cadeau qui nous ait été offert.

**A mon mari Antoine-Laurent,**

Je te remercie pour l'amour, et le soutien que tu m'apportes depuis notre rencontre. Tu m'as permis de m'épanouir un peu plus chaque jour. La famille que nous formons désormais est pour moi un réel accomplissement. Le soin que tu prends de Romane et moi me touche comme jamais. Je t'aime.

**A ma mère,**

Il est si difficile de résumer en quelques lignes tout l'amour et la reconnaissance que je te porte. Je te remercie pour ton soutien permanent qui m'a permis d'avoir parcouru ce chemin. Je t'admire beaucoup pour tout ce que tu as accompli. Tu es une merveilleuse grand-mère, j'espère que Romane apprendra beaucoup auprès de toi.

**A mon père,**

Je te remercie pour ton éducation, ton affection et pour tous ces bons moments passés ensemble.

**A mes grand-parents,**

Je regrette tellement que vous ne puissiez être présents, je pense très fort à vous, vous me manquez.

**Au reste de ma famille,**

Mes pensées vont vers vous malgré la distance.

**A ma marraine Carole,**

J'ai toujours pu compter sur toi, tu m'as accompagnée depuis mon enfance lors des étapes importantes de ma vie avec bienveillance, sois assurée de ma profonde affection et de ma reconnaissance.

**A ma belle-mère Michèle,**

Je vous remercie pour votre gentillesse et votre dévouement sans égal.

**A ma belle-famille,**

Je vous remercie pour votre accueil et votre bienveillance.

**A Marion et Julia,**

Pour ces impérissables souvenirs, et cette complicité inégalable qui nous unit depuis de si nombreuses années. J'ai été honorée d'être témoin de vos unions, et j'espère partager avec vous et vos familles bien d'autres bons moments.

A mes amis qui ont contribué depuis la P1 à faire passer si agréablement ces longues années d'études! Les souvenirs abondent pour me signifier combien notre amitié m'est précieuse :

**Ophélie (P2F)**, n'oublie jamais : les meilleures soirées sont celles du lundi !

**Joyce**, pour ces innombrables fou-rires et ta maîtrise de la langue anglaise,

**Lidiane**, j'ai toujours pu compter sur toi, merci aussi pour nos nombreuses soirées tropéziennes et notre période en coloc !

**Yaëlle**, pour nos bons moments lors de notre séjour à Montréal,

**Redouane**, pour ta super blague sur les deux collines et ses tours,

**Kelu**, pour t'être si bien intégré dans la bande de filles,

**A Laurence**,

Nos souvenirs d'enfance communs et notre amitié me sont très chers, il est dommage que la distance ne nous permette de nous voir plus souvent.

## TABLE DES MATIERES

<b>Abréviations</b>	<b>21</b>
<b>INTRODUCTION</b>	<b>23</b>
I. Les tumeurs rénales	23
1. Epidémiologie	23
2. Types histologiques	26
3. Eléments du diagnostic anatomopathologique	28
4. Facteurs pronostiques	32
5. Les voies oncogéniques	38
6. Le traitement des cancers du rein en 2014	46
II. La protéine SPARC	49
1. Généralités	49
2. Structure	50
3. Régulation	51
4. Modes d'action	52
5. Fonctions impliquées dans la progression tumorale	53
6. SPARC et cancer	59
7. SPARC tumoral et SPARC stromal	64
8. SPARC et thérapeutique	65
III. Objectifs	68
<b>MATERIEL ET METHODES</b>	<b>69</b>
I. Sélection des cas	69
II. Etude histologique	69
III. Etude immunohistochimique de l'expression de SPARC	70
1. Technique immunohistochimique	70
2. Méthode d'interprétation	71
IV. Analyse statistique	72
<b>RESULTATS</b>	<b>74</b>
I. Description clinicopathologique des paramètres qualitatifs et quantitatifs	74
II. Examen immunohistochimique de l'expression de SPARC	76
1. Type de marquage	76
2. Comparaison selon le type histologique	76
3. Comparaison selon la présence d'emboles	80
4. Comparaison selon le grade de Fuhrman	81
5. Corrélation entre l'expression dans les cellules tumorales et les cellules endothéliales tumorales	83

III. Caractéristiques cytogénétiques	84
1. Comparaison de l'expression de SPARC selon la présence d'un gain de la région du gène <i>SPARC</i>	86
2. Etude de la présence d'un gain de la région du gène <i>SPARC</i> selon le sous-type histologique	86
<b>DISCUSSION</b>	<b>88</b>
I. Eléments en faveur d'un rôle oncogénique de SPARC dans les cancers du rein	89
II. Intérêt de la méthodologie utilisée	93
III. Mécanismes et rôles de l'expression de SPARC dans les cancers du rein : hypothèses	97
1. Hypothèse concernant l'expression de SPARC dans les cellules épithéliales tumorales	98
2. Hypothèse concernant l'expression de SPARC dans les cellules endothéliales	99
3. Hypothèse concernant les caractéristiques cytogénétiques	101
IV. Applications	102
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b>	<b>103</b>
<b>Annexes</b>	<b>104</b>
<b>Bibliographie</b>	<b>108</b>

## Abréviations

AcSé : Accès Sécurisé à des thérapies ciblées innovantes  
 ADNc : ADN complémentaire  
 ADICAP : Association pour le Développement de l'Informatique en Cytologie et Anatomie Pathologique  
 ARNi : ARN interférant  
 ARNm : ARN messager  
 ALK : *Anaplastic Lymphoma Kinase*  
 BHD : Birt Hogg Dubé  
 BM-40 : *Basement-Membrane Protein 40*  
 CAIX : Anhydrase Carbonique IX  
 CD : *Cluster of Differentiation*  
 CK7 : Cytokératine 7  
 CGH-array : puces à ADN  
 CRP : Protéine C Réactive  
 EGF : *Epidermal Growth Factor*  
 EMA : *Epithelial Membrane Antigen*  
 ERK : *Extracellular signal Regulated Kinase*  
 FGF : *Fibroblast Growth Factor*  
 FH : Fumarate Hydratase  
 FISH : *Hybridation In Situ en Fluorescence*  
 FRANCIM : France-Cancer-Incidence et Mortalité  
 HES : Hématoxyline Eosine Safran  
 HGF : Hepatocyte Growth Factor  
 HIF : *Hypoxia-Inducible Factor*  
 HLA : *Human Leukocyte Antigen*  
 HRE : *Hypoxia Responsive Element*  
 HSP : *Heat Shock Protein*  
 IGF : *Insulin-like Growth Factor*  
 IHC : Immunohistochimie  
 IL : Interleukine  
 ISUP : Société Internationale de Pathologie Urologique  
 LDH : Lactate Déshydrogénase  
 MEC : Matrice Extra Cellulaire  
 MMP : Matrix Metallo Proteinase  
 MSKCC : *Memorial Sloan-Kettering Cancer Center*  
 mTOR : *mammalian Target Of Rapamycin*  
 NAB : *Nanoparticle Albumine Bound*  
 ND : donnée Non Disponible  
 OMS : Organisation Mondiale de la Santé  
 ONCOLOR : Réseau Régional de Cancérologie en Lorraine  
 PDGF : *Platelet-Derived Growth Factor*  
 PHD : *Prolyl Hydroxylase Domain*  
 VHL : Von Hippel Lindau  
 PIP : Phosphatidylinositol  
 PDK : *Phosphoinositide-Dependent Kinase*  
 PI3K : *Phosphoinositide 3-Kinase*  
 PTEN : *Phosphatase and TENSin homolog*

shARN : *Short Hairpin ARN* (petit ARN en épingle à cheveux)  
siARN : *Short Interfering ARN* (petit ARN interférant)  
SPARC : *Secreted Protein, Acidic, Cysteine-Rich*  
TEM : Transition Epithélio Mésenchymateuse  
TFE3 : *Transcription Factor E3*  
TFEB : *Transcription Factor EB*  
TGF $\beta$  : *Transforming Growth Factor  $\beta$*   
UICC : Union Internationale Contre le Cancer  
V-CAM 1 : *Vascular Cell Adhesion Molecule 1*  
VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*  
VEGFR : *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor*



## INTRODUCTION

### I. Les tumeurs rénales

#### 1. Epidémiologie

##### 1.1 Incidence

Le cancer du rein est le 13<sup>ème</sup> cancer le plus fréquent dans le monde et le 10<sup>ème</sup> en Europe. La fréquence du cancer du rein varie selon les pays avec une incidence plus élevée dans le nord de l'Europe, en Amérique du Nord et en Australie et plus basse en Chine, en Inde, au Japon et en Afrique (Ljungberg, Campbell et al. 2011).

En France, le cancer du rein représente environ 3 % de l'ensemble des cancers de l'adulte. L'incidence des cancers du rein était en 2012 de 11.573 nouveaux cas (Réseau FRANCIM Juillet 2013), avec une prédominance masculine (67 % des cas chez les hommes et 33% chez les femmes). Ainsi le cancer du rein occupe la 7<sup>ème</sup> place des cancers. Chez l'homme, il s'agit du 3<sup>ème</sup> cancer urologique après le cancer de la prostate et de la vessie.

Son incidence est en augmentation depuis les années 1980 en liaison avec certains facteurs de risque comme l'obésité et en raison de l'amélioration de la performance des techniques d'imagerie abdominale (Rebillard, Grosclaude et al. 2013). Le recours plus fréquent à des examens d'imagerie abdominale conduit également à une augmentation des découvertes fortuites des tumeurs rénales.

##### 1.2 Mortalité

Le nombre de décès par cancer du rein dans le monde était d'environ 116.000 en 2008 (Ljungberg, Campbell et al. 2011). Avec 3.957 décès recensés en 2012 en France, le cancer du rein se situe au 9<sup>ème</sup> rang des décès par cancer. Le taux de

mortalité standardisé est de 4 chez l'homme et de 1,4 chez la femme (Rebillard, Grosclaude et al. 2013).

Les taux de mortalité ont présenté une baisse significative ces 15 dernières années.

Plusieurs hypothèses peuvent être émises pour expliquer cette tendance :

- un diagnostic plus précoce,
- des avancées thérapeutiques
- une meilleure maîtrise de certains facteurs de risque comme le tabagisme

(Levi, Ferlay et al. 2008).

### **1.3 Facteurs de risque**

Les paramètres suivants sont reconnus comme facteurs de risque de cancer du rein (Corgna, Betti et al. 2007) :

- L'âge :

L'incidence du cancer du rein augmente avec l'âge, notamment après 40 ans. L'âge moyen au moment du diagnostic est de 65 ans.

-Le sexe :

Les hommes sont deux fois plus touchés que les femmes.

-La consommation de tabac (Hunt, van der Hel et al. 2005) :

Le tabac double le risque de cancer du rein et serait impliqué dans un tiers des cancers.

-L'obésité :

Le surpoids est impliqué dans environ un quart des cancers du rein.

-L'hypertension artérielle :

Il s'agit d'un facteur de risque plus spécifique au cancer du rein. Certaines études ont mis en évidence une relation de type dose-effet entre pression artérielle élevée et

cancer du rein, avec un risque augmenté même pour une élévation modérée de la tension artérielle.

-La maladie rénale kystique acquise :

La maladie rénale kystique acquise qui se développe chez les patients en insuffisance rénale terminale et plus particulièrement chez ceux qui sont dialysés, est associée à un risque plus élevé de cancer du rein.

-Les prédispositions génétiques :

Comme pour la majorité des cancers, les formes sporadiques de tumeurs rénales sont prédominantes. D'après les données actuelles, 2 à 3% des cancers du rein seraient liés à des prédispositions génétiques.

Pour certaines, il s'agit de formes familiales isolées, avec atteinte limitée au rein : c'est le cas des formes familiales de cancer du rein à cellules claires associées ou non à des anomalies du chromosome 3 et les formes familiales de cancer du rein papillaire. Pour les autres, elles s'inscrivent dans des syndromes génétiques avec présence de tumeurs touchant d'autres organes que les reins, comme par exemple, la maladie de Von Hippel-Lindau (VHL) ou le syndrome de Birt-Hogg-Dubé. Quatre gènes, *VHL*, *MET*, *FH* et *BHD* ont été identifiés à ce jour dans le contexte de ces prédispositions. Dans les formes héréditaires, le mode de transmission de la prédisposition est autosomique dominant.

-Autres facteurs de risque :

L'exposition aux radiations ionisantes ou l'exposition professionnelle au trichloroéthylène ont été reconnus comme facteur de risque avéré de cancer du rein.

En conclusion, le carcinome à cellules rénales est un problème de santé publique qui nécessite de mieux connaître les mécanismes oncogéniques et de progression afin d'améliorer la prise en charge diagnostique et thérapeutique.

## 2. Types histologiques

La classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) de 2004 répertorie les tumeurs du rein en 9 groupes de tumeurs selon des paramètres histologiques, immunohistochimiques, cytogénétiques et moléculaires (Eble, Sauter et al. 2004) (annexe 1).

Le groupe des tumeurs à cellules rénales est subdivisé en 12 sous-types histologiques listés dans le tableau 1 ci-dessous :

*Tableau 1 – Sous-types histologiques des tumeurs à cellules rénales (d'après l'OMS)*

Carcinome à cellules claires Carcinome kystique multiloculaire à cellules claires Carcinome papillaire Carcinome chromophile Carcinome des canaux collecteurs de Bellini Carcinome médullaire Carcinome avec translocation Xp11.2 Carcinome associé à un neuroblastome Carcinome mucineux tubulaire à cellules fusiformes Carcinome inclassable Adénome papillaire Oncocytome
--

Les deux sous-types histologiques les plus fréquents sont le carcinome rénal à cellules claires (70 à 75%) et le carcinome papillaire (10 à 15%). Les carcinomes inclassables représentent environ 5 % des cas. Il s'agit soit de tumeurs indifférenciées, soit de tumeurs dont les aspects histologiques et immunohistochimiques ne correspondent pas à un type histologique déterminé de la classification de l'OMS.

L'adénome papillaire et l'oncocytome sont des tumeurs bénignes.

Il est à noter que la Société Internationale de Pathologie Urologique (ISUP) (Srigley, Delahunt et al. 2013) a établi en 2013 une classification ajoutant des nouvelles entités de tumeurs épithéliales : le carcinome à cellules rénales tubulokystique, le

carcinome à cellules rénales associé à la maladie kystique acquise, le carcinome à cellules rénales papillaire à cellules claires (Gobbo, Eble et al. 2008), le carcinome à cellules rénales à translocation impliquant des gènes de la famille MiT (*Microphthalmia-TFE*) et le carcinome à cellules rénales associé au « syndrome de léiomyomatose héréditaire et cancer rénal ». Dans cette classification il est également mentionné trois nouveaux carcinomes rares : le carcinome à cellules rénales vésiculaire « *thyroid-like* », le carcinome à cellules rénales associé à une déficience en succinate déshydrogénase B, et le carcinome à cellules rénales avec translocation de *ALK*. Ainsi, les carcinomes à translocations ne sont donc plus limités aux translocations de la région Xp11.2 impliquant le gène *TFE3*, puisqu'il a été identifié des translocations de la région 6p21 induisant un remaniement du gène *TFEB* et des translocations de la région 2p23 ayant pour cible le gène *ALK*.

Les données épidémiologiques précises de l'ensemble de ces nouvelles entités reste encore à définir.

### **3. Eléments du diagnostic anatomopathologique**

La démarche diagnostique anatomopathologique a pour but de définir le type histologique, le grade et le stade pTNM des cancers du rein. Elle s'appuie sur l'association des critères macroscopiques, microscopiques (cytologiques et architecturaux), immunohistochimiques, et cytogénétiques.

#### **3.1 Macroscopie**

Le temps macroscopique relève la taille de la tumeur, sa localisation, sa limitation, son encapsulation, sa consistance, sa couleur, ses remaniements nécrotiques ou hémorragiques, ses rapports avec la capsule rénale, le tissu adipeux périrénal, et les cavités pyélocalicielles, ainsi que la présence d'emboles vasculaires macroscopiques. Elle participe à la définition du stade pTNM.

#### **3.2 Microscopie**

La microscopie examine l'architecture (massive, papillaire, tubulaire, trabéculaire, kystique...), la cytologie (cellules claires, cellules éosinophiles, cellules fusiformes, cellules à cadre clair, polarité nucléaire, présence d'histiocytes spumeux...), le grade nucléaire de Fuhrman, les remaniements, l'extension (emboles vasculaires, franchissement de la capsule, du hile, du tissu adipeux, des structures urothéliales). Elle permet de déterminer le sous-type histologique, le grade et de préciser la classification pTNM.

#### **3.3 Immunohistochimie**

Les techniques complémentaires d'immunohistochimie reposent sur un panel d'anticorps dirigés contre des protéines membranaires ou cytoplasmiques. Les plus utilisés sont les anticorps anti-EMA et anti-CK7 (marqueurs épithéliaux), et ceux dirigés contre la vimentine (filament intermédiaire cytoplasmique des cellules mésenchymateuses), le CD10 (métallo-endorpeptidase, antigène membranaire

spécifique de certains lymphomes), l'E-cadhérine (protéine de jonction). Ainsi, le profil d'expression de chacun des sous-types est connu, sous la forme de probabilité d'expression (Truong and Shen 2011).

### **3.4 Cytogénétique et biologie moléculaire**

Depuis la classification OMS de 2004 qui intègre des données génétiques, et selon les recommandations de l'ISUP, la réalisation d'études cytogénétiques fait partie intégrante du diagnostic.

Les techniques de cytogénétique ont reposé initialement sur des méthodes conventionnelles comme le caryotype tumoral. Le caryotype se réalise après culture de tissu frais de plusieurs jours. Il s'agit d'une technique dite « globale » permettant une observation du génome entier, de ses anomalies structurales équilibrées et non équilibrées, et d'anomalies numériques quantitatives. Ses limites sont liées à sa faible sensibilité et aux aléas des cultures cellulaires primaires. Le caryotype est désormais complété d'emblée par des méthodes moléculaires comme l'hybridation in situ en fluorescence (FISH) ou l'hybridation génomique comparative sur micro-réseaux ou puces d'ADN (CGH-array).

La FISH est une méthode ciblée, réalisable sur tissu frais ou tissu fixé et inclus en paraffine. Elle permet d'obtenir des résultats rapides et des informations plus précises que le caryotype si l'indication est bien posée. La CGH-array est une méthode d'analyse globale du génome, sensible (puces d'ADN oligonucléotidiques) qui peut aussi être réalisée sur tissu frais ou fixé en paraffine. Il s'agit d'une technique rapide, détectant des anomalies de petite taille mais ne pouvant pas montrer les anomalies équilibrées. Elle ne détecte que des anomalies quantitatives, mais permet, en cas de translocations non équilibrées de déterminer avec précision les points de cassure intra-géniques. Ainsi, ces différentes techniques sont

complémentaires. Dans le cas des tumeurs rénales, le statut de certains chromosomes, comme les chromosomes 3, 7 et 17 seront particulièrement utiles, ainsi que l'évaluation du nombre de chromosomes et la recherche de translocations. Ces anomalies sont respectivement corrélées à des types histologiques spécifiques. Dans les cas de carcinomes inclassables, l'étude cytogénétique peut être particulièrement intéressante pour permettre de reclasser ces tumeurs si elles présentent des anomalies spécifiques. La recherche de mutations ponctuelles, comme celle des gènes *VHL*, *MET* ou *BRAF* est effectuée après extraction d'ADN par des méthodes de biologie moléculaire, comme le séquençage Sanger ou le pyroséquençage. La présence de telles mutations peut avoir une valeur diagnostique ou théranostique.

Le tableau 2 regroupe les différentes caractéristiques microscopiques, immunohistochimiques, et cytogénétiques de types histologiques fréquents.

Ainsi, il existe un nombre croissant de sous types histologiques, incluant de nouvelles entités dont les caractéristiques morphologiques peuvent être trompeuses. Il est donc crucial de développer des marqueurs diagnostiques performants car le pronostic respectif de ces sous-types peut être très différent.



Tableau 2– Caractéristiques de différents sous-types histologiques de tumeurs à cellules rénales

	Carcinomes à cellules claires	Carcinomes papillaire type 1	Carcinomes papillaire type 2	Carcinomes papillaire à cellules claires	Carcinomes chromophobes	Oncocytomes
<b>Macroscopie</b>	Jaune safran remaniements	Blanc ivoire remaniements	Blanc ivoire remaniements	Bien limité Fine capsule blanchâtre	Bien limité Beige brun	Encapsulé Homogène brun
<b>Architecture</b>	Massive, tubes, papilles Stroma vasculaire	Papillaire ou massive, calcifications,	Papillaire ou massive, Papillaire ou massive, calcifications +/- solide	Papillaire et kystique	Massive, trabéculaire	Massive, tubulo-kystique
<b>Cytologie</b>	Cellules claires ou éosinophiles +/- sarcomatoïdes	Petites cellules basophiles Epithélium monostratifié Histiocytes spumeux	Grandes cellules éosinophiles atypiques Epithélium pluristratifié Histiocytes spumeux	Cellules claires avec noyaux supra basaux (vacuole claire supra et infra nucléaire)	Cellules claires ou éosinophiles Cadres épais Halo périnucléaire Noyaux chiffonnés	Cellules oncocytaires éosinophiles granuleuses Noyaux ronds Petit nucléole
<b>IHC</b>	Vimentine CD10 CK7 p504S E-cadhérine	+ + + + -	+ + +/- + -	- - + - +	- - + - +	- - - - +
<b>Cytogénétique</b>	Délétion 3p	Trisomie 7 Trisomie 17 Perte Y chez l'homme	Trisomie 7 Trisomie 17 Perte Y Nombre global d'anomalies plus élevées	Peu de données Profil génomique quantitatif plat	Hypodiploïdies	Délétion 1p Anomalies CCND1

## **4. Facteurs pronostiques**

La survie des patients atteints de cancer du rein dépend des facteurs suivants (Patard, Baumert et al. 2013).

### **4.1 Facteurs cliniques**

Un état général altéré (*performance status* > 2), la présence de symptômes locaux, de symptômes systémiques et d'une cachexie sont des critères de mauvais pronostic.

### **4.2 Facteurs anatomiques**

La taille tumorale, le franchissement de la capsule rénale, l'envahissement veineux, l'envahissement de la graisse péri-rénale ou du sinus, l'envahissement surrénalien, l'envahissement ganglionnaire ou métastatique à distance sont autant de facteurs pronostiques pris en compte dans la classification TNM des carcinomes rénaux de l'UICC qui a été révisée en 2009 (tableau 3) (Sobin, Gospodarowicz et al. 2010).

### **4.3 Facteurs biologiques**

Le taux d'hémoglobine, la calcémie corrigée, le taux de LDH, la CRP, le taux de plaquettes et de polynucléaires neutrophiles sont des facteurs pronostiques mentionnés dans la littérature.

Tableau 3 : Classification TNM 2009 des carcinomes rénaux d'après l'UICC

<b>T-TUMEUR PRIMITIVE</b>
TX-Renseignements insuffisants pour classer la tumeur primitive
T0-Pas de signe de tumeur primitive
T1-Tumeur intra-rénale $\leq 7$ cm dans son plus grand diamètre
T1a-Tumeur $\leq 4$ cm
T1b-Tumeur $\geq 4$ cm et $\leq 7$ cm
T2-Tumeur intra-rénale $> 7$ cm dans son plus grand diamètre, limitée au rein
T2a-Tumeur $> 7$ cm et $\leq 10$ cm
T2b-Tumeur $> 10$ cm, limitée au rein
T3-Tumeur étendue aux veines majeures ou aux tissus péri-rénaux mais sans envahissement de la glande surrénale ipsilatérale ni dépassement du fascia de Gérota
T3a- Tumeur macroscopiquement étendue à la veine rénale ou à ses branches segmentaires (contenant des muscles) ou tumeur envahissant la graisse péri-rénale et/ou le tissu adipeux du sinus rénal (hile rénal) mais sans dépassement du fascia de Gérota
T3b- Tumeur macroscopiquement étendue à la veine cave au-dessous du diaphragme
T3c- Tumeur macroscopiquement étendue à la veine cave au-dessus du diaphragme ou envahissant la paroi de la veine cave
T4- Tumeur étendue au-delà de fascia de Gérota (y compris l'extension par contiguïté à la glande surrénale ipsilatérale)
<b>N-ADENOPATHIE REGIONALES</b>
NX- Renseignements insuffisants pour classer l'atteinte des ganglions lymphatiques
N0- Pas d'atteinte des ganglions lymphatiques régionaux
N1- Atteinte d'un seul ganglion lymphatique régional
N2- Atteinte de plus d'un ganglion lymphatique régional
<b>M-METASTASES A DISTANCE</b>
M0- Pas de métastases à distance
M1- Métastases à distance

#### 4.4 Facteurs histologiques

##### *- le sous-type histologique*

L'oncocyte et l'adénome papillaire sont des tumeurs bénignes.

