



**HAL**  
open science

**Expression de la protéine kinase CK2, étude monocentrique rétrospective en immunohistochimie de son profil d'expression au sein d'une cohorte de patients atteints de carcinomes rénaux a cellules claires métastatiques**

Laure Schoutteten

► **To cite this version:**

Laure Schoutteten. Expression de la protéine kinase CK2, étude monocentrique rétrospective en immunohistochimie de son profil d'expression au sein d'une cohorte de patients atteints de carcinomes rénaux a cellules claires métastatiques. Médecine humaine et pathologie. 2016. dumas-01385642

**HAL Id: dumas-01385642**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01385642v1>**

Submitted on 21 Oct 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.



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :  
[bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4  
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITE GRENOBLE ALPES  
FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE

Année : 2016

N°

EXPRESSION DE LA PROTÉINE KINASE CK2, ÉTUDE MONOCENTRIQUE  
RÉTROSPECTIVE EN IMMUNOHISTOCHIMIE DE SON PROFIL D'EXPRESSION AU  
SEIN D'UNE COHORTE DE PATIENTS ATTEINTS DE CARCINOMES RÉNAUX À  
CELLULES CLAIRES MÉTASTATIQUES.

THESE  
PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE  
DIPLOME D'ETAT

LAURE SCHOUTTETEN

[Données à caractère personnel]

THESE SOUTENUE PUBLIQUEMENT A LA FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE\*

Le : 19 octobre 2016

DEVANT LE JURY COMPOSE DE

Présidente du jury : Madame le Professeur Mireille Mousseau

Directeur de thèse : M. le Docteur Mathieu Laramas

Membres :

M. le Professeur Hervé Curé

M. le Docteur Jean-Alexandre Long

*\*La Faculté de Médecine de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.*

UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES  
FACULTÉ DE MÉDECINE DE GRENOBLE

Année : 2016

N°

EXPRESSION DE LA PROTÉINE KINASE CK2, ÉTUDE MONOCENTRIQUE  
RÉTROSPECTIVE EN IMMUNOHISTOCHIMIE DE SON PROFIL D'EXPRESSION AU  
SEIN D'UNE COHORTE DE PATIENTS ATTEINTS DE CARCINOMES RÉNAUX À  
CELLULES CLAIRES MÉTASTATIQUES.

THÈSE  
PRÉSENTÉE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLÔME D'ÉTAT

LAURE SCHOUTTETEN

*[Données à caractère personnel]*

THÈSE SOUTENUE PUBLIQUEMENT À LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE GRENOBLE\*

Le : 19 octobre 2016

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE

Présidente du jury : Madame le Professeur Mireille Mousseau

Directeur de thèse : M. le Docteur Mathieu Laramas

Membres :

M. le Professeur Hervé Curé

M. le Docteur Jean-Alexandre Long

*\*La Faculté de Médecine de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.*

Doyen de la Faculté : M. le Pr. Jean Paul ROMANET

Année 2016-2017

**ENSEIGNANTS A L'UFR DE MEDECINE**

CORPS	NOM-PRENO	Discipline universitaire
PU-PH	ALBALADEJO Pierre	Anesthésiologie réanimation
PU-PH	APEL Florent	Ophthalmologie
PU-PH	ARVIEUX-BARTHELEMY Catherine	Chirurgie générale
PU-PH	BALOSSO Jacques	Radiothérapie
PU-PH	BARONE-ROCHETTE Gilles	Cardiologie
PU-PH	BARRET Luc	Médecine légale et droit de la santé
PU-PH	BAYAT Sam	Physiologie
PU-PH	BENHAMOU Pierre Yves	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	BERGER François	Biologie cellulaire
MCU-PH	BIDART-COUTTON Marie	Biologie cellulaire
MCU-PH	BOISSET Sandrine	Agents infectieux
PU-PH	BONAZ Bruno	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie
PU-PH	BONNETERRE Vincent	Médecine et santé au travail
PU-PH	BOREL Anne-Laure	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	BOSSON Jean-Luc	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	BOTTARI Serge	Biologie cellulaire
PU-PH	BOUGEROL Thierry	Psychiatrie d'adultes
PU-PH	BOUILLET Laurence	Médecine interne
PU-PH	BOUZAT Pierre	Réanimation
PU-PH	BRAMBILLA Christian	Pneumologie
MCU-PH	BRENIER-PINCHART Marie Pierre	Parasitologie et mycologie
PU-PH	BRICAULT Ivan	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	BRICHON Pierre-Yves	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
MCU-PH	BRIOT Raphaël	Thérapeutique, médecine d'urgence
MCU-PH	BROUILLET Sophie	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
PU-PH	CAHEN Jean-Yves	Hématologie
MCU-PH	CALLANAN-WILSON Mary	Hématologie, transfusion
PU-PH	CARPENTIER Françoise	Thérapeutique, médecine d'urgence
PU-PH	CARPENTIER Patrick	Chirurgie vasculaire, médecine vasculaire
PU-PH	CESBRON Jean-Yves	Immunologie
PU-PH	CHABARDES Stephan	Neurochirurgie
PU-PH	CHABRE Olivier	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	CHAFFANJON Philippe	Anatomie

PU-PH	CHARLES Julie	Dermatologie
PU-PH	CHAVANON Olivier	Chirurgie thoracique et cardio- vasculaire
PU-PH	CHIQUET Christophe	Ophthalmologie
PU-PH	CINQUIN Philippe	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	COHEN Olivier	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	COUTURIER Pascal	Gériatrie et biologie du vieillissement
PU-PH	CRACOWSKI Jean-Luc	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
PU-PH	CURE Hervé	Oncologie
PU-PH	DEBILLON Thierry	Pédiatrie
PU-PH	DECAENS Thomas	Gastro-entérologie, Hépatologie
PU-PH	DEMATTEIS Maurice	Addictologie
MCU-PH	DERANSART Colin	Physiologie
PU-PH	DESCOTES Jean-Luc	Urologie
MCU-PH	DETANTE Olivier	Neurologie
MCU-PH	DIETERICH Klaus	Génétique et procréation
MCU-PH	DOUTRELEAU Stéphane	Physiologie
MCU-PH	DUMESTRE-PERARD Chantal	Immunologie
PU-PH	EPAULARD Olivier	Maladies Infectieuses et Tropicales
PU-PH	ESTEVE François	Biophysique et médecine nucléaire
MCU-PH	EYSSERIC Hélène	Médecine légale et droit de la santé
PU-PH	FAGRET Daniel	Biophysique et médecine nucléaire
PU-PH	FAUCHERON Jean-Luc	Chirurgie générale
MCU-PH	FAURE Julien	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	FERRETTI Gilbert	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	FEUERSTEIN Claude	Physiologie
PU-PH	FONTAINE Éric	Nutrition
PU-PH	FRANCOIS Patrice	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
MCU-MG	GABOREAU Yoann	Médecine Générale
PU-PH	GARBAN Frédéric	Hématologie, transfusion
PU-PH	GAUDIN Philippe	Rhumatologie
PU-PH	GAVAZZI Gaëtan	Gériatrie et biologie du vieillissement
PU-PH	GAY Emmanuel	Neurochirurgie
MCU-PH	GILLOIS Pierre	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	GRAND Sylvie	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	GRIFFET Jacques	Chirurgie infantile
PU-PH	GUEBRE-EGZIABHER Fitsum	Néphrologie
MCU-PH	GUZUN Rita	Endocrinologie, diabétologie, nutrition, éducation thérapeutique
PU-PH	HAINAUT Pierre	Biochimie, biologie moléculaire
PU-PH	HENNEBICQ Sylviane	Génétique et procréation
PU-PH	HOFFMANN Pascale	Gynécologie obstétrique
PU-PH	HOMMEL Marc	Neurologie
PU-MG	IMBERT Patrick	Médecine Générale
PU-PH	JOUK Pierre-Simon	Génétique
PU-PH	JUVIN Robert	Rhumatologie

PU-PH	KAHANE Philippe	Physiologie
PU-PH	KRACK Paul	Neurologie
PU-PH	KRAINIK Alexandre	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	LABARERE José	Epidémiologie ; Eco. de la Santé
MCU-PH	LANDELLE Caroline	Bactériologie - virologie
MCU-PH	LAPORTE François	Biochimie et biologie moléculaire
MCU-PH	LARDY Bernard	Biochimie et biologie moléculaire
MCU-PH	LARRAT Sylvie	Bactériologie, virologie
MCU - PH	LE GOUËLLEC Audrey	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	LECCIA Marie-Thérèse	Dermato-vénérologie
PU-PH	LEROUX Dominique	Génétique
PU-PH	LEROY Vincent	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie
PU-PH	LEVY Patrick	Physiologie
MCU-PH	LONG Jean-Alexandre	Urologie
PU-PH	MAGNE Jean-Luc	Chirurgie vasculaire
MCU-PH	MAIGNAN Maxime	Thérapeutique, médecine d'urgence
PU-PH	MAITRE Anne	Médecine et santé au travail
MCU-PH	MALLARET Marie-Reine	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
MCU-PH	MARLU Raphaël	Hématologie, transfusion
MCU-PH	MAUBON Danièle	Parasitologie et mycologie
PU-PH	MAURIN Max	Bactériologie - virologie
MCU-PH	MC LEER Anne	Cytologie et histologie
PU-PH	MERLOZ Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologie
PU-PH	MORAND Patrice	Bactériologie - virologie
PU-PH	MOREAU-GAUDRY Alexandre	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	MORO Elena	Neurologie
PU-PH	MORO-SIBILOT Denis	Pneumologie
PU-PH	MOUSSEAU Mirielle	Cancérologie
PU-PH	MOUTET François	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie
MCU-PH	PACLET Marie-Hélène	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	PALOMBI Olivier	Anatomie
PU-PH	PARK Sophie	Hémato - transfusion
PU-PH	PASSAGGIA Jean-Guy	Anatomie
PU-PH	PAYEN DE LA GARANDERIE Jean-François	Anesthésiologie réanimation
MCU-PH	PAYSANT François	Médecine légale et droit de la santé
MCU-PH	PELLETIER Laurent	Biologie cellulaire
PU-PH	PELLOUX Hervé	Parasitologie et mycologie
PU-PH	PEPIN Jean-Louis	Physiologie
PU-PH	PERENNOU Dominique	Médecine physique et de réadaptation
PU-PH	PERNOD Gilles	Médecine vasculaire
PU-PH	PIOLAT Christian	Chirurgie infantile
PU-PH	PISON Christophe	Pneumologie
PU-PH	PLANTAZ Dominique	Pédiatrie
PU-PH	POIGNARD Pascal	Virologie

PU-PH	POLACK Benoît	Hématologie
PU-PH	POLOSAN Mircea	Psychiatrie d'adultes
PU-PH	PONS Jean-Claude	Gynécologie obstétrique
PU-PH	RAMBEAUD Jacques	Urologie
PU-PH	RAY Pierre	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
PU-PH	REYT Émile	Oto-rhino-laryngologie
PU-PH	RIGHINI Christian	Oto-rhino-laryngologie
PU-PH	ROMANET Jean Paul	Ophthalmologie
PU-PH	ROSTAING Lionel	Néphrologie
MCU-PH	ROUSTIT Matthieu	Pharmacologie fondamentale, pharmaco clinique, addictologie
MCU-PH	ROUX-BUISSON Nathalie	Biochimie, toxicologie et pharmacologie
MCU-PH	RUBIO Amandine	Pédiatrie
PU-PH	SARAGAGLIA Dominique	Chirurgie orthopédique et traumatologie
MCU-PH	SATRE Véronique	Génétique
PU-PH	SAUDOU Frédéric	Biologie Cellulaire
PU-PH	SCHMERBER Sébastien	Oto-rhino-laryngologie
PU-PH	SCHWEBEL-CANALI Carole	Réanimation médicale
PU-PH	SCOLAN Virginie	Médecine légale et droit de la santé
MCU-PH	SEIGNEURIN Arnaud	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH	STAHL Jean-Paul	Maladies infectieuses, maladies tropicales
PU-PH	STANKE Françoise	Pharmacologie fondamentale
MCU-PH	STASIA Marie-José	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	STURM Nathalie	Anatomie et cytologie pathologiques
PU-PH	TAMISIER Renaud	Physiologie
PU-PH	TERZI Nicolas	Réanimation
MCU-PH	TOFFART Anne-Claire	Pneumologie
PU-PH	TONETTI Jérôme	Chirurgie orthopédique et traumatologie
PU-PH	TOUSSAINT Bertrand	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	VANZETTO Gérald	Cardiologie
PU-PH	VUILLEZ Jean-Philippe	Biophysique et médecine nucléaire
PU-PH	WEIL Georges	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH	ZAOUT Philippe	Néphrologie
PU-PH	ZARSKI Jean-Pierre	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie

PU-PH : Professeur des Universités et Praticiens Hospitaliers

MCU-PH : Maître de Conférences des Universités et Praticiens Hospitaliers

PU-MG : Professeur des Universités de Médecine Générale

MCU-MG : Maître de Conférences des Universités de Médecine Générale

## **Remerciements :**

### **Aux membres du jury :**

Madame le Professeur Mireille Mousseau, vous me faites l'honneur d'accepter la présidence de ce jury. Je vous remercie de la bienveillance dont vous faites preuve au quotidien. Soyez assurée de ma gratitude.

Monsieur le Docteur Mathieu Laramas, je te remercie de m'avoir mise sur la piste de CK2, d'avoir su encadrer et diriger ce travail. Je te remercie de veiller à nous transmettre ton savoir et ta rigueur, d'être disponible et de mesurer avec justesse les grandes réussites de l'oncologie médicale.

Monsieur le Professeur Hervé Curé, votre participation à ce jury m'honore particulièrement. Je vous suis reconnaissante de me permettre de participer à l'élaboration de nouveaux projets au sein de l'oncologie médicale, qui grâce à votre implication se concrétisent.

Monsieur le Docteur Jean-Alexandre Long, vous me faites l'honneur de juger ce travail. Je vous remercie et à travers vous, l'ensemble de l'équipe d'urologie, sans qui ce travail n'aurait pu exister.

### **À tous ceux avec qui j'ai eu le plaisir de travailler :**

Aux Docteurs Valentin Arnoux et Mélanie Tadj, je vous remercie d'avoir initié cette base de données.

Au Docteur Maysoun Kassem, merci d'avoir cru en ce projet quel que soit les circonstances et d'y avoir consacré du temps, de l'énergie et de m'avoir transmis un autre regard sur l'anatomopathologie.

À Laurence David Boudet pour votre disponibilité et votre patience.

À Jean-Louis Quesada, pour la rigueur nécessaire à l'élaboration de ce travail.

À Odile et Claude Cochet, les irréductibles de CK2 pour m'avoir appris que la science demandait du temps... beaucoup de temps ! et même si parfois la frustration était au rendez-vous, il était nécessaire de persévérer.

À Mathias, Benoit, Marlène, pour ces moments enrichissants, découvertes (et parfois échecs) partagés au laboratoire du CEA entre pipette, souris et DMSO.

À Cristina et Oxana, pour avoir su me guider dans les visites du lundi matin.

Aux médecins l'IDH, pour votre accueil et votre confiance.

Aux équipes soignantes qui ont su me faire grandir humainement et professionnellement.

À mes co-internes d'oncologie, Hélène pour ton aide, Coralie, Emmanuelle, Claudine, Johan, Andréa, Jérémy, Natacha, Raphaëlle, Sarah.

Aux co-internes d'autres spécialités moins passionnantes que l'oncologie, mais sympathiques ! Ils se reconnaîtront.

À ces chers docteurs et anciens co-internes Julien et Delphine, pour tous ces bons instants de l'oncologie médicale. L'aventure continue.

**À mes amis,**

À Alethe et Lulu, « touch my gulper! »

À Chloé, pour ta spontanéité en toute circonstance.

À VBB, ton humour glacial rayonne au sein de l'oncologie, merci.

À Coco et Coeurcoeur, je vous embrasse les bichettes.

À Fanny, merci pour tes nombreuses découvertes en tout genre ☺ et ton enthousiasme hors norme. J'apprécie !

À Caro, merci d'être toujours là au bon moment et de m'accompagner dans les plans de Fanny. Shake shake shake !

À mes copines de Paris : Isabelle la toulousaine, Sara la nantaise bientôt lyonnaise, à Maria la colombienne, et Sabine la parisienne. « Paris, tu paries que je te quitte que je change de cap, de capitale »

À Sandra, ma copine, mon amie d'enfance, la vie continue, notre amitié aussi. Que notre amitié reste !

À Yan, tu es mort trop tôt, nous pensons souvent toi.

**À ma famille,**

À mes beaux-parents, pour leur accueil au sein de la famille.

À mes parents, pour m'avoir toujours soutenue ! À ma mère, qui se donne toujours beaucoup de mal pour que les angles soient plus ronds qu'ils n'y paraissent.

À ma petite sœur Lise, je suis contente de te voir heureuse. Je t'aime fort.

À mes frères, et plus particulièrement, Pierre et Philippe, quelle fierté de vous avoir ! Je me revois avec vous à la sortie de l'école, rentrer en mobylette! La classe !

À Julien, mon tendre complice. Tes « Pradonades » me font rire ! Je t'aime.

À Marius, que j'aime tant. Tu es la plus belle histoire qu'il me soit arrivée !

À Papy et Mamy, en souvenir de ces nombreux et précieux moments passés ensemble en famille. Nous pensons bien à vous.

## **Tables des matières :**

ABRÉVIATIONS.....	p. 10
RÉSUMÉ .....	p. 11
INTRODUCTION .....	p. 13
MATÉRIEL ET MÉTHODES .....	p. 17
<i>Population étudiée</i>	
<i>Base de données des tumeurs rénales</i>	
<i>Immunohistochimie</i>	
<i>Préparation des blocs de paraffine</i>	
<i>Immunohistochimie de CK2</i>	
<i>Evaluation du marquage</i>	
<i>Analyses statistiques</i>	
RÉSULTATS .....	p. 20
<i>Caractéristiques de la population étudiée</i>	
<i>Localisation de l'expression de CK2</i>	
<i>Analyse de la survie</i>	
DISCUSSION .....	p.31
<i>Critères pronostiques étudiés dans le carcinome rénal à cellules claires</i>	
<i>Critères immunohistochimiques</i>	
<i>La voie Wnt/<math>\beta</math>-caténine</i>	
<i>Le cycle cellulaire et Aurora</i>	
<i>La polarité apico-basale</i>	
<i>La transition épithélio-mésenchymateuse</i>	
<i>Analyse moléculaire génétique</i>	

*CK2, un élément pronostic supplémentaire ?*

*Signification biologique des résultats*

*CK2, une cible thérapeutique potentielle*

*Les points forts et limites de l'étude*

CONCLUSION ..... p.39

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES ..... p.41

ANNEXES ..... p.46

## **Abréviations :**

cRCC : Carcinome rénal à cellules claires

VHL : Von-Hippel-Lindau

HIF : Hypoxia Inducible Factors

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

PDGF : Platelet Derived Growth Factor

TGF- $\beta$  : Transforming Growth Factor beta

N/C : Nucléocytoplasmique

HE : Hematoxyline Eosine

HR : Hazard Ratio

IC95 : Intervalle de confiance à 95%

BAP1 : BRCA1 Associated Protein 1

PBRM1 : Polybromo 1

CK2 : Caseine kinase 2

ADN : Acide Désoxy Ribo Nucléique

AC : Anticorps

Ag : Antigène

Wnt : Wingless Integration Site

EMT : Transition Epithélio Mésoenchymateuse

CRB3 : Crumbs protein homolog 3

## **Résumé :**

**Introduction :** Le cancer du rein représente 3% des cancers en Europe et constitue la sixième cause de tumeur solide en France. Dans 75 % des cas, il s'agit d'un carcinome rénal à cellules claires (cRCC).

Le pronostic et la survie attendus sont très différents d'un patient à l'autre. Des biomarqueurs potentiels sont actuellement étudiés mais aucun n'est encore validé dans la pratique courante.

La caséine kinase 2 (CK2), une sérine/thréonine kinase, est une enzyme multifonctionnelle. Il s'agit d'un tétramère constitué de deux sous-unités catalytiques  $\alpha$ ,  $\alpha'$  et de deux sous-unités régulatrices  $\beta$ . CK2 phosphoryle de nombreux substrats intervenant dans l'oncogenèse, jouant un rôle essentiel dans l'expression génique et la croissance cellulaire.

La validation de CK2 comme biomarqueur dans différentes pathologies cancéreuses en fait une cible pharmacologique attractive.

L'objectif principal de notre étude est de définir le niveau d'expression des sous-unités de CK2,  $\alpha$  et  $\beta$ , en immunohistochimie, à partir de cRCC humains issus de la base de données du Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes, de 2000 à 2011. Les objectifs secondaires sont d'analyser la survie globale en fonction du niveau d'expression de CK2, du grade de Fürhman et de la classification pronostique selon le modèle du Groupe Français d'Immunothérapie.

## **Matériel et méthodes :**

Il s'agit d'une étude ancillaire monocentrique rétrospective. Une analyse immunohistochimique avec étude du marquage de CK2 $\alpha$  et de CK2 $\beta$  a été faite sur du tissu rénal tumoral. Le témoin interne est du tissu rénal non tumoral. Le grade de Fürhman a été vérifié sur chaque prélèvement. Une analyse de la survie globale en fonction de CK2, du grade et du groupe pronostic selon le Groupe Français d'Immunothérapie a été faite.

**Résultats :** Quarante-trois prélèvements rénaux et 6 cas de métastases ont été analysés. Le niveau d'expression de CK2 est différent entre les cRCC et les tissus rénaux non tumoraux. L'expression des deux sous-unités de CK2 est nucléocytoplasmique au niveau du tissu rénal non tumoral alors qu'il existe une perte de l'expression de CK2 $\alpha$  dans 80% des prélèvements de bas grade et dans 32% des prélèvements de haut grade. Il existe une perte de l'expression de CK2 $\beta$  dans 33% des prélèvements de bas grade et dans 8% des échantillons de haut grade. L'expression est principalement nucléocytoplasmique pour les sous-unités  $\alpha$  (28%) et  $\beta$  (56%)

au niveau des échantillons de haut grade. Pour les échantillons de bas grade, l'expression de CK2 $\beta$ , en zone tumorale, est membranaire et cytoplasmique (24%).

Le suivi médian de l'ensemble de la population étudiée est de 44.7 mois (Intervalle de Confiance 95 IC95 10.8 ; 109.9) avec une survie globale médiane de 30.2 mois (IC95 13.6 ; 51.2). La survie globale médiane est de 19.8 mois (IC95 12 ; 38.8) pour les prélèvements de haut grade et de 79.6 mois pour les prélèvements de bas grade (IC95 11.6 ; 129.1) (p=0.011).

La survie globale médiane en l'absence de CK2 $\alpha$  est de 51.2 mois (IC95 12 ; 88.4) contre 17.3 mois en cas d'expression de CK2 $\alpha$  (IC95 10.8 ; 46.7) (p= 0.176). La survie globale médiane en l'absence de CK2 $\beta$  est de 31 mois (IC95 11.1 ; -) contre 23.2 mois en cas d'expression de CK2 $\beta$  (IC95 13.6 ; 51.2) (p = 0.164). Il existe un lien entre le niveau d'expression de CK2 $\alpha$  dans le tissu tumoral et le grade (p=0.008). Il existe un très probable lien entre le niveau d'expression de CK2 $\beta$  dans le tissu tumoral et le grade de Fürhman (p= 0.08) avec des résultats proches de la significativité. Il n'existe pas de lien entre le grade et l'expression des 2 sous-unités de CK2 dans le tissu rénal sain. L'analyse de la survie globale en fonction du groupe pronostic n'est pas significative.

Conclusion : Le grade reste un élément pronostic majeur. La survie globale des patients de bas grade est meilleure que celle des patients de haut grade. Il existe un lien entre l'absence d'expression de CK2 et le bas grade. La survie globale est meilleure en l'absence d'expression des sous-unités de CK2. Cependant, nous ne pouvons affirmer que CK2 soit un facteur pronostic, sans pour autant l'exclure.

## **1. Introduction :**

Le cancer du rein représente 3% des cancers en Europe. En France, en 2011, il constitue la sixième cause de tumeur solide chez l'homme et la troisième en urologie après les cancers de la prostate et de la vessie. L'incidence est en 2011 de 11 080 nouveaux cas, dont 7 400 chez les hommes (66,8%) et 3 680 chez les femmes (33,2%). Le cancer du rein est à l'origine de 3 840 décès en France (1,2). Le pic de fréquence se situe autour de 70 ans. Ce cancer est rare chez les moins de 40 ans. Le ratio mondial homme/femme est de 1,5 à 3 (3). Dans 75 % des cas, il s'agit d'un carcinome rénal à cellules claires (cRCC) (4).

Près de la moitié des tumeurs du rein sont découvertes fortuitement sur une imagerie abdominale (5). Entre 10 et 40% de ces tumeurs sont métastatiques au diagnostic avec pour principales localisations : le poumon, le foie et l'os.

Les facteurs de risque sont le tabac, l'hypertension artérielle, l'obésité, l'exposition à des toxiques environnementaux, l'atrophie rénale dans un contexte de dialyse. Il existe des formes familiales telles que l'association à la maladie de Von-Hippel-Lindau (VHL) dont la prévalence est de 1/53 000 habitants. La transmission est autosomique dominante et l'anomalie située sur le bras court du chromosome 3 (6).

Des anomalies sporadiques du gène VHL (mutations, délétions, inactivations par hyperméthylation) sont présentes dans 70% des cRCC (7). La protéine pVHL codée par ce gène conduit à la dégradation de la protéine Hypoxia Inducible Factors (HIF) par le protéasome. HIF est un facteur de transcription responsable de l'expression de facteurs liés à l'hypoxie tels que le Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), le Platelet Derived Growth Factor (PDGF), le Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) (8). En cas d'hypoxie ou d'inactivation de VHL, ces gènes sont surexprimés via la stabilisation de HIF. Le VEGF et le PDGF sont alors responsables d'une néoangiogénèse, favorisant la croissance tumorale et l'extension à distance (9).

L'implication du VEGF explique en partie le recours aux thérapeutiques anti-angiogéniques dans la prise en charge du cancer du rein métastatique.

Avant l'arrivée de ces thérapies ciblées, le traitement reposait sur l'immunothérapie, dont l'interleukine IL-2 et l'interféron  $\alpha$ . En France, ces derniers sont peu utilisés et uniquement autorisé en association avec le bévacizumab.

Ainsi, les anti-angiogéniques présentent un intérêt thérapeutique certain dans le traitement du cancer du rein métastatique. Parmi eux, nous connaissons des anticorps anti-VEGF (bévacizumab en association à l'interféron ou l'interleukine (10,11)), des molécules inhibant les tyrosines kinases (sunitinib (12), pazopanib (13), sorafenib (14), axitinib (15), cabozantinib (16)) ou le Mammalian Target of Rapamycin telles que le temsirolimus (17) et l'évérolimus (18). Récemment, les nouvelles immunothérapies, dont l'utilisation d'anti PD-1 (nivolumab) présentent des résultats prometteurs (19,20).

Le pronostic et la survie attendus sont très différents d'un patient à l'autre. Trois sous-groupes pronostiques ont été définis : mauvais, intermédiaire et bon. Selon le modèle du Groupe Français d'Immunothérapie, basé sur une cohorte de 782 patients traités par interféron ou interleukine, la survie médiane a été de 42 mois dans le groupe de bon pronostic, 15 mois dans le groupe de pronostic intermédiaire et de 6 mois dans le groupe de mauvais pronostic (tableau1)(21).

Tableau 1 : Classification pronostique du Groupe Français d'Immunothérapie

	<b>Bon pronostic</b>	<b>Pronostic intermédiaire</b>	<b>Mauvais pronostic</b>
Performans status > 0	0-1 facteur de risque	2-3 facteurs de risque	4-5 facteurs de risque
Nombre de sites métastatiques (si >1 site)			
Intervalle entre le diagnostic de cRCC et le début traitement systémique <1 an			
Anémie (<13 g/d L si homme, < 11.5 g /d L si femme)			
VS (≥100 mm/h) ou CRP≥50 mg/L			

Cependant, à l'ère des thérapies ciblées, ce modèle pronostique reste fiable (22).

Selon le modèle de Heng (cf annexe 1) basé sur une cohorte de patients traités par des thérapies ciblées, les survies sont respectivement de 8,8 mois, 27 mois et non atteinte au moment de

l'analyse (23) en cas de mauvais, intermédiaire et bon pronostic. Ce modèle précise le pronostic des patients atteints de cRCC et aide l'oncologue médical à choisir les thérapeutiques à utiliser.

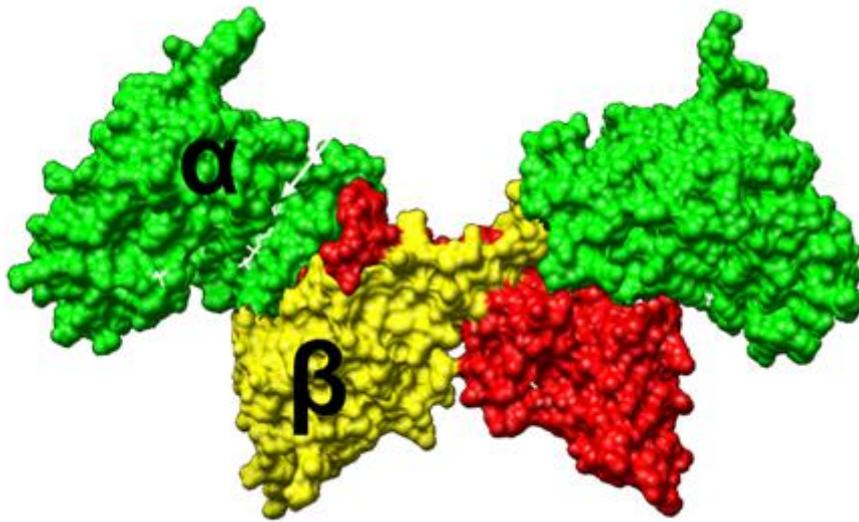
Des critères anatomopathologiques tels que le grade de Fürhman, le stade, les marges d'exérèse, la présence d'embolies vasculaires et lymphatiques, la présence d'un contingent sarcomatoïde constituent des éléments pronostics (24). De nombreux biomarqueurs potentiels sont à l'étude dans le cancer du rein mais aucun n'a encore été validé en pratique courante.

La caséine kinase (CK2), une sérine/thréonine kinase, est une enzyme multifonctionnelle, impliquée dans la régulation du cycle cellulaire, la survie, la différenciation et dans les mécanismes de réparation des cassures de l'Acide Désoxy-ribo-Nucléique (ADN) (21). CK2 phosphoryle de nombreux substrats jouant un rôle essentiel dans l'expression génique et la croissance cellulaire (25) (facteurs de transcription, protéines de signalisation, protéines impliquées dans la traduction, protéines virales, protéines du cytosquelette (26), enzymes).