Le carcinome mucineux tubulaire à cellules fusiformes, le carcinome kystique multiloculaire à cellules claires et le carcinome papillaire à cellules claires sont des tumeurs de bas grade de malignité.

Le carcinome des tubes collecteurs et le carcinome médullaire sont de très mauvais pronostic.

De manière générale, il a été montré que le carcinome chromophile est de meilleur pronostic que le carcinome papillaire, lui-même de meilleur pronostic que le carcinome à cellules claires. Dans une série de 377 tumeurs malignes (Amin, Tamboli et al. 2002), il a été observé des survies sans progression à 5 ans respectivement de 94, 88 et 70%. Enfin, le carcinome papillaire de type 2 est de plus mauvais pronostic que celui de type 1.

##### *- le grade de Fuhrman (tableau 4)*

Le grade nucléaire de Fuhrman est un facteur pronostic fort (Fuhrman, Lasky et al. 1982). Il a été initialement validé sur le carcinome rénal à cellules claires. Il s'applique sur tous les carcinomes à cellules rénales sauf le carcinome chromophile, en raison du pléiomorphisme nucléaire et nucléolaire fréquent dans ce sous-type.

Il se base sur l'étude morphologique des noyaux tumoraux, en fonction de leur taille, de leur forme, et de la présence du nucléole. Quatre grades sont définis. C'est le contingent de grade le plus élevé qui détermine le grade final, quel que soit sa proportion dans la tumeur.

Tableau 4 : grade nucléaire de Fuhrman

	Taille du noyau ( $\mu\text{m}$ )	Forme du noyau	Nucléoles
<b>Grade 1</b>	<10	Ronds homogènes	Invisibles
<b>Grade 2</b>	15	Discrètement irréguliers	Visibles au grossissement x400
<b>Grade 3</b>	20	Irréguliers	Visibles au grossissement x100
<b>Grade 4</b>	>20	Très irréguliers multilobés, monstrueux	Macronucléoles

*- la présence d'une composante sarcomatoïde*

Une inflexion sarcomatoïde doit être recherchée au sein de la tumeur, sa présence étant de mauvais pronostic (Klatte, Pantuck et al. 2007).

*- l'invasion microvasculaire*

Elle est définie par l'atteinte de l'endothélium des veines péri-tumorales. Plusieurs séries ont montré une survie sans récurrence à 5 ans nettement supérieure en l'absence d'invasion vasculaire microscopique (Mrstik, Salamon et al. 1992; Van Poppel, Vandendriessche et al. 1997).

*- la nécrose tumorale*

La présence de nécrose tumorale est un facteur péjoratif, avec un risque de mortalité majoré, notamment pour les carcinomes à cellules claires et les carcinomes chromophobes.

*- l'envahissement du système collecteur*

L'invasion du système collecteur est un facteur péjoratif démontré lors de plusieurs études (Palapattu, Pantuck et al. 2003; Terrone, Cracco et al. 2004).

*- la densité microvasculaire*

Bien que cette évaluation ne soit pas utilisée en routine, elle peut être quantifiée par immunohistochimie mettant en évidence les cellules endothéliales, éventuellement complétée objectivement à l'aide de logiciels adaptés (Iakovlev, Gabriel et al. 2012).

#### 4.5 Facteurs immunohistochimiques et moléculaires

Les facteurs moléculaires influençant le pronostic ou prédictifs de réponse à des traitements ciblés ne sont pas encore intégrés dans les classifications pronostiques, ne sont pas consensuelles et ne sont pas utilisés en routine mais néanmoins nous pouvons citer :

-l'index de prolifération Ki-67, de mauvais pronostic si élevé (Rioux-Leclercq, Turlin et al. 2000)

-l'anhydrase carbonique IX (CAIX) (moins bonne réponse à l'IL2 en cas de faible expression) (Atkins, Regan et al. 2005)

-VEGF (marqueur de croissance de l'endothélium vasculaire, pouvant être une cible thérapeutique) (Billemont, Meric et al. 2007)

-HIF (hypoxia-inductible factor, facteur de transcription protéique qui est une cible indirecte de pVHL, protéine codée par le gène *VHL*) (Richard, Ladroue et al. 2007)

-p53 (mauvais pronostic si surexpression) (Rioux-Leclercq, Turlin et al. 2000)

-CD44 (facteur d'adhésion cellulaire, mauvais pronostic si surexpression) (Paradis, Ferlicot et al. 1999)

-mutation de *MET* muté et remaniements de *ALK* : anomalies recherchées dans le cadre du programme « ACSé Crizotinib » et qui peuvent permettre l'éligibilité à des thérapies ciblées.

#### 4.6 Classifications pronostiques

Plusieurs systèmes pronostiques clinicopathologiques ont été décrits dans le cancer du rein localisé et métastatique. La classification pronostique la plus utilisée pour le cancer métastatique est celle du Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC), dite « classification de Motzer 2002 » (tableau 5) (Mekhail, Abou-Jawde et al. 2005).

Tableau 5 : Classification pronostique du Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, dite « de Motzer 2002 »

Faible indice de Karnofsky	Inférieur à 80%
Taux sérique de LDH élevé	Supérieur à 1,5 fois la limite supérieure de la normale
Taux d'hémoglobine sérique faible	Inférieur à la limite inférieure à la normale soit 13g/dl chez l'homme et 12g/dl chez la femme
Taux sérique élevé de calcium corrigé	Supérieur à 10 mg/dl
Nombre de sites métastatiques	Plus d'un site métastatique
Délai entre le diagnostic initial et randomisation	Inférieur à 1 an

Le patient est dit de bon pronostic s'il ne présente aucun facteur de risque, de pronostic intermédiaire s'il présente 1 à 2 facteurs de risque, et de mauvais pronostic s'il présente 3 à 6 facteurs de risque.

Ainsi, les marqueurs histopronostiques dont on dispose actuellement avaient été décrits avant l'ère des thérapies ciblées. Les évolutions des cancers du rein étant souvent disparates, il paraît intéressant de poursuivre l'exploration des mécanismes oncogéniques afin de définir de nouveaux marqueurs.

## **5. Les voies oncogéniques (Edeline, Vigneau et al. 2010)**

La connaissance de l'oncogenèse des cancers du rein a connu un essor grâce à l'étude de formes héréditaires tels que la maladie de Von Hippel Lindau, de Birt-Hogg-Dubé, ou du cancer rénal papillaire héréditaire.

L'étude des cancers du rein sporadiques a bénéficié de ces avancées. Le carcinome à cellules rénales représente un modèle de tumeur épithéliale original et unique dans lequel il existe des anomalies génétiques récurrentes, dont la présence est un élément à prendre en compte lors de l'établissement d'un diagnostic.

### **5.1 Voie VHL/HIF/VEGF dans les carcinomes rénaux à cellules claires (figure 1)**

L'étude de cette voie moléculaire prépondérante dans les carcinomes à cellules claires est issue du clonage du gène suppresseur de tumeur *VHL*. Ce gène *VHL* avait été caractérisé chez les patients atteints de la maladie de Von Hippel Lindau (VHL). Ces patients sont porteurs d'une mutation germinale inactivatrice du gène *VHL*, par mutation de la séquence codante ou par altération du promoteur (Kondo and Kaelin 2001).

Conformément à la théorie « des deux évènements » de Knudson qui a permis de définir les gènes suppresseurs de tumeurs, cette mutation constitutionnelle est sans effet cellulaire tant que l'autre allèle est fonctionnel. Lorsque dans certaines cellules, l'autre allèle est accidentellement inactivé par délétion, mutation ou inactivation épigénétique, l'absence de protéine fonctionnelle qui découle de cette double inactivation génique est à l'origine de la formation tumorale.

La maladie de Von Hippel Lindau se traduit cliniquement par un risque accru de développer, avant 40 ans, de nombreuses tumeurs telles que l'hémangioblastome du système nerveux central, les tumeurs endocrines du pancréas, le



phéochromocytome, le cystadénome de l'épididyme et/ou du ligament large et le carcinome rénal à cellules claires. L'inactivation de *VHL*, par délétion, mutation ou épigénétique, est aussi retrouvée dans plus de 70% des carcinomes à cellules claires sporadiques (Eble, Sauter et al. 2004).

Le gène *VHL* code pour la protéine pVHL dont le rôle principal est la régulation du facteur de transcription HIF (*Hypoxia Inducible Factor*), hétérodimère constitué de deux sous-unités,  $\alpha$  et  $\beta$ , dont le comportement dans la cellule est lié au niveau d'oxygénation :

- En présence d'oxygène, l'hydroxylase oxygénodépendante PHD (prolylhydroxylase domain) réalise l'hydroxylation de HIF $\alpha$ . Cela permet la fixation de pVHL ce qui entraîne une dégradation de HIF $\alpha$  par le protéasome.
- En cas d'hypoxie, ce qui inactive les hydroxylases, ou en cas d'inactivation de *VHL*, HIF $\alpha$  n'est pas dégradé. Il s'hétérodimérise dans le noyau avec la sous-unité  $\beta$  de HIF, agissant alors comme facteur de transcription. Ce complexe se fixe sur les domaines HRE (Hypoxia Responsive Element) des promoteurs de nombreux gènes liés à l'hypoxie (comme le VEGF, le PDGF $\beta$ , le TGF $\alpha$ , le CAIX, l'EPO et le Glut1). La dépendance de ces gènes n'est toutefois pas exclusive de HIF dans la mesure où ils peuvent être régulés également par d'autres voies.

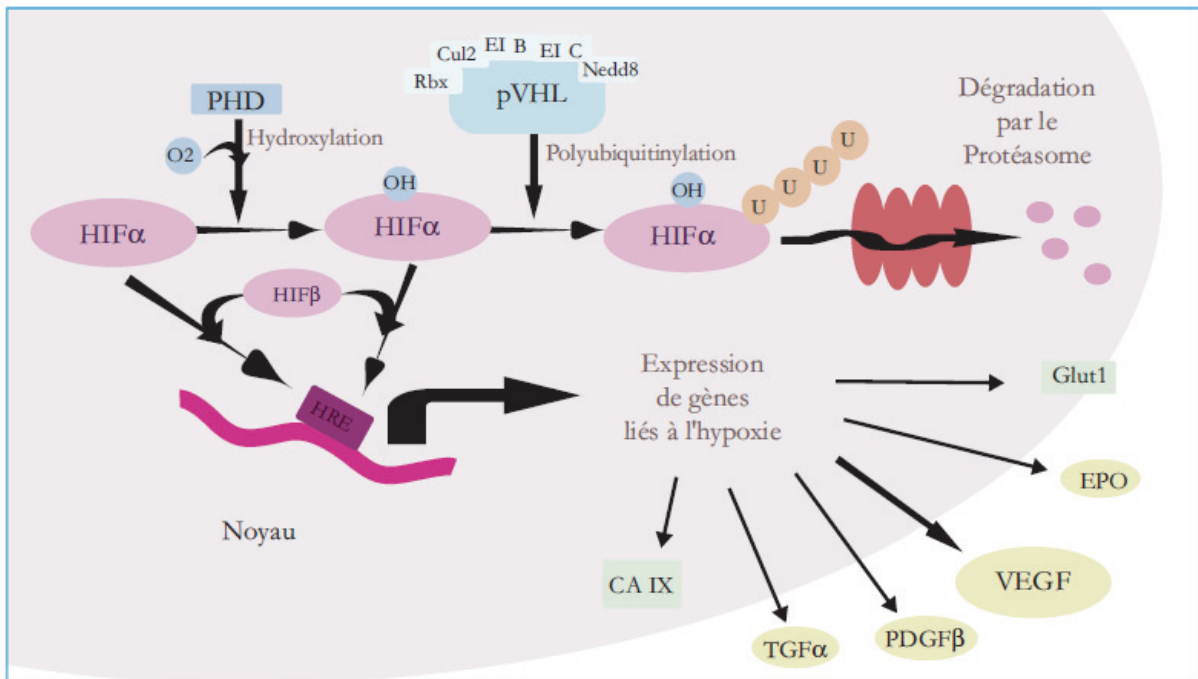


Figure 1 : voie VHL/HIF/VEGF (Edeline, Vigneau et al. 2010)

Ces gènes jouent un rôle dans:

- l'angiogenèse (via VEGF-A et PDGFβ).

Au sein de la famille VEGF (VEGF-A,-B,-C,-D et -E), le facteur proangiogénique majeur est le VEGF-A ou VEGF (Ferrara, Gerber et al. 2003). VEGF-C et VEGF-D sont exprimés sous le contrôle d'autres voies ne répondant pas à l'hypoxie.

Les récepteurs au VEGF (VEGFR) sont des récepteurs transmembranaires à activité tyrosine-kinase. Ils sont également de plusieurs types : VEGFR-1 (ou Flt-1), VEGFR-2 (KDR/FLK-1) et VEGFR-3 (Flt-4).

Le PDGFβ se lie à ses récepteurs présents à la surface des cellules péri vasculaires (péricytes et cellules musculaires lisses) impliquées dans le soutien aux cellules endothéliales permettant ainsi le maintien des néo vaisseaux et vaisseaux matures.

- le métabolisme du glucose au niveau de son transport (GLUT1) ou de la glycolyse (6- phosphofructose-2-kinase),

- le contrôle du pH (anhydrases carboniques, dont CAIX),

- la prolifération cellulaire (avec implication de PDGF $\beta$  et TGF $\alpha$ ).

TGF $\alpha$  est un facteur de croissance des tissus épithéliaux, qui stimule de façon autocrine la prolifération des cellules tumorales.

- la régulation de l'érythropoïèse (EPO).

En situation physiologique, l'expression de ces gènes permet de faciliter la survie cellulaire en condition d'hypoxie. En situation pathologique, l'expression de ces gènes stimule la croissance tumorale, stoppent l'entrée des cellules en apoptose et activent les cellules endothéliales entraînant la formation de néo vaisseaux tumoraux.

## **5.2 Voies de l'EGF et des MAP-kinases dans les carcinomes rénaux à cellules claires (figure 2)**

Les voies de signalisation sous la dépendance du récepteur à l'EGF (EGFR) sont impliquées dans la carcinogenèse de nombreux cancers. Elles entraînent une perturbation de l'homéostasie cellulaire en augmentant la prolifération des cellules et en inhibant leur apoptose.

Dans le cancer du rein, on observe fréquemment une surexpression du récepteur EGFR. Cette surexpression est la conséquence de la surexpression de TGF $\alpha$ , ligand de l'EGFR, engendrée par l'activation de la voie VHL/HIF (Everitt, Walker et al. 1997).

En aval de l'EGFR, se distinguent deux voies :

- la voie PI3K/AKT/mTOR, détaillée dans le chapitre suivant, qui joue un rôle dans la survie et la croissance cellulaire

- la voie des MAP-kinases, dans la cascade d'activation de petites protéines G, les protéines RAS, et de plusieurs kinases (RAF, MEK, ERK), qui jouent un rôle

prolifératif prépondérant. Il existe des ponts assurant une interconnexion entre ces deux voies.

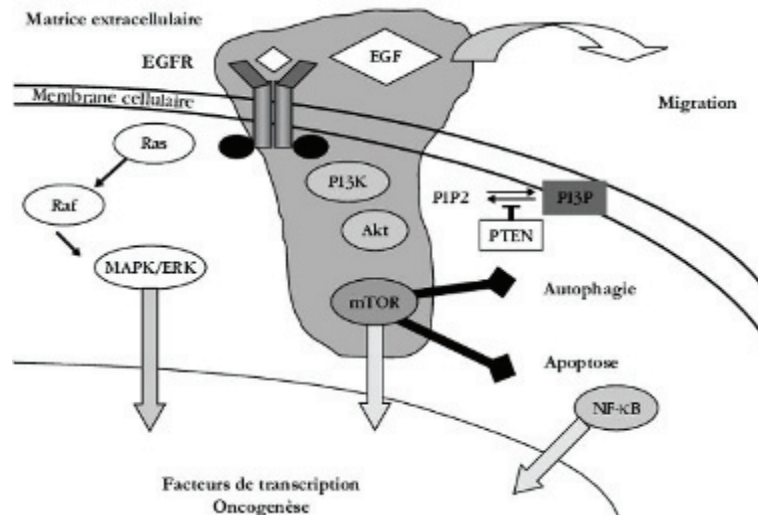


Figure 2 : voies de signalisation en aval du récepteur à l'EGF

### 5.3 Voie PI3K/AKT/mTOR (mammalian target of rapamycin) dans les carcinomes rénaux à cellules claires (figure 3)

Après fixation d'un facteur de croissance sur son récepteur, celui-ci active la PI3-Kinase (PI3K). Celle-ci phosphoryle à son tour le phosphatidyl-inositol-diphosphate (PIP2) en phosphatidyl-inositol-triphosphate (PIP3) (Vivanco and Sawyers 2002). Le PIP3 va activer PDK1, qui activera ensuite AKT. La phosphatase PTEN, en déphosphorylant PIP3 en PIP2, joue le rôle d'inhibiteur d'AKT. AKT active mTOR et régule aussi de nombreux autres substrats. Il faut remarquer que mTOR peut être stimulé par d'autres voies comme celle des MAP-kinases *via* ERK.

mTOR est impliquée dans la carcinogenèse du cancer du rein à plusieurs niveaux (Sabatini 2006)

– dans la cellule tumorale :

. interaction avec la voie VHL/HIF/VEGF :

mTOR stimule la traduction des ARNm de HIF $\alpha$  et donc stimule la néoangiogenèse tumorale indépendamment de *VHL* ;

. action de mTOR dans la transduction du signal :

- l'action de mTOR consiste en une augmentation globale de la synthèse protéique, notamment les protéines favorisant l'entrée en cycle et des molécules antiapoptotiques.

- dans la cellule endothéliale : action pro-angiogénique en aval de la signalisation par le VEGFR.

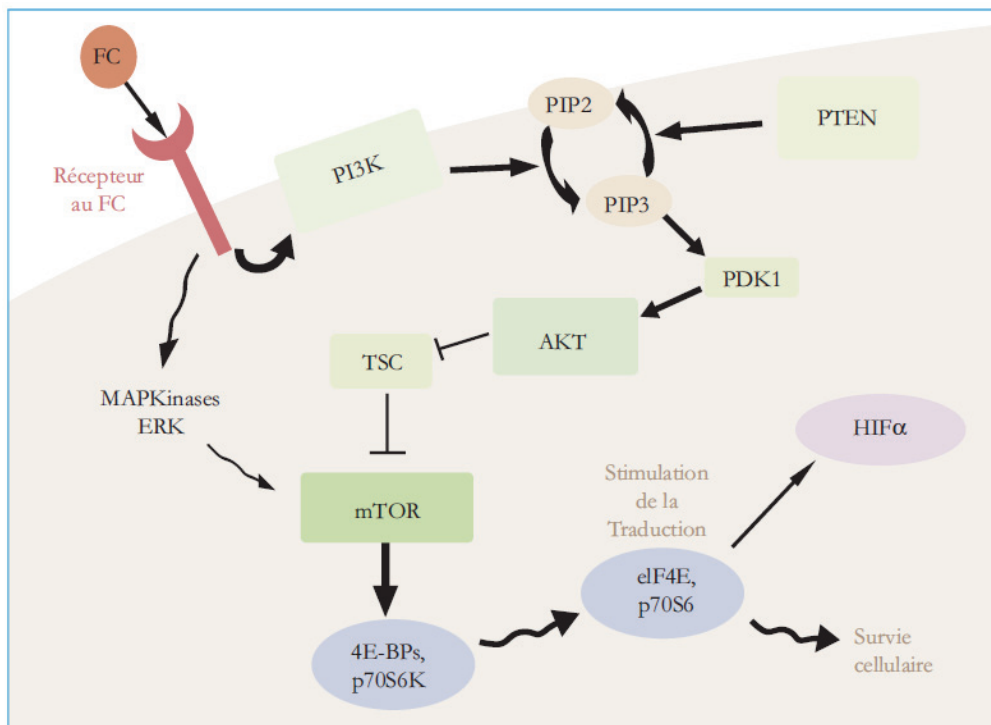


Figure 3 : voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR (Edeline, Vigneau et al. 2010)

Ainsi, le rôle de cette voie PI3K/AKT/mTOR dans la carcinogenèse des carcinomes à cellules claires a permis le développement de thérapies ciblées agissant à divers niveaux de cette voie et sur différents acteurs (inhibiteurs de tyrosine-kinase, inhibiteur de VEGF, inhibiteurs de mTOR).

## 5.4 Voies oncogéniques du carcinome papillaire

### -carcinome papillaire de type 1

Les anomalies des voies de signalisation oncogéniques ont été décrites dans le cadre d'atteintes héréditaires. Il s'agit de mutations germinales non-sens sur le domaine tyrosine-kinase du gène *MET* situé sur le chromosome 7. Des mutations de *MET* sont également observées dans environ 10 à 15% des cancers papillaires de type 1 sporadiques (Albiges, Guegan et al. 2014), et un gain du chromosome 7 est observé dans la majorité des cas, constituant un argument diagnostique. Ces anomalies peuvent induire une surexpression de la protéine oncogénique MET. La présence de l'activation de la voie MET constitue un cible thérapeutique pour des inhibiteurs de tyrosine kinases tels que le Crizotinib. Des essais de phase II, tels que le programme de l'Institut National du Cancer « ACSé-Crizotinib » sont actuellement en cours. Il est également intéressant de noter que l'expression de MET est sous la dépendance de HIF (Boccaccio and Comoglio 2006). En condition hypoxique, HIF1 $\alpha$  est stabilisé, ce qui active la transcription et l'expression de MET.

### - carcinome papillaire de type 2

Les anomalies génétiques constitutionnelles associées au type 2 sont des mutations germinales portant sur le gène *FH* qui code pour une enzyme intervenant dans le cycle de Krebs (Tomlinson, Alam et al. 2002).

Le rôle de telles mutations dans les cas sporadiques n'a pas été démontré. La filiation entre carcinomes papillaires de type 2 et de type 1 fait l'objet de controverses. Des données récentes basées sur les profils immunohistochimiques et génétiques confirment qu'une majorité de carcinomes de type 2 sont apparentés aux carcinomes de type 1, mais qu'environ un tiers des cas pourraient relever d'une origine différente (Marsaud, Dadone et al.). Dans les cas montrant des profils

similaires aux carcinomes de type 1, il n'est pas élucidé si la morphologie papillaire de type 2 est présente d'emblée ou si elle est le fruit d'une évolution à partir d'un type 1.

### **5.5 Voies biologiques du carcinome chromophile**

Les carcinomes chromophobes présentent des génomes hypodiploïdes, mais les conséquences de ces pertes chromosomiques sur les voies de signalisation cellulaire n'ont pas été étudiées. Les chromosomes perdus dans les cellules tumorales, étant plus volontiers les chromosomes 1, 2, 6, 10, 13 et 21, il est probable que l'avantage sélectif soit *in fine* l'élimination de gènes suppresseurs de tumeurs localisés sur ces chromosomes. Les raisons d'un mécanisme de pertes de chromosomes entiers plutôt que de délétions touchant spécifiquement ces gènes suppresseurs de tumeurs n'est pas élucidée.