Sur le plan moléculaire, il s'agit d'un tétramère constitué de deux sous-unités catalytiques,  $\alpha$  et  $\alpha'$  et de deux sous-unités régulatrices  $\beta$ . CK2 $\beta$  a une structure en doigt de zinc qui est responsable de sa dimérisation (27). Seule la forme dimérique est capable de s'associer à CK2 $\alpha$  et de réguler son activité catalytique. L'ensemble du tétramère a la forme d'un papillon, le dimère CK2 $\beta$  servant de plateforme pour fixer les deux sous-unités catalytiques. Les deux sous-unités sont principalement présentes dans les noyaux cellulaires en phase proliférative (28). Contrairement à CK2 $\beta$ , la sous-unité  $\alpha$  est très mobile et transite entre le cytoplasme et le noyau (29). Les sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$  sont synthétisées dans le cytoplasme et, en cas d'assemblage, y demeurent. Elles possèdent des séquences de localisations nucléaires (Nuclear Localization Signal) qui leur permettent d'être importées.

La sous-unité  $\alpha$  phosphoryle des protéines cibles en utilisant soit de l'Adénosine Tri-Phosphate (ATP) soit de la Guanosine Tri-Phosphate (GTP). CK2 $\alpha$  est spontanément active seule. Son interaction avec CK2 $\beta$  modifie profondément ses substrats cibles. Au niveau biochimique, on distingue trois familles de protéines substrats de CK2, classées en fonction de la présence ou de l'absence de CK2 $\beta$  : les protéines phosphorylées par CK2 $\alpha$  seule, celles dont la phosphorylation dépend de la présence de CK2 $\beta$  et celles phosphorylées quel que soit la forme de CK2 (28,30).

2 sous-unités  $\alpha$  catalytiques



2 sous-unités régulatrices  $\beta$

La perte de l'activité de CK2 par invalidation des gènes codant pour sa sous-unité catalytique est létale (31). De même, l'invalidation du gène CK2 $\beta$  chez la souris montre que cette sous-unité est essentielle à la prolifération et à la survie cellulaire.

La surexpression de CK2 est associée à des facteurs de mauvais pronostics dans les cancers du poumon (32), de la prostate (33) et dans les leucémies aiguës myéloïdes (34), faisant de cette enzyme une cible physiopathologique et pharmacologique. Dans les cancers du sein, il a été montré que CK2 $\alpha$  fait partie d'une signature comprenant onze marqueurs permettant de classer les patientes sans envahissement ganglionnaire en deux groupes : haut et faible risque de métastases (35). Les conséquences de la surexpression de CK2 observée dans différentes tumeurs solides sont liées à la fois aux fonctions de CK2 dans la prolifération et dans la suppression de l'apoptose favorisant ainsi la résistance des tumeurs aux radiations et aux chimiothérapies (36). Une dérégulation de la balance CK2 $\alpha$ / CK2 $\beta$  dans le cancer du sein est associée à l'expression de marqueurs de la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT), une étape clé dans la formation de métastases (37,38).

Dans le cancer du rein, il a été montré que les cellules tumorales présentent une surexpression de la sous-unité catalytique  $\alpha$  associée à une augmentation de l'activité de cette kinase. De plus, un fragment situé sur la partie C-terminale de la sous-unité régulatrice  $\beta$  est délétée dans les carcinomes rénaux (39).

L'implication de CK2 dans différents mécanismes oncogéniques tels que l'apoptose, l'angiogenèse, la prolifération, les réparations de l'ADN et sa validation comme biomarqueur dans différentes pathologies cancéreuses en fait une cible pharmacologique attractive (40). Ce d'autant plus qu'il existe déjà un inhibiteur de CK2 : l'acide 5-(3-chlorophenylamino)benzo(c)(2,6)naphthyridine-8-carboxylic appelé plus communément le CX-4945.

L'objectif principal de notre étude est de définir le niveau d'expression des sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$  de CK2, en immunohistochimie, à partir de cRCC humains issus de la base de données du Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes (CHUGA) de 2000 à 2011. Les objectifs secondaires sont d'analyser la survie globale en fonction du niveau d'expression de CK2, du grade de Fürhman et de la classification pronostic selon le Groupe Français d'Immunothérapie.

## **2. Matériel et méthodes :**

### 2.1 Population étudiée :

L'étude a porté sur des patients âgés de plus de 18 ans porteurs d'un cRCC entre 2000-2011. L'analyse de survie a été faite jusqu'au 1<sup>er</sup> janvier 2016.

### 2.2 Base de données des tumeurs rénales :

Tous les patients âgés de plus de 18 ans porteurs d'un cancer du rein sont enregistrés sur la base de données du CHUGA. Cette base a été rétrospectivement créée à partir du 1er Janvier 2000 et prospectivement complétée jusqu'au 1<sup>er</sup> juin 2009. L'exhaustivité de la base de données a été assurée par recoupement de trois sources d'information : le Service d'information médicale (recherche à partir de la classification internationale des maladies v10), les dossiers des patients (papier et numérique avec le logiciel Cristalnet v04) et la base de données anatomopathologiques. Conformément à la législation française de protection des données, cette base a été déclarée à la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés et identifiée sous le numéro : 1500484 v 0. Elle a été conçue selon les principes éthiques de la Déclaration d'Helsinki et a reçu l'approbation d'un comité d'éthique indépendant, le comité d'Ethique du Centre d'Investigation Clinique de Rhône-Alpes le 26 septembre 2011. Les caractéristiques des patients sont décrites dans le tableau 1. Le stade a été défini selon la classification TNM de 2009.

## 2.3 Immunohistochimie :

### 2.3.1 Préparation des blocs de paraffine.

Les échantillons issus de biopsie chirurgicale et/ou de pièce de néphrectomie sont fixés en AFA (75% d'alcool, 2% de formol, d'acide acétique à 5%, 18% d'eau pure) puis mis en cassette. Le prélèvement subit une déshydratation par immersion dans des bains successifs d'alcool de degrés croissants, puis de méthylcyclohexane sur des automates ASP 300S de la marque LEICA Autostainer avant d'être imprégné de paraffine. Les blocs sont ensuite enrobés manuellement sur des stations d'enrobage Tissue-Tek de marque SAKURA.

Après refroidissement et démoulage du bloc, des coupes de 3µm sont réalisées sur lames superfrost. Après déparaffinage à la chaleur, les sections sont réhydratées dans des bains alcools de degrés décroissants sur l'automate Autostainer.

### 2.3.2 Immunohistochimie de CK2 :

Tous les immunomarquages ont été effectués sur l'automate XT Ventana Autostainer (Medical System Ventana, Tucson AZ), en utilisant un protocole en 3 étapes et le kit de détection Ventana kit UltraView détection DAB Universal (référence 760-500).

Les lames de la paraffine sont déposées sur les platines chauffantes de l'automate et un cycle est lancé :

- Déparaffinage des lames à 75°C.
- Démasquage des sites antigéniques à la chaleur en tampon Cell Conditioning 1 (CC1 = Tris/Borate.EDTA pH8.4) pendant une heure.
- Inhibition des peroxydases endogènes avec la seringue du kit UV Inhibitor pendant 4 minutes.
- L'anticorps (AC) primaire CK2α monoclonal est déposé pendant 32 minutes à 37°C à la dilution 1/250 (Commissariat à l'Energie Atomique et aux Energies Alternatives CEA de Grenoble Institut de Recherche en Sciences et Technologies du Vivant, Biologie du Cancer et de l'infection, INSERM 373 États-brevet CEA / INSERM n ° 07 290 032,7). L'AC CK2β monoclonal est appliqué pendant une heure à 37°C à une dilution de 1/50. La détection est faite avec le kit de détection de UltraView DAB Universal (référence 760-500).
- Dépôt de la seringue UV HRP UNIV MULT (multimer secondaire-HRP) pendant 8 minutes (AC secondaires anti lapin pour CK2α et anti souris pour CK2β).

- Révélation avec la seringue UV DAB + UV DAB H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pendant 8 minutes.
- Dépôt de la seringue UV Copper qui intensifie la révélation pendant 4 minutes.
- Contre-coloration des lames avec la seringue HEMATOXYLIN II éosine (HE) pendant 16 minutes afin de marquer noyaux et cytoplasmes.

Les lames sont ensuite déshydratées dans des bains successifs d'alcools de degrés croissants, puis de toluène. Elles sont enfin montées à l'aide d'une colleuse de lamelle MICROM CTM6.

#### 2.4 Évaluation du marquage :

Les tissus sont rangés par blocs présentant chacun une lame représentative. Ces lames sont visionnées au préalable par l'anatomo-pathologiste afin de sélectionner une lame contenant du tissu rénal tumoral et non tumoral dans la mesure du possible. Toutes les lames (hématoxyline, éosine et immunohistochimie) sont évaluées par un anatomo-pathologiste (M.K.) et une partie par un M.K et L.S. La localisation du marquage (nucléaire et cytoplasmique) est également vérifiée. Deux contrôles internes sont réalisés à l'aide d'un témoin de tissu rénal non tumoral s'il est présent et d'un témoin de tissu pulmonaire tumoral. En effet, un témoin fait de fragments d'adénocarcinome pulmonaire d'architecture papillaire, prélevés sur un cas validé positif lors de la mise au point des CK2 $\alpha$  et CK2 $\beta$ , est apposé au bas de chaque lame.

L'intensité du marquage dans le cytoplasme et le noyau a été définie comme :

- Négatif en cas d'absence de marquage ou en cas de marquage de moins de 1% des cellules
- Positif, en cas de marquage de plus de 1% des cellules

Dans le même temps, le grade de Fürhman a été vérifié en distinguant les hauts grades (grade III/IV de Fürhman) des bas grades (grade I/II de Fürhman).

#### 2.5 Analyses statistiques :

Il s'agit d'une étude rétrospective ancillaire basée sur une cohorte initiale de 86 patients. Leurs caractéristiques ont été comparées et analysées selon le test Chi<sup>2</sup> ou le test de Fisher, Mann,Whitney si nécessaire.

La méthode de Kaplan-Meier a été utilisée pour générer les courbes de survie. La durée de survie est résumée par sa médiane et son intervalle de confiance à 95%(IC95).

Des tests de Log-Rank ont été mis en œuvre pour comparer les fonctions de survie associées à la positivité/ négativité des paramètres CK2 $\alpha$  tumoral, CK2 $\beta$  tumoral et le grade de Fürhman. Chacun de ces paramètres a été analysé par un modèle de Cox univarié puis par un modèle de Cox multivarié pour ajuster l'analyse sur le grade. Le seuil de significativité statistique retenu est de 5%.

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel Stata, version 13.1 ® (StataCorp, College Station, TX) au sein du Centre d'Investigation Clinique Plurithématique du Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble.

### **3. Résultats :**

#### 3.1 Caractéristiques de la population étudiée :

Sur les 86 prélèvements initiaux, nous avons analysé 40 prélèvements de tissus rénaux possédant une zone tumorale et non tumorale. Trois d'entre eux possédaient également du tissu métastatique. En plus de ces 40 prélèvements, 3 contenant uniquement du tissu métastatique ont été analysés. Les origines des tissus métastatiques sont ganglionnaires (N=3), hépatiques (N=2) et osseuses (N=1).

Les motifs de d'exclusion de l'analyse des 43 autres cas sont donnés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Motifs de non analyse dans l'étude (N=43 patients) :

<b>Motifs</b>	<b>Effectifs N=43</b>
Quantité de tissu disponible insuffisante	18(42%)
Consentement non retrouvé	6(14%)
Non interpretable	4(9.2%)
Prélèvements antérieurs à 2000	3(7%)
Prélèvement adressé pour second avis	1(2.3%)
Erreur de date de naissance	1(2.3%)
Absence de numéro d'enregistrement sur logiciel d'anatomopathologie	3(7%)
Date de chirurgie et d'enregistrement non concordante	5(11.6%)
Nom mal orthographié	2(4.6%)

Les deux groupes, haut grade et bas grade sont comparables (tableau 3). Sur les 40 cas de cRCC, on en compte 25 de haut grade (62.5%) de Fürhman et 15 de bas grade (37.5%).

Tableau 3 : Caractéristiques de la population étudiée (N=40)

Caractéristiques	Nombre de patients (N=40)		Valeurs p
	Bas (N=15)	Haut (N=25)	
<b>Sexe</b>			1.000 <sup>(2)</sup>
Masculin	10 (66.7%)	17 (68%)	
Féminin	5 (33.3%)	8 (32%)	
<b>Age au diagnostic (années)</b>	62 [49; 69]	68 [51; 75]	0.675 <sup>(3)</sup>
<b>Facteurs de risque</b>			
Hypertension artérielle	9 (60%)	13 (56.5%)	0.832 <sup>(1)</sup>
VHL syndrome	0	0	-
Tabagisme	6 (54.6%)	11 (52.4%)	0.907 <sup>(1)</sup>
Dialyse	1 (7.4%)	0	0.368 <sup>(2)</sup>
<b>Autres types histologiques</b>			
Sarcomatoïde	0	6 (24%)	
Rhabdomyoïde	0	3 (12%)	
<b>Néphrectomie</b>			
Oui	15 (100%)	24 (96%)	1.000 <sup>(2)</sup>
<b>Métastases</b>			0.452 <sup>(1)</sup>
Synchrones	7 (50%)	9 (37.5%)	
Metachrones	7 (50%)	15 (62.5%)	
<b>Nombre de site atteint</b>			0.804 <sup>(1)</sup>
1 site	6 (40%)	11 (44%)	
≥2 sites	9 (60%)	14 (56%)	
<b>Localisation du site métastatique</b>			
Os	6 (40%)	12 (48%)	0.622 <sup>(1)</sup>
Poumon	10 (66.7%)	15 (60%)	0.673 <sup>(1)</sup>
Foie	5 (33.3%)	6 (24%)	0.716 <sup>(2)</sup>
Ganglion	2 (13.3%)	9 (36%)	0.158 <sup>(2)</sup>
Autre	5 (33.3%)	5 (20%)	0.457 <sup>(2)</sup>
<b>Stade au diagnostic (TNM 2009)</b>			
pT1-T2	7 (46.6%)	5 (20%)	
pT3-T4	8 (53.4%)	20 (80%)	
N0	2 (13%)	3 (12%)	
N+	1 (6.5%)	4 (16%)	
Nx	12 (80.5%)	18 (72%)	
<b>Marges d'exérèse</b>			
R0	13(87%)	22 (88%)	
R1	2 (13%)	2 (8%)	
R2	0	1 (8%)	
<b>Groupe pronostic en fonction de la classification du Groupe Français d'Immunothérapie</b>			0.316 <sup>(2)</sup>
Mauvais	3 (20%)	8 (32%)	
Intermédiaire	8 (53.3%)	13 (52%)	
Bon	4 (26.7%)	2 (8%)	
Inconnu	0	2 (8%)	
<b>Médiane de suivi (mois)</b>	71 [16.3 ;109.9]	18.8[10.8 ;39.1]	

Pourcentage (Effectif) , Médiane [25<sup>ème</sup>-75<sup>ème</sup> percentiles]  
 Test du Chi-2<sup>(1)</sup> ; Test exact de Fisher<sup>(2)</sup> ,Mann-Whitney<sup>(3)</sup>

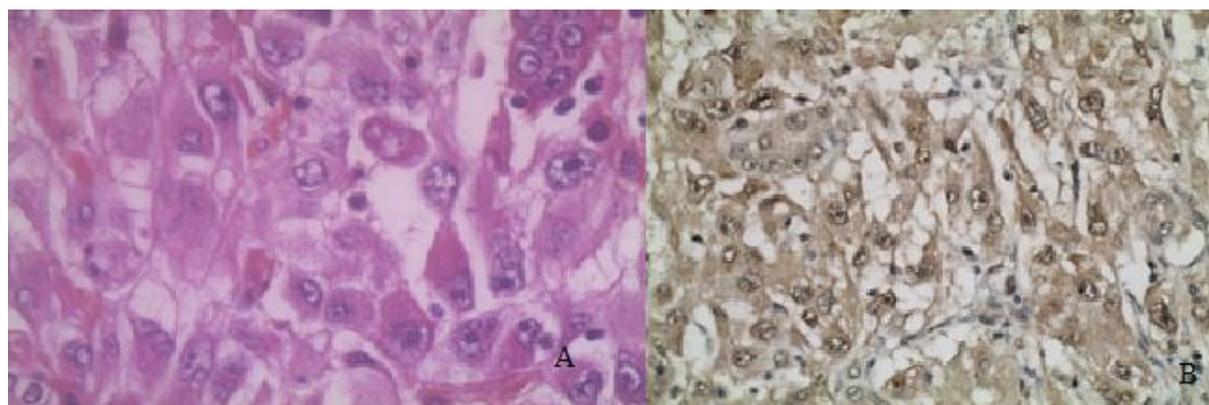
### 3.2 Localisation de l'expression de CK2 :

L'expression des deux sous-unités est globalement nucléo-cytoplasmique (N/C) dans le tissu rénal non tumoral.

Parmi les 25 prélèvements classés de haut grade (figure 1), nous remarquons l'absence d'expression de CK2 $\alpha$  et CK2 $\beta$  en zone tumorale dans 8 cas (32%) et 2 cas (8%) respectivement. Pour 7 cas (28 %), l'expression de CK2 $\alpha$  en zone tumorale est N/C. En ce qui concerne l'expression de CK2 $\beta$  en zone tumorale, elle est N/C dans 14 cas (56%). L'ensemble de la répartition de l'expression des deux sous-unités pour les prélèvements de haut grade se trouve dans le tableau 4.

Parmi les 15 prélèvements de bas grade (figures 2 et 3), 12 (80%) n'expriment pas CK2 $\alpha$  en zone tumorale. Cinq prélèvements (33%) n'expriment pas CK2 $\beta$  en zone tumorale. En ce qui concerne l'expression de CK2 $\beta$  en zone tumorale, elle est membranaire et cytoplasmique pour 4 cas (24%). L'ensemble de la répartition de l'expression des deux sous-unités pour les prélèvements de bas grade se trouve dans le tableau 5.

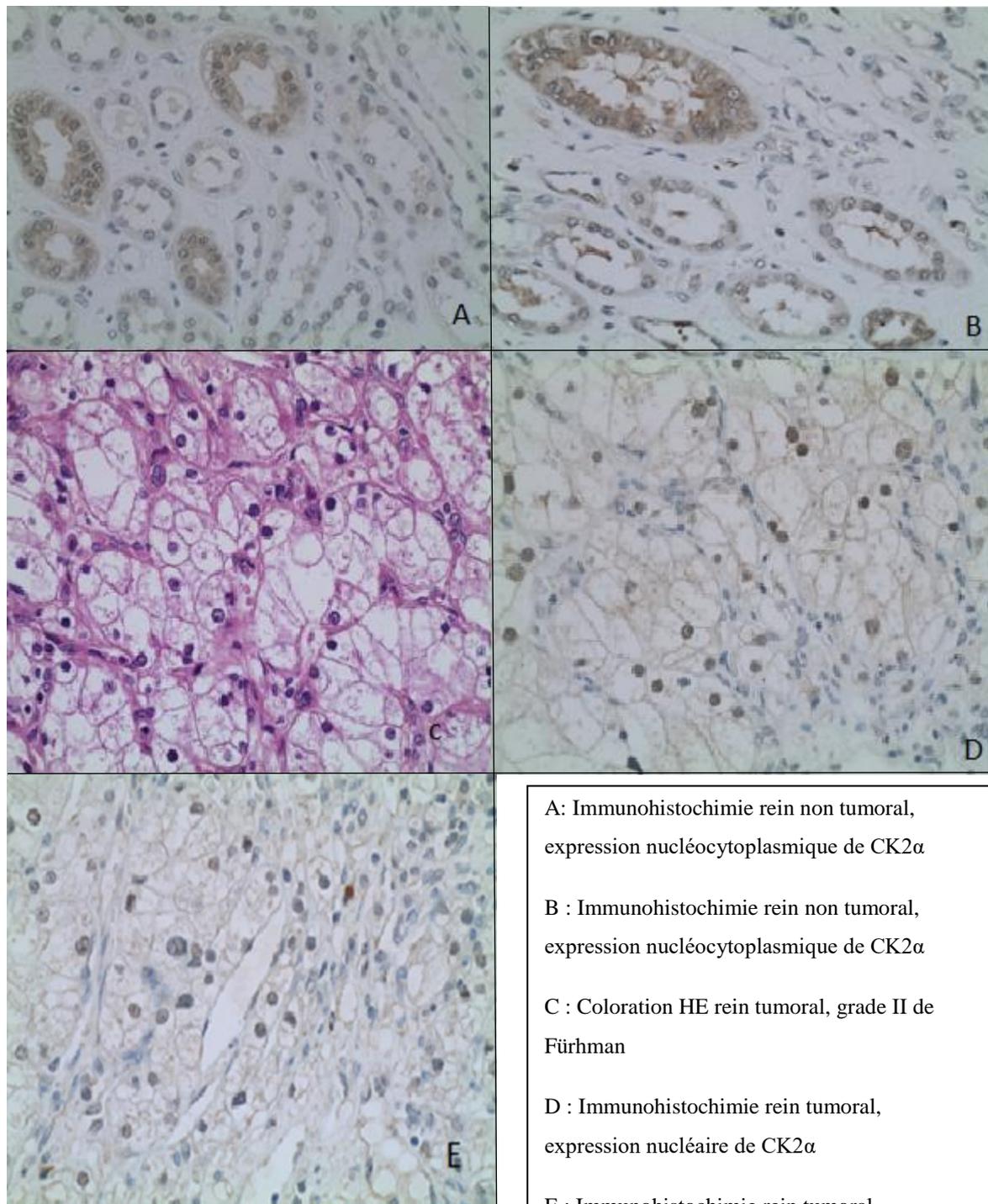
Figure 1 : Photos d'immunohistochimie de rein tumoral de haut grade de Fürhman.



A: Coloration HE rein tumoral grade IV de Fürhman

B: Immunohistochimie rein tumoral, expression nucléocytoplasmique de CK2 $\beta$

Figure 2 : Photos d'immunohistochimie de rein non tumoral et tumoral de bas grade de Fürhman.



A : Immunohistochimie rein non tumoral,  
expression nucléocytoplasmique de CK2 $\alpha$

B : Immunohistochimie rein non tumoral,  
expression nucléocytoplasmique de CK2 $\alpha$

C : Coloration HE rein tumoral, grade II de  
Fürhman

D : Immunohistochimie rein tumoral,  
expression nucléaire de CK2 $\alpha$

E : Immunohistochimie rein tumoral,  
expression nucléaire de CK2 $\beta$  et focalement  
cytoplasmique

Figure 3 : Photos d'immunohistochimie de rein tumoral de bas grade de Fürhman.

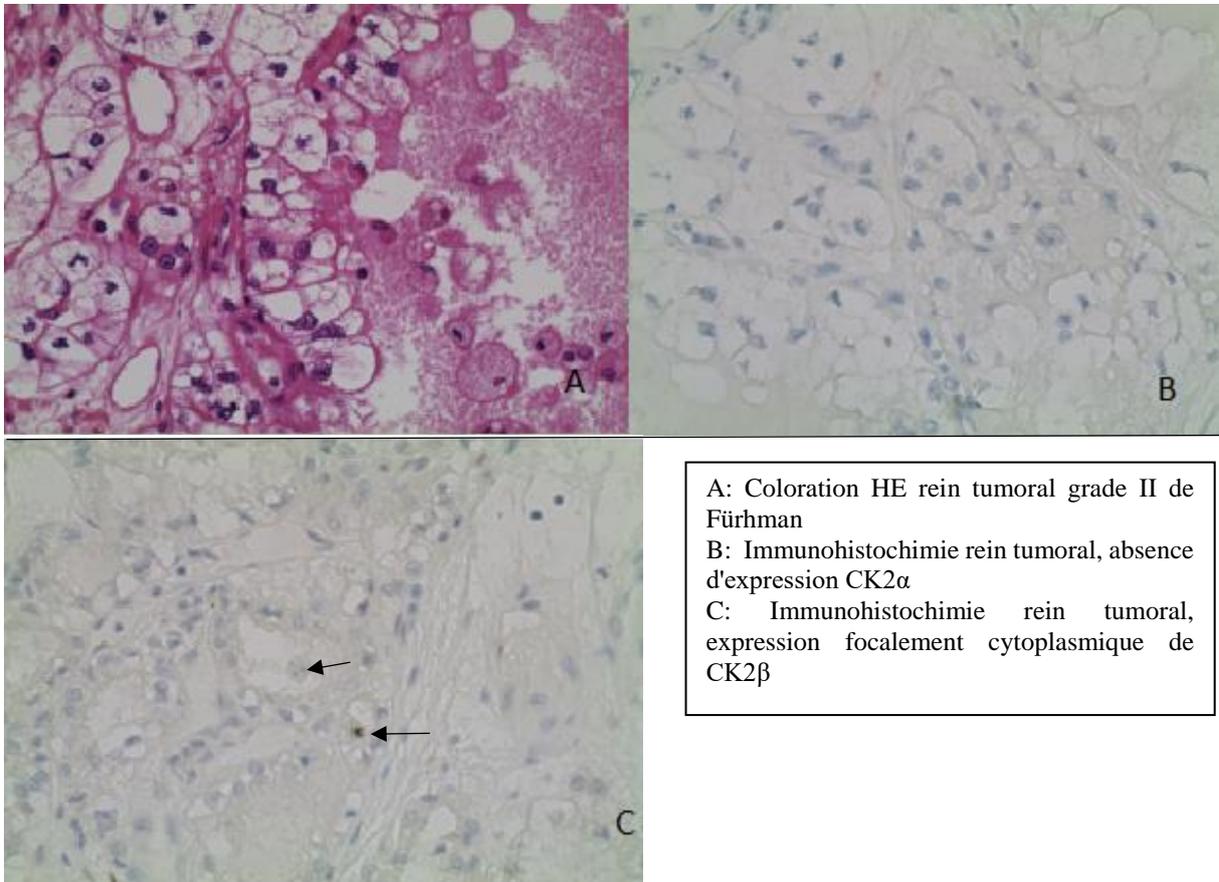


Tableau 4 : Expression et localisation des sous-unités de CK2 dans les tissus rénaux non tumoraux et tumoraux de haut grade (N=25 soit 62.5% des prélèvements analysés) :

Type de tissu	Rein non tumoral		Rein tumoral	
	CK2 $\alpha$	CK2 $\beta$	CK2 $\alpha$	CK2 $\beta$
Sous-unités de CK2				
Négative	4 (16%)	0	8 (32%)	2 (8%)
Nucléocytoplasmique(N/C)	10 (40%)	15 (60%)	7 (28%)	14 (56%)
Cytoplasmique	7 (28%)	8 (32%)	5(20%)	4 (16%)
Nucléaire	2 (8%)	1 (4%)	4 (16%)	3 (12%)
Membranaire et N/C	1 (4%)	0	1 (4%)	0
Membranaire et cytoplasmique	0	0	0	1 (4%)
Membranaire et nucléaire	0	0	0	1 (4%)
Inconnu	1 (4%)	1 (4%)	0	0

Tableau 5 : Expression et localisation des sous-unités de CK2 dans les tissus rénaux non tumoraux et tumoraux de bas grade (N=15 soit 37.5% des prélèvements analysés) :

Type de tissu	Rein non tumoral		Rein tumoral	
	CK2 $\alpha$	CK2 $\beta$	CK2 $\alpha$	CK2 $\beta$
Sous-unités CK2				
Négative	2(13%)	1(7%)	12(80%)	5(33%)
Nucléocytoplasmique(N/C)	9(60%)	13(86%)	1(7%)	3(20%)
Cytoplasmique	4(27%)	1(7%)	0	2(14%)
Nucléaire	0	0	2(13%)	0
Membranaire et cytoplasmique	0	0	0	4(26%)
Membranaire et nucléaire	0	0	0	1(7%)

Parmi les 6 cas métastatiques, nous retrouvons deux cas de bas grade (métastases ganglionnaire et hépatique) et 4 de haut grade. L'expression des sous-unités de CK2 est représentée dans le tableau 6.

Tableau 6 : Expression et localisation des sous-unités de CK2 dans les tissus rénaux non tumoraux et tumoraux de métastases (N=6) :

Type de tissu	Rein non tumoral		Métastase	
	CK2 $\alpha$	CK2 $\beta$	CK2 $\alpha$	CK2 $\beta$
Sous-unités CK2				
Négative	1(17%)	0	3(50%)	0
Nucléocytoplasmique(N/C)	0	0	2(33%)	5(83%)
Cytoplasmique	0	1(17%)	0	0
Nucléaire	0	0	1(17%)	0
Membranaire et cytoplasmique	0	0	0	1(17%)
Inconnu	5(83%)	5(83%)	0	0

### 3.3 Analyse de la survie :

Le suivi médian des patients est de 44.7 mois (IC95 10.8 mois-109 mois). Neuf patients sont toujours vivants à la date d'analyse soit 22.5% des patients. La survie globale médiane de l'ensemble de la population est de 30.2 mois (IC95 13.6 mois-51.2 mois) (Figure 4), de 19.8 mois (IC95 12mois-38.8 mois) pour les hauts grades et de 79.6 mois (IC95 11.6 mois-129.1 mois) pour les bas grades de Fürhman (p=0.011) (Figure 5).

Figure 4 : Courbe de Kaplan-Meier, survie globale de l'ensemble de l'ensemble de la population étudiée.