Dans les formes liées à une prédisposition génétique, comme la maladie Birt-Hogg-Dubé, on a décrit l'implication gène *BHD*, dont le rôle n'est pas prouvé dans les cas sporadiques (Khoo, Bradley et al. 2001).

Ainsi, les diverses voies oncogéniques interférant dans les carcinomes à cellules rénales relèvent de mécanismes complexes, parfois intriqués et non intégralement connus à ce jour, même dans les entités « classiques ». La nécessité d'une élucidation de ces mécanismes est d'autant plus d'actualité que les nouvelles entités ajoutées dans la classification de l'ISUP de Vancouver 2013 (Srigley, Delahunt et al. 2013) n'ont été que très peu explorées. La poursuite de l'étude de ces voies oncogéniques est donc indispensable pour affiner le diagnostic, le pronostic et pour découvrir d'éventuelles cibles thérapeutiques.

## **6. Le traitement des cancers du rein en 2014 (Patard, Baumert et al. 2013)**

### **6.1 Modalités thérapeutiques**

#### **Chirurgie**

La chirurgie demeure la pierre angulaire du traitement des cancers du rein. L'abord premier des vaisseaux rénaux et en particulier le clampage premier de l'artère rénale avant la mobilisation de la tumeur est réalisé afin de permettre la néphrectomie, élargie ou partielle selon la taille, la localisation et le stade de la tumeur. L'abord chirurgical peut être par voie ouverte ou par coelioscopie.

#### **Traitements ablatifs**

Ce sont des techniques mini-invasives et conservatrices en cours d'évaluation comprenant la radiofréquence, la cryothérapie, les ultrasons localisés, l'ablation laser et la thérapie à micro-ondes. Elles ont pour avantage un moindre risque de complications et une épargne néphronique.

#### **Traitements systémiques**

Autrefois basé sur l'immunothérapie, le traitement médical du cancer du rein utilise depuis 2006 des thérapies ciblées ayant une action anti-angiogénique :

- inhibiteurs de tyrosine kinases (le sunitinib, le sorafenib, le pazopanib et l'axitinib),
- inhibiteurs du VEGF (le bevacizumab associé à l'interféron)
- inhibiteurs de mTOR (le temsirolimus et l'everolimus)

### **6.2 Indications**

#### **Cancers localisés de moins de 4 cm**

Une chirurgie partielle est à privilégier si la localisation de la tumeur le permet car elle limite la perte néphronique ce qui diminue la morbidité cardiovasculaire améliore la survie.



Chez les patients âgés de plus de 75 ans, présentant des comorbidités importantes, une espérance de vie limitée ou une fonction rénale altérée, une surveillance active ou des traitements ablatifs sont à privilégier.

### **Cancers localisés de plus de 4 cm**

La possibilité d'une chirurgie partielle est évaluée en fonction de la localisation de la tumeur et de scores morphométriques. Lorsque les marges sont saines, les résultats oncologiques sont équivalents à ceux d'une néphrectomie totale.

### **Cancers localement avancés non métastatiques**

La néphrectomie élargie avec obtention de marges saines par voie ouverte reste le standard associé à un curage ganglionnaire en présence de suspicion radiologique et/ou peropératoire d'extension ganglionnaire. Des traitements adjuvants ou néo-adjuvants ne sont pas recommandés en dehors d'un essai clinique.

### **Cancers métastatiques**

Les traitements sont individualisés en fonction des classifications pronostiques détaillées ci-dessus. Pour les patients à bon pronostic et pronostic intermédiaire, la néphrectomie peut être proposée, en particulier en cas de tumeur symptomatique. Le traitement systémique est actuellement basé sur des molécules anti-angiogéniques et des inhibiteurs de m-TOR. Les recommandations concernent principalement les carcinomes à cellules claires. Il existe un arbre décisionnel basé sur les traitements antérieurs et le groupe pronostique (tableau 6).

Tableau 6 : Algorithme thérapeutique des carcinomes rénaux à cellules claires métastatiques (réseau ONCOLOR)

Groupes		Traitement standard
1 <sup>ère</sup> ligne	Pronostic favorable et intermédiaire	Sunitinib Pazopanib Bevacizumab + Interféron $\alpha$
	Pronostic défavorable	Temsirolimus Sunitinib
2 <sup>ème</sup> ligne	Cytokine en 1 <sup>ère</sup> ligne	Sorafenib Pazopanib
	Inhibiteur de VEGF en 1 <sup>ère</sup> ligne	Everolimus
	Inhibiteur de m-TOR en 1 <sup>ère</sup> ligne	Etude clinique

### 6. 3 Facteurs prédictifs de réponse et perspectives

Actuellement les recommandations thérapeutiques ont été principalement établies pour les carcinomes à cellules claires, dans lesquels les molécules anti-angiogéniques sont particulièrement efficaces. Aucun biomarqueur n'est utilisé en pratique clinique pour le moment. Une revue bibliographique récente de 50 articles (Funakoshi, Lee et al. 2014) a analysé les facteurs prédictifs de réponse aux anti-angiogéniques dans les carcinomes rénaux à cellules claires métastatiques. Un niveau de preuve de type II a été mis en évidence pour cinq biomarqueurs prédictifs : le VEGF, l'interleukine 6 (IL-6), le facteur de croissance hépatocytaire (*hepatocyte growth factor* : HGF), l'ostéopontin et des SNPs (single nucleotide polymorphism) de l'interleukine 8 (IL-8). Ces éléments pourraient être prometteurs pour une amélioration des stratégies thérapeutiques. Devant l'essor des thérapies ciblées et des biomarqueurs théranostiques, les perspectives sont donc de rechercher et de valider de nouveaux biomarqueurs immunohistochimiques et génétiques. La recherche de cibles thérapeutiques doit également être étendue aux autres sous-types histologiques que les carcinomes rénaux à cellules claires, ainsi qu'aux cas de carcinomes à cellules claires non-répondeurs.

## **II La protéine SPARC**

### **1 Généralités**

La protéine matricielle « SPARC » (acronyme de « *Secreted Protein Acidic And Rich in Cysteine* »), également appelée « ostéonectine » ou « *Basement Membrane 40* » (BM-40), est membre d'une famille de protéines matricielles associées à la matrice extracellulaire et sécrétées dans l'espace extracellulaire. Leur fonction est d'arbitrer les interactions entre la cellule et son microenvironnement. La sous-famille de protéines matricielles « SPARC » comprend sept membres : SPARC, l'hevin (SPARC-like protein 1), les protéines SPOCK (testican 1, 2 et 3), et les protéines SMOC 1 et 2.

La protéine SPARC a été découverte en 1981 (Terminé, Kleinman et al. 1981). Elle est hautement conservée dans l'évolution. Initialement identifiée comme protéine osseuse se fixant aux fibres de collagène et contrôlant le dépôt de cristaux d'hydroxyapatite, il a été ensuite montré qu'elle joue en réalité de multiples rôles dans différents tissus.

Elle a été isolée dans le surnageant de cellules endothéliales vasculaires (Sage, Johnson et al. 1984) puis identifiée dans les composants des membranes basales d'extraits tumoraux (Dziadek, Paulsson et al. 1986). Elle est sécrétée par les cellules endothéliales capillaires, les fibroblastes, les plaquettes et les macrophages. Elle participe de manière physiologique au remodelage des tissus embryonnaires ou adultes comme lors de la cicatrisation.

Elle est impliquée dans diverses fonctions telles que le remodelage de la matrice extracellulaire, l'adhérence, la migration cellulaire, le cycle cellulaire, l'apoptose, l'angiogenèse.

Les souris déficientes pour le gène *Sparc* (-/-) présentent des défauts d'assemblage du collagène (perte d'élasticité de la peau), une perturbation de l'équilibre entre adipogenèse et différenciation osseuse (accumulation d'adipocytes et ostéopénie), des cataractes par dépôt anormal de collagène dans le cristallin, une perturbation du processus de cicatrisation et une perturbation de l'immunité (Gilmour, Lyon et al. 1998).

## **2 Structure** (figure 4)

Le gène *SPARC* est localisé sur le bras long du chromosome 5 en 5q33.1. Il est constitué de 10 exons et 9 introns.

La protéine SPARC mature, à la structure complexe, obtenue après clivage du peptide signal (17 acides aminés, 43 kDa) est un polypeptide de 286 acides aminés comprenant trois domaines fonctionnels :

- le domaine acide N-terminal (52 acides aminés), structuré en hélice  $\alpha$ , qui se lie aux cristaux d'hydroxyapatite et aux ions calcium avec une faible affinité,

- le domaine homologue à la follistatine (85 acides aminés), composé de deux domaines protéiques : le module « *EGF-like* » formé de feuillets  $\beta$  stabilisés par des ponts disulfures qui se lie aux protéoglycans matriciels et le module « *kazal-like* » formé de feuillets  $\alpha$  et  $\beta$  stabilisés par des ponts disulfures contenant un motif de liaison aux ions cuivre,

- le domaine C-terminal extracellulaire (149 acides aminés), le plus conservé de la famille SPARC, formé d'une hélice  $\alpha$  associée à deux motifs « *EF-hand* » liant les ions calcium avec une forte affinité. (Figure 1)

Après sa sécrétion la protéine SPARC peut être clivée par des protéases matricielles et libérer des peptides bioactifs ayant un rôle dans le remodelage de la MEC, l'adhésion, la migration ou la prolifération cellulaire.

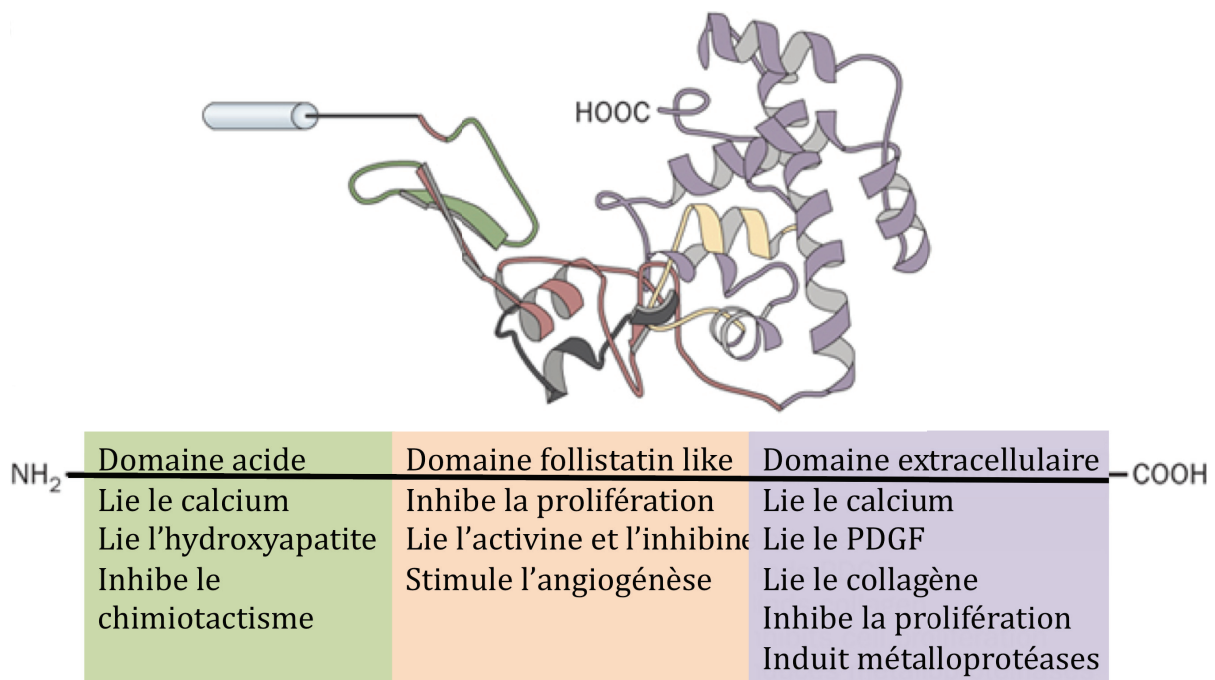


Figure 4 : Structure et fonction de SPARC (Kos and Wilding 2010)

### 3. Régulation

L'expression génique de SPARC est variable selon le type de tissus et selon le temps en fonction des dynamiques de renouvellement tissulaire et du contexte physiopathologique. Elle est donc finement régulée par des mécanismes variés dont certains sont cités ci-dessous.

-Un des principaux activateurs de SPARC est le TGF $\beta$ . La stimulation de SPARC induit également l'expression de TGF $\beta$ , avec la présence d'une boucle de régulation réciproque entre SPARC et le TGF $\beta$  (Wrana, Overall et al. 1991).

-Il a été montré que certains facteurs pro inflammatoires (tels que l'interleukine 1) ou des facteurs de croissance (PDFG ou IGF1) pouvaient induire l'expression de SPARC (Chandrasekhar, Harvey et al. 1994)

-L'expression de SPARC peut être réprimée par des phénomènes épigénétiques comme l'hyperméthylation de son promoteur, qui a été décrite dans certains cancers (côlon, prostate) (Wang, Yu et al. 2005; Yang, Kang et al. 2007)

-Elle peut être également inhibée par des microARN de la famille miR-29, comme cela a été observé dans les leucémies aiguës myéloïdes (Alachkar, Santhanam et al. 2014).

-Il a été suggéré dans des lignées cellulaires de gliomes que HIF1 $\alpha$  induit par l'hypoxie pouvait réguler positivement l'expression de SPARC (Seno, Harada et al. 2009).

La régulation de SPARC est ainsi complexe et dépendante de mécanismes transcriptionnels ou épigénétiques, impliquant de nombreux acteurs.

#### **4. Modes d'action**

##### **4.1 Interactions avec la matrice extra cellulaire (MEC)**

SPARC sécrétée dans l'espace extracellulaire peut agir par voie autocrine et/ou paracrine. SPARC peut lier les composants matriciels structuraux de la MEC, comme le collagène, mais aussi stimuler la sécrétion et l'activité des métalloprotéases matricielles (MMPs) qui dégradent la MEC permettant un remodelage matriciel. La liaison de SPARC au collagène a été impliquée dans l'activité anti-adhésive de SPARC (Bradshaw 2009). Enfin, SPARC en contrôlant la synthèse des constituants de la MEC participe également à son assemblage.

##### **4.2 Interactions avec des récepteurs cellulaires de surface**

SPARC n'a pas de récepteur cellulaire spécifique connu, mais il a été montré que SPARC pouvait transmettre ses effets par liaison à la stabilin-1 (récepteur exprimé par les macrophages activés) (Kzhyshkowska, Workman et al. 2006), certaines intégrines dont la  $\beta$ 1, et la molécule d'adhésion VCAM-1 *via* son domaine extra cellulaire (Kelly, Allport et al. 2007).

##### **4.3 Modulations de voies de signalisation**

Selon le contexte tissulaire ou tumoral SPARC peut soit activer soit inhiber par

différents médiateurs les voies oncogéniques PI3K/AKT, MAP kinases ou  $\beta$ -caténine, voire même interagir par voie intracrine avec des partenaires intracellulaires (facteur de transcription PAX6 ou caspase 8 par exemple) (Tang and Tai 2007; Tripathi and Mishra 2010). Elle interagit également avec des facteurs de croissance comme VEGF et bFGF.

## **5. Fonctions impliquées dans la progression tumorale**

### **5.1 Cycle cellulaire et prolifération**

L'inactivation de SPARC par siARN empêche la progression en mitose dans le mélanome *in vivo* et *in vitro* en provoquant un arrêt du cycle cellulaire en G2-M et une diminution de la croissance cellulaire par activation de p53 et de p21 (Fenouille, Puissant et al. 2011). L'inactivation de SPARC par shARN inhibe également la prolifération dans des lignées cellulaires de cancer du col (Chen, Shi et al. 2012).

Dans le médulloblastome par exemple, l'effet de SPARC sur le cycle cellulaire est opposé. En effet la surexpression de SPARC stimule l'arrêt en G2-M (Chetty, Dontula et al. 2012).

### **5.2 Adhésion, Invasion cellulaire et Migration**

- adhésion cellulaire

Le détachement des cellules tumorales de la tumeur primitive épithéliale est une étape limitante qui nécessite une perte de la cohésion de la tumeur initiale, avec individualisation des cellules tumorales migratrices.

Il a été démontré *in vitro* que SPARC modifie la morphologie des cellules avec pour corollaire un blocage de l'adhésion des cellules entre elles et avec leur support (Lane and Sage 1990). SPARC inhibe donc l'adhésion cellulaire, étape initiale pour le développement tumoral.

- invasion et migration cellulaire

Dans des cellules de cancers du pancréas surexprimant la métalloprotéase MMP9 (enzyme protéolytique qui dégrade les protéines de la MEC), l'apport de SPARC inhibe le potentiel migratoire et invasif des cellules (Arnold, Mira et al. 2008). En présence de SPARC, il a été retrouvé dans le cancer de l'ovaire une diminution de la capacité d'invasion des composants de la MEC (collagène IV, fibronectine, collagène1, laminine, acide hyaluronique) (Said and Motamed 2005) à travers une diminution d'expression des intégrines de surface. C'est pourquoi les auteurs ont observé moins de dissémination tumorale péritonéale dans les souris sauvages que dans les souris invalidées pour SPARC.

A l'opposé, dans des lignées cellulaires de gliomes, la surexpression de SPARC augmente l'invasion et le potentiel migratoire des cellules *in vivo* et *in vitro*. Ces auteurs ont montré que SPARC contrôle l'expression de HSP27, protéine jouant un rôle dans la polymérisation des filaments d'actine et donc dans la migration cellulaire (Golembieski, Thomas et al. 2008). SPARC aurait aussi un rôle pro-invasif dans le mélanome où il favorise la transition épithélio-mésenchymateuse par répression de l'expression de l'E-cadhérine (Robert, Gaggioli et al. 2006).

### **5.3 Angiogenèse (figure 5)**

L'angiogenèse est un processus physiologique observé au cours du développement ou de cicatrisation de blessures, qui implique la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins à partir de ceux préexistants. La néo angiogenèse représente également une étape fondamentale lors du passage des tumeurs à un état malin. Il s'agit alors du développement anarchique d'une néo vascularisation, sous l'effet de facteurs pro-angiogéniques sécrétés par la tumeur, qui va permettre l'apport d'éléments nutritifs et d'oxygène indispensables à la croissance tumorale et à la dissémination métastatique.



La fonction primaire de SPARC dans l'angiogenèse n'est pas clairement établie. Selon plusieurs études menées *in vitro* et *in vivo*, elle a une action anti-angiogénique. Mais dans certaines circonstances SPARC aurait une action pro-angiogénique.

Mécanismes d'actions :

VEGF, FGF2 et TGF $\beta$  sont trois facteurs de croissance qui régulent l'angiogenèse. Ils induisent la formation de néovaisseaux caractérisés par une prolifération de cellules endothéliales, un aspect tortueux, et une perméabilité accrue.

Les péricytes sont alors mobilisés et secrètent SPARC dans l'environnement angiogénique.

SPARC peut moduler l'angiogenèse de différentes façons :

- De façon directe :

\* elle peut interagir directement avec le VEGF-A et l'empêche d'induire son récepteur VEGFR1 dans des cultures de cellules endothéliales et *in vivo* (Kupprion, Motamed et al. 1998).

\* elle peut interagir avec le PDGF $\beta$  (Raines, Lane et al. 1992), ce qui empêche *in vitro* les voies de réponse dépendant de PDGF $\beta$ .

\* SPARC inhibe l'activation FGF2-dépendante des cellules endothéliales *in vitro*. Cela aboutit à une diminution de la prolifération des cellules endothéliales.

- De façon indirecte :

\* si TGF $\beta$ 1 induit l'expression de SPARC dans une variété de types cellulaires incluant les fibroblastes, SPARC régule aussi de façon positive ou négative l'expression de TGF $\beta$ 1

\* SPARC contrôle également *in vivo* l'expression des métalloprotéases et des intégrines qui jouent un rôle dans le recrutement des péricytes et la survie des cellules endothéliales (Arnold, Mira et al. 2008) ;

L'action angiogénique semble toutefois variable en fonction du fragment concerné de la protéine SPARC, expliquant des effets opposés par une spécificité de clivage protéolytique tissu-spécifique :

- Le fragment EGF-like du domaine follistatin-like a une action anti-angiogénique (Shankavaram, DeWitt et al. 1997)
- Un fragment à séquence KGHK amino acid serait au contraire pro-angiogénique (Lane and Sage 1994).

Ainsi, les interactions entre tous ces facteurs angiogéniques et leurs boucles de régulation réciproque avec les fragments de SPARC contribuent à un effet pro ou antiangiogénique selon le contexte tumoral.

Un des modèles animaux qui a été étudié est celui du cancer de l'ovaire : l'absence de SPARC augmente l'expression de VEGF, du récepteur VEGFR2 et des métalloprotéases MMP-2 et MMP-9 et donc le potentiel angiogénique et métastatique de ce cancer (Said, Socha et al. 2007).

Il a aussi été montré in vivo que SPARC avait une action anti-angiogénique dans le neuroblastome (Chlenski, Liu et al. 2004).

A l'inverse, dans le mélanome, la surexpression de SPARC induit des tumeurs très vascularisées (Prada, Benedetti et al. 2007), et dans le carcinome hépatocellulaire, la surexpression de SPARC est corrélée à l'angiogenèse (Lau, Poon et al. 2006).

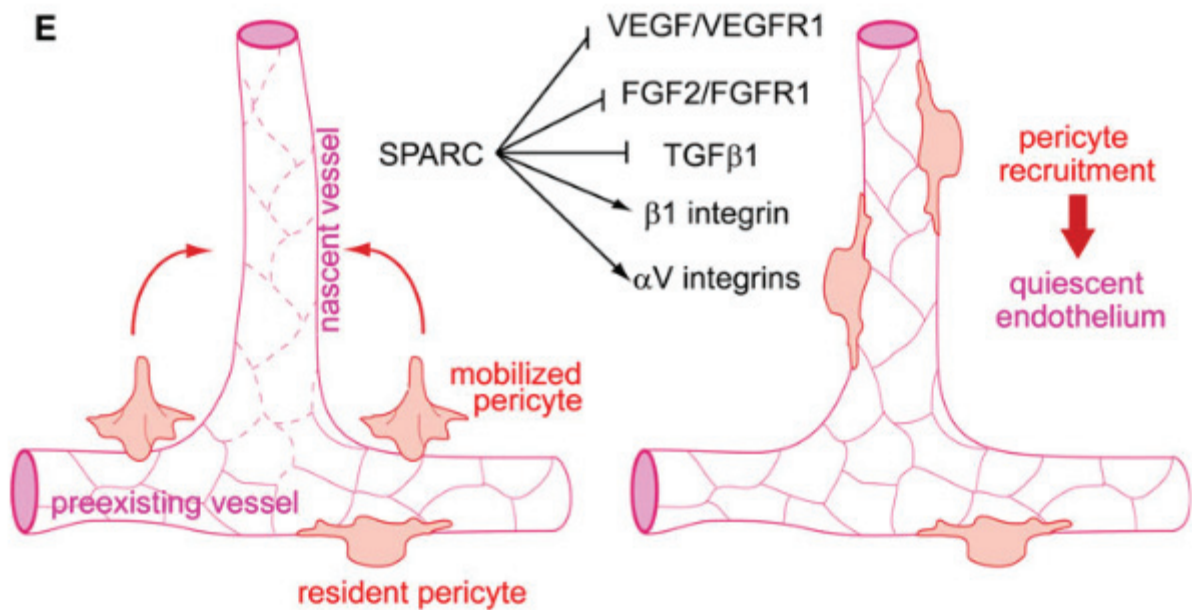


Figure 5 : Régulation de l'angiogenèse par SPARC (Rivera, Bradshaw et al. 2011)

#### 5.4 Apoptose

L'apoptose correspond à une mort cellulaire programmée essentielle pour l'homéostasie tissulaire et le développement normal d'un individu. Il s'agit d'un processus fréquemment dérégulé dans les processus tumoraux, ce qui a amené plusieurs auteurs à étudier les rapports entre la protéine SPARC et apoptose (Nagaraju and Sharma 2011).