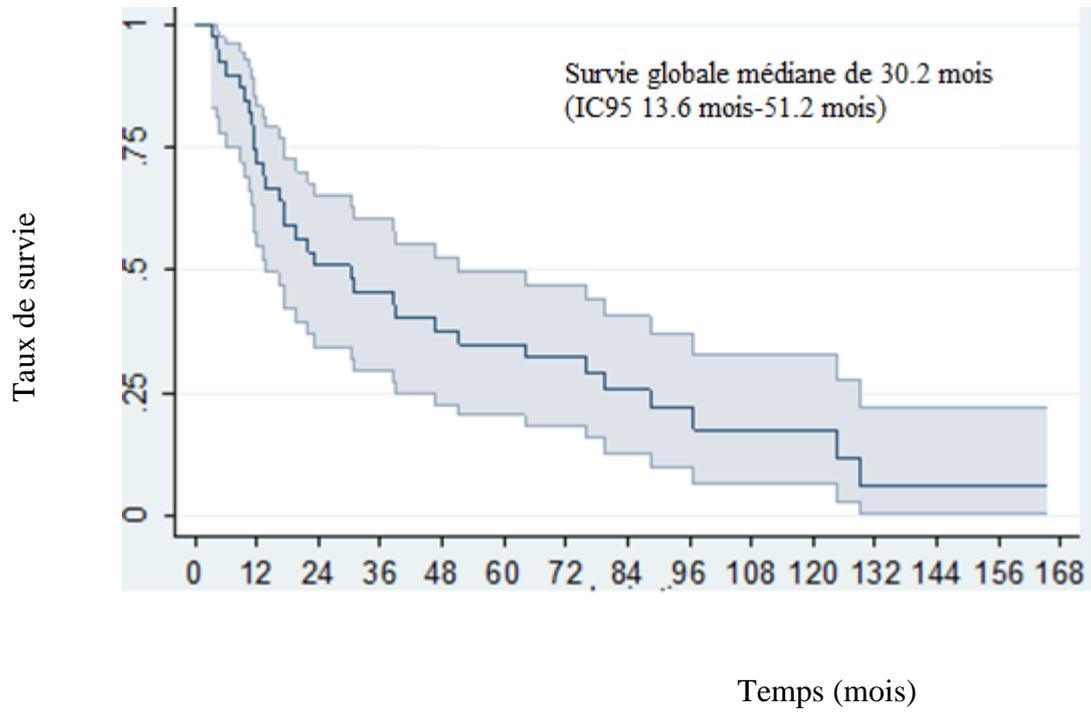
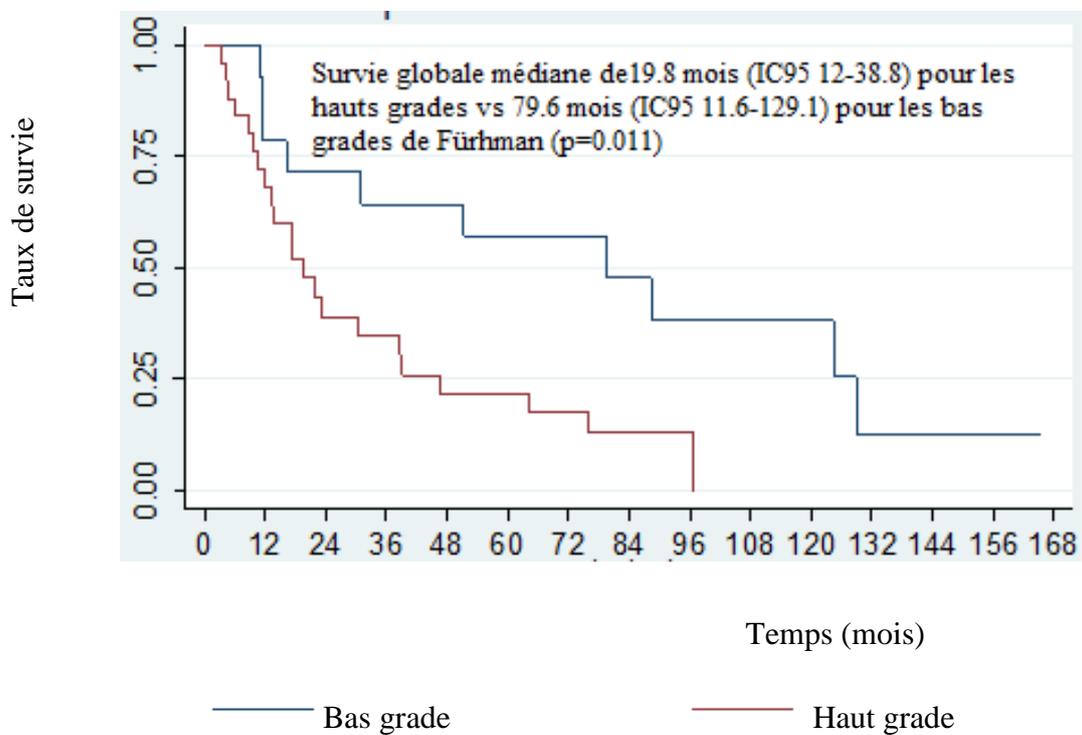


Figure 5 : Courbe de Kaplan-Meier, survie globale en fonction du grade de Fürhman.



La survie globale médiane en l'absence de CK2 $\alpha$  est de 51.2 mois (IC95 12 ; 88.4) contre 17.3 mois (IC95 10.8 ; 46.7) en cas d'expression de CK2 $\alpha$  (p= 0.176) (Figure 6). La survie globale médiane en l'absence de CK2 $\beta$  est de 31 mois (IC95 11.1 ; -) contre 23.2 mois (IC95 13.6 ; 51.2) en cas d'expression de CK2 $\beta$  (p = 0.164) (Figure7).

La survie globale en fonction de la présence de CK2 retrouve une tendance à une survie moindre en cas de présence de CK2. Cependant, nous ne pouvons conclure car les résultats ne sont pas statistiquement significatifs.

Figure 6 : Courbe de Kaplan-Meier, analyse de la survie globale en fonction de l'expression de CK2 $\alpha$  tumoral :

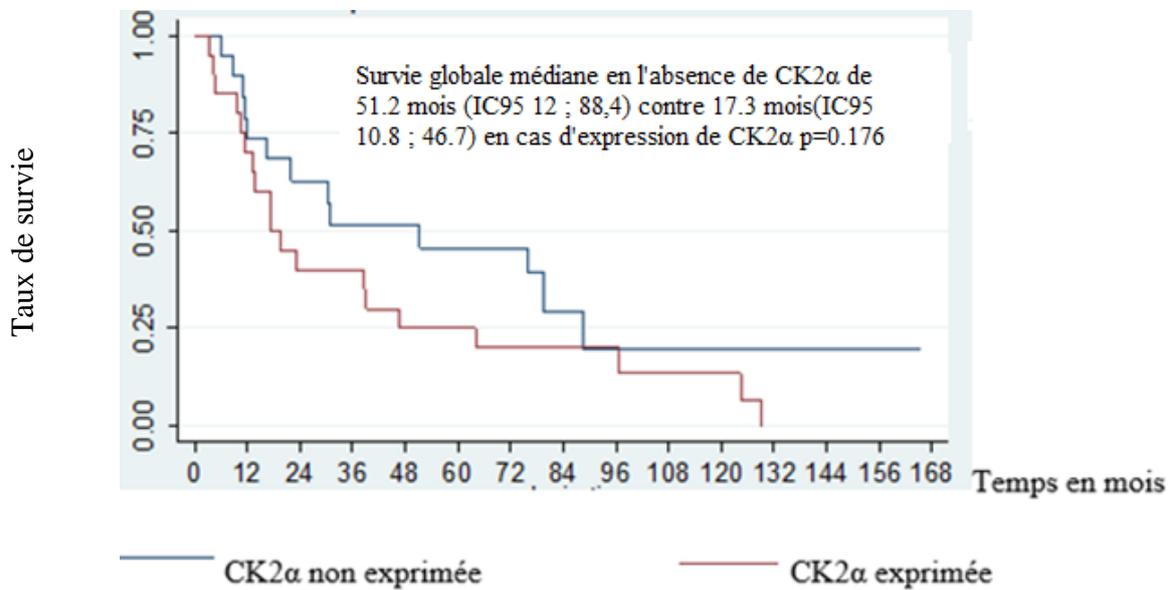
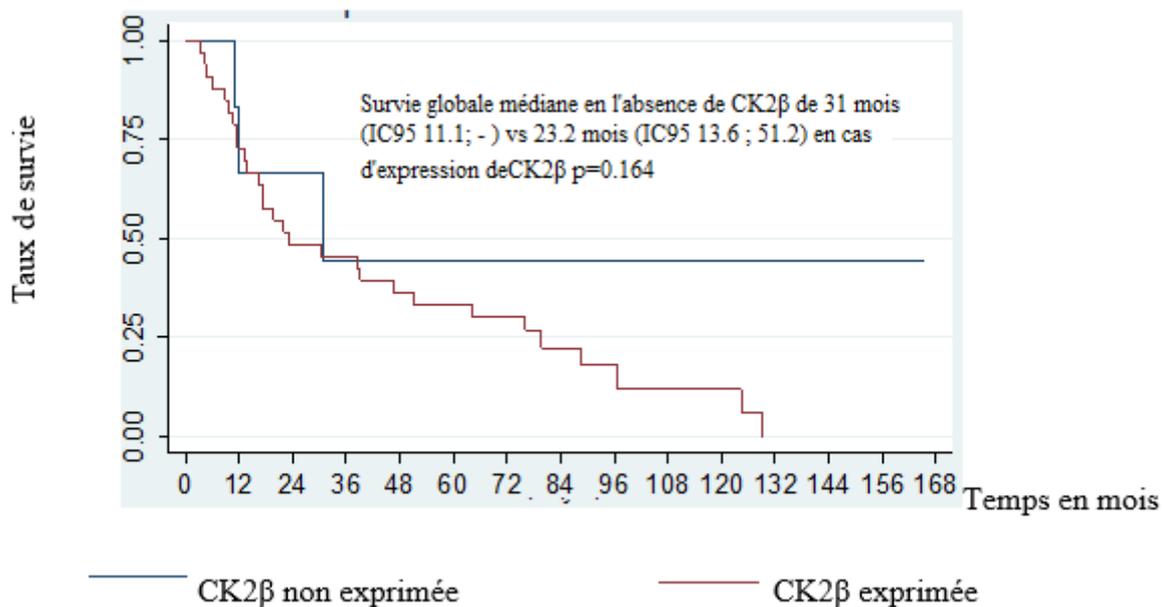


Figure 7 : Courbe de Kaplan-Meier, analyse de la survie globale en fonction de l'expression de CK2 $\beta$  tumoral :



L'analyse par un test de Chi-2 montre qu'il existe un lien entre le niveau d'expression des sous-unités de CK2 $\alpha$  dans le tissu tumoral et le grade ( $p=0.008$ ). Il existe un très probable lien entre le niveau d'expression de CK2 $\beta$  dans le tissu tumoral et le grade ( $p=0.08$ ) avec des résultats proches de la significativité. Il n'existe pas de lien entre le grade et l'expression des 2 sous-unités de CK2 dans le tissu rénal non tumoral ( $p=1.000$  pour CK $\alpha$  et  $p=0.385$  pour CK2 $\beta$  dans tissu rénal non tumoral).

Une analyse multivariée comprenant le grade et l'expression de CK2 a été réalisée afin de s'assurer que le grade ne soit pas un facteur confondant. Dans cette analyse, il existe une tendance à la significativité. En cas d'expression de CK2 $\alpha$  tumoral, il existe une augmentation du risque de décès de 1.10 (IC95 0.51-2.39,  $p=0.803$ ) et une augmentation du risque de décès de 2.71 (IC95 1.09-6.73 ;  $p=0.031$ ) en cas de haut grade.

De même, en cas d'expression de CK2 $\beta$  tumoral, il existe une augmentation du risque de décès de 1.63 (IC95 0.46-5.76 ;  $p=0.448$ ) et une augmentation du risque de décès en cas de haut grade de 2.56 (IC95 1.08-6.06 ;  $p=0.032$ ).

Les médianes de survies globales en fonction du pronostic selon la classification du Groupe Français d'Immunothérapie sont de 13.3 mois (IC 95 6.36-4.6 mois) en cas de mauvais

pronostic, de 38.8 mois (IC95 13.1-17.1) en cas de pronostic intermédiaire et de 79.6 mois (IC95 2.5 -111.1) en cas de bon pronostic (p=0.195).

#### **4. Discussion :**

Il s'agit d'une étude rétrospective monocentrique ancillaire basée sur une cohorte initiale de 98 patients. L'étude de cette cohorte a montré une amélioration de la survie globale des patients atteints de cancer du rein métastatique, quel que soit le groupe pronostique, grâce à l'apport des thérapies ciblées. La médiane de survie globale est de 30 mois contre 13 mois (p <0.003) (41,42). Dans notre étude, l'objectif principal est de vérifier le niveau et la répartition d'expression nucléaire et cytoplasmique des sous-unités de CK2 en immunohistochimie à partir de tissus humains des cRCC issus de cette cohorte. Les objectifs secondaires sont d'analyser la survie globale en fonction du niveau d'expression des sous-unités de CK2, du grade de Fürhman et du pronostique selon la classification du Groupe Français d'Immunothérapie.

Le niveau d'expression de CK2 est modifié au niveau des cRCC. Il existe une perte de l'expression de CK2 $\alpha$  dans 80% des prélèvements de bas grade et 32% des prélèvements de haut grade. Il existe une perte de l'expression de CK2 $\beta$  dans 33% des prélèvements de bas grade contre 8% au niveau des prélèvements de haut grade. Nous remarquons l'absence d'expression des deux sous-unités de CK2 dans un petit nombre de tissus rénaux non tumoraux. Ceci pourrait s'expliquer par un tissu certes non tumoral mais restant péri tumoral et dans lequel l'oncogénèse serait en cours. L'expression est globalement N/C pour les sous-unités  $\alpha$  (28%) et  $\beta$  (56%) sur les échantillons de haut grade. L'expression de CK2 $\beta$  est globalement nucléaire et membranaire (27%) dans les prélèvements de bas grade. L'expression des deux sous-unités de CK2 est globalement nucléocytoplasmique dans le tissu rénal non tumoral.

La survie globale médiane est de 30.2 mois (IC95 13.6 mois-51.2 mois), de 19.8 mois (IC95 12 mois-38.8 mois) pour les hauts grades et de 79.6 mois (IC95 11.6 mois-129.1 mois) pour les bas grades de Fürhman (p=0.011).

La survie globale est meilleure pour les bas grades par rapport aux hauts grades. Il existe un lien entre le grade et l'expression de CK2 dans le tissu rénal tumoral. Cependant, l'analyse multivariée de la survie globale en fonction du niveau d'expression de CK2 et du grade ne permet pas de conclure, même s'il existe une tendance à la significativité, à savoir que la survie globale est meilleure en l'absence d'expression des deux sous-unités de CK2.

Il semblerait que la perte de l'expression de la CK2 $\alpha$  soit associée à des cRCC de bas grade et donc à une survie globale meilleure. L'absence de significativité vient du manque d'effectif. Il aurait fallu en moyenne 50 patients de haut grade et de 50 patients de bas grade avec un risque  $\alpha=0.05$  et  $\beta=10\%$  pour pouvoir conclure.

Actuellement, les critères biologiques pronostiques du cRCC sont des critères histologiques (le grade de Fürhman, le stade pTNM, le niveau de nécrose tumorale, des éléments reflétant l'angiogenèse, ainsi que d'autres éléments moins utilisés en pratique courante tels que l'analyse de voies de signalisation favorisant l'émergence de cancer, le cycle cellulaire, la polarité apico-basale, la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT)). Des critères pronostiques de biologie moléculaire peuvent également être utilisés (étude de gènes tels que VHL, BAP1, PRM1).

#### 4.1 Critères pronostiques étudiés dans le carcinome rénal à cellules claires :

##### 4.1.1 Critères immunohistochimiques.

Le grade de Fürhman et le stade pTNM sont utilisés (24,43) mais controversés. La densité vasculaire, le niveau d'expression du VEGF et de Flk-1 (Fetal liver kinase-1) ont été analysés sur des pièces de néphrectomie partielle de patients non métastatiques. Un haut grade de Fürhman et un niveau d'expression de VEGF élevé (supérieur à 25%) sont des facteurs de mauvais pronostic. Les autres critères ne permettent pas de conclure (44). Une autre étude, portant sur une cohorte de 50 patients non métastatiques ayant bénéficié d'une néphrectomie totale, s'est intéressée à la survie globale et au risque de rechute en fonction du niveau de nécrose tumorale, de la densité vasculaire, du niveau d'expression du VEGF et de HIF-1 $\alpha$ , du grade et du stade pTNM. L'ensemble de ces paramètres influe sur le risque de rechute et impacte sur la survie (45). La Carbonic Anhydrase IX (CA IX) appartient à une famille d'enzymes qui catalysent l'interconversion rapide du dioxyde de carbone et de l'eau en bicarbonate et en protons. C'est l'un des marqueurs les plus importants de l'hypoxie tumorale, pouvant être un marqueur pronostic, diagnostic mais également une cible thérapeutique. L'expression de CA IX a été déterminée dans des échantillons de sang et de tissus provenant de 74 patients atteints de cRCC en utilisant une reverse transcriptase en chaîne par polymérase (RT-PCR), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), des analyses en Western Blot (WB) et en immunohistochimie (IHC). Un niveau d'expression élevé du CA IX est associé à un stade élevé de cRCC. Les taux sériques de CA IX, déterminés par ELISA, étaient significativement plus élevés chez les patients porteurs cRCC que chez les patients sains (46). Cependant, la principale faiblesse de critères anatomo-pathologique reste leur mauvaise reproductibilité.

#### 4.1.2 *La voie Wnt/ $\beta$ -caténine.*

La voie wingless integration site (Wnt)/ $\beta$ -caténine implique des glycoprotéines, jouant un rôle important dans l'embryogenèse et l'homéostasie cellulaire. Un dérèglement de cette voie peut conduire à l'émergence de cancers. Cette voie active une cascade de phosphorylation dont la  $\beta$ -caténine, facteur de transcription. Le niveau d'expression de la  $\beta$ -caténine a été analysé en immunohistochimie sur une cohorte de tissu humain en comparant le tissu rénal non tumoral au tissu tumoral. Un niveau d'expression élevé de  $\beta$ -caténine membranaire est associé à un stade avancé, un envahissement vasculaire et une nécrose tumorale plus importants ( $p \leq 0,01$ ). Chez ces patients atteints d'un cRCC de haut grade, d'un stade avancé avec un envahissement vasculaire et ganglionnaire et d'un double contingent sarcomatoïde, il existe une augmentation de l'expression de la  $\beta$ -caténine cytoplasmique associée à une survie globale moindre (47).

#### 4.1.3 *Le cycle cellulaire et Aurora.*

La protéine Aurora-A appartient à une famille multigénique de sérine / thréonine kinases mitotiques comprenant deux autres membres : Aurora-B et Aurora-C. Aurora-A se localise au niveau des centrosomes en phase S. Dès que les centrioles ont été dupliqués, la protéine est dégradée. Cette kinase est impliquée dans la maturation, la duplication et la séparation des centrosomes ainsi que dans la stabilité du fuseau bipolaire. Aurora-A se trouve dans tous les organismes dans lesquels le contrôle de la ségrégation des chromosomes a été conservée. Chez l'homme, beaucoup d'attention lui a été portée. Son augmentation est associée à un haut grade dans diverses tumeurs solides (48). Le niveau d'expression d'Aurora-A a été mesuré sur des cRCC humains par reverse transcriptase et en immunohistochimie. L'analyse a porté sur des tissus rénaux non tumoraux et tumoraux. Un haut niveau d'expression d'Aurora-A sur les tissus tumoraux est lié à un haut grade de la tumeur. Il n'y a pas de différence significative de la survie sans récurrence entre les patients avec une forte expression d'Aurora-A et ceux qui ont une faible expression. En conclusion, il existe une élévation de l'expression d'Aurora-A dans les cRCC associée à un haut grade de Führman. Cependant, son lien avec la survie sans rechute n'a pas encore été démontré. Nous ne pouvons pas actuellement considérer Aurora-A comme un facteur pronostic (49).

#### 4.1.4 *La polarité apico-basale.*

La polarité apico-basale est essentielle au bon déroulement des processus de division, d'apoptose et de migration cellulaire. Des perturbations de la polarité interviennent dans la

progression tumorale, notamment pour le cancer du rein (50). La polarité apico-basale des cellules épithéliales est maintenue par l'implication de plusieurs complexes protéiques dont les Protéines Partition-defective 3 (PAR-3) et Crumbs, ainsi que par l'intégrité des jonctions intercellulaires. PAR-3 est une protéine intervenant dans le développement et le maintien de la polarité. Elle est associée à des protéines impliquées dans l'organisation du cytosquelette. L'analyse immunohistochimique d'échantillons de cRCC de 96 patients, suivis pendant six ans, a révélé que la surexpression de PAR-3 est corrélée à une faible survie (51). D'autre part, l'expression cytoplasmique de PAR-3 est associée à des critères histologiques défavorables tels qu'un haut grade de Führman, la présence de nécrose tumorale ou de contingents sarcomatoides, un envahissement ganglionnaire, des surrénales ou de la graisse rénale, une inactivation du gène VHL, ainsi qu'à des survies globale et sans progression moindres, permettant d'identifier des tumeurs de mauvais pronostics (52). Ces deux études montrent que PAR-3 est un facteur de mauvais pronostic. Les protéines Crumbs, dont CRB-3, jouent un rôle crucial dans le maintien de la polarité de l'épithélium, la formation de la membrane apicale et la morphogénèse des tissus. Elle est faiblement exprimée dans les tissus de cRCC, mais fortement exprimée dans les tissus non tumoraux adjacents. Les patients ayant une perte d'expression de CRB-3 ont une survie globale plus faible que ceux ayant une expression de CRB-3 normale. CRB-3 est donc un facteur pronostic favorable dans les cRCC (53).

#### *4.1.5 La transition épithélio-mésenchymateuse.*

La transition épithélio-mésenchymateuse (EMT) participe à la progression tumorale (54). Ce processus par lequel les cellules épithéliales acquièrent un phénotype mésenchymateux commence par une perte de la polarité et de l'adhérence cellule-cellule. Ceci entraîne une augmentation de la motilité cellulaire favorisant la migration et l'envahissement à distance. Au niveau moléculaire, l'EMT est caractérisée par la modification de certains profils d'expression génétique aboutissant à une diminution des marqueurs épithéliaux (E-cadhérine, ZO-1 et les cytokératines) et à une augmentation des marqueurs mésenchymateux tels que la vimentine. Le niveau d'expression de onze marqueurs de l'EMT (E-cadhérine, N-cadhérine,  $\beta$ -caténine,  $\gamma$ -caténine, clustérine, Slug, Escargot, Twist, vimentine, ZEB1 et ZEB2) a été vérifié en immunohistochimie sur des échantillons de néphrectomie radicale de 122 patients non métastatique. Une modification des taux d'expression de E-cadhérine, clustérine, Twist et vimentine est prédictive de récurrence. Les niveaux d'expression de marqueurs d'EMT sont des facteurs prédictifs de rechute de cRCC localisés après néphrectomie totale (55).

#### 4.1.6 Analyse moléculaire génétique.

Au niveau moléculaire, le gène VHL, gène suppresseur de tumeur, est muté dans 70% des cRCC. Cette mutation apparaît précocement dans l'oncogenèse rénale. Des données récentes montrant une vaste diversité génétique inter et intra-tumorale ont donné lieu à l'idée que le cRCC doit être considéré comme une série d'altérations génétiques distinctes formant un pattern moléculaire fonctionnant en collaboration avec une perte de fonction de VHL menant à la tumorigenèse (56).

Plus récemment, plusieurs gènes suppresseurs de tumeurs (BAP1 et PBRM1) ont été identifiés à proximité du gène VHL, dans une région du chromosome 3p qui est fréquemment supprimée dans les cRCC (57). Ces gènes interviennent dans la modification des histones et le remodelage de la chromatine. BAP1 est muté dans 10 à 15% des cRCC et PBRM1 dans 40% à 50%. Sur une analyse en immunohistochimie de 1479 prélèvements humains, les patients dont les prélèvements étaient PBRM1 + BAP1 + avaient un meilleur pronostic que ceux PBRM1- BAP1 + (HR 1,39,  $p = 0,035$ ), suivis par ceux avec PBRM1 + BAP1- et ceux PBRM1- BAP1- (respectivement HR 3,25 et 5,2, chaque  $p < 0,001$ ) (58,59).

La perte de la fonction du gène VHL est au centre de l'oncogenèse du cRCC. Elle pourrait être causée par des perturbations des checkpoints du cycle cellulaire, impliquant les kinases Aurora ou encore résulter de la perte d'adhérence cellule-cellule et de la polarité cellulaire régulée par les kinases mitotiques dont CK2 et Aurora-A (60).

#### 4.2 CK2, un élément pronostic supplémentaire ?

CK2 intervient dans l'ensemble de ces mécanismes. Elle joue un rôle dans l'angiogenèse en interagissant avec HIF-1 $\alpha$  ou par l'intermédiaire de facteurs pro-angiogéniques tels que AKT ou MAP kinase (61). L'inhibition de CK2 permettrait alors d'inhiber l'angiogenèse tumorale.

CK2 intervient également dans la voie Wnt/ $\beta$ -caténine (62) en évitant sa dégradation par le protéasome lui permettant ainsi de jouer son rôle de facteur de transcription.

CK2 interagit également avec Aurora (63) lors de la ségrégation des chromosomes à l'anaphase en régulant le kinétochore. Une perte d'activité de CK2 inhibe l'anaphase et est à l'origine d'une mauvaise ségrégation des chromosomes et d'une possible oncogenèse.

CK2 intervient aussi dans l'EMT. Une dérégulation de la balance CK2 $\alpha$ / CK2 $\beta$  dans le cancer du sein est associée à une modification de l'expression de marqueurs de l'EMT, une étape clé dans la formation de métastases (37,38). L'expression de la sous-unité régulatrice CK2 $\beta$  joue un rôle crucial dans le maintien du phénotype épithélial. La diminution de son expression dans les tumeurs du sein est à l'origine de l'induction de l'EMT.

Récemment, il a été montré que CK2 interagit avec les lymphocytes T régulateurs (64), étudiés dans le cadre d'allergie. L'étude du rôle de CK2 dans l'immunité n'en est qu'à son début.

Pour son implication dans l'angiogenèse, le cycle cellulaire, l'apoptose, la polarité apico-basale, l'EMT et la réponse immunitaire adaptative, CK2 semble être un partenaire de choix dans l'oncogenèse tumorale du rein et pourrait être un facteur pronostic.

#### 4.3 Signification biologique des résultats.

Parmi les substrats de CK2, notre attention se porte plus particulièrement sur des protéines jouant un rôle dans l'apoptose et le cycle cellulaire. Certains substrats tels que Dsh (dishvelled), AKT, PTEN (Phosphatase and Tensin homolog), STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription) et  $\beta$ -caténine sont régulés par CK2. En l'occurrence, nous supposons que la perte de CK2 dans les tumeurs de bas grade serait à l'origine d'une levée de l'inhibition de PTEN, d'une augmentation de l'apoptose et d'une diminution de la translocation de facteurs de transcription impliqués dans la survie cellulaire.

L'absence de CK2 dans les tumeurs de bas grade est-elle la conséquence ou la cause du phénotype de bas grade ? Pour répondre à cette question, il faudrait envisager un modèle cellulaire avec modulation de l'expression génique de CK2 au moyen d'une cassette Tet-on ou Tet-off, au sein de cellules humaines de cancers du rein. La création d'un modèle murin avec une greffe, dans l'idéal orthotopique, de ces cellules permettrait le développement de tumeurs rénales humaines, d'en analyser le grade tout en vérifiant le niveau d'expression de CK2.

#### 4.4 CK2, une cible thérapeutique potentielle ?

Le CX-4945 est un inhibiteur ATP-compétitif hautement spécifique des deux isoformes des sous-unités catalytiques CK2 $\alpha$  et CK2 $\alpha'$ . Le CX-4945 inhibe la phosphorylation de la sérine 129 d'AKT qui est un site phosphorylé par CK2. Ceci entraîne une inactivation de la voie PI3K/AKT, un arrêt du cycle cellulaire et une induction de l'apoptose (65). De plus, en réponse à l'hypoxie, situation fréquemment rencontrée dans les tumeurs, le CX-4945 inhibe l'activation

transcriptionnelle de HIF-1 $\alpha$  avec pour conséquence l'induction de l'apoptose via les caspases 3 et 7.

CK2 serait une cible thérapeutique prometteuse car intervenant dans de nombreux mécanismes participant à l'oncogenèse tumorale.

Cependant, dans notre étude, 80% cRCC de bas grade n'expriment pas CK2 $\alpha$ . Ceci nécessiterait donc la vérification préalable du statut de CK2 avant l'utilisation du CX-4945.

#### 4.5 Les points forts et limites de l'étude.

Notre étude est l'une des rares sur CK2 au sein du tissu rénal humain. L'hypothèse biologique que CK2 pourrait être un facteur pronostic dans les cRCC est fondée sur des bases biologiques solides. Les résultats concernant le grade et la survie confirment les données de la littérature. Cependant, nos résultats concernant la survie et CK2 ne sont pas significatifs et ne permettent pas de conclure. Ceci s'explique par le manque d'effectif.

D'autres limites sont notées : il s'agit d'une étude rétrospective mais préliminaire et donc nécessaire avant la mise en place d'une étude prospective. Pour confirmer ces résultats, il serait nécessaire de mener cette étude sur un effectif plus grand, puis de vérifier le statut de CK2 sur une étude prospective de tissus humains issus de néphrectomie totale chez patients indemnes de métastases, en mesurant les survies globale et sans rechute.

D'autres facteurs confondants peuvent intervenir notamment le type de thérapies, ciblée ou non. Compte tenu du manque de puissance de l'étude, nous avons choisi de ne pas multiplier les analyses multivariées. L'analyse en fonction d'une autre classification pronostic n'a pas pu être réalisée en raison de manque de données, notamment la classification de Heng.

Il aurait également été intéressant de réaliser une évaluation semi-quantitative par immunohistochimie de l'expression de CK2 en précisant le cut-off afin de définir les niveaux d'expression faible, moyen et fort. Cependant, l'analyse de CK2 par immunohistochimie rend difficile la reproductibilité de la lecture. Dans notre étude, nous remarquons une discordance entre le grade visualisé lors de l'étude et le grade rendu sur le compte rendu anatomopathologique. Huit cas rendus de bas grade dans l'étude sont finalement notés de haut grade sur le compte rendu. Un cas noté de haut grade est rendu de bas grade sur le compte rendu anatomopathologique final. Ceci renvoie à la l'émergence du concept d'hétérogénéité tumorale (63,64), tant au niveau des tumeurs primitives elles-mêmes, qu'entre les différentes métastases

qui peuvent se développer à distance et dans le temps. Cette hétérogénéité tumorale, certes connue sur un plan fondamental mais qui n'a pas d'utilisation courante pour l'instant, explique en partie la faiblesse d'une étude histologique. Un autre biais est celui de l'interprétation de l'expression de CK2 qui n'a pas bénéficiée d'une lecture en aveugle par deux anatomopathologistes.

THÈSE SOUTENUE PAR : Laure SCHOUTTETEN

TITRE : Expression de la protéine kinase CK2, étude monocentrique rétrospective de son profil d'expression au sein d'une cohorte de patients atteints de carcinomes rénaux à cellules claires métastatiques.

CONCLUSION :

Dans 75 % des cas de cancer du rein, il s'agit d'un carcinome rénal à cellules claires.