Yiu *et al.* ont montré dans des lignées cellulaires de tumeurs ovariennes que l'apport exogène de SPARC induit l'apoptose (Yiu, Chan et al. 2001). Cette observation est confirmée par une autre étude décrivant, après exposition de cellules ovariennes humaines à la protéine SPARC, un taux augmenté d'enzymes pro-apoptotiques, les caspases 3 (Said and Motamed 2005).

Dans des lignées cellulaires de cancers colorectaux, la surexpression de SPARC, par interaction directe avec l'extrémité N-terminale d'une autre enzyme pro-apoptotique, la caspase 8, augmente l'apoptose des cellules exposées à de la chimiothérapie (Tang and Tai 2007).

A l'inverse, dans les gliomes, la déplétion de SPARC *in vitro* et *in vivo*, induit l'apoptose des cellules (Shi, Bao et al. 2007). De la même manière, l'extinction de SPARC dans des cellules de mélanomes ou dans des cellules de cancer du col induit un arrêt du cycle suivi d'une mort par apoptose dépendante de p53 (Fenouille, Puissant et al. 2011; Chen, Shi et al. 2012).

Ainsi ses fonctions dans la progression tumorale sont complexes, et variables selon le type tumoral et son environnement.

### **5.5 Transition Epithélio-Mésenchymateuse (TEM)**

La transition épithélio-mésenchymateuse est un processus physiologique au cours duquel les cellules épithéliales développent un phénotype mésenchymateux. Il a été proposé que les cellules tumorales pouvaient acquérir un phénotype invasif et métastatique selon le même phénomène (Thiery 2002).

L'expression de SPARC dans des lignées de mélanome a été corrélée à des processus associés à la TEM : diminution de l'expression d'E-cadhérine, augmentation de l'expression de Vimentine, induction du facteur de transcription Snail (Robert, Gaggioli et al. 2006; Smit, Gardiner et al. 2007). De même, il a été montré que la surexpression de SPARC était concomitante d'une surexpression de Snail et de la Vimentine, et d'une diminution de l'E-cadhérine dans des lignées cellulaires de cancer du sein (Lien, Hsiao et al. 2007). De plus un des facteurs clé impliqué dans le TEM est TGF $\beta$  (Bierie and Moses 2006). Or, comme nous l'avons décrit plus haut, il existe une boucle de régulation réciproque entre SPARC et TGF $\beta$  (Wrana, Kubota et al. 1991) suggérant un intime lien entre SPARC, TGF $\beta$  et la TEM. Enfin, SPARC pourrait être impliquée dans la TEM médiée par le collagène (Podhajcer, Benedetti et al. 2008). Ainsi il semble que SPARC agit à différents niveaux de la TEM et peut contribuer à l'acquisition du phénotype malin.

## 6. SPARC et cancer

Bien qu'il soit admis que SPARC joue un rôle important dans plusieurs cancers, il n'existe pas de modèle unique de son implication dans la progression tumorale. Ainsi il a été montré dans des études *in vitro* ou *in vivo* qu'il s'agit d'une protéine « multifacette » pouvant avoir un effet contradictoire à la fois oncogénique et suppresseur de tumeur (Arnold and Brekken 2009), dépendant du contexte physiopathologique et du type cellulaire comme le montrent les exemples ci-dessous. Des rôles contradictoires sont donc parfois observés dans un même type de cancer.

### 6.1 Effet oncogénique

#### - gliomes

+ Chez l'Homme : l'expression de SPARC est augmentée dans les glioblastomes, les astrocytomes et méningiomes par rapport au tissu cérébral normal. Une expression élevée de SPARC est corrélée à une survie plus courte (Huang, Colella et al. 2000; Rich, Hans et al. 2005).

+ *In vitro*, lignées cellulaires : SPARC exogène et endogène augmente le potentiel invasif et migratoire et la survie des lignées cellulaires de glioblastomes. L'inhibition de SPARC par siRNA dans des lignées de gliomes invasifs est à l'origine d'une diminution de la migration tumorale (Seno, Harada et al. 2009).

+ Dans des modèles murins : l'expression de SPARC induit un phénotype invasif dans des glioblastomes (Schultz, Lemke et al. 2002).

#### - sein

+ Chez l'Homme : dans le carcinome canalaire infiltrant, l'expression de SPARC est augmentée dans la tumeur par rapport au tissu mammaire normal. La surexpression

de SPARC est corrélée à des hauts grades histologiques et à stades cliniques avancés (Watkins, Douglas-Jones et al. 2005; Lien, Hsiao et al. 2007).

+ In vitro, lignées cellulaires : SPARC endogène et exogène augmente le potentiel invasif des cellules tumorales (Briggs, Chamboredon et al. 2002).

+ Dans des modèles murins : SPARC a été identifié comme un gène associé à la dissémination métastatique au poumon (Minn, Gupta et al. 2005).

#### - mélanomes

+ Chez l'Homme : SPARC est surexprimée dans le mélanome primitif et métastatique alors qu'elle n'est pas exprimée dans les mélanocytes. Son niveau d'expression est associé à une augmentation des métastases et à une diminution de la survie (Massi, Franchi et al. 1999). Des niveaux élevés de SPARC ont été retrouvés dans le sérum de patients atteints de mélanomes (Ikuta, Nakatsura et al. 2005).

+ In vitro, lignées cellulaires : l'expression induite de SPARC augmente le potentiel invasif des cellules de mélanome et la mobilité des mélanocytes normaux (Robert, Gaggioli et al. 2006). Son extinction par ARNi inhibe le potentiel migratoire et invasif des cellules tumorales (Fenouille, Tichet et al. 2012).

+ Dans des modèles murins : la suppression de SPARC par anti-sens ou par RNAi diminue la formation de tumeurs (Ledda, Adris et al. 1997; Fenouille, Puissant et al. 2011).

De nombreux autres cancers ont été associés à divers effets pro-tumoraux de SPARC comme notamment le cancer du poumon non à petites cellules et l'adénocarcinome du pancréas (Arnold and Brekken 2009).

De plus, dans la leucémie myéloïde chronique, il a été décrit un rôle de SPARC dans la résistance au Glivec (Fenouille, Puissant et al. 2010).

## 6.2 Effet suppresseur de tumeur

Le promoteur de SPARC est hyperméthylé dans plusieurs cancers épithéliaux, induisant une réduction de la production de SPARC par les cellules tumorales. Voici quelques exemples détaillés de cancer dans lesquels *SPARC* serait un gène suppresseur de tumeur.

### - ovaire

+ Chez l'Homme : Le niveau d'expression de SPARC est bas dans les cancers de l'ovaire (Socha, Said et al. 2009) du fait d'une méthylation du promoteur du gène alors qu'il est élevé dans les cellules épithéliales ovariennes normales.

+ In vitro, lignées cellulaires : L'apport de SPARC exogène diminue la prolifération cellulaire in vitro et induit de l'apoptose (Yiu, Chan et al. 2001).

+ Dans des modèles murins : Dans l'étude de Said et al, l'inhibition de l'expression de SPARC conduit à une survie plus courte et augmente la dissémination tumorale péritonéale (Said and Motamed 2005).

### - Colon

+ Chez l'Homme : le promoteur de SPARC est hyperméthylé dans 80 à 100% des adénocarcinomes colorectaux, ce qui est associé à un mauvais pronostic (Yang, Kang et al. 2007)

+ In vitro, lignées cellulaires : l'expression de SPARC est diminuée dans des cellules tumorales chimiorésistantes (Tai, Dai et al. 2005)

+ Dans des modèles murins : La réexpression de SPARC restaure la chimiosensibilité et induit une régression tumorale

## - Poumon

+ Chez l'Homme : La méthylation du gène *SPARC* est décrite dans 71% des cancers non à petites cellules et dans 33% des cancers à petites cellules, et constitue un facteur de mauvais pronostic (Suzuki, Hao et al. 2005)

+ In vitro, lignées cellulaires : Sur des lignées cellulaires, la méthylation du promoteur de *SPARC* est retrouvée dans les mêmes proportions (Suzuki, Hao et al. 2005)

+ Dans des modèles murins : il a été retrouvé une croissance tumorale plus élevée dans les souris *Sparc*<sup>-/-</sup> .

L'effet anti-tumoral de *SPARC* a également été décrit dans d'autres cancers comme les tumeurs du pancréas, les neuroblastomes, les cancers du sein ou le carcinome hépatocellulaire.

Cependant, il est à noter que toutes ces données sont à interpréter avec beaucoup de précaution, car des résultats divergents sont fréquemment retrouvés parfois même concernant un même type tumoral. Dans les études, les approches différentes (*in vitro* ou *in vivo*, étude de la protéine ou de l'ARN...) et les variabilités des méthodologies (étude du contingent stromal ou tumoral, étude du front d'invasion...) doivent être bien prises en compte. Cela souligne toute la complexité du rôle de *SPARC* dans le cancer et la nécessité d'analyses d'expression précises et exhaustives.

### 6.3 *SPARC* et tumeurs à cellules rénales

L'implication et le rôle potentiel de *SPARC* dans les cancers du rein ont été très peu étudiés. Seules trois études ont analysé l'expression de *SPARC* en immunohistochimie dans des carcinomes rénaux (Porter, Sage et al. 1995; Sakai, Baba et al. 2001; Conant, Peng et al. 2011), parmi lesquelles seules les deux



dernières concernent spécifiquement des séries de tumeurs rénales et deux autres se sont intéressées aux profils transcriptionnels de carcinomes à cellules claires (Gieseg, Cody et al. 2002; Amatschek, Koenig et al. 2004).

Elles montrent une expression de SPARC dans certains carcinomes à cellules rénales, notamment dans les carcinomes à cellules claires et les carcinomes sarcomatoïdes, suggérant un rôle oncogénique de SPARC dans ces tumeurs.

## **7. SPARC tumoral et SPARC stromal**

Les interactions entre les cellules stromales et épithéliales contribuent à la croissance tumorale. SPARC peut être à la fois exprimée par les cellules tumorales épithéliales et par les cellules stromales à leur contact.

Il est important de noter que l'expression de SPARC dans les cellules tumorales et dans les cellules stromales est parfois opposée, avec une surexpression dans un contingent cellulaire et une sous expression dans un autre. Cela est décrit fréquemment dans plusieurs types de cancers. Par exemple, dans le cancer du sein, les cellules tumorales n'expriment pas SPARC (hyperméthylation du promoteur, contrairement au tissu mammaire normal), alors que les cellules du stroma tumoral montrent une expression intense de SPARC (Barth, Moll et al. 2005). Des observations similaires sont décrites dans les carcinomes pancréatiques (Infante, Matsubayashi et al. 2007) ou dans les carcinomes pulmonaires non à petites cellules (Koukourakis, Giatromanolaki et al. 2003), dans lesquels la surexpression de SPARC dans les fibroblastes est un marqueur de mauvais pronostic.

L'hétérogénéité et la source de l'expression de SPARC dans les différents contingents tumoraux et leur microenvironnement, ainsi que la disparité de la méthodologie des études pourraient donc expliquer les résultats contradictoires des effets de SPARC.

## **8. SPARC et thérapeutique**

### **8.1 SPARC comme cible thérapeutique**

Nous avons vu que dans de nombreux cancers, l'expression de SPARC était associée à une agressivité tumorale. Dans certaines tumeurs exprimant de façon significative la protéine SPARC comme le mélanome ou le gliome, la protéine SPARC a un effet pro-tumoral en favorisant l'invasion cellulaire et la prolifération. Ainsi, cibler spécifiquement la protéine SPARC tumorale dans ces modèles tumoraux afin de perturber les interactions entre la cellule tumorale et son microenvironnement (par ARNi par exemple), ou bien les interactions entre SPARC et ses partenaires tumoraux (par peptides bioactifs ou anticorps monoclonaux) pourrait donc constituer une approche intéressante.

Il a aussi été montré (Inoue, Senju et al. 2010) que SPARC pouvait être un antigène cible pour l'immunothérapie de certains cancers : des lymphocytes T cytotoxiques sont spécifiques de cellules tumorales exprimant SPARC et un antigène associé aux tumeurs (HLA-A24).

Une autre piste développée est celle des nanoparticules liées à l'albumine (NAB) associées à des molécules de chimiothérapie. L'albumine permet un passage facile par transcytose à travers les vaisseaux sanguins tumoraux de molécules de chimiothérapie. Dans les tumeurs exprimant de façon élevée la protéine SPARC, grâce à la forte affinité de SPARC et de l'albumine, les molécules de chimiothérapie se déposent au cœur de la tumeur. Il est également envisageable dans les tumeurs exprimant peu la protéine SPARC de combiner un apport exogène de SPARC à ce type de traitement pour faciliter la diffusion de la chimiothérapie. Ces technologies se sont déjà illustrées en clinique avec le NAB-paclitaxel dans le cancer du pancréas (Von Hoff, Ervin et al. 2013) ou dans le cancer du sein (Gradishar, Tjulandin et al. 2005).

## 8.2 SPARC comme traitement (figure 6)

Dans des modèles de cancers du pancréas (Sato, Fukushima et al. 2003), de cancer colorectal (Tai, Dai et al. 2005) de neuroblastomes (Chlenski, Liu et al. 2002) et de leucémies (DiMartino, Lacayo et al. 2006), l'apport exogène de SPARC a un effet anti-prolifératif. Dans des lignées de cancers de l'ovaire, SPARC stimule l'apoptose, inhibe la prolifération et dans les modèles murins il diminue la carcinose péritonéale (Said and Motamed 2005). SPARC pourrait donc avoir un effet direct anti-tumoral dans les tumeurs exprimant peu la protéine SPARC.

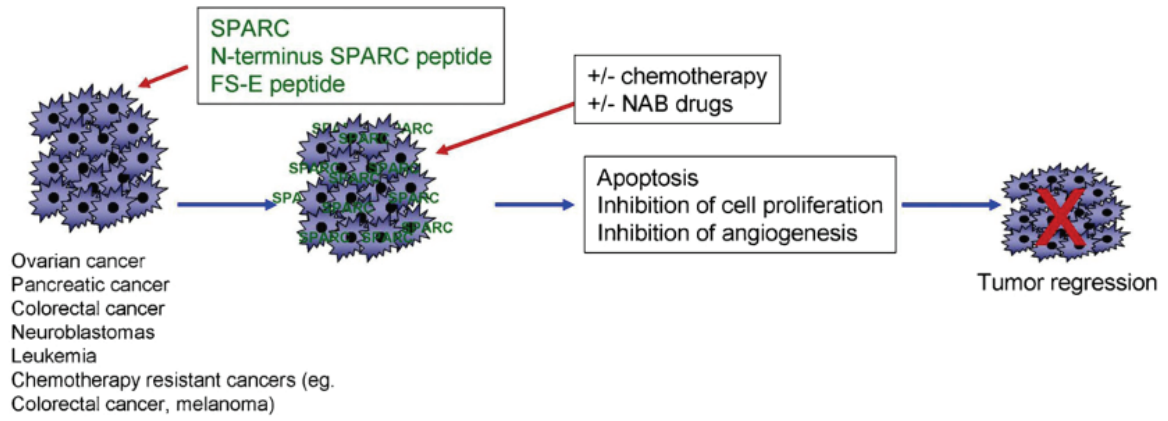
La modulation de l'expression de SPARC pourrait être obtenue par différents moyens :

- apport exogène comme protéine purifiée (Chlenski, Liu et al. 2002; Tai, Dai et al. 2005)
- apport exogène par thérapie génique (Tai, Dai et al. 2005; Said, Socha et al. 2007)
- perturbation de la méthylation du promoteur de SPARC qui réprime l'expression du gène *SPARC*. Ainsi, dans des lignées de cancer colorectal, le 5-aza-2'déoxycytidine, déméthyle les régions CpG du promoteur de *SPARC*, augmente son expression (Cheetham, Tang et al. 2008) et augmente la sensibilité à la chimiothérapie.

SPARC pourrait également potentialiser l'effet des agents de chimiothérapie comme il a été décrit dans des lignées de cancer colorectal (Tai, Dai et al. 2005; Taghizadeh, Tang et al. 2007).

Cependant à l'heure actuelle, ces différentes pistes ne sont pas au stade d'essais thérapeutiques.

Low SPARC expressing tumors:



High SPARC expressing tumors:

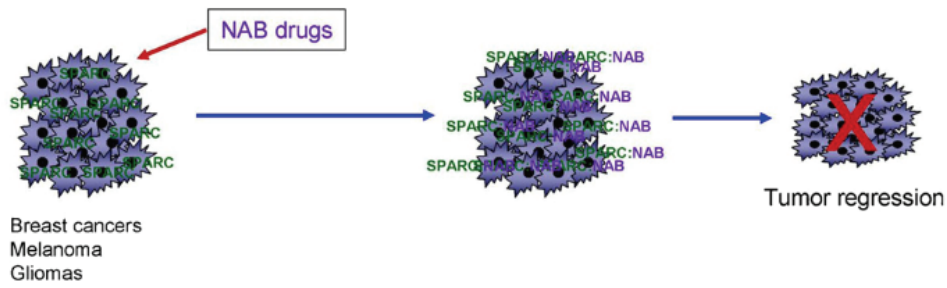


Figure 6 : SPARC comme cible thérapeutique ou comme traitement (Tai and Tang 2008).

### III. Objectifs

Puisque il a été montré que SPARC pouvait jouer des rôles multiples dans de nombreux types tumoraux, mais que son implication potentielle dans les tumeurs rénales a été très peu étudiée, nous avons choisi d'étudier les modalités de son expression dans une série de tumeurs rénales.

En effet, les carcinomes à cellules rénales ont la spécificité de posséder un contingent majoritaire de cellules tumorales, avec peu de stroma réaction et une riche vascularisation. SPARC est à la fois sécrétée par les cellules tumorales et les cellules endothéliales. De plus, il a été démontré dans d'autres cancers un lien entre SPARC et angiogenèse. Ainsi, nous avons émis l'hypothèse que les tumeurs rénales étaient un modèle particulièrement intéressant d'étude d'expression de SPARC.

Nos objectifs sont :

- d'étudier la corrélation potentielle et les différentiels d'expression de SPARC entre les cellules tumorales et les cellules endothéliales des vaisseaux tumoraux
- de rechercher si la présence d'expression de SPARC est un outil diagnostique entre différents sous-types
- de rechercher si l'expression de SPARC est corrélée aux facteurs pronostiques usuels

Ces résultats préliminaires pourront éventuellement à plus long terme permettre :

- de mieux comprendre la physiopathologie de la tumorigenèse liée à SPARC des différents sous-types tumoraux de cancer du rein
- d'identifier si SPARC peut être une cible ou un outil thérapeutique éventuel dans ces tumeurs.

## **MATERIELS ET METHODES**

### **I. Sélection des cas**

Nous avons sélectionné de manière rétrospective à l'aide du logiciel « Apix » du Laboratoire Central d'Anatomopathologie du CHU de Nice (Pr Michiels) une série de 60 cas de tumeurs à cellules rénales diagnostiqués entre 2006 à 2014 à l'aide des codes ADICAP. Tous les patients avaient été opérés dans le service d'Urologie du CHU de Nice (Pr Amiel) à l'exception de deux d'entre eux qui avaient été opérés au centre Hospitalier Princesse Grace de Monaco (Dr Choquenot).

Pour chaque cas, il a été récolté des données cliniques : date de naissance, sexe, âge lors de la chirurgie, taille tumorale.

La majorité d'entre eux (53/60) avaient été caractérisés sur le plan cytogénétique (à l'aide du caryotype, de techniques de FISH ou de CGH-array) dans le laboratoire de génétique des tumeurs solides du CHU de Nice (Pr Pedeutour).

### **II. Etude histologique**

Tous les patients ont été pris en charge selon les recommandations internationales après réunion de concertation pluridisciplinaire. Lors de la chirurgie, la durée de clampage de l'artère rénale avant néphrectomie était connue.

Les prélèvements sont envoyés à l'état frais au laboratoire d'anatomopathologie et sont techniqués selon un protocole standardisé. Ils sont dans un premier temps décrits macroscopiquement puis il est procédé à la réalisation de prélèvements à visée cytogénétique.

Ils sont ensuite fixés dans une solution de formol (4%), échantillonnés de manière exhaustive et standardisée, puis inclus en paraffine. L'examen microscopique a été

réalisé sur des coupes histologiques de 2 µm d'épaisseur colorées par l'hématoxyline-éosine-safran. L'ensemble des lames des cas ont été relues par trois anatomopathologistes (Pr Michiels, Dr Ambrosetti, Z. Pedoutour) afin de définir les critères histologiques selon la classification de l'OMS (Eble, Sauter et al. 2004) (sous type histologique, grade de Fuhrman, stade pTNM, infiltration du tissu adipeux, présence d'embolies...) et selon les recommandations de l'ISUP (Srigley, Delahunt et al. 2013). Le diagnostic reposait sur l'ensemble des données morphologiques, immunohistochimiques et génétiques. Un bloc représentatif de la tumeur comportant du tissu rénal non tumoral a été sélectionné pour chaque cas.

### **III. Etude immunohistochimique de l'expression de SPARC**

#### **1. Technique immunohistochimique**

L'étape de pré-traitement a été réalisée avec l'automate Dako « PT link » (Dako, Carpinteria, CA, USA). Après déparaffinage, le démasquage antigénique a été réalisé à un pH 6 à 97°C pendant 20 minutes avec le tampon citraté « FLEX TRS Low pH » (EnVision™).

Les étapes suivantes ont été effectuées sur l'automate Dako « Autostainer link 48 ». Le blocage de la peroxydase endogène était effectué par la solution « FLEX Peroxidase-Blocking Reagent » (EnVision™). L'incubation avec l'anticorps primaire « Human Sparc/Ostonectin », dilué au centième (1/100), (anticorps polyclonal de chèvre, référence AF941, R and D Systems™) était de 20 minutes. L'amplification du signal et sa révélation sont effectuées avec un anticorps de lapin anti-chèvre (dilution 1/100, incubation de 15 minutes) et avec l'anticorps secondaire « FLEX/HRP » (EnVision™) (incubation de 20 minutes). Le chromogène utilisé est une solution de diaminobenzidine (« Substrate Working Solution mix »).



Les lames ont été contre colorées à l'hématoxyline, puis montées avec la colle « Pertex » après des bains successifs d'alcool pur et de xylène pur.

## 2. Méthode d'interprétation

Afin de valider la technique, nous disposions sur chaque coupe de tissu rénal sain pérítumoral qui constituait un témoin interne (expression positive au niveau des podocytes des capillaires glomérulaires qui expriment physiologiquement la protéine SPARC, et expression négative au niveau de l'épithélium rénal) (Francki and Sage 2001).

Le niveau d'expression de SPARC a été évalué indépendamment par trois anatomopathologistes (Pr Michiels, Dr Ambrosetti, Z. Pedeutour). L'expression spécifique dans le contingent des cellules tumorales ainsi que dans le contingent des cellules endothéliales tumorales a été quantifiée séparément.

Nous avons utilisé un système de score basé sur le « score d'Allred », qui est l'outil validé pour coter l'expression des récepteurs hormonaux dans le cancer du sein (Allred, Harvey et al. 1998) (figure 7).