La caséine kinase 2 (CK2), une sérine/thréonine kinase, est une enzyme multifonctionnelle. Il s'agit d'un tétramère constitué de deux sous-unités catalytiques  $\alpha$ ,  $\alpha'$  et de deux sous-unités régulatrices  $\beta$ . CK2 phosphoryle de nombreux substrats intervenant dans l'oncogénèse.

L'objectif principal de notre étude est de définir le niveau d'expression des sous-unités de CK2,  $\alpha$  et  $\beta$ , en immunohistochimie, à partir de carcinomes rénaux à cellules claires humains issus de la base de données du Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes, de 2000 à 2011. Les objectifs secondaires sont d'analyser la survie globale en fonction du niveau d'expression de CK2, du grade de Fürhman et de la classification pronostique selon le modèle du Groupe Français d'Immunothérapie.

Il s'agit d'une étude ancillaire monocentrique rétrospective. Une analyse immunohistochimique avec étude du marquage de CK2 $\alpha$  et de CK2 $\beta$  a été faite sur du tissu rénal tumoral. Le témoin interne est du tissu rénal sain. Le grade de Fürhman a été vérifié sur chaque prélèvement. Une analyse de la survie globale en fonction de CK2, du grade et du groupe pronostic selon le Groupe Français d'Immunothérapie a été faite.

Quarante-trois prélèvements rénaux et 6 cas de métastases ont été analysés. Le niveau d'expression de CK2 est différent entre les carcinomes rénaux à cellules claires et les tissus rénaux sains. L'expression des deux sous-unités de CK2 est nucléocytoplasmique au niveau du tissu rénal sain alors qu'il existe une perte de l'expression de CK2 $\alpha$  dans 80% des prélèvements de bas grade et dans 32% des prélèvements de haut grade. Il existe une perte de l'expression de CK2 $\beta$  dans 33% des prélèvements de bas grade et dans 8% des échantillons de haut grade. L'expression est principalement nucléocytoplasmique pour les sous-unités  $\alpha$  (28%) et  $\beta$  (56%) au niveau des échantillons de haut grade. Pour les échantillons de bas grade, l'expression de CK2 $\beta$ , en zone tumorale, est membranaire et cytoplasmique (24%).

Le suivi médian de l'ensemble de la population étudiée est de 44.7 mois (Intervalle de Confiance 95 IC95 10.8 ; 109.9) avec une survie globale médiane de 30.2 mois (IC 95 13.6 ; 51.2). La survie globale médiane est de 19.8 mois (IC95 12 ; 38.8) pour les prélèvements de haut grade et de 79.6 mois pour les prélèvements de bas grade (IC95 11.6 ; 129.1) (p=0.011).

La survie globale médiane en l'absence de CK2 $\alpha$  est de 51.2 mois (IC95 12 ; 88.4) contre 17.3 mois en cas d'expression de CK2 $\alpha$  (IC95 10.8 ; 46.7) (p= 0.176). La survie globale médiane en l'absence de CK2 $\beta$  est de 31 mois (IC95 11.1 ; -) contre 23.2 mois en cas d'expression de CK2 $\beta$  (IC95 13.6 ; 51.2) (p = 0.164). Il existe un lien entre le niveau d'expression de CK2 $\alpha$  dans le tissu tumoral et le grade (p=0.008). Il existe un très probable lien entre le niveau d'expression de CK2 $\beta$  dans le tissu tumoral et le grade de Fürhman (p= 0.08) avec des résultats proches de la significativité. Il n'existe pas de lien entre le grade et l'expression des 2 sous-unités de CK2 dans le tissu rénal sain. L'analyse de la survie globale en fonction du groupe pronostic n'est pas significative.

Le grade reste un élément pronostic majeur. La survie globale des patients de bas grade est meilleure que celle des patients de haut grade. Il existe un lien entre l'absence d'expression de CK2 et le bas grade. La survie globale est meilleure en l'absence d'expression des sous-unités de CK2. Cependant, nous ne pouvons affirmer que CK2 soit un facteur pronostic, sans pour autant l'exclure.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le 27/03/14

LE DOYEN



M. le Professeur P. ROMANET

LE PRESIDENT DE LA THESE

Madame le PROFESSEUR M.MOUSSEAU

## **Références bibliographiques :**

1. Cowppli-Bony A UZ, Remontet L GA-V, Voirin N MA, Bouvier A-M CM, Bossard N WA-S, Grosclaude P. Survie des personnes atteintes de cancer en France métropolitaine, 1989-2013. Partie 1 – Tumeurs solides. Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire. 2016.
2. Binder-Foucard F, Bossard N, Delafosse P, Belot A, Woronoff A-S, Remontet L, et al. Cancer incidence and mortality in France over the 1980-2012 period: solid tumors. *Rev Dépidémiologie Santé Publique*. avr 2014;62(2):95-108.
3. McLaughlin JK, Lipworth L, Tarone RE. Epidemiologic aspects of renal cell carcinoma. *Semin Oncol*. oct 2006;33(5):527-33.
4. Algaba F, Akaza H, López-Beltrán A, Martignoni G, Moch H, Montironi R, et al. Current pathology keys of renal cell carcinoma. *Eur Urol*. oct 2011;60(4):634-43.
5. Bradley AJ, Lim YY, Singh FM. Imaging features, follow-up, and management of incidentally detected renal lesions. *Clin Radiol*. déc 2011;66(12):1129-39.
6. Nielsen SM, Rhodes L, Blanco I, Chung WK, Eng C, Maher ER, et al. Von Hippel-Lindau Disease: Genetics and Role of Genetic Counseling in a Multiple Neoplasia Syndrome. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 juin 2016;34(18):2172-81.
7. Kaelin WG. The von Hippel-Lindau tumor suppressor gene and kidney cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 15 sept 2004;10(18 Pt 2):6290S-5S.
8. Gunningham SP, Currie MJ, Han C, Turner K, Scott PA, Robinson BA, et al. Vascular endothelial growth factor-B and vascular endothelial growth factor-C expression in renal cell carcinomas: regulation by the von Hippel-Lindau gene and hypoxia. *Cancer Res*. 1 avr 2001;61(7):3206-11.
9. Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. *Science*. 23 janv 1987;235(4787):442-7.
10. Escudier B, Pluzanska A, Koralewski P, Ravaud A, Bracarda S, Szczylik C, et al. Bevacizumab plus interferon alfa-2a for treatment of metastatic renal cell carcinoma: a randomised, double-blind phase III trial. *Lancet Lond Engl*. 22 déc 2007;370(9605):2103-11.
11. Rini BI, Halabi S, Rosenberg JE, Stadler WM, Vaena DA, Archer L, et al. Phase III trial of bevacizumab plus interferon alfa versus interferon alfa monotherapy in patients with metastatic renal cell carcinoma: final results of CALGB 90206. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 mai 2010;28(13):2137-43.
12. Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Rixe O, et al. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 11 janv 2007;356(2):115-24.
13. Motzer RJ, Hutson TE, Cella D, Reeves J, Hawkins R, Guo J, et al. Pazopanib versus sunitinib in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 22 août 2013;369(8):722-31.

14. Escudier B, Eisen T, Stadler WM, Szczylik C, Oudard S, Siebels M, et al. Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 11 janv 2007;356(2):125-34.
15. Motzer RJ, Escudier B, Tomczak P, Hutson TE, Michaelson MD, Negrier S, et al. Axitinib versus sorafenib as second-line treatment for advanced renal cell carcinoma: overall survival analysis and updated results from a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. mai 2013;14(6):552-62.
16. Choueiri TK, Escudier B, Powles T, Mainwaring PN, Rini BI, Donskov F, et al. Cabozantinib versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med*. 5 nov 2015;373(19):1814-23.
17. Négrier S, Gravis G, Pérol D, Chevreau C, Delva R, Bay J-O, et al. Temsirolimus and bevacizumab, or sunitinib, or interferon alfa and bevacizumab for patients with advanced renal cell carcinoma (TORAVA): a randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol*. juill 2011;12(7):673-80.
18. Motzer RJ, Escudier B, Oudard S, Hutson TE, Porta C, Bracarda S, et al. Efficacy of everolimus in advanced renal cell carcinoma: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase III trial. *Lancet Lond Engl*. 9 août 2008;372(9637):449-56.
19. Wiecek W, Karcher H. Nivolumab versus Cabozantinib: Comparing Overall Survival in Metastatic Renal Cell Carcinoma. *PloS One*. 2016;11(6):e0155389.
20. Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, George S, Hammers HJ, Srinivas S, et al. Nivolumab versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med*. 5 nov 2015;373(19):1803-13.
21. Négrier S, Escudier B, Gomez F, Douillard J-Y, Ravaud A, Chevreau C, et al. Prognostic factors of survival and rapid progression in 782 patients with metastatic renal carcinomas treated by cytokines: a report from the Groupe Français d'Immunothérapie. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO*. sept 2002;13(9):1460-8.
22. Crepel B, Escudier B, Machiels J., Staehler M., Ravaud A, Gravis G, et al. Comparison of two major prognostic models for patients with metastatic renal cell carcinoma treated in the contemporary era of targeted therapies. *J Clin Oncol* 29: 2011 (suppl; abstr 4660).
23. Heng DYC, Xie W, Regan MM, Warren MA, Golshayan AR, Sahi C, et al. Prognostic factors for overall survival in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with vascular endothelial growth factor-targeted agents: results from a large, multicenter study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 déc 2009;27(34):5794-9.
24. Delahunt B. Advances and controversies in grading and staging of renal cell carcinoma. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. juin 2009;22 Suppl 2:S24-36.
25. Allende JE, Allende CC. Protein kinases. 4. Protein kinase CK2: an enzyme with multiple substrates and a puzzling regulation. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. mars 1995;9(5):313-23.
26. Canton DA, Litchfield DW. The shape of things to come: an emerging role for protein kinase CK2 in the regulation of cell morphology and the cytoskeleton. *Cell Signal*. mars 2006;18(3):267-75.

27. Chantalat L, Leroy D, Filhol O, Nueda A, Benitez MJ, Chambaz EM, et al. Crystal structure of the human protein kinase CK2 regulatory subunit reveals its zinc finger-mediated dimerization. *EMBO J.* 1 juin 1999;18(11):2930-40.
28. Martel V, Filhol O, Nueda A, Cochet C. Dynamic localization/association of protein kinase CK2 subunits in living cells: a role in its cellular regulation? *Ann N Y Acad Sci.* nov 2002;973:272-7.
29. Martel V, Filhol O, Nueda A, Gerber D, Benitez MJ, Cochet C. Visualization and molecular analysis of nuclear import of protein kinase CK2 subunits in living cells. *Mol Cell Biochem.* nov 2001;227(1-2):81-90.
30. Buchou T, Cochet C. [Protein kinase CK2: an enzyme that likes to be different]. *Médecine Sci MS.* juill 2003;19(6-7):709-16.
31. Lou DY, Dominguez I, Toselli P, Landesman-Bollag E, O'Brien C, Seldin DC. The alpha catalytic subunit of protein kinase CK2 is required for mouse embryonic development. *Mol Cell Biol.* janv 2008;28(1):131-9.
32. Hung M-S, Lin Y-C, Mao J-H, Kim I-J, Xu Z, Yang C-T, et al. Functional polymorphism of the CK2alpha intronless gene plays oncogenic roles in lung cancer. *PloS One.* 2010;5(7):e11418.
33. Laramas M, Pasquier D, Filhol O, Ringeisen F, Descotes J-L, Cochet C. Nuclear localization of protein kinase CK2 catalytic subunit (CK2alpha) is associated with poor prognostic factors in human prostate cancer. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990.* mars 2007;43(5):928-34.
34. Kim JS, Eom JI, Cheong J-W, Choi AJ, Lee JK, Yang WI, et al. Protein kinase CK2alpha as an unfavorable prognostic marker and novel therapeutic target in acute myeloid leukemia. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 févr 2007;13(3):1019-28.
35. Giusiano S, Cochet C, Filhol O, Duchemin-Pelletier E, Secq V, Bonnier P, et al. Protein kinase CK2 $\alpha$  subunit over-expression correlates with metastatic risk in breast carcinomas: quantitative immunohistochemistry in tissue microarrays. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990.* mars 2011;47(5):792-801.
36. Ahmad KA, Wang G, Ahmed K. Intracellular hydrogen peroxide production is an upstream event in apoptosis induced by down-regulation of casein kinase 2 in prostate cancer cells. *Mol Cancer Res MCR.* mai 2006;4(5):331-8.
37. Deshiere A, Duchemin-Pelletier E, Spreux E, Ciais D, Combes F, Vandembrouck Y, et al. Unbalanced expression of CK2 kinase subunits is sufficient to drive epithelial-to-mesenchymal transition by Snail1 induction. *Oncogene.* 14 mars 2013;32(11):1373-83.
38. Filhol O, Giacosa S, Wallez Y, Cochet C. Protein kinase CK2 in breast cancer: the CK2 $\beta$  regulatory subunit takes center stage in epithelial plasticity. *Cell Mol Life Sci CMLS.* sept 2015;72(17):3305-22.
39. Stalter G, Siemer S, Becht E, Ziegler M, Remberger K, Issinger OG. Asymmetric expression of protein kinase CK2 subunits in human kidney tumors. *Biochem Biophys Res Commun.* 15 juill 1994;202(1):141-7.