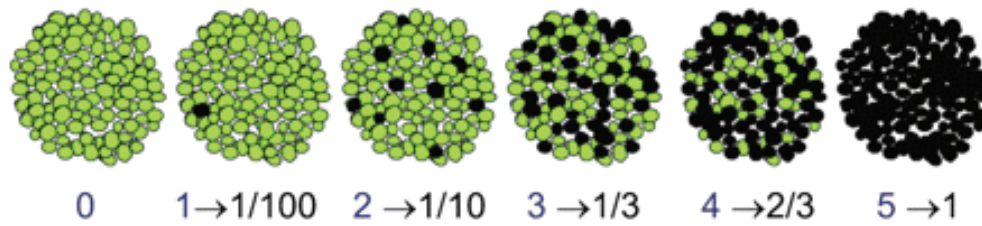
Pour chaque contingent (cellules tumorales et cellules endothéliales tumorales), il a été défini :

-la **proportion** de cellules marquées par l'anticorps dirigé contre la protéine SPARC, qui correspondait à un score de 0 à 5 (0 : nulle ; 1 :  $<1/100$  ; 2 :  $1/100$  à  $1/10$  ; 3 :  $1/10$  à  $1/3$  ; 4 :  $1/3$  à  $2/3$  ; 5 :  $> 2/3$ ),

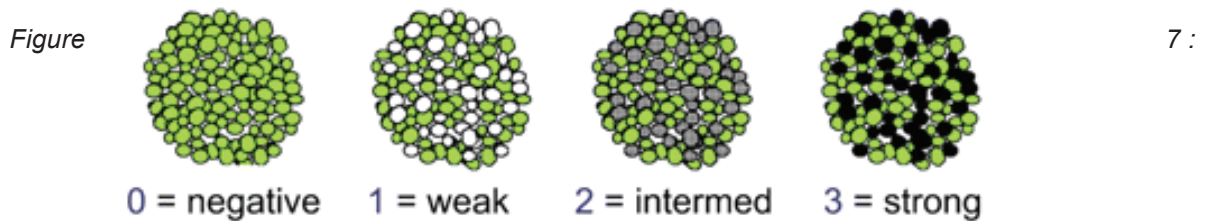
-puis l'**intensité** de marquage qui correspondait à un score de 0 à 3 (0 : nulle ; 1 : faible ; 2 : modérée ; 3 : forte).

La somme de ces deux scores de proportion et d'intensité aboutissait à un score total compris entre 0 et 8 que nous appellerons **score total**.

### A Proportion Score (PS)



### B Intensity Score (IS)



**Allred Score = PS + IS (range 0-8)**

*Méthode de calcul du score d'Allred (d'après (Allred 2008)):*

Les cellules non marquées sont représentées en vert, les cellules marquées selon différentes intensités croissantes en blanc, gris ou noir. A : le marquage est d'intensité constante (maximale) et la proportion de cellules marquées augmente de gauche à droite. B : la proportion de cellules marquées est constante (1/3) et l'intensité du marquage augmente de gauche à droite.

## IV. Analyse statistique

La comparaison quantitative des scores d'expression de SPARC entre les différents types histologiques et selon la présence d'emboles a été effectuée à l'aide du Test de Mann-Whitney (ou « *Wilcoxon rank sum test* » en anglais).

Les relations entre les scores d'expression SPARC et le grade de Fuhrman ont été étudiées au moyen d'un test du  $\chi^2$ , adapté si nécessaire aux petits échantillons (test de Fischer exact). Les analyses quantitatives des scores d'intensité, de proportion et d'Allred ont été réalisées à l'aide d'un test non paramétrique de Kruskal Wallis. Si celui-ci se révélait significatif des tests post hoc pour les comparaisons deux à deux étaient effectués (Test de Kruskal-Wallis au seuil de 5% par la méthode de correction « Step down Bonferroni »). Ces tests ont été réalisés sur les cas pour lesquels le

grade de Fuhrman était applicable, c'est-à-dire en excluant les tumeurs bénignes et les carcinomes chromophobes, soit 47 patients. Notons que les cas sans grade de Fuhrman ont tout de même été décrits dans les tables de contingences.

Les relations potentielles entre les scores d'expression de SPARC dans les cellules tumorales et dans les cellules endothéliales ont été étudiées qualitativement par le test de Fisher exact et par le test du  $\chi^2$ , et quantitativement par le calcul des coefficients de corrélation.

Les résultats étaient considérés significatifs lorsque la « p value » était inférieure à 0,05.

## RESULTATS

### I. Description clinicopathologique des paramètres qualitatifs et quantitatifs

L'ensemble des données est récapitulé dans les tableaux 7 et 8. Le nombre total de cas était de 60. Pour un des cas, toutes les données cliniques n'étaient pas accessibles car il s'agissait d'une tumeur découverte sur greffon (anonymat). Il y avait 19 patients de sexe féminin (32%) et 40 de sexe masculin (68%). L'âge moyen au moment de la chirurgie était de 65 ans, avec des extrêmes allant de 30 à 87 ans. Concernant le type de chirurgie, il y avait 45 néphrectomies totales (75%) et 15 néphrectomies partielles (25%). Le type de chirurgie était une néphrectomie totale dans 45 cas (75%) et une néphrectomie partielle dans 15 cas (25%).

La série incluait:

-54 tumeurs malignes : 18 carcinomes à cellules claires (30%), 21 carcinomes papillaires dont 10 de sous-type 1 (17%) et 11 de sous-type 2 (18%), 7 carcinomes chromophobes (12%), 5 carcinomes papillaires à cellules claires (8%), 1 carcinome mucineux à cellules fusiformes (2%), 2 carcinomes inclassables (3%).

-6 tumeurs bénignes : 5 oncocytomes (8%) et 1 adénome métanéphrique (2%).

Le grade des tumeurs malignes (en excluant des carcinomes chromophobes pour lesquels le grade de Furhman n'est pas applicable), était de 2 dans 18 cas (38%), 3 dans 17 cas (36%) et 4 dans 12 cas (26%).

Seize tumeurs malignes comportaient des embolies vasculaires (30%) et 38 n'en comportaient pas (70%). On observait un envahissement du tissu adipeux dans 23 cas (38%). Les stades les plus fréquents selon la classification TNM étaient pT1a (13 cas soit 24%), pT1b (13 cas soit 24%), et pT3a (18 cas soit 33%). La taille moyenne des tumeurs était de 5,74 cm.

Tableau 7 : Descriptif des paramètres qualitatifs de la population

		Population totale (N=60)	
		N	%
<b>Sexe</b>			
	Féminin	19	32,20
	Masculin	40	67,79
	Manquant	1	-
<b>Histologie</b>			
	Carcinome inclassable	2	3,33
	Carcinome à cellules claires	18	30,0
	Carcinome papillaire type 1	10	16,67
	Carcinome papillaire type 2	11	18,33
	Carcinome Chromophile	7	11,67
	Carcinome papillaire à cellules claires	5	8,33
	Carcinome mucineux et à cellules fusiformes	1	1,67
	Oncocytome	5	8,33
	Adénome Métanéphrique	1	1,67
<b>Chirurgie</b>			
	Partielle	15	25,0
	Totale	45	75,0
<b>Présence d'embolies</b>			
	Oui	16	29,63
	Non	38	70,37
	NA*	6	-
<b>Présence d'envahissement des tissus adipeux</b>			
	Oui	23	38,33
	Non	37	61,67
	NA*	6	-
<b>pTNM</b>			
	pT1a	13	24,07
	pT1b	13	24,07
	pT1bM1	1	1,85
	pT2	1	1,85
	pT2a	2	3,70
	pT3a	18	33,33
	pT3aM1	1	1,85
	pT3b	4	7,41
	pT3bN2	1	1,85
	NA*	6	-
<b>Grade de Fuhrman</b>			
	2	18	38,30
	3	17	36,17
	4	12	25,53
	NA*	13	-

\*NA=non applicable (cas des tumeurs bénignes auxquels s'ajoutent les carcinomes chromophobes pour le grade de Fuhrman)

Tableau 8 : Descriptif des paramètres quantitatifs de la population

	<b>Population Totale (N=60)</b>
	Moy± ET (N)
<b>Age à la chirurgie</b>	64,58± 12,98 (59)
<b>Taille de la tumeur (cm)</b>	5,74± 4,01 (60)
<b>Grade de Fuhrman*</b>	2,87± 0,80 (47)

\*Effectué sur les cas dans lesquels le grade de Fuhrman était applicable

## II. Examen Immunohistochimique de l'expression de SPARC

Le récapitulatif pour chaque cas des caractéristiques clinico-pathologiques et des scores détaillées d'expression de SPARC sont récapitulés dans l'annexe 2

### 1. Type de marquage

Le marquage obtenu au niveau des cellules tumorales et des cellules endothéliales était un marquage de type cytoplasmique diffus ou « en dot », parfois associé à un renforcement membranaire. Dans tous les cas, on constatait une expression positive au niveau des podocytes des capillaires glomérulaires du tissu rénal sain péri-tumoral, qui constituait le témoin positif.

Cf annexe 3

### 2. Comparaison selon le type histologique

#### 2.1 Tumeurs bénignes versus tumeurs malignes (tableau 9)

Il n'était observé aucune expression de SPARC dans les cellules tumorales des tumeurs bénignes (score nul). Ainsi, l'expression de SPARC était significativement plus élevée dans les tumeurs malignes (score total moyen de 2,72) que dans les tumeurs bénignes.

Au niveau de l'endothélium, il n'était pas observé de différence significative d'expression de SPARC selon le type bénin (score total moyen de 6,17) ou malin (score total moyen de 6,04) de la tumeur.

Tableau 9 : Comparaison des scores d'expression de sparc dans les cellules tumorales et dans les cellules endothéliales dans les tumeurs bénignes et dans les tumeurs malignes

	Tumeurs bénignes (N=6)	Tumeurs malignes (N=54)	P value*
<b>Cellules Tumorales</b>			
Moy ± ET (N)			
Score total	0 ± 0 (6)	2,72 ± 2,97 (54)	<b>0,0335</b>
<b>Endothélium</b>			
Moy ± ET (N)			
Score total	6,17 ± 1,60 (6)	6,04 ± 2,28 (54)	0,7059

\*Test de Mann-Whitney (ou "Wilcoxon rank sum test")

## 2.2 Carcinomes à cellules claires versus carcinomes papillaires (sous-types 1 et 2) (tableau 10)

Nous n'avons pas observé de différence significative concernant l'expression de SPARC au niveau des cellules tumorales entre les carcinomes à cellules claires (score total moyen 3,06) et les carcinomes papillaires (3,67). En revanche, nous avons noté une différence significative pour tous les paramètres d'expression de SPARC au niveau de l'endothélium, avec un score total plus élevé dans les carcinomes à cellules claires (7,67) que dans les carcinomes papillaires (4,48).

Tableau 10 : Comparaison des scores d'expression de SPARC dans les cellules tumorales et dans les cellules endothéliales dans les carcinomes à cellules claires et dans les carcinomes papillaires de sous types 1 et 2

	Carcinomes à cellules claires (N=18)	Carcinomes papillaires (1 et 2) (N=21)	P value*
<b>Cellules Tumorales</b>			
Moy ± ET (N)			
Score total	3,06 ± 3,02 (18)	3,67 ± 3,15 (21)	0,5315
<b>Endothélium</b>			
Moy ± ET (N)			
Score total	7,67 ± 0,77 (18)	4,48 ± 2,58 (21)	<b>&lt;,0001</b>

\*Test de Mann-Whitney ("Wilcoxon rank sum test")

### 2.3 Carcinomes papillaires de type 1 versus type 2 (tableau 11)

Il était observé une différence significative pour le score d'intensité (mais pas pour les autres paramètres d'expression de SPARC) au niveau des cellules tumorales, avec un score d'intensité moyen plus élevé (2,09) dans le sous type 2 que dans le sous-type 1 (0,6). Il existait une différence significative pour tous les paramètres d'expression de SPARC au niveau de l'endothélium, avec un score total moyen plus élevé dans le sous-type 2 (6,09) que dans le sous-type 1 (2,70).

Tableau 11 : Comparaison des scores d'expression de SPARC dans les cellules tumorales et dans les cellules endothéliales dans les carcinomes papillaires de sous type 1 et de sous type 2

	<b>Carcinomes papillaires type 1 (N=10)</b>	<b>Carcinomes papillaires type 2 (N=11)</b>	<b>P value*</b>
<b>Cellules Tumorales</b>			
Moy ± ET (N)			
Score d'intensité	0,60 ± 1,07 (10)	2,09 ± 1,22 (11)	<b>0,0112</b>
Score total	2,40 ± 3,24 (10)	4,82 ± 2,71 (11)	0,1415
<b>Endothélium</b>			
Moy ± ET (N)			
Score total	2,70 ± 2,58 (10)	6,09 ± 1,14 (11)	<b>0,0077</b>

\*Test de Mann-Withney ("Wilcoxon rank sum test")

### 2.4 Carcinomes à cellules claires versus carcinomes chromophobes

(tableau 12)

Il n'était pas observé de différence significative d'expression de SPARC au niveau des cellules tumorales entre les carcinomes à cellules claires (score total moyen 3,06) et les carcinomes chromophobes (1,29). En revanche, il existait une différence significative pour tous les paramètres d'expression de SPARC au niveau de l'endothélium, avec un score total moyen plus élevé dans les carcinomes à cellules claires (7,67) que dans les carcinomes chromophobes (5,86).



Tableau 12 : Comparaison des scores d'expression de SPARC dans les cellules tumorales et dans les cellules endothéliales dans les carcinomes à cellules claires et les carcinomes chromophobes

	<b>Carcinomes à cellules claires (N=18)</b>	<b>Carcinomes chromophobes (N=7)</b>	<b>P value*</b>
<b>Cellules Tumorales</b>			
Moy ± ET (N)			
Score total	3,06 ± 3,02 (18)	1,29 ± 1,70 (7)	0,1997
<b>Endothélium</b>			
Moy ± ET (N)			
Score total	7,67 ± 0,77 (18)	5,86 ± 1,35 (7)	<b>0,0043</b>

\*Test de Mann-Withney ("Wilcoxon rank sum test")

## 2.5 Carcinomes papillaires (sous-types 1 et 2) versus carcinomes chromophobes (tableau 13)

La comparaison de l'expression de SPARC entre ces deux types n'a pas mis en évidence de différence statistique, ni au niveau des cellules tumorales, ni de l'endothélium.

Tableau 13 : Comparaison des scores d'expression de SPARC dans les cellules tumorales et dans les cellules endothéliales dans les carcinomes papillaires de sous types 1 et 2 et les carcinomes chromophobes

	<b>Carcinomes papillaires (1 et 2) (N=21)</b>	<b>Carcinomes chromophobes (N=7)</b>	<b>P value*</b>
<b>Cellules Tumorales</b>			
Moy ± ET (N)			
Score total	3,67 ± 3,15 (21)	1,29 ± 1,70 (7)	0,0873
<b>Endothélium</b>			
Moy ± ET (N)			
Score total	4,48 ± 2,58 (21)	5,86 ± 1,35 (7)	0,3031

\*Test de Mann-Withney ("Wilcoxon rank sum test")

## 2.6 Carcinomes chromophobes versus oncocytomes (tableau 14)

La comparaison de l'expression de SPARC entre ces deux types n'a pas mis en évidence de différence statistique, ni au niveau des cellules tumorales, ni de l'endothélium.

Tableau 14 : Comparaison des scores d'expression de SPARC dans les cellules tumorales et dans les cellules endothéliales dans les carcinomes chromophobes et les oncocytomes

	<b>Carcinomes Chromophobes (N=7)</b>	<b>Oncocytomes (N=5)</b>	<b>P value*</b>
<b>Cellules Tumorales</b>			
Moy ± ET (N)			
Score total	1,29 ± 1,71 (7)	0 ± 0 (5)	0,1638
<b>Endothélium</b>			
Moy ± ET (N)			
Score total	5,86 ± 1,35 (7)	6,80 ± 0,45 (5)	0,2011

\*Test de Mann-Withney (Wilcoxon rank sum test en anglais)

### 3. Comparaison selon la présence d'embolies (tableau 15)

Parmi les tumeurs malignes, il n'était pas observé de différence significative d'expression de SPARC au niveau des cellules tumorales entre les tumeurs sans embolies vasculaires (score total moyen 2,34) et avec embolies vasculaires (3,63). Il était observé une différence significative pour le score total moyen (mais pas pour les autres paramètres d'expression de SPARC) au niveau de l'endothélium, avec un score total moyen plus élevé dans les tumeurs avec embolies vasculaires (6,75) que dans les tumeurs sans embolies vasculaires (5,74).

Tableau 15 : Comparaison des scores d'expression de SPARC dans les cellules tumorales et dans les cellules endothéliales dans les tumeurs malignes avec et sans embolies vasculaires

	<b>Présence d'embolies (N=16)</b>	<b>Absence d'embolies (N=38)</b>	<b>P value*</b>
<b>Cellules Tumorales</b>			
Moy ± ET (N)			
Score total	3,63 ± 3,05 (16)	2,34 ± 2,90 (38)	0,1581
<b>Endothélium</b>			
Moy ± ET (N)			
Score total	6,75 ± 2,18 (16)	5,74 ± 2,28 (38)	<b>0,0498</b>

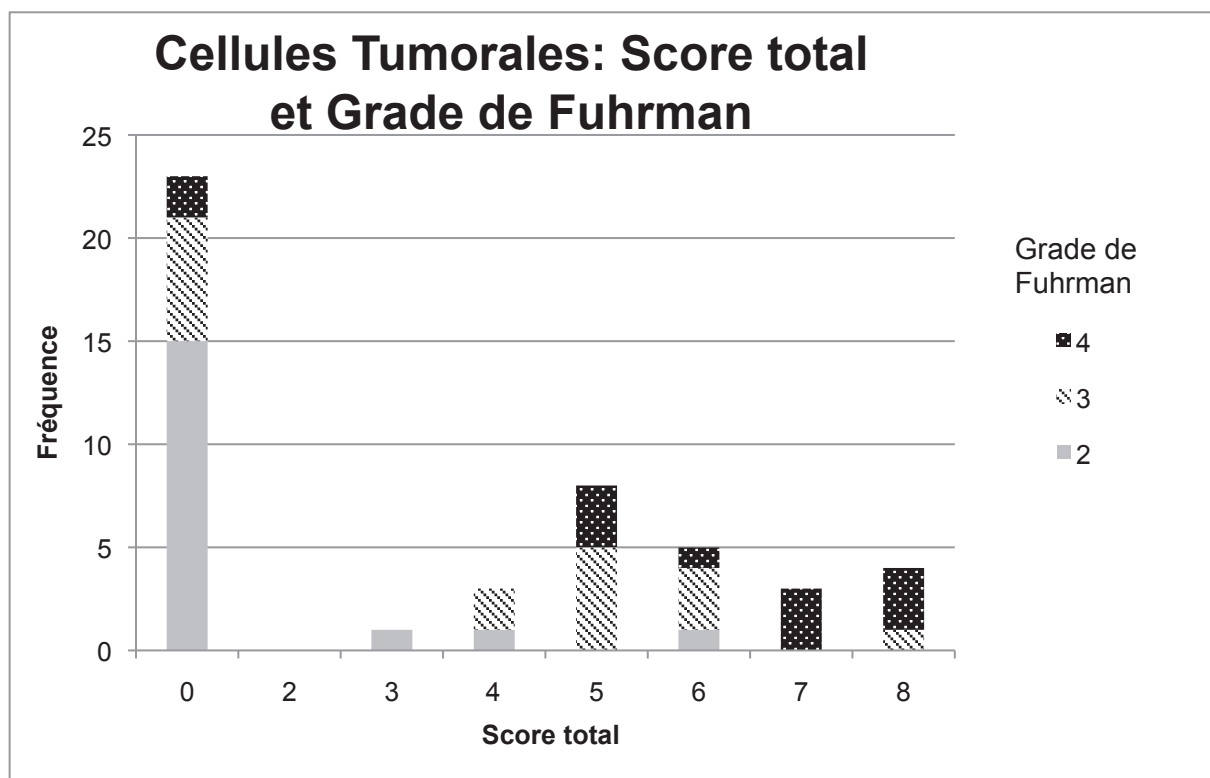
\*Test de Mann-Withney ("Wilcoxon rank sum test")

#### 4. Comparaison selon le grade de Fuhrman

##### 4.1 Scores d'expression dans les cellules tumorales et grade de Fuhrman

De manière qualitative (figure 8), nous avons observé, en utilisant le test de Fisher exact, une distribution statistiquement différente des grades de Fuhrman selon le score total moyen d'expression tumorales ( $p= 0,00017$ ).

De même, lors de l'analyse quantitative (tableau 16), on retrouve une différence statistiquement significative du score total moyen d'expression dans les cellules tumorales selon le grade de Fuhrman avec un score total moyen de 0,72 pour les tumeurs de grade de Fuhrman 2, de 3,47 pour celles de grade 3 et de 5,50 pour celles de grade 4.



Test de Fisher Exact :  $p= 0,00017$

Figure 8 : Diagramme du score total et du grade de Fuhrman dans les cellules tumorales

Tableau 16 : Test de Kruskal-Wallis du score d'Allred (quantitatif) dans les cellules tumorales en fonction du Grade de Fuhrman

Grade de Fuhrman	Score d'Allred (N=47) Moy ± ET (N)	P value
2	0,72 ± 1,74 (18)	<b>0,0001</b>
3	3,47 ± 2,79 (17)	
4	5,50 ± 2,81 (12)	

Les tests post-hoc deux à deux ont révélé que les différences se situent :

Entre le grade 2 et 3 ( $p = 0,0052$ )

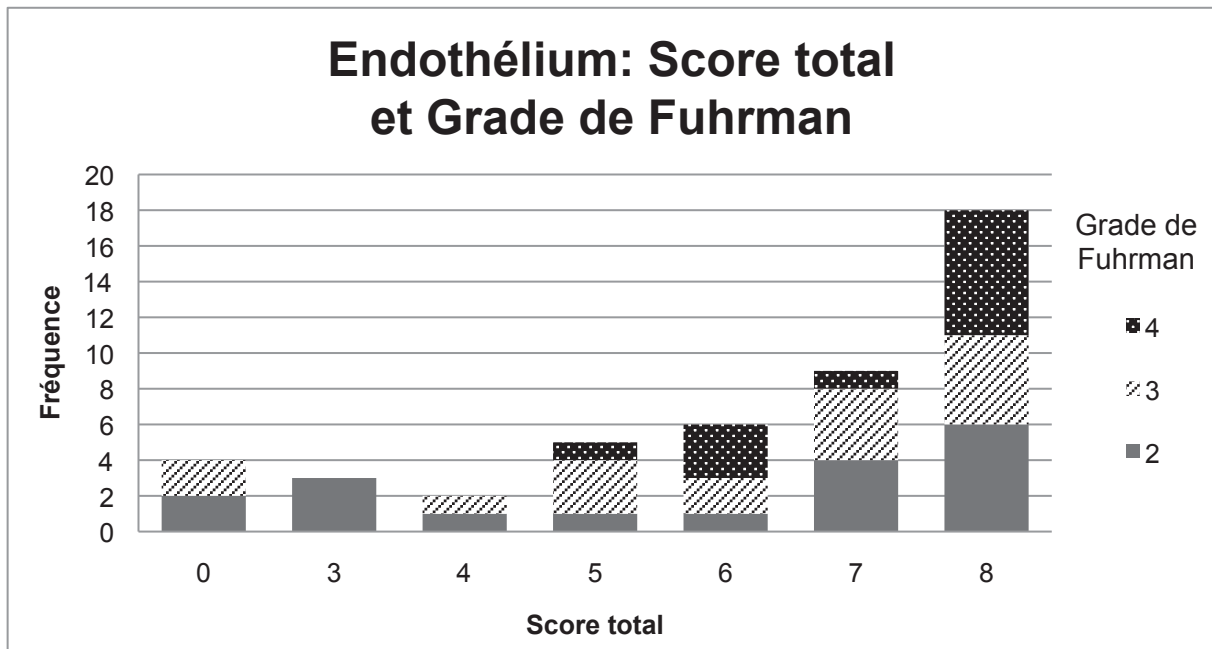
Entre le grade 2 et 4 ( $p = 0,0003$ )

Entre le grade 3 et 4 ( $p = 0,0311$ )

#### **4.2 Scores d'expression dans les cellules endothéliales tumorales et grade de Furhman**

De manière qualitative (figure 9), selon le test de Fischer exact, nous n'avons pas observé de distribution statistiquement différente des grades de Furhman selon le score total moyen ( $p = 0,49$ ).

De même, lors de l'analyse quantitative (tableau 17), nous n'avons pas détecté de différence statistiquement des scores d'expression dans les cellules endothéliales tumorales selon le grade de Furhman avec un score total moyen de 5,56 pour les tumeurs de grade de Furhman 2, de 5,82 pour celles de grade 3 et de 7,17 pour celles de grade 4.



Test de Fisher Exact :  $p = 0,49$

Figure 9 : Diagramme du grade de Fuhrman en fonction du score total dans les cellules endothéliales

Tableau 17 : Test de Kruskal-Wallis du score d'Allred (quantitatif) dans les cellules endothéliales en fonction du Grade de Fuhrman

Score de Fuhrman	Score d'Allred (N=47) Moy $\pm$ ET (N)	P value
2	5,56 $\pm$ 2,75 (18)	0,1995
3	5,82 $\pm$ 2,53 (17)	
4	7,17 $\pm$ 1,11 (12)	

### 5. Corrélation entre l'expression dans les cellules tumorales et dans les cellules endothéliales tumorales (tableaux 18 et 19)

Il n'existait pas de relation d'un point de vue statistique entre les différents paramètres d'expression dans les cellules tumorales et dans les cellules endothéliales tumorales. Ainsi les profils d'expression de Sparc dans le contingent des cellules tumorales et dans le contingent des cellules endothéliales tumorales semblaient indépendants.

Tableau 18 : Etude de la corrélation entre l'expression de SPARC dans les cellules tumorales et dans les cellules endothéliales tumorales : Test du  $\chi^2$  et de Fisher Exact

	<b>P value</b>
<b>Score total</b>	0,7851 <sup>+</sup>

+Test du  $\chi^2$

Tableau 19 : Etude de la corrélation entre l'expression de SPARC dans les cellules tumorales et dans les cellules endothéliales tumorales : Coefficients de corrélation

	<b>Coefficient de corrélation</b>	<b>P value*</b>
<b>Score total</b>	0,0572	0,6815

\*Teste la nullité du coefficient de corrélation

### III. Caractéristiques cytogénétiques

Nous avons recherché la présence d'un gain ou d'une perte de la région du gène SPARC, situé en 5q33.1. Cette donnée a pu être recherchée dans 49 cas sur les 60 de la série. Il s'agissait soit du chromosome 5 entier, soit d'une région partielle du chromosome 5 englobant le locus 5q33.1. Nous n'avons observé aucune perte. Un gain était présent dans 15 cas (15/49). Le « gain » était défini par un gain du nombre de copies du locus de SPARC par rapport au nombre de copies du reste du génome (les polyploïdies par exemple n'ont pas été répertoriées comme des gains). Ces données sont récapitulées dans les tableaux 20 et 21.

Tableau 20 : Récapitulatif de la présence d'un gain entier ou partiel englobant le locus 5q33.1 du chromosome 5, et des scores totaux d'expression

Cas	Gain K5 entier	Gain K5 partiel : région	Perte K5 entier	Perte K5 partiel	Score total tumoral	Score total endothélial
1	<b>oui</b>	non	non	non	<b>0</b>	<b>8</b>
2	non	non	non	non	8	0
3	ND	ND	ND	ND	0	5
4	non	non	non	non	0	8
5	non	non	non	non	5	7
6	non	non	non	non	0	7
7	<b>oui</b>	non	non	non	<b>8</b>	<b>7</b>
8	ND	ND	non	ND	0	7
9	non	non	non	non	6	7
10	non	non	non	non	4	4
11	non	<b>oui : 5q23.1-5qter</b>	non	non	<b>0</b>	<b>6</b>
12	non	non	non	non	5	6
13	non	<b>oui : 5q10-qter</b>	non	non	<b>0</b>	<b>6</b>
14	non	non	non	non	5	5
15	non	non	non	non	5	5
16	<b>oui</b>	non	non	non	<b>7</b>	<b>6</b>
17	non	non	non	non	5	7
18	non	non	non	non	0	3
19	non	non	non	non	0	3
20	non	non	non	non	0	3
21	ND	ND	non	non	0	8
22	ND	ND	non	ND	0	8
23	non	<b>oui : 5q21.3-q35.3</b>	non	non	<b>0</b>	<b>8</b>
24	non	<b>oui : 5q21.1-q35.3</b>	non	non	<b>5</b>	<b>8</b>
25	non	non	non	non	0	3
26	non	non	non	non	0	5
27	non	non	non	non	4	0
28	non	non	non	non	6	0
29	non	non	non	non	6	7
30	non	non	non	non	3	6
31	non	non	non	non	0	8
32	non	non	non	non	0	5
33	ND	ND	ND	ND	2	5
34	non	non	non	non	5	8
35	non	<b>oui : 5q33.2-q35.3</b>	non	non	<b>0</b>	<b>8</b>
36	non	<b>oui : 5q21.1-q35.3</b>	non	non	<b>6</b>	<b>8</b>
37	non	non	non	non	8	8
38	non	non	non	non	3	8
39	<b>oui</b>	non	non	non	<b>0</b>	<b>8</b>
40	non	non	non	non	5	8
41	non	non	non	non	0	7
42	non	<b>oui : 5q23-qter</b>	non	non	<b>0</b>	<b>8</b>
43	ND	ND	ND	ND	0	0
44	ND	ND	ND	non	7	8
45	non	non	non	non	7	8
46	non	ND	non	ND	0	5
47	non	<b>oui : 5q31.2-qter</b>	non	non	<b>6</b>	<b>8</b>
48	non	non	non	non	0	7
49	non	non	non	non	0	7
50	ND	ND	ND	ND	0	7
51	non	non	non	non	0	6
52	non	<b>oui : 5q32-q35.2</b>	non	non	<b>4</b>	<b>7</b>
53	ND	ND	ND	ND	0	4
54	non	non	non	non	0	7
55	<b>oui</b>	non	non	non	<b>8</b>	<b>8</b>
56	non	non	non	non	0	6
57	<b>oui</b>	non	non	non	<b>0</b>	<b>6</b>
58	non	non	<b>oui</b>	non	<b>0</b>	<b>7</b>
59	ND	ND	ND	ND	0	4
60	ND	ND	ND	ND	4	6

ND : donnée non disponible

K5 : chromosome 5

Tableau 21 : Descriptif des paramètres qualitatifs  
selon la présence d'un gain de la région du gène SPARC

Gain de la région du gène SPARC 5q33.1	
Non disponible (ND)	11/60 (18%)
Non	34/49 (69%)
Oui	15/49 (30%)

### 1. Comparaison de l'expression de SPARC selon la présence d'un gain de la région du gène SPARC (tableau 22)

Nous n'avons pas observé de différence significative entre les scores totaux d'expression de SPARC au niveau des cellules tumorales entre les tumeurs avec gain de la région du gène SPARC (score total moyen : 2.93) et celles sans gain (score total moyen : 2.65). En revanche, nous avons noté une différence significative de ces scores d'expression de SPARC au niveau de l'endothélium, avec un score total plus élevé dans les tumeurs avec gain de la région du gène SPARC (7.33) que dans celles sans gain (5.62).

Tableau 22 : Comparaison des scores totaux d'expression dans les cellules tumorales et endothéliales dans les tumeurs sans ou avec un gain de la région du gène SPARC

	Pas de gain de la région de SPARC (N=34)	Gain de la région de SPARC (N=15)	P value *
<b>Score total tumoral</b> Moy±ET	2,65±2,84	2,93±3,39	0,7537
<b>Score total endothélial</b> Moy±ET	5,62±2,37	7,33±0,90	<b>0,0085</b>

\*Test de Mann-Whitney ("Wilcoxon rank sum test")

### 2. Etude de la présence d'un gain de la région du gène SPARC selon le sous-type histologique (tableau 23)

La proportion de cas avec gain de la région du gène SPARC est comparable dans les différents sous-types histologiques.



Tableau 23 : Fréquence de la présence d'un gain de la région du gène SPARC selon le type histologique

Type histologique	Nombre de cas avec gain/ nombre de cas	Pourcentage
Carcinomes à cellules claires	7/14	50
Carcinomes papillaires à cellules claires	2/5	40
Carcinomes inclassables	1/2	50
Carcinomes papillaires de sous-type 2	5/10	50

## DISCUSSION

La majorité des études concernant le cancer du rein ont été réalisées sur le carcinome à cellules claires qui est le type le plus fréquent et qui est considéré comme le modèle de référence. Toutefois il est désormais évident que les différents types histologiques de carcinomes à cellules rénales sont des entités qui comportent des différences notables d'évolution et de sensibilité aux traitements.

Les récents apports de l'immunohistochimie et de la génétique suggèrent que les différents types de carcinomes à cellules rénales doivent être appréhendés comme des maladies différentes dès lors que la chirurgie n'a pas été en mesure de contrôler la maladie. C'est pourquoi il est nécessaire d'identifier de nouveaux marqueurs qui permettront une meilleure compréhension des mécanismes de tumorigenèse dans le cancer rénal et la définition de nouvelles cibles thérapeutiques permettant l'élaboration de traitements adéquats personnalisés.

Dans cet objectif, nous avons étudié l'expression de la protéine SPARC, dont le rôle a été évoqué dans plusieurs types de tumeurs. La fonction de SPARC n'a été que très peu explorée dans les tumeurs rénales. Notre étude est la première à mener une investigation du statut de SPARC de manière précise dans une grande série de tumeurs rénales représentative des différents types histologiques.

Nos résultats sont en faveur d'un rôle oncogénique de la protéine SPARC dans les carcinomes à cellules rénales.

## **I. Éléments en faveur d'un rôle oncogénique de SPARC dans les cancers du rein**

Nous avons observé que l'expression de SPARC dans les tumeurs à cellules rénales était associée au phénotype malin. En effet, nous avons détecté son expression dans les cellules tumorales des tumeurs malignes, mais pas dans celles des tumeurs bénignes. Nous avons également observé que l'expression de SPARC était corrélée à la présence d'embolies vasculaires et au grade de Fuhrman, ce qui est en faveur du lien avec le potentiel de malignité. Nos résultats ont montré que SPARC était surexprimée dans les cellules endothéliales tumorales des tumeurs rénales avec embolies vasculaires par rapport à celles sans embolies vasculaires et dans les cellules tumorales des tumeurs de haut grade de Fuhrman par rapport à celles de bas grade de Fuhrman. Enfin, nous avons montré que l'expression de SPARC était variable selon les types histologiques de cancers du rein, avec une expression plus forte dans les types plus agressifs : SPARC est plus exprimée dans les cellules endothéliales tumorales des carcinomes à cellules claires que dans celles des carcinomes papillaires et des carcinomes chromophobes. Au sein des carcinomes papillaires, l'expression de SPARC dans les carcinomes papillaires de type 2 est plus importante que dans ceux de type 1, ce qui renforce cette hypothèse d'un rôle oncogénique.

Nous avons vu plus haut que SPARC peut avoir, selon le type de cancer un rôle oncogénique ou au contraire suppresseur de tumeur. Nos observations suggèrent que les carcinomes à cellules rénales appartiendraient à la catégorie des tumeurs « SPARC-oncogénique », comme les cancers du sein, les gliomes ou les mélanomes. Rappelons qu'il a été détecté une surexpression de SPARC dans les carcinomes canaux infiltrants et que cette surexpression de SPARC a été corrélée

à des hauts grades histologiques et à des stades cliniques avancés (Watkins, Douglas-Jones et al. 2005; Lien, Hsiao et al. 2007). L'expression de SPARC est supérieure dans les glioblastomes, les astrocytomes et les méningiomes par rapport au tissu cérébral normal et une expression élevée de SPARC a été corrélée à une survie plus courte (Huang, Colella et al. 2000; Rich, Hans et al. 2005). De même SPARC est surexprimée dans les mélanomes et son niveau d'expression est associé à une évolution métastatique et à une diminution de la survie (Massi, Franchi et al. 1999).

Les données de la littérature concernant l'expression de SPARC par immunohistochimie dans les cancers du rein humains sont peu nombreuses, se limitant à trois études (Porter, Sage et al. 1995; Sakai, Baba et al. 2001; Conant, Peng et al. 2011). Ces trois séries ne comportent qu'un petit nombre de cas, respectivement 3, 21 et 21 tumeurs soit un total de 45 cas, principalement des carcinomes à cellules claires (30 cas au total sur 45) ou des carcinomes sarcomatoïdes. De plus, la série de 3 cas n'étudiait pas particulièrement des tumeurs rénales, et ces 3 cas comptaient parmi une série de différents types tumeurs malignes. Malgré leurs limites, ces études suggéraient déjà une expression de SPARC dans les carcinomes rénaux.

La première étude par immunohistochimie a montré une expression de SPARC dans 3 cas de carcinomes rénaux sur les 3 cas étudiés (Porter, Sage et al. 1995). Une autre étude a suggéré un rôle de SPARC dans des lignées de carcinomes rénaux *in vitro* (Kato, Sakai et al. 1998). Deux études transcriptomiques ont montré une surexpression du gène *SPARC* dans des carcinomes à cellules claires : la première dans une série de 9 cas en comparaison à du tissu normal (Gieseg, Cody et al. 2002) et la deuxième dans 4 cas sur 8 (Amatschek, Koenig et al. 2004). La série de

Giesege *et al.* comprenait également deux cas de carcinomes chromophobes et un cas d'adénome métanéphrique dans lesquels cette surexpression n'était pas détectée, ce qui est en accord avec nos résultats .

Dans une série de 21 carcinomes rénaux contenant tous un contingent sarcomatoïde (dont 16 carcinomes rénaux à cellules claires), une surexpression cytoplasmique de la protéine SPARC était observée par immunohistochimie dans les contingents sarcomatoïdes par rapport au reste des contingents des tumeurs (Conant, Peng et al. 2011). De manière similaire, Sakai *et al.* (Sakai, Baba et al. 2001) ont observé dans une série de 21 carcinomes à cellules rénales une forte expression de SPARC dans les cellules tumorales de tous les cas de carcinomes sarcomatoïdes (8/8). SPARC n'était pas exprimée dans les cellules tumorales des carcinomes à cellules claires (0/11) mais exprimé exclusivement au niveau des cellules endothéliales tumorales et des fibroblastes tumoraux. Dans le carcinome papillaire et le carcinome chromophile de cette même série, aucune expression de SPARC n'était identifiée. Ces auteurs ont également étudié par méthode de transfert sur membrane (*Northern blot*) les niveaux d'expression d'ARNm dans 47 carcinomes rénaux (dont 36 carcinomes à cellules claires et 6 carcinomes sarcomatoïdes). Une surexpression de SPARC était détectée dans tous les carcinomes sarcomatoïdes (6/6), ainsi que dans une majorité des carcinomes à cellules claires (25/36), mais pas dans les autres types.

Il est à remarquer d'une part que les six cas de carcinomes sarcomatoïdes de cette série étaient possiblement des carcinomes à cellules claires. Ces deux études sont donc principalement informatives sur le statut de SPARC dans les carcinomes à cellules claires. Elles ne donnent pratiquement pas d'informations concernant les autres types de tumeurs rénales. D'autre part, elles sont également focalisées sur les

carcinomes sarcomatoïdes qui ne sont pas des tumeurs fréquentes parmi l'ensemble des carcinomes rénaux, et ne constituent pas un enjeu majeur dans l'étude des cancers du rein.

Nos résultats, obtenus sur la plus grande série de tumeurs rénales étudiée à ce jour, ont mis en évidence une expression de SPARC fréquente dans des tumeurs malignes de type histologiques divers. Nous démontrons de plus que l'expression de SPARC est observée dans des tumeurs sans contingent sarcomatoïde, ce qui ne limite pas le rôle tumoral de SPARC au phénomène de transition épithélio-mésenchymateuse, comme pouvait le suggérer les études préliminaires par d'autres auteurs. L'expression de SPARC semble être un phénomène précoce, présent dans des tumeurs de divers grades. L'action oncogénique de SPARC pourrait donc être associée à d'autres phénomènes que la transition épithélio-mésenchymateuse tels que la survie ou la prolifération cellulaire.

Nos observations soulèvent la question de la source d'expression de SPARC (cellules tumorales ou stromales/endothéliales)

## II. Intérêt de la méthodologie utilisée

Notre étude est la première à disposer des renseignements cliniques, immunohistochimiques et cytogénétiques complets, permettant d'affiner au mieux le diagnostic de chaque cas grâce à une approche multidisciplinaire.

La technique que nous avons utilisée, utilisant la détection immunohistochimique de SPARC sur des coupes tumorales comprenant également du tissu sain à titre de témoin interne, a l'avantage de permettre une analyse morphologique, et donc d'identifier la topographie de l'expression de SPARC dans la tumeur. Cette approche nous a permis de quantifier de manière distincte l'expression de SPARC dans les cellules tumorales et les cellules endothéliales tumorales et d'étudier séparément l'expression de SPARC dans le contingent tumoral et le contingent stromal, ce qui semble indispensable au vu des données de la littérature sur les mécanismes d'expression de SPARC. Le modèle des carcinomes rénaux, comportant très peu de stroma-réaction fibreuse se mêlant à la tumeur, permet une analyse précise de l'expression spécifique dans les cellules tumorales ou endothéliales. Dans l'étude de Conant *et al.*, (Conant, Peng et al. 2011) sur 21 carcinomes rénaux à contingent sarcomatoïde, l'expression de SPARC était quantifiée de manière globale sans différencier sa topographie (cellules tumorales ou stromales/endothéliales). Cette absence d'informations selon la topographie tissulaire ne permet pas de comparaisons précises des résultats de Conant *et al.* avec les résultats de notre étude et ceux de l'étude de Sakai *et al.* (Sakai, Baba et al. 2001).

Nous avons choisi d'interpréter et quantifier l'expression de SPARC, par la méthode de score d'Allred, méthode validée dans cancer du sein (Allred, Harvey et al. 1998). Ce score associe deux paramètres distincts : l'intensité, et la proportion de cellules marquées. La somme de ces deux paramètres permet d'obtenir un score total qui représente un outil quantitatif fin de l'appréciation de l'expression protéique. Conant

*et al.* (Conant, Peng et al. 2011) ont utilisé un score superposable à celui que nous avons choisi, intégrant les deux paramètres d'intensité et de proportion, alors que Sakai *et al.* (Sakai, Baba et al. 2001) ont quantifié ces deux paramètres sans les globaliser dans un score unique. Cela rend difficile la comparaison des résultats présentant l'expression de SPARC dans les tumeurs rénales.

Dans notre étude, nous avons renforcé la puissance de l'outil représenté par le score d'Allred par des calculs statistiques considérant séparément l'expression dans les cellules tumorales et dans les cellules endothéliales.

Ainsi, nos travaux associant pour la première fois une étude immunohistochimique distinguant l'expression dans les différentes composantes cellulaires des tumeurs, à un outil de mesure objectif et à des calculs statistiques, apportent une évaluation précise de l'expression de SPARC dans les tumeurs rénales.

Sakai *et al.* (Sakai, Baba et al. 2001) n'ont pas limité leurs recherches à l'expression de la protéine. Ces auteurs ont également quantifié l'ARNm de SPARC dans 47 carcinomes rénaux, dont 36 carcinomes à cellules claires par méthode de *northern blot*. Une surexpression a été observée dans tous les carcinomes sarcomatoïdes (6/6), et une majorité de carcinomes à cellules claires (25/36), alors qu'aucune expression n'est identifiée dans les autres sous-types. Ces résultats apportent un argument supplémentaire en faveur de l'implication de SPARC dans le cancer du rein. Ils indiquent qu'un des mécanismes de la surexpression protéique serait la transcription accrue de l'ARNm. La surexpression de l'ARNm de SPARC n'était pas corrélée au grade de Fuhrman, ni à l'évolution clinique (stade avancé T4, métastase à distance ou progression). Cela n'est pas en accord avec nos résultats, qui montrent au contraire une surexpression protéique de SPARC dans les cellules tumorales des tumeurs de grade de Fuhrman élevé. Il convient toutefois de



remarquer que les corrélations établies par Sakai *et al.* (Sakai, Baba et al. 2001) ne concernent que les carcinomes à cellules claires. D'autre part, l'analyse des ARNm extraits des tumeurs concerne indistinctement les cellules tumorales et les cellules stromales/endothéliales. Cela peut expliquer la discordance des résultats avec notre étude. Parmi la série de carcinomes à cellules claires avec surexpression de l'ARNm de SPARC, 9 cas ont aussi été étudiés par immunohistochimie. L'expression de la protéine SPARC n'était détectée uniquement que dans le compartiment stromal et non dans les cellules tumorales. Ainsi, l'analyse de l'ARNm serait probablement plus représentative du compartiment stromal. Dans cette hypothèse, les résultats de Sakai *et al.* seraient comparables aux nôtres, puisque nous n'avons pas observé de différence significative du score total moyen d'expression de SPARC endothélial selon le grade de Fuhrman. Seule l'expression de SPARC dans les cellules tumorales était corrélée au grade.

A l'inverse des résultats présentés par Sakai *et al.* (Sakai, Baba et al. 2001), nous avons détecté une expression nette de SPARC dans les cellules tumorales de plusieurs carcinomes à cellules claires (8/18 cas avec un score total > 4). Ces auteurs avaient d'autre part recherché un gradient d'expression de SPARC dans la portion périphérique ou invasive de la tumeur par rapport à sa zone centrale. Un marquage plus intense dans les cellules stromales de quelques carcinomes à cellules claires (6/11) était observé dans le front d'invasion par rapport au centre de la tumeur. Ce gradient n'était pas observé dans les carcinomes sarcomatoïdes. Les auteurs suggèrent que cette surexpression dans la zone périphérique pourrait induire un potentiel invasif tumoral par action paracrine de SPARC sécrété par les cellules stromales.

Dans certaines tumeurs de notre série, l'expression n'était pas homogène dans l'ensemble de la zone tumorale étudiée. Pour autant nous n'avons pas détecté de gradient d'expression spécifiquement dans la portion périphérique des tumeurs. Cependant, nous n'avons pas étudié la périphérie des tumeurs en totalité et cette question mériterait d'être d'avantage explorée.

### **III. Mécanismes et rôle de l'expression de SPARC dans les cancers du rein : hypothèses**

Nos résultats confirment les observations préliminaires décrites dans la littérature (Sakai, Baba et al. 2001; Gieseg, Cody et al. 2002; Amatschek, Koenig et al. 2004; Conant, Peng et al. 2011) : SPARC est une protéine impliquée dans les carcinomes rénaux, dans lesquels elle exerce une action oncogénique.

Il est généralement admis que la complexité des effets de SPARC est notamment liée à la source de son expression (cellules tumorales ou cellules stromales) (cf. introduction II.7). Dans le cancer du rein, ces deux sources sont principalement les cellules tumorales épithéliales et les cellules endothéliales. En effet, à la différence d'autres tumeurs épithéliales comme le cancer du sein ou du pancréas, la stroma-réaction fibreuse est peu présente. La composante de la sécrétion de SPARC fibroblastique n'est donc pas intriquée à celle des cellules tumorales. Nous avons donc étudié ces deux sources potentielles d'expression de SPARC de manière distincte. Nos résultats confirment également que les profils d'expression de SPARC tumorale ou stromaux étaient souvent différents dans une même tumeur. De manière générale, ces deux profils étaient également corrélés à des facteurs histopronostiques différents, ce qui montre leur rôle spécifique et distinct. De plus nous avons montré que ces profils d'expression dans les cellules tumorales et stromales étaient non seulement distincts mais non corrélés et indépendants. L'effet de SPARC sur la progression tumorale dans les carcinomes rénaux dépend donc bien de sa source d'expression.

## **1. Hypothèse concernant l'expression de SPARC dans les cellules épithéliales tumorales**

L'expression de SPARC des cellules tumorales est corrélée dans notre étude au phénotype malin puisqu'elle est absente dans les cellules épithéliales des tumeurs bénignes, et au grade de Fuhrman puisqu'elle est plus marquée dans les tumeurs de grade de Fuhrman élevé.

Il a été montré que la prolifération cellulaire était particulièrement accrue dans les tumeurs malignes de grade de Fuhrman élevé (Cheville, Zincke et al. 2002). Cette prolifération peut être induite par la voie PI3K-AKT (cf. introduction I.5.3). Dans les gliomes, Shi *et al.* (Shi, Bao et al. 2004) ont décrit que l'expression de SPARC était associée à une activation d'AKT. Dans les mélanomes, il a été observé que SPARC activait la voie AKT, ce qui entraîne une phosphorylation de MDM2 inactivant P53 (Fenouille, Puissant et al. 2011). Ce mécanisme expliquerait pourquoi l'inactivation de SPARC induit un arrêt du cycle cellulaire dans les cellules de mélanomes.