40. Moucadel V, Prudent R, Sautel CF, Teillet F, Barette C, Lafanechere L, et al. Antitumoral activity of allosteric inhibitors of protein kinase CK2. *Oncotarget*. déc 2011;2(12):997-1010.
41. Tadj M, Arnoux V, Mousseau M, Descotes J-L, Quesada J-L, Bensaadi L, et al. A moncentric review of targeted therapy on overall survival in metastatic renal clear cell carcinoma. *J Clin Oncol* 31, 2013 (suppl; abstr e15593).
42. Tadj M. Amélioration de la survie globale des patients porteurs de cancer du rein métastatique grâce aux thérapies ciblées : revue monocentrique depuis 2000 [Internet] [Médecine et pathologie]. [Grenoble]: Université Joseph Fourier; 2013. Disponible sur: <dumas-00824923>
43. Delahunt B, Sika-Paotonu D, Bethwaite PB, William Jordan T, Magi-Galluzzi C, Zhou M, et al. Grading of clear cell renal cell carcinoma should be based on nucleolar prominence. *Am J Surg Pathol*. août 2011;35(8):1134-9.
44. Minardi D, Lucarini G, Mazzucchelli R, Milanese G, Natali D, Galosi AB, et al. Prognostic role of Fuhrman grade and vascular endothelial growth factor in pT1a clear cell carcinoma in partial nephrectomy specimens. *J Urol*. oct 2005;174(4 Pt 1):1208-12.
45. Minardi D, Lucarini G, Filosa A, Milanese G, Zizzi A, Di Primio R, et al. Prognostic role of tumor necrosis, microvessel density, vascular endothelial growth factor and hypoxia inducible factor-1alpha in patients with clear cell renal carcinoma after radical nephrectomy in a long term follow-up. *Int J Immunopathol Pharmacol*. juin 2008;21(2):447-55.
46. Pastorekova S. Carbonic anhydrase IX is a clinically significant tissue and serum biomarker associated with renal cell carcinoma. *Oncol Lett* [Internet]. 26 oct 2012 [cité 18 sept 2016]; Disponible sur: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2012.1001>
47. Kruck S, Eyrich C, Scharpf M, Sievert K-D, Fend F, Stenzl A, et al. Impact of an altered Wnt1/β-catenin expression on clinicopathology and prognosis in clear cell renal cell carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2013;14(6):10944-57.
48. Dutertre S, Descamps S, Prigent C. On the role of aurora-A in centrosome function. *Oncogene*. 9 sept 2002;21(40):6175-83.
49. Kurahashi T, Miyake H, Hara I, Fujisawa M. Significance of Aurora-A expression in renal cell carcinoma. *Urol Oncol*. avr 2007;25(2):128-33.
50. Schlüter MA, Margolis B. Apicobasal polarity in the kidney. *Exp Cell Res*. 15 mai 2012;318(9):1033-9.
51. Dugay F, Le Goff X, Rioux-Leclercq N, Chesnel F, Jouan F, Henry C, et al. Overexpression of the polarity protein PAR-3 in clear cell renal cell carcinoma is associated with poor prognosis. *Int J Cancer*. 1 mai 2014;134(9):2051-60.
52. Dagher J, Dugay F, Rioux-Leclercq N, Verhoest G, Oger E, Bensalah K, et al. Cytoplasmic PAR-3 protein expression is associated with adverse prognostic factors in

- clear cell renal cell carcinoma and independently impacts survival. *Hum Pathol.* août 2014;45(8):1639-46.
53. Mao X, Li P, Ren Y, Li J, Zhou C, Yang J, et al. Cell polarity protein CRB3 is an independent favorable prognostic factor for clear cell renal cell carcinoma. *Int J Oncol.* févr 2015;46(2):657-66.
  54. Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest.* juin 2009;119(6):1420-8.
  55. Harada K, Miyake H, Kusuda Y, Fujisawa M. Expression of epithelial-mesenchymal transition markers in renal cell carcinoma: impact on prognostic outcomes in patients undergoing radical nephrectomy. *BJU Int.* déc 2012;110(11 Pt C):E1131-1137.
  56. Frew IJ, Moch H. A clearer view of the molecular complexity of clear cell renal cell carcinoma. *Annu Rev Pathol.* 2015;10:263-89.
  57. Brugarolas J. Molecular genetics of clear-cell renal cell carcinoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 20 juin 2014;32(18):1968-76.
  58. Joseph RW, Kapur P, Serie DJ, Parasramka M, Ho TH, Cheville JC, et al. Clear Cell Renal Cell Carcinoma Subtypes Identified by BAP1 and PBRM1 Expression. *J Urol.* janv 2016;195(1):180-7.
  59. Kapur P, Peña-Llopis S, Christie A, Zhrebker L, Pavía-Jiménez A, Rathmell WK, et al. Effects on survival of BAP1 and PBRM1 mutations in sporadic clear-cell renal-cell carcinoma: a retrospective analysis with independent validation. *Lancet Oncol.* févr 2013;14(2):159-67.
  60. Hascoet P, Chesnel F, Le Goff C, Le Goff X, Arlot-Bonnemains Y. Unconventional Functions of Mitotic Kinases in Kidney Tumorigenesis. *Front Oncol.* 2015;5:241.
  61. Montenarh M. Protein kinase CK2 and angiogenesis. *Adv Clin Exp Med Off Organ Wroclaw Med Univ.* avr 2014;23(2):153-8.
  62. Seldin DC, Landesman-Bollag E, Farago M, Currier N, Lou D, Dominguez I. CK2 as a positive regulator of Wnt signalling and tumourigenesis. *Mol Cell Biochem.* juin 2005;274(1-2):63-7.
  63. Peng Y, Wong CCL, Nakajima Y, Tyers RG, Sarkeshik AS, Yates J, et al. Overlapping kinetochore targets of CK2 and Aurora B kinases in mitotic regulation. *Mol Biol Cell.* 1 août 2011;22(15):2680-9.
  64. Ulges A, Klein M, Reuter S, Gerlitzki B, Hoffmann M, Grebe N, et al. Protein kinase CK2 enables regulatory T cells to suppress excessive TH2 responses in vivo. *Nat Immunol.* mars 2015;16(3):267-75.
  65. Siddiqui-Jain A, Drygin D, Streiner N, Chua P, Pierre F, O'Brien SE, et al. CX-4945, an orally bioavailable selective inhibitor of protein kinase CK2, inhibits prosurvival and angiogenic signaling and exhibits antitumor efficacy. *Cancer Res.* 15 déc 2010;70(24):10288-98.

## **Annexes :**

### **Annexe 1 : Classification pronostique selon le modèle de Heng.**

Les facteurs pronostiques :            Index de Karnofsky < 80%  
    Délai entre le diagnostic et le traitement < 1 an  
    Anémie  
    Neutrophilie  
    Thrombopénie  
    Hypercalcémie

Bon pronostic :                        0 facteur pronostique  
Pronostic intermédiaire :        1 à 2 facteurs pronostiques  
Mauvais pronostic :                3 facteurs pronostiques ou plus

### **Annexe 2 : Classification TNM du cancer du rein 2009.**

#### **T – TUMEUR PRIMITIVE**

- TX Renseignements insuffisants pour classer la tumeur primitive
- T0 Pas de signe de tumeur primitive
- T1 Tumeur intrarénale  $\leq 7$  cm dans son plus grand diamètre
  - T1a Tumeur  $\leq 4$  cm
  - T1b Tumeur  $> 4$  cm et  $\leq 7$ cm
- T2 Tumeur intrarénale  $> 7$  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 périrénaux 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 du fascia de Gérota (y compris l'extension par contiguïté à la glande surrénale ipsilatérale)

#### **N – ADÉNOPATHIES RÉGIONALES**

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

#### **M – MÉTASTASES À DISTANCE**

M0 Pas de métastases à distance

M1 Métastases à distance

Annexe 3 : Tableau récapitulatif du niveau d'expression et localisation des sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$  de CK2 dans l'ensemble de la population étudiée.

diamic	grade	AGE	poumon $\alpha$	poumon $\beta$	CK2 $\alpha$ S	CK2 $\beta$ S	CK2 $\alpha$ T	CK2 $\beta$ T		
04***16*	i/II ms IV sur cro	49	positif	positif	N/C	N/C	NEG	NEG		
05***10*	III ms iv sur cr	57	positif	positif	N/C	N/C	nucl	N/C		
06***91*	IV	43	positif	positif	N/C	N/C	cyto	N/C		
97***2*	I/II	59	positif	positif	N/C	N/C	N/C	N/C		
A0***08*	IV/III	49	positif	positif	cyto	cyto	cyto	cyto		
04***20*	<b>II ms III sur cro</b>	69	positif	positif	cyto	N/C	neg	mb et peu cyto		
07***67*	III	68	positif	positif	N/C	N/C	nucl et mb e	N/C		
A01K0534	<b>I MS iv sur cro</b>	62	positif	positif	N/C	peu cyto peu	neg	neg		
07***31*	IIIV	68	positif	positif	cyto	N/C	neg	N/C		
06***66*	focal IV/III	69	positif	positif	N/C	N/C	nucl	nucl et memb		
07***02*	II		positif	positif	NEG	cyto	NEG	N/C		méta hépatique+tumeur rein
07***87*	I	62	positif	positif	N/C	N/C	NUCL	nucl et memb		
07***31*	IV	58	positif	positif	N/C	N/C	cyto	N/C		
A0***50*	I/II	68	positif	positif	neg(R0)	neg	neg	neg		
08***37*	IIIV	77	positif	positif	NEG(R0)	cyto	faible nucl	N/C		
07***28*	<b>II msIII DS CRO</b>	68	positif	positif	N/C	N/C	neg	nucl et memb		
08***35*	III iv	48	positif	positif	cyto	cyto	cyto	peu cyto peu mb		
08***71*	III	49	positif	positif	N/C et mb	N/C	N/C	N/C		
A0***61*	I msII	61	positif	positif	cyto	N/C	neg	neg		
09***73*	<b>IIIVSUR REIN</b>	55	positif	positif	0 tissu sain	0 tissu sain	N/C	N/C		méta hépatique
11***40*	III		positif	positif	0 tissu sain	0 tissu sain	neg	mb et peu cyto		méta os + rénal tumoral
09***53*	IIIV	69	positif	positif	cyto	cyto	N/C	cyto		
10***50*	<b>II ms III sur cr</b>	42	positif	positif	faibl cyto	N/C	neg	nucl faibl et mEMB		
08***56*	III	76	positif	positif	foc nucl	cyto	neg	cyto		
09***28*	III	55	positif	positif	NEG(R0)	N/C	neg	faible cytopl		
09***24*	<b>IV ms III CRO</b>	52	positif	positif	cyto	?	foc nucl	foc nucl		
06***68*	II	64	positif	positif	N/C	N/C	neg	cyto		
10***89*	<b>III ht grade sur biopsie F</b>	77	positif	positif	0 tissu sain	0 tissu sain	foc nuc	N/C		méta ganglionnaire
07***45*	II	75	positif	positif	N/C	N/C	neg	N/C		
11***08*	<b>II MS III CRO</b>	77	positif	positif	neg(R0)	peu cyto	neg	cyto		
07***24*	IIIV	73	positif	positif	N/C	N/C	N/C	N/C		
08***41*	IV	51	positif	positif	pas du tissu N	cyto	N/C	N/C		
09***09*	IV	76	positif	positif	neg(R0)	cyto	cyto	cyto		
A04***09*	III	53	positif	positif	nucl	nucl	neg	N/C		
A0***100*	III		positif	positif	0 tissu sain	0 tissu sain	neg	N/C		méta ganglionnaire+rénal tumoral
A0***59*	III	68	positif	positif	peu cyto peu nucl	N/C	neg	neg		
A0***91*		80	positif	positif	neg(R0)	N/C	neg	n/C		
A02L0899	III									
04***20*	<b>II ms III CRO</b>	60	positif	positif	pas du tissu sain	0 tissu sain	N/C	N/C		méta ganglionnaire
0***328*	IIIV iv	48	positif	positif	N/C	N/C	N/C	N/C		
05***07*	<b>I/II ms III CRO</b>	48	positif	positif	N/C	N/C	neg	neg		
06***32*	iv	41	positif	positif	N/C	N/C	N/C	N/C		
04***60*	IIIV IV	75	positif	positif	N/C	N/C	nucl et cyto	cyto et focal nucl		
08A****7*	<b>I ms II CRO</b>	48	positif	positif	cyto	N/C	neg	nucl et mb		
0*A0****	IIIV IIICRO	77	positif	positif	cyto	N/C	neg	nucl		
A01****5*	<b>I/II ms III CRO</b>	70	positif	positif	N/C	N/C	nucl	I focal nucl, II N/C		
*10***21	<b>III ms II CRO</b>	78	positif	positif	cyto	cyto	neg	neg		

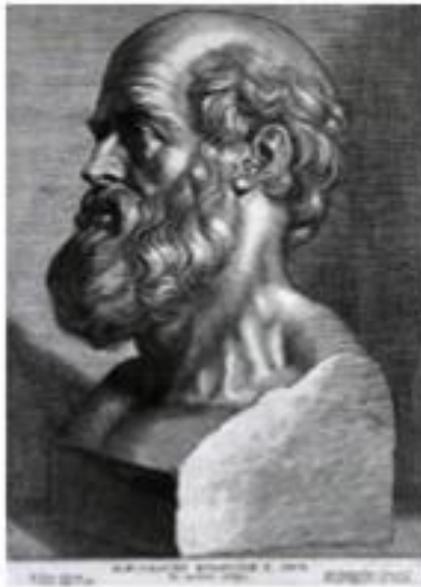
## **Légende des tableaux et figures :**

### TABLEAUX :

Tableau 1 : Classification pronostique du Groupe Français d'Immunothérapie.....	p.14
Tableau 2 : Motifs de non analyse dans l'étude.....	p. 21
Tableau 3 : Caractéristiques de la population étudiée.....	p. 22
Tableau 4 : Expression et localisation des sous-unités de CK2 dans les tissus rénaux non tumoraux et tumoraux de haut grade de Fürhman.....	p. 26
Tableau 5 : Expression et localisation des sous-unités de CK2 dans les tissus rénaux non tumoraux et tumoraux de bas grade de Fürhman.....	p. 26
Tableau 6 : Expression et localisations des sous-unités de CK2 dans tissu rénaux non tumoraux et tumoraux de métastases.....	p. 27

### FIGURES :

Figure 1 : Photos d'immunohistochimie de rein tumoral de haut grade de Fürhman.....	p. 23
Figure 2 : Photos d'immunohistochimie de rein non tumoral et tumoral de bas grade de Fürhman.....	p. 24
Figure 3 : Photos d'immunohistochimie de rein tumoral de bas grade de Fürhman.....	p. 25
Figure 4 : Courbe de Kaplan-Meier, survie globale de l'ensemble de la population étudiée.....	p. 28
Figure 5 : Courbe de Kaplan-Meier, survie globale en fonction du grade de Fürhman.....	p. 28
Figure 6 : Courbe de Kaplan-Meier, analyse de la survie globale en fonction de CK2 $\alpha$ tumoral.....	p. 29
Figure 7 : Courbe de Kaplan-Meier, analyse de la survie globale en fonction de CK2 $\beta$ tumoral.....	p. 30



## **SERMENT D'HIPPOCRATE**

*En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'HIPPOCRATE,*

*Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.*

*Je donnerai mes soins gratuitement à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au dessus de mon travail. Je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.*

*Admis dans l'intimité des maisons, mes yeux n'y 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.*

*Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.*

*Je garderai le respect absolu de la vie humaine.*

*Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.*

*Respectueux et reconnaissant 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 d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.*

La caséine kinase 2 (CK2) est constituée de quatre sous-unités, deux  $\alpha$  et deux  $\beta$ . Elle phosphoryle de nombreux substrats intervenant dans l'oncogenèse. L'objectif principal est de définir le niveau d'expression des sous-unités de CK2, en immunohistochimie, à partir de carcinomes rénaux à cellules claires humains issus d'une base de données du CHU de Grenoble de 2000 à 2011. Les objectifs secondaires sont d'analyser la survie globale en fonction du niveau d'expression de CK2, du grade de Fürhman et de la classification pronostic selon le modèle du Groupe Français d'Immunothérapie. Il s'agit d'une étude monocentrique rétrospective ancillaire. Une analyse immunohistochimique de CK2  $\alpha$  et  $\beta$  a été faite. La survie globale en fonction de CK2, du grade et du pronostic a été analysée. Quarante-trois prélèvements ont été analysés. Il existe une perte de l'expression de CK2 $\alpha$  dans 80% des prélèvements de bas grade et dans 32% de haut grade. Il existe une perte de l'expression de CK2 $\beta$  dans 33% des prélèvements de bas grade et dans 8 % de ceux de haut grade. Le suivi médian est de 44.4 mois. La survie globale médiane est de 30.2 mois, de 19.8 mois pour les hauts grades et de 79.6 mois pour les bas grades ( $p=0.011$ ). La survie globale médiane en l'absence de CK2 $\alpha$  est de 51.2 mois contre 17.3 mois ( $p=0.176$ ). La survie globale médiane en l'absence de CK2 $\beta$  est de 31 mois contre 23.2 mois ( $p=0.164$ ). Les autres analyses ne sont pas significatives. Le grade est un élément pronostic. Il existe un lien entre l'absence d'expression de CK2 et le bas grade. La survie est meilleure en l'absence d'expression des sous-unités de CK2. Nous ne pouvons affirmer que CK2 soit un facteur pronostic sans l'exclure.

Mots clés : base de données du CHUGA, carcinome rénal à cellules claires métastatique, CK2, immunohistochimie, facteur pronostic, survie globale.