La voie oncogénique AKT serait donc une cible potentielle de SPARC. Cette voie, qui agit sur la prolifération cellulaire a pour effecteur d'aval mTor.

Nous émettons l'hypothèse que SPARC pourrait, à travers la voie AKT, être un des autres activateurs de mTor, dont le rôle est bien connu dans la carcinogénèse rénale (cf. introduction). Les cellules tumorales exprimant SPARC auraient un avantage prolifératif et de survie à travers la voie AKT-mTor, ce qui induirait une malignité accrue et une élévation du grade de Fuhrman.

## **2. Hypothèse concernant l'expression de SPARC dans les cellules endothéliales**

Nous avons observé que l'expression de SPARC dans les cellules endothéliales était corrélée à la présence d'embolies vasculaires.

Il a été décrit que SPARC avait une action sur la perméabilité vasculaire dans la dissémination métastatique de mélanomes en ouvrant les jonctions inter-cellulaires des cellules endothéliales. Sparc se lie avec le récepteur V-CAM1 ou bien il agit dans la réorganisation du cytosquelette d'actine médiée par la MAP kinase p38 (Tichet, Fenouille et al.).

Les vaisseaux des carcinomes rénaux exprimant SPARC pourraient être plus perméables, ce qui participerait au phénomène d'initiation métastatique.

Nous avons montré que l'expression endothéliale de SPARC était plus élevée dans les carcinomes à cellules claires par rapport aux carcinomes papillaires et aux carcinomes chromophobes. Ainsi la surexpression endothéliale de SPARC était particulièrement corrélée aux sous-types des carcinomes à cellules claires.

Comme nous l'avons rappelé (cf. introduction), dans les carcinomes à cellules claires, l'inactivation de *VHL* est un événement précoce dans l'oncogenèse. La perturbation de la voie VHL/HIF/VEGF induisant prolifération et angiogenèse est caractéristique à ce sous-type. On peut supposer que les mécanismes oncogéniques différents impliqués dans chaque sous-type pourraient avoir des influences différentes sur l'expression endothéliale de SPARC. Cependant, il n'existe que peu de données dans la littérature concernant l'interaction potentielle entre la voie VHL et SPARC. Maina *et al.* (Maina, Morris et al. 2005) ont montré, par analyses transcriptomiques, que *SPARC* était un gène cible de pVHL, car il était surexprimé dans des lignées de cellules de carcinomes à cellules claires *VHL*

sauvage par rapport aux lignées avec inactivation de *VHL*. Ces auteurs ont également montré par PCR en temps réel que *SPARC* n'était pas surexprimé en conditions hypoxiques et qu'il était donc indépendant de HIF. A l'inverse, plus récemment, Seno *et al.* (Seno, Harada et al. 2009), ont déterminé dans des gliomes en utilisant la technique de *western blot* que les protéines HIF1 $\alpha$  et SPARC étaient surexprimées en conditions hypoxiques par rapport à des conditions normoxiques. Cette surexpression était absente après transfection avec un siARN réprimant HIF1 $\alpha$ . Ces résultats en faveur d'une régulation de SPARC par HIF1 $\alpha$  induit par l'hypoxie rejoignent notre hypothèse. Nous avons observé, dans deux cas de carcinomes à cellules claires de notre série (cas n°34 et 37), une expression de SPARC renforcée en périphérie de zones de nécrose, qui pourraient correspondre à des zones hypoxiques dans lesquelles HIF1 $\alpha$  pourrait être d'autant plus stabilisé. Les mécanismes exacts du lien entre SPARC et VLH semble donc être encore à élucider.

### 3. Hypothèse concernant les caractéristiques cytogénétiques

Le gène codant pour la protéine SPARC est localisé sur le bras long du chromosome 5. Cette région est très fréquemment en excès dans les carcinomes à cellules claires, mais aussi dans d'autres types de cancers du rein comme les cancers papillaires de type 2, les carcinomes à translocation Xp11 et les carcinomes inclassables (Marsaud, Dadone et al.). Nous avons donc cherché, ce qui n'avait jamais été fait auparavant, si une corrélation existait entre un gain du locus du gène *SPARC* et l'expression de la protéine. Par exemple, dans les carcinomes papillaires, Albiges *et al.* ont observé en utilisant des puces à ARN une corrélation entre le nombre de copies du gène *MET* et l'expression génique (Albiges, Guegan et al. 2014).

Notre série de tumeurs ayant été caractérisée sur le plan génétique dans le cadre du protocole de prise en charge des tumeurs rénales du CHU de Nice, nous avons établi une comparaison entre nombre de copies du gène *SPARC* et l'expression protéique.

Nous avons en effet observé un lien entre le statut chromosomique du locus *SPARC* et l'expression protéique : dans les cas possédant un gain de la région de *SPARC*, le score total moyen d'expression dans les cellules tumorales et dans les cellules endothéliales était supérieur à celui des tumeurs sans gain de *SPARC*, mais cette différence était significative seulement au niveau des cellules endothéliales. Cependant il est possible que notre effectif de tumeurs avec gain de *SPARC* ait été trop faible pour établir des corrélations statistiquement significatives. On peut aussi supposer que la régulation de l'expression de *SPARC*, notamment dans les cellules tumorales, dépend de mécanismes divers autres que la présence de nombre de copies du gène, par exemple des phénomènes post-transcriptionnels.

#### **IV. Applications**

Nos résultats ne sont pas en faveur de l'utilisation de l'expression de SPARC comme outil diagnostique applicable en pratique de routine. Les différences des scores d'expression observées entre les sous-types histologiques, bien que parfois statistiquement significatives, ne sont pas assez nettes pour orienter précisément vers un sous-type plutôt qu'un autre lors de l'établissement du diagnostic histologique. Une des applications pratiques potentielles serait la distinction entre les carcinomes chromophobes et les oncocytomes, qui peuvent prendre des aspects morphologiques et cytologiques similaires et qui peuvent poser un problème diagnostique. Nous avons mis en évidence une surexpression de SPARC dans les tumeurs malignes par rapport aux tumeurs bénignes en général, mais cette différence n'était pas significative précisément entre le sous-type des carcinomes chromophobes et les oncocytomes. Pourtant, aucun cas d'oncocytome de notre série ne montrait d'expression de SPARC au niveau de ses cellules tumorales. Cet écueil est probablement dû au faible effectif de ces deux sous-groupes (7 carcinomes chromophobes et 5 oncocytomes). Cette piste doit donc être confirmée sur une plus large série.

A l'inverse, l'expression de SPARC semble être un outil pronostique prometteur, corrélé à divers facteurs pronostiques péjoratifs (phénotype malin, grade de Fuhrman élevé, présence d'emboles). De plus, ces profils d'expression semblent reposer sur des hypothèses physiopathologiques plausibles.



## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Nous avons étudié l'expression de SPARC dans la plus large série de tumeurs rénales à ce jour, et nous avons observé son expression fréquente dans de nombreuses tumeurs malignes de type histologiques divers. Nos résultats suggèrent un rôle oncogénique de SPARC dans les carcinomes à cellules rénales puisque son expression était corrélée au phénotype malin, à la présence d'embolies vasculaires, au grade de Fuhrman à certains types agressifs. En considérant séparément l'expression de SPARC dans les cellules tumorales et dans les cellules endothéliales et en montrant que ces deux profils d'expression étaient distincts et non corrélés, nous émettons l'hypothèse que la complexité des effets de SPARC sur l'oncogénèse est due à sa source d'expression.

Ces investigations sont à poursuivre sur une plus large série avec des effectifs supérieurs pour chaque sous-type histologique. Ensuite il serait nécessaire de corréler l'expression de SPARC aux données d'évolution clinique afin de déterminer s'il constitue un facteur pronostique indépendant. Il serait également intéressant, comme cela a été fait dans d'autres modèles tumoraux, de poursuivre des études *in vitro* et *in vivo* afin d'approfondir les connaissances quant à l'implication de SPARC dans l'oncogénèse des carcinomes rénaux. Enfin, SPARC étant globalement surexprimée dans les carcinomes rénaux et semblant avoir un rôle oncogénique, cette protéine pourrait être une cible thérapeutique. Dans cette optique il serait intéressant d'étudier *in vitro* et *in vivo* les effets d'une inhibition de SPARC. Cela serait particulièrement utile à l'ère des thérapies ciblées.

## Annexes

### Annexe 1 : Classification OMS 2004

#### **Carcinome rénal familial**

#### **Tumeurs à cellules rénales**

Bénignes

Adénome papillaire

Oncocytome

Malignes

Carcinome à cellules claires

Carcinome kystique multiloculaire à cellules claires

Carcinome papillaire du rein

Carcinome chromophile du rein

Carcinome des tubes collecteurs de Bellini

Carcinome médullaire du rein

Carcinome avec translocation Xp11

Carcinome associé au neuroblastome

Carcinome fusiforme tubuleux et mucineux

Carcinome inclassé

#### **Tumeurs métanéphriques**

Adénome métanéphrique

Adénofibrome métanéphrique

Tumeur stromale métanéphrique

#### **Tumeurs mixtes épithéliales et mésenchymateuses**

Néphrome kystique

Tumeur mixte épithéliale et stromale

Sarcome synovial

#### **Tumeurs néphroblastiques**

Restes néphrogéniques

Néphroblastome

Néphroblastome kystique partiellement différencié

#### **Tumeurs neuro-endocrines**

Tumeur carcinoïde

Carcinome neuroendocrine

Tumeur primitive neuroectodermique

Neuroblastome

Phéochromocytome

#### **Autres tumeurs**

Tumeurs mésenchymateuses

Tumeurs hématopoïétiques et lymphoïdes

Tumeurs germinales

Tumeurs métastatiques

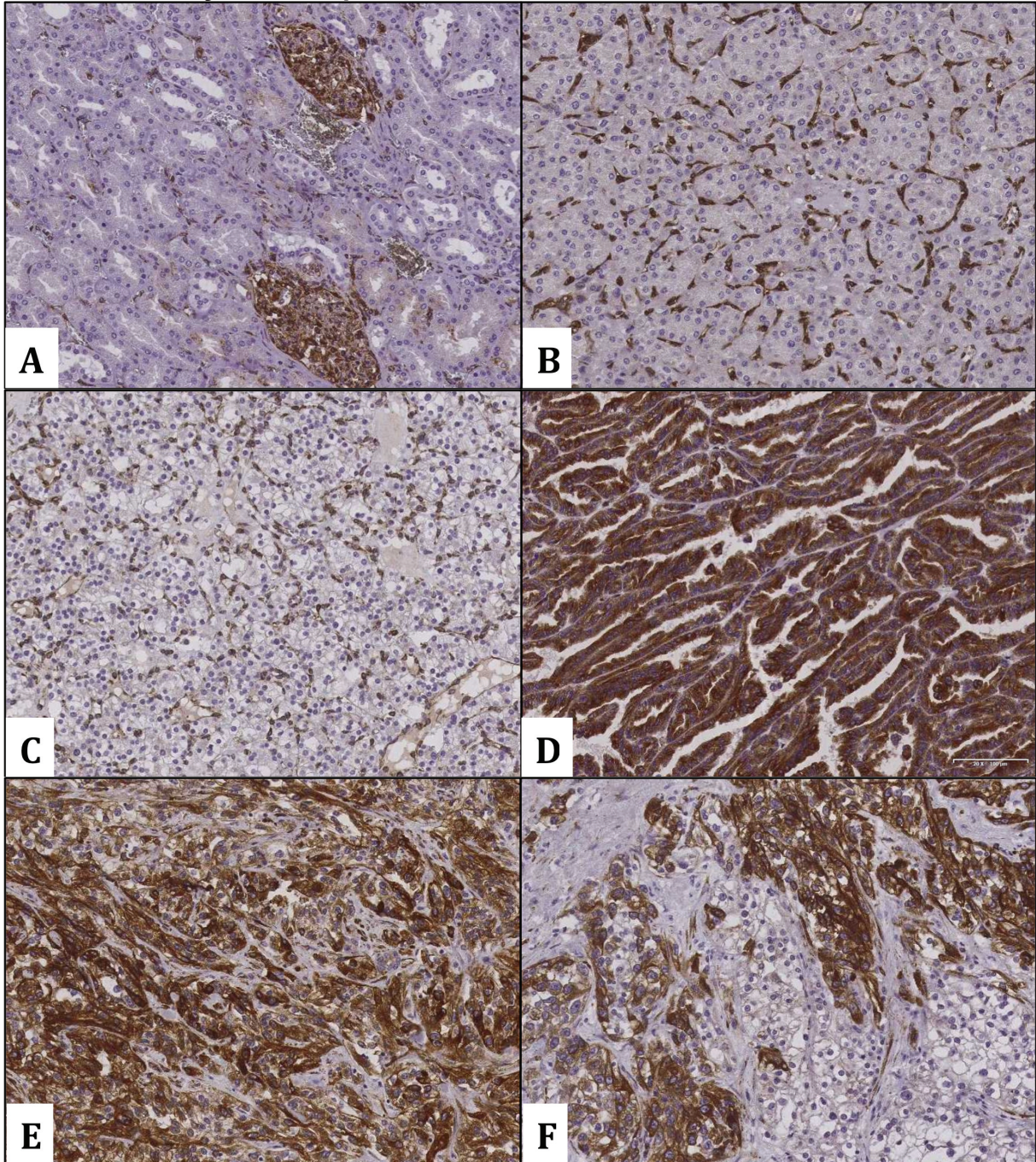
## Annexe 2 : Récapitulatif pour chaque cas des caractéristiques clinico-pathologiques et des scores d'expression de SPARC

n° cas	histo	sexe	âge chir	type chir	emboles	taille T	TA envahi	pTNM	Fuhrman	SI tum	SP tum	ST tum	SI end	SP end	ST end
1	cpcc	M	79	partielle	non	2,7	non	pT1a	2	0	0	0	3	5	8
2	pap 1	M	78	totale	non	3,5	non	pT1a	3	3	5	8	0	0	0
3	chromo	M	75	totale	oui	6	oui	pT3a	NA	0	0	0	1	4	5
4	inclass	M	58	totale	oui	9	oui	pT3a	4	0	0	0	3	5	8
5	crcc	M	66	totale	non	4,5	non	pT2a	3	2	3	5	2	5	7
6	chromo	M	76	totale	non	6	non	pT1b	NA	0	0	0	2	5	7
7	pap 2	F	30	totale	non	4,5	non	pT1b	4	3	5	8	2	5	7
8	crcc	F	65	totale	non	3,6	non	pT1a	2	0	0	0	2	5	7
9	pap 2	F	83	totale	non	5	oui	pT3a	3	2	4	6	2	5	7
10	pap 2	M	68	partielle	non	7	non	pT1b	3	1	3	4	1	3	4
11	pap 2	M	68	totale	non	3,5	oui	pT3a	4	0	0	0	2	4	6
12	pap 2	M	51	totale	non	7,5	oui	pT3a	4	3	2	5	2	4	6
13	pap 2	M	51	totale	oui	5,5	oui	pT3b	3	0	0	0	2	4	6
14	pap 2	M	50	partielle	non	5	non	pT1b	3	3	2	5	2	3	5
15	pap 2	M	67	totale	non	15	oui	pT3bN2	4	3	2	5	2	3	5
16	pap 2	F	87	totale	non	7,5	oui	pT3a	4	3	4	7	2	4	6
17	pap 2	F	78	totale	oui	27	oui	pT3b	3	2	3	5	3	4	7
18	Ad méta	F	76	totale	non	5	non	NA	NA	0	0	0	1	2	3
19	pap 1	F	51	totale	non	7,5	non	pT1b	2	0	0	0	1	2	3
20	pap 1	F	55	totale	non	5	non	pT1b	2	0	0	0	1	2	3
21	crcc	M	81	totale	non	5,7	oui	pT3aM1	3	0	0	0	3	5	8
22	crcc	F	61	totale	oui	8	non	pT2	3	0	0	0	3	5	8
23	crcc	M	77	totale	non	4,5	oui	pT3a	2	0	0	0	3	5	8
24	crcc	M	60	totale	oui	8	oui	pT3a	3	3	2	5	3	5	8
25	cftm	F	76	partielle	non	6,5	non	pT1b	2	0	0	0	1	2	3
26	pap 1	M	59	partielle	non	3,5	non	pT1a	3	0	0	0	2	3	5
27	pap 1	M	65	partielle	oui	3	oui	pT3a	3	0	4	4	0	0	0
28	pap 1	M	64	totale	non	2,2	non	pT1a	2	1	5	6	0	0	0
29	pap 1	M	61	totale	oui	9,5	non	pT2a	3	2	4	6	2	5	7
30	chromo	M	42	partielle	non	3	non	pT1a	NA	3	0	3	2	4	6
31	chromo	M	76	totale	non	3,5	oui	pT3a	NA	0	0	0	3	5	8
32	pap 1	F	87	totale	non	6,5	oui	pT3a	3	0	0	0	3	2	5
33	chromo	F	45	partielle	non	2	non	pT1a	NA	2	0	2	2	3	5
34	crcc	M	84	totale	oui	13,5	oui	pT3a	4	2	3	5	3	5	8
35	crcc	M	59	totale	non	7,5	oui	pT3a	2	0	0	0	3	5	8
36	crcc	M	53	totale	non	5,5	non	pT1b	3	3	3	6	3	5	8
37	crcc	M	48	totale	non	5	non	pT1bM1	4	3	5	8	3	5	8
38	crcc	F	70	totale	non	4,2	non	pT1b	2	1	2	3	3	5	8
39	crcc	F	66	partielle	non	4,3	non	pT1b	2	0	0	0	3	5	8
40	crcc	M	68	totale	oui	12	oui	pT3a	3	3	2	5	3	5	8
41	cpcc	M	41	totale	non	5	non	pT1b	2	0	0	0	3	4	7
42	crcc	M	67	totale	non	4	non	pT1a	2	0	0	0	3	5	8
43	pap 1	M	34	totale	non	0,6	non	pT1a	2	0	0	0	0	0	0
44	crcc	M	51	totale	oui	5,5	oui	pT3b	4	2	5	7	3	5	8
45	crcc	M	72	totale	oui	2,5	non	pT3a	4	3	4	7	3	5	8

n° cas	histo	sexe	âge chir	type chir	emboles	taille T	TA envahi	pTNM	Fuhrman	SI tum	SP tum	ST tum	SI end	SP end	ST end
46	crcc	M	64	totale	non	3,5	non	pT1a	2	0	0	0	1	4	5
47	inclass	M	68	totale	oui	4,5	non	pT3a	4	2	4	6	3	5	8
48	onco	F	58	partielle	non	3,5	non	NA	NA	0	0	0	2	5	7
49	onco	F	69	totale	non	3,5	non	NA	NA	0	0	0	2	5	7
50	onco	M	66	partielle	non	2,5	non	NA	NA	0	0	0	2	5	7
51	onco	F	80	partielle	non	1,5	non	NA	NA	0	0	0	2	4	6
52	crcc	M	74	partielle	non	2,4	non	pT1a	2	1	3	4	2	5	7
53	pap 1	M	54	totale	oui	11	oui	pT3a	2	0	0	0	1	3	4
54	cpcc	M	69	totale	oui	6,5	oui	pT3a	2	0	0	0	2	5	7
55	pap	F	68	totale	oui	10,5	oui	pT3b	4	3	5	8	3	5	8
56	cpcc	M	65	partielle	non	6	non	pT1b	2	0	0	0	2	4	6
57	cpcc	F	46	totale	non	3,5	non	pT1a	3	0	0	0	2	4	6
58	onco	M	74	partielle	non	3,5	oui	NA	NA	0	0	0	2	5	7
59	chromo	M	76	totale	non	4,3	non	pT1b	NA	0	0	0	1	3	4
60	chromo	ND	ND	totale	non	2,3	non	pT1a	NA	2	2	4	2	4	6

Histo : type histologique, âge chir : age du patient lors de la chirurgie, chir : chirurgie, T : tumeur, TA : tissu adipeux, SI tum : score d'intensité dans les cellules tumorales, SP tum : score de proportion dans les cellules tumorales, ST tum : score total dans les cellules tumorales, SI end : score d'intensité dans les cellules endothéliales, SP end : score de proportion dans les cellules endothéliales, ST end : score total dans les cellules endothéliales, Ad méta : adénome métanéphrique, cpcc : carcinome papillaire à cellules claires, pap 1 : carcinome papillaire de type 1, chromo : carcinome chromophile, inclass : carcinome inclassable, pap 2 : carcinome papillaire de type 2, crcc : carcinome rénal à cellules claires, cftm : carcinome fusiforme tubuleux et mucineux, onco : oncocytome, M : sexe masculin, F : sexe féminin, ND : données non disponibles, NA : non applicable.

### Annexe 3 : Analyse de l'expression IHC de SPARC



Tissu rénal sain ; absence de marquage des cellules épithéliales et marquage des podocytes des capillaires glomérulaires qui constituent le témoin positif (x200) (A). Oncocytome (cas n°2) : absence de marquage des cellules épithéliales tumorales, marquage des cellules endothéliales (x200) (B). Carcinome à cellules claires de grade de Fuhrman 2 (cas n°41) ; absence de marquage des cellules épithéliales tumorales, marquage des cellules endothéliales (x100) (C). Carcinome papillaire de type 1 (cas n°19) : marquage des cellules épithéliales tumorales, absence de marquage des cellules endothéliales des axes des papilles (x200) (D). Carcinome à cellules claires de grade de Fuhrman 4 (cas n°49) : marquage des cellules épithéliales tumorales et des cellules endothéliales. Il est à noter une hétérogénéité de marquage avec une proportion des cellules épithéliales marquées supérieure dans les territoires de grade plus élevé (x200) (E) que dans les territoires de grade plus faible (x100) (F).

## BIBLIOGRAPHIE

- Alachkar, H., R. Santhanam, et al. (2014). "SPARC promotes leukemic cell growth and predicts acute myeloid leukemia outcome." *J Clin Invest* **124**(4): 1512-24.
- Albiges, L., J. Guegan, et al. (2014). "MET Is a Potential Target across All Papillary Renal Cell Carcinomas: Result from a Large Molecular Study of pRCC with CGH Array and Matching Gene Expression Array." *Clin Cancer Res* **20**(13): 3411-21.
- Allred, D. C. (2008). "Estrogen and progesterone receptors as predictive markers for breast cancer and DCIS." <http://www.asbd.org/images/D3S9%20-%20Craig%20Allred.pdf> (accessed November 9, 2009).
- Allred, D. C., J. M. Harvey, et al. (1998). "Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis." *Mod Pathol* **11**(2): 155-68.
- Amatschek, S., U. Koenig, et al. (2004). "Tissue-wide expression profiling using cDNA subtraction and microarrays to identify tumor-specific genes." *Cancer Res* **64**(3): 844-56.
- Amin, M. B., P. Tamboli, et al. (2002). "Prognostic impact of histologic subtyping of adult renal epithelial neoplasms: an experience of 405 cases." *Am J Surg Pathol* **26**(3): 281-91.
- Arnold, S., E. Mira, et al. (2008). "Forced expression of MMP9 rescues the loss of angiogenesis and abrogates metastasis of pancreatic tumors triggered by the absence of host SPARC." *Exp Biol Med (Maywood)* **233**(7): 860-73.
- Arnold, S. A. and R. A. Brekken (2009). "SPARC: a matricellular regulator of tumorigenesis." *J Cell Commun Signal* **3**(3-4): 255-73.
- Atkins, M., M. Regan, et al. (2005). "Carbonic anhydrase IX expression predicts outcome of interleukin 2 therapy for renal cancer." *Clin Cancer Res* **11**(10): 3714-21.
- Barth, P. J., R. Moll, et al. (2005). "Stromal remodeling and SPARC (secreted protein acid rich in cysteine) expression in invasive ductal carcinomas of the breast." *Virchows Arch* **446**(5): 532-6.
- Bierie, B. and H. L. Moses (2006). "Tumour microenvironment: TGFbeta: the molecular Jekyll and Hyde of cancer." *Nat Rev Cancer* **6**(7): 506-20.
- Billemont, B., J. B. Meric, et al. (2007). "[Angiogenesis and renal cell carcinoma]." *Bull Cancer* **94 Spec No**: S232-40.
- Boccaccio, C. and P. M. Comoglio (2006). "Invasive growth: a MET-driven genetic programme for cancer and stem cells." *Nat Rev Cancer* **6**(8): 637-45.
- Bradshaw, A. D. (2009). "The role of SPARC in extracellular matrix assembly." *J Cell Commun Signal* **3**(3-4): 239-46.
- Briggs, J., S. Chamboredon, et al. (2002). "Transcriptional upregulation of SPARC, in response to c-Jun overexpression, contributes to increased motility and invasion of MCF7 breast cancer cells." *Oncogene* **21**(46): 7077-91.
- Chandrasekhar, S., A. K. Harvey, et al. (1994). "Osteonectin/SPARC is a product of articular chondrocytes/cartilage and is regulated by cytokines and growth factors." *Biochim Biophys Acta* **1221**(1): 7-14.
- Cheetham, S., M. J. Tang, et al. (2008). "SPARC promoter hypermethylation in colorectal cancers can be reversed by 5-Aza-2'deoxyctidine to increase SPARC expression and improve therapy response." *Br J Cancer* **98**(11): 1810-9.
- Chen, J., D. Shi, et al. (2012). "Targeting SPARC by lentivirus-mediated RNA interference inhibits cervical cancer cell growth and metastasis." *BMC Cancer* **12**: 464.
- Chetty, C., R. Dontula, et al. (2012). "SPARC expression induces cell cycle arrest via STAT3 signaling pathway in medulloblastoma cells." *Biochem Biophys Res Commun* **417**(2): 874-9.
- Chevillat, J. C., H. Zincke, et al. (2002). "pT1 clear cell renal cell carcinoma: a study of the association between MIB-1 proliferative activity and pathologic features and cancer specific survival." *Cancer* **94**(8): 2180-4.
- Chlenski, A., S. Liu, et al. (2004). "Neuroblastoma angiogenesis is inhibited with a folded synthetic molecule corresponding to the epidermal growth factor-like module of the follistatin domain of SPARC." *Cancer Res* **64**(20): 7420-5.
- Chlenski, A., S. Liu, et al. (2002). "SPARC is a key Schwannian-derived inhibitor controlling neuroblastoma tumor angiogenesis." *Cancer Res* **62**(24): 7357-63.
- Conant, J. L., Z. Peng, et al. (2011). "Sarcomatoid renal cell carcinoma is an example of epithelial-mesenchymal transition." *J Clin Pathol* **64**(12): 1088-92.
- Corgna, E., M. Betti, et al. (2007). "Renal cancer." *Crit Rev Oncol Hematol* **64**(3): 247-62.

- DiMartino, J. F., N. J. Lacayo, et al. (2006). "Low or absent SPARC expression in acute myeloid leukemia with MLL rearrangements is associated with sensitivity to growth inhibition by exogenous SPARC protein." *Leukemia* **20**(3): 426-32.
- Dziadek, M., M. Paulsson, et al. (1986). "Purification and tissue distribution of a small protein (BM-40) extracted from a basement membrane tumor." *Eur J Biochem* **161**(2): 455-64.
- Eble, J. N., G. Sauter, et al. (2004). "Pathology and genetics of tumors of the urinary system and male genital organs." *IARC*.
- Edeline, J., C. Vigneau, et al. (2010). "[Signalling pathways in renal-cell carcinoma: from the molecular biology to the future therapy]." *Bull Cancer* **97**: 5-15.
- Everitt, J. I., C. L. Walker, et al. (1997). "Altered expression of transforming growth factor-alpha: an early event in renal cell carcinoma development." *Mol Carcinog* **19**(3): 213-9.
- Fenouille, N., A. Puissant, et al. (2010). "Persistent activation of the Fyn/ERK kinase signaling axis mediates imatinib resistance in chronic myelogenous leukemia cells through upregulation of intracellular SPARC." *Cancer Res* **70**(23): 9659-70.
- Fenouille, N., A. Puissant, et al. (2011). "SPARC functions as an anti-stress factor by inactivating p53 through Akt-mediated MDM2 phosphorylation to promote melanoma cell survival." *Oncogene* **30**(49): 4887-900.
- Fenouille, N., M. Tichet, et al. (2012). "The epithelial-mesenchymal transition (EMT) regulatory factor SLUG (SNAI2) is a downstream target of SPARC and AKT in promoting melanoma cell invasion." *PLoS One* **7**(7): e40378.
- Ferrara, N., H. P. Gerber, et al. (2003). "The biology of VEGF and its receptors." *Nat Med* **9**(6): 669-76.
- Francki, A. and E. H. Sage (2001). "SPARC and the kidney glomerulus: matricellular proteins exhibit diverse functions under normal and pathological conditions." *Trends Cardiovasc Med* **11**(1): 32-7.
- Fuhrman, S. A., L. C. Lasky, et al. (1982). "Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma." *Am J Surg Pathol* **6**(7): 655-63.
- Funakoshi, T., C. H. Lee, et al. (2014). "A systematic review of predictive and prognostic biomarkers for VEGF-targeted therapy in renal cell carcinoma." *Cancer Treat Rev* **40**(4): 533-47.
- Gieseg, M. A., T. Cody, et al. (2002). "Expression profiling of human renal carcinomas with functional taxonomic analysis." *BMC Bioinformatics* **3**: 26.
- Gilmour, D. T., G. J. Lyon, et al. (1998). "Mice deficient for the secreted glycoprotein SPARC/osteonectin/BM40 develop normally but show severe age-onset cataract formation and disruption of the lens." *EMBO J* **17**(7): 1860-70.
- Gobbo, S., J. N. Eble, et al. (2008). "Clear cell papillary renal cell carcinoma: a distinct histopathologic and molecular genetic entity." *Am J Surg Pathol* **32**(8): 1239-45.
- Golembieski, W. A., S. L. Thomas, et al. (2008). "HSP27 mediates SPARC-induced changes in glioma morphology, migration, and invasion." *Glia* **56**(10): 1061-75.
- Gradishar, W. J., S. Tjulandin, et al. (2005). "Phase III trial of nanoparticle albumin-bound paclitaxel compared with polyethylated castor oil-based paclitaxel in women with breast cancer." *J Clin Oncol* **23**(31): 7794-803.
- Huang, H., S. Colella, et al. (2000). "Gene expression profiling of low-grade diffuse astrocytomas by cDNA arrays." *Cancer Res* **60**(24): 6868-74.
- Hunt, J. D., O. L. van der Hel, et al. (2005). "Renal cell carcinoma in relation to cigarette smoking: meta-analysis of 24 studies." *Int J Cancer* **114**(1): 101-8.
- Iakovlev, V. V., M. Gabriel, et al. (2012). "Microvascular density as an independent predictor of clinical outcome in renal cell carcinoma: an automated image analysis study." *Lab Invest* **92**(1): 46-56.
- Ikuta, Y., T. Nakatsura, et al. (2005). "Highly sensitive detection of melanoma at an early stage based on the increased serum secreted protein acidic and rich in cysteine and glypican-3 levels." *Clin Cancer Res* **11**(22): 8079-88.
- Infante, J. R., H. Matsubayashi, et al. (2007). "Peritumoral fibroblast SPARC expression and patient outcome with resectable pancreatic adenocarcinoma." *J Clin Oncol* **25**(3): 319-25.
- Inoue, M., S. Senju, et al. (2010). "Identification of SPARC as a candidate target antigen for immunotherapy of various cancers." *Int J Cancer* **127**(6): 1393-403.
- Kelly, K. A., J. R. Allport, et al. (2007). "SPARC is a VCAM-1 counter-ligand that mediates leukocyte transmigration." *J Leukoc Biol* **81**(3): 748-56.
- Khoo, S. K., M. Bradley, et al. (2001). "Birt-Hogg-Dube syndrome: mapping of a novel hereditary neoplasia gene to chromosome 17p12-q11.2." *Oncogene* **20**(37): 5239-42.

- Klatte, T., A. J. Pantuck, et al. (2007). "Prognostic factors for renal cell carcinoma with tumor thrombus extension." *J Urol* **178**(4 Pt 1): 1189-95; discussion 1195.
- Kondo, K. and W. G. Kaelin, Jr. (2001). "The von Hippel-Lindau tumor suppressor gene." *Exp Cell Res* **264**(1): 117-25.
- Kos, K. and J. P. Wilding (2010). "SPARC: a key player in the pathologies associated with obesity and diabetes." *Nat Rev Endocrinol* **6**(4): 225-35.
- Koukourakis, M. I., A. Giatromanolaki, et al. (2003). "Enhanced expression of SPARC/osteonectin in the tumor-associated stroma of non-small cell lung cancer is correlated with markers of hypoxia/acidity and with poor prognosis of patients." *Cancer Res* **63**(17): 5376-80.
- Kupprion, C., K. Motamed, et al. (1998). "SPARC (BM-40, osteonectin) inhibits the mitogenic effect of vascular endothelial growth factor on microvascular endothelial cells." *J Biol Chem* **273**(45): 29635-40.
- Kzhyshkowska, J., G. Workman, et al. (2006). "Novel function of alternatively activated macrophages: stabilin-1-mediated clearance of SPARC." *J Immunol* **176**(10): 5825-32.
- Lane, T. F. and E. H. Sage (1990). "Functional mapping of SPARC: peptides from two distinct Ca<sup>2+</sup>-binding sites modulate cell shape." *J Cell Biol* **111**(6 Pt 2): 3065-76.
- Lane, T. F. and E. H. Sage (1994). "The biology of SPARC, a protein that modulates cell-matrix interactions." *FASEB J* **8**(2): 163-73.
- Lau, C. P., R. T. Poon, et al. (2006). "SPARC and Hevin expression correlate with tumour angiogenesis in hepatocellular carcinoma." *J Pathol* **210**(4): 459-68.
- Ledda, M. F., S. Adris, et al. (1997). "Suppression of SPARC expression by antisense RNA abrogates the tumorigenicity of human melanoma cells." *Nat Med* **3**(2): 171-6.
- Levi, F., J. Ferlay, et al. (2008). "The changing pattern of kidney cancer incidence and mortality in Europe." *BJU Int* **101**(8): 949-58.
- Lien, H. C., Y. H. Hsiao, et al. (2007). "Molecular signatures of metaplastic carcinoma of the breast by large-scale transcriptional profiling: identification of genes potentially related to epithelial-mesenchymal transition." *Oncogene* **26**(57): 7859-71.
- Ljungberg, B., S. C. Campbell, et al. (2011). "The epidemiology of renal cell carcinoma." *Eur Urol* **60**(4): 615-21.
- Maina, E. N., M. R. Morris, et al. (2005). "Identification of novel VHL target genes and relationship to hypoxic response pathways." *Oncogene* **24**(28): 4549-58.
- Marsaud, A., B. Dadone, et al. "Dismantling papillary renal cell carcinoma classification: the heterogeneity of genetic profiles suggests several independent diseases." *Clin Cancer Res (en cours de révision)*.
- Massi, D., A. Franchi, et al. (1999). "Osteonectin expression correlates with clinical outcome in thin cutaneous malignant melanomas." *Hum Pathol* **30**(3): 339-44.
- Mekhail, T. M., R. M. Abou-Jawde, et al. (2005). "Validation and extension of the Memorial Sloan-Kettering prognostic factors model for survival in patients with previously untreated metastatic renal cell carcinoma." *J Clin Oncol* **23**(4): 832-41.
- Minn, A. J., G. P. Gupta, et al. (2005). "Genes that mediate breast cancer metastasis to lung." *Nature* **436**(7050): 518-24.
- Mrstik, C., J. Salamon, et al. (1992). "Microscopic venous infiltration as predictor of relapse in renal cell carcinoma." *J Urol* **148**(2 Pt 1): 271-4.
- Nagaraju, G. P. and D. Sharma (2011). "Anti-cancer role of SPARC, an inhibitor of adipogenesis." *Cancer Treat Rev* **37**(7): 559-66.
- Palapattu, G. S., A. J. Pantuck, et al. (2003). "Collecting system invasion in renal cell carcinoma: impact on prognosis and future staging strategies." *J Urol* **170**(3): 768-72; discussion 772.
- Paradis, V., S. Ferlicot, et al. (1999). "CD44 is an independent prognostic factor in conventional renal cell carcinomas." *J Urol* **161**(6): 1984-7.
- Patard, J. J., H. Baumert, et al. (2013). "[CCAFU Recommendations 2013: Renal cancer]." *Prog Urol* **23 Suppl 2**: S177-204.
- Podhajcer, O. L., L. G. Benedetti, et al. (2008). "The role of the matricellular protein SPARC in the dynamic interaction between the tumor and the host." *Cancer Metastasis Rev* **27**(4): 691-705.
- Porter, P. L., E. H. Sage, et al. (1995). "Distribution of SPARC in normal and neoplastic human tissue." *J Histochem Cytochem* **43**(8): 791-800.
- Prada, F., L. G. Benedetti, et al. (2007). "SPARC endogenous level, rather than fibroblast-produced SPARC or stroma reorganization induced by SPARC, is responsible for melanoma cell growth." *J Invest Dermatol* **127**(11): 2618-28.



- Raines, E. W., T. F. Lane, et al. (1992). "The extracellular glycoprotein SPARC interacts with platelet-derived growth factor (PDGF)-AB and -BB and inhibits the binding of PDGF to its receptors." Proc Natl Acad Sci U S A **89**(4): 1281-5.
- Rebillard, X., P. Grosclaude, et al. (2013). "[Incidence and mortality of urological cancers in 2012 in France]." Prog Urol **23 Suppl 2**: S57-65.
- Réseau FRANCIM, S. d. b. d. H. c. d. L., Institut de veille sanitaire, Institut national du Cancer (Juillet 2013). "Estimation nationale de l'incidence et de la mortalité par cancer en France entre 1980 et 2012."
- Rich, J. N., C. Hans, et al. (2005). "Gene expression profiling and genetic markers in glioblastoma survival." Cancer Res **65**(10): 4051-8.
- Richard, S., C. Ladroue, et al. (2007). "[Genetics and angiogenesis: the example of von Hippel-Lindau disease]." Bull Cancer **94 Spec No**: S170-9.
- Rioux-Leclercq, N., B. Turlin, et al. (2000). "Value of immunohistochemical Ki-67 and p53 determinations as predictive factors of outcome in renal cell carcinoma." Urology **55**(4): 501-5.
- Rivera, L. B., A. D. Bradshaw, et al. (2011). "The regulatory function of SPARC in vascular biology." Cell Mol Life Sci **68**(19): 3165-73.
- Robert, G., C. Gaggioli, et al. (2006). "SPARC represses E-cadherin and induces mesenchymal transition during melanoma development." Cancer Res **66**(15): 7516-23.
- Sabatini, D. M. (2006). "mTOR and cancer: insights into a complex relationship." Nat Rev Cancer **6**(9): 729-34.
- Sage, H., C. Johnson, et al. (1984). "Characterization of a novel serum albumin-binding glycoprotein secreted by endothelial cells in culture." J Biol Chem **259**(6): 3993-4007.
- Said, N. and K. Motamed (2005). "Absence of host-secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) augments peritoneal ovarian carcinomatosis." Am J Pathol **167**(6): 1739-52.
- Said, N., M. J. Socha, et al. (2007). "Normalization of the ovarian cancer microenvironment by SPARC." Mol Cancer Res **5**(10): 1015-30.
- Sakai, N., M. Baba, et al. (2001). "SPARC expression in primary human renal cell carcinoma: upregulation of SPARC in sarcomatoid renal carcinoma." Hum Pathol **32**(10): 1064-70.
- Sato, N., N. Fukushima, et al. (2003). "Discovery of novel targets for aberrant methylation in pancreatic carcinoma using high-throughput microarrays." Cancer Res **63**(13): 3735-42.
- Schultz, C., N. Lemke, et al. (2002). "Secreted protein acidic and rich in cysteine promotes glioma invasion and delays tumor growth in vivo." Cancer Res **62**(21): 6270-7.
- Seno, T., H. Harada, et al. (2009). "Downregulation of SPARC expression inhibits cell migration and invasion in malignant gliomas." Int J Oncol **34**(3): 707-15.
- Shankavaram, U. T., D. L. DeWitt, et al. (1997). "Regulation of human monocyte matrix metalloproteinases by SPARC." J Cell Physiol **173**(3): 327-34.
- Shi, Q., S. Bao, et al. (2004). "Secreted protein acidic, rich in cysteine (SPARC), mediates cellular survival of gliomas through AKT activation." J Biol Chem **279**(50): 52200-9.
- Shi, Q., S. Bao, et al. (2007). "Targeting SPARC expression decreases glioma cellular survival and invasion associated with reduced activities of FAK and ILK kinases." Oncogene **26**(28): 4084-94.
- Smit, D. J., B. B. Gardiner, et al. (2007). "Osteonectin downregulates E-cadherin, induces osteopontin and focal adhesion kinase activity stimulating an invasive melanoma phenotype." Int J Cancer **121**(12): 2653-60.
- Sobin, L., M. Gospodarowicz, et al. (2010). "TNM Classification des tumeurs malignes Septième Edition."
- Socha, M. J., N. Said, et al. (2009). "Aberrant promoter methylation of SPARC in ovarian cancer." Neoplasia **11**(2): 126-35.
- Srigley, J. R., B. Delahunt, et al. (2013). "The International Society of Urological Pathology (ISUP) Vancouver Classification of Renal Neoplasia." Am J Surg Pathol **37**(10): 1469-89.
- Suzuki, M., C. Hao, et al. (2005). "Aberrant methylation of SPARC in human lung cancers." Br J Cancer **92**(5): 942-8.
- Taghizadeh, F., M. J. Tang, et al. (2007). "Synergism between vitamin D and secreted protein acidic and rich in cysteine-induced apoptosis and growth inhibition results in increased susceptibility of therapy-resistant colorectal cancer cells to chemotherapy." Mol Cancer Ther **6**(1): 309-17.
- Tai, I. T., M. Dai, et al. (2005). "Genome-wide expression analysis of therapy-resistant tumors reveals SPARC as a novel target for cancer therapy." J Clin Invest **115**(6): 1492-502.
- Tai, I. T. and M. J. Tang (2008). "SPARC in cancer biology: its role in cancer progression and potential for therapy." Drug Resist Updat **11**(6): 231-46.

- Tang, M. J. and I. T. Tai (2007). "A novel interaction between procaspase 8 and SPARC enhances apoptosis and potentiates chemotherapy sensitivity in colorectal cancers." J Biol Chem **282**(47): 34457-67.
- Termine, J. D., H. K. Kleinman, et al. (1981). "Osteonectin, a bone-specific protein linking mineral to collagen." Cell **26**(1 Pt 1): 99-105.
- Terrone, C., C. Cracco, et al. (2004). "Prognostic value of the involvement of the urinary collecting system in renal cell carcinoma." Eur Urol **46**(4): 472-6.
- Thiery, J. P. (2002). "Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression." Nat Rev Cancer **2**(6): 442-54.
- Tichet, M., N. Fenouille, et al. "Tumour-derived SPARC drives vascular permeability, tumour cell extravasation and metastasis via endothelial VCAM1 signalling." Nature Communications (en cours de révision).
- Tomlinson, I. P., N. A. Alam, et al. (2002). "Germline mutations in FH predispose to dominantly inherited uterine fibroids, skin leiomyomata and papillary renal cell cancer." Nat Genet **30**(4): 406-10.
- Tripathi, R. and R. Mishra (2010). "Interaction of Pax6 with SPARC and p53 in brain of mice indicates Smad3 dependent auto-regulation." J Mol Neurosci **41**(3): 397-403.
- Truong, L. D. and S. S. Shen (2011). "Immunohistochemical diagnosis of renal neoplasms." Arch Pathol Lab Med **135**(1): 92-109.
- Van Poppel, H., H. Vandendriessche, et al. (1997). "Microscopic vascular invasion is the most relevant prognosticator after radical nephrectomy for clinically nonmetastatic renal cell carcinoma." J Urol **158**(1): 45-9.
- Vivanco, I. and C. L. Sawyers (2002). "The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer." Nat Rev Cancer **2**(7): 489-501.
- Von Hoff, D. D., T. Ervin, et al. (2013). "Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine." N Engl J Med **369**(18): 1691-703.
- Wang, Y., Q. Yu, et al. (2005). "Survey of differentially methylated promoters in prostate cancer cell lines." Neoplasia **7**(8): 748-60.
- Watkins, G., A. Douglas-Jones, et al. (2005). "Increased levels of SPARC (osteonectin) in human breast cancer tissues and its association with clinical outcomes." Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids **72**(4): 267-72.
- Wrana, J. L., T. Kubota, et al. (1991). "Regulation of transformation-sensitive secreted phosphoprotein (SPPI/osteopontin) expression by transforming growth factor-beta. Comparisons with expression of SPARC (secreted acidic cysteine-rich protein)." Biochem J **273** ( Pt 3): 523-31.
- Wrana, J. L., C. M. Overall, et al. (1991). "Regulation of the expression of a secreted acidic protein rich in cysteine (SPARC) in human fibroblasts by transforming growth factor beta. Comparison of transcriptional and post-transcriptional control with fibronectin and type I collagen." Eur J Biochem **197**(2): 519-28.
- Yang, E., H. J. Kang, et al. (2007). "Frequent inactivation of SPARC by promoter hypermethylation in colon cancers." Int J Cancer **121**(3): 567-75.
- Yiu, G. K., W. Y. Chan, et al. (2001). "SPARC (secreted protein acidic and rich in cysteine) induces apoptosis in ovarian cancer cells." Am J Pathol **159**(2): 609-22.

## SERMENT

- *En présence des Maîtres de cette école, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.*
  
- *Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.*
  
- *Admis (e) dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.*
  
- *Respectueux (se) et reconnaissant (e) envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.*
  
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert (e) d'opprobre et méprisé (e) de mes confrères si j'y manque.*



## RESUME

L'incidence du cancer du rein est en augmentation constante. Environ 30% des cas sont métastatiques d'emblée. Avec l'essor des thérapies ciblées, la découverte de nouveaux biomarqueurs à buts diagnostique, pronostique, théranostique et en tant que cible thérapeutique est nécessaire.

La protéine « SPARC » (« *Secreted Protein Acidic And Rich in Cysteine* ») est membre d'une famille de protéines associées à la matrice extracellulaire et sécrétées dans l'espace extracellulaire. Elle est impliquée dans de nombreux cancers. Elle est à la fois exprimée par les cellules tumorales et par les cellules stromales. Elle exerce un effet oncogénique ou suppresseur de tumeur, dépendant du contexte physiopathologique et du type cellulaire. Le rôle potentiel de SPARC dans les tumeurs rénales a été très peu étudié.

Nous avons quantifié l'expression de SPARC tumorale et endothéliale par immunohistochimie dans une série de 60 tumeurs rénales de grades et de types différents.

Les profils d'expression de SPARC dans les cellules tumorales et endothéliales n'étaient pas corrélés. L'expression de SPARC dans les cellules tumorales était associée au phénotype malin. Nous avons montré que l'expression de SPARC dans les cellules endothéliales était liée à la présence d'embolies vasculaires et au grade de Fuhrman. L'expression de SPARC était variable selon les types histologiques, avec une expression plus forte dans les cellules endothéliales dans certains types agressifs. De plus, nous avons observé un lien entre le statut quantitatif du gène *SPARC* sur le chromosome 5 et l'expression protéique dans les cellules endothéliales.

A notre connaissance, il s'agit de la plus grande série de tumeurs rénales dans laquelle l'expression de SPARC a été quantifiée. Nos résultats suggèrent que SPARC joue un rôle oncogénique dans les carcinomes à cellules rénales. Ainsi, dans ces tumeurs, la détection de SPARC apparaît comme un outil pronostique prometteur et comme une cible thérapeutique potentielle